

2003年 9月29日

アゼライン酸ビス（2 - エチルヘキシル）の
ラットを用いる反復経口投与毒性・
生殖発生毒性併合試験

厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室 委託

財団法人食品薬品安全センター
秦野研究所

【 目 次 】

要 約	1
試験目的	4
試験材料および方法	5
1. 被験物質	5
2. 使用動物および飼育条件	5
3. 群分けおよび個体識別	6
4. 投与検体の調製	7
5. 投与量、群構成、投与期間および投与方法	7
6. 観察方法	9
7. 統計解析	15
結 果	17
I. 反復投与毒性	17
1. 一般状態	17
2. 詳細な症状観察結果	17
3. 神経学的検査結果	18
4. 体重	18
5. 摂餌量	18
6. 解剖時検査所見	19
II. 生殖発生毒性	26
1. 性周期	26
2. 交配成績	26
3. 分娩および哺育所見	26
4. 黄体数および着床数	27
5. 出生児所見	27
考 察	29

1. 反復投与毒性	29
2. 生殖発生毒性	31
3. 無作用量	32
文 献	33

Figures 1~4

Tables 1~28

【 要 約 】

アゼライン酸ビス(2-エチルヘキシル) (BEHA と略記) の、雌雄動物に対する反復投与の影響、ならびに親動物の生殖・発生および新生児の発育に及ぼす影響を検討するために、BEHA の 0 (媒体対照、コーン油)、100、300 および 1000 mg/kg を Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットの雌雄 (各 13 匹/群) に、10 週齢から 2 週間経口投与し、2 週間を限度として交配させた。雄は交配期間終了後 2 週間を経過した後、剖検した。雌は交配後、自然分娩させ、4 日間出生児を哺育させ、出生児を哺育 4 日に剖検した後、哺育 5 日に剖検した。また、分娩しなかった雌は妊娠 26 日相当日に剖検した。この間、雌雄動物に対して剖検の前日まで投与を継続し、一般状態を観察し、詳細な症状観察を行うとともに体重および摂餌量を算定し、剖検前日に神経学的検査を実施した。また、雌動物は性周期を観察した。さらに親動物は、分娩および泌乳を含む繁殖能力を観察し、出生児は哺育 4 日までの発育を観察した。親動物の剖検では血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施した。結果は、以下のように要約される。

I. 反復投与毒性

1. 雄動物所見

死亡ならびに瀕死屠殺はなかった。BEHA 投与に起因した一般状態の変化は認められず、詳細な症状観察で得られたスコアには対照群と BEHA 投与群との間で差は認められなかった。また、最終投与後に実施した神経学的検査においても異常を認める動物はなかった。

1000 mg/kg 投与群では、投与期間末期に体重増加抑制が認められたが、摂餌量には投与の影響は認められなかった。300 mg/kg 以下の投与群では体重増加および摂餌量のいずれに対しても BEHA 投与の影響は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群における剖検時の検査では、血液学検査成績に投与の影響は認められなかったが、血液生化学検査において A/G 比がやや増加し、肝臓における重量および相対重量ならびに腎臓における相対重量の増加が認められた。また、病理学検査において肝臓の暗色調が認められ、病理組織学検査では肝細胞の小葉中心性肥大および門脈周囲における脂肪化の程度の減弱が認められた。

300 mg/kg 以下の投与群では、剖検時に実施した上記検査成績に BEHA 投与の影響は認められなかった。

2. 雌動物所見

死亡ならびに瀕死屠殺はなかった。また、BEHA 投与に起因すると考えられる一般状態の異常も認められず、詳細な症状観察で得られたスコアには対照群と BEHA 投与群との間で差は認められなかった。さらに、最終投与後に実施した詳細な症状観察においても異常は認められなかった。いずれの投与群においても体重増加および摂餌量に BEHA 投与の影響は認められなかった。

剖検時に実施した血液学検査では、1000 mg/kg 投与群において白血球数が減少し、活性部分トロンボプラスチン時間がやや短縮したが、いずれも偶発的変化である可能性が高い。300 mg/kg 以下の投与群における検査成績は対照群と同様であった。血液生化学検査では、1000 mg/kg 投与群において総タンパク濃度およびカルシウム濃度が低下して A/G 比が増加した。これらの他にクレアチニン濃度の減少が認められたが、偶発的変化であると判断された。A/G 比は 300 mg/kg 投与群においても増加したが、総タンパク濃度は 1000 mg/kg 投与群とは異なり増加傾向を示していることから、BEHA 投与による影響と判断されなかった。その他の項目にも BEHA 投与による影響は認められなかった。100 mg/kg 投与群では BEHA 投与による影響と判断される変化は認められなかった。器官重量は、肝臓および腎臓重量の相対重量が 1000 mg/kg 投与群において増加したが、300 mg/kg 以下の投与群には BEHA 投与の影響は認められなかった。病理学検査では BEHA 投与に起因すると考えられる異常所見は、いずれの器官および組織にも観察されなかった。

II. 生殖発生毒性

1000 mg/kg 投与群では、投与開始後に性周期の型が変化した例の頻度が増加の傾向を示し、性周期の間隔が対照群と比較して延長した。また、妊娠期間がやや延長し、着床数、産児数および出産産児数の少ない動物が散見されたが、これらの値ならびにそれに基づいて算出された

着床率、分娩率、生児出産率および出生率のいずれにも対照群との間で有意差は認められなかった。300 mg/kg 以下の投与群ではいずれの値も対照群と同様の値を示した。交尾率、受胎率、交尾までの平均発情回帰回数および平均同居日数に投与の影響は認められず、分娩および哺育状態にも BEHA 投与に起因した異常は認められず、妊娠動物の全例が生児を出産した。哺育4日における生存児数、哺育0日および4日における性比ならびに新生児生存率に BEHA 投与の影響は認められなかった。また、出生児の体重には投与の影響は認められず、投与に起因すると考えられる形態異常も認められなかった。

