
1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンの
ラットを用いる単回経口投与毒性試験

最 終 報 告 書

作成日 2000年8月29日

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

目次

要約	8
緒言	9
方法	
1. 被験物質および媒体	9
2. 投与検体および濃度確認	9
3. 使用動物および飼育条件	10
4. 投与経路, 投与方法, 群構成および投与量	11
5. 観察および検査項目	11
6. 統計学的方法	12
結果および考察	
1. 死亡状況および一般状態	12
2. 体重	13
3. 生存例の剖検	13
4. 死亡例の剖検	14
5. 病理組織学検査	14
文献	14

Attachment, Table, Fig. および Appendix の目次

Table 1	Mortality and LD ₅₀ value of rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	17
Table 2	General signs of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	18
Table 3	General signs of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	19
Table 4-1	Body weight of male rats in single dose oral toxicity	
~4-2	test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	20~ 21
Table 5-1	Body weight of female rats in single dose oral toxicity	
~5-2	test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	22~ 23
Table 6	Necropsy findings of surviving male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	24
Table 7	Necropsy findings of surviving female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	25
Table 8	Necropsy findings of dead male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	26
Table 9	Necropsy findings of dead female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	27
Table 10	Histopathological findings of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	28
Table 11	Histopathological findings of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	29
Fig.1	Chemical structure of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	30
Fig.2	Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	31
Fig.3	Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	32

要約

1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンを雌雄ラット各群5例に1回経口投与し，その毒性について検討した．投与量は，500 mg/kgを高用量とし，以下公比2により250，125および62.5 mg/kgとした．対照として媒体(コーンオイル)投与群を設けた．

1) 死亡状況および一般状態

死亡は，125 mg/kg群で雄2例，250 mg/kg群で雄4例と雌5例，500 mg/kg群で雌雄各5例認められた．

一般状態の観察において，雌雄とも125 mg/kg以上の群で腹臥，自発運動の低下，耳介および四肢の蒼白化などがみられた．

2) 体重

各投与群において，雌雄とも低値あるいは低値傾向がみられた．

3) 剖検

各投与群の生存例において，雌雄とも前胃粘膜肥厚がみられた．

投与群の死亡例において，雌雄とも腺胃粘膜暗赤色化あるいは赤色化，前胃粘膜水疱などがみられた．

4) 病理組織学検査

各投与群の生存例において，雌雄とも前胃に棘細胞症，上皮下の線維症および上皮下のリンパ様細胞の浸潤などがみられた．

以上の結果から，1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンのLD₅₀値は，雄が153 mg/kg (95 %信頼限界:100~237 mg/kg)，雌が188 mg/kgであった．

緒言

1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオン(CAS No.941-69-5)が人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Acute Oral Toxicity Test (401) に従って、1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンを雌雄ラットに1回経口投与して、その毒性について検討した。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質の1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオン(CAS No.941-69-5)は、Fig.1に示す化学構造を有し、分子量：173.17、融点：88.7 °C、沸点：142 °C/0.8 kPaであり、水(100 ppm以下)、アセトン(約50 g/100 mL)、DMSO(約50 g/100 mL)に溶解する黄色フレーク状の物質である。当試験には、1998年9月21日に厚生省生活衛生局企画課 生活化学安全対策室から提供されたものを用いた[製造元： Lot No. 純度：99.2 %、ただし、不純物として、2-アニリノN-フェニルサクシニミド0.5~0.8 %、1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンのポリマー0.03 %を含む]。入手後は、試験施設の被験物質保管庫に室温・遮光・気密条件下で保管した。なお、反復投与・生殖発生毒性併合試験の投与期間終了後に当試験施設での保管分を除いた残余被験物質は

に返却し、その一部について分析した結果、純度は99.2 %であり、使用期間中の安定性が確認された。

媒体として、コーンオイルを用いた。コーンオイル(片山化学工業株式会社、Lot No. A0861、入手日：1998年10月27日、使用期限：2003年10月26日)は、入手後、試験施設の被験物質保管庫に室温条件下で保管した。

2. 投与検体および濃度確認

1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンは、各濃度ごとにコーンオイルで懸濁して調製した。なお、0.5および50 mg/mLの調製液は、室温・遮光条件下で7日間保存しても安定性に問題のないことが確認された¹⁾(Attachment 1)。各濃度の調製液は、用時調製とし、調製後6時間以内に使用した。投与後の残余投与検体は廃棄した。なお、被験物質は純度による換算は実施しなかった。

