

2004年11月8日

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの
ラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験
(回復14日間)

厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

【目次】

要約	1
目的	3
試験方法	4
1. 被験物質	4
2. 使用動物および飼育方法	4
3. 投与検体	5
4. 群および群分け	6
5. 投与方法	7
6. 観察および検査	7
7. データの解析.....	11
結果	14
1. 死亡例	14
2. 一般状態	14
3. 詳細な臨床観察	15
4. 機能検査	15
5. 体重	16
6. 摂餌量	16
7. 尿検査	16
8. 血液学検査	17
9. 血液生化学検査	17
10. 病理学検査	17
考察	21
参考文献	25
Figures 1~3	27
Tables 1~12	33

【要 約】

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノール (DBAE) の 28 日間反復経口投与毒性試験 (回復 14 日間) を雌雄の Sprague-Dawley 系ラットを用いて実施した。雌雄とも 25、100 および 400 mg/kg の用量の被験物質投与群ならびに媒体 (コーン油) を投与する対照群の計 4 群を設定し、28 日間の反復強制経口投与を行った。試験には雌雄とも各群 5 匹の他、対照群および 400 mg/kg 投与群には回復試験を考慮して各 5 匹を加え、計 60 匹の動物を使用した。400 mg/kg 投与群の雄 3 例および雌 5 例が投与期間中に死亡したため、雌では回復試験を行わなかった。

100 および 400 mg/kg 投与群において、投与後断続的にケージ内を舐める動作および咀嚼様動作が観察された。また、400 mg/kg 投与群では、投与後約 20 分から 40 分の間に間代性痙攣、攣縮、振戦、異常発声および蒼白、喘ぎ呼吸、呼吸数減少、活動性の低下および腹臥位姿勢が散見され、呼吸数減少および腹臥位姿勢を呈した動物のうち一部は死亡した。これらに加えて 400 mg/kg 投与群では、詳細な臨床観察において、徐脈、紅涙、眼球突出、軽度の立毛、痙攣後の撤去反射の低下ないし消失、探索行動の低下などが散見された。その他、400 mg/kg 投与群では、投与第 2 週より投与保定時ないし投与直後から表れ、投与後約 30 分までに消失する流涎が観察された。同群では、投与第 2 日より、投与直後には認められずに投与後約 30 分に現れる流涎も散見された。

投与第 4 週の自発運動量測定において、400 mg/kg 投与群の雌雄で、投与後 60 分から 60 分間の位置移動回数が増加した。同群の雄では、投与後 50 分および 100 分からの 10 分間ならびに総運動量における位置移動回数が増加し、100 分からの 10 分間では立ち上がり回数も増加した。また、100 mg/kg 投与群の雌で、投与後 20 分および 90 分から 10 分間の立ち上がり回数が増加した。

400 mg/kg 投与群において、投与第 4 日に雌で体重が低値となり、投与第 1 週に雌雄で摂餌量が減少した。

血液生化学検査では、投与期間終了時に 400 mg/kg 投与群の雌雄で塩素濃度が低下し、雄でナトリウム濃度が低下した。また、雌では、総コレステロール濃度およびブドウ糖濃度が上昇し、コリンエステラーゼ活性が低下する傾向にあった。

病理学検査では、400 mg/kg 投与群で肝臓重量が増加し、一部の個体で軽微な小葉中心性の肝細胞肥大が観察された。同群では、雄で腎重量が増加し、雌雄で腎臓の集合管上皮

細胞の軽度から中等度の空胞化が観察された。また、雌では副腎重量が増加して一部の個体で束状帯の軽微な肥大が観察された。

死亡例の病理学検査では、肝臓の大型化および腎臓の大型化が観察され、組織学的には、投与期間終了時剖検例と同様の腎臓の集合管上皮細胞の空胞化、副腎の束状帯の軽微な肥大が散見された。また、雄 1 例で肺の暗赤色部および気管内の泡沫液が認められ、組織学的に軽度の肺胞出血および軽微な水腫が観察された。

以上の結果から、本試験条件下における DBAE の無作用量は雌雄とも 25 mg/kg/day であると考えられた。また、標的器官は神経系、肝臓および腎臓であることが明らかとなり、被験物質投与の影響は 14 日間の投与中止により回復することが示唆された。

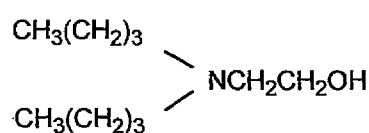
【試験方法】

1. 被験物質

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノール (英名 2-(Di-*n*-butylamino)ethanol、略称 DBAE) は、別名 *N,N*-ジ-*n*-ブチルエタノールアミン、CAS No. 102-81-8、分子量 173.30、分子式 $C_{10}H_{23}NO$ 、融点 $-75^{\circ}C$ 、沸点 $228.7^{\circ}C$ 、密度 0.857 g/mL ($20^{\circ}C$)、蒸気圧 $226-228^{\circ}C$ (984hPa) の水に可溶な (溶解度 $0.4\text{ g}/100\text{ g}$) 弱いアミン臭を有するうすい黄色澄明の液体である (構造式を下図に示す)。本試験には、 のロット番号 、含量 99.8% (GC)、不純物として水分を 0.12% 含む DBAE を被験物質として使用した。受領した被験物質は、密閉して高温を避けた遮光下の室温で保管した。

また、被験物質購入先である において、動物試験前後に本被験物質の品質試験を実施し (Appendix A)、試験期間中の被験物質の安定性を確認した。

<構造式>



2. 使用動物および飼育方法

4 週齢の Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD)IGS、SPF] 雌雄ラット (日本チャールス・リバー株、厚木飼育センター) を購入し、検疫と飼育環境への馴化を兼ねて、入荷日を含め 8 日間予備飼育した。検疫・馴化期間中は毎日の一般状態観察、1 回の詳細な臨床観察ならびに入荷時および検疫終了時の体重測定を実施した。試験には、左眼球瞳孔偏在の雄 1 例および右眼周囲に褐色の汚れが観察された雌 2 例を除き、検疫期間中に異常が認められなかった雌雄各 30 匹を使用した。入荷時および投与開始時の匹数および体重を以下に示した。

	日 付	匹 数	体重範囲
動物入荷	2003 年 2 月 3 日	雄 34 匹	74.8~85.4g (平均 80.6g)
		雌 34 匹	57.2~73.7g (平均 63.1g)
投与開始時	2003 年 2 月 11 日	雄 30 匹	149.4~168.4g (平均 158.3g)
		雌 30 匹	114.7~140.6g (平均 125.4g)

群分け後の棄却動物は、他試験へ転用した 1 例を除き、微生物モニタリング用として

供試動物と同室で回復試験終了日翌日まで飼育した。このうち、雄2例雌3例は感染症の疑いが生じた場合の血清検査用として採血した後剖検し、その他の動物は安楽死させた。なお、感染症を疑う事態が発生しなかったため、血清検査は行わなかった。動物は、許容温度 21.0～25.0℃、許容湿度 40.0～75.0%、換気回数約 15 回/時、照明 12 時間（7 時～19 時）に制御された飼育室内で、金属製金網床ケージ（220W×270D×190H mm）に 1 匹ずつ収容し、固型飼料（CE-2、日本クレア(株)）と水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取（但し、解剖前約 18～20 時間は絶食）させて飼育した。なお、飼育期間中の温度は 23.5～24.5℃、湿度は 48.0～64.0%であり、いずれも許容範囲内にあった。また、供給した飼料および水道水の分析結果からは、試験に支障を来す可能性のある混入物は検出されなかった。

動物には、個体識別のため、耳パンチにより動物番号を標識した。また、識別の補助として、群ごとに色彩の異なる動物カードに、試験計画番号、性別、群（投与量）および動物番号を記入し、飼育ケージに掛けた。

3. 投与検体

被験物質を各濃度毎に秤量し、メスシリンダーを用いて、各濃度の投与検体となるように、媒体であるコーン油（英語表記 corn oil、ロット番号 V2E7069、製造発売元 ナカライテスク株式会社）を加えて調製した。また、投与に先立ち、0.2 および 20 w/v% の調製検体について安定性試験を実施した結果（Appendix B）、冷蔵条件下における 8 日間の安定性が確認されたため、投与検体の調製は週 1 回以上の頻度で行い、調製後の投与検体は褐色瓶に分取し、使用時まで冷蔵庫にて保管した。

また、初回調製時の投与検体について含量測定を実施した結果（Appendix C）、被験物質の平均含量は所定濃度の 102～104%であり、許容範囲内（90～110%）であることが確認された。なお、投与検体中の被験物質濃度は以下に示すガスクロマトグラフ法により求めた。

- 1) 各調製検体の 1 mL を採取し、ヘキサンで一定量とした後、ヘキサンで適宜希釈して試料溶液を調製した。
- 2) 被験物質を必要量秤取し、ヘキサンに溶解して標準溶液（5、20、100 µg/mL）を調製した。
- 3) 試料溶液および標準溶液を、次頁の条件でガスクロマトグラフ（GC）法により測定し、標準溶液から作成する検量線を用いて濃度を求めた。

4) GC 条件

分析カラム: DB-WAX (内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.5 μ m、J&W Scientific)
 昇温条件: 120°C (1 分間) $\rightarrow$ 5°C/分 $\rightarrow$ 145°C $\rightarrow$ 10°C/分 $\rightarrow$ 185°C
 キャリヤーガス: ヘリウム (50kPa)
 水素: 60 kPa
 空気: 50 kPa
 注入口温度: 210°C
 検出器温度: 240°C
 試料注入量: 1 μ L (スプリットレス、サンプリングタイム 2 分間)

4. 群および群分け

投与用量は、本試験に先立って実施した予備試験 (試験計画番号 C-02-003) の結果を基に決定した。即ち、DBAE を 50、300、400、500、800 mg/kg の用量で、雌雄各群 3 匹のラットに 7 日間反復投与した結果、500 mg/kg 投与群の雄 1 例および雌 2 例、800 mg/kg 投与群の雌雄全例が振戦、攣縮、間代性痙攣および強直性痙攣等を呈して死亡した。50 mg/kg 投与群の雄および 300 mg/kg 以上の投与群では、咀嚼様動作およびケージ内を舐める動作が観察された。また、雌で 300 mg/kg 以上、雄で 500 mg/kg 以上を投与した群で、投与第 2 日に体重増加抑制ないし体重減少が認められたが、投与第 4 日以降は増加に転じた。剖検時には、死亡例で肺の退縮不全および暗赤色化、肝臓の暗色化が観察されたが、投与期間終了時に剖検した生存例では変化は観察されなかった。以上の結果から、雌雄とも 400 mg/kg の用量が 28 日間の反復投与に耐え得る最大用量であると判断して本試験の高用量を 400 mg/kg に設定し、以下、公比 4 で除して 100 および 25 mg/kg を中および低用量に設定することとした。

群分けは、検疫終了時の体重をもとに体重別層化無作為抽出法により行った。各群の投与量、動物番号および剖検時期等を以下に示した。

群識別	投与物質	投与量 (mg/kg)	濃度 (w/v%)	投与容量 (mL/kg)	動物番号		剖検時期*
					雄	雌	
対照	コーン油	0	0	5	1~5	-	回復
					6~10	31~40	投与
低用量	DBAE	25	0.5	5	11~15	41~45	投与
中用量	DBAE	100	2	5	16~20	46~50	投与
高用量	DBAE	400	8	5	21~23	-	回復
					25, 27, 29, 30	51, 56~59	投与
					24, 26, 28	52~55, 60	死亡

* 雌雄の対照群および高用量群の剖検時期は、各群動物番号の若い 5 匹を回復試験に供する予定であったが、死亡例があったため、上表のように変更した。

回復: 投与期間終了後回復試験に用い、回復試験終了日翌日に定期解剖を行った。

投与: 投与期間終了日翌日に定期解剖を行った。

死亡: 投与期間中に死亡したため、死亡時に剖検した。

5. 投与方法

1日1回の頻度で、28日間合計28回、9時から12時の間にラット用胃管を用いて強制的に経口投与した。投与容量は5 mL/kg とし、投与液量は各投与時の最近時の体重を基に個別別に算出した。投与経路および方法ならびに投与回数は、OECD ガイドライン 407 に従って決定した。なお、投与期間中の日数および週の表記は、投与開始日および投与開始週をそれぞれ投与第1日および投与第1週とし、回復試験期間中の日数および週の表記法もこれに準じて回復試験第1日および回復試験第1週とした。

6. 観察および検査

1) 一般状態の観察

毎日（投与期間中は投与前および投与後1回以上、回復試験期間中は1日1回）、全例について生死を含む一般状態を観察した。投与後の観察は、少なくとも投与後約30分の時点（ただし、自発運動測定中の動物については、投与後約2時間）で1回行った他、所見の発現状況により追加して観察を行った。

2) 詳細な臨床観察

投与期間中は投与後約30分の時点で、回復試験期間中は投与後約30分に相当する時刻に、いずれも1週間に1回の頻度で全例について詳細な臨床観察を行った。観察は、投与量および動物番号の情報をブラインドにした状態で、スコアリング法を用いて以下の項目について実施した。

ケージ越し：姿勢・体位、自発運動、発声、振戦、痙攣

ハンドリング時：取り出し易さ、扱い易さ、心拍動、体温、流涎、被毛、皮膚色、可視粘膜、流涙、眼球突出、瞳孔径

作業台上の観察：体位、姿勢、探索行動、身づくろい、発声、挙尾反応、常同行動、奇妙な行動、歩行、振戦、痙攣、呼吸数、立毛、眼裂、排尿回数、排便回数、接触に対する反応、撤去反射、耳介反射

3) 機能検査

以下の項目について、投与第4週および回復試験第2週に全例の検査を行った。なお、①、②の視覚定位および③は、上記2)の観察時に検査した。

① 聴覚刺激に対する反応
驚愕反応。

② 視覚刺激に対する反応

視覚定位、対光反射（左右眼球に交互に光刺激を与え、直接対光反射および間接対光反射を確認した。正常：評点4、正常より低下：評点2、反応なし：評点0として判定した）。

③ 固有感覚刺激に対する反応
正向反射

④ 握力測定

握力計 (Chatillon、Columbus Instrument) を用いて前肢および後肢の握力を測定した。

⑤ 自発運動測定

自発運動測定装置 (SUPER-MEX、室町機器) を用いて、投与後 2 時間 (回復試験期間中はおよそ投与時刻に相当する時間から 2 時間) の自発運動量 (位置移動回数および立ち上がり回数) を測定した。

4) 体重測定

投与第 1 週は投与第 1、2 および 4 日、第 2 週以降回復試験第 2 週まではそれぞれの週の第 1 日と第 4 日の毎週 2 回の頻度で、いずれも投与前に全例の体重を測定した。

また、投与期間終了日 (投与第 28 日) および回復試験期間終了日 (回復試験第 14 日) に測定したほか、器官重量の比体重値算出用 (10) 病理学検査の項を参照) に剖検日にも体重を測定した。

5) 摂餌量測定

全例について、投与第 1 週では、投与第 1 日から 2 日にかけて 1 日あたりの摂餌量を測定し、以後回復試験第 2 週まで毎週 1 回の頻度で、それぞれの週の第 1 日から第 2 日にかけて 1 日あたりの摂餌量を測定した。

6) 尿検査

投与第 4 週 (投与直後) および回復試験第 2 週に全例を代謝ケージに収容し、投与後 4 時間 (採取できない個体については最大 6 時間まで延長した) および 24 時間の時点で尿を採取して以下の項目について検査した。

