

受付番号	822-11-D-3624
試験番号	E16-0039

最 終 報 告 書

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールのラットを用いる簡易生殖発生毒性試験

2012 年 3 月

一般財団法人  研究機構

陳 述 書

一般財団法人化学物質評価研究機構
日田事業所

試験の表題 2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールのラットを用いる簡易生殖発生毒性試験

試験番号 E16-0039

上記試験は以下の GLP に従って実施したものである。

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 8 号、平成 23・03・29 製局第 6 号、環保企発第 110331010 号) に定める「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認した。

2012 年 3 月 22 日

試験責任者



陳 述 書

一般財団法人化学物質評価研究機構

日田事業所

試験委託者 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室

試験の表題 2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールのラットを用いる簡易生殖発生
毒性試験

試験番号 E16-0039

上記試験は、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」
(平成 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 8 号、平成 23・03・29 製局第 6 号、環保企発第
110331010 号) に定める「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
に従って実施したものである。

なお、本書は最終報告書の訂正に伴い再度発行したものである。

2013 年 2 月 18 日

試験責任者



目 次

	頁
1. 表 題	5
2. 試験委託者	5
3. 試験施設	5
4. 試験目的	5
5. 試験法	5
6. GLP 基準	5
7. 動物愛護	5
8. 試験日程	5
9. 試験責任者	6
10. 試験に従事した者の氏名及び業務分担	6
11. 試資料の保管	6
12. 最終報告書の承認	6
13. 要 約	7
14. 試験材料	8
14.1 被験物質	8
14.2 媒 体	9
14.3 使用動物	9
14.4 飼育環境	9
15. 試験方法	10
15.1 被験物質の設定用量	10
15.2 群構成	11
15.3 投与液	11
15.4 投 与	11
15.5 一般状態観察	12
15.6 体重測定	12
15.7 摂餌量測定	12
15.8 病理学的検査	12
15.9 性周期検査	13
15.10 生殖能力検査	13
15.11 児動物の検査	14
15.12 統計学的方法	14
16. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因及び試験計画書からの逸脱	15
17. 試験成績	15
17.1 一般状態	15
17.2 体 重	15
17.3 摂餌量	15
17.4 病理学的検査	16

17.5 生殖能力検査	16
17.6 分娩・哺育状態	16
17.7 児動物の出生日及び哺育期の検査	17
18. 考 察	17
19. 参考文献	17

Figure

1 Body weights	18
2 Food consumption	20

Table

1 Clinical signs	22
2 Body weights	24
3 Food consumption	27
4 Absolute organ weights	30
5 Relative organ weights	32
6 Macroscopic examinations	34
7 Histopathological examinations	36
8 Reproductive parameters	38
9 Postnatal course of rat litters	39
10 Clinical signs of rats litters	40

Appendix

1 Clinical signs of individual rats	41
2 Body weights of individual rats	52
3 Food consumption of individual rats	58
4 Absolute organ weights of individual rats	64
5 Relative organ weights of individual rats	72
6 Pathological findings of individual rats	80
7 Estrous cycle examinations of individual rats	88
8 Reproductive parameters in individual parental rats	92
9 Postnatal course of individual rat litters	93
10 Clinical signs of individual rats litters	97

信頼性保証書

1. 表 題

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールのラットを用いる簡易生殖発生毒性試験

2. 試験委託者

名 称 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室
所在地 〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

3. 試験施設

名 称 一般財団法人化学物質評価研究機構 日田事業所
所在地 〒877-0061 大分県日田市石井町 3 丁目 822 番地

4. 試験目的

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールを動物の交配前から分娩後まで投与し、雌雄動物の生殖腺機能、交尾行動、着床、受胎産物の発達及び分娩へ及ぼす影響について情報を得ることを目的とする。

5. 試験法

「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成 23 年 3 月 31 日付け薬食発第 0331007 号厚生労働省医薬食品局長、平成 23・03・29 製局第 5 号経済産業省製造産業局長、環境企発第 110331009 号環境省総合環境政策局長通知）

6. GLP 基準

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 8 号、平成 23・03・29 製局第 6 号、環境企発第 110331010 号）に定める「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」

7. 動物愛護

LABORATORY ANIMAL SCIENCE (1987) by the American Association for Laboratory Animal Science を参考に当試験施設が作成した「日田事業所動物実験に関する指針」及び「ヘルシンキ宣言」（2008 年ソウル改訂）の主旨に沿って試験を行った。なお、本試験の実施については、当試験施設の実験倫理審査委員会の承認を得ている。

8. 試験日程

試験開始日	2011年 12月 8日
動物入荷日	2011年 12月 13日
投与開始日	2011年 12月 20日
交配開始日	2012年 1月 3日
雄の解剖日	2012年 1月 18日
分娩開始日	2012年 1月 26日

分娩雌動物の解剖開始日

2012年 1月 30日

試験終了日

2012年 3月 22日

9. 試験責任者

■ (所属 試験第二課)

10. 試験に従事した者の氏名及び業務分担

試験担当者

■
(動物の検疫・馴化及び飼育管理、被験物質液の調製、投与、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定及び生殖発生に関する検査についての動物試験業務に対して責任を持つ)

病理検査責任者

■
(剖検、組織採取、器官重量測定及び病理組織学的検査についての病理検査業務に対して責任を持つ)

その他の試験従事者

■
(動物試験業務)

■
(病理検査業務)

11. 試資料の保管

試験計画書及び試験計画書の変更(正本)、最終報告書(正本)、生データ、試験委託書、被験物質調査票、その他の記録、標本及び被験物質は当試験施設に保管する。保管期間は試験終了後10年間とする。保管期間終了後の処置(継続保管、廃棄又は返却)は、試験委託者と協議の上決定する。

12. 最終報告書の承認

2012年 3月 22日

試験責任者

■

13. 要 約

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの生殖発生及び次世代に対する発生毒性を検討するために、化審法テストガイドラインに準拠して、「簡易生殖発生毒性試験」を実施した。

9週齢の雌雄 Crl:CD (SD) ラットに、被験物質を14日間投与後、最長14日間の交配期間を設けた。その後、雄は投与29日目まで、雌は分娩3日(41～54日間)まで投与した。雌雄とも投与期間中は一般状態観察、体重及び摂餌量測定を行い、最終投与日の翌日に剖検を行った。主要器官は固定・染色後病理学的検査に供した。また、雌は投与1から14日目まで性周期を調べ、交配期間中は交尾までの日数、分娩後は親の分娩及び哺育状態並びに出産児の一般状態観察及び体重測定などの検査を行った。投与用量は0(コーン油)、10、50及び250 mg/kg/dayとし、1群あたり雌雄各12匹を使用した。

親動物においては、250 mg/kg 群の雄で投与直後かつ一過性の流涎、不穏、軽度の自発運動低下が全例又はほとんどの動物に、ケージ舐め及び咀嚼様行動が数例に、間代性痙攣が1例にみられたが、これらすべてが投与数分から数時間以内に消失した。雌では、投与直後かつ一過性の流涎、不穏、軽度の自発運動低下、ケージ舐め及び咀嚼様行動が全例又はほとんどの動物に、間代性痙攣が数例に、振戦、強直性痙攣及び連続した発声が1例にみられ、そのほとんどが投与数分から数時間以内に消失したが、1例で交尾確認日に間代性痙攣が継続してみられ同日中に死亡した。また、間代性痙攣が頻発した1例では交尾は確認されたものの分娩しなかった。さらに分娩前日に間代性痙攣がみられた1例では分娩途中で腹児を食殺した。しかし、親動物の交尾率、受胎率、着床率、出産率、分娩率など生殖能に関するすべてのパラメータに異常はみられなかった。

児動物においては、外表、体重、生存率などすべての検査項目に異常はみられなかった。

以上のように、250 mg/kg 群において神経症状はみられたが、親動物の生殖能及び次世代の発生に対する影響がみられないことから、本試験条件下における2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの親動物に関する無毒性量(NOAEL)は50 mg/kg/day、生殖発生毒性に関するNOAELは最高用量である250 mg/kg/dayとした。

14. 試験材料

14.1 被験物質

(提供源試験成績書及び森村、2004 より引用)

a) 名称等

名 称 2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノール

CAS 番号 102-81-8

b) 提供源



c) ロット番号

GL01

d) 分子量

173.30

e) 分子式

C₁₀H₂₃NO

f) 純 度

99.4% (GC)

g) 物理化学的性状

常温における性状 弱いアミン臭を有するうすい黄色澄明の液体

融 点 -75°C

沸 点 228.7°C

密 度 0.857 g/mL (20°C)

溶解度 水: 0.4 g/100 g

h) 保管条件

遮光した気密容器に入れ、被験物質保管室の保冷库 001 又は 005 で冷所保管した。

保管温度 1.2~5.9°C (許容範囲 1~10°C)

保管期間 2011 年 10 月 19 日~2012 年 2 月 10 日

i) 保管条件下における安定性の確認

当試験施設において、「2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの安定性、被験物質液の濃度確認試験」(試験番号 X02-0253) で確認した。

実験開始前及び実験終了後に赤外吸収スペクトルを測定し、実験前後のスペクトルに差がみられなかったため、被験物質は使用期間中に安定であったと判断した。

j) 取扱い上の注意

皮膚、目への接触及び吸入をさけるため、手袋、マスク、帽子、保護めがね及び白衣を着用した。

14.2 媒体

a) 名称

コーン油

b) 選択理由

被験物質の対水溶解度は 0.4 g/100g と低く、28 日間反復経口投与毒性試験（森村、2004）においてはコーン油を媒体としていることから、本試験でもコーン油を用いた。

c) 製造元、グレード及びロット番号

製造元 ナカライテスク

グレード 化学用

ロット番号 V1K6344

d) 保管

保管場所 試薬保管室

保管温度 室温

14.3 使用動物

実験動物として確立された動物で、当試験施設においても背景データを有している CrI:CD (SD) ラット (SPF) を日本チャールス・リバー（日野飼育センター）から入手した。8 週齢の雌雄ラット各 55 匹を入手し、ケージあたり 1 又は 3 匹の群飼育で、入荷 6 日後まで検疫・馴化を行った。また、雌について入荷翌日から群分け前日まで性周期を検査した。投与開始前日に、一般状態、体重及び性周期に異常がみられない動物を用いて体重層別無作為抽出法で群分けし、群分け後は個別飼育とした。また、群分け時に個体の体重が全体の平均体重 $\pm 20\%$ の範囲内にあることを確認した。群分け後の余り動物は試験から除外した。

動物の識別については、群分け前は尾部への油性インク塗布により、群分け後は耳鋏を付けることで行った。また、ケージには動物番号、投与用量などを記載したラベルを付し、ラックには試験番号、性別及び投与用量を表示した。

投与開始時に、動物は 9 週齢で、体重範囲は雄が 327.6～362.1 g、雌が 196.8～232.0 g であった。

14.4 飼育環境

動物は、検疫・馴化期間中を含む全飼育期間を通して、温度 21～25℃、相対湿度 40～70%、換気回数 10～15 回/時間、明暗サイクル 12 時間間隔（7 時点灯、19 時消灯）に設定したバリアーシステムの飼育室（検疫期間中は検疫室 1、検疫終了後は飼育室 6）に収容した。温度及び相対湿度の実測値は、それぞれ 22.4～24.6℃ 及び 44.3～62.7% であった。

ケージは、群分け前はステンレス製金網床ケージ（W260×D380×H180 mm、トキワ科学器械）に、群分け後は、雄は W260×D380×H180 mm、雌は W165×D300×H150 mm のステンレス製金網床ケージ（トキワ科学器械）に個別飼育した。また、交配期間中は雄のケージに雌雄各 1 匹を収容した。交尾が確認された雌は妊娠 0 日から床敷（サンフレイク、ロット番号 111004 及び 120110、日本チャールス・リバー）を入れたポリカーボネイト製平床ケージ（PC ケージ、W265×D426×H150 mm、トキワ科学器械）に個別に収容し、分娩後は児動物とともに収容した。

飼育器材の交換については、トレイは、群分け時及び群分け後は週 2 回の頻度で、給餌器、金網床ケージ及びラックは群分け時に、PC ケージ及び床敷は週 2 回の頻度で行った。また、これらの飼育用器材はすべてオートクレーブ滅菌（121℃、30 分間）して使用した。

飼料は、オートクレーブ滅菌（121℃、30 分間）した固型飼料（MF、ロット番号 110906 及び 111005、オリエンタル酵母工業）をステンレス製給餌器に入れて自由摂取させた。飲料水は、塩素濃度が 3～5%となるように次亜塩素酸ナトリウム（ピューラックス）を添加した日田市上水道水を、金網床ケージ使用時には自動給水装置で、PC ケージ使用時は給水びんにより自由摂取させた。

飼料及び床敷の混入物については、製造元から混入物の分析データを入手し、米国環境保護庁有害物質規制法の「飼料及び媒体の汚染物質限度」（1979）を参考に当試験施設で定めた基準値内であることを確認して使用した。飲料水の水質基準については、厚生労働省の「水質基準に関する省令」（厚生労働省令第 101 号）に準拠した水質検査を年 2 回実施し、同省令の基準を満たしていることを確認した。

15. 試験方法

15.1 被験物質の設定用量

被験物質を 0、25、100 及び 400 mg/kg/day の用量でラットに 28 日間反復投与した試験において、100 mg/kg 以上の群でケージを舐める動作及び咀嚼様動作、400 mg/kg 群で間代性痙攣、攣縮、振戦、異常発声及び蒼白、喘ぎ呼吸、呼吸数減少、活動性の低下及び腹臥位姿勢がみられ、400 mg/kg 群で死亡がみられている（森村、2004）。この結果から用量設定試験として 300 mg/kg/day を最高に 100、30 及び 10 mg/kg/day の用量で、雌の Crl:CD (SD) ラット (SPF) に 7 日間反復経口投与した結果、流涎が 300 mg/kg 群にみられるのみであったため、投与期間終了後に 300 mg/kg は 1000 mg/kg、100 mg/kg は 800 mg/kg、30 mg/kg は 600 mg/kg、10 mg/kg は 400 mg/kg に投与量を変更してさらに 7 日間投与した。投与量の変更後には、1000 mg/kg 群で不穏が 3 例全例、流涎、振戦、間代性痙攣、発声が 2 例にみられ、1 例に深大呼吸がみられて投与 1 日目に死亡した。800 mg/kg 群では流涎が 3 例全例、不穏、振戦、間代性痙攣が 2 例、よろめき歩行が 1 例にみられ、1 例に発声、自発運動低下、深大呼吸及び昏眠がみられて投与 2 日目に死亡した。600 mg/kg 群では不穏が 3 例全例、振戦及び間代性痙攣が 2 例、よろめき歩行が 1 例にみられ、1 例に発声がみられて投与 2 日目に死亡した。400 mg/kg 群では不穏が 3 例全例、ケージ舐め、咀嚼様行動、投与直後かつ一過性の流涎が 2 例にみられた。以上より 400 mg/kg 以上で神経症状がみられ、300 mg/kg/day では妊娠後期に死亡の可能性があるため、死亡が出ないと推測される 250 mg/kg/day を高用量とし、以下公比 5 で 50 及び 10 mg/kg/day とした。

15.2 群構成

被験物質の3用量群及び媒体を投与する媒体対照群を設定した。

試験群		投与用量 (mg/kg/day)	投与容量 (mL/kg)	被験物質液濃度 (w/v%)	動物数 (動物番号)	
					雄	雌
媒体対照		0	5	0	12 (1～12)	12 (101～112)
被 験 物 質	低用量	10	5	0.200	12 (13～24)	12 (113～124)
	中用量	50	5	1.00	12 (25～36)	12 (125～136)
	高用量	250	5	5.00	12 (37～48)	12 (137～148)

以下、媒体対照群は対照群と記載する。

15.3 投与液

a) 被験物質液の調製

被験物質を秤量し、コーン油を加え定容して 5.00 w/v% (溶液) を調製した。また 5.00 w/v% 液の一部を採取し、コーン油を加え希釈して 1.00 及び 0.200 w/v% (溶液) を調製した。これらの調製の頻度は、ラットに被験物質を 28 日間反復投与した試験 (森村、2004) において、0.2 及び 20 w/v% が冷所で 8 日間安定であることが確認されているため、各調製の間隔が 8 日以下となるようにした。

b) 媒体及び被験物質液の保管

媒体及び各濃度の被験物質液をプラスチックカップに小分けし、被験物質調製室の保冷库 7 にて冷所 (2～8℃、許容範囲 1～10℃) で保管した。各投与日に媒体及び被験物質液を保管場所から取り出して投与に用いた。

c) 投与に用いる被験物質液の濃度確認

初回調製時に、当試験施設で実施した試験 (試験番号 X02-0253) において、5.00 w/v% について調製直後の被験物質濃度を測定した。

被験物質液の一部を採取して分析試料を調製し、ガスクロマトグラフィーを用いて被験物質濃度を測定した結果、被験物質液の濃度は 5.10 w/v% となり、当試験施設の許容範囲内であった。

15.4 投 与

雌雄とも交配前 14 日間投与し、雄は交配期間を含めて 29 日間、雌は分娩途中及び分娩直後の動物を除き、交配及び妊娠期間を経て分娩 3 日までの 41～54 日間 (非分娩を含む) 投与した。投与にはネラトンカテーテル (テルモ) を取り付けした注射筒 (テルモ) を用い、測定した最新の体重をもとに算出した体重 1 kg あたり 5 mL の液量で、9:25～12:50 の間に毎日 1 回強制経口投与した。なお、交尾成立後の雌は妊娠 0 日の体重をもとに投与量を算出した。