投与に使用した各投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で高速液体クロマトグラフを用いて測定した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の92.7~95.5 %であり、濃度に問題はなかった(Attachment 2)。

3. 使用動物および飼育条件

1) 動物種および系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかであり集積データも揃っているSprague-Dawley系雌雄ラット [(SPF), Crj: CD(SD)IGS] を用いた。動物は、1999年3月17日に日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から4週齢で雌雄各31匹を購入した。入手後1日の体重範囲は、雄が76~89 g, 雌が71~81 gであった。

2) 検疫および馴化, 群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、5日間の検疫期間およびその後2日間の馴化期間を設けた。この間に、4回の体重測定および毎日一般状態の観察を行って、検疫・馴化とし、一般状態および体重推移に異常の認められなかった動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与日に行った。また、個々の動物の体重が平均体重の±20%を越えていないことを確認した。群分け後の残余動物は、投与翌日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄処分した。

動物の個体識別は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクによる記入法および色素塗布法を、群分け後は色素塗布法および耳パンチ法を併用して行った。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号, 入手年月日, 性別および検疫・馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号, 投与量, 性別および動物番号を記入し, 群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

3) 環境条件および飼育管理

動物は、室温20~26℃(実測値: 21~22℃), 湿度40~70%(実測値: 53~67%), 明暗各12時間(照明: 午前6時~午後6時), 換気回数12回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持されている飼育室(E棟7号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中および群分け前の絶食時間中はステンレス製懸垂式ケージ(W: 240×D: 380×H: 200 mm)を用いて1ケージ当たり5匹までの雌雄別群飼育とし, 群分け後はステンレス製五連ケージ(W: 755×D: 210×H: 170 mm)を用いて個別飼育した。ケージの受け皿および給水瓶の交換は1週間に2回以上, ステンレス製五連ケージならびに給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお, 動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)および0.02%次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

4) 飼料および飲料水

飼料は、入手後3カ月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ, 自由に摂取させた。ただし, 投与前日の夕刻(午後3時26分)から投与までの約20時間と投与後約6時間まで絶食させ, その後に飼料を与えた。使用した飼料の分析結果は, 財団法人日本食品分析センターおよびオリエンタル酵母工業株式会社で実施した成績を入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。ただし, 群分け時から投与後約6時間までは絶水させ, その後に飲料水を与えた。飲料水の水質検査結果は, ほぼ6カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査結果は、いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路，投与方法，群構成および投与量

1) 投与経路および投与方法

1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンは、経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ソンドを取り付けたポリプロピレン製ディスポーザブル注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、投与直前に測定した体重を基準として10 mL/kgで算出した。投与時刻は午前11時11分～11時44分の間で、投与回数は1回とした。

投与日の週齢は5週齢であり、体重範囲は雄が98～113 g，雌が90～99 gであった。

2) 群構成および投与量

群構成は、下記のように被験物質投与群として4群を設定し、その他に対照群を設けた。1群の動物数は、雌雄それぞれ5匹とした。

群	試験群	投与量 (濃度)	動物数(動物番号)	
			雄	雌
第1群	対照(コーンオイル)	0 mg/kg (0 mg/mL)	5(001～005)	5(051～055)
第2群	1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオン	62.5 mg/kg (6.25 mg/mL)	5(101～105)	5(151～155)
第3群	1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオン	125 mg/kg (12.5 mg/mL)	5(201～205)	5(251～255)
第4群	1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオン	250 mg/kg (25 mg/mL)	5(301～305)	5(351～355)
第5群	1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオン	500 mg/kg (50 mg/mL)	5(401～405)	5(451～455)

1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンのラット経口投与時のLD₅₀値は188 mg/kgとの報告がある²⁾。そこで、当試験では、500 mg/kgを最高用量とし、以下公比2により250, 125および62.5 mg/kg群を設定した。また、対照として媒体(コーンオイル)のみを同容量投与する群を設けた。