Ⅲ. 評価

以上の試験成績から、本試験条件下では、BEHA の無作用量は、反復投与毒性に関しては、雌雄いずれにおいても 1000 mg/kg 投与群において、A/G 比の増加ならびに肝臓および腎臓重量あるいはそれらの相対重量の増加が認められたことから、雌雄ともに 300 mg/kg/day と結論される。生殖発生毒性に関しては、1000 mg/kg/day の投与により、雌において交配前における性周期の間隔が変化して、対照群と比較して延長したことから 300 mg/kg/day であると結論される。雄ならびに出生児に関しては 1000 mg/kg/day を投与しても BEHA 投与に起因した影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day であると結論される。

【試験目的】

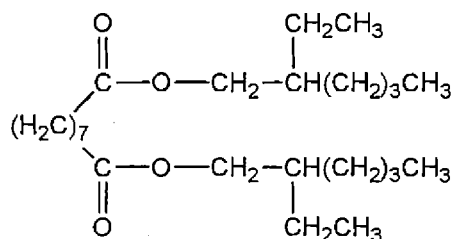
OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、OECD 化学物質試験法ガイドライン 422/反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験法（1996 年 3 月 22 日）および「化学物質 GLP」（平成 12 年 3 月 1 日改正、環保安第 41 号、生衛発第 268 号、平成 12・02・14 基局第 1 号）に準拠して、アゼライン酸ビス（2-エチルヘキシル）の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、同化合物の親動物に対する反復投与の影響ならびに新生児の生存性、発育および形態を含む生殖発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

【試験材料および方法】

1. 被験物質

被験物質のアゼライン酸ビス (2-エチルヘキシル) (BEHA と略記、CAS No.: 103-24-2、分子式: $C_{25}H_{48}O_4$ 、分子量: 412.66、英名: bis(2-ethylhexyl)nonanedioate、別名: bis(2-ethylhexyl)azelate) は、 から提供を受けたもので、下図に示した構造を有する。提供された被験物質 (ロット番号:) は、純度 77.2% の淡黄色透明液体で、不純物として、グルタル酸ビス 2-エチルヘキシル (2.2%)、アジピン酸ビス 2-エチルヘキシル (2.4%)、ピメリン酸ビス 2-エチルヘキシル (2.8%)、スベリン酸ビス 2-エチルヘキシル (3.8%)、セバシン酸ビス 2-エチルヘキシル (3.3%)、1-, 9-ノナメチレンジカルボン酸ビス 2-エチルヘキシル (5.3%)、1-, 10-デカメチレンジカルボン酸ビス 2-エチルヘキシル (0.6%)、1-, 11-ウンデカメチレンジカルボン酸ビス 2-エチルヘキシル (0.3%) を含んでおり、使用時まで密封して室温保管した。被験物質の純度は、製法の特性によるものであることから、試験委託者と協議して、被験物質の使用に際しては、純度補正を行わなかった。本試験に使用した被験物質については、投与終了後に に返却し、再分析して使用期間中の安定性を確認した (Table A)。

図. 構造式



2. 使用動物および飼育条件

試験には、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センター生産の Sprague-Dawley (SD) 系 (Crj:CD (SD) IGS、SPF) ラットを使用した。雌雄動物はいずれも 7 週齢で購入し、入荷日を含む 6 日間、検疫と馴化を兼ねて飼育し、その間毎日一般状態を観察して異常が認められなかった。

動物を、さらに 2 週間予備飼育した。予備飼育期間中、雄は一般状態を観察し、雌は一般状態を観察するとともに性周期を観察した。動物の入荷、検疫ならびに群分け状況を、Table B に示した。

各動物は、許容温湿度各 21.0～25.0℃、および 40.0～75.0%、換気回数約 15 回/時間、照明 12 時間（7 時～19 時点灯）に制御された飼育室で、金属製金網床ケージ（220w×270d×190h mm）に個別に収容して飼育し、固型飼料（CE-2、日本クレア株式会社）および飲料水（水道水、秦野市水道局給水）を自由に摂取させた。妊娠 18 日（膣栓あるいは精子発見日＝妊娠 0 日）以後の母動物は、ラット用プラスチック製繁殖ケージ（350w×400d×180h mm）に収容し、哺育 5 日（哺育 0 日＝分娩日）まで紙パルプ製チップ（ペパークリーン、日本エスエルシー株式会社）を床敷として供給して飼育した。

試験期間中、秦野研究所中央温湿度監視装置により測定した飼育室の温度は、許容温度範囲の上限を 0.5℃超える逸脱が 2 回（2 時間 30 分および 30 分）認められたため 22.0～25.5℃となったが、僅かな逸脱であることから、試験の結果に影響を及ぼすことはないと判断された。相対湿度については、49.5～73.0%と許容範囲内の値であった。使用した飼料、水および床敷についても試験に支障を来す可能性の考えられる混入物はなかった。

3. 群分けおよび個体識別

雌雄とも投与開始前日の体重に基づく体重別層化無作為抽出法により群分けし、各群に雌雄各 13 匹を配した。雌動物については、検疫終了後から群分け日まで性周期を膣スメア標本により毎日観察し、発情を回帰している動物を選択して群分けに用いた。

群分け後、すべての雌雄は、尾にフェルトペンで個体識別番号を示す番号を記して個体を識別した。各飼育ケージには、試験計画番号および個体識別番号を記入した群ごとに色の異なる動物カードを掛けて個体識別の補助とした。出生児については、個体識別は行わなかった。

4. 投与検体の調製

投与検体は、各濃度毎に秤量した被験物質をコーン油（英名：corn oil、入手先：ナカライテスク株式会社、Lot No.：V2E7069）に溶解し、いずれの用量においても1回の投与液量が5 mL/kg 体重になるように含量を調整した。