15.5 一般状態観察

一般状態の観察を毎日1回、生死の確認を毎日2回行った。また、妊娠の確認された雌動物については分娩状況及び哺育状態も観察した。

15.6 体重測定

生存例について、電子上皿天秤（ザルトリウス）を用いて、雄は投与1、3、7、14、21及び28日目、雌は投与1、3、7、14、21及び28日目、妊娠0、7、14及び20日並びに哺育0及び4日に測定した。このほか雌雄ともに解剖日に測定した。

15.7 摂餌量測定

生存例について、電子上皿天秤（ザルトリウス）を用いて、交配期間中を除いて、雄は投与1、3、7及び14日目、雌は投与1、3、7及び14日目、妊娠0、7、14及び20日並びに哺育0及び4日に測定した。なお、投与7日目以降は食べ残しの餌重量（残餌量）測定後に餌を補充して、餌重量（給餌量）を測定した。ただし、投与15日目からは交配期間となるため、雌雄とも投与14日目は残餌量を測定した。雌の妊娠0日及び哺育0日は給餌量を測定した。また、雌雄ともに最終測定日に残餌量を測定した。測定した重量をもとに測定日間の1日平均摂餌量を求めた。

15.8 病理学的検査

a) 剖 検

生存例について、最終投与日の翌日にエーテル麻酔下で腹部大動脈から放血し、安楽死させて体表、開孔部、皮下、頭蓋腔、胸腔、腹腔及び骨盤腔とその内容の肉眼的観察を行った。全腹児が死亡した母動物については、発見時にエーテル麻酔下で放血し、安楽死させて生存例と同様の観察を行った。死亡例は発見時に生存例と同様の観察を行った。また、雌全例について卵巣は妊娠黄体数を、子宮は切開後に着床痕数を数えた。

b) 組織採取及び器官重量測定

全例について、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢（凝固腺を含む）、卵巣、子宮、膈、乳腺及び被験物質の標的器官であることが疑われる脳（大脳、小脳及び橋）、脊髄及び坐骨神経を採取した。また、電子天秤（ザルトリウス）を用いて、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢（凝固腺を含む）及び卵巣の重量を測定した。なお、前立腺以外は左右合わせて測定した。さらに解剖日の体重をもとに器官の相対重量を算出した。このほか肉眼的病変部として50 mg/kg 群（No. 26 及び 134）の腎臓を採取した。

c) 病理組織学的検査

採取した器官・組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。ただし、精巣及び精巣上体は変法デビットソン液で固定した。分娩が確認された雌と交配相手の雄は、次表の群の器官・組織についてパラフィン包埋薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色後に光学顕微鏡的に検査した。

表中の「♂・♀」は検査をした群を、「—」は検査しなかった群を示す。また（♂♀）は HE 染色標本を作製したが、250 mg/kg 群で被験物質投与の影響を疑う変化がみられなかったため、鏡検しなかったことを示す。

器官・組織	対照群	10 mg/kg 群	50 mg/kg 群	250 mg/kg 群
精巢	♂	—	—	♂
精巢上体	♂	—	—	♂
前立腺	♂	—	—	♂
精囊（凝固腺含む）	♂	—	—	♂
卵巣	♀	—	—	♀
子宮	♀	—	—	♀
膣	♀	—	—	♀
脳※ ¹ （大脳、小脳及び橋）	♂♀	（♂♀）	（♂♀）	♂♀
脊髄※ ²	♂♀	—	—	♂♀
坐骨神経※ ²	♂♀	—	—	♂♀
乳腺	♂♀	—	—	♂♀

※1 神経症状がみられたため、雌雄のすべての用量群について HE 染色標本を作製し、対照群及び 250 mg/kg 群を検査した。

※2 脳の関連器官として雌雄の対照群及び 250 mg/kg 群について HE 染色標本を作製し、検査した。

上記以外に、肉眼的病変部として 10 mg/kg 群（No. 19）の精巢上体、50 mg/kg 群（No. 26 及び 134）の腎臓を検査した。

このほか分娩が確認されなかった雌（No. 101、140 及び 148）と交配相手の雄（No. 1、40 及び 48）について精巢、精巢上体、脳（大脳、小脳及び橋）、脊髄及び坐骨神経並びに雄の肉眼的病変部である腎臓（No. 1）及び精巢上体（No. 48）を検査した。また、全児が死亡した雌（No. 144）は肉眼的病変部である胸腺及び副腎を検査した。途中死亡した雌（No. 145）は脳（大脳、小脳及び橋）、脊髄及び坐骨神経を検査した。

15.9 性周期検査

雌全例について、投与 1 から 14 日目まで毎日膣垢を採取し、ギムザ染色後に光学顕微鏡的に検査した。また、発情期から次の発情期までを性周期日数として平均性周期日数を求めた。なお、発情期が連続する場合は最初の発情期を発情日とした。

15.10 生殖能力検査

投与 15 日目の夕刻に雌を同一用量の雄のケージへ移し、雌雄 1 対として同居させて、翌日の午前中に雌を元のケージに戻した。同居は交尾が成立するまで最長 14 日間行った。各同居日の翌朝に膣栓又は膣垢中の精子の有無を確認し、これらが確認された場合に交尾が成立したとみなした。分娩の確認は、自然分娩させて午前 10 時までに母動物が営巣し、

児に授乳を開始した場合を分娩完了とし、その日を分娩日とした。午前 10 時以降に分娩が完了した動物は翌日を分娩日とした。

交尾確認日から分娩完了前日までの日数を妊娠期間とし、交尾、分娩及び妊娠の結果から、同居させた動物数（交配数）、交尾確認された動物数（交尾数）、妊娠と判定された動物数（受胎数）、哺育 0 及び 4 日の生存児を持つ動物数（出産数）を求めた。また、交配開始日から交尾確認日までの日数（交尾所要日数）、妊娠期間、妊娠黄体数及び着床痕数を求めた。さらに下記項目について腹別の値並びに用量毎の平均値及び標準偏差を算出した。

- ・ 交尾率：（交尾動物数／同居動物数）×100
- ・ 受胎率：（妊娠判定された雌動物数／交尾確認された雌動物数）×100
- ・ 着床率：（着床痕数／妊娠黄体数）×100
- ・ 出産率：（生児を出産した雌動物数／妊娠判定された雌動物数）×100
- ・ 分娩率：（産児数／着床痕数）×100

15.11 児動物の検査

分娩完了後（哺育 0 日）に、死亡児を含む雌雄の産児数、生存児数とその総数を求め、雌雄の体重測定及び外表の観察を行った。また、哺育 4 日まで毎日 1 回、死亡を含む一般状態及び性別を観察した。さらに哺育 4 日に雌雄の生存児数とその総数を求め、雌雄の体重を測定した。得られた結果から、下記項目について腹別の値並びに用量毎の平均値及び標準偏差を算出した。

- ・ 出生率：（出產生児数／着床痕数）×100
- ・ 0 日生存率：（出產生児数／産児数）×100
- ・ 4 日生存率：（4 日生児数／出產生児数）×100
- ・ 出産児性比：雄出産児数／産児数

15.12 統計学的方法

親動物の体重（搬出時を除く）、摂餌量、器官重量、平均性周期日数、交尾所要日数、妊娠期間、妊娠黄体数、着床痕数、出生児の産児数（雌雄合計値）、出生 0 日の生存児数（雌雄合計値）、出産児性比、0 日生存児体重、4 日生児数（雌雄合計値）及び 4 日生存児体重は、Bartlett 検定により各群の分散の一樣性を検定した。Bartlett 検定において 5%水準で有意差が無く、等分散と判定された項目は一元配置分散分析による検定を行った。一元配置分散分析において 5%水準で有意差がみられた場合は、さらに対照群と被験物質の各用量群との間で Dunnett 検定を行った。Bartlett 検定において 5%水準で有意差が有り、不等分散と判定された項目は Kruskal-Wallis の検定を行った。Kruskal-Wallis の検定において 5%水準で有意差がみられた場合は、さらに対照群と被験物質の各用量群との間でノンパラメトリックの Dunnett 検定を行った。

親動物の交尾率、受胎率、出産率及び出生児の出産児性比は、Fisher の直接確率検定で対照群と被験物質の各用量群との間で有意差検定を行った。

親動物の着床率及び分娩率、児動物の出生率、0 及び 4 日生存率は、Kruskal-Wallis の検定を行い、5%水準で有意差がみられた項目は、さらに対照群と被験物質の各用量群との間でノンパラメトリックの Dunnett 検定を行った。

なお、児動物の体重は、一腹を標本単位として雌雄毎に処理した。また、Dunnett 検定及びノンパラメトリックの Dunnett 検定は、両側 5 及び 1%水準で評価した。試験成績の評価は、被験物質の用量群において対照群と比較して有意水準 1 又は 5%で有意差がみられた場合に有意な変動とした。

16. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因及び試験計画書からの逸脱

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因及び試験計画書からの逸脱はみられなかった。

17. 試験成績

17.1 一般状態

(Table 1、Appendix 1)

雄では、250 mg/kg 群で投与直後かつ一過性の流涎が 12 例全例にみられたほか、投与直後から不穏が 9 例、軽度の自発運動低下が 11 例、ケージ舐めが 2 例、咀嚼様行動が 5 例及び間代性痙攣が 1 例にみられ、いずれの変化も投与数分から数時間以内に消失した。10 及び 50 mg/kg 群に異常はみられなかった。

雌では、250 mg/kg 群で投与直後かつ一過性の流涎が 12 例全例、不穏が全例、軽度の自発運動低下が 8 例、ケージ舐めが 8 例、咀嚼様行動が 10 例、振戦が 1 例、間代性痙攣が 5 例、強直性痙攣が 1 例、連続した発声が 1 例にみられた。これらの変化のほとんどは投与直後から発現し、投与数分から数時間以内にすべて消失したが、振戦及び痙攣は投与約 30 分後に発現して 1 分以内に消失した。しかし 1 例 (No. 145) では投与 29 日目 (交配確認日) に間代性痙攣が約 15 分間連続してみられ死亡した。また、交配は確認されたものの分娩しなかった 1 例 (No. 140) では、間代性痙攣の発生頻度が高く、痙攣と流涎が同時にみられるときがあった。さらに分娩前日に間代性痙攣がみられた 1 例 (No. 144) では、分娩途中に食殺によりすべての児が死亡した。このほか 50 mg/kg 群の 1 例で交配開始翌日に膣口に咬傷がみられた。10 mg/kg 群に異常はみられなかった。

17.2 体 重

(Figure 1、Table 2、Appendix 2)

雄では、250 mg/kg 群で投与 3～21 日目に低値がみられた。10 及び 50 mg/kg 群に異常はみられなかった。

雌では、250 mg/kg 群で投与 3 日目に低値がみられた。10 及び 50 mg/kg 群に異常はみられなかった。

17.3 摂餌量

(Figure 2、Table 3、Appendix 3)

雌雄ともに、250 mg/kg 群で投与 3 及び 7 日目に低値がみられた。10 及び 50 mg/kg 群に異常はみられなかった。

17.4 病理学的検査

a) 器官重量 (Table 4 及び 5、Appendix 4 及び 5)

雌雄ともにすべての被験物質投与群に異常はみられなかった。

b) 剖検 (Table 6、Appendix 6)

雄では、被験物質投与の影響はみられなかった。なお、対照群で片側性の腎臓の腎盂拡張が 1 例、10 mg/kg 群で片側性の精巣上体の結節が 1 例、50 mg/kg 群で片側性の腎臓の腎盂拡張が 1 例、250 mg/kg 群で片側性の精巣上体の白色部が 1 例にみられた。

雌では、250 mg/kg 群の食殺により全児が死亡した 1 例 (No. 144) で胸腺の小型化及び両側性の副腎の腫大がみられた。このほか 50 mg/kg 群で片側性の腎臓の腎盂拡張が 1 例にみられた。10 mg/kg 群に異常はみられなかった。

c) 病理組織学的検査 (Table 7、Appendix 6)

雄では、被験物質投与の影響はみられなかった。なお、交配相手の雌が非分娩であった対照群の 1 例 (No. 1) で片側性の腎臓の腎盂拡張、両側性の精巣の精子細胞の核変化、両側性の精巣上体の管腔内精細胞残渣及び精子の核変化、250 mg/kg 群では 2 例のうち 1 例 (No. 48) で片側性の精巣上体の精子肉芽腫がみられた。なお、同群の別の 1 例に異常はみられなかった。このほか自然発生病変として対照群で前立腺のリンパ球浸潤が 2 例、10 mg/kg 群で片側性の精巣上体の精子肉芽腫が 1 例、50 mg/kg 群で片側性の腎臓の腎盂拡張が 1 例、250 mg/kg 群で前立腺のリンパ球浸潤が 2 例にみられた。

雌では、250 mg/kg 群の食殺により全児が死亡した 1 例 (No. 144) でストレスによると思われる胸腺の萎縮及び副腎の皮質肥大がみられた。このほか自然発生病変として対照群で膈の扁平上皮嚢胞が 1 例、50 mg/kg 群で腎臓の好塩基性尿細管、細胞浸潤及び片側性の腎盂拡張が 1 例にみられた。なお、非分娩であった対照群の 1 例 (No. 101) 及び 250 mg/kg 群の 2 例 (No. 140 及び 148)、250 mg/kg 群の死亡した 1 例 (No. 145) に異常はみられなかった。10 mg/kg 群は検査しなかった。

17.5 生殖能力検査

(Table 8 及び 9、Appendix 7、8 及び 9)

交配は確認されたが分娩しなかった雌が対照群で 1 例、250 mg/kg 群で 2 例みられ、250 mg/kg 群の雌 1 例が死亡したため、対照群、10、50 及び 250 mg/kg 群の妊娠動物数は、それぞれ 11 例、12 例、12 例及び 9 例となった。

すべての被験物質投与群の性周期、交尾率、受胎率、交尾所要日数及び出産率などに異常はみられなかった。

17.6 分娩・哺育状態

(Table 1、Appendix 1)

250 mg/kg の 1 例 (No. 144) で分娩開始時からリッキング行動、リトリービング行動及びクラウチング行動がみられず、分娩完了前に食殺により児のすべてが死亡した。このほか 50 mg/kg 群の 1 例で分娩日にリッキング行動及びリトリービング行動がみられなかったが、翌日以降は正常であった。10 mg/kg 群に異常はみられなかった。

17.7 児動物の出生日及び哺育期の検査

(Table 9 及び 10、Appendix 9 及び 10)

10 mg/kg 群で腹部の白色部が 1 例、対照群及び 50 mg/kg 群でミルクバンドのみられない児が各 1 例、50 mg/kg で体温低下が 1 例、対照群、50 及び 250 mg/kg 群で児の死亡が、それぞれ 4 例、4 例及び 1 例みられたが、いずれも用量依存性のみられない変化であった。また、すべての被験物質投与群の出生率、性比、生存率及び体重に異常はみられなかった。

18. 考 察

被験物質を 28 日間反復投与した試験（森村、2004）では、100 mg/kg/day 以上でケージを舐める動作、咀嚼様動作、400 mg/kg/day で間代性痙攣、体重及び摂餌量の低値、小葉中心性肝細胞肥大、腎臓の集合管上皮の空胞化、副腎の束状帯の肥大などがみられ、同群雄の 5 例中 3 例、雌の 5 例全例が死亡している。本試験では、高用量とした 250 mg/kg 群でケージ舐め、咀嚼様行動、間代性痙攣などがみられ、雌 1 例が死亡した。また、親動物の体重低値がみられたが、先の 28 日間試験のような肝臓、腎臓及び副腎に対する影響はみられなかった。これは両試験の投与経路及び媒体など投与条件が一致しているため、投与量が異なることによると考えられる。また、本試験の雌は妊娠・分娩などストレスとなる要因があるため、被験物質の影響に性差がみられることが予想された。実際、痙攣は雌に強くみられ、頻度の高い雌で非分娩となった。また、哺育行動の異常や児の食殺がみられた。しかし、雌雄の生殖器及び生殖能に関するパラメータに異常がみられないこと、被験物質はコリンエステラーゼ阻害作用（Rolf, 1968 及び 1970）があるが、痙攣を含む神経症状は投与数時間以内にすべて消失し交配期間中の雄との同居時には異常がみられないこと、児を食殺した雌には胸腺の萎縮と副腎の皮質肥大などストレスが原因と考えられる変化がみられたため、本試験でみられたこれらの変化は神経症状による二次的変化で、生殖能に対する直接影響ではないと考えられた。また、産児数、児の体重及び生存率などすべての児の検査にも異常がみられないため、被験物質は親動物の生殖能及び次世代に対する影響を示さないと考えられた。

以上のように、被験物質は 250 mg/kg 群で神経症状を示したが、生殖能に対する直接影響がみられないこと、児に被験物質投与の影響がみられないことから、本試験条件下における 2-(ジ-n-ブチルアミノ)エタノールの親動物に関する無毒性量（NOAEL）は 50 mg/kg/day、生殖発生毒性に関する NOAEL は最高用量である 250 mg/kg/day とした。

19. 参考文献

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 (2004) http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/paper/paper102-81-8b.html より引用。

Rolf H, Herbert HC, Cholinesterase inhibition in the acute toxicity of alkyl-substituted 2-aminoethanols. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 12:486-494 (1968).