採尿	項目	測定法	使用機器
4 時間	色調・混濁度 pH・蛋白・ケトン体・ビリルビン・ 糖・潜血・ウベリノゲン	視診 試験紙法	クリニテック 200+ (バリエル・三共)
24 時間	沈渣 尿量 比重	鏡検 計量 重量法	光学顕微鏡 天秤 天秤

7) 採血

定期解剖例全例を、採血前 (屠殺剖検前) に 18~20 時間絶食させた。その後、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で、腹部後大静脈から次頁の順序で採血した。また、採血は可能な限り、各群 1 匹ずつ (投与期間終了時、雄では対照群から低、中、高用

量群の順、雌では対照群から低、対照、中、高用量群の順または対照、低、中、対照、高用量群の順、回復試験期間終了時は対照群と高用量群の交互)、いずれも動物番号の若いほうから選抜して行った。

① 血液学検査用採血 (抗凝固剤: クエン酸ナトリウム)

② 血液学検査用採血 (抗凝固剤: EDTA-2K)

③ 血液生化学検査用採血 (抗凝固剤: ヘパリン)

8) 血液学検査

定期解剖例全例について、上記 7) 採血の項②で採取した血液を用い、以下の項目について検査した。

項目	測定法	使用機器
赤血球数 (RBC)	電気抵抗法	血液自動分析装置 CELL-DYN3500SL (ダイボット)
白血球数 (WBC)	フローサイトメトリ・レーザー光散乱法 ／電気抵抗法	同上
白血球分類	フローサイトメトリ・レーザー光散乱法	同上
血色素量 (Hb)	吸光度法	同上
血小板数	電気抵抗法	同上
平均赤血球容積 (MCV)	同上	同上
ヘマトクリット値 (Ht)	計算 ($RBC \times MCV \times 0.001$)	同上
平均赤血球血色素量 (MCH)	計算 ($Hb \times 1000 / RBC$)	同上
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	計算 ($Hb \times 100 / Ht$)	同上
プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出法	全自動血液凝固測定装置 CA-1000 (東亜医用電子)
活性部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	同上	同上

ただし、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間は、7) 項①で採取した血液から血漿を分離して測定に用いた。なお、白血球分類は、血液自動分析装置により自動的に行い、検査の補助として作製した静脈血塗抹標本 (Wright-Giemsa 染色) の観察は行わなかった。

9) 血液生化学検査

定期解剖例全例について、前頁 7) 採血の項③で採取した血液から血漿を分離し、次頁の項目について検査した。

項目	測定法	使用機器
総蛋白濃度	ビuret法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS-FARA(ロシュ)
アルブミン濃度	BCG 法	同上
総コレステロール濃度	COD・HDAOS 法	同上
ブドウ糖濃度	ギタナーゼ G6PDH 法	同上
尿素窒素濃度(BUN)	ウレアゼ G1. DH 法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé 法	同上
ALP 活性	GSCC 法	同上
GOT (AST)活性	IFCC 法	同上
GPT (ALT)活性	同上	同上
γ-GTP 活性	同上	同上
コリンエステラーゼ活性	ブチルチオコリン基質法	同上
トリグリセライド濃度	GPO・HDAOS 法、グリセリン消去法	同上
総ビリルビン濃度	アゾビリルビン変法	同上
無機リン濃度	モリブデン酸直接法	同上
カルシウム濃度	OCPC 法	同上
A/G 比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05 (A&T)
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

10) 病理学検査

定期解剖例全例について、7) 項の採血後、必要に応じて腋窩動脈を切断して放血屠殺し、剖検して器官および組織の肉眼的観察を実施した。また、各動物の以下に示す器官の重量(実重量)を測定したほか、各器官の重量を剖検日の体重で除して比体重値(相対重量)を算出した。死亡例は、発見後、速やかに剖検して器官組織の肉眼的観察を実施した。

重 量 測 定 器 官

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、胸腺、脾臓、脳、心臓

全例について、肉眼的観察に引き続き、次頁の表に示す器官あるいは組織を固定保存した。なお、固定液としては、精巣および精巣上体はブアン液、その他の器官・組織ならびに精巣および精巣上体の長期保存には 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液を選択した。また、肺は、固定液を気管より注入して膨らませてから浸漬した。さらに、投与期間終了時の対照群および高用量群の*印を付した器官・組織をパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した後、光学顕微鏡を用いて病理組織学的に検査した。この検査の結果、肝臓、腎臓および脾臓では、被験物

質投与に起因した可能性のある変化が認められたため、回復試験群を含むこの他の群でも組織学検査を実施した。腎臓の所見をPAS染色で、脾臓の所見をベルリンブルー染色でそれぞれ確認するため、雄の回復試験群を含む雌雄の対照群および高用量群について、肝臓、腎臓および脾臓（同一標本）の切片にこれら特殊染色を施し、鏡検して所見の記載に反映させた。

固定保存器官・組織

肉眼的病変部*、脳*、脊髄*、肝臓*、腎臓*、副腎*、脾臓*、心臓*、胃*、小腸（十二指腸、空腸、回腸*）、大腸（結腸*、直腸）、胸腺*、甲状腺*、気管*、肺（気管支を含む）*、生殖腺（精巣*、卵巣*）、副生殖器（精巣上体*、前立腺*、子宮*、精嚢、陰）、膀胱*、リンパ節（腸間膜リンパ節*、下顎リンパ節*）、坐骨神経*（腓腹筋*を含む）、大腿骨および骨髓*、大動脈、舌、食道、脾臓、顎下腺*、舌下腺*、下垂体*、上皮小体

7. データの解析

各検査値の解析は、以下の手順で行った。いずれの場合も有意水準は5%とした。

1) 定量的検査値

体重、摂餌量、尿量、尿比重、握力、自発運動量（10分毎および60分毎）、ならびに定期解剖例の血液学検査値、血液生化学検査値および器官重量の各測定値については、各群ごとに平均値および標準偏差を求めた。次に試験群の構成により手法を選択し、対照群と被験物質投与群との間の平均値の差を検定した。

投与期間および投与期間終了時の各値（対照群を含めて4群）については、まず、Bartlettの方法により分散の一樣性について検定を行った。次いで、分散が一樣であった場合には一元配置型の分散分析を行い、群間に有意性が認められた場合は、Dunnett法により多重比較を行った。一方、分散が一樣でなかった場合はKruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett型の検定法で多重比較を行った。ただし、いずれかの群で分散が0となった場合には、Bartlettの検定は行わずにKruskal-Wallisの順位検定を行い、同様に多重比較を行った。回復試験期間および回復試験期間終了時の各値（対照群を含めて2群）については、F検定を行い、等分散の場合はStudentのt検定、不等分散の場合にはAspin-Welchのt検定を行った。ただし、どちらかの群で分散が0となった場合、t検定は実施しなかった。

2) 半定量的検査成績

尿の試験紙による検査成績、尿の色調および濁度については、試験群の構成により手法を選択し、対照群と被験物質投与群との間のグレードの差を検定した。

投与第 4 週に得られた各検査値は、下表に示す列の累積または分割表を用いる χ^2 検定を行い (pH、雄の尿蛋白については実施せず)、有意性が認められた場合には、Dunnett 型の検定法により多重比較を行った。ただし、雌雄の色調、濁度、ブドウ糖、ビリルビンおよび雄のウロビリノーゲンは、全群を通して分散が 0 となったため、検定を行わなかった。また、 2×2 の分割表の場合、対照群および被験物質投与群、陰性および陽性で 2 分した。回復試験第 2 週に得られた各検査値は、下表に示す Wilcoxon の順位和検定を行った。ただし、色調、濁度、ブドウ糖、ビリルビンおよびウロビリノーゲンは、全体の分散が 0 となったため検定を実施しなかった。

項目	検定方法			
	3 群以上あるとき		2 群間	
	χ^2	順位化 Dunnett	Wilcoxon	順位和
pH	(実施しない)	両側		両側
蛋白 (雄)	(実施しない)	両側		両側
蛋白 (雌)	列の累積	片側		-
ケトン体	列の累積	片側		片側
潜血	分割表 (2×2)	片側		片側
ウロビリノーゲン	列の累積	片側		-

3) 病理組織学検査所見

グレード分けしたデータは Mann-Whitney の U 検定により、また陽性グレードの合計値は Fisher の直接確率の片側検定により、対照群と各被験物質投与群との間の有意差検定を行った。

【結 果】

1. 死亡例

400 mg/kg 投与群では、投与第 11 日に雌 1 例、第 15 日に雄 2 例および雌 1 例、第 18 日に雄 1 例および雌 2 例、第 25 日に雌 1 例の計雄 3 例および雌 5 例が死亡した。対照群を含むこの他の群で死亡例はなかった。なお、死亡例は、いずれも投与液量の変更日（体重測定日）に認められた。

2. 一般状態 (Table 1、Appendix 1)

100 および 400 mg/kg 投与群の雌雄で、投与後断続的にケージ内を舐める動作および咀嚼様動作が投与第 1 日から観察された。この動作は、多くの場合、投与後数分から認められ、投与後約 2 時間までに回復が確認されたが、投与第 9 日の投与後約 1 時間 30 分に観察された雌 1 例および投与第 17 日の投与後約 1 時間 50 分に観察された雄 1 例では、投与後 3 時間に回復が確認された。400 mg/kg 投与群では、雌雄で間代性ないし強直性痙攣、攣縮、振戦、異常発声および蒼白、それに続く喘ぎ呼吸、呼吸数減少、呼吸深大および腹臥位姿勢が、雌で活動性の低下が投与第 4 日から散見された。これら痙攣、攣縮および振戦等は、投与後約 20 分から 40 分の間に発現し、投与後約 1 時間までに回復が確認された。また、喘ぎ呼吸、呼吸数減少、活動性の低下および腹臥位姿勢等もその後速やかに回復したが、投与第 4 日の投与後約 1 時間に痙攣が観察された雌 1 例では、全ての症状が回復したのが投与後約 2 時間 30 分であった。この他、400 mg/kg 投与群では、雌雄数例でうずくまりおよび閉眼が、雄 1 例で活動性亢進が、雌 1 ないし数例で走り回り、這いずり回り、眼球突出および紅涙が観察され、痙攣後に雄 1 例で歯肉の出血が、雌 1 例で投与前に異常呼吸音（グズグズ音）が認められた。死亡例では、痙攣後、呼吸数減少および腹臥位姿勢を呈し、投与後約 25 分から 45 分の間に死亡した。その他、400 mg/kg 投与群の雌 1 例で、投与第 7 日の投与直後に流涎、蒼白、発声、開口呼吸、もがきながらケージ内を跳ね回る動作が観察され、投与後約 30 分に流涎および顎すりが認められたが、全て投与後約 2 時間の観察で回復が確認された。この 1 例の変化は、投与直後に認められたこと、本被験物質は刺激性を有するということから、被験物質の神経系に対する作用ではなく、誤嚥あるいは胃管に付着した被験物質の刺激性に起因した変化であると考えられた。

400 mg/kg 投与群の雌雄では、投与第 2 週より、投与保定時ないし投与直後から流涎が観察された。この流涎は、多くの場合、投与後約 30 分までに消失し、100 mg/kg 投与群の雄 1 例でも認められた。一方、同群では、投与第 2 日より、投与直後には認められず、投与後約 30 分に表れる流涎も散見された。その他、25 mg/kg 投与群の雄 1 例で投与第 4 週に、400 mg/kg 投与群の雄 1 例で回復試験期間中に背部の皮膚に痂皮が観察されたが、背部の痂皮は、本試験に用いる同系統の動物で自然発生的に認められる変化であることから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

3. 詳細な臨床観察 (Table 2、Appendix 2)

400 mg/kg 投与群の雌雄において、一般状態観察と同様の痙攣、発声および流涎が認められた他、歩行不能等の歩行異常および探索行動の低下が観察され、雄で自発運動の亢進および軽度の立毛が、雌で振戦、蒼白、腹臥位姿勢、呼吸数の減少、徐脈、紅涙、眼球突出、撤去反射の低下ないし消失、耳介反射の鈍化、接触に対する反応の低下ないし無反応、自発運動の低下ないし消失が散見された。また、100 および 400 mg/kg 投与群の雌雄で、一般状態観察と同様の断続的なケージ内を舐める動作および咀嚼様動作が観察された。その他の項目では、対照群と被験物質投与群との間に差はなかった。なお、400 mg/kg 投与群の雌 3 例は、詳細な臨床観察中に痙攣が発現し、その後呼吸停止に至り死亡したため、該当観察日のデータを収集することができなかった。

回復試験期間中の検査では、対照群と被験物質投与群との間に差はなかった。

4. 機能検査 (Fig. 1、Table 3、Appendix 3)

1) 驚愕反応、視覚定位、対光反射および正向反射

回復試験期間も含めて、全ての動物が正常な反応を示した。

2) 握力測定

回復試験期間も含めて対照群と被験物質投与群との間に有意差はなかった。

3) 自発運動量測定

投与第 4 週の検査では、10 分間毎に比較した場合、400 mg/kg 投与群の雄で投与後 50 分および 100 分からの 10 分間で位置移動回数が有意に増加し、100 分からの 10 分間では立ち上がり回数も有意に増加した。また、100 mg/kg 投与群の雌で投与後 20 および 90 分からの 10 分間の立ち上がり回数が有意に増加した。測定時間を前後半の 60

分間に区切って比較した場合、後半の 60 分間で 400 mg/kg 投与群の雄で位置移動回数が有意に増加し、雌でも増加する傾向にあった。同群の雄では、投与後 120 分間の総運動量についても位置移動回数が有意に増加した。投与第 4 週の検査では、この他に対照群と被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

回復試験第 2 週の検査では、400 mg/kg 投与群の雄で、測定開始後 90 分からの 10 分間の位置移動回数が有意に低下した。通常、明期に測定機への移動と同時に運動量測定を開始した場合、時間経過に伴って運動量は減少する⁵⁾。しかし、今回、対照群ではこの時間帯の位置移動回数が増加していることから、400 mg/kg 投与群の位置移動回数の低下を意味するものではないと判断した。この他には、対照群と比較して有意な変化はなかった。

5. 体重 (Fig. 2、Table 4、Appendix 4)

400 mg/kg 投与群の雌で、投与第 4 日に対照群と比較して有意に低値となった。この他には、回復試験期間も含めて、対照群と被験物質投与群との間に有意差はなかった。

6. 摂餌量 (Fig. 3、Table 5、Appendix 5)

400 mg/kg 投与群の雌雄で、投与第 1 日から 2 日にかけて測定した投与第 1 週の摂餌量が、対照群と比較して有意に減少した。この他には、雌雄とも観察期間中を通して対照群と被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

7. 尿検査 (Table 6、Appendix 6)

投与第 4 週の検査では、対照群と被験物質投与群との間に有意差はなかったが、代謝ケージに収容後、痙攣が認められた 400 mg/kg 投与群の雌 1 例 (F-51) では、中等度(++)の尿蛋白および重度(+++)の潜血が認められ、沈渣中には赤血球が確認された。また、25 mg/kg 投与群の雄 2 例 (M-12 および 13) で中等度の潜血となり、うち 1 例では、沈渣中に赤血球が確認されたが、この赤血球が観察された 1 例は、背部に痂皮が認められていたこと、25 mg/kg 投与群では、潜血と関連するような腎臓および血液性状の変化は認められていないことから、被験物質投与に起因した変化ではないと考えられた。