投与検体の安定性については、本試験に先立ち、本被験物質のラットを用いる急性経口投与毒性試験（試験計画番号：A-01-073）¹⁾において、0.4 および 50% (w/v)の調製検体について、室温、遮光条件下で 8 日間の安定性を確認した。これらの結果に基づき、投与検体は1週間に1回以上の頻度で調製し、室温、遮光保管して調製後7日以内に使用した。

各濃度の投与検体に含まれる被験物質の含量は、投与開始前に 1 回、以下に示す方法で測定した。その結果、調製検体には所定量の BEHA が含まれていることを確認した (Table C)。

測定方法

各調製検体の 1 mL を採取し、n-ヘキサンで一定量とした後、n-ヘキサンで適宜希釈して試料溶液を調製した。別に、被験物質を必要量秤取し、n-ヘキサンに溶解して標準溶液（5～100 µg/mL）を調製した。これら試料溶液および標準溶液を、以下に示す条件下でガスクロマトグラフ (GC) 法により測定し、標準溶液から作成した検量線を用いて濃度を求めた。

GC 条件

分析カラム：DB-1（内径 0.53 mm、長さ 15 m、膜厚 1.5 µm、J&W Scientific）

昇温条件：100℃（1 分間）→ 30℃/分→280℃→5℃/分→320℃

キャリアーガス：ヘリウム、約 50 cm/sec

水素：60 kPa

空気：50 kPa

注入口温度：300℃

検出器温度：300℃

試料注入量：1 µL

5. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の投与量は、アゼライン酸ビス（2-エチルヘキシル）のラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合予備試験（試験計画番号：R-01-002、以下、予備試験と略記）の結果に基

づいて決定した。すなわち、アゼライン酸ビス（2-エチルヘキシル）のラットを用いる急性経口投与毒性予備試験（試験計画番号：A-01-072）では、雌雄ともに 2500 mg/kg まで投与しても死亡は認められなかったことから、予備試験では、OECD 化学物質試験法ガイドラインに定められている限度量の 1000 mg/kg を高用量に設定し、以下公比約 3 で減じて中用量に 300 mg/kg を、低用量に 100 mg/kg を設定して、本試験と同系統のラット各群雌雄各 5 匹に 2 週間反復経口投与した。対照群の雌雄には、媒体（コーン油 5 mL/kg）を同様に投与し、一般状態、体重推移および摂餌量を BEHA 投与群と比較した。各群の動物は、最終投与翌日にペントバルビタールナトリウム麻酔下で、放血致死させて剖検し、器官重量を測定した。その結果、雌雄ともに 1000 mg/kg を 14 日間反復投与しても死亡は認められず、一般状態および体重増加にも異常は認められなかった。しかし、剖検では 1000 mg/kg 投与群において肝臓の腫大が認められ、肝臓の重量が増加した。こうした変化は 300 mg/kg 以下の投与群では認められなかったことから、本試験における投与量は、予備試験と同様とし、高用量には 1000 mg/kg を設定し、以下公比約 3 で減じて中用量には 300 mg/kg を、低用量には 100 mg/kg を設定した。

以下に群構成を示す。

群番号	被験物質	投与量 (mg/kg)	被験物質濃度 (% (w/v))	匹数（動物番号）	
				雄	雌
1	媒体対照 （コーン油）	0	0	13 (MX01001-013)	13 (FB01001-013)
2	BEHA	100	2.0	13 (MX02001-013)	13 (FB02001-013)
3	BEHA	300	6.0	13 (MX03001-013)	13 (FB03001-013)
4	BEHA	1000	20	13 (MX04001-013)	13 (FB04001-013)

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前 2 週間から最長 2 週間の交配期間を経て剖検前日に至るまでの連続 42 日間、また、雌に対しては交配前 2 週間、交尾までの交配期間、妊娠期間および哺育 4 日まで、交尾したが分娩しない雌は妊娠 25 日相当日まで、それぞれ毎日 1 回、一定時刻の間（9 時～13 時）に、ラット用胃管を用いて経口投与した。投与に際しては、投与前

に投与検体を再度混和してから使用した。また、各動物の投与液量（5 mL/kg）は、雌雄とも最近時の体重をもとに、個体別に算出した。

6. 観察方法

1) 一般状態の観察

雌雄とも、全例について飼育期間中毎日1回以上観察した。投与期間中の動物については、投与前および投与終了後に観察した。観察された症状は、いずれも速やかな回復が期待されないものであったことから、断続的観察は行わなかった。

2) 詳細な症状観察

交配期間中にある雌雄および妊娠18日以降にある雌動物を除き、雌雄の全例について群分け日、投与7、14、21、28、35および42日の13時～16時にスコアリング法による詳細な症状観察を行った。詳細な症状観察では、ケージ越しでの観察を約20秒間行い、ケージから取り出す際に外表を観察し、作業台上での観察を約20秒間行った。さらに、作業台上で、姿勢・体位、探索行動、身づくろい、発声、挙尾反応、歩行、常同行動、奇妙な行動、振戦、痙攣、立毛、眼裂および呼吸数を観察した。

3) 神経学的検査

雄は、投与42日の詳細な症状の観察後に各群の動物番号の若い順に5例を選び、また、雌動物は、哺育4日に各群の投与期間が近接した5匹を選び、プライエル反応、瞳孔反射、痛覚、後肢引込み反射、眼瞼（瞬目）反射、正向反射を検査した。