Rolf H, Lester BP, Herbert HC, convulsions induced by 2-N-di-n-butylaminoethanol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 17:337-343 (1970).

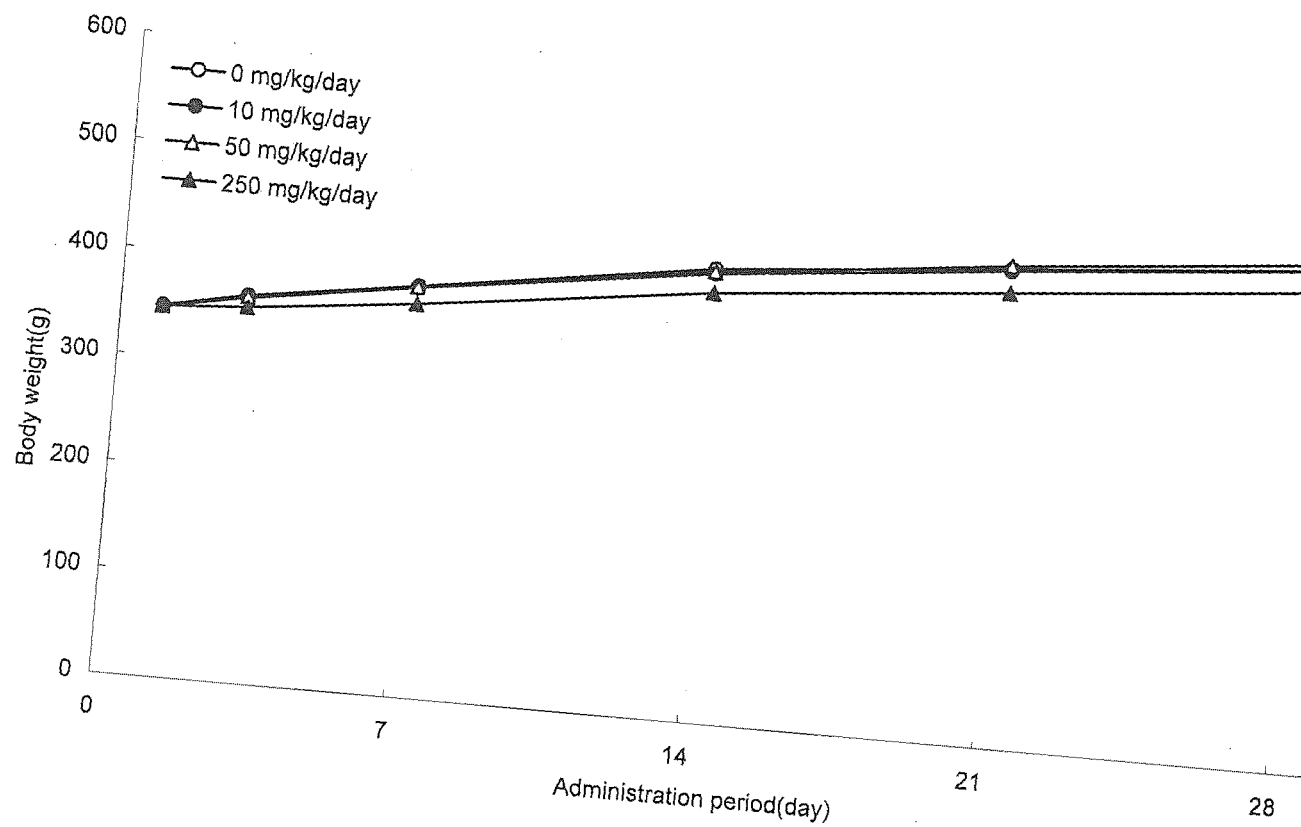


Fig. 1-1 Body weights of male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

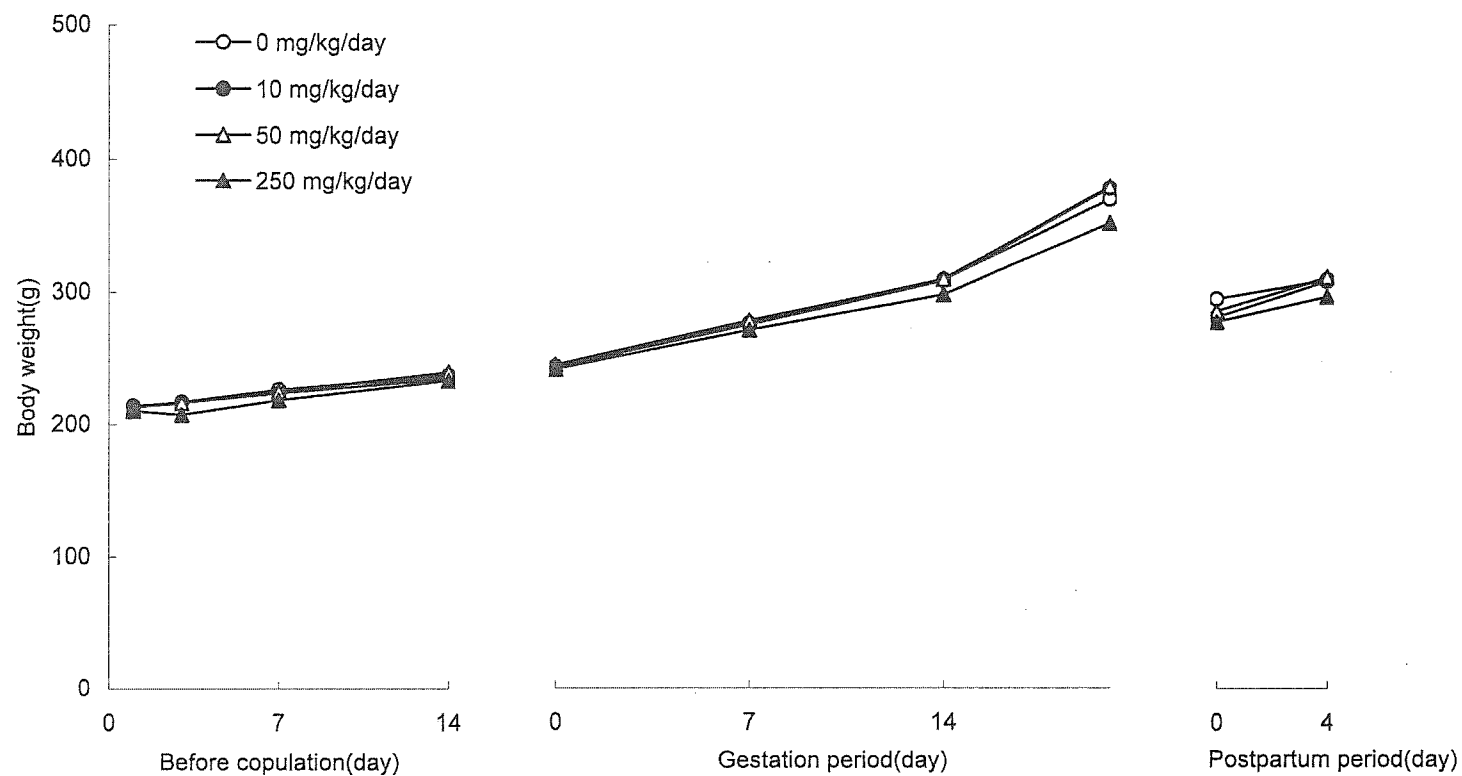


Fig. 1-2 Body weights of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

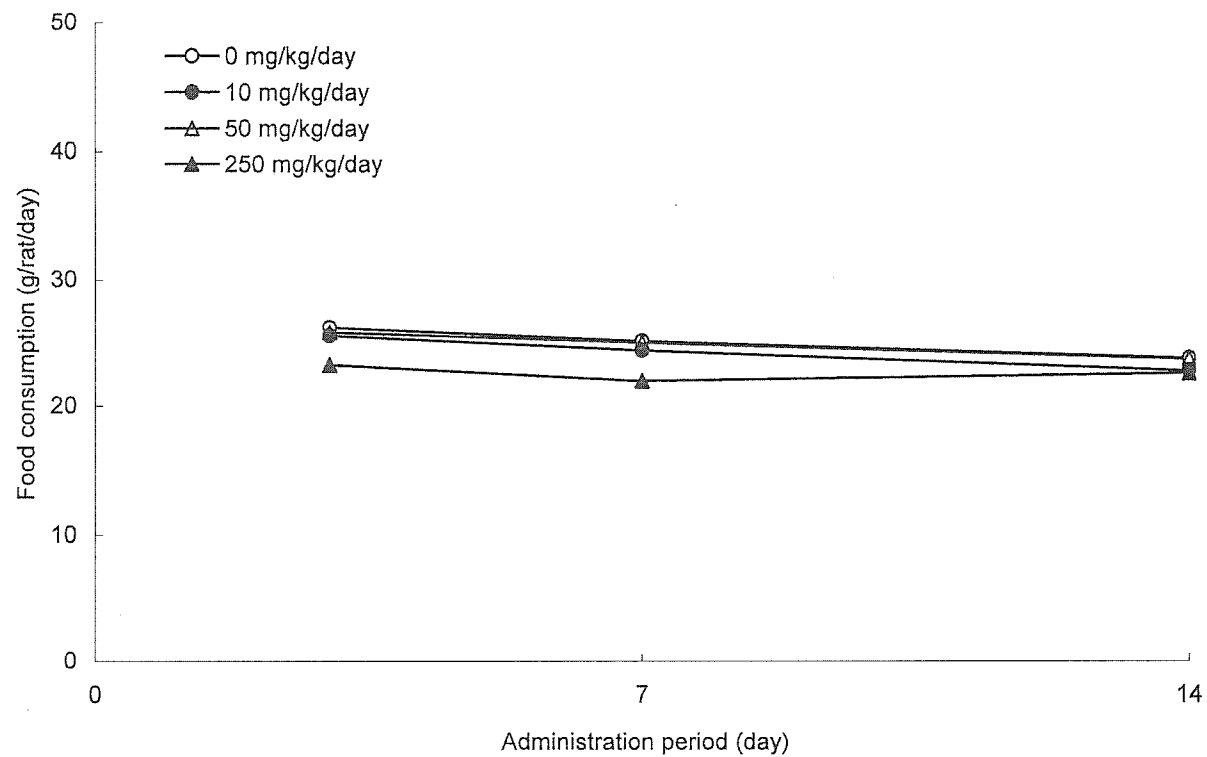


Fig. 2-1 Food consumption of male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

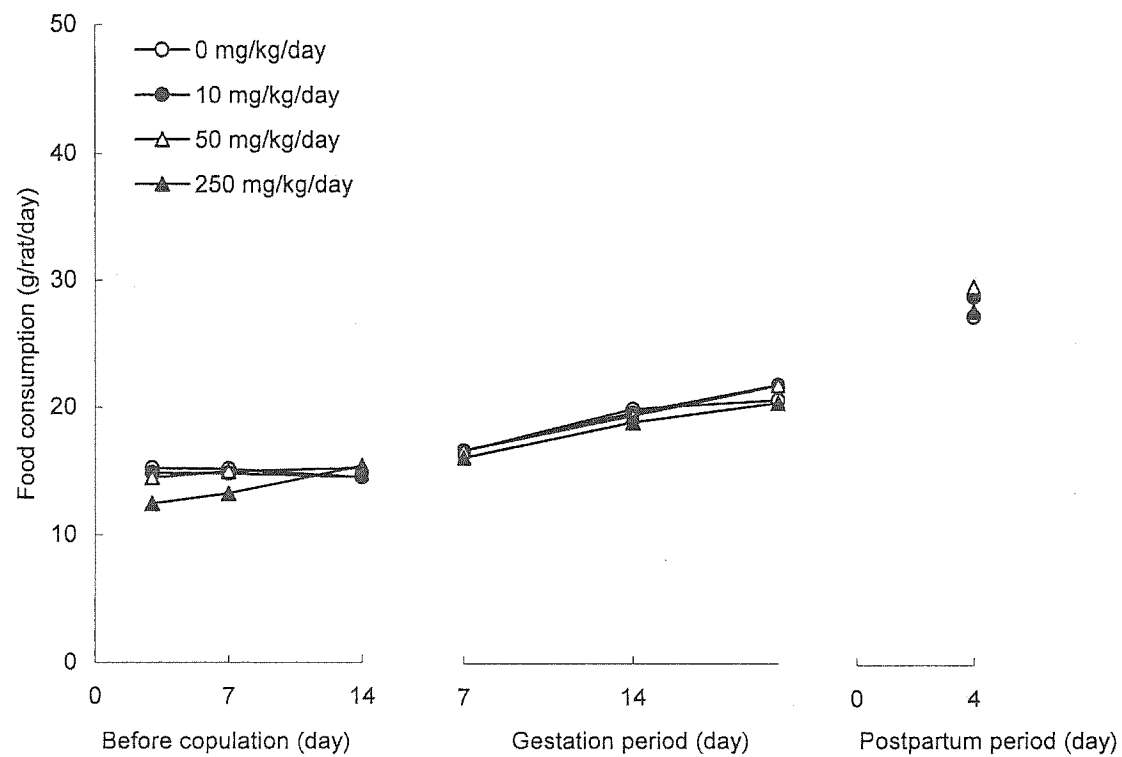


Fig. 2-2 Food consumption of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Table 1-1 Clinical signs of male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group (mg/kg/day)		0	10	50	250
Signs	Number of animals	12	12	12	12
No abnormalities detected		12	12	12	
Salivation					12
Restlessness					9
Decreased spontaneous locomotion					11
Cage licking					2
Chewing					5
Clonic convulsion					1

Table 1-2 Clinical signs of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group (mg/kg/day)		0	10	50	250
Signs	Number of animals	12	12	12	12
No abnormalities detected		12	12	11	
Salivation					12
Restlessness					12
Decreased spontaneous locomotion					8
Cage licking					8
Chewing					10
Tremor					1
Clonic convulsion					5
Tonic convulsion					1
Incised wound of vaginal opening				1	
Continuous vocalization					1
Death					1
Delivery and nursing conditions					
No licking				1	1
No retrieving				1	1
No crouching					1
Whole litters died during delivery					1

Table 2-1 Body weights of male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Administration period (day)					
	1	3	7	14	21	28
0	346.8 ± 7.5 (12)	362.5 ± 10.2 (12)	385.0 ± 11.1 (12)	425.2 ± 13.9 (12)	449.2 ± 20.3 (12)	473.9 ± 26.2 (12)
10	345.6 ± 7.1 (12)	359.8 ± 8.4 (12)	383.6 ± 10.6 (12)	420.6 ± 14.9 (12)	447.3 ± 15.5 (12)	473.6 ± 20.3 (12)
50	347.1 ± 9.1 (12)	360.9 ± 10.1 (12)	384.1 ± 13.6 (12)	422.3 ± 20.1 (12)	452.0 ± 26.3 (12)	479.2 ± 31.5 (12)
250	345.9 ± 8.3 (12)	351.1 ± 8.5 * (12)	368.1 ± 14.2 ** (12)	402.6 ± 20.8 ** (12)	426.6 ± 24.1 * (12)	454.0 ± 29.2 (12)

Mean ± S.D.

Values in parenthesis are number of animals examined.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 2-2 Body weights of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	(g)			
	Before copulation (day)			
	1	3	7	14
0	213.4 ± 10.7 (12)	216.9 ± 9.6 (12)	226.6 ± 11.2 (12)	237.0 ± 12.2 (12)
10	214.1 ± 9.6 (12)	216.5 ± 7.8 (12)	223.6 ± 7.2 (12)	235.0 ± 9.1 (12)
50	212.9 ± 9.5 (12)	216.1 ± 9.5 (12)	224.9 ± 11.6 (12)	239.4 ± 10.6 (12)
250	210.2 ± 9.2 (12)	207.3 ± 5.6 * (12)	218.4 ± 9.1 (12)	233.3 ± 12.7 (12)

Mean ± S.D.

Values in parenthesis are number of animals examined.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 2-3 Body weights of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Gestation period (day)				Postpartum period (day)	
	0	7	14	20	0	4
0	246.2 ± 12.8 (12)	279.0 ± 16.1 (12)	312.0 ± 21.0 (12)	372.9 ± 36.4 (12)	299.0 ± 33.5 (11)	313.2 ± 19.7 (11)
10	246.2 ± 11.2 (12)	277.8 ± 10.7 (12)	311.5 ± 15.0 (12)	381.4 ± 22.1 (12)	284.7 ± 19.3 (12)	312.4 ± 19.6 (12)
50	247.4 ± 12.0 (12)	281.2 ± 14.0 (12)	312.6 ± 17.2 (12)	382.7 ± 19.5 (12)	289.6 ± 24.5 (12)	315.2 ± 21.0 (12)
250	244.3 ± 18.2 (12)	273.9 ± 15.6 (11)	301.0 ± 15.9 (11)	355.0 ± 35.4 (11)	281.2 ± 18.8 (8)	300.6 ± 15.7 (8)

Mean ± S.D.

Day of vaginal plug was confirmed = Gestational day 0, Day of delivery = Postpartum day 0.

Values in parenthesis are number of animals examined.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 3-1 Food consumption of male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Administration period (day)				
	3	7	14	21	28
0	26.15 ± 1.80 (12)	25.08 ± 2.34 (12)	23.75 ± 2.27 (12)	- a	- b
10	25.52 ± 1.83 (12)	24.37 ± 1.71 (12)	22.76 ± 1.72 (12)	- a	- b
50	25.78 ± 2.19 (12)	24.96 ± 2.26 (12)	23.68 ± 2.27 (12)	- a	- b
250	23.23 ± 2.21 ** (12)	21.97 ± 3.15 ** (12)	22.58 ± 2.61 (12)	- a	- b

Mean ± S.D.