回復試験第 2 週の検査でも、400 mg/kg 投与群の雄 1 例で軽度の潜血が認められ、沈渣中に赤血球が確認されたが、この個体も背部に痂皮が観察されていることから、被験

物質投与に起因した変化ではないと考えられた。この他に対照群と被験物質投与群との間に有意差はみられず、尿沈渣の所見にも明らかな差はなかった。

8. 血液学検査 (Table 7、Appendix 7)

投与期間終了時剖検例では、400 mg/kg 投与群の雌において、白血球数が有意に増加した。しかし、1 例を除き対照群と同程度の値を示し、この 1 例を含めて白血球百分比に変化はなかったため、偶発的な有意差であると判断した。

回復試験期間終了時剖検例では、対照群と被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

9. 血液生化学検査 (Table 8、Appendix 8)

投与期間終了時剖検例では、400 mg/kg 投与群の雌雄で、塩素濃度が有意に低下した。400 mg/kg 投与群では、雄でナトリウム濃度が有意に低下し、雌では総コレステロール濃度およびブドウ糖濃度が有意に上昇したほか、コリンエステラーゼ活性が低下する傾向にあった。また、100 mg/kg 投与群の雌でトリグリセライド濃度が有意に上昇し、400 mg/kg 投与群の雌でも高い傾向にあった。この他、25 および 400 mg/kg 投与群の雌のクレアチニン濃度の低下、25 mg/kg 投与群の雄のカルシウム濃度の低下、100 mg/kg 投与群の雄のアルブミン濃度の低下がそれぞれ有意な変化となったが、いずれも用量依存性はなく、関連パラメータの変化も認められなかったため、被験物質投与による影響ではないと判断した。

回復試験期間終了時剖検例では、対照群と被験物質投与群との間に有意な変化はなかった。

10. 病理学検査

1) 器官重量 (Table 9・10、Appendix 9・10)

投与期間終了時剖検例では、400 mg/kg 投与群の雌雄で肝臓の相対重量が有意に増加し、雄で腎臓の相対重量が、雌で副腎の実重量および相対重量が有意に増加した。この他、25 mg/kg 投与群の雌でも副腎の実重量が有意に増加したが、1 例を除き対照群の値の範囲内にあったこと、組織学的に変化が認められなかったことから、偶発的な有意差であると判断した。この他に対照群と被験物質投与群との間に有意差はなかった。

回復試験期間終了時剖検例では、400 mg/kg 投与群の雄で、脾臓の相対重量が有意に増加したが、この他に対照群と被験物質投与群との間に有意差はなかった。

2) 剖検所見 (Table 11、Appendix 11)

投与期間終了時剖検例において、400 mg/kg 投与群の雄 1 例で肝臓の大型化が観察され、25 mg/kg 投与群の雌 1 例で脾臓の小型化が観察された。この他に、雌雄各群とも回復試験期間終了時剖検例を含めて変化は観察されなかった。

400 mg/kg 投与群で認められた雄 3 例および雌 5 例の死亡例では、肝臓の大型化が雄 1 例および雌 4 例で観察された他、腎臓の大型化が雄 1 例および雌 2 例に、肺の暗赤色部が雄の 1 例に、気管の内容物として泡沫液が雄の 1 例に認められた。

3) 組織学検査所見 (Table 12、Appendix 12、Photo 1、2)

① 投与期間終了時剖検例

投与期間終了時屠殺剖検例において、主として腎臓、肝臓、副腎および脾臓に以下に示す変化が観察された。

腎臓では、400 mg/kg 投与群において、集合管上皮細胞の空胞化が雄全例で中等度の、雌 3 例で軽度から中等度の変化として観察され (Photo 1 および 2)、雄で発生頻度および変化の程度が、雌で発生頻度がそれぞれ有意に増加した。また、400 mg/kg 投与群の雄 1 例で髄質の嚢胞が観察されたが、今回試験に用いた系統のラットでは、自然発生的にまれに認められることが報告されていることから⁶⁾、被験物質投与による変化ではないと判断した。この他、雌雄の対照群および被験物質投与群で軽微な好塩基性尿細管およびリンパ球浸潤が散見され、雄の各群で硝子滴が認められたが、対照群と被験物質投与群との間に差がなかったことから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

肝臓では、400 mg/kg 投与群の雌 2 例および剖検時に肝臓が大型化していた雄 1 例において、軽微な小葉中心性の肝細胞肥大が観察され、このうち雌 1 例では、肝細胞の分裂像が僅かに観察された。この他、対照群を含む雌雄各群で門脈周囲性の軽微から軽度の肝細胞脂肪化が、100 mg/kg 投与群を除く雌の各群で単細胞壊死が観察され、対照群および 400 mg/kg 投与群の雄各 1 例で小肉芽腫が認められたが、いずれも被験物質投与群で増強していないことから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

副腎では、400 mg/kg 投与群の雌 2 例で束状帯の軽微な肥大が観察された。

脾臓では、対照群を含む雌雄全例で髄外造血が観察され、25 mg/kg 投与群の雌 1 例および 400 mg/kg 投与群の雄 2 例で中等度の変化であったほかは、いずれも軽微から軽度の変化であった。また、雌雄各群で軽微から軽度のヘモジデリン沈着が認められたが、対照群と被験物質投与群とで発生頻度および程度ともに差がないことから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。なお、剖検時に脾臓の小型化が観察された 25 mg/kg 投与群の雌 1 例では、軽微な髄外造血およびヘモジデリン沈着以外に所見はなかった。

この他、対照群および 400 mg/kg 投与群では、雄の各 1 例で前立腺の軽微なリンパ球浸潤が観察され、雌の各 1 例で胸腺の軽微な出血が認められたが、どちらも対照群との間に差が認められなかったことから、被験物質投与による変化ではないと判断した。

② 死亡例 (400 mg/kg 投与群の雄 3 例および雌 5 例)

死亡例では、投与期間終了時剖検例と同様の変化が、腎臓、副腎および脾臓に観察されたほか、肺および胸腺などにも変化が観察された。

腎臓では、集合管上皮細胞の空胞化が雄全例で中等度の、雌 3 例で軽微から中等度の変化として観察された。また、雌雄で軽微な好塩基性尿細管が散見されたほか、雄 1 例で硝子滴が雌 1 例で嚢胞が観察されたが、これらは投与期間終了時剖検例の対照群で認められた変化、あるいは今回試験に用いた系統のラットでは、自然発生的に認められる変化であることから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

副腎では、雌 2 例で束状帯の軽微な肥大が観察された。

脾臓では、雌雄全例で髄外造血が観察され、雄 2 例で中等度の所見であったほかは軽微から軽度の所見であった。また、雌 2 例で軽微なヘモジデリン沈着が認められたが、投与期間終了時剖検例の対照群でも認められたことから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

肺では、剖検時に暗赤色部および気管内泡沫液が認められた雄 1 例で、軽度の肺胞出血および軽微な水腫が観察された。

このほか、雄 2 例雌 1 例で胸腺の軽微ないし軽度の出血および充血が観察された。また、雄 1 例で軽微な精巣上体管腔内細胞残屑が認められたが、今回試験に用いた系統のラットでは、自然発生的に散見される所見であることから⁷⁾、被験物質投与

による変化ではないと判断した。なお、肉眼的に大型化が観察された肝臓では変化は観察されなかった。

③ 回復試験期間終了時剖検例

回復試験期間終了時剖検例では、主として腎臓、肝臓および脾臓に以下に示す変化が観察された。

腎臓では、対照群および 400 mg/kg 投与群で軽微な好塩基性尿細管が観察されたが、対照群と被験物質投与群との間に頻度および程度とも差はなく、被験物質投与に起因した変化ではないと考えられた。また、400 mg/kg 投与群の 1 例でリンパ球浸潤が、2 例で硝子滴が認められたが、いずれも投与期間終了時剖検例の対照群および被験物質投与群で散見された所見であり、軽微な変化であることから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

肝臓では、対照群および 400 mg/kg 投与群において、全例で門脈周囲性の肝細胞脂肪化が観察され、単細胞壊死および微小肉芽腫が散見されたが、いずれも対照群および被験物質投与群との間に差はなく、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

脾臓では、対照群および 400 mg/kg 投与群の全例で髄外造血が観察され、400 mg/kg 投与群で程度が有意に増強した。ヘモジデリン沈着も対照群を含む全例で観察されたが、対照群と被験物質投与群との間に程度の差はなく、被験物質投与に起因した変化ではないと考えられた。

回復試験終了時剖検例では、このほかに変化は観察されなかった。

【 考 察 】

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノール (DBAE) を 25、100 および 400 mg/kg の用量で雌雄の Sprague-Dawley 系ラットに 28 日間反復経口投与した結果、神経症状が観察され、主として腎臓、肝臓および副腎に変化が認められた。

400 mg/kg 投与群では、雌雄で投与後約 20 分から 40 分の間に間代性痙攣、振戦および異常発声などが観察され、次いで呼吸数減少、腹臥位姿勢および活動性低下が観察された。DBAE は、コリンエステラーゼ (ChE) 活性を阻害することが知られており^{1,2,8)}、末梢性および中枢性に ChE 活性阻害作用を示すことが確認されている²⁾。また、DBAE 投与により ChE 活性阻害作用に起因する痙攣および呼吸抑制などの神経症状が認められることが報告されている²⁻⁴⁾。本試験では 400 mg/kg 投与群の雌で ChE 活性が低下しており、一方で ChE 合成阻害を示唆するような肝機能障害 (後述) は認められていないことから、痙攣および呼吸数減少などの神経症状は、DBAE の ChE 活性阻害作用に起因した変化であると考えられた。この他、詳細な臨床観察において散見された徐脈、紅涙、眼球突出、探索行動の低下および軽度の立毛などの神経症状も ChE 活性阻害作用に関連した変化である可能性が考えられた。

100 および 400 mg/kg 投与群で常同行動を示唆するケージ内を舐める動作および咀嚼様動作が観察され、400 mg/kg 投与群では投与後 50 分以降を主とした位置移動回数の増加も認められたことから、DBAE 投与による中枢神経系の興奮作用が示唆された。この運動量の増加は痙攣などの神経症状に比べて発現が遅かったことから、作用機序が異なる可能性がある。しかし、400 mg/kg 投与群では活動性の低下などの運動量増加と相反する変化が認められていたこと、100 mg/kg 投与群の雌で投与後 20 分から 10 分間の立ち上がり回数が増加したこと、ChE 活性阻害作用は投与量あるいは時間経過とともに多様な神経症状を呈することから、運動量増加を含めた中枢神経系興奮様作用も、DBAE の ChE 活性阻害作用に関連した変化の一つであることが推測された。

400 mg/kg 投与群では、痙攣後、呼吸数減少および腹臥位姿勢を呈した個体のうち、雄 3 例および雌 5 例が死亡した。死亡例では呼吸数減少および喘ぎ呼吸などの呼吸抑制が認められ、雄 1 例で気管内泡沫液ならびに肺胞出血および水腫が観察されたこと、肺以外に死亡例で特徴的な変化は観察されなかったこと、DBAE をラットに単回投与した試験では、人工呼吸により死亡が回避されていることから³⁾、本試験の死因は呼吸抑制による窒息であ

ることが推測された。呼吸抑制の原因としては、呼吸中枢抑制あるいは末梢性の呼吸筋抑制が考えられるが、本試験結果からはそのどちらであるか判断できなかった。また、雄 2 例雌 1 例で認められた軽度の胸腺の出血および充血は、瀕死状態下における 2 次的変化であると考えられた。なお、死亡例はいずれも投与液量が更新される体重測定日、即ち、投与液量が増加する日に認められたこと、予備試験では 400 mg/kg を 1 週間投与しても痙攣などの重篤な神経症状は観察されなかったことから、400 mg/kg は最小致死量に近い値であると考えられた。

400 mg/kg 投与群では、投与第 2 週より、投与保定時または投与直後から流涎が観察された。この流涎は、投与後約 30 分の観察時に多くの個体で消失したが、一部の個体では継続して、あるいは新たに流涎が観察される場合もあった。投与後約 30 分までに消失した流涎は、投与開始より 1 週間以上経過してから発現したこと、投与前の保定の段階でも観察されたこと、本被験物質は刺激性を有することから、被験物質の物理的刺激による反射性の流涎であると考えられた。一方、投与後約 30 分に観察された流涎は、痙攣などのこの他の変化と同時間帯に観察されたこと、副交感神経興奮時にはしばしば流涎が認められることから、DBAE の ChE 活性阻害作用に関連した変化であると考えられた。

400 mg/kg 投与群では、雌雄の腎臓で集合管上皮細胞の空胞化が観察され、雄で腎重量が増加した。同群の雌では、副腎重量が増加し、一部の個体で束状帯の軽微な肥大が観察された。フィゾスチグミンなどの ChE 活性阻害薬やカルバコールなどのコリン作動薬は、視床下部-下垂体-副腎系を活性化し、バソプレッシン (VP) 分泌および副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 分泌を介したコルチコステロン (CORT) 分泌を促すことが知られている⁹⁻¹²⁾。また、VP は、集合管上皮細胞では抗利尿作用による水の再吸収像としての空胞化を引き起こす¹³⁾。これらのことから、本試験では VP や CORT などの血中ホルモン濃度を測定していないが、副腎および腎臓の変化は ChE 活性阻害作用に関連した変化であると推測した。なお、400 mg/kg 投与群では血漿中の塩素濃度低下を主とした血漿電解質濃度の変化が認められ、腎臓の所見との関連性が考えられるが、尿検査で変化は確認されなかった。また、尿検査時、代謝ケージ内で痙攣が認められた 400 mg/kg 投与群の雌 1 例において、尿蛋白および潜血が強度となり、沈渣中には赤血球が確認されたが、この例を含めて、腎障害の好発部位である近位尿細管に変化は認められず、空胞化が認められた集合管でも障害を示唆する再生像や細胞壊死などが認められなかったことから、尿検査時の変化は、腎障害よりも、痙攣および呼吸抑制などのストレスとの関連性が示唆された。

投与期間終了時剖検例の病理学検査では、400 mg/kg 投与群の雌雄で肝臓重量が増加し、一部の個体で軽微な小葉中心性の肝細胞肥大が観察された。また、雌では、100 および 400 mg/kg 投与群でトリグリセライド濃度が上昇し、400 mg/kg 投与群でブドウ糖濃度および総コレステロール濃度が上昇した。VP および CORT は、肝臓、筋肉あるいは脂肪組織に作用し、グリコーゲンの分解、糖新生あるいは脂質代謝などに影響を及ぼすことから¹⁴⁻¹⁶⁾、血液中のブドウ糖濃度および脂質系パラメータの変化は、VP および CORT と関連する可能性が推測された。肝臓重量の増加もこれらホルモンの作用に関連する可能性が考えられるが、一部の動物で小葉中心性の肝細胞肥大が認められていることから、肝臓における薬物代謝経路の活性化に起因する可能性も否定できない。今回認められた肝臓の変化は被験物質投与との関連性が示唆されるものの、その成因は不明であった。なお、400 mg/kg 投与群でアルブミン濃度の低下が認められず、他の検査項目でも肝機能障害あるいは肝臓の損傷を示唆するような所見は観察されなかったことから、肝臓の所見は、肝障害を示唆するような重篤な変化ではないと考えられた。

400 mg/kg 投与群では、反復投与初期に雌で体重増加抑制、雌雄で摂餌量の減少が認められた。予備試験でも同様の変化が認められていることから、体重増加抑制と摂餌量減少は被験物質投与による影響であると考えられた。