4) 体重測定

雄は全例について、投与1（投与開始日）、7、14、21、28、35、42日および解剖日に測定した。

雌は全例について、投与 1、7、14、21 日に測定し、交尾確認後は、妊娠 0、7、14、20 日に、分娩後は哺育 0、4 日および解剖日に測定した。分娩の認められなかった例は剖検日に測定した。これらのうち、投与 21 日の体重ならびに分娩しなかった例の剖検時体重は、測定対象が限られていることから評価の対象から除外した。また、1000 mg/kg 投与群の雌の 1 例（動物番号 FB04003）は、交配期間中、交尾が確認されることはなかったにもかかわらず、投与 38 日に分娩が認められた。本例は、試験計画書の記載に従って、分娩後の測定および観察を実施したが、妊娠日による投与液量の変更を実施できなかったことから、試験条件が異なる動物と判断された。このため、本例に関わるデータのうち、交尾率および受胎率を除き、交配開始以後の期間の全成績を評価の対象から除外することとした。

5) 摂餌量測定

雄は全例について、投与 1～2、7～8、14～15、29～30、35～36、41～42 日に測定した。

雌は全例について、交配前期間は投与 1～2、7～8、14～15 日、交尾確認後は、妊娠 0～1、7～8、14～15、20～21 日に、分娩後は哺育 3～4 日に測定した。

6) 性周期

全例について群分け日までの性周期観察に引き続き、交尾確認日まで、陰スメア標本を作製して観察し、細胞構成から、発情期、発情前期および発情休止期に分類した。これらの分類に基づき、性周期の型を、4 日間隔で発情を回帰するものを 4 日周期、5 日間隔で発情を回帰するものを 5 日周期、4～5 日間隔で発情を回帰するものを 4 および 5 日周期、それ以外を不正周期に分類し、投与開始後性周期の型が変化した動物の頻度を群毎に算出するとともに、投与開始前後の各期間について、平均発情回帰日数（個体毎の発情期から次回発情期までの日数の平均）を群毎に算出した。

7) 交配

交配は、雌雄ともに2週間投与後(投与15日)の12週齢から、交尾を確認するまで、2週間を限度として同群内の雌雄1:1で連日同居させることによって行った。交尾の確認は、膣スミア中の精子の存在あるいは膣栓を確認することにより行い、いずれかが確認された日を妊娠0日と起算して雄から分離し、個別に飼育した。

交配結果から、各群について交尾率 $\left[\frac{\text{交尾動物数}}{\text{交配動物数}} \times 100, \%\right]$ を求め、子宮に着床痕の確認された雌動物を妊娠動物として受胎率 $\left[\frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交尾動物数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。また、同居開始日から交尾確認日までの日数およびその間に回帰した発情期の回数も求めた。

8) 分娩・哺育状態の観察

各群とも、交尾した雌は、全例を自然分娩させて哺育させた。

分娩の確認は、妊娠21日から分娩が確認されるまで、妊娠25日を限度として毎日行い、11時までに分娩が完了した例についてその日を哺育0日とした。分娩状態を直接観察できた例については、異常の有無を断続的に観察し、直接観察ができなかった例については、分娩前後の一般状態および産児の状態から異常の有無を判断した。

妊娠25日相当日までに分娩が確認されない動物は、翌日、後述の剖検の項に示した方法に従って剖検し、子宮に着床痕の認められなかった例を不妊と判定した。

分娩を確認した例については、全例の妊娠期間(妊娠0日～分娩日までの日数)を算定し、出産率 $\left[\frac{\text{生児出産雌数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100, \%\right]$ を各群について求めた。また、哺育1日から毎日、哺育状態を観察し、哺育5日の剖検において数えられた着床数および妊娠黄体数から着床率 $\left[\frac{\text{着床数}}{\text{妊娠黄体数}} \times 100, \%\right]$ を算出した。

9) F₁ 出生児の観察

哺育0日に、雌雄別に産児数(生存児+死亡児)を調べ、分娩率 $\left[\frac{\text{産児数}}{\text{着床痕数}} \times 100, \%\right]$

100、%）、生児出産率〔(出產生児数／着床痕数) × 100、%〕および出生率〔(出產生児数／産児数) × 100、%〕を算出した。生存児については外表奇形の有無を観察した。翌日（哺育 1 日）から哺育 4 日まで、毎日一般状態を観察し、生児数と死亡児数を雌雄別に数え、新生児生存率〔(哺育 4 日の生児数／哺育 0 日の生児数) × 100、%〕を算出した。生存児については、哺育 0 および 4 日に個別の体重を測定し、各腹ごとに雌雄別の平均値を算出するとともに、哺育 0 および 4 日における性比〔(哺育 0 あるいは 4 日雄生児数／哺育 0 あるいは 4 日総生児数) × 100〕を算出した。

10) 剖検

雄動物は、投与 42 日に絶食を開始し、その 18～24 時間後にペントバルビタールナトリウム麻酔下で採血後、放血致死させ解剖し、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施するとともに、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣および精巣上体の重量を測定し、相対重量を算出した。

雌動物のうち、交尾したが分娩しなかった例については妊娠 25 日相当日に、分娩した例は哺育 4 日に絶食を開始し、その 18～24 時間後にペントバルビタールナトリウム麻酔下で採血後、放血致死させ解剖し、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施するとともに、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓および副腎の重量を測定し、相対重量を算出した。また、子宮は着床痕数を数え、着床痕が認められた例については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた。

出生児については、死亡児は発見後速やかに剖検し、0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定して保存した。生存児は、全例を哺育 4 日にエーテル吸入により致死させ剖検した。

11) 血液学検査

腹部後大静脈から抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを用いてプロトロンビン時間 (PT) および活性部分トロンボプラスチン時間 (APTT) 測定に用いる血液を採取し、次いで、腹部後大静脈から抗凝固剤として EDTA-2K を用いてその他の血液学検査に用いる血液を採取し、以下に

示す項目について検査を行った。なお、採血時に作製した Wright-Giemsa 染色静脈血塗抹標本および Brecher 法による網状赤血球比率計測のための標本は、検査の必要がないと判断されたので使用しなかった。また、300 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例（動物番号：MX03012、FB03010）の血液検査において、雄の例については赤血球系の測定時に、また、雌の例については赤血球系および白血球系の両測定時にそれぞれサンプリングエラーと推測される誤作動が発生し、雄の例では赤血球数、血色素量、平均赤血球容積、血小板数、ヘマトクリット値、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度が、また、雌の例では血液凝固時間を除く全ての測定項目が異常値を示したため、評価の対象から除外した。