5. 観察および検査項目

1) 観察期間

投与後14日間とした。

2) 一般状態

投与日は投与前および投与後6時間(投与直後～投与後30分，投与後2，4および6時間)ま

で、投与翌日からの観察期間中は1日1回、一般状態および死亡の有無を観察した。

3) 体重測定

投与日(投与直前)および投与後1, 3, 7, 10ならびに14日に測定した。

4) 剖検

死亡動物は、速やかに剖検した。

生存動物は、観察期間終了時にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

剖検で異常の認められた器官・組織は、その比較対照となる対照群の代表1例の同部位とともに10%中性緩衝ホルマリンで固定し、保存した。

5) 病理組織学検査

生存例の剖検において異常の認められた器官・組織のうち、対照群、62.5および125 mg/kg群の雌雄各1例ならびに250 mg/kg群の雄1例の胃については、常法に従ってHE染色組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。

6. 統計学的方法

LD₅₀値は、Probit法あるいはBehrens-Karber法で算出した。

有意差検定は下記のように、対照群と各投与群の間で行い、危険率を5%とし、5%未満($p < 0.05$)と1%未満($p < 0.01$)とに分けて表示した。

〈検定方法〉

体重は、各群で平均値および標準偏差を算出した。その後、Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならばDunnett法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallisの検定)を行い、有意ならば順位を利用したDunnett型の検定法により行った。

結果および考察

1. 死亡状況および一般状態 (Table 1~3, Appendix 1-1~1-5および2-1~2-5)

対照群および62.5 mg/kg群の雌雄ならびに125 mg/kg群の雌では、死亡例は認められなかった。死亡は、125 mg/kg群で雄2例、250 mg/kg群で雄4例と雌5例、500 mg/kg群で雌雄各5例認められた。1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンのLD₅₀値は、雄が153 mg/kg(95%信頼限界:100~237mg/kg)、雌が188 mg/kgであった。

一般状態の観察において、対照群では下痢が投与後2時間および4時間に雄1~2例と雌3例みられた。62.5 mg/kg群では、雌雄とも異常はみられなかった。

125 mg/kg群では、死亡例の雄2例において下痢が投与後2時間から6時間に1例、腹臥が投与後4時間および6時間に1~2例、自発運動の低下、耳介および四肢の蒼白化が投与後4時間および6時間に各2例みられ、投与後1日に2例とも死亡した。生存例の雄3例では、自発運動

の低下，耳介および四肢の蒼白化が投与後4時間および6時間に各3例みられたが，投与後1日以降は異常は認められなかった．生存例の雌5例では，下痢が投与後2時間から6時間に1例，自発運動の低下，耳介および四肢の蒼白化が投与後4時間および6時間に各5例みられたが，投与後1日以降は異常は認められなかった．

250 mg/kg群では，死亡例の雄4例において下痢が投与後2時間から6時間に2例，耳介および四肢の蒼白化が投与後2時間から6時間に各3～4例，自発運動の低下が投与後2時間から6時間に1～4例，腹臥が投与後4時間から6時間に1～2例，呼吸緩徐が投与後6時間に1例みられ，投与後1日に4例とも死亡した．死亡例の雌5例では，下痢が投与後2時間から6時間に1～2例，耳介および四肢の蒼白化が投与後2時間から6時間に4～5例，自発運動の低下が投与後2時間から6時間に2～4例，腹臥が投与後6時間に3例みられ，投与後4時間に1例と投与後1日に4例が死亡した．生存例の雄1例では，耳介および四肢の蒼白化が投与後2時間から6時間と投与後1日および2日，自発運動の低下が投与後4時間および6時間と投与後1日，腹臥が投与後6時間，被毛の汚れが投与後2日にみられたが，投与後3日以降に異常は認められなかった．

500 mg/kg群では，死亡例の雄5例において腹臥が投与後0～30分および投与後6時間に2～5例，自発運動の低下，耳介および四肢の蒼白化，被毛の汚れが投与後2時間から6時間に各2～4例，横臥が投与後4時間に1例，呼吸緩徐が投与後4時間から6時間に1～2例，流涙が投与後6時間に1例みられ，投与後2，4および6時間に各1例と投与後1日に2例が死亡した．死亡例の雌5例において流涎が投与後0～30分に2例，自発運動の低下，耳介および四肢の蒼白化が投与後2時間から6時間に各2～5例，腹臥が投与後4時間および6時間に2～5例，呼吸緩徐が投与後4時間および6時間に1～2例，流涙が投与後4時間および6時間に2～3例みられ，投与後6時間に3例と投与後1日に2例が死亡した．

2. 体重 (Table 4-1および4-2, 5-1および5-2, Fig.2および3, Appendix 3-1～3-5および4-1～4-5)