Values in parenthesis are number of animals examined.

a: Mating period.

b: Since measurement on day 21 was not performed.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 3-2 Food consumption of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	(g/rat/day)		
	Before copulation (day)		
	3	7	14
0	15.24 ± 1.58 (12)	15.18 ± 0.98 (12)	14.52 ± 1.14 (12)
10	14.88 ± 1.70 (12)	14.83 ± 0.87 (12)	14.54 ± 0.90 (12)
50	14.47 ± 1.49 (12)	14.97 ± 0.88 (12)	15.22 ± 0.96 (12)
250	12.43 ± 3.20 * (12)	13.23 ± 1.29 ** (12)	15.39 ± 1.84 (12)

Mean ± S.D.

Values in parenthesis are number of animals examined.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 3-3 Food consumption of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	(g/rat/day)			Postpartum period (day)
	Gestation period (day)			
	7	14	20	4
0	16.23 ± 1.31 (12)	19.44 ± 3.36 (12)	20.14 ± 2.64 (12)	27.08 ± 4.57 (11)
10	16.28 ± 1.12 (12)	19.16 ± 2.32 (12)	21.31 ± 1.64 (12)	28.63 ± 2.87 (12)
50	16.28 ± 1.68 (12)	18.92 ± 2.16 (12)	21.27 ± 2.18 (12)	29.37 ± 2.90 (12)
250	15.75 ± 1.84 (11)	18.42 ± 2.02 (11)	19.90 ± 2.86 (11)	27.48 ± 2.27 (8)

Mean ± S.D.

Day of vaginal plug was confirmed = Gestational day 0, Day of delivery = Postpartum day 0.

Values in parenthesis are number of animals examined.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 4-1 Absolute organ weights of male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Items	Dose (mg/kg/day)				
		0	10	50	250
Testes	(g)	3.326 ±0.231 (12)	3.383 ±0.224 (12)	3.360 ±0.272 (12)	3.169 ±0.196 (12)
Epididymides	(g)	1.199 ±0.082 (12)	1.188 ±0.077 (12)	1.217 ±0.093 (12)	1.186 ±0.116 (12)
Prostate	(g)	1.309 ±0.157 (12)	1.288 ±0.153 (12)	1.245 ±0.151 (12)	1.177 ±0.153 (12)
Seminal vesicle	(g)	1.672 ±0.189 (12)	1.630 ±0.223 (12)	1.693 ±0.211 (12)	1.529 ±0.276 (12)
Final body weight	(g)	483.30 ±25.95 (12)	481.23 ±19.43 (12)	488.89 ±33.40 (12)	462.08 ±28.97 (12)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 4-2 Absolute organ weights of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Items	Dose (mg/kg/day)				
		0	10	50	250
Ovaries (mg)		93.65	95.94	93.58	87.66
		±13.59 (11)	±11.63 (12)	±12.26 (12)	±6.61 (8)
Final body weight (g)		313.16	312.36	315.18	300.61
		±19.66 (11)	±19.61 (12)	±21.00 (12)	±15.72 (8)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 5-1 Relative organ weights of male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Items	Dose (mg/kg/day)				
		0	10	50	250
Testes	(g/100g)	0.691 ±0.067 (12)	0.704 ±0.050 (12)	0.689 ±0.056 (12)	0.689 ±0.067 (12)
Epididymides	(g/100g)	0.248 ±0.024 (12)	0.248 ±0.011 (12)	0.251 ±0.023 (12)	0.257 ±0.027 (12)
Prostate	(g/100g)	0.273 ±0.035 (12)	0.269 ±0.035 (12)	0.256 ±0.032 (12)	0.256 ±0.039 (12)
Seminal vesicle	(g/100g)	0.346 ±0.045 (12)	0.339 ±0.046 (12)	0.349 ±0.047 (12)	0.333 ±0.071 (12)
Final body weight	(g)	483.30 ±25.95 (12)	481.23 ±19.43 (12)	488.89 ±33.40 (12)	462.08 ±28.97 (12)

Values are shown as Mean ± S.D..

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at P<0.05.

** Significantly different from vehicle control at P<0.01.

Table 5-2 Relative organ weights of female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Items	Dose (mg/kg/day)	0	10	50	250
Ovaries	(mg/100g)	29.83 ±3.21 (11)	30.73 ±3.39 (12)	29.73 ±3.78 (12)	29.21 ±2.46 (8)
Final body weight	(g)	313.16 ±19.66 (11)	312.36 ±19.61 (12)	315.18 ±21.00 (12)	300.61 ±15.72 (8)

Values are shown as Mean ± S.D.,

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for the statistical analysis.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 6-1 Macroscopic examinations of rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Findings	Male					
	0		10	50	250	(mg/kg/day)
	ss	ss-nd	ss	ss	ss	ss-nd
	11 ^{a)}	1	12	12	10	2
No abnormalities detected	11	0	11	11	10	1
Kidney						
Pelvic dilatation, unilateral	0	1	0	1	0	0
Epididymis						
Nodule, unilateral	0	0	1	0	0	0
Whitish region, unilateral	0	0	0	0	0	1

ss, scheduled sacrifice animal; ss-nd, male animal whose partner did not deliver her pups.

a) Number of animals examined.

Table 6-2 Macroscopic examinations of rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Findings	Female							
	0		10	50	250			(mg/kg/day)
	ss	is-nd	ss	ss	ss	is-nd	is-pd	d
	11 ^{a)}	1	12	12	8	2	1	1
No abnormalities detected	11	1	12	11	8	2	0	1
Kidney								
Pelvic dilatation, unilateral	0	0	0	1	0	0	0	0
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	0	1	0
Adrenal								
Enlargement, bilateral	0	0	0	0	0	0	1	0

ss, scheduled sacrifice animal; is-nd, female animal did not deliver her pups; is-pd, dam all her pups were dead after birth; d, dead animal.

Table 7-1 Histopathological examinations of rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Reproduction/developmental toxicity screening test								
Findings	Grade	Male						
		0		10	50	250		(mg/kg/day)
		ss	ss-nd	ss	ss	ss	ss-nd	
		11 ^{a)}	1	12	12	10	2	
Kidney								
Basophilic tubules	+	---	1/1 ^{b)}	---	0/1	---	---	
Pelvic dilatation, unilateral	+	---	1/1	---	1/1	---	---	
Testis								
No abnormalities detected		11/11	0/1	---	---	10/10	2/2	
Nuclear alteration of spermatids, bilateral	++	0/11	1/1	---	---	0/10	0/2	
Epididymis								
No abnormalities detected		11/11	0/1	0/1	---	10/10	1/2	
Germ cell debris in lumen, bilateral	+	0/11	1/1	0/1	---	0/10	0/2	
Nuclear alteration of spermatozoa, bilateral	++	0/11	1/1	0/1	---	0/10	0/2	
Spermatic granuloma, unilateral	++	0/11	0/1	1/1	---	0/10	1/2	
Prostate								
No abnormalities detected		9/11	---	---	---	8/10	---	
Lymphocyte infiltration	+	1/11	---	---	---	2/10	---	
	++	1/11	---	---	---	0/10	---	
Coagulating gland								
No abnormalities detected		11/11	---	---	---	10/10	---	
Seminal vesicle								
No abnormalities detected		11/11	---	---	---	10/10	---	
Cerebrum								
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	10/10	2/2	
Cerebellum								
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	10/10	2/2	
Pons								
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	10/10	2/2	
Spinal cord								
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	10/10	2/2	
Sciatic nerve								
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	10/10	2/2	
Mammary gland								
No abnormalities detected		11/11	---	---	---	10/10	---	

ss, scheduled sacrifice animal, ss-nd, male animal whose partner did not deliver.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---, Not examined.

+, slight; ++, moderate.

Table 7-2 Histopathological examinations of rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Reproduction/developmental toxicity screening test									
Findings	Grade	Female							
		0		10	50	250			(mg/kg/day)
		ss	is-nd	ss	ss	ss	is-nd	is-pd	d
		11 ^(a)	1	12	12	8	2	1	1
Kidney									
Basophilic tubules	+	---	---	---	1/1 ^(b)	---	---	---	---
Cell infiltration	+	---	---	---	1/1	---	---	---	---
Pelvic dilatation, unilateral	++	---	---	---	1/1	---	---	---	---
Ovary									
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	---
Uterus									
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	---
Vagina									
No abnormalities detected		10/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	---
Squamous epithelial cyst	+	1/11	0/1	---	---	0/8	0/2	---	---
Cerebrum									
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	1/1
Cerebellum									
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	1/1
Pons									
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	1/1
Spinal cord									
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	1/1
Sciatic nerve									
No abnormalities detected		11/11	1/1	---	---	8/8	2/2	---	1/1
Thymus									
Atrophy	++	---	---	---	---	---	---	1/1	---
Adrenal									
Hypertrophy of cortex	+	---	---	---	---	---	---	1/1	---
Mammary gland									
No abnormalities detected		11/11	---	---	---	8/8	---	---	---

ss, scheduled sacrifice animal; is-nd, female animal did not deliver her pups; is-pd, dam all her pups were dead after birth; d, dead animal.

a) Number of animals autopsied.

b) Number of animals affected / Number of animals examined.

---, Not examined.

+, slight; ++, moderate.

Table 8 Reproductive parameters in parental rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

	Exp. group (mg/kg/day)			
	0	10	50	250
Estrus cycle (days, Mean $\pm$ S.D.)	4.0 $\pm$ 0.0	4.0 $\pm$ 0.0	4.1 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.0
Number of mated pairs	12	12	12	12
Number of copulated pairs	12	12	12	12
Number of pregnant females	11	12	12	9
Copulation index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Conception index (%)	91.7	100.0	100.0	75.0
Pairing days until copulation (Mean $\pm$ S.D.)	2.2 $\pm$ 1.0	2.8 $\pm$ 1.0	2.4 $\pm$ 1.0	4.1 $\pm$ 4.8

Copulation index: (Number of copulated pairs /Number of mated pairs) $\times$ 100.

Conception index: (Number of pregnant females /Number of females in copulated pairs) $\times$ 100.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 9 Postnatal course of rat litters whose parents treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

	Exp. group (mg/kg/day)			
	0	10	50	250
Number of pregnant	11	12	12	9
Gestation length (Mean $\pm$ S.D., day)	22.3 $\pm$ 0.5	22.3 $\pm$ 0.5	22.4 $\pm$ 0.5	22.1 $\pm$ 0.4
Number of corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	13.0 $\pm$ 4.5	14.2 $\pm$ 1.6	14.2 $\pm$ 1.6	10.9 $\pm$ 6.6
Number of implantation sites (Mean $\pm$ S.D.)	12.3 $\pm$ 4.9	13.7 $\pm$ 1.7	13.8 $\pm$ 1.7	10.3 $\pm$ 6.5
Implantation index (Mean $\pm$ S.D., %)	94.2 $\pm$ 17.1	96.6 $\pm$ 6.1	97.1 $\pm$ 3.7	94.4 $\pm$ 10.5
Delivery dam index (%)	100.0	100.0	100.0	88.9
Delivery index (Mean $\pm$ S.D., %)	92.1 $\pm$ 10.6	91.8 $\pm$ 10.6	92.5 $\pm$ 7.3	92.9 $\pm$ 5.5
Number of dams with live newborns				
day 0 of postpartum	11	12	12	8
day 4 of postpartum	11	12	12	8
Postnatal day 0				
Number of pups born (Mean $\pm$ S.D.)	12.5 $\pm$ 3.7	12.5 $\pm$ 1.9	12.7 $\pm$ 1.5	12.8 $\pm$ 2.0
Number of live pups (Mean $\pm$ S.D.)	12.5 $\pm$ 3.8	12.5 $\pm$ 1.9	12.5 $\pm$ 1.4	12.6 $\pm$ 1.9
Birth index (Mean $\pm$ S.D., %)	91.3 $\pm$ 10.3	91.8 $\pm$ 10.6	91.4 $\pm$ 8.6	92.1 $\pm$ 5.9
Live birth index (Mean $\pm$ S.D., %)	99.2 $\pm$ 2.5	100.0 $\pm$ 0.0	98.8 $\pm$ 2.9	99.1 $\pm$ 2.5
Sex ratio of pups born	69 / 138	62 / 150	89 / 152	45 / 102
(Mean $\pm$ S.D.)	0.49 $\pm$ 0.16	0.41 $\pm$ 0.11	0.58 $\pm$ 0.14	0.45 $\pm$ 0.12
Number of live pups with external anomalies	0 / 137	1 / 150	0 / 150	0 / 101
Pups weight (Mean $\pm$ S.D., g)				
Male	6.84 $\pm$ 1.09	6.93 $\pm$ 0.45	6.81 $\pm$ 0.43	6.35 $\pm$ 0.18
Female	6.58 $\pm$ 1.14	6.64 $\pm$ 0.48	6.54 $\pm$ 0.38	6.01 $\pm$ 0.48
Postnatal day 4				
Number of live pups (Mean $\pm$ S.D.)	12.2 $\pm$ 3.7	12.5 $\pm$ 1.9	12.3 $\pm$ 1.6	12.6 $\pm$ 1.9
Viability index (Mean $\pm$ S.D., %)	98.1 $\pm$ 6.5	100.0 $\pm$ 0.0	98.6 $\pm$ 3.2	100.0 $\pm$ 0.0
Pups weight (Mean $\pm$ S.D., g)				
Male	11.37 $\pm$ 2.21	11.35 $\pm$ 0.72	11.47 $\pm$ 0.83	10.92 $\pm$ 0.78
Female	11.03 $\pm$ 2.28	10.82 $\pm$ 0.86	11.10 $\pm$ 0.61	10.14 $\pm$ 0.88

Implantation index: (Number of implantation sites /Number of corpora lutea) $\times$ 100.

Delivery dam index: (Number of pregnant females with live pups at birth /Number of pregnant females) $\times$ 100.

Delivery index: (Number of pups born /Number of implantation sites) $\times$ 100.

Birth index: (Number of live pups at birth /Number of implantation sites) $\times$ 100.

Live birth index: (Number of live pups at birth /Number of pups born) $\times$ 100.

Sex ratio of pups born: Number of males born /Number of pups born.

Viability index: (Number of live pups on postnatal day 4 /Number of live pups at birth) $\times$ 100.

* Significantly different from vehicle control at $P < 0.05$.

** Significantly different from vehicle control at $P < 0.01$.

Table 10 Clinical signs of rats litters treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group (mg/kg/day)		0	10	50	250
Signs	Number of pups	138	150	152	102
No abnormalities detected		134	149	148	101
Whitish region of abdomen			1		
No milk band		1		1	
Subnormal temperature				1	
Death		4		4	1

Appendix 1-1 Clinical signs of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

0 mg/kg/day group

Animal No.	Signs	Day of administration period																												
1	No abnormalities detected	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	29
2	No abnormalities detected	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	29
3	No abnormalities detected	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	29
4	No abnormalities detected	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	29
5	No abnormalities detected	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	29
6	No abnormalities detected	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	29
7	No abnormalities detected	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	29
8	No abnormalities detected	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	29
9	No abnormalities detected	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	29
10	No abnormalities detected	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	29
11	No abnormalities detected	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	29
12	No abnormalities detected	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	29

Appendix 1-2 Clinical signs of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test
10 mg/kg/day group

Animal No.	Signs	Day of administration period																												
13	No abnormalities detected	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	29
14	No abnormalities detected	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	29
15	No abnormalities detected	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	29
16	No abnormalities detected	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	29
17	No abnormalities detected	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	29
18	No abnormalities detected	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	29
19	No abnormalities detected	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	29
20	No abnormalities detected	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	29
21	No abnormalities detected	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	29
22	No abnormalities detected	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	29
23	No abnormalities detected	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	29
24	No abnormalities detected	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	29

Appendix 1-3 Clinical signs of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

50 mg/kg/day group

Animal No.	Signs	Day of administration period																												
25	No abnormalities detected	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	29
26	No abnormalities detected	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	29
27	No abnormalities detected	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	29
28	No abnormalities detected	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	29
29	No abnormalities detected	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	29
30	No abnormalities detected	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	29
31	No abnormalities detected	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	29
32	No abnormalities detected	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	29
33	No abnormalities detected	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	29
34	No abnormalities detected	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	29
35	No abnormalities detected	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	29
36	No abnormalities detected	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	29

Appendix 1-4 Clinical signs of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test
250 mg/kg/day group