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

12) 血液生化学検査

全例について、前述の血液学検査に用いる血液の採取に引き続き、腹部後大静脈から抗凝固剤としてヘパリンを用いて採血し、血漿を用いて以下の項目について検査した。

項目	測定法	使用機器
総蛋白濃度	ビウレット法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS-FARA（ロシュ）
アルブミン濃度	BCG 法	同上

続き

項目	測定法	使用機器
総コレステロール濃度	COD・DHAOS 法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS-FARA (ロシュ)
ブドウ糖濃度	ヘキソキナーゼ G6PDH 法	同上
尿素窒素濃度 (BUN)	ウレアーゼ・G1DH 法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé 法	同上
アルカリフォスファターゼ活性 (ALP)	GSCC 法	同上
GOT (AST) 活性	IFCC 法	同上
GPT (ALT) 活性	同上	同上
γ -GTP 活性	同上	同上
トリグリセライド濃度	GPO・HAOS 法、グリセリン消去法	同上
無機リン濃度 (Inorg. phos.)	モリブデン酸直接法	同上
総ビリルビン濃度	アゾビリルビン変法	同上
カルシウム濃度	OCPC 法	同上
A/G 比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05 (A&T)
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

13) 病理学検査

(1) 肉眼検査

全例について剖検し、器官・組織の肉眼観察を行った。また、雌雄とも全例について、脳、下垂体、脊髄、甲状腺および上皮小体、心臓、気管、肺（気管支を含む）、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、坐骨神経、大腿骨および骨髄、病変部を採取し、さらに、雄は精巣、精巣上体、前立腺腹葉、凝固腺を含む精嚢を採取した。雌は卵巣、子宮、膈を採取し、子宮については、着床数を数え、分娩した雌の卵巣については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた。また、雌雄ともに肺（気管支を含む）は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で注入固定してから採取した。採取した器官および組織のうち、精巣ならびに精巣上体はブアン液（長期保存は 0.1M リン酸緩衝

10%ホルマリン溶液を使用)に固定し、その他は0.1Mリン酸緩衝10%ホルマリン溶液に固定して保存した。

(2) 病理組織学検査

固定・保存器官のうち、卵巣、精巣および精巣上体は全例について常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン・エオジン染色を行って病理組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。

定期解剖例については、全例の検査を実施する卵巣、精巣および精巣上体以外の固定・保存器官について、雄は対照群5例および1000 mg/kg投与群5例、雌は不妊例を除く対照群5例および1000 mg/kg投与群5例を動物番号の若い順に選定し、標本を作製して検査した。また、1000 mg/kg投与群において重量および相対重量が有意な高値を示した雌雄の肝臓および腎臓については、100 mg/kgおよび300 mg/kg投与群についても組織学検査を実施した。これらの動物における腎臓および肝臓以外の器官、ならびにその他の動物については、被験物質投与によると推定される異常が認められなかったので、標本を作製しなかった。病変部については全て標本を作製して病理組織学検査を実施したので、1000 mg/kg投与群における雄の肝臓の観察例数は12となった。なお、骨髄および甲状腺の検査に際して、これらの組織標本とともに観察される大腿骨および上皮小体の検査は実施しなかった。

7. 統計解析

性周期の変化した動物の頻度、交尾率、受胎率ならびに出生児の形態異常の出現頻度についてはFisherの直接確率検定²⁾を行った。病理組織学検査所見では、グレード分けをしたデータは、Mann-WhitneyのU検定³⁾により、陽性グレードの合計値はFisherの直接確率片側検定⁴⁾により対照群とBEHA各投与群との間の有意差検定を行った。その他のデータは多重比較検定を行った。すなわち、個体ごとに得られた値、あるいはlitterごとの平均値を1標本として、先ずBartlett法⁵⁾により各群の分散の一樣性について検定を行った。分散が一樣である場合には、一元配置型の分散分析⁶⁾を行い、群間に有意性が認められる場合は、Dunnett法⁶⁾により多重比

較を行った。一方、いずれかの群で分散が 0 となる場合および分散が一樣でない場合には、Kruskal-Wallis⁷⁾の順位検定を行い、群間に有意性が認められる場合には、Dunnett 型⁶⁾の検定法により多重比較を行った。有意水準はいずれも 5 %とした。

【 結 果 】

I. 反復投与毒性

1. 一般状態 (Tables 1~2; Appendices 1-1~2-4)

1) 雄

死亡あるいは瀕死動物はいずれの投与群にも認められなかった。

一般状態については、1000 mg/kg 投与群において投与 42 日に貧毛／脱毛が 1 例に認められた他に、いずれの投与群においても異常は認められなかった。

2) 雌

死亡あるいは瀕死動物はいずれの投与群にも認められなかった。

一般状態については、分娩するまでの期間は、投与 1～6 日に、1000 mg/kg 投与群の 1 例が貧毛／脱毛を示した他に、いずれの投与群においても異常は認められなかった。分娩後は、貧毛／脱毛が対照群および 100 mg/kg 投与群の各 1 例に認められた。また、被毛汚染が、分娩状態が不良であった 100 mg/kg 投与群および 300 mg/kg 投与群の各 1 例（動物番号 FB02008 および FB03007）の分娩日から観察された。100 mg/kg 投与群の例は、全出生児が死亡して 2 日後の哺育 3 日には症状が認められなくなった。一方、300 mg/kg 投与群の例は消瘦を伴い、剖検までこれらの変化が継続して観察された。これらの他に、300 mg/kg 投与群では、哺育 4 日から消瘦を認め、剖検日には被毛汚染を認める例（動物番号 FB03003）もあった。これらの他に、300 mg/kg 投与群において交尾したが不妊であった 1 例（動物番号 FB03012）に投与 39 日から剖検まで皮下腫瘍が認められた。1000 mg/kg 投与群では、分娩後に異常を認める例はなかった。