62.5 mg/kg群では，雄において対照群と比べて有意差は認められないものの，投与後1日に体重の低値傾向がみられ，その後は順調に推移した．雌では，対照群と比べて有意差は認められないものの，投与後3日に体重の低値傾向がみられ，その後は順調に推移した．

125 mg/kg群では，生存例雄3例において対照群と比べて投与後1日に体重の有意な低値がみられたが，その後は順調に推移した．雌では，対照群と比べて投与後3日に体重の有意な低値がみられたが，その後は順調に推移した．

250 mg/kg群では，生存例雄1例において投与後1日に体重の減少がみられたが，その後は順調に推移した．

3. 生存例の剖検 (Table 6および7, Appendix 5-1～5-4および6-1～6-3)

対照群では，雌雄とも異常はみられなかった．

62.5 mg/kg群では，前胃粘膜肥厚が雄4例と雌5例みられた．

125 mg/kg群では，前胃粘膜肥厚が雄3例と雌5例みられた．

250 mg/kg群では、前胃粘膜肥厚が雄1例みられた。

4. 死亡例の剖検 (Table 8および9, Appendix 7-1~7-3および8-1~8-2)

125 mg/kg群では、腺胃粘膜暗赤色化が雄2例、腺胃粘膜潰瘍が雄1例、前胃粘膜水疱が雄2例みられた。

250 mg/kg群では、腺胃粘膜暗赤色化が雌雄各4例、前胃粘膜水疱が雌雄各4例みられた。

500 mg/kg群では、腺胃粘膜赤色化が雄1例と雌3例、腺胃粘膜暗赤色化が雌雄各2例、前胃粘膜赤色化が雄1例と雌3例、前胃粘膜水疱が雄1例と雌2例、小腸および大腸赤色化が雌3例みられた。

5. 病理組織学検査 (Table 10および11, Appendix 9-1~9-3および10-1~10-2)

対照群では、雌雄とも胃に異常はみられなかった。

62.5 mg/kg群では、前胃に過角化症が雄、棘細胞症が雌雄、上皮下の炎症が雄、上皮下の繊維症が雌および上皮下のリンパ様細胞の浸潤が雌でみられた。

125 mg/kg群では、前胃に過角化症が雄、棘細胞症が雌雄、上皮下の繊維症が雌雄および上皮下のリンパ様細胞の浸潤が雌でみられた。

250 mg/kg群では、前胃に過角化症、棘細胞症、上皮下の繊維症および上皮下のリンパ様細胞の浸潤、腺胃に潰瘍が雄でみられた。

以上のように、1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンの雌雄ラットへの1回経口投与により、雄では125 mg/kg以上の投与、雌では250 mg/kg以上の投与で死亡例が認められ、一般状態では雌雄とも125 mg/kg以上の投与で腹臥、自発運動の低下、耳介および四肢の蒼白化などがみられ、雌雄とも62.5 mg/kg以上の投与で体重の増加抑制、生存例の剖検および病理組織学検査で胃に変化が認められた。1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンのLD₅₀値は、雄が153 mg/kg(95 %信頼限界:100~237mg/kg)、雌が188 mg/kgであった。

文献

- 1) : 1-フェニル-1H-ピロール-2,5-ジオンの調製液の安定性確認試験
(試験番号: 401218P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 2) 大八化学工業株式会社 社内資料(製品安全データシート)

Table 1 Mortality and LD₅₀ value of rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Sex	Group (mg/kg)	Number of animals	Number of deaths																		Total number of deaths	LD ₅₀ (mg/kg) (95% confidential limit)				
			Hours after administration				Days after administration																			
			0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14						
Male	Control	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	153 ^{a)} (100~237)	
	1H-pyrrole-2,5-dione, 1-phenyl-	62.5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
		125	5	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		2
		250	5	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		4
		500	5	0	1	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		5
Female	Control	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	188 ^{b)}	
	1H-pyrrole-2,5-dione, 1-phenyl-	62.5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
		125	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
		250	5	0	0	1	0	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		5
		500	5	0	0	0	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		5

a): Probit method.

b): Behrens-Karber method.