Animal No.	Signs	Day of administration period																												
37	No abnormalities detected	1	-	3	-	-	6	7	-	9	10	-	-	-	-	-	-	18	19	-	-	22	23	-	-	-	-	-	-	
	Salivation	-	2	-	4	5	-	-	8	-	-	11	12	13	14	15	16	17	-	-	20	21	-	-	24	-	26	27	28	29
	Restlessness	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	12	13	-	-	-	17	-	-	-	-	-	24	-	26	27	28	29	
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	17	-	-	20	-	-	-	-	25	-	-	-	-
38	No abnormalities detected	1	2	3	-	5	-	7	-	9	10	11	12	13	14	15	16	17	-	19	-	21	22	23	24	25	26	27	28	-
	Salivation	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	
	Cage licking	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chewing	-	-	-	-	-	6	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29
39	No abnormalities detected	1	2	3	-	-	6	-	8	-	-	-	-	-	-	15	-	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	-
	Salivation	-	-	-	4	5	-	7	-	9	10	11	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Restlessness	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	9	10	-	-	-	14	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chewing	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	No abnormalities detected	1	2	-	4	5	-	-	8	-	-	11	12	-	14	15	-	-	-	19	-	21	22	23	-	-	-	27	-	29
	Salivation	-	-	3	-	-	-	7	-	-	-	-	-	13	-	-	-	17	18	-	20	-	-	-	24	25	26	-	28	-
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	9	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cage licking	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	No abnormalities detected	1	2	3	4	5	6	7	8	-	10	11	-	-	14	-	16	-	18	19	-	-	22	23	-	25	26	27	-	29
	Salivation	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	12	13	-	15	-	17	-	-	20	21	-	-	24	-	-	-	28	-
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	No abnormalities detected	1	2	3	4	-	6	-	8	9	10	-	-	-	14	-	16	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	27	-	-
	Salivation	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	11	12	13	-	-	-	17	-	19	20	21	22	23	24	25	26	-	28	29
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	15	-	-	-	19	20	-	-	-	24	-	-	-	28	29
	Clonic convulsion	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Appendix 1-5 Clinical signs of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test
250 mg/kg/day group

Animal No.	Signs	Day of administration period																												
43	No abnormalities detected	1	2	3	4	5	6	7	8	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	19	20	21	22	-	-	25	-	27	-	29
	Salivation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	12	13	-	15	16	17	18	-	-	-	-	23	24	-	26	-	28	-
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	-	-	-	-	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chewing	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	No abnormalities detected	1	2	3	4	-	6	7	8	-	10	11	12	-	-	15	16	17	18	19	-	-	22	-	-	-	-	27	28	29
	Salivation	-	-	-	-	-	-	-	-	9	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	25	-	-	-	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	21	-	23	24	-	26	-	-	-
	Chewing	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	No abnormalities detected	1	-	3	4	5	6	7	8	-	-	11	-	-	14	15	-	17	18	-	20	21	-	23	24	25	26	27	28	-
	Salivation	-	2	-	-	-	-	-	-	9	10	-	12	13	-	-	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	19	-	-	22	-	-	-	-	-	-	29
46	No abnormalities detected	1	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	22	-	-	-	-	27	28	-
	Salivation	-	-	-	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	-	21	-	23	24	25	26	-	-	29
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	-	-	-	-	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	14	-	-	17	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29
47	No abnormalities detected	1	2	-	4	5	6	7	-	9	10	-	-	-	-	-	16	-	-	19	-	-	-	23	-	-	-	-	-	-
	Salivation	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	11	12	-	-	-	-	17	18	-	20	21	22	-	24	25	26	-	28	-
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27	-	-	
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	
	Chewing	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	14	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	No abnormalities detected	1	-	3	-	-	6	7	8	-	-	-	-	13	14	15	-	-	-	19	-	-	22	23	-	-	-	27	-	-
	Salivation	-	2	-	4	5	-	-	-	9	10	11	12	-	-	-	16	17	18	-	20	21	-	-	24	-	26	-	28	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	25	26	-	-	29

0 mg/kg/day group

Animal No.	Signs	Day of administration period																																											
101 (No delivery)	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41			
102	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42		
103	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	
104	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	
105	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41			
106	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41			
107	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	
108	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41			
109	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
110	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
111	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	
112	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	

▼: Day of delivery

Appendix 1-7

To high-risk group		Day of administration period																																												
Animal No.	Signs																																													
113		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41				
114		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43		
115		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43		
116		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42			
117		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43		
118		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41				
119		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	
120		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	
121		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43		
122		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
123		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	
124		▽																																												
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	

▽: Day of copulation

▼: Day of delivery

Animal No.	Signs	Day of administration period																																											
125																																													
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41			
126																																													
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	-	41	42	43	
	No licking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
127																																													
	No abnormalities detected	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
	Incised wound of vaginal opening	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	17	18	19	20	21	22	23	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128																																													
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41			
129																																													
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	
130																																													
	No abnormalities detected	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	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
131																																													
	No abnormalities detected	1	2																																										

▼: Day of delivery

Animal No.	Signs	Day of administration period																																															
137		▽																																															
	No abnormalities detected	1	2	3	-	-	-	-	8	9	-	-	12	-	14	15	-	17	18	-	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	-	38	39	40	41	42	43	44	45			
	Salivation	-	-	-	4	5	6	7	-	-	10	11	-	13	-	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37	-	-	-	-	-	-	-			
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Chewing	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
138		▽																																															
	No abnormalities detected	1	-	3	4	5	6	7	8	9	10	11	-	-	-	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42							
	Salivation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	13	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chewing	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
139		▽																																															
	No abnormalities detected	1	-	3	4	-	-	-	-	-	-	11	12	-	-	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41							
	Salivation	-	-	-	-	-	7	-	9	10	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Restlessness	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cage licking	-	2	-	-	5	6	-	8	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chewing	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
140		▽																																															
(No delivery)	No abnormalities detected	1	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	-	-	-	25	-	27	-	-	-	-	-	34	3															

▼: Day of delivery

Appendix 1-10 Clinical signs of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test
250 mg/kg/day group

Animal No.	Signs	Day of administration period																																										
143		▽																				▼																						
	No abnormalities detected	1	-	3	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	24	25	26	27	28	-	30	-	32	-	34	-	36	37	38	39	40	41			
	Salivation	-	2	-	4	-	6	7	8	9	10	-	12	13	14	15	16	-	18	19	20	21	22	-	-	-	-	-	-	29	-	31	-	33	-	35	-	-	-	-	-	-		
	Restlessness	-	-	-	-	6	-	-	9	10	-	12	-	14	-	16	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Cage licking	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Chewing	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Clonic convulsion	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Continuous vocalization	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
144		▽																																										
	No abnormalities detected	1	2	-	-	5	-	-	8	9	-	11	12	-	-	15	-	17	-	19	20	21	22	-	24	25	26	27	28	29	-	-	32	33	34	35	36	-	-	-	-			
	Salivation	-	-	-	-	6	7	-	-	10	-	-	13	14	-	-	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Restlessness	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Cage licking	-	-	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Clonic convulsion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37	38	-	-	-		
	Tremor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	No licking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39	-	-		
	No retrieving	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39	-	-		
	No crouching	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39	-	-		
	Whole litters died during delivery	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	
145		▽																																										
	No abnormalities detected	1	-	3	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	22	23	-	25	-	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Salivation	-	-	-	-	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	-	18	19	-	21	-	-	24	-	26	-	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	8	9	10	-	12	13	14	15	16	-	18	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	12	-	-	15	-	-	-	-	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Cage licking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Chewing	-	2	-	4	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-	-	17	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Clonic convulsion	-	-	-	-	-	7	8	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	-	-	-		
	Tonic convulsion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Death	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	-	-	-		
146		▽																				▼																						
	No abnormalities detected	1	2	3	-	5	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	19	20	21	-	23	24	-	26	-	28	-	-	31	32	-	34	35	-	37	38	39	-	41	-	43		
	Salivation	-	-	-	-	-	7	8	9	10	11	12	13	-	15	16	17	-	-	-	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Restlessness	-	-	-	-	-	-	8	9	10	-	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	30	-	-	33	-	-	36	-	-	-	40	-	42	-
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	15	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Cage licking	-	-	-	4	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Chewing	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	-	-	-	-	-	-	25	-	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Clonic convulsion	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

▽: Day of copulation

▼: Day of delivery

Appendix 1-11 Clinical signs of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test
250 mg/kg/day group

200 mg/kg/day group		Day of administration period																																												
Animal No.	Signs	▽																					▼																							
147	No abnormalities detected	1	2	3	4	-	-	-	8	-	-	11	-	-	-	15	16	17	-	19	20	21	22	23	24	-	26	27	28	29	30	31	-	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43		
	Salivation	-	-	-	-	5	-	-	9	10	-	12	13	14	-	-	-	18	-	-	-	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Restlessness	-	-	-	-	5	6	-	9	10	-	13	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	7	-	-	10	-	12	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Chewing	-	-	-	-	5	-	-	9	10	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
148 (No delivery)		▽																																												
	No abnormalities detected	1	2	3	4	5	-	-	8	9	-	11	12	13	-	-	-	17	18	-	-	-	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	-	36	-	38	39	40	-	-	-	-	
	Salivation	-	-	-	-	-	7	-	-	10	-	-	-	-	-	15	16	-	-	19	20	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Restlessness	-	-	-	-	6	-	-	-	10	-	-	-	14	15	16	-	-	-	20	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	-	37	-	-	-	41	-	-	-	
	Decreased spontaneous locomotion	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Chewing	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cage licking	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

▽: Day of copulation

▼: Day of delivery

Appendix 2-1 Body weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g)					
		Administration period (day)					
		1	3	7	14	21	28
0	1	341.4	358.2	383.6	423.1	447.4	469.0
	2	351.2	365.7	382.4	427.3	452.4	478.3
	3	360.6	379.3	405.7	446.2	480.8	517.2
	4	335.8	343.9	369.8	405.4	426.2	445.7
	5	352.9	369.7	395.1	445.6	484.2	519.0
	6	353.6	372.2	386.7	418.7	446.1	480.7
	7	345.3	370.4	396.1	437.1	458.9	479.8
	8	340.7	356.0	379.8	425.1	452.9	470.3
	9	351.1	364.8	382.6	417.6	439.7	451.9
	10	336.1	348.2	364.3	402.9	412.5	432.5
	11	345.8	357.8	386.2	418.5	435.4	455.0
	12	347.2	363.9	387.9	434.9	453.5	486.9
10	13	353.6	368.2	384.7	419.4	445.2	471.2
	14	336.3	356.2	375.6	394.5	422.0	430.6
	15	342.2	349.4	368.0	402.5	428.2	454.0
	16	354.0	376.0	401.2	441.9	473.7	500.4
	17	349.1	361.2	382.5	413.1	433.1	466.4
	18	334.3	350.3	372.4	412.4	446.8	473.8
	19	339.5	348.1	369.8	407.5	434.2	455.1
	20	340.6	359.8	393.0	432.8	454.5	479.6
	21	344.6	355.0	382.8	426.6	454.2	487.3
	22	346.8	362.4	396.6	439.2	466.0	495.1
	23	352.9	363.6	390.2	427.0	457.0	495.4
	24	353.3	366.9	386.7	430.5	452.6	474.1

Appendix 2-2 Body weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g)					
		Administration period (day)					
		1	3	7	14	21	28
50	25	341.4	356.3	379.5	415.0	449.5	475.5
	26	362.1	372.6	402.4	447.7	490.9	521.9
	27	351.1	365.3	394.1	434.1	466.3	490.4
	28	347.6	366.0	386.1	425.1	456.6	483.2
	29	348.0	354.6	368.4	400.7	424.4	456.6
	30	338.1	352.8	366.5	393.5	406.0	418.7
	31	331.5	343.0	359.0	387.6	411.9	431.9
	32	359.8	369.5	394.4	433.4	472.4	512.6
	33	356.5	379.1	399.2	451.9	480.1	515.4
	34	344.9	358.8	390.3	431.0	464.4	484.4
	35	341.3	352.1	383.6	423.6	447.6	473.0
	36	342.7	360.2	385.5	423.5	453.7	486.6
250	37	327.6	331.5	342.6	377.8	394.6	416.9
	38	338.4	344.7	350.2	377.0	401.1	425.7
	39	347.1	346.5	352.7	387.3	417.7	449.5
	40	342.4	348.0	372.2	393.9	412.8	432.3
	41	352.0	358.6	387.0	441.2	463.1	493.4
	42	350.7	355.5	373.2	389.6	409.4	429.2
	43	353.1	352.8	368.6	412.6	445.2	483.5
	44	343.7	358.3	379.8	418.4	440.8	463.7
	45	360.5	364.5	386.2	419.1	439.9	466.3
	46	342.1	347.0	359.3	387.4	404.7	429.4
	47	346.4	351.4	375.9	427.7	466.5	507.0
	48	346.6	354.1	369.2	398.6	423.3	450.7

Appendix 2-3 Body weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g) Before copulation (day)			
		1	3	7	14
0	101	225.3	229.0	234.4	244.6
	102	201.2	207.6	213.5	218.5
	103	216.4	219.0	229.0	230.4
	104	228.7	226.8	240.0	248.8
	105	211.1	215.6	219.8	235.5
	106	218.7	224.0	231.6	245.9
	107	200.8	213.8	226.7	238.1
	108	216.7	213.3	225.1	236.5
	109	227.6	229.3	246.3	262.0
	110	199.4	196.6	204.5	220.1
	111	212.9	215.3	224.9	231.5
	112	202.3	211.9	222.9	232.3
10	113	205.1	209.6	217.7	236.8
	114	220.3	218.2	224.2	233.5
	115	230.7	227.0	234.8	237.0
	116	202.9	212.1	216.5	219.0
	117	220.1	224.3	229.4	239.0
	118	208.8	215.4	219.6	231.6
	119	196.8	202.2	213.8	219.2
	120	217.2	221.6	225.4	232.6
	121	224.2	228.2	234.9	248.7
	122	214.9	214.8	221.0	240.5
	123	210.8	208.7	216.8	234.9
	124	216.8	216.3	228.8	247.1

Appendix 2-4 Body weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g) Before copulation (day)			
		1	3	7	14
50	125	220.0	219.9	234.8	252.5
	126	216.9	219.3	223.6	239.8
	127	224.4	229.6	234.8	243.2
	128	209.5	215.0	219.9	237.8
	129	225.1	221.9	231.7	247.3
	130	210.1	203.9	210.0	224.9
	131	205.3	203.2	209.9	230.5
	132	197.8	206.3	213.4	219.9
	133	200.0	208.0	217.6	238.6
	134	224.3	231.8	247.8	256.6
	135	215.0	220.8	232.5	242.9
	136	206.4	213.6	222.6	239.3
250	137	211.5	201.1	209.3	227.2
	138	200.8	208.7	218.4	226.9
	139	232.0	204.0	225.4	260.5
	140	213.2	208.2	214.9	229.7
	141	202.7	202.8	214.2	229.4
	142	200.1	207.7	218.5	230.4
	143	200.4	196.0	200.8	215.3
	144	205.4	208.9	215.0	234.7
	145	211.0	210.5	219.9	225.3
	146	216.8	209.7	229.4	252.5
	147	215.9	213.6	218.8	225.5
	148	212.1	216.8	235.7	242.6

Appendix 2-5 Body weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Gestation period (day)				Postpartum period (day)	
		0	7	14	20	0	4
0	101	254.6	282.0	279.0	286.2	- a	- a
	102	226.8	253.7	288.9	352.5	264.1	280.9
	103	246.9	297.5	342.0	407.5	318.3	337.4
	104	262.6	291.9	327.6	400.7	282.0	320.1
	105	238.2	262.6	295.1	370.3	273.3	294.4
	106	249.0	282.8	312.4	392.4	383.8	306.0
	107	244.9	272.6	318.6	384.5	293.0	324.4
	108	240.6	276.0	306.9	379.1	291.1	311.7
	109	272.8	312.6	351.0	419.1	315.4	341.5
	110	235.2	268.6	303.6	376.3	281.6	308.0
	111	248.0	279.2	317.4	377.7	312.7	330.3
	112	234.3	268.3	301.3	328.4	274.0	290.1
10	113	242.2	273.1	294.5	349.1	284.0	292.6
	114	249.0	283.8	326.4	398.7	315.1	334.8
	115	243.3	282.1	316.4	390.0	299.8	331.2
	116	229.5	262.8	296.2	368.9	259.7	290.2
	117	262.6	292.0	320.8	377.2	290.0	303.0
	118	234.1	273.8	306.9	385.0	283.8	313.5
	119	230.0	259.4	288.0	352.8	256.1	282.0
	120	245.7	277.7	306.5	369.1	271.5	305.8
	121	261.6	290.0	335.5	417.7	289.1	321.1
	122	250.5	287.2	324.4	407.3	276.2	326.1
	123	248.3	266.7	299.2	360.7	273.5	302.8
	124	257.7	284.7	322.6	400.4	317.5	345.2

Day of vaginal plug was confirmed = Gestational day 0, Day of delivery = Postpartum day 0.

a: No delivery.

Appendix 2-6 Body weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

(g)

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Gestation period (day)				Postpartum period (day)	
		0	7	14	20	0	4
50	125	253.3	283.0	309.4	378.2	299.8	319.1
	126	245.5	272.6	306.6	377.6	273.3	296.9
	127	253.4	285.4	319.8	390.5	262.5	304.4
	128	235.5	277.5	296.5	367.9	282.6	308.4
	129	267.2	305.1	350.7	424.1	335.8	361.3
	130	239.5	277.7	303.1	373.0	296.9	312.7
	131	240.7	276.4	306.2	368.6	285.4	312.1
	132	226.9	250.6	282.5	346.8	250.4	277.7
	133	246.4	291.2	328.8	401.8	311.4	324.2
	134	267.7	299.9	324.4	392.8	315.2	339.1
	135	250.5	279.8	313.9	379.0	295.4	321.2
	136	242.3	274.9	309.5	391.8	266.8	305.1
250	137	236.5	280.3	322.7	388.3	312.4	326.4
	138	231.7	263.4	308.2	363.4	287.7	306.0
	139	255.3	290.1	312.3	376.1	295.1	305.4
	140	272.3	301.8	295.3	301.6	- a	- a
	141	229.5	260.2	290.9	371.1	261.2	293.7
	142	238.6	269.1	304.7	374.6	288.5	306.9
	143	215.4	248.2	271.4	318.6	271.9	272.1
	144	238.1	264.4	301.2	365.2	- b	- b
	145	276.3	- c	- c	- c	- c	- c
	146	261.2	266.9	301.7	366.0	254.4	290.5
	147	235.8	286.2	322.0	391.9	278.7	303.9
	148	241.0	282.5	281.1	287.9	- a	- a

Day of vaginal plug was confirmed = Gestational day 0, Day of delivery = Postpartum day 0.

a: No delivery.

b: All pups were died during delivery.

c: Died on day 0 of gestation.