2. 詳細な症状観察結果 (Tables 3~4; Appendices 3-1-1~4-4-3)

雌雄ともに、いずれの時期においても対照群と BEHA 投与群との間で各観察項目のスコアに有意差は認められなかった。

3. 神経学的検査結果 (Table 5; Appendices 5-1~5-4)

雌雄ともに、いずれの投与群においても検査結果に異常は認められなかった。

4. 体重

1) 雄 (Figure 1; Tables 6~8; Appendices 6-1~8-4)

300 mg/kg 以下の投与群については、いずれの時期においても体重、増加量および累積増加量に対照群と比較して有意差は認められなかった。1000 mg/kg 投与群では、投与 28 日までの体重、増加量および累積増加量については対照群との間に有意差が認められなかったが、それ以降の投与 28~35 日および 35~42 日の増加量ならびに投与 42 日までの累積増加量は対照群と比べて有意 ($p<0.05$ 、 $p<0.01$) に低い値を示した。これらの時期における体重については、対照群との間で有意差は認められなかった。

2) 雌 (Figure 2; Tables 9~11; Appendices 9-1~11-4)

いずれの時期においても体重、増加量および累積増加量には対照群と BEHA 各投与群との間で有意差を認めなかった。

5. 摂餌量

1) 雄 (Figure 3; Table 12; Appendices 12-1~12-4)

いずれの時期も対照群と BEHA 投与との間で有意差は認められなかった。

2) 雌 (Figure 4; Table 13; Appendices 13-1~13-4)

いずれの時期も対照群と BEHA 投与との間で有意差は認められなかった。

6. 解剖時検査所見

1) 血液学検査所見

(1) 雄(Table 14; Appendices 14-1~14-4)

いずれの検査項目においても対照群と BEHA 投与群との間に有意差は認められなかった。

(2) 雌(Table 15; Appendices 15-1~15-4)

300 mg/kg 以下の投与群では、対照群との間に有意差の認められた検査項目はなかった。1000 mg/kg 投与群では、対照群と比較して白血球数が有意 ($p<0.01$) に減少し、APTT が有意 ($p<0.01$) に短縮した。その他の検査項目については対照群との間で有意差は認められなかった。また、分娩後の一般状態に異常が認められた 100 mg/kg 投与群の 1 例 (動物番号 FB02008)、および 300 mg/kg 投与群の 2 例 (動物番号 FB03003 および FB03007) の検査結果に著しい変化は認められなかった。

2) 血液生化学検査所見

(1) 雄(Table 16; Appendices 16-1~16-4)

300 mg/kg 以下の投与群では、対照群との間に有意差の認められた検査項目はなかった。1000 mg/kg 投与群では、対照群と比較して A/G 比が有意 ($p<0.05$) な高値を示した。また、1 例 (動物番号 MX04008) の GPT (ALT) 活性および GOT (AST) 活性が、それぞれ 114 U/L および 221 U/L と高値を示したが、対照群との間に有意差は認められなかった。その他の検査項目についても対照群との間で有意差は認められなかった。

(2) 雌(Table 17; Appendices 17-1~17-4)

100 mg/kg 投与群では、ブドウ糖濃度が対照群と比較して有意 ($p<0.05$) な低値を示した他に対照群との間で有意差の認められた検査項目はなかった。300 mg/kg 投与群では、A/G 比が対照群と比較して増加し ($p<0.05$)、アルカリフォスファターゼ活性が低値を示した ($p<0.05$)。1000 mg/kg 投与群においても A/G 比が対照群と比較して有意 ($p<0.01$) に増加したが、総蛋白濃度の有意 ($p<0.01$) な減少を伴っていた。また、1000 mg/kg 投与群では、クレアチニン濃度

およびカルシウム濃度が対照群と比較して有意 ($p<0.01$) に減少した。

分娩後の一般状態に異常が認められた 100 mg/kg 投与群の 1 例 (動物番号 FB02008)、および 300 mg/kg 投与群の 2 例 (動物番号 FB03003 および FB03007) のうち、300 mg/kg 投与群の例 (動物番号 FB03003) では、A/G 比、血中尿素窒素濃度、クレアチニン濃度、総コレステロール濃度およびトリグリセライド濃度に著しい増加が認められ、GOT 活性も上昇していたが、この例の血漿には乳びが認められたことから測定値は参考データとし、評価の対象から除外した。その他の 2 例については検査結果に顕著な変化は認められなかった。

3) 器官重量

(1) 雄 (Table 18; Appendices 18-1~18-4)

300 mg/kg 以下の投与群では、対照群と比較して重量あるいは相対重量に有意差が認められる器官はなかった。1000 mg/kg 投与群では、腎臓の重量および相対重量ならびに肝臓の相対重量が対照群と比較して有意 ($p<0.01$) な高値を示した。その他の器官については重量および相対重量ともに対照群との間に有意差は認められなかった。

(2) 雌 (Table 19; Appendices 19-1~19-4)

300 mg/kg 以下の投与群では、対照群と比較して重量あるいは相対重量に有意差が認められる器官はなかった。1000 mg/kg 投与群では、腎臓および肝臓の相対重量が対照群と比較して有意 ($p<0.05$, $p<0.01$) な高値を示した。その他の器官については重量および相対重量ともに対照群との間に有意差は認められなかった。

分娩後の一般状態に異常が認められた 100 mg/kg 投与群の 1 例 (動物番号 FB02008)、および 300 mg/kg 投与群の 2 例 (動物番号 FB03003 および FB03007) については、いずれも胸腺重量および相対重量が低下し、これらのうち 300 mg/kg 投与群の例 (動物番号 FB03003) は副腎の重量および相対重量が増加していた。