Table 2 General signs of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Number of males and general sign	Hours after administration				Days after administration															
		0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Control	0	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Normal	5	3	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Diarrhea	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	62.5	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	125	Number of males	5	5	5	5	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Normal	5	4	0	0	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Prone position	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in locomotor activity	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Diarrhea	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Paleness	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	250	Death	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Number of males	5	5	5	5	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Normal	5	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Prone position	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Decrease in locomotor activity		0	1	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Soiled fur		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Bradypnea		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Diarrhea		0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
500	Paleness	0	4	5	5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Death	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Number of males	5	5	4	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Normal	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Prone position	5	0	0	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Lateral position	0	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Decrease in locomotor activity	0	4	3	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Soiled fur	0	4	3	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Lacrimation	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Bradypnea	0	0	1	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Paleness	0	4	3	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Death	0	1	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Table 3 General signs of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Number of females and general sign	Hours after administration				Days after administration															
		0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Control	0	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Normal	5	2	2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Diarrhea	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	62.5	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	125	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Normal	5	4	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Decrease in locomotor activity	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Diarrhea	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Paleness	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	250	Number of females	5	5	5	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Normal	5	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	0	0	0	3	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	0	2	4	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Diarrhea	0	2	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Paleness	0	5	4	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Death	0	0	1	0	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	Number of females	5	5	5	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Normal		3	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Prone position		0	0	5	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Decrease in locomotor activity		0	5	5	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Salivation		2	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Lacrimation		0	0	3	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Bradypnea		0	0	1	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Paleness		0	5	5	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Death		0	0	0	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Table 4-1 Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control		1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-			
	0		62.5		125	
Number of males	5		5		5	
Days after admin- istration						
0	105.2 ±	4.1	105.0 ±	4.7	105.4 ±	4.7
1	120.8 ±	5.5	115.0 ±	3.5	108.3 ±	6.4* (3)
3	142.0 ±	6.1	134.0 ±	4.2	128.7 ±	11.0 (3)
7	179.2 ±	10.6	166.0 ±	7.8	162.0 ±	14.9 (3)
10	199.6 ±	11.1	186.6 ±	9.9	181.7 ±	16.9 (3)
14	232.6 ±	13.3	219.8 ±	8.9	214.0 ±	19.5 (3)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

Significantly different from control (*: P<0.05).

Table 4-2 Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control		1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	
	0		250	500
Number of males	5		5	5
Days after admin- istration				
0	105.2 ± 4.1	105.6 ± 4.2	105.4 ± 3.7	
1	120.8 ± 5.5	97.0 (1)	—	
3	142.0 ± 6.1	100.0 (1)	—	
7	179.2 ± 10.6	133.0 (1)	—	
10	199.6 ± 11.1	151.0 (1)	—	
14	232.6 ± 13.3	187.0 (1)	—	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

Table 5-1 Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control		1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-			
	0		62.5		125	
Number of females	5		5		5	
Days after admin- istration						
0	95.2 ±	3.0	95.8 ±	2.6	94.6 ±	2.9
1	106.6 ±	9.1	105.8 ±	3.6	97.4 ±	4.5
3	127.4 ±	4.5	122.6 ±	3.6	114.6 ±	9.1*
7	147.8 ±	4.7	141.8 ±	6.2	140.2 ±	6.2
10	157.2 ±	8.8	150.4 ±	5.6	152.2 ±	5.4
14	175.6 ±	10.5	166.4 ±	8.7	170.8 ±	5.9

Each value shows mean (g) ± S.D.

Significantly different from control (*: P<0.05).

Table 5-2 Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control		1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-	
	0		250	500
Number of females	5		5	5
Days after admin- istration				
0	95.2 ±	3.0	95.0 ±	2.9
1	106.6 ±	9.1	—	—
3	127.4 ±	4.5	—	—
7	147.8 ±	4.7	—	—
10	157.2 ±	8.8	—	—
14	175.6 ±	10.5	—	—

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 6 Necropsy findings of surviving male rats in single dose oral toxicity test of
1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control	1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-			
	0	62.5	125	250	500
Number of males	5	5	3	1	0
Findings					
Normal	5	1	0	0	-
Stomach(foresomach mucosa) Thickening	0	4	3	1	-

Table 7 Necropsy findings of surviving female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control	1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-			
	0	62.5	125	250	500
Number of females	5	5	5	0	0
Findings					
Normal	5	0	0	-	-
Stomach(forestomach mucosa) Thickening	0	5	5	-	-