Appendix 3-1 Food consumption of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Administration period (day)					(g/rat/day)
		3	7	14	21	28	
0	1	27.6	26.5	24.2	- a	- a	
	2	27.3	26.1	25.0	- a	- a	
	3	29.3	28.7	26.5	- a	- a	
	4	24.6	22.4	21.4	- a	- a	
	5	28.6	27.7	27.0	- a	- a	
	6	25.2	23.5	21.7	- a	- a	
	7	26.8	27.3	26.3	- a	- a	
	8	26.6	25.2	24.0	- a	- a	
	9	24.6	22.7	21.4	- a	- a	
	10	23.6	21.3	19.9	- a	- a	
	11	24.8	23.7	23.4	- a	- a	
	12	24.8	25.8	24.2	- a	- a	
10	13	24.2	21.9	20.7	- a	- a	
	14	29.1	24.5	21.5	- a	- a	
	15	24.0	21.8	21.0	- a	- a	
	16	28.2	27.0	24.2	- a	- a	
	17	26.8	25.5	22.1	- a	- a	
	18	25.7	23.5	23.8	- a	- a	
	19	23.4	23.4	22.1	- a	- a	
	20	25.8	25.4	24.4	- a	- a	
	21	25.5	25.7	24.7	- a	- a	
	22	24.1	26.0	25.2	- a	- a	
	23	23.4	22.5	20.1	- a	- a	
	24	26.0	25.2	23.3	- a	- a	

a: Mating period.

Appendix 3-2 Food consumption of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Administration period (day)					(g/rat/day)
		3	7	14	21	28	
50	25	26.7	25.6	23.3	- a	- a	
	26	24.9	25.7	24.1	- a	- a	
	27	25.9	27.2	24.9	- a	- a	
	28	26.3	24.1	22.8	- a	- a	
	29	22.2	22.1	22.7	- a	- a	
	30	23.4	21.6	19.1	- a	- a	
	31	23.2	21.6	21.1	- a	- a	
	32	28.3	28.0	28.1	- a	- a	
	33	29.9	27.4	26.0	- a	- a	
	34	26.7	26.4	24.3	- a	- a	
	35	25.1	25.8	24.1	- a	- a	
	36	26.8	24.0	23.7	- a	- a	
250	37	22.7	20.0	21.2	- a	- a	
	38	21.2	17.1	18.9	- a	- a	
	39	22.1	18.7	20.9	- a	- a	
	40	23.6	22.9	22.4	- a	- a	
	41	22.9	23.7	26.4	- a	- a	
	42	24.9	21.8	21.4	- a	- a	
	43	21.1	21.8	23.7	- a	- a	
	44	28.4	28.6	25.1	- a	- a	
	45	22.4	21.0	21.0	- a	- a	
	46	20.8	19.1	19.6	- a	- a	
	47	25.9	25.4	27.2	- a	- a	
	48	22.8	23.5	23.2	- a	- a	

a: Mating period.

Appendix 3-3 Food consumption of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g/rat/day)		
		Before copulation (day)		
		3	7	14
0	101	17.6	15.1	14.2
	102	13.8	13.9	13.0
	103	15.6	15.2	14.1
	104	14.7	16.8	16.1
	105	16.0	14.4	13.7
	106	14.8	15.8	15.2
	107	16.9	15.3	15.0
	108	13.2	15.7	13.3
	109	17.7	16.8	16.9
	110	13.2	14.1	14.7
	111	14.0	14.9	14.3
	112	15.4	14.1	13.7
10	113	15.0	14.4	15.3
	114	13.5	13.8	13.5
	115	14.3	15.6	15.6
	116	17.3	14.9	13.9
	117	13.2	14.4	14.3
	118	17.3	13.9	13.4
	119	14.3	15.1	13.7
	120	15.4	14.9	13.8
	121	14.9	14.6	14.7
	122	16.5	16.5	15.9
	123	11.5	13.8	14.8
	124	15.4	16.0	15.6

Appendix 3-4 Food consumption of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g/rat/day)		
		Before copulation (day)		
		3	7	14
50	125	15.8	15.5	14.8
	126	14.2	15.7	15.5
	127	13.9	14.4	14.9
	128	16.9	15.7	15.8
	129	12.9	16.0	17.1
	130	12.8	13.6	13.9
	131	12.0	13.4	15.0
	132	14.4	14.1	13.6
	133	15.3	15.2	16.0
	134	16.5	15.0	14.6
	135	14.3	15.6	15.9
	136	14.6	15.4	15.5
250	137	11.7	12.4	13.9
	138	13.3	14.0	14.8
	139	4.2	11.7	19.9
	140	14.9	13.7	14.9
	141	13.0	12.9	14.5
	142	13.4	14.0	14.8
	143	13.0	11.4	13.5
	144	13.6	12.3	14.5
	145	14.4	12.0	13.7
	146	8.0	15.3	16.9
	147	14.6	14.1	17.0
	148	15.0	15.0	16.3

Appendix 3-5 Food consumption of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g/rat/day)			
		Gestation period (day)			Postpartum period (day)
		7	14	20	4
0	101	15.9	14.6	13.5	- a
	102	13.8	16.9	19.3	24.0
	103	18.8	21.6	23.1	30.0
	104	16.6	18.4	18.7	28.7
	105	15.7	17.6	19.0	26.8
	106	16.5	17.9	19.4	28.8
	107	16.1	19.9	22.6	33.6
	108	15.6	19.5	20.5	22.7
	109	18.3	21.4	22.7	33.7
	110	16.3	19.2	22.3	24.6
	111	15.7	28.2	21.3	26.5
	112	15.4	18.1	19.3	18.5
10	113	15.8	17.9	19.6	24.7
	114	17.1	20.0	22.6	29.8
	115	17.5	19.5	23.1	29.2
	116	17.0	18.1	20.2	23.8
	117	16.8	17.5	21.1	29.5
	118	15.8	18.0	20.9	29.4
	119	15.0	25.5	20.4	28.2
	120	14.4	17.2	18.8	26.3
	121	16.0	18.7	21.3	29.3
	122	17.8	20.5	23.6	32.1
	123	14.9	17.0	20.2	27.3
	124	17.2	20.0	23.9	34.0

Day of vaginal plug was confirmed = Gestational day 0, Day of delivery = Postpartum day 0.

a: No delivery.

Appendix 3-6 Food consumption of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	(g/rat/day)			
		Gestation period (day)			Postpartum period (day)
		7	14	20	4
50	125	16.3	19.0	22.0	29.2
	126	15.8	18.1	19.7	31.4
	127	15.7	17.5	19.6	28.3
	128	17.6	17.7	20.6	29.8
	129	18.5	24.0	26.3	27.5
	130	17.1	18.5	22.1	29.0
	131	16.0	19.0	21.1	29.8
	132	13.3	16.7	18.8	24.1
	133	19.3	21.9	23.1	32.5
	134	14.6	16.4	19.0	29.9
	135	14.8	18.4	19.8	25.8
	136	16.3	19.8	23.1	35.1
250	137	15.5	20.7	23.8	26.7
	138	15.4	19.2	21.0	28.9
	139	17.0	18.4	19.1	27.5
	140	16.8	15.7	15.2	- a
	141	14.7	17.0	20.7	26.8
	142	14.7	18.2	21.5	30.5
	143	14.5	17.7	19.9	22.8
	144	14.2	18.2	20.0	- b
	145	- c	- c	- c	- c
	146	13.5	16.4	21.9	28.8
	147	20.0	23.0	21.6	27.8
	148	17.0	18.1	14.2	- a

Day of vaginal plug was confirmed = Gestational day 0, Day of delivery = Postpartum day 0.

a: No delivery.

b: All pups were died during delivery.

c: Died on day 0 of gestation.

Appendix 4-1 Absolute organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		0											
Items	Animal No.	1 ss-nd	2 ss	3 ss	4 ss	5 ss	6 ss	7 ss	8 ss	9 ss	10 ss	11 ss	12 ss
Testes	(g)	3.17	3.61	2.89	3.43	3.49	3.16	3.59	3.64	3.22	3.28	3.32	3.11
Epididymides	(g)	1.07	1.25	1.13	1.20	1.18	1.22	1.27	1.37	1.24	1.10	1.22	1.14
Prostate	(g)	1.40	1.19	1.21	1.26	1.45	1.01	1.51	1.31	1.19	1.30	1.58	1.30
Seminal vesicle	(g)	1.69	1.74	1.62	1.85	1.75	1.65	1.81	1.52	1.33	1.69	2.01	1.40
Final body weight	(g)	480.3	481.7	532.0	460.0	527.1	491.4	484.8	475.8	464.0	443.8	463.9	494.8

ss: scheduled sacrifice animal.

ss-nd: male animal whose partner did not deliver her pups.

Appendix 4-2 Absolute organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		10											
Items	Animal No.	13 ss	14 ss	15 ss	16 ss	17 ss	18 ss	19 ss	20 ss	21 ss	22 ss	23 ss	24 ss
Testes	(g)	3.50	3.02	3.73	3.29	3.06	3.40	3.35	3.59	3.64	3.15	3.46	3.41
Epididymides	(g)	1.17	1.06	1.11	1.21	1.17	1.17	1.23	1.19	1.29	1.24	1.32	1.09
Prostate	(g)	1.04	1.54	1.23	1.53	1.31	1.26	1.29	1.15	1.10	1.27	1.40	1.33
Seminal vesicle	(g)	1.39	1.79	1.77	1.71	1.64	1.74	1.22	1.55	1.33	2.01	1.76	1.65
Final body weight	(g)	480.8	443.9	459.3	506.7	476.8	480.7	459.4	485.5	498.3	497.1	505.1	481.1

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 4-3 Absolute organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		50											
Items	Animal No.	25 ss	26 ss	27 ss	28 ss	29 ss	30 ss	31 ss	32 ss	33 ss	34 ss	35 ss	36 ss
Testes	(g)	3.54	3.28	3.52	3.72	3.52	3.19	2.81	3.63	3.27	2.98	3.31	3.55
Epididymides	(g)	1.22	1.30	1.30	1.34	1.16	1.23	1.15	1.21	1.14	1.01	1.23	1.31
Prostate	(g)	1.15	1.31	1.31	1.32	1.21	1.29	0.98	1.38	0.93	1.35	1.34	1.37
Seminal vesicle	(g)	2.13	1.81	1.70	1.68	1.54	1.76	1.43	1.87	1.48	1.63	1.87	1.42
Final body weight	(g)	488.2	538.9	504.0	489.4	471.1	430.1	436.6	525.9	526.2	490.5	472.9	492.9

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 4-4 Absolute organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		250											
Items	Animal No.	37 ss	38 ss	39 ss	40 ss-nd	41 ss	42 ss	43 ss	44 ss	45 ss	46 ss	47 ss	48 ss-nd
Testes	(g)	3.26	3.00	3.25	3.39	3.00	2.80	3.00	3.19	3.25	3.24	3.13	3.52
Epididymides	(g)	1.15	1.02	1.29	1.06	1.18	1.14	1.20	1.39	1.09	1.16	1.17	1.38
Prostate	(g)	1.25	1.18	1.21	1.00	1.21	1.21	0.99	1.27	1.19	1.05	1.02	1.54
Seminal vesicle	(g)	1.88	1.62	1.70	1.47	1.43	1.58	1.31	1.61	0.79	1.68	1.56	1.72
Final body weight	(g)	424.5	434.5	450.8	440.5	505.7	444.3	495.3	471.9	473.9	435.7	509.0	458.9

ss: scheduled sacrifice animal.

ss-nd: male animal whose partner did not deliver her pups.

Appendix 4-5 Absolute organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		0											
Items	Animal No.	101 is-nd	102 ss	103 ss	104 ss	105 ss	106 ss	107 ss	108 ss	109 ss	110 ss	111 ss	112 ss
Ovaries	(mg)	84.4	71.5	111.5	98.1	78.1	87.5	100.8	78.5	99.4	93.0	113.8	98.0
Final body weight	(g)	294.6	280.9	337.4	320.1	294.4	306.0	324.4	311.7	341.5	308.0	330.3	290.1

ss: scheduled sacrifice animal.

is-nd: female animal did not deliver her pups.

Appendix 4-6 Absolute organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		10											
Items	Animal No.	113 ss	114 ss	115 ss	116 ss	117 ss	118 ss	119 ss	120 ss	121 ss	122 ss	123 ss	124 ss
Ovaries	(mg)	78.3	105.5	98.0	83.5	102.8	90.3	82.8	117.5	104.5	105.0	94.4	88.7
Final body weight	(g)	292.6	334.8	331.2	290.2	303.0	313.5	282.0	305.8	321.1	326.1	302.8	345.2

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 4-7 Absolute organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		50											
Items	Animal No.	125 ss	126 ss	127 ss	128 ss	129 ss	130 ss	131 ss	132 ss	133 ss	134 ss	135 ss	136 ss
Ovaries	(mg)	91.9	113.7	97.8	78.5	101.5	74.0	96.0	74.9	100.3	104.6	91.0	98.8
Final body weight	(g)	319.1	296.9	304.4	308.4	361.3	312.7	312.1	277.7	324.2	339.1	321.2	305.1

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 4-8 Absolute organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		250											
Items	Animal No.	137 ss	138 ss	139 ss	140 is-nd	141 ss	142 ss	143 ss	144 is-pd	145 d	146 ss	147 ss	148 is-nd
Ovaries	(mg)	89.3	79.2	85.9	110.2	91.0	85.5	79.0	114.7	106.6	97.7	93.7	101.0
Final body weight	(g)	326.4	306.0	305.4	302.5	293.7	306.9	272.1	290.7	276.3	290.5	303.9	289.6

ss: scheduled sacrifice animal.

is-nd: female animal did not deliver her pups.

is-pd: dam all her pups were dead after birth.

d: dead animal.

Appendix 5-1 Relative organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		0											
Items	Animal No.	1 ss-nd	2 ss	3 ss	4 ss	5 ss	6 ss	7 ss	8 ss	9 ss	10 ss	11 ss	12 ss
Testes	(g/100g)	0.66	0.75	0.54	0.75	0.66	0.64	0.74	0.77	0.69	0.74	0.72	0.63
Epididymides	(g/100g)	0.22	0.26	0.21	0.26	0.22	0.25	0.26	0.29	0.27	0.25	0.26	0.23
Prostate	(g/100g)	0.29	0.25	0.23	0.27	0.28	0.21	0.31	0.28	0.26	0.29	0.34	0.26
Seminal vesicle	(g/100g)	0.35	0.36	0.30	0.40	0.33	0.34	0.37	0.32	0.29	0.38	0.43	0.28
Final body weight	(g)	480.3	481.7	532.0	460.0	527.1	491.4	484.8	475.8	464.0	443.8	463.9	494.8

ss: scheduled sacrifice animal.

ss-nd: male animal whose partner did not deliver her pups.

Appendix 5-2 Relative organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		10											
Items	Animal No.	13 ss	14 ss	15 ss	16 ss	17 ss	18 ss	19 ss	20 ss	21 ss	22 ss	23 ss	24 ss
Testes	(g/100g)	0.73	0.68	0.81	0.65	0.64	0.71	0.73	0.74	0.73	0.63	0.69	0.71
Epididymides	(g/100g)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.25	0.24	0.27	0.25	0.26	0.25	0.26	0.23
Prostate	(g/100g)	0.22	0.35	0.27	0.30	0.27	0.26	0.28	0.24	0.22	0.26	0.28	0.28
Seminal vesicle	(g/100g)	0.29	0.40	0.39	0.34	0.34	0.36	0.27	0.32	0.27	0.40	0.35	0.34
Final body weight	(g)	480.8	443.9	459.3	506.7	476.8	480.7	459.4	485.5	498.3	497.1	505.1	481.1

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 5-3 Relative organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		50											
Items	Animal No.	25 ss	26 ss	27 ss	28 ss	29 ss	30 ss	31 ss	32 ss	33 ss	34 ss	35 ss	36 ss
Testes	(g/100g)	0.73	0.61	0.70	0.76	0.75	0.74	0.64	0.69	0.62	0.61	0.70	0.72
Epididymides	(g/100g)	0.25	0.24	0.26	0.27	0.25	0.29	0.26	0.23	0.22	0.21	0.26	0.27
Prostate	(g/100g)	0.24	0.24	0.26	0.27	0.26	0.30	0.22	0.26	0.18	0.28	0.28	0.28
Seminal vesicle	(g/100g)	0.44	0.34	0.34	0.34	0.33	0.41	0.33	0.36	0.28	0.33	0.40	0.29
Final body weight	(g)	488.2	538.9	504.0	489.4	471.1	430.1	436.6	525.9	526.2	490.5	472.9	492.9

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 5-4 Relative organ weights of individual male rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		250											
Items	Animal No.	37 ss	38 ss	39 ss	40 ss-nd	41 ss	42 ss	43 ss	44 ss	45 ss	46 ss	47 ss	48 ss-nd
Testes	(g/100g)	0.77	0.69	0.72	0.77	0.59	0.63	0.61	0.68	0.69	0.74	0.61	0.77
Epididymides	(g/100g)	0.27	0.23	0.29	0.24	0.23	0.26	0.24	0.29	0.23	0.27	0.23	0.30
Prostate	(g/100g)	0.29	0.27	0.27	0.23	0.24	0.27	0.20	0.27	0.25	0.24	0.20	0.34
Seminal vesicle	(g/100g)	0.44	0.37	0.38	0.33	0.28	0.36	0.26	0.34	0.17	0.39	0.31	0.37
Final body weight	(g)	424.5	434.5	450.8	440.5	505.7	444.3	495.3	471.9	473.9	435.7	509.0	458.9

ss: scheduled sacrifice animal.

ss-nd: male animal whose partner did not deliver her pups.