4) 剖検所見

(1) 雄 (Table 20; Appendices 20-1~20-4)

対照群および 300 mg/kg 投与群の動物に異常は認められなかった。100 mg/kg 投与群では、肝臓の淡色調が 1 例に認められた。1000 mg/kg 投与群では 10 例に肝臓の暗色調が認められ、そのうちの 1 例には腫大も観察された。また、両前肢皮膚の貧毛/脱毛が 1 例に認められた。

(2) 雌 (Table 21; Appendices 21-1~21-4)

対照群では、1 例の右側腎臓に腎盂の拡張が観察された。100 mg/kg 投与群では、分娩状態が不良で全出生児が死亡した例の胸腺に小型化が認められた。また、不妊であった例の子宮には内腔の拡張が認められた。300 mg/kg 投与群では、哺育状態の不良が認められた例および分娩状態が不良でその後全出生児が死亡した例に、鼻あるいは会陰部周囲被毛の褐色汚染が認められ、腎臓の淡色調、副腎の腫大ならびに胸腺および脾臓の小型化が観察された。これらのうち、全出生児が死亡した例では、腎臓表面の粗造化も認められた。胸腺の小型化は、一般状態に変化が認められなかった 1 例にも観察された。これらの例の他に、不妊であった 1 例の腋窩皮下に、表皮に痂皮形成を伴った腫瘤が認められ、この例の脾臓には腫大が認められた。1000 mg/kg 投与群に異常は認められなかった。

5) 病理組織学検査所見

(1) 雄 (Table 22; Appendices 22-1~22-4)

以下に示す器官に異常所見が認められた。脳、脊髄、下垂体、気管、甲状腺、胸腺、下顎リンパ節、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、副腎、坐骨神経、膀胱、凝固腺を含む精囊、大腿骨骨髓については対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例を観察したが、異常は認められなかった。剖検時に 1000 mg/kg 投与群に観察された両前肢脱毛/貧毛部の皮膚には、ごく軽度の痂皮の付着が観察された。

(精巣)

対照群および 100 mg/kg 投与群に異常は観察されなかった。300 mg/kg および 1000 mg/kg 両

投与群では各 1 例に限局性の精細管萎縮が認められ、1000 mg/kg 投与群の例はライディッヒ細胞のびまん性の過形成を伴っていた。これらの所見の頻度および程度については対照群と BEHA 投与群との間で有意差は認められなかった。

(精巣上体)

対照群の 1 例および 100 mg/kg 投与群の 2 例に、リンパ球の間質への浸潤が認められた。300 mg/kg 投与群に異常は認められなかった。1000 mg/kg 投与群では、精巣に所見の認められた例の管腔内に細胞残屑の増加が認められた。これらの所見の頻度および程度については対照群と BEHA 投与群との間で有意差は認められなかった。

(前立腺腺葉)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例について観察した結果、上皮あるいは間質にリンパ球および好中球の浸潤が各 4 例に観察されたが、病変の程度に両群間で差は認められなかった。

(肝臓)

剖検時に異常の認められた例も含めて対照群、100 mg/kg および 300 mg/kg 投与群の各 5 例ならびに 1000 mg/kg 投与群の 12 例について検査した結果、小葉中心性肝細胞肥大(Photos 1, 2)が 1000 mg/kg 投与群の 12 例中 5 例に認められた。対照群と比較して程度および頻度に有意差は認められなかったが、対照群を含めて 300 mg/kg 以下の投与群に同様の所見は認められなかった。門脈周囲性の脂肪化は、300 mg/kg 以下の投与群の全例に認められたが、1000 mg/kg 投与群では、ごく軽度の脂肪化が 12 例中 5 例のみに観察され、頻度および程度ともに対照群との間に有意差が認められた ($p<0.05$, $p<0.01$)。これらの他に、300 mg/kg 投与群を除く各群に小肉芽腫が認められ、1000 mg/kg 投与群の 1 例の被膜下に限局性の壊死巣が認められたが、これらの所見の頻度および程度には対照群との間で有意差は認められなかった。

(腎臓)

対照群を含む各群の 5 例について観察した結果、全ての投与群において皮質に好酸性小体および好塩基性尿細管が観察された。これらの他に、100 mg/kg 投与群では被膜下における限局性の線維化および皮髄境界部における限局性の嚢胞が各 1 例に観察され、1000 mg/kg 投与群では

皮質に線維化を伴った嚢胞が1例に観察された。これらの所見の程度あるいは頻度には、対照群と BEHA 各投与群との間で有意差は認められなかった。

(心臓)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例について観察した結果、両群に限局性の心筋の変性あるいは線維化が観察されたが、その程度および頻度に両群間で有意差は認められなかった。

(肺および気管支)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例について観察した結果、動脈壁の鉍質沈着が両群に認められた。また、1000 mg/kg 投与群では肺泡域に限局性の骨化生が1例に認められたが、これらの所見の程度あるいは頻度に両群間で有意差は認められなかった。

(脾臓)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例について観察した結果、両群の全例に髄外造血および褐色色素の沈着が認められたが、これらの所見の程度および頻度に両群間で有意差は認められなかった。

(2) 雌 (Table 23; Appendices 23-1~23-4)

以下に示す器官に異常所見が認められたが、脳、脊髄、心臓、気管、甲状腺、下顎リンパ節、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、坐骨神経、膀胱、大腿骨骨髓に異常は認められなかった。剖検時に 300 mg/kg 投与群の不妊例に認められた皮下腫瘍は、好中球およびマクロファージの浸潤ならびに表皮の痂皮を伴う乳腺の腺癌と診断された。

(卵巣)

全例について検査した結果、1000 mg/kg 投与群における分娩例 1 例に卵胞嚢胞が観察された他に異常は認められなかった。卵胞嚢胞の頻度および程度には対照群との間で有意差は認められなかった。

(子宮)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例の分娩例ならびに、剖検において内腔の拡張が認められた 100 mg/kg 投与群の不妊例について検査した結果、対照群および 1000 mg/kg 投与群に異

常は認められなかった。100 mg/kg 投与群の不妊例には、腔の拡張、上皮および内膜間質に好中球の浸潤が認められた。

(腔)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例の分娩例について検査した結果、両群の全例に上皮への好中球浸潤が観察された。また、1000 mg/kg 投与群では、1 例に分泌期の上皮が観察された。これらの所見の程度あるいは頻度には両群の間に有意差は認められなかった。

(肝臓)

対照群を含めて各群の分娩例各 5 例について検査した結果、門脈周囲の脂肪化、小肉芽腫および髓外造血が全ての投与群に認められた。また、びまん性の肝細胞の空胞化が 300 mg/kg 投与群の 1 例に認められた。これらの所見の頻度および程度には対照群と BEHA 各投与群の間に有意差は認められなかった。

(腎臓)

剖検時異常所見が認められた例も含めて、対照群および 300 mg/kg 投与群の各 6 例、ならびに 100 mg/kg および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例について検査した結果、剖検時に異常の認められた 300 mg/kg 投与群の 2 例に、皮質に近位尿細管上皮の壊死および空胞化ならびに遠位尿細管の管腔内に細胞残屑および血色素様円柱が観察された。また、この 2 例中 1 例を含む各群の 1 例ずつに好塩基性尿細管が観察された。これらのうち、300 mg/kg 投与群の例では、好塩基性尿細管が他の例と比べて高頻度に観察された。対照群において好塩基性尿細管が観察されたのは、剖検時に右側腎盂の拡張が認められた例で、この例および 100 mg/kg 投与群の 2 例の皮質には近位尿細管上皮の空胞化が観察された。これらの所見の頻度および程度には対照群と BEHA 各投与群との間に有意差は認められなかった。

(下垂体)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例の分娩例について検査した結果、対照群の 1 例にラトケ囊の拡張が認められた他に異常は認められなかった。

(肺および気管支)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例の分娩例について検査した結果、両群の肺胞域に泡沫細胞の限局性の集簇が認められた。また、対照群では動脈壁に鉍質沈着および肺胞に限局性の骨化生が観察された。これらの所見の程度および頻度には両群間で有意差は認められなかった。

(胸腺)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例の分娩例ならびに、100 mg/kg および 300 mg/kg 投与群において剖検時に異常が認められた 1 および 3 例について検査した結果、対照群に異常は認められなかった。1000 mg/kg 投与群では、鰓嚢遺残が 1 例に認められたが、頻度および程度に対照群との間に有意差は認められなかった。剖検時に異常が認められた例については、300 mg/kg 投与群の 1 例に異常は認められなかったが、その他の例には中等度ないし強度の萎縮が認められた。

(脾臓)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例の分娩例ならびに、300 mg/kg 投与群において剖検時に異常が認められた 3 例について検査した結果、対照群および 1000 mg/kg 投与群の全例に髄外造血および褐色色素の沈着が観察されたが、これらの所見の頻度に両群間で有意差は認められなかった。同様の所見は、観察を行った 300 mg/kg 投与群の 3 例にも同程度に観察されたが、これら 3 例のうち、剖検時に脾臓の腫大が認められた 1 例には顆粒球系の髄外造血の亢進が認められ、小型化が観察された 2 例には白脾髄領域および赤脾髄領域の減少が認められた。

(副腎)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各 5 例の分娩例ならびに 300 mg/kg 投与群において剖検時に異常が認められた 2 例について検査した結果、対照群および 1000 mg/kg 投与群に異常は認められなかった。300 mg/kg 投与群では 2 例ともに皮質細胞に空胞がびまん性に増加して認められた。

II. 生殖発生毒性

1. 性周期 (Table 24; Appendices 24-1~24-4)

投与開始後に性周期の型が変化した動物の割合が 1000 mg/kg 投与群において増加の傾向が認められ、平均発情回帰日数が対照群と比較して有意 ($p < 0.05$) に延長した。300 mg/kg 以下の投与群では性周期に投与の影響は認められなかった。

2. 交配成績 (Tables 24, 25; Appendices 24-1~25-4)

いずれの投与群においても全例が交尾した。対照群を含む各群に 1~2 例の不妊動物が認められたが、受胎率に対照群と BEHA 各投与群との間で有意差は認められなかった。交尾までの同居期間は BEHA 投与群において短縮する傾向が認められたが、対照群との間で有意差は認められず、いずれの動物も同居開始後、初回の発情期に交尾した。

3. 分娩および哺育所見 (Tables 26; Appendices 26-1~26-4)

妊娠動物の全例が生児を出産した。分娩の直接観察が可能であったのは、対照群の 12 例中 2 例、100 mg/kg および 300 mg/kg 投与群の 11 例中 1 例であり、1000 mg/kg 投与群では 12 例が分娩したが、直接観察が可能であった例はなかった。これら分娩を直接観察した例には分娩状態の異常は認められなかった。一方、直接観察できなかった例のうち 100 mg/kg 投与群および 300 mg/kg 投与群の各 1 例に分娩状態の不良と判断される所見が認められた。すなわち、100 mg/kg 投与群の例 (動物番号: FB02008) は、分娩が終了したにもかかわらず、胎盤が切断されていない産児がケージ内に散乱し、母動物の膣から出血が認められた。また、300 mg/kg 投与群の例 (動物番号: FB03007) も同様に産児を集めず、胎盤が処理されず、また、母動物の膣から出血が認められた。これら 2 例は、哺育状態も不良となり、哺育 1 日あるいは 2 日までに全出生児が死亡した。300 mg/kg 投与群では、分娩状態に異常は認められなかった 1 例 (動物番号: FB03003