今回、血漿中ブドウ糖濃度および総コレステロール濃度の増加、副腎の病理学的変化は雌でのみ認められ、腎臓に関する所見は雄で強く認められた。これまでの考察から、これらの変化と ChE 活性阻害作用との関連性が推測される。また、中枢での ChE 活性阻害作用に起因したホルモンの分泌促進作用やレセプター発現には性差があることが報告されている⁹⁻¹¹⁾。以上のことから、被験物質は、糖質および脂質代謝、副腎、腎臓に対して雌雄で異なる作用を示したのではなく、中枢における ChE 活性阻害作用の性差に関連して、副腎や腎臓等での所見に雌雄差が認められた可能性が考えられた。また、投与期間終了時までには認められた神経系、腎臓および肝臓に対する変化はいずれも雄の回復試験期間終了時には確認されなかったことから、被験物質投与による影響は、14 日間の投与中止により回復することが推測された。

回復試験期間終了時屠殺例では、400 mg/kg 投与群の雄で脾臓の髄外造血の増強が認められ、脾臓重量も増加した。また、同群では、投与期間終了時の 2 例および雄の死亡例 2 例で、中程度の髄外造血が認められた。しかし、血液学検査結果に被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められず、その他の関連パラメータにも変化が認められなかった。

ため、被験物質投与による影響であるか否か判断できなかった。

以上の結果から、本試験条件下における DBAE の無作用量は雌雄とも 25 mg/kg/day であると考えられた。また、振戦、痙攣および呼吸抑制などの神経症状、運動量増加や咀嚼様動作などの中枢神経興奮症状が表れること、肝重量の増加および肝細胞肥大ならびに腎重量の増加および集合管上皮細胞の空胞化が認められること、投与初期に摂餌量低下および体重増加抑制が、雌で副腎重量の増加、副腎束状帯の肥大が認められることなどが明らかとなった。しかし、各器官および組織に損傷性を示唆するような所見はなく、被験物質投与によると考えられる変化はいずれも 14 日間の投与中止により回復することが推測された。

【参 考 文 献】

- 1) 2-N-butylaminoethanol. in "Documentation of the threshold limit values for chemical substances" ACGIH, 7th ed. (2001)
- 2) Rolf, H., and Herbert, H.C.: Cholinesterase inhibition in the acute toxicity of alkyl-substituted 2-aminoethanols. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 12:486-494(1968)
- 3) Rolf, H., Lester, B.P., and Herbert, H.C.: Convulsions induced by 2-n-dibutylaminoethanol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17:337-343(1970)
- 4) Herbert, H.C., Thomas, D., and Lee, D.B: Oral and Inhalation toxicity of 2-n-dibutylaminoethanol. *Am. Ind. Hyg. Associ. J.* Jan.-Feb.:46-51(1969)
- 5) 森村智美: OECD 化学物質毒性試験法ガイドライン [407] 28 日間反復投与毒性試験における神経症状観察. 秦野研究所年報 26: 98-104(2003)
- 6) Noto, T., Oishi Y., Fujihira, S., et al: Spontaneous lesions in Crj:CD(SD)IGS rats versus in Jcl:SD rats used in toxicity studies -Histopathological findings. in "Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats-1999" Matsuzawa, T., Inoue, H., eds, CD(SD)IGS Study Group, Yokohama (1999) pp.106-118
- 7) Nagayabu, T., Kitazaki, T., Kandori, H., et al.: Background data for repeated-dose toxicity studies using Crj:CD(SD)IGS rats at the Hikari branch, Drug Safety Research Laboratories in Takeda Chemical Industries, Ltd. in "Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats-1999" Matsuzawa, T., Inoue, H., eds, CD(SD)IGS Study Group, Yokohama (1999) pp.74-88
- 8) 78. 2-ジブチルアミノエタノール「産業中毒便覧(増補版)」, 第2版(第7刷), 後藤桐, 池田正之, 原一郎編, 医歯薬出版, 東京(1994) pp1238-1239
- 9) Rhodes, M.E., O'Toole, S.M., Wright, S.L., et al: Sexual diergism in rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to cholinergic stimulation and antagonism. *Brain Res. Bull.* 54(1): 101-113(2001)
- 10) Rhodes, M.E., Balestreire, E.M., Czambel R.K., et al: Estrous cycle influences on sexual diergism of HPA axis responses to cholinergic stimulation in rats. *Brain Res. Bull.* 59(3): 217-225(2002)

- 11) Rubin, R.T., Abbasi, S.A., Rhodes M.E., et al: Growth hormone responses to low-dose physostigmine administration: functional sex differences (sexual diergism) between major depressives and matched controls. Psychol. Med. 33: 655-665(2003)
- 12) Imai, Y., Abe, K., Sasaki, S. et al.: Role of vasopressin in cardiovascular response to central cholinergic stimulation in rats. Hypertension 13(6): 549-557(1989)
- 13) Kirk, K.L.: Origin of ADH-induced vacuoles in rabbit cortical collecting tubule. Am. J. Physiol. 254: F719-F733(1988)
- 14) 「医科生理学展望」原書 18 版, 星猛, 林秀生, 菅野富夫ら共訳, 丸善, 東京 (1998)
- 15) Gary, Y.M., Douglas, A.H.: Inhibition of fatty acid synthesis and stimulation of glycogen breakdown by vasopressin in the perfused mouse liver. Biochem. J. 152:389-392(1975)
- 16) Nomura, H., Tachibana, M., Maekawa, H., et al.: Effects of vasopressin, angiotensin II and phenylephrine on hepatic ketogenesis and fatty acid synthesis. Japan. J. Pharmacol. 41:525-532(1986)

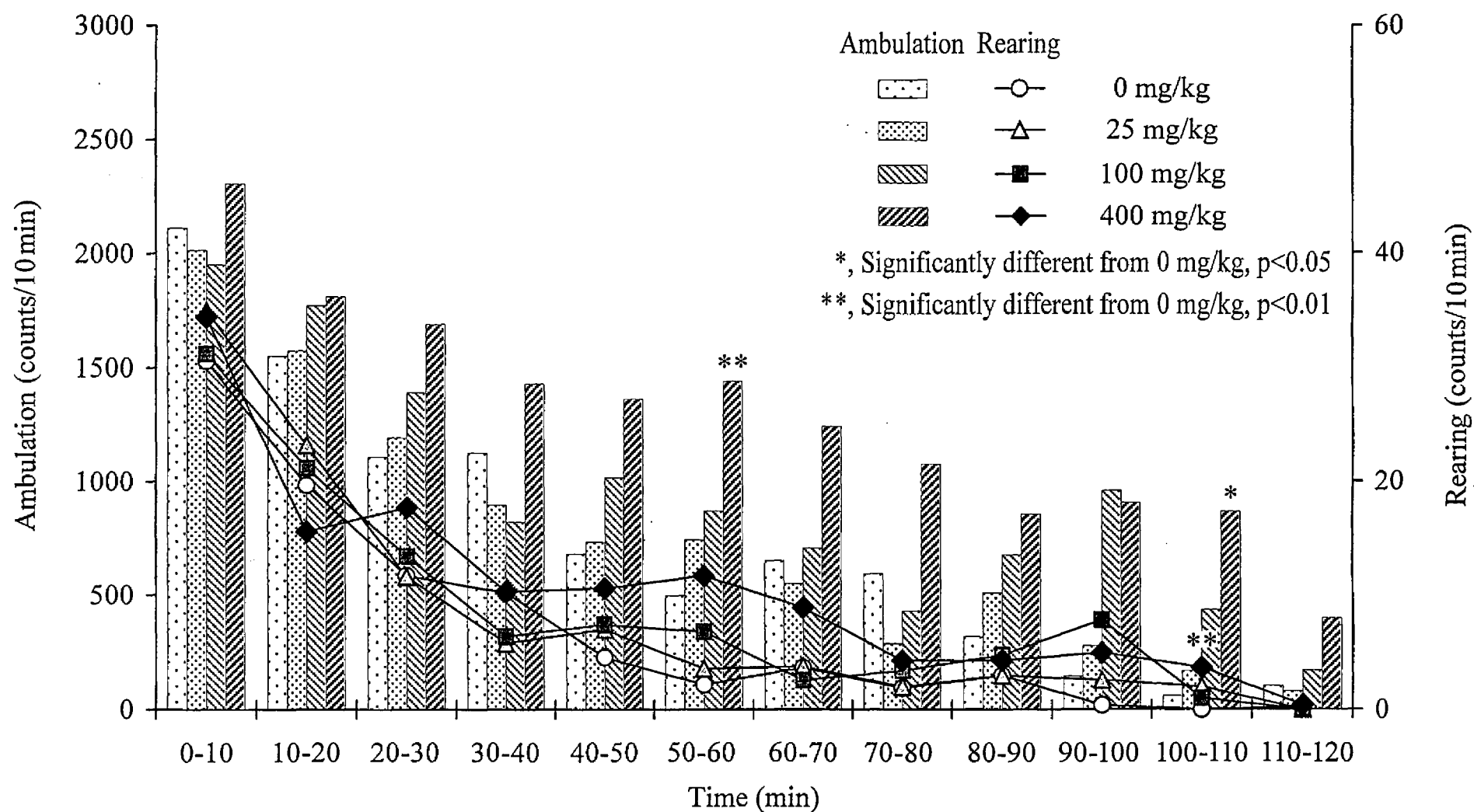


Fig. 1-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Functional observations in males in the 4th week of the dosing period (motor activity)

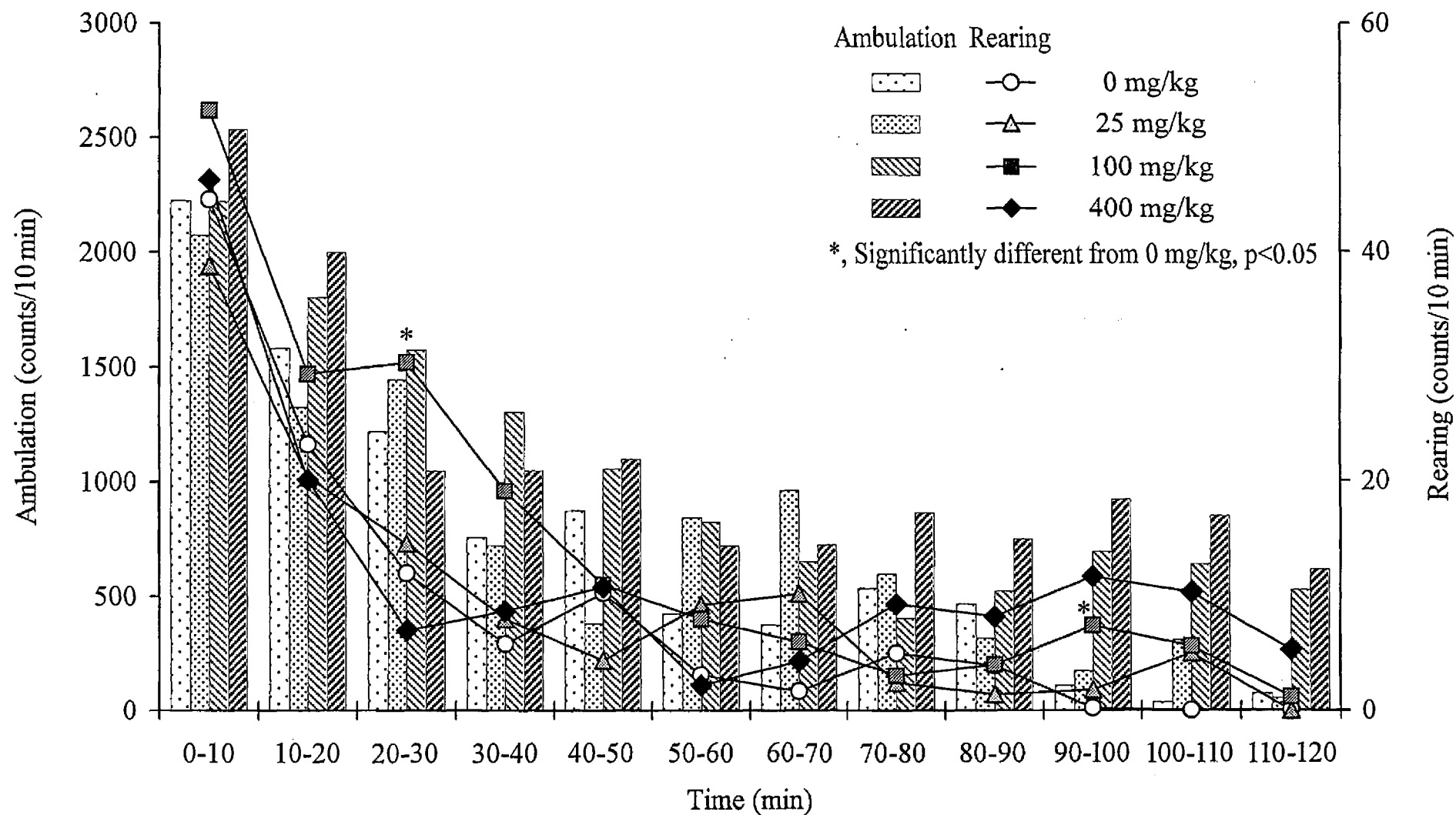


Fig. 1-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Functional observations in females in the 4th week of the dosing period (motor activity)

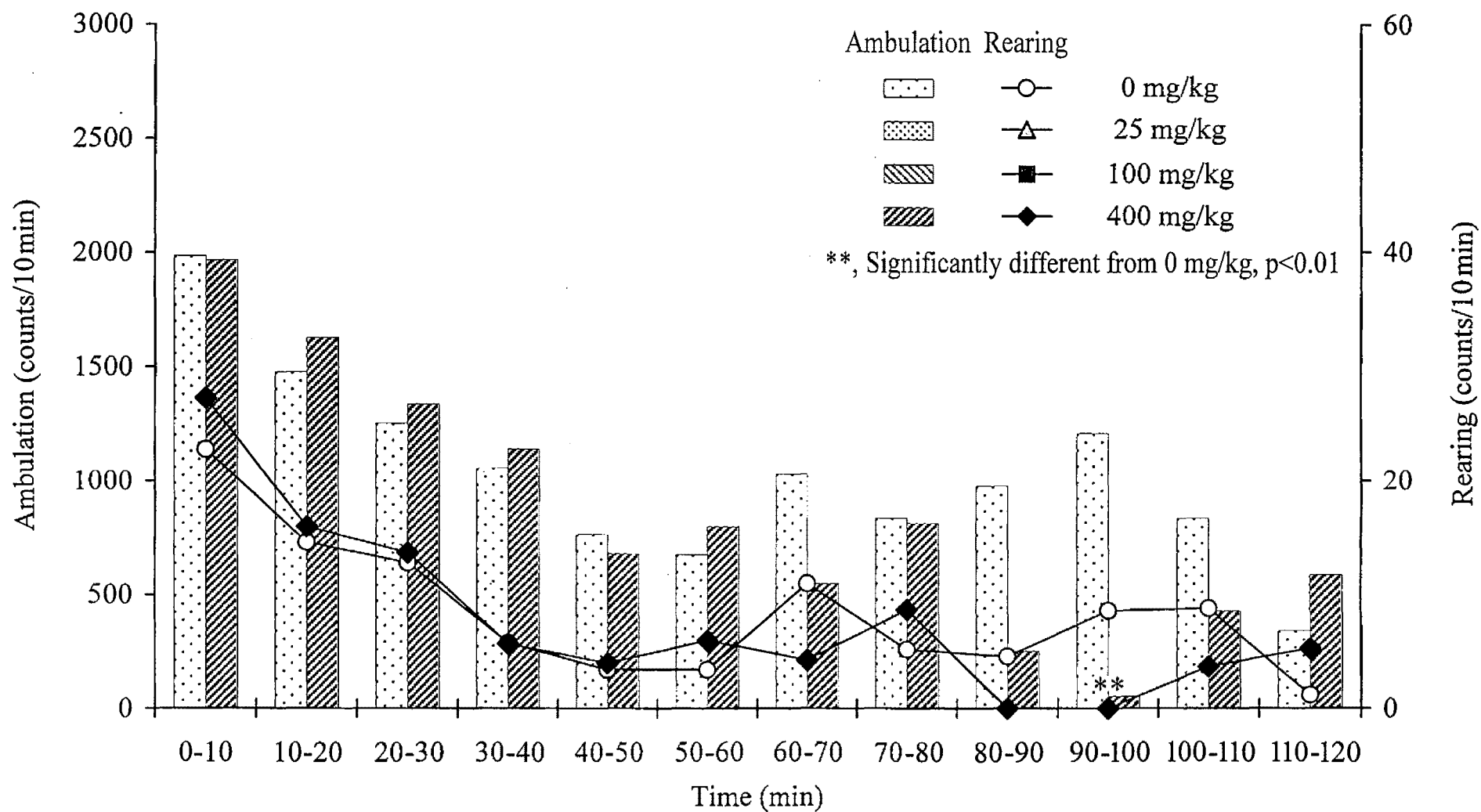


Fig. 1-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Functional observations in males at the 2nd week of the recovery period (motor activity)