Appendix 5-5 Relative organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose	(mg/kg/day)	0											
Items	Animal No.	101 is-nd	102 ss	103 ss	104 ss	105 ss	106 ss	107 ss	108 ss	109 ss	110 ss	111 ss	112 ss
Ovaries	(mg/100g)	28.6	25.5	33.0	30.6	26.5	28.6	31.1	25.2	29.1	30.2	34.5	33.8
Final body weight	(g)	294.6	280.9	337.4	320.1	294.4	306.0	324.4	311.7	341.5	308.0	330.3	290.1

ss: scheduled sacrifice animal.

is-nd: female animal did not deliver her pups.

Appendix 5-6 Relative organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		10											
Items	Animal No.	113 ss	114 ss	115 ss	116 ss	117 ss	118 ss	119 ss	120 ss	121 ss	122 ss	123 ss	124 ss
Ovaries	(mg/100g)	26.8	31.5	29.6	28.8	33.9	28.8	29.4	38.4	32.5	32.2	31.2	25.7
Final body weight	(g)	292.6	334.8	331.2	290.2	303.0	313.5	282.0	305.8	321.1	326.1	302.8	345.2

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 5-7 Relative organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		50											
Items	Animal No.	125 ss	126 ss	127 ss	128 ss	129 ss	130 ss	131 ss	132 ss	133 ss	134 ss	135 ss	136 ss
Ovaries	(mg/100g)	28.8	38.3	32.1	25.5	28.1	23.7	30.8	27.0	30.9	30.8	28.3	32.4
Final body weight	(g)	319.1	296.9	304.4	308.4	361.3	312.7	312.1	277.7	324.2	339.1	321.2	305.1

ss: scheduled sacrifice animal.

Appendix 5-8 Relative organ weights of individual female rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg/day)		250											
Items	Animal No.	137 ss	138 ss	139 ss	140 is-nd	141 ss	142 ss	143 ss	144 is-pd	145 d	146 ss	147 ss	148 is-nd
Ovaries	(mg/100g)	27.4	25.9	28.1	36.4	31.0	27.9	29.0	39.5	38.6	33.6	30.8	34.9
Final body weight	(g)	326.4	306.0	305.4	302.5	293.7	306.9	272.1	290.7	276.3	290.5	303.9	289.6

ss: scheduled sacrifice animal.

is-nd: female animal did not deliver her pups.

is-pd: dam all her pups were dead after birth.

d: dead animal.

Appendix 6-1 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings ^{a)}
Male	0	1	ss-nd	Kidney Pelvic dilatation (right)	Kidney Basophilic tubules + Pelvic dilatation, unilateral + Testis Nuclear alteration of spermatids, bilateral ++ Epididymis Germ cell debris in lumen, bilateral + Nuclear alteration of spermatozoa, bilateral ++
		2	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		3	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		4	ss	No abnormalities detected	Prostate Lymphocyte infiltration +
		5	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		6	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		7	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		8	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		9	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		10	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		11	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		12	ss	No abnormalities detected	Prostate Lymphocyte infiltration ++

a) Organs/tissues examined as follows for "ss" animal: testes, epididymides, prostate, coagulating gland, seminal vesicle, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord, sciatic nerve and mammary gland.

Organs/tissues examined as follows for "ss-nd" animal: testes, epididymides, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord, sciatic nerve and macroscopic lesion.

ss, scheduled sacrifice animal, ss-nd, male animal whose partner did not deliver her pups.

+, slight; ++, moderate.

Appendix 6-2 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings ^{a)}
Male	10	13	ss	No abnormalities detected	Not examined
		14	ss	No abnormalities detected	Not examined
		15	ss	No abnormalities detected	Not examined
		16	ss	No abnormalities detected	Not examined
		17	ss	No abnormalities detected	Not examined
		18	ss	No abnormalities detected	Not examined
		19	ss	Epididymis Nodule (right, cauda, 3×3×5 mm)	Epididymis Spermatic granuloma, unilateral ++
		20	ss	No abnormalities detected	Not examined
		21	ss	No abnormalities detected	Not examined
		22	ss	No abnormalities detected	Not examined
		23	ss	No abnormalities detected	Not examined
		24	ss	No abnormalities detected	Not examined

a) Organs/tissues examined as follows: macroscopic lesion.

ss, scheduled sacrifice animal.

++, moderate .

Appendix 6-3 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings ^{a)}
Male	50	25	ss	No abnormalities detected	Not examined
		26	ss	Kidney Pelvic dilatation (left)	Kidney Pelvic dilatation, unilateral +
		27	ss	No abnormalities detected	Not examined
		28	ss	No abnormalities detected	Not examined
		29	ss	No abnormalities detected	Not examined
		30	ss	No abnormalities detected	Not examined
		31	ss	No abnormalities detected	Not examined
		32	ss	No abnormalities detected	Not examined
		33	ss	No abnormalities detected	Not examined
		34	ss	No abnormalities detected	Not examined
		35	ss	No abnormalities detected	Not examined
		36	ss	No abnormalities detected	Not examined

a) Organs/tissues examined as follows: macroscopic lesion.

ss, scheduled sacrifice animal.

+, slight.

Appendix 6-4 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings ^{a)}
Male	250	37	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		38	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		39	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		40	ss-nd	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		41	ss	No abnormalities detected	Prostate Lymphocyte infiltration +
		42	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		43	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		44	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		45	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		46	ss	No abnormalities detected	Prostate Lymphocyte infiltration +
		47	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		48	ss-nd	Epididymis Whitish region (2 regions, left, cauda, ϕ 2 mm, ϕ 5 mm)	Epididymis Spermatic granuloma, unilateral ++

a) Organs/tissues examined as follows for "ss" animal: testes, epididymides, prostate, coagulating gland, seminal vesicle, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord, sciatic nerve and mammary gland.

Organs/tissues examined as follows for "ss-nd" animal: testes, epididymides, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord and sciatic nerve.

ss, scheduled sacrifice animal, ss-nd, male animal whose partner did not deliver her pups.

+, slight; ++, moderate.

Appendix 6-5 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings ^{a)}
Female	0	101	is-nd	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		102	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		103	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		104	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		105	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		106	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		107	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		108	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		109	ss	No abnormalities detected	Vagina Squamous epithelial cyst +
		110	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		111	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		112	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected

a) Organs/tissues examined as follows for "ss" animal: ovaries, uterus, vagina, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord, sciatic nerve and mammary gland.

Organs/tissues examined as follows for "is-nd" animal: ovaries, uterus, vagina, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord and sciatic nerve.

ss, scheduled sacrifice animal; is-nd, female animal did not deliver her pups.

+, slight.

Appendix 6-6 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings
Female	10	113	ss	No abnormalities detected	Not examined
		114	ss	No abnormalities detected	Not examined
		115	ss	No abnormalities detected	Not examined
		116	ss	No abnormalities detected	Not examined
		117	ss	No abnormalities detected	Not examined
		118	ss	No abnormalities detected	Not examined
		119	ss	No abnormalities detected	Not examined
		120	ss	No abnormalities detected	Not examined
		121	ss	No abnormalities detected	Not examined
		122	ss	No abnormalities detected	Not examined
		123	ss	No abnormalities detected	Not examined
		124	ss	No abnormalities detected	Not examined

ss, scheduled sacrifice animal.

Appendix 6-7 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings ^{a)}
Female	50	125	ss	No abnormalities detected	Not examined
		126	ss	No abnormalities detected	Not examined
		127	ss	No abnormalities detected	Not examined
		128	ss	No abnormalities detected	Not examined
		129	ss	No abnormalities detected	Not examined
		130	ss	No abnormalities detected	Not examined
		131	ss	No abnormalities detected	Not examined
		132	ss	No abnormalities detected	Not examined
		133	ss	No abnormalities detected	Not examined
		134	ss	Kidney Pelvic dilatation (left)	Kidney Basophilic tubules + Cell infiltration + Pelvic dilatation, unilateral ++
		135	ss	No abnormalities detected	Not examined
		136	ss	No abnormalities detected	Not examined

a) Organs/tissues examined as follows: macroscopic lesion.

ss, scheduled sacrifice animal.

+, slight; ++, moderate.

Appendix 6-8 Pathological findings of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Sex	Dose (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings	Histopathological findings ^{a)}
Female	250	137	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		138	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		139	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		140	is-nd	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		141	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		142	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		143	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		144	is-pd	Thymus Small Adrenal Enlargement (bilateral)	Thymus Atrophy ++ Adrenal Hypertrophy of cortex +
		145	d	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		146	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		147	ss	No abnormalities detected	No abnormalities detected
		148	is-nd	No abnormalities detected	No abnormalities detected

a) Organs/tissues examined as follows for "ss" animal: ovaries, uterus, vagina, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord, sciatic nerve and mammary gland.

Organs/tissues examined as follows for "is-nd" animal: ovaries, uterus, vagina, cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord and sciatic nerve.

Organs/tissues examined as follows for "is-pd" animal: macroscopic lesions.

Organs/tissues examined as follows for "d" animal: cerebrum, cerebellum, pons, spinal cord and sciatic nerve.

ss, scheduled sacrifice animal; is-nd, female animal did not deliver her pups; is-pd, dam all her pups were dead after birth; d, dead animal.

+, slight; ++, moderate.

Appendix 7-1 Estrous cycle examinations of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group	Day of administration period	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Cycle length
(mg/kg/day)	Animal Number	Classification of vaginal smear														(day)
0	101	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	4
	102	E	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	4
	103	P	E	M	D	P	E	M	D	P	E	M	D	P	E	4
	104	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	105	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	4
	106	M	D	P	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	4
	107	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	4
	108	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	4
	109	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	110	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	4
	111	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	112	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	P	E	M	4

D: Diestrus; P: Proestrus; E: Estrus; M: Metestrus.

Appendix 7-2 Estrous cycle examinations of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group	Day of administration period	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Cycle length
(mg/kg/day)	Animal Number	Classification of vaginal smear														(day)
10	113	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	4
	114	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	115	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	P	E	4
	116	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	4
	117	P	E	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	P	E	4
	118	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	4
	119	D	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	120	D	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	121	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	122	D	P	E	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	P	4
	123	D	D	E	M	D	P	E	M	D	P	E	M	D	D	4
	124	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	4

D: Diestrus; P: Proestrus; E: Estrus; M: Metestrus.

Appendix 7-3 Estrous cycle examinations of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group	Day of administration period	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Cycle length
(mg/kg/day)	Animal Number	Classification of vaginal smear														(day)
50	125	D	D	P	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	4
	126	D	E	M	D	D	P	E	M	D	D	P	E	M	D	5
	127	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	128	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	4
	129	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	130	D	P	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	D	D	4
	131	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	4
	132	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	4
	133	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	4
	134	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	4
	135	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	136	E	M	D	P	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	4

D: Diestrus; P: Proestrus; E: Estrus; M: Metestrus.

Appendix 7-4 Estrous cycle examinations of individual rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group (mg/kg/day)	Day of administration period	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Cycle length (day)
	Animal Number	Classification of vaginal smear														
250	137	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	4
	138	E	M	D	P	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	4
	139	D	P	E	M	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	- a
	140	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	4
	141	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	4
	142	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	4
	143	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	4
	144	E	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	D	E	M	4
	145	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	D	4
	146	E	M	D	D	E	M	D	P	E	M	D	P	E	M	4
	147	P	E	M	D	D	E	M	D	D	E	M	D	D	E	4
	148	E	M	D	D	E	M	D	D	E	E	M	D	D	P	4

D: Diestrus; P: Proestrus; E: Estrus; M: Metestrus.

a: Estrous cycle was not observed.

Appendix 8 Reproductive parameters in individual parental rats treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group (mg/kg/day)	Number of mated pairs		State of		Pairing days until copulation
	Male	Female	copulation	pregnancy	
0	1	101	O	X	1
	2	102	O	O	2
	3	103	O	O	3
	4	104	O	O	3
	5	105	O	O	1
	6	106	O	O	1
	7	107	O	O	2
	8	108	O	O	1
	9	109	O	O	3
	10	110	O	O	4
	11	111	O	O	3
	12	112	O	O	2
10	13	113	O	O	1
	14	114	O	O	3
	15	115	O	O	3
	16	116	O	O	2
	17	117	O	O	3
	18	118	O	O	1
	19	119	O	O	3
	20	120	O	O	3
	21	121	O	O	3
	22	122	O	O	4
	23	123	O	O	4
	24	124	O	O	4
50	25	125	O	O	1
	26	126	O	O	2
	27	127	O	O	3
	28	128	O	O	1
	29	129	O	O	3
	30	130	O	O	4
	31	131	O	O	4
	32	132	O	O	2
	33	133	O	O	2
	34	134	O	O	2
	35	135	O	O	3
	36	136	O	O	2
250	37	137	O	O	5
	38	138	O	O	2
	39	139	O	O	1
	40	140	O	X	14
	41	141	O	O	2
	42	142	O	O	2
	43	143	O	O	1
	44	144	O	O	2
	45	145	O	X	14
	46	146	O	O	2
	47	147	O	O	3
	48	148	O	X	1

O: Present; X: Absent.

Appendix 9-1 Postnatal course of individual rat litters whose parents treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

0 mg/kg/day group

Items	Animal Number											
	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112
Gestation length in days	- a	22	22	22	22	22	23	22	23	22	22	23
Number of corpora lutea	0	12	14	18	15	17	13	13	14	15	11	14
Number of implantation sites	0	12	14	18	15	17	13	13	13	15	11	6
Implantation index (%)	- a	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	92.9	100.0	100.0	42.9
Delivery index (%)	- a	100.0	100.0	94.4	100.0	100.0	100.0	84.6	92.3	93.3	81.8	66.7
Postnatal day 0												
Number of pups born	- a	12	14	17	15	17	13	11	12	14	9	4
Number of males born	- a	8	4	8	8	6	8	7	6	10	3	1
Number of females born	- a	4	10	9	7	11	5	4	6	4	6	3
Number of live pups	- a	11	14	17	15	17	13	11	12	14	9	4
Number of live males	- a	7	4	8	8	6	8	7	6	10	3	1
Number of live females	- a	4	10	9	7	11	5	4	6	4	6	3
Birth index (%)	- a	91.7	100.0	94.4	100.0	100.0	100.0	84.6	92.3	93.3	81.8	66.7
Live birth index (%)	- a	91.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Sex ratio of pups born	- a	0.67	0.29	0.47	0.53	0.35	0.62	0.64	0.50	0.71	0.33	0.25
Number of live pups with external anomalies	- a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	- a	6.48	6.49	6.19	6.28	5.87	7.61	6.90	7.99	5.39	6.80	9.27
Female	- a	6.29	6.10	5.53	5.67	5.63	7.26	6.52	8.01	5.88	6.29	9.16
Postnatal day 4												
Number of live pups	- a	11	14	17	15	17	13	11	12	11	9	4
Number of live males	- a	7	4	8	8	6	8	7	6	7	3	1
Number of live females	- a	4	10	9	7	11	5	4	6	4	6	3
Viability index (%)	- a	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	78.6	100.0	100.0
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	- a	10.69	11.26	9.29	10.29	8.27	12.46	10.81	13.16	9.76	12.80	16.26
Female	- a	10.28	10.84	7.98	9.38	8.72	12.27	10.54	13.18	9.96	12.10	16.08

Implantation index: (Number of implantation sites /Number of corpora lutea) × 100.

Delivery index: (Number of pups born /Number of implantation sites) × 100.

Birth index: (Number of live pups at birth /Number of implantation sites) × 100.

Live birth index: (Number of live pups at birth /Number of pups born) × 100.

Sex ratio of pups born: Number of males born /Number of pups born.

Viability index: (Number of live pups on postnatal day 4 /Number of live pups at birth) × 100.

a: No pregnancy.