Table 8 Necropsy findings of dead male rats in single dose oral toxicity test of
1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control	1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-			
	0	62.5	125	250	500
Number of males	0	0	2	4	5
Findings					
Normal	-	-	0	0	2
Stomach(glandular mucosa)					
Red	-	-	0	0	1
Dark red	-	-	2	4	2
Ulcer	-	-	1	0	0
Stomach(forestomach mucosa)					
Red	-	-	0	0	1
Bulla	-	-	2	4	1

Table 9 Necropsy findings of dead female rats in single dose oral toxicity test of
 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control	1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-			
	0	62.5	125	250	500
Number of females	0	0	0	5	5
Findings					
Normal	-	-	-	1	0
Stomach(glandular mucosa)					
Red	-	-	-	0	3
Drak red	-	-	-	4	2
Stomach(forestomach mucosa)					
Red	-	-	-	0	3
Bulla	-	-	-	4	2
Small intestine , Large intestine					
Red	-	-	-	0	3

Table 10 Histopathological findings of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control					1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-														
	0					62.5					125					250				
Number of males	1					1					1					1				
Grade	-	±	+	2+	3+	-	±	+	2+	3+	-	±	+	2+	3+	-	±	+	2+	3+
Findings																				
Stomach																				
Forestomach																				
Hyperkeratosis	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Acanthosis	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation, subepithelial	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosis, subepithelial	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Cellular infiltration, lymphoid cell, subepithelial	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Glandular stomach																				
Ulcer	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

Grade of histopathological findings: -: no abnormality detected, ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Table 11 Histopathological findings of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

Group (mg/kg)	Control					1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-									
	0					62.5					125				
Number of females	1					1					1				
Grade	-	±	+	2+	3+	-	±	+	2+	3+	-	±	+	2+	3+
Findings															
Stomach															
Forestomach															
Acanthosis	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Fibrosis, subepithelial	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Cellular infiltration, lymphoid cell, subepithelial	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0

Grade of histopathological findings: -: no abnormality detected, ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

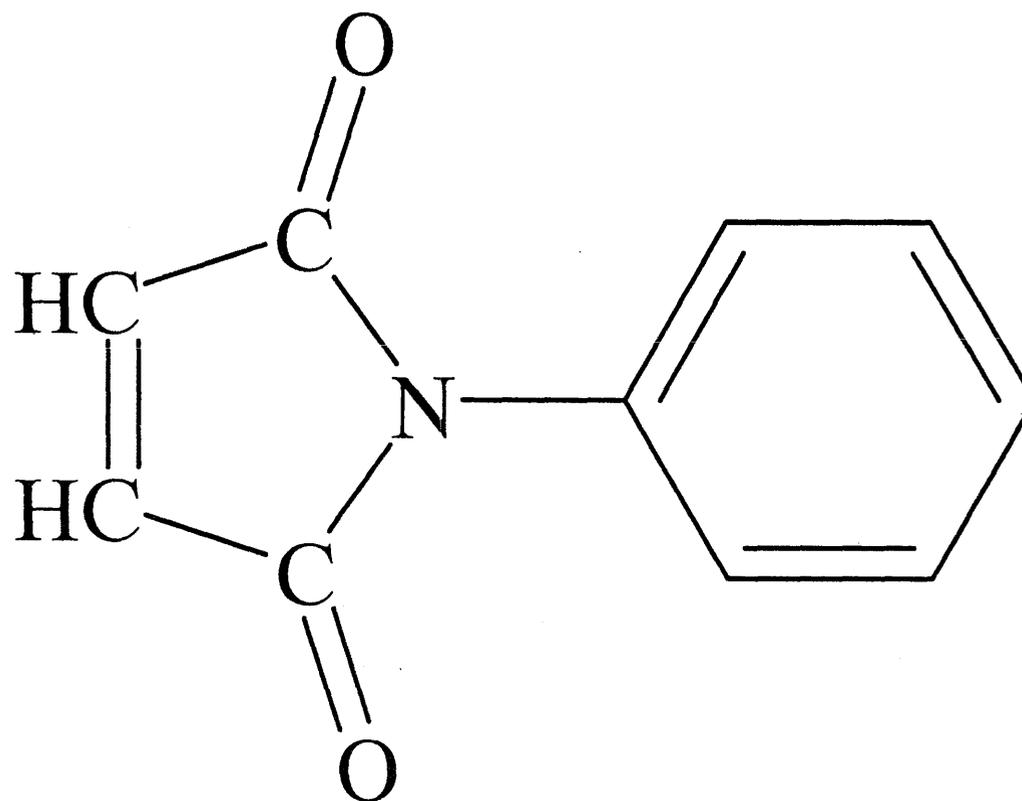


Fig. 1 Chemical structure of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

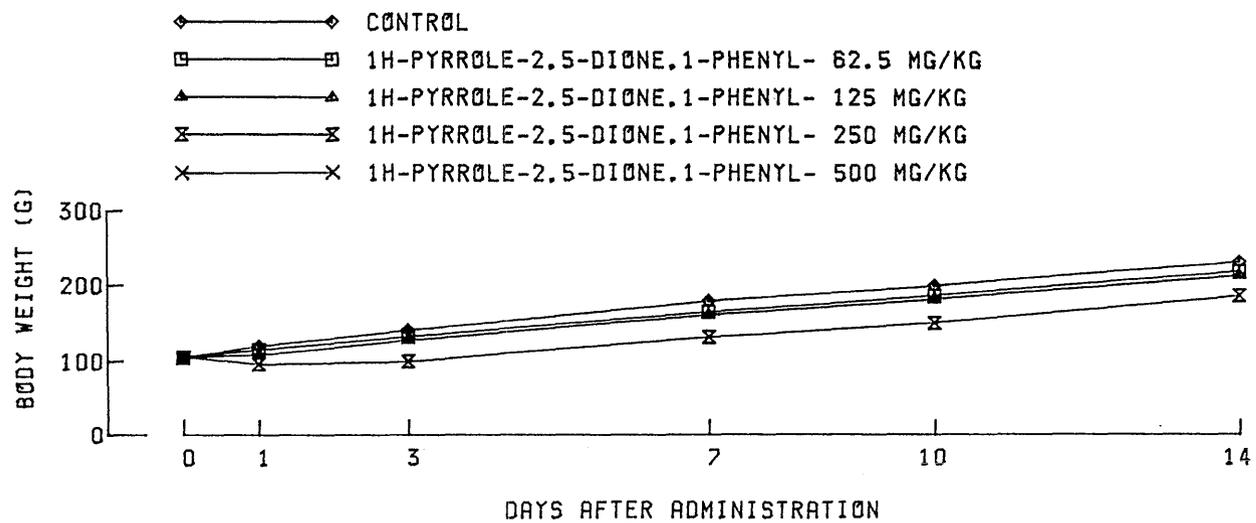


Fig. 2 Body weight of male rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-

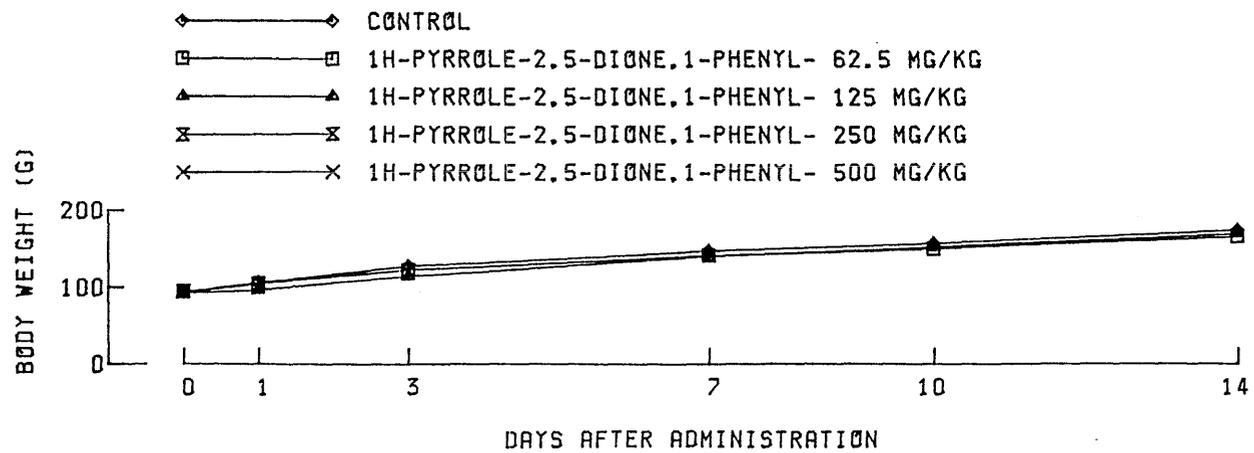


Fig. 3 Body weight of female rats in single dose oral toxicity test of 1H-pyrrole-2,5-dione,1-phenyl-