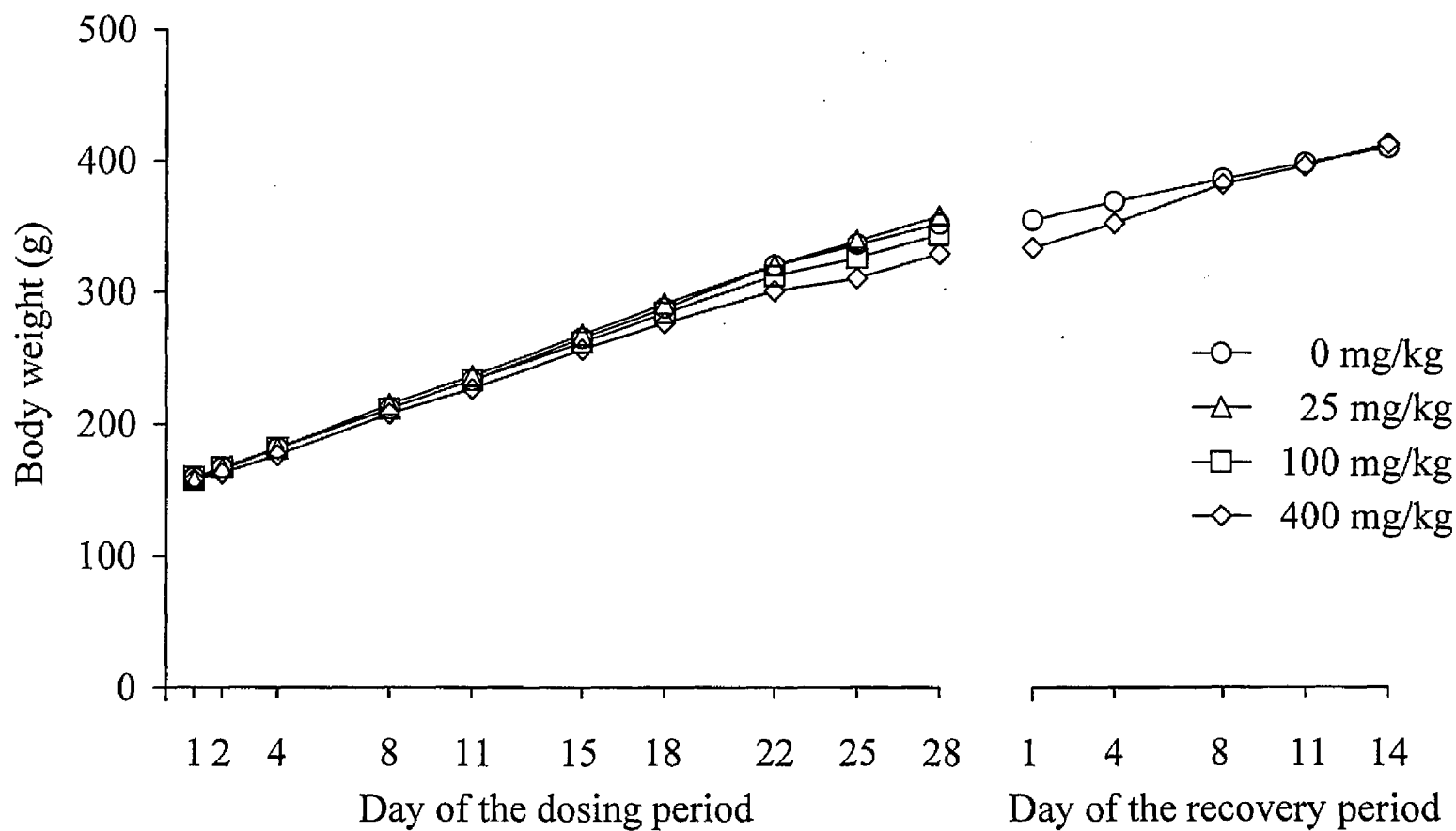


Fig. 2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Body weight changes in males

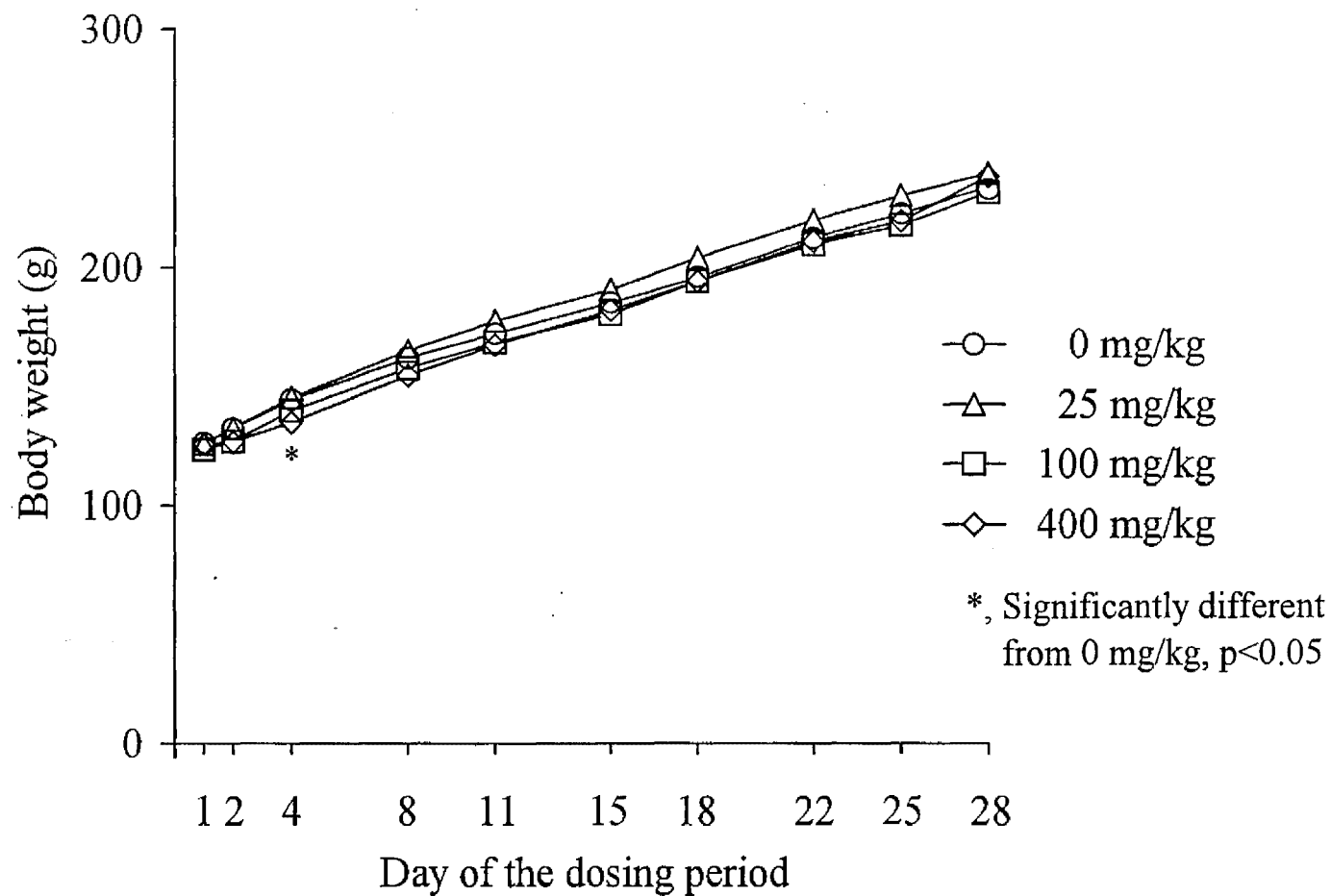


Fig. 2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Body weight changes in females

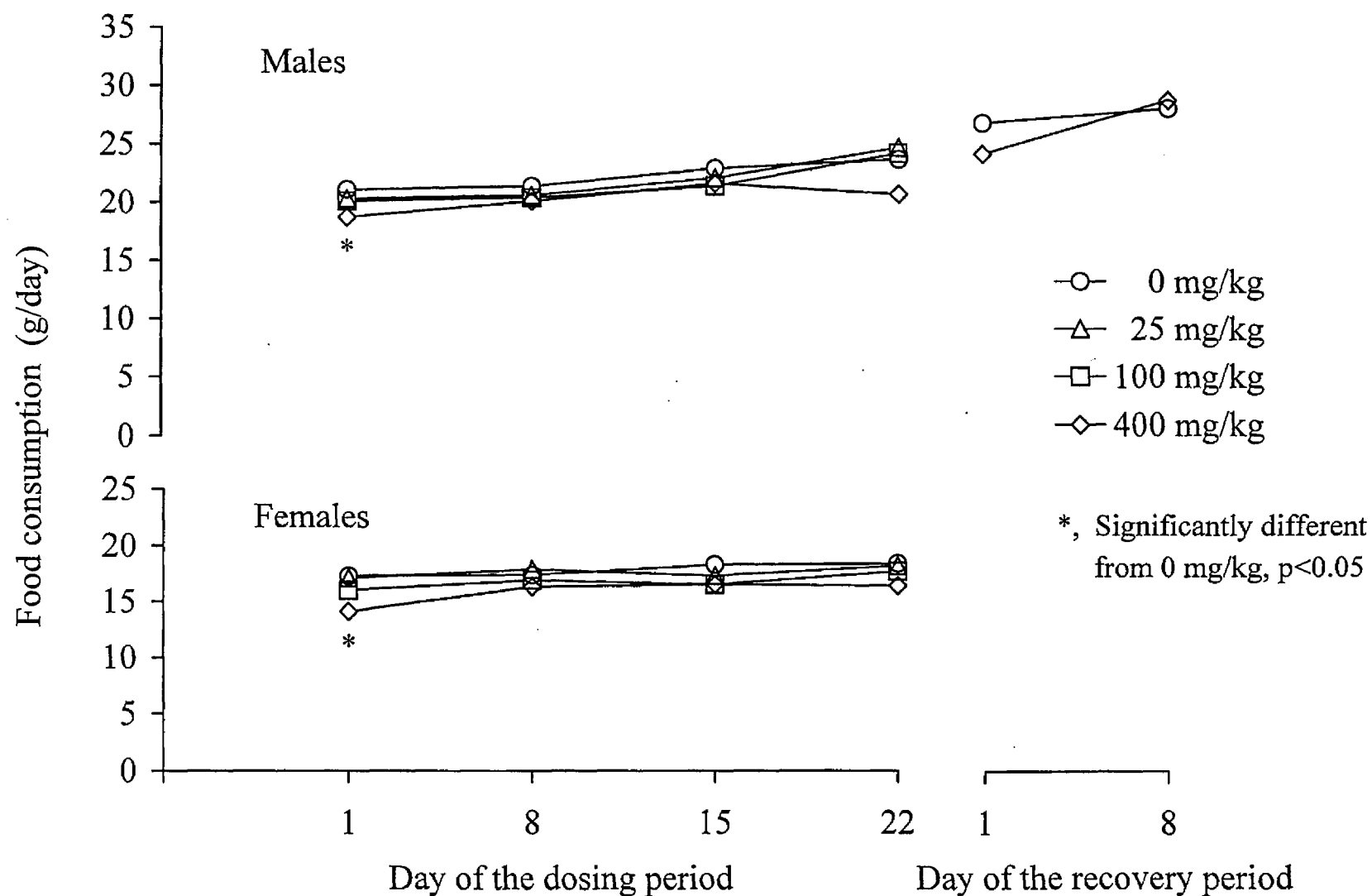


Fig. 3
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats
Food consumption in males and females

Table 1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Clinical signs in males

Dose (mg/kg)	Clinical signs	Day of the dosing period																												Day of the recovery period			Total	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	1-6	7-13	14		
0	Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5	5	10
	No abnormality in general condition																																	
25	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5				5	
	Crust formation on the shoulder	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-			1	
100	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5				5	
	Intermittent chewing/licking	2	3	1	2	-	-	2	3	4	3	2	1	-	4	3	4	3	4	1	1	2	5	2	1	-	2	1	2				5	
	Salivation immediately after administration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				1	
400	Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	8	8	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	3	3	3	10	
	Intermittent chewing/licking	9	9	10	9	5	9	9	10	9	9	7	8	7	8	10	5	6	5	2	-	5	6	4	4	1	3	3	2	-	-	-	10	
	Clonic convulsion	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	2	-	1	1	-	-	1	-	-	1	-	1	-	-	-	-	6		
	Twitch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
	Rest tremor	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
	Vocalization	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
	Prone position	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
	Crouching position	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
	Increase in locomotor activity	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
	Eyelid closure	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
	Hypopnea/ deep respiration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
	Gasping	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
	Pale color	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
	Salivation immediately after administration	-	-	-	-	-	-	-	1	-	3	3	1	2	6	2	4	5	3	3	5	4	6	5	4	3	3	3	6				9	
	Salivation was appeared about 30 minutes after administration	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-				4	
	Crushing of teeth was observed with gingival bleeding and redding after clonic convulsion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	1		
	Crust formation on the shoulder	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	

Parameter, number of animals with clinical signs

-, No animal showed the sign

Table 1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Clinical signs in females

Dose (mg/kg)	Clinical signs	Day of the dosing period																												Total	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
0	Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
	No abnormality in general condition																														
25	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	No abnormality in general condition																														
100	Number of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	Intermittent chewing/licking	3	3	4	2	1	1	1	4	5	5	2	2	1	3	5	5	4	1	-	1	1	2	2	-	2	1	-	2	5	
400	Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	8	8	8	6	6	6	6	6	6	5	5	5	10		
	Intermittent chewing/licking	10	10	10	9	5	7	9	9	6	9	9	8	8	9	9	8	6	3	1	1	1	5	1	-	3	2	3	2	10	
	Clonic convulsion	-	-	-	3	-	-	-	-	2	1	1	-	2	1	1	2	3	6	-	-	-	1	1	-	3	3	1	2	10	
	Tonic convulsion	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	3		
	Twitch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5		
	Rest tremor	-	-	-	2	-	-	-	1	1	-	2	-	-	2	2	1	2	2	-	-	-	-	1	-	1	1	1	-	8	
	Vocalization	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	1	-	1	-	2	3	-	-	-	1	1	-	2	3	-	1	9	
	Prone position	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1	3	5	-	-	-	-	1	-	1	2	-	-	9	
	Crouching position	-	-	-	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2	-	-	5	
	Decrease in movement	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1	2	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	1	-	2	-	1	-	9	
	Running	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	Crawling	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	Eyelid closure	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	Exophthalmos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	
	Reddish tear	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	
	Hypopnea/ deep respiration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1	1	-	-	1	-	-	4	
	Gasping	-	-	-	-	-	-	1 ^{a)}	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	3	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	6	
	Pale color	-	-	-	1	-	-	1 ^{a)}	-	1	1	1	-	-	-	1	1	3	3	-	-	-	1	1	-	-	2	-	-	8	
	Salivation immediately after administration	-	-	-	-	-	-	1 ^{a)}	-	-	3	2	2	1	4	-	3	4	4	4	3	4	5	4	6	3	4	2	4	3	8
	Salivation was appeared about 30 minutes after administration	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	4	
	Abnormal respiration before administration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	Chafed the lower jaw	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	

Parameter, number of animals with clinical signs - , No animal showed the sign

a) Vocalization, gasping, pale color, salivation and floundered with jumping was observed immediately after administration

Table 2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Detailed clinical observations in males

Observations	Score /code	Dose Period	0 mg/kg						25 mg/kg					100 mg/kg					400 mg/kg							
			Pre.	D1	D2	D3	D4	R1	R2	Pre.	D1	D2	D3	D4	Pre.	D1	D2	D3	D4	Pre.	D1	D2	D3	D4	R1	R2
Number of animals examined			10	10	10	10	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	10	10	10	8	7	3	3
Home cage observations																										
Posture	O		10	10	9	9	9	4	5	5	5	4	5	5	5	3	4	5	5	10	6	8	7	7	3	3
	R		-	-	1	1	1	1	-	-	-	1	-	-	-	2	1	-	-	-	4	2	1	-	-	-
Locomotor	-		9	1	3	2	5	1	-	4	2	-	-	1	2	-	-	1	1	7	-	-	-	-	-	1
	6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Chewing/licking	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	-	-	-	9	7	3	1	-	-
Responses to handling																										
Behavior while removing from cage	2		-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	1	2	1	1	1	4	2	1	-
Handling behavior	2		-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	2	-	1	3	3	2	-	1
Salivation	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	1	-
	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	2	-	-
	6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Observed at the outside of home cage																										
Posture	O		10	10	10	10	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	10	10	10	8	7	3	3
Exploration	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	2		-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-
Gait	4(D25)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Convulsion	8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Piloerection	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Urination (frequency/30sec.)	1		1	2	4	3	1	3	1	2	3	3	3	3	-	-	4	1	-	-	2	2	-	-	1	1
	2		-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	3		-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Defecation (frequency/30sec.)	1		2	1	3	3	-	2	2	2	-	2	3	-	-	-	1	-	2	3	2	-	-	1	-	1
	2		-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-
	≥3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Touch response	6		-	1	2	2	1	-	-	-	-	2	1	-	-	1	2	2	-	-	1	1	2	2	-	-
	8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-

Pre., during the acclimatizing period

D1-D4, in the week of the dosing period

R1,R2, in the week of the recovery period

Parameter, number of animals showed the signs

Chewing/licking: 4, observed

Posture: O, sitting or standing position; R, rearing

Locomotor: -, not determined due to the usual sleep; 6, increase

Behavior while removing from cage:

2, vocalization without resisting being picked up

Handling behavior: 2, vocalizes but dose not resist handling

Salivation: 2, very slight wet margo oral region;

4, wet zone margo mandibular area;

6, wet zone entire mandibular area

Gait: 4, abnormal walking moderately

D25, abnormal gait

Exploration: 0, disappearance; 2, decreased

Piloerection: 4, slight

Touch response: 6, slightly irritable reaction or freezes;

8, aggressive or violent reaction

Table 2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Detailed clinical observations in females

Observations	Score /code	Dose Period	0 mg/kg					25 mg/kg					100 mg/kg					400 mg/kg				
			Pre.	D1	D2	D3	D4	Pre.	D1	D2	D3	D4	Pre.	D1	D2	D3	D4	Pre.	D1	D2	D3	D4
Number of animals examined			10	10	10	10	10	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	10	10	9	6	6
Home cage observations																						
Posture	O		10	10	10	9	10	5	4	5	5	4	5	3	3	5	4	10	10	8	3	4
	R		-	-	-	1	-	-	1	-	-	1	-	2	2	-	1	-	-	1	-	1
	B01		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1
Locomotor	-		1	-	2	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-
	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-
	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1
Tremor	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Convulsion	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
	8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	1
Chewing/licking	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	8	6	1	1
Responses to handling																						
Behavior while removing from cage	2		2	3	3	1	3	3	-	1	-	1	1	1	1	2	2	1	2	3	3	2
Handling behavior	2		1	3	2	1	2	2	-	-	-	1	1	1	1	1	2	1	3	4	3	1
Heart beats	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Skin color/mucous membranes	K05		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Lacrimation	M22		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Exophthalmos	8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
Salivation	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	4
	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
	6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Observed at the outside of home cage																						
Posture	O		10	10	10	10	10	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	10	10	10	4	5
	R		-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B01		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-
Exploration	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
Gait	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
	8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Abnormal gait	D25		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	3	1
Tremor	4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-
Respiratory rate	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Abnormal respiration	F06		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Urination	1		2	4	1	1	-	-	-	1	1	-	3	-	1	1	-	1	3	2	-	1
	2		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Defecation	1		-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	1	-	-	1
	2		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Touch response	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
	6		-	3	2	2	2	-	-	2	-	1	-	1	1	2	-	-	5	4	1	1
Withdrawal reflex	0		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1
Pinna reflex	2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1

Pre., during the acclimatizing period
D1-D4, in the week of the dosing period
R1,R2, in the week of the recovery period

Posture: O, sitting or standing position; R, rearing;

B01, prone position

Locomotor: -, not determined due to the usual sleep;

0, none; 2, decrease

Tremor: 2, head, limbs or a part of body tremors;

6, body tremors moderate, impairs locomotion;

8, body tremors severe, prevents locomotion

Convulsion:

4, tonic/clonic convulsion is observed slightly;

8, tonic/clonic convulsion is observed clearly

Chewing/licking: 4, observed

Behavior while removing form cage:

2, vocalization without resisting being picked up

Handling behavior:

2, vocalizes but dose not resist handling

Heart beats: 0, bradycardia

Skin color/mucous membranes: K05, pale color

Lacrimation: M22, reddish tear

Exophthalmos: 8, exophthalmos

Salivation: 2, very slight wet margo oral region;

4, wet zone margo mandibular area;

6, wet zone entire mandibular area

Exploration: 0, disappearance; 2, decreased

Gait: 2, abnormal walking slightly;

4, abnormal walking moderately; 8, cannot walk

Abnormal gait: D25, abnormal gait

Respiratory rate: 2, slow

Abnormal respiration: F06, hypopnea

Piloerection: 4, slight

Touch response: 0, no reaction;

6, slightly irritable reaction or freezes

Withdrawal reflex: 0, disappearance

Pinna reflex: 2, decrease of response

Parameter, number of animals showed the signs

Table 3-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Functional observations in males and females (sensory reactivity to stimuli)

		Sex		Male				Female				
		Dose (mg/kg)	0		25	100	400		0	25	100	400
	Score	Period	D4	R2	D4	D4	D4	R2	D4	D4	D4	D4
Number of animals			10	5	5	5	7	3	10	5	5	5
Auditory												
Startle response	4		10	5	5	5	7	3	10	5	5	5
Visual												
Visual placing	4		10	5	5	5	7	3	10	5	5	5
Pupillary light reflex												
Direct		Right	10	5	5	5	7	3	10	5	5	5
		Left	10	5	5	5	7	3	10	5	5	5
Indirect		Right	10	5	5	5	7	3	10	5	5	5
		Left	10	5	5	5	7	3	10	5	5	5
Proprioceptive stimuli												
Righting reflex	4		10	5	5	5	7	3	10	5	5	5

Parameter, number of animals showed the signs

D4, in the 4th week of the dosing period
R2, in the 2nd week of the recovery period

Score 4, normal score

Table 3-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Functional observations in individual males and females (assessment of grip strength)

Sex	Dose (mg/kg)	Initial number ^{a)} of animals	In the 4th week of the dosing period		In the 2nd week of the recovery period	
			Forelimb	Hindlimb	Forelimb	Hindlimb
Male	0	10	1.039 ±0.089	0.359 ±0.071	0.937 ±0.124	0.389 ±0.076
	25	5	1.073 ±0.147	0.446 ±0.112		
	100	5	1.015 ±0.104	0.366 ±0.064		
	400	7	1.034 ±0.081	0.406 ±0.085	1.002 ±0.040	0.328 ±0.094
Female	0	10	0.961 ±0.116	0.297 ±0.086		
	25	5	1.016 ±0.079	0.423 ±0.121		
	100	5	0.923 ±0.050	0.371 ±0.096		
	400	5	1.024 ±0.139	0.373 ±0.062		

Parameter, mean (kgf) ± S.D.

a) The recovery test was performed in 5 and 3 males of the 0 and 400 mg/kg groups, respectively.

Table 3-3-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Functional observations in males (motor activity)

Time ^{a)} (min)	In the 4th week of the dosing period				In the 2nd week of the recovery period	
	0	25	100	400	0	400
Number of animals	10	5	5	7	5	3
Ambulation (counts/10min)						
0-10	2112 ±180	2014 ±196	1949 ±159	2306 ±423	1985 ±135	1967 ±150
10-20	1553 ±318	1574 ±284	1772 ±268	1810 ±421	1477 ±232	1626 ±178
20-30	1108 ±464	1192 ±403	1392 ±419	1689 ±507	1254 ±363	1337 ±130
30-40	1126 ±408	897 ±487	821 ±704	1431 ±545	1059 ±348	1141 ±172
40-50	679 ±448	732 ±679	1018 ±933	1364 ±566	766 ±428	679 ±609
50-60	498 ±421	743 ±629	870 ±843	1442 ±523**	675 ±647	799 ±688
60-70	651 ±620	551 ±425	708 ±797	1245 ±785	1031 ±654	550 ±501
70-80	594 ±560	288 ±372	430 ±676	1077 ±654	837 ±615	813 ±555
80-90	318 ±431	509 ±572	674 ±670	854 ±849	977 ±533	252 ±292
90-100	146 ±236	280 ±600	959 ±913	906 ±592	1207 ±305	53 ±73**
100-110	59 ±48	169 ±279	434 ±404	865 ±635*	834 ±647	429 ±655
110-120	105 ±243	81 ±57	173 ±204	396 ±556	343 ±569	588 ±867
Rearing (counts/10min)						
0-10	31 ±12	35 ±10	31 ±10	34 ±17	23 ±7	27 ±6
10-20	20 ±14	23 ±5	21 ±9	16 ±8	15 ±7	16 ±14
20-30	12 ±12	12 ±5	13 ±9	18 ±14	13 ±15	14 ±6
30-40	10 ±7	6 ±4	6 ±8	10 ±9	6 ±6	6 ±6
40-50	5 ±6	7 ±7	7 ±9	11 ±8	3 ±4	4 ±4
50-60	2 ±3	4 ±4	7 ±9	12 ±13	3 ±5	6 ±6
60-70	4 ±6	4 ±4	3 ±4	9 ±8	11 ±8	4 ±5
70-80	2 ±3	2 ±4	3 ±8	4 ±6	5 ±8	9 ±15
80-90	3 ±6	3 ±4	5 ±7	4 ±5	5 ±5	0 ±0
90-100	0 ±1	3 ±6	8 ±8	5 ±5	9 ±10	0 ±0
100-110	0 ±0	2 ±4	1 ±1	4 ±4**	9 ±10	4 ±6
110-120	0 ±1	0 ±0	0 ±0	0 ±1	1 ±3	5 ±9

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

a) These counts of each animal were started immediately after dosing(=time 0).

Table 3-3-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Functional observations in females (motor activity)

Time ^{a)} (min)	In the 4th week of the dosing period			
	0	25	100	400
Number of animals	10	5	5	6
Ambulation (counts/10min)				
0-10	2226 ±314	2072 ±333	2220 ±257	2536 ±239
10-20	1583 ±363	1325 ±733	1802 ±275	1998 ±308
20-30	1219 ±604	1444 ±401	1573 ±486	1047 ±657
30-40	759 ±544	722 ±451	1305 ±569	1049 ±632
40-50	873 ±608	380 ±301	1056 ±542	1100 ±690
50-60	424 ±655	843 ±626	823 ±766	719 ±590
60-70	374 ±648	963 ±815	651 ±715	722 ±705
70-80	534 ±548	596 ±763	403 ±671	864 ±859
80-90	466 ±534	316 ±524	520 ±738	748 ±870
90-100	109 ±139	172 ±243	693 ±406	920 ±957
100-110	37 ±43	308 ±617	638 ±720	847 ±933
110-120	75 ±129	56 ±64	525 ±709	615 ±629
Rearing (counts/10min)				
0-10	45 ±13	39 ±20	52 ±12	46 ±10
10-20	23 ±11	20 ±19	29 ±11	20 ±12
20-30	12 ±8	15 ±11	30 ±15*	7 ±9
30-40	6 ±9	8 ±10	19 ±9	9 ±5
40-50	10 ±12	4 ±4	11 ±3	11 ±12
50-60	3 ±8	9 ±7	8 ±8	2 ±3
60-70	2 ±5	10 ±11	6 ±8	4 ±5
70-80	5 ±6	2 ±3	3 ±7	9 ±14
80-90	4 ±6	1 ±3	4 ±6	8 ±12
90-100	0 ±1	2 ±4	7 ±6*	12 ±18
100-110	0 ±0	5 ±11	6 ±10	10 ±15
110-120	0 ±0	0 ±0	1 ±2	5 ±6

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

a) These counts of each animal were started immediately after dosing(=time 0).

Table 4-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Body weight changes in males

Dose (mg/kg)	Day of the dosing period									
	1	2	4	8	11	15	18	22	25	28
0	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
	157.6	165.6	181.8	211.6	233.4	265.3	287.6	319.9	335.9	351.7
	±5.6	±6.1	±7.9	±11.7	±13.7	±16.1	±20.8	±27.1	±29.1	±31.7
25	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
	157.9	167.4	181.7	215.0	236.7	268.0	290.9	320.3	338.8	357.4
	±5.9	±6.0	±7.7	±8.7	±10.0	±12.8	±16.9	±19.8	±22.8	±21.8
100	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
	159.8	167.1	181.9	211.6	233.5	262.0	283.9	312.0	325.9	343.4
	±3.2	±4.3	±6.0	±7.1	±9.3	±7.6	±9.8	±10.7	±14.7	±14.3
400	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(8)	(7)	(7)	(7)
	158.5	162.9	176.7	207.8	226.9	256.7	276.6	300.6	310.1	328.8
	±3.1	±4.3	±4.9	±6.8	±7.8	±10.1	±11.2	±19.9	±26.7	±25.1

Dose (mg/kg)	Day of the recovery period				
	1	4	8	11	14
0	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	349.9	363.7	381.2	393.2	405.1
	±35.1	±38.8	±43.4	±45.2	±48.0
400	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
	329.2	347.4	377.2	391.0	408.1
	±15.0	±17.4	±14.0	±13.6	±14.1

Parameter, mean(g)±S.D.

(), Number of animals

Table 4-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Body weight changes in females

Dose (mg/kg)	Day of the dosing period									
	1	2	4	8	11	15	18	22	25	28
0	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
	126.0	132.0	144.4	161.9	171.9	185.1	195.7	212.3	222.5	233.8
	±7.2	±8.5	±8.2	±8.6	±10.6	±11.4	±13.5	±16.5	±15.7	±16.0
25	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	125.7	132.4	145.0	165.0	177.4	190.6	204.0	219.7	230.0	239.2
	±6.6	±6.6	±6.7	±8.6	±9.6	±9.3	±15.0	±17.9	±21.2	±23.7
100	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	123.2	126.9	139.7	157.4	168.2	180.1	194.0	209.5	217.7	231.4
	±5.7	±5.5	±5.3	±4.1	±5.0	±7.5	±9.8	±12.8	±16.7	±15.6
400	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(8)	(6)	(6)	(5)
	125.6	126.4	134.9 *	154.3	167.1	182.0	194.0	210.9	219.4	238.1
	±6.8	±8.2	±6.7	±8.1	±6.6	±7.7	±8.4	±8.8	±9.8	±7.0

Parameter, mean(g)±S.D. (), Number of animals

*, Significantly different from 0 mg/kg, p<0.05

Table 5

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Food consumption in males and females

Sex	Dose (mg/kg)	Day of the dosing period				Day of the recovery period	
		1	8	15	22	1	8
Male	0	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
		21.1	21.4	22.9	23.7	26.7	27.9
		±1.8	±2.0	±2.7	±3.3	±3.9	±3.5
	25	(5)	(5)	(5)	(5)		
		20.3	20.6	22.1	24.7		
		±1.6	±2.1	±3.3	±3.8		
	100	(5)	(5)	(5)	(5)		
		20.1	20.4	21.4	24.2		
		±1.9	±2.2	±1.5	±2.2		
	400	(10)	(10)	(8)	(7)	(3)	(3)
		18.7 *	20.1	21.6	20.7	24.1	28.6
		±1.6	±1.2	±3.1	±9.5	±2.8	±1.7
Female	0	(10)	(10)	(10)	(10)		
		17.3	17.4	18.3	18.4		
		±2.4	±2.2	±2.6	±2.2		
	25	(5)	(5)	(5)	(5)		
		17.1	17.9	17.3	18.2		
		±1.1	±1.8	±1.7	±2.3		
	100	(5)	(5)	(5)	(5)		
		16.0	16.9	16.5	17.7		
		±1.2	±1.7	±0.9	±3.0		
	400	(10)	(10)	(8)	(6)		
		14.1 *	16.3	16.5	16.4		
		±2.8	±1.6	±1.5	±2.2		

Parameter, mean(g)±S.D. (), Number of animals *, Significantly different from 0 mg/kg, p<0.05

Table 6-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Urinalysis in males and females on day 23 of the dosing period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Color	Turbidity	pH								Protein				Glucose	Ketone				Bilirubin	Occult blood					Urobilinogen	
			ly	-	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	-	±	+	++	-	-	±	+	-	-	±	+	++	+++	±	+	
Male	0	10	10	10	0	1	0	1	2	4	1	1	1	3	6	0	10	4	4	2	10	10	0	0	0	0	10	0	
	25	5	5	5	0	0	0	1	0	2	0	2	1	2	2	0	5	3	2	0	5	3	0	0	2	0	5	0	
	100	5	5	5	0	0	0	0	1	1	0	3	1	2	2	0	5	3	0	2	5	5	0	0	0	0	5	0	
	400	7	7	7	0	0	0	3	3	1	0	0	1	1	5	0	7	3	4	0	7	7	0	0	0	0	7	0	
Female	0	10	10	10	2	2	1	1	1	2	0	1	6	1	3	0	10	6	4	0	10	10	0	0	0	0	9	1	
	25	5	5	5	0	2	0	1	2	0	0	0	3	0	2	0	5	3	2	0	5	5	0	0	0	0	5	0	
	100	5	5	5	1	0	0	0	2	1	0	1	4	0	1	0	5	4	1	0	5	5	0	0	0	0	5	0	
	400	6	6	6	1	1	1	0	0	0	0	3	3	1	1	1	6	5	1	0	6	5	0	0	0	1	6	0	

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Microscopic examination of urinary sediment								Urinary volume (mL/24hr)	Specific gravity	
			Red blood cells			Crystal		Cast	White blood	Epithelial cells			
			-	±	+	-	±	-	-	-			±
Male	0	10	10	0	0	0	10	10	10	10	0	15.0±2.9	1.050±0.008
	25	5	4	0	1	0	5	5	5	5	0	16.9±3.8	1.040±0.006
	100	5	5	0	0	0	5	5	5	5	0	20.3±11.0	1.039±0.017
	400	7	7	0	0	0	7	7	7	6	1	16.7±7.0	1.041±0.013
Female	0	10	10	0	0	2	8	10	10	9	1	10.4±2.3	1.047±0.014
	25	5	5	0	0	1	4	5	5	5	0	13.5±9.5	1.045±0.022
	100	5	5	0	0	0	5	5	5	5	0	9.9±3.5	1.044±0.012
	400	6	5	0	1	2	4	6	6	6	0	15.0±3.0	1.029±0.010

Color: ly, light yellow

Turbidity, ketone, bilirubin and occult blood: -, negative; ±, trace; +, slight; ++, moderate; +++, marked

Protein: -, negative; ±, trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL

Red blood cells, white blood cells and cast (count/3 visual field): -, not observed; ±, 1-10; +, 10-100

Glucose: -, negative

Urobilinogen: ±, 0.1 EU/dL; +, 1.0 EU/dL

Crystal and epithelial cells: -, not observed; ±, a few

Table 6-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Urinalysis in males on day 9 of the recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Color	Turbidity	pH					Protein			Glucose	Ketone			Bilirubin	Occult blood			Urobilinogen
			ly	-	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	-	±	+	-	-	±	+	-	-	±	+	±
Male	0	5	5	5	0	1	3	0	1	0	2	3	5	3	1	1	5	5	0	0	5
	400	3	3	3	1	2	0	0	0	0	2	1	3	2	0	1	3	2	0	1	3

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Microscopic examination of urinary sediment						Urinary volume (mL/24hr)	Specific gravity
			Red blood		Crystal	Cast	White	Epithelial		
			cells							
			-	±	-	±	-	-		
Male	0	5	5	0	0	5	5	5	19.3±5.5	1.057±0.012
	400	3	2	1	0	3	3	3	19.4±1.3	1.052±0.008

Color: ly, light yellow

Turbidity, ketone, bilirubin and occult blood: -, negative; ±, trace; +, slight

Protein: -, negative; ±, trace; +, 30 mg/dL

Red blood cells, white blood cells and cast (count/3 visual field): -, not observed; ±, 1-10

Glucose: -, negative

Urobilinogen: ±, 0.1 EU/dL

Crystal and epithelial cells: -, not observed; ±, a few

Table 7-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(*n*-butylamino)ethanol in rats

Hematological findings in males at the end of the dosing period

Dose (mg/kg)	Number of animals	RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Platelet ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	739 ± 22	14.6 ± 0.3	44.5 ± 0.8	60.3 ± 0.8	19.7 ± 0.2	32.8 ± 0.3	109.1 ± 15.2	14.7 ± 1.6	21.1 ± 1.6
25	5	741 ± 14	14.8 ± 0.5	44.8 ± 1.1	60.5 ± 0.9	20.0 ± 0.5	33.0 ± 0.5	112.0 ± 13.6	15.1 ± 1.2	21.2 ± 0.3
100	5	753 ± 36	14.9 ± 0.6	44.7 ± 1.6	59.4 ± 1.5	19.8 ± 0.5	33.3 ± 0.1	111.3 ± 6.2	15.5 ± 1.4	21.1 ± 1.1
400	4	767 ± 41	15.3 ± 0.3	46.1 ± 0.7	60.2 ± 2.5	19.9 ± 0.8	33.0 ± 0.4	108.3 ± 9.5	14.1 ± 1.3	20.7 ± 2.2

Dose (mg/kg)	Number of animals	WBC ($\times 100/\mu\text{L}$)	Neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	5	79.3 ± 32.0	8 ± 3	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 2	86 ± 4
25	5	94.7 ± 19.5	14 ± 5	1 ± 0	0 ± 0	5 ± 2	80 ± 6
100	5	73.8 ± 13.6	12 ± 2	1 ± 1	0 ± 0	5 ± 1	82 ± 2
400	4	92.2 ± 18.3	11 ± 3	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 1	83 ± 3

Parameter, mean $\pm$ S.D.

Table 7-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(*n*-butylamino)ethanol in rats

Hematological findings in females at the end of the dosing period

Dose (mg/kg)	Number of animals	RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Platelet ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	PT (sec)	APTT (sec)
0	10	734 ± 28	14.5 ± 0.4	43.8 ± 1.5	59.6 ± 1.4	19.8 ± 0.6	33.2 ± 0.5	110.6 ± 10.1	12.8 ± 0.6	18.2 ± 1.0
25	5	728 ± 42	14.8 ± 0.5	44.1 ± 1.8	60.6 ± 2.1	20.4 ± 0.9	33.7 ± 0.5	115.0 ± 5.2	12.8 ± 0.5	17.3 ± 1.1
100	5	703 ± 14	14.0 ± 0.5	42.1 ± 1.2	60.0 ± 2.0	19.9 ± 0.8	33.1 ± 0.3	104.9 ± 7.6	12.8 ± 0.2	17.7 ± 0.7
400	5	732 ± 34	14.7 ± 0.5	43.8 ± 1.6	60.0 ± 1.4	20.2 ± 0.5	33.6 ± 0.3	118.6 ± 11.3	12.7 ± 0.4	17.5 ± 1.2

Dose (mg/kg)	Number of animals	WBC ($\times 100/\mu\text{L}$)	Neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	10	39.2 ± 10.2	11 ± 6	2 ± 1	0 ± 0	4 ± 2	82 ± 7
25	5	41.6 ± 12.1	9 ± 2	2 ± 1	0 ± 0	5 ± 2	85 ± 4
100	5	39.1 ± 5.3	9 ± 3	2 ± 1	0 ± 0	4 ± 0	85 ± 3
400	5	56.2 ** ± 8.1	9 ± 3	1 ± 1	0 ± 0	4 ± 1	85 ± 4

Parameter, mean $\pm$ S.D.

Table 7-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(*n*-butylamino)ethanol in rats

Hematological findings in males at the end of the recovery period

Dose (mg/kg)	Number of animals	RBC ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Platelet ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	PT (sec)	APTT (sec)
0	5	825 ± 22	15.6 ± 0.4	46.7 ± 0.8	56.7 ± 1.8	18.9 ± 0.7	33.3 ± 0.4	103.5 ± 17.7	15.9 ± 1.9	21.9 ± 1.9
400	3	830 ± 30	15.7 ± 0.5	46.9 ± 1.5	56.6 ± 1.3	18.9 ± 0.4	33.4 ± 0.2	117.5 ± 7.6	14.6 ± 1.9	21.1 ± 1.4

Dose (mg/kg)	Number of animals	WBC ($\times 100/\mu\text{L}$)	Neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	5	105.4 ± 28.7	8 ± 3	1 ± 0	0 ± 0	3 ± 0	88 ± 3
400	3	109.7 ± 7.5	7 ± 2	1 ± 1	0 ± 0	3 ± 1	88 ± 4

Parameter, mean $\pm$ S.D.

Table 8-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(*n*-butylamino)ethanol in rats

Biochemical findings in males at the end of the dosing period

Dose (mg/kg)	Number of animals	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	Total bilirubin (mg/dL)
0	5	5.4 ±0.2	3.1 ±0.1	1.40 ±0.12	16 ±6	0.8 ±0.1	138 ±14	46 ±7	42 ±23	0.08 ±0.04
25	5	5.3 ±0.1	3.1 ±0.1	1.34 ±0.07	16 ±4	0.7 ±0.1	144 ±11	41 ±8	40 ±15	0.12 ±0.06
100	5	5.2 ±0.1	2.9 * ±0.1	1.24 ±0.11	14 ±3	0.7 ±0.0	134 ±21	40 ±5	27 ±5	0.08 ±0.03
400	4	5.3 ±0.2	3.0 ±0.1	1.31 ±0.05	16 ±1	0.8 ±0.1	153 ±11	47 ±8	62 ±7	0.07 ±0.03

Dose (mg/kg)	Number of animals	Inorganic phosphorus (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	γ -GTP (U/L)	ChE (U/L)
0	5	7.8 ±0.7	9.5 ±0.4	145.6 ±0.4	4.02 ±0.19	106.2 ±0.9	422 ±62	26 ±2	61 ±7	0 ±1	164 ±17
25	5	8.0 ±0.4	9.0 * ±0.2	144.9 ±0.8	4.04 ±0.12	106.1 ±1.0	490 ±47	30 ±4	61 ±5	0 ±1	171 ±22
100	5	8.0 ±0.3	9.1 ±0.2	145.4 ±0.7	3.94 ±0.16	105.7 ±1.1	445 ±107	26 ±3	60 ±8	1 ±1	171 ±42
400	4	8.4 ±0.5	9.6 ±0.1	144.2 * ±0.6	4.09 ±0.19	103.3 ** ±0.5	418 ±83	30 ±6	58 ±7	1 ±1	225 ±55

Parameter, mean ±S.D.

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

Table 8-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Biochemical findings in females at the end of the dosing period

Dose (mg/kg)	Number of animals	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri-glyceride (mg/dL)	Total bilirubin (mg/dL)
0	10	5.3 ±0.2	3.2 ±0.1	1.47 ±0.12	20 ±4	0.8 ±0.1	114 ±14	46 ±8	14 ±9	0.09 ±0.04
25	5	5.4 ±0.4	3.2 ±0.3	1.45 ±0.14	21 ±6	0.7 * ±0.1	114 ±15	44 ±5	14 ±6	0.09 ±0.04
100	5	5.2 ±0.2	3.1 ±0.2	1.47 ±0.20	17 ±3	0.8 ±0.1	120 ±6	54 ±13	29 * ±12	0.10 ±0.04
400	5	5.0 ±0.2	3.0 ±0.1	1.50 ±0.19	14 ±2	0.7 * ±0.0	138 * ±20	65 ** ±6	27 ±9	0.08 ±0.03

Dose (mg/kg)	Number of animals	Inorganic phosphorus (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	γ-GTP (U/L)	ChE (U/L)
0	10	6.4 ±0.6	8.8 ±0.3	144.7 ±0.9	4.02 ±0.40	107.9 ±1.1	316 ±37	22 ±4	64 ±8	1 ±0	935 ±342
25	5	6.4 ±1.1	8.9 ±0.3	144.3 ±0.6	3.99 ±0.38	107.7 ±0.3	328 ±40	21 ±3	62 ±5	1 ±0	837 ±150
100	5	7.0 ±1.2	8.8 ±0.1	144.5 ±1.0	3.83 ±0.25	107.7 ±0.7	315 ±69	23 ±2	67 ±9	0 ±1	952 ±427
400	5	7.6 ±0.9	9.1 ±0.1	144.2 ±1.1	3.78 ±0.14	105.7 ** ±1.4	313 ±77	25 ±3	62 ±7	1 ±1	539 ±122

Parameter, mean ±S.D.

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

Table 8-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(*n*-butylamino)ethanol in rats

Biochemical findings in males at the end of the recovery period

Dose (mg/kg)	Number of animals	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	Total bilirubin (mg/dL)
0	5	5.4 ±0.2	3.0 ±0.2	1.26 ±0.19	18 ±3	0.8 ±0.0	148 ±13	42 ±4	39 ±20	0.14 ±0.03
400	3	5.6 ±0.2	3.0 ±0.1	1.15 ±0.11	18 ±1	0.7 ±0.1	140 ±21	45 ±9	39 ±7	0.12 ±0.06

Dose (mg/kg)	Number of animals	Inorganic phosphorus (mg/dL)	Ca (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	γ-GTP (U/L)	ChE (U/L)
0	5	7.8 ±0.7	8.9 ±0.2	144.2 ±0.9	3.94 ±0.33	106.0 ±0.7	316 ±48	29 ±3	71 ±7	0 ±1	182 ±32
400	3	7.1 ±0.4	8.9 ±0.2	144.0 ±0.8	4.02 ±0.21	106.5 ±0.8	420 ±95	33 ±7	67 ±2	1 ±0	213 ±54

Parameter, mean ±S.D.

Table 9-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Absolute organ weights in males and females at the end of the dosing period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Testes (mg)	Epididymides (mg)
Males	0	5	328.7 ±28.6	1848.4 ±43.2	568.1 ±104.4	1129.5 ±87.2	10499.3 ±1157.0	2487.6 ±166.0	699.3 ±60.1	45.4 ±4.6	2924.4 ±174.1	694.7 ±74.4
	25	5	329.1 ±21.6	1845.3 ±74.1	542.6 ±33.4	1184.2 ±66.6	10602.8 ±1113.3	2534.2 ±192.5	743.5 ±59.2	46.2 ±3.5	2925.9 ±78.1	687.7 ±42.4
	100	5	315.0 ±13.8	1819.1 ±66.8	564.9 ±62.6	1041.0 ±93.7	9950.1 ±693.5	2459.9 ±125.0	651.9 ±74.0	45.8 ±8.4	2861.6 ±190.6	707.5 ±47.6
	400	4	304.6 ±30.5	1897.9 ±109.4	484.2 ±133.9	1047.1 ±175.8	10799.8 ±1076.5	2748.7 ±172.0	677.9 ±70.4	48.4 ±5.3	2890.8 ±154.3	655.4 ±47.2

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Ovaries (mg)
Females	0	10	215.0 ±14.9	1759.9 ±48.0	504.3 ±133.3	774.1 ±67.2	6790.4 ±836.2	1693.7 ±131.6	474.8 ±46.7	53.8 ±6.2	87.0 ±12.6
	25	5	220.9 ±23.0	1766.9 ±36.9	455.8 ±114.4	760.3 ±91.7	7027.6 ±1193.1	1865.1 ±296.8	475.4 ±165.4	63.5 * ±6.7	89.2 ±19.4
	100	5	213.5 ±14.5	1749.8 ±39.3	465.2 ±82.2	746.9 ±51.4	6742.9 ±247.9	1851.4 ±144.5	473.4 ±54.4	60.3 ±6.7	75.1 ±6.9
	400	5	217.7 ±10.3	1768.5 ±35.3	460.3 ±62.5	815.2 ±130.4	7779.1 ±654.1	1784.9 ±163.5	463.7 ±63.4	68.0 ** ±8.0	84.3 ±17.0

Parameter, mean ±S.D.

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

Table 9-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Absolute organ weights in males and females at the end of the recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Testes (mg)	Epididymides (mg)
Males	0	5	372.7 ±42.7	1859.3 ±86.8	447.9 ±153.7	1189.8 ±154.3	11399.4 ±1594.3	2783.4 ±239.7	625.4 ±90.6	53.0 ±6.1	3072.4 ±398.7	880.9 ±49.8
	400	3	373.1 ±16.5	1948.5 ±100.3	496.3 ±127.2	1259.6 ±109.8	11696.2 ±1763.2	2578.3 ±316.4	758.1 ±119.0	49.9 ±5.8	3254.2 ±498.3	905.4 ±75.3

Parameter, mean ±S.D.

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

Table 10-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Relative organ weights in males and females at the end of the dosing period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Testes (mg/g)	Epididymides (mg/g)
Males	0	5	328.7 ±28.6	5.655 ±0.456	1.719 ±0.172	3.441 ±0.144	31.897 ±0.903	7.581 ±0.234	2.129 ±0.040	0.139 ±0.015	8.936 ±0.718	2.114 ±0.125
	25	5	329.1 ±21.6	5.616 ±0.194	1.650 ±0.064	3.604 ±0.190	32.165 ±1.398	7.702 ±0.337	2.263 ±0.172	0.141 ±0.011	8.917 ±0.550	2.101 ±0.232
	100	5	315.0 ±13.8	5.777 ±0.120	1.801 ±0.257	3.308 ±0.310	31.576 ±1.508	7.816 ±0.424	2.067 ±0.180	0.145 ±0.023	9.097 ±0.723	2.249 ±0.171
	400	4	304.6 ±30.5	6.263 ±0.533	1.579 ±0.324	3.423 ±0.254	35.471 ** ±1.050	9.060 ** ±0.608	2.234 ±0.236	0.159 ±0.013	9.590 ±1.356	2.173 ±0.317

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Ovaries (mg/g)
Females	0	10	215.0 ±14.9	8.222 ±0.617	2.342 ±0.593	3.601 ±0.189	31.511 ±2.332	7.896 ±0.591	2.209 ±0.157	0.250 ±0.022	0.404 ±0.041
	25	5	220.9 ±23.0	8.067 ±0.829	2.058 ±0.431	3.440 ±0.114	31.670 ±2.253	8.423 ±0.733	2.122 ±0.522	0.288 ±0.021	0.403 ±0.074
	100	5	213.5 ±14.5	8.225 ±0.577	2.180 ±0.381	3.501 ±0.174	31.641 ±1.298	8.679 ±0.554	2.228 ±0.313	0.283 ±0.034	0.352 ±0.022
	400	5	217.7 ±10.3	8.134 ±0.280	2.112 ±0.251	3.743 ±0.534	35.688 ** ±1.456	8.189 ±0.446	2.125 ±0.214	0.313 ** ±0.041	0.387 ±0.071

Parameter, mean ±S.D.

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

Table 10-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in rats

Relative organ weights in males and females at the end of the recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Testes (mg/g)	Epididymides (mg/g)
Males	0	5	372.7 ±42.7	5.029 ±0.470	1.188 ±0.328	3.189 ±0.100	30.515 ±1.190	7.495 ±0.396	1.675 ±0.121	0.143 ±0.018	8.266 ±0.771	2.387 ±0.293
	400	3	373.1 ±16.5	5.223 ±0.154	1.333 ±0.350	3.389 ±0.444	31.267 ±3.465	6.907 ±0.737	2.025 * ±0.232	0.134 ±0.018	8.694 ±0.948	2.424 ±0.100

Parameter, mean ±S.D.

*, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.05$ **, Significantly different from 0 mg/kg, $p < 0.01$

Table 11-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats

Macroscopical findings in males at the end of the dosing period

Dose	0 mg/kg		25 mg/kg		100 mg/kg		400 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Liver)	[5]		[5]		[5]		[4]	
Enlargement	5	0	5	0	5	0	3	1

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

No significant changes were observed in organs unless otherwise described above.

Table 11-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats

Macroscopical findings in females at the end of the dosing period

Dose	0 mg/kg		25 mg/kg		100 mg/kg		400 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Spleen)	[10]		[5]		[5]		[5]	
Small	10	0	4	1	5	0	5	0

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

No significant changes were observed in organs unless otherwise described above.

Table 11-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats

Macroscopical findings in individual males at the end of the recovery period

Dose	0 mg/kg		.400 mg/kg	
Grade	-	+	-	+
(All organs)	[5]		[3]	
No abnormalities				

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

Table 11-3

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats

Macroscopical findings in individual males and females died in the dosing period

Dose	400 mg/kg			
	Male		Female	
Sex				
Animal No.				
Day of administration	-	+	-	+
(Liver)	[3]		[5]	
Enlargement	2	1	1	4
(Kidney)	[3]		[5]	
Enlargement	2	1	3	2
(Lung)	[3]		[5]	
Area, dark red	2	1	5	0
(Trachea)	[3]		[5]	
Foamy fluid, lumen	2	1	5	0

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

No significant changes were observed in organs unless otherwise described above.

Table 12-1-1
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats

Histological findings in males at the end of the dosing period

Dose Grade	0 mg/kg						25 mg/kg						100 mg/kg						400 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Kidney)	[5]						[5]						[5]						[4]					
Vacuolar change, epithelium, collecting tubule	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	** 4
Hyaline droplet	3	2	0	0	0	2	3	2	0	0	0	2	2	3	0	0	0	3	2	2	0	0	0	2
Cellular infiltration, lymphocyte	2	3	0	0	0	3	2	3	0	0	0	3	4	1	0	0	0	1	2	2	0	0	0	2
Basophilic tubule	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3	3	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2
Cyst, medulla	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	1
(Liver)	[5]						[5]						[5]						[4]					
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	1
Fatty change, periportal	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3	3	2	0	0	0	2	3	1	0	0	0	1
Microgranuloma	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	1
(Spleen)	[5]						[5]						[5]						[4]					
Hematopoiesis, extramedullary	0	2	3	0	0	5	0	1	4	0	0	5	0	2	3	0	0	5	0	2	0	2	0	4
Deposit, hemosiderin	2	3	0	0	0	3	3	2	0	0	0	2	2	3	0	0	0	3	2	2	0	0	0	2
(Prostate)	[5]																		[4]					
Cellular infiltration, lymphocyte	4	1	0	0	0	1													3	1	0	0	0	1
(Adrenal gland)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Lung & Bronchus)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Heart)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Stomach)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Ileum)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Colon)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Mesenteric lymphnode)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Submandibular lymphnode)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Submandibular & Sublingual gland)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Pituitary gland)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Thymus)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Trachea)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Brain)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Spinal cord)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Sciatic nerve & Gastrocnemial muscle)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Thyroid gland)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Testis)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Epididymis)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Urinary bladder)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								
(Bone & marrow of femur)	[5]																		[4]					
No remarkable change																								

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe; Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.

**, significantly different from control, $p < 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

##, significantly different from control, $p < 0.01$ (Fisher's exact test).

Table 12-1-2
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats
Histological findings in individual females at the end of the dosing period

Dose Grade		0 mg/kg						25 mg/kg						100 mg/kg						400 mg/kg					
		-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Kidney)		[10]						[5]						[5]						[5]					
Vacuolation, epithelium, collecting tubule		10	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	2	0	2	1	0	3 #
Basophilic tubule		6	4	0	0	0	4	3	2	0	0	0	2	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3
Cellular infiltration, lymphocyte		8	2	0	0	0	2	4	1	0	0	0	1	3	2	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0
(Liver)		[10]						[5]						[5]						[5]					
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		10	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2
Fatty change, periportal		1	7	2	0	0	9	1	2	2	0	0	4	1	3	1	0	0	4	1	3	1	0	0	4
Single cell necrosis		6	4	0	0	0	4	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	3
Increase, mitosis, hepatocyte		10	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
(Spleen)		[10]						[5]						[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary		0	10	0	0	0	10	0	4	0	1	0	5	0	5	0	0	0	5	0	4	1	0	0	5
Deposit, hemosiderin		0	7	3	0	0	10	0	4	1	0	0	5	0	5	0	0	0	5	0	3	2	0	0	5
(Adrenal gland)		[10]						[5]						[5]						[5]					
Hypertrophy, zona fasciculata		10	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2
(Thymus)		[10]						[5]						[5]						[5]					
Hemorrhage		9	1	0	0	0	1													4	1	0	0	0	1
(Heart)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Ovary)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Lung & Bronchus)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Stomach)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Ileum)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Colon)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Mesenteric lymphnode)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Submandibular lymphnode)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Submandibular & Sublingual gland)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Pituitary gland)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Trachea)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Brain)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Spinal cord)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Sciatic nerve & Gastrocnemial muscle)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Thyroid gland)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Uterus)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Urinary bladder)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					
(Bone & marrow of femur)		[10]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change		[10]						[5]						[5]						[5]					

Table 12-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats

Histological findings in individual males at the end of the recovery period

Dose	0 mg/kg						400 mg/kg					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Kidney)	[5]						[3]					
Basophilic tubule	1	4	0	0	0	4	0	3	0	0	0	3
Cellular infiltration, lymphocyte	5	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	1
Hyaline droplet	5	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	2
(Liver)	[5]						[3]					
Fatty change, periportal	0	4	1	0	0	5	0	3	0	0	0	3
Single cell necrosis	3	2	0	0	0	2	2	1	0	0	0	1
Microgranuloma	4	1	0	0	0	1	2	1	0	0	0	1
(Spleen)	[5]						[3]					
Hematopoiesis, extramedullary	0	4	1	0	0	5	0	0	0	3	0 **	3
Deposit, hemosiderin	0	2	3	0	0	5	0	3	0	0	0	3

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe; Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.

**, significantly different from control, $p < 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 12-3

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of 2-(di-*n*-butylamino) ethanol in rats

Histological findings in individual males and females died in the dosing period

Sex	Male							Female						
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.	
(Kidney)	[3]						[5]							
Vacuolar change, epithelium, collecting tubule	0	0	0	3	0	3		2	1	1	1	0	3	
Hyaline droplet	2	1	0	0	0	1		5	0	0	0	0	0	
Basophilic tubule	1	2	0	0	0	2		2	3	0	0	0	3	
Cyst	3	0	0	0	0	0		4	1	0	0	0	1	
(Spleen)	[3]						[5]							
Hematopoiesis, extramedullary	0	0	1	2	0	3		0	2	3	0	0	5	
Deposit, hemosiderin	3	0	0	0	0	0		3	2	0	0	0	2	
(Lung & Bronchus)	[3]						[5]							
Alveolar hemorrhage	2	0	1	0	0	1		5	0	0	0	0	0	
Edema	2	1	0	0	0	1		5	0	0	0	0	0	
(Thymus)	[3]						[5]							
Congestion / hemorrhage	1	0	2	0	0	2		4	1	0	0	0	1	
(Adrenal gland)	[3]						[5]							
Hypertrophy, zona fasciculata	3	0	0	0	0	0		3	2	0	0	0	2	
(Epididymis)	[3]													
Cell debris, tubule	2	1	0	0	0	1								
(Liver)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Stomach)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Ileum)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Colon)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Mesenteric lymphnode)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Submandibular lymphnode)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Submandibular & Sublingual gland)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Pituitary gland)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Heart)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Trachea)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Thyroid gland)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Brain)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Spinal cord)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Sciatic nerve & Gastrocnemial muscle)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Urinary bladder)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Bone & marrow of femur)	[3]						[5]							
No remarkable change														
(Testis)	[3]													
No remarkable change														
(Prostate)	[3]													
No remarkable change														
(Ovary)							[5]							
No remarkable change														
(Uterus)							[5]							
No remarkable change														

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe; Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.