Appendix 9-2 Postnatal course of individual rat litters whose parents treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

10 mg/kg/day group

Items	Animal Number											
	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124
Gestation length in days	22	22	22	22	22	22	23	23	22	23	22	22
Number of corpora lutea	14	15	12	13	17	14	13	15	17	14	14	12
Number of implantation sites	13	14	12	13	17	14	13	12	17	14	13	12
Implantation index (%)	92.9	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	80.0	100.0	100.0	92.9	100.0
Delivery index (%)	69.2	85.7	100.0	100.0	76.5	92.9	92.3	100.0	100.0	100.0	84.6	100.0
Postnatal day 0												
Number of pups born	9	12	12	13	13	13	12	12	17	14	11	12
Number of males born	4	5	6	8	6	4	4	5	8	6	4	2
Number of females born	5	7	6	5	7	9	8	7	9	8	7	10
Number of live pups	9	12	12	13	13	13	12	12	17	14	11	12
Number of live males	4	5	6	8	6	4	4	5	8	6	4	2
Number of live females	5	7	6	5	7	9	8	7	9	8	7	10
Birth index (%)	69.2	85.7	100.0	100.0	76.5	92.9	92.3	100.0	100.0	100.0	84.6	100.0
Live birth index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Sex ratio of pups born	0.44	0.42	0.50	0.62	0.46	0.31	0.33	0.42	0.47	0.43	0.36	0.17
Number of live pups with external anomalies	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	7.04	6.61	7.07	6.46	6.78	6.65	7.32	7.82	6.30	7.47	7.12	6.56
Female	7.17	6.57	6.61	6.28	6.19	6.00	6.74	7.23	5.94	7.41	6.96	6.55
Postnatal day 4												
Number of live pups	9	12	12	13	13	13	12	12	17	14	11	12
Number of live males	4	5	6	8	6	4	4	5	8	6	4	2
Number of live females	5	7	6	5	7	9	8	7	9	8	7	10
Viability index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	12.64	11.46	12.06	10.49	11.00	11.15	11.97	10.98	10.14	11.88	11.59	10.88
Female	12.18	11.12	11.22	9.75	10.20	10.18	11.01	10.60	9.16	11.68	11.23	11.46

Implantation index: (Number of implantation sites /Number of corpora lutea) × 100.

Delivery index: (Number of pups born /Number of implantation sites) × 100.

Birth index: (Number of live pups at birth /Number of implantation sites) × 100.

Live birth index: (Number of live pups at birth /Number of pups born) × 100.

Sex ratio of pups born: Number of males born /Number of pups born.

Viability index: (Number of live pups on postnatal day 4 /Number of live pups at birth) × 100.

External abnormality of No. 113: Whitish region of abdomen.

Appendix 9-3 Postnatal course of individual rat litters whose parents treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

50 mg/kg/day group

Items	Animal Number											
	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136
Gestation length in days	22	23	23	22	22	22	23	22	23	22	22	23
Number of corpora lutea	16	16	16	12	13	13	13	12	13	15	15	16
Number of implantation sites	15	16	16	11	13	12	13	12	13	15	14	15
Implantation index (%)	93.8	100.0	100.0	91.7	100.0	92.3	100.0	100.0	100.0	100.0	93.3	93.8
Delivery index (%)	80.0	93.8	93.8	100.0	92.3	91.7	92.3	100.0	100.0	80.0	85.7	100.0
Postnatal day 0												
Number of pups born	12	15	15	11	12	11	12	12	13	12	12	15
Number of males born	8	9	6	7	8	5	4	8	10	6	7	11
Number of females born	4	6	9	4	4	6	8	4	3	6	5	4
Number of live pups	12	14	15	11	12	11	12	12	13	11	12	15
Number of live males	8	8	6	7	8	5	4	8	10	6	7	11
Number of live females	4	6	9	4	4	6	8	4	3	5	5	4
Birth index (%)	80.0	87.5	93.8	100.0	92.3	91.7	92.3	100.0	100.0	73.3	85.7	100.0
Live birth index (%)	100.0	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.7	100.0	100.0
Sex ratio of pups born	0.67	0.60	0.40	0.64	0.67	0.45	0.33	0.67	0.77	0.50	0.58	0.73
Number of live pups with external anomalies	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	6.05	6.59	7.01	6.94	6.65	6.69	7.25	6.48	7.37	6.87	6.36	7.49
Female	6.05	6.57	6.58	6.88	6.58	6.30	6.96	6.20	6.70	6.44	5.97	7.28
Postnatal day 4												
Number of live pups	11	14	15	11	12	11	12	11	13	11	12	15
Number of live males	7	8	6	7	8	5	4	7	10	6	7	11
Number of live females	4	6	9	4	4	6	8	4	3	5	5	4
Viability index (%)	91.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	91.7	100.0	100.0	100.0	100.0
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	11.15	11.06	10.12	11.28	12.01	11.88	11.67	10.29	12.87	12.66	11.11	11.55
Female	10.53	10.76	10.52	11.01	12.02	10.98	11.37	10.38	11.83	12.09	10.57	11.14

Implantation index: (Number of implantation sites /Number of corpora lutea) × 100.

Delivery index: (Number of pups born /Number of implantation sites) × 100.

Birth index: (Number of live pups at birth /Number of implantation sites) × 100.

Live birth index: (Number of live pups at birth /Number of pups born) × 100.

Sex ratio of pups born: Number of males born /Number of pups born.

Viability index: (Number of live pups on postnatal day 4 /Number of live pups at birth) × 100.

Appendix 9-4 Postnatal course of individual rat litters whose parents treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

250 mg/kg/day group

Items	Animal Number											
	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148
Gestation length in days	22	22	22	- a	22	22	22	- b	- c	23	22	- a
Number of corpora lutea	13	15	15	0	15	15	13	14	0	16	15	0
Number of implantation sites	13	13	15	0	15	15	9	14	0	15	15	0
Implantation index (%)	100.0	86.7	100.0	- a	100.0	100.0	69.2	100.0	- c	93.8	100.0	- a
Delivery index (%)	84.6	92.3	93.3	- a	93.3	93.3	100.0	- b	- c	86.7	100.0	- a
Postnatal day 0												
Number of pups born	11	12	14	- a	14	14	9	- b	- c	13	15	- a
Number of males born	6	4	5	- a	6	9	5	- b	- c	5	5	- a
Number of females born	5	8	9	- a	8	5	4	- b	- c	8	10	- a
Number of live pups	11	12	13	- a	14	14	9	- b	- c	13	15	- a
Number of live males	6	4	5	- a	6	9	5	- b	- c	5	5	- a
Number of live females	5	8	8	- a	8	5	4	- b	- c	8	10	- a
Birth index (%)	84.6	92.3	86.7	- a	93.3	93.3	100.0	- b	- c	86.7	100.0	- a
Live birth index (%)	100.0	100.0	92.9	- a	100.0	100.0	100.0	- b	- c	100.0	100.0	- a
Sex ratio of pups born	0.55	0.33	0.36	- a	0.43	0.64	0.56	- b	- c	0.38	0.33	- a
Number of live pups with external anomalies	0	0	0	- a	0	0	0	- b	- c	0	0	- a
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	6.17	6.35	6.47	- a	6.02	6.32	6.54	- b	- c	6.50	6.46	- a
Female	5.21	5.80	5.95	- a	5.76	5.98	6.43	- b	- c	6.82	6.14	- a
Postnatal day 4												
Number of live pups	11	12	13	- a	14	14	9	- b	- c	13	15	- a
Number of live males	6	4	5	- a	6	9	5	- b	- c	5	5	- a
Number of live females	5	8	8	- a	8	5	4	- b	- c	8	10	- a
Viability index (%)	100.0	100.0	100.0	- a	100.0	100.0	100.0	- b	- c	100.0	100.0	- a
Pups weight (Litter mean, g)												
Male	11.57	10.84	10.68	- a	9.67	10.77	12.26	- b	- c	11.15	10.38	- a
Female	9.65	9.99	9.94	- a	9.20	9.97	12.07	- b	- c	10.66	9.63	- a

Implantation index: (Number of implantation sites /Number of corpora lutea) × 100.

Delivery index: (Number of pups born /Number of implantation sites) × 100.

Birth index: (Number of live pups at birth /Number of implantation sites) × 100.

Live birth index: (Number of live pups at birth /Number of pups born) × 100.

Sex ratio of pups born: Number of males born /Number of pups born.

Viability index: (Number of live pups on postnatal day 4 /Number of live pups at birth) × 100.

a: No pregnancy.

b: Whole pups died during delivery.

c: Died on day 0 of gestation.

Appendix 10

Clinical signs of individual rats litters whose parents treated orally with 2-(di-n-butylamino)ethanol in reproduction/developmental toxicity screening test

Exp. group (mg/kg/day)	Signs	Dam No.	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112
		Number of pups	- a	12	14	17	15	17	13	11	12	14	9	4
0	No abnormalities detected			11	14	17	15	17	13	11	12	11	9	4
	No milk band											1		
	Death			1								3		

Exp. group (mg/kg/day)	Signs	Dam No.	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124
		Number of pups	9	12	12	13	13	13	12	12	17	14	11	12
10	No abnormalities detected		8	12	12	13	13	13	12	12	17	14	11	12
	Whitish resion of abdomen		1											

Exp. group (mg/kg/day)	Signs	Dam No.	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136
		Number of pups	12	15	15	11	12	11	12	12	13	12	12	15
50	No abnormalities detected		11	14	15	11	12	11	12	11	13	11	12	15
	No milk band		1											
	Subnormal temperature		1											
	Death		1	1						1		1		

Exp. group (mg/kg/day)	Signs	Dam No.	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148
		Number of pups	11	12	14	- a	14	14	9	- b	- c	13	15	- a
250	No abnormalities detected		11	12	13		14	14	9			13	15	
	Death				1									

a: No delivery.

b: Whole pups died during delivery.

c: Died on day 0 of gestation.

信頼性保証書

一般財団法人化学物質評価研究機構

日田事業所

試験委託者：厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室

試験の表題：2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールのラットを用いる簡易生殖発生毒性試験

試験番号：E16-0039

当試験は一般財団法人化学物質評価研究機構 日田事業所の信頼性保証部門が監査又は査察を実施しており、監査又は査察を行った日付、試験責任者及び運営管理者に報告を行った日付は以下のとおりである。

監査又は査察対象	監査又は査察実施日	監査又は査察結果報告日
試験計画書	2011年12月12日	2011年12月12日
試験計画書の変更1	2011年12月15日	2011年12月15日
回答書の確認(試験計画書)	2011年12月15日	2011年12月15日
試験計画書の変更2	2011年12月16日	2011年12月16日
被験物質液の調製	2011年12月19日	2011年12月19日
投与及び一般状態観察	2011年12月20日	2011年12月20日
性周期検査	2011年12月20日	2011年12月20日
交配、交尾確認	2012年1月5日	2012年1月5日
試験計画書の変更3	2012年1月17日	2012年1月17日
解剖、剖検及び器官重量測定	2012年1月18日	2012年1月18日
摂餌量測定	2012年1月19日	2012年1月19日
分娩日及び哺育期検査	2012年2月2日	2012年2月2日
動物検査結果	2012年2月28日	2012年2月28日
動物検査結果再査察	2012年2月29日	2012年2月29日
病理検査結果	2012年3月9日	2012年3月12日
被験物質、飼育条件の記録	2012年3月14日	2012年3月14日
生データ及び最終報告書草案	2012年3月14日	2012年3月14日
生データ及び最終報告書草案再査察	2012年3月14日	2012年3月14日
生データ及び最終報告書草案(2回目)	2012年3月22日	2012年3月22日
最終報告書	2012年3月22日	2012年3月22日

なお、以下の査察対象については施設査察又はプロセス査察結果をもとに、試験責任者及び運営管理者に報告を行っている。

査察対象	査察実施日	査察結果報告日
動物入荷	2011年12月6日	2012年3月14日
検疫・馴化	2011年12月6日	2012年3月14日
飼育管理	2011年12月6日	2012年3月14日
群分け及び動物の識別	2011年10月31日	2012年3月14日
体重測定	2011年11月24日	2012年3月14日
病理標本作製	2012年1月23日、25日、 27日、30日	2012年3月14日
鏡検	2012年2月9日	2012年3月14日

本報告書には、試験で使用方法、手順が正確に記載されており報告結果は試験の生データを正確に反映している。

2012年3月22日

信頼性保証責任者

信頼性保証書

一般財団法人化学物質評価研究機構
日田事業所

試験委託者: 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室

試験の表題: 2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールのラットを用いる簡易生殖発生毒性試験

試験番号: E16-0039

当所で実施した上記試験の最終報告書の訂正について監査を行い、当該訂正には問題ないことを確認した。監査を行った日付、試験責任者及び運営管理者に報告を行った日付は以下のとおりである。

監査対象	監査実施日	監査結果報告日
最終報告書の訂正1草案	2013年2月15日	2013年2月15日
最終報告書の訂正1	2013年2月18日	2013年2月18日

本書は、2012年3月22日発行の信頼性保証書に追加したものである。

2013年2月18日

信頼性保証責任者



13. 要 約

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの生殖発生及び次世代に対する発生毒性を検討するために、化審法テストガイドラインに準拠して、「簡易生殖発生毒性試験」を実施した。

9週齢の雌雄 Crl:CD (SD) ラットに、被験物質を14日間投与後、最長14日間の交配期間を設けた。その後、雄は投与29日目まで、雌は分娩3日(41～54日間)まで投与した。雌雄とも投与期間中は一般状態観察、体重及び摂餌量測定を行い、最終投与日の翌日に剖検を行った。主要器官は固定・染色後病理学的検査に供した。また、雌は投与1から14日目まで性周期を調べ、交配期間中は交尾までの日数、分娩後は親の分娩及び哺育状態並びに出産児の一般状態観察及び体重測定などの検査を行った。投与用量は0(コーン油)、10、50及び250 mg/kg/dayとし、1群あたり雌雄各12匹を使用した。

親動物においては、250 mg/kg 群の雄で投与直後かつ一過性の流涎、不穏、軽度の自発運動低下が全例又はほとんどの動物に、ケージ舐め及び咀嚼様行動が数例に、間代性痙攣が1例にみられたが、これらすべてが投与数分から数時間以内に消失した。雌では、投与直後かつ一過性の流涎、不穏、軽度の自発運動低下、ケージ舐め及び咀嚼様行動が全例又はほとんどの動物に、間代性痙攣が数例に、振戦、強直性痙攣及び連続した発声が1例にみられ、そのほとんどが投与数分から数時間以内に消失したが、1例で交尾確認日に間代性痙攣が継続してみられ同日中に死亡した。また、間代性痙攣が頻発した1例では交尾は確認されたものの分娩しなかった。さらに分娩前日に間代性痙攣がみられた1例では分娩途中で腹児を食殺した。しかし、親動物の交尾率、受胎率、着床率、出産率、分娩率など生殖能に関するすべてのパラメータに異常はみられなかった。

児動物においては、外表、体重、生存率などすべての検査項目に異常はみられなかった。

以上のように、250 mg/kg 群において神経症状はみられたが、親動物の生殖能及び次世代の発生に対する影響がみられないことから、本試験条件下における2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの生殖発生毒性に関する無毒性量(NOAE)は、最高用量である250 mg/kg/dayとした。

17.7 児動物の出生日及び哺育期の検査

(Table 9 及び 10、Appendix 9 及び 10)

10 mg/kg 群で腹部の白色部が 1 例、対照群及び 50 mg/kg 群でミルクバンドのみられない児が各 1 例、50 mg/kg で体温低下が 1 例、対照群、50 及び 250 mg/kg 群で児の死亡が、それぞれ 4 例、4 例及び 1 例みられたが、いずれも用量依存性のみられない変化であった。また、すべての被験物質投与群の出生率、性比、生存率及び体重に異常はみられなかった。

18. 考 察

被験物質を 28 日間反復投与した試験（森村、2004）では、100 mg/kg/day 以上でケージを舐める動作、咀嚼様動作、400 mg/kg/day で間代性痙攣、体重及び摂餌量の低値、小葉中心性肝細胞肥大、腎臓の集合管上皮の空胞化、副腎の束状帯の肥大などがみられ、同群雄の 5 例中 3 例、雌の 5 例全例が死亡している。本試験では、高用量とした 250 mg/kg 群でケージ舐め、咀嚼様行動、間代性痙攣などがみられ、雌 1 例が死亡した。また、親動物の体重低値がみられたが、先の 28 日間試験のような肝臓、腎臓及び副腎に対する影響はみられなかった。これは両試験の投与経路及び媒体など投与条件が一致しているため、投与量が異なることによると考えられる。また、本試験の雌は妊娠・分娩などストレスとなる要因があるため、被験物質の影響に性差がみられることが予想された。実際、痙攣は雌に強くみられ、頻度の高い雌で非分娩となった。また、哺育行動の異常や児の食殺がみられた。しかし、雌雄の生殖器及び生殖能に関するパラメータに異常がみられないこと、被験物質はコリンエステラーゼ阻害作用（Rolf、1968 及び 1970）があるが、痙攣を含む神経症状は投与数時間以内にすべて消失し交配期間中の雄との同居時には異常がみられないこと、児を食殺した雌には胸腺の萎縮と副腎の皮質肥大などストレスが原因と考えられる変化がみられたため、本試験でみられたこれらの変化は神経症状による二次的変化で、生殖能に対する直接影響ではないと考えられた。また、産児数、児の体重及び生存率などすべての児の検査にも異常がみられないため、被験物質は親動物の生殖能及び次世代に対する影響を示さないと考えられた。

以上のように、被験物質は神経症状を示したが、生殖能に対する直接影響がみられないこと、児に被験物質投与の影響がみられないことから、本試験条件下における 2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの生殖発生毒性に関する無毒性量（NOAEL）は、最高用量である 250 mg/kg/day とした。

19. 参考文献

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 (2004) http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/paper/paper102-81-8b.html より引用。

Rolf H, Herbert HC, Cholinesterase inhibition in the acute toxicity of alkyl-substituted 2-aminoethanols. Toxicol. Appl. Pharmacol., 12:486-494 (1968).

Rolf H, Lester BP, Herbert HC, convulsions induced by 2-N-di-n-butylaminoethanol. Toxicol. Appl. Pharmacol., 17:337-343 (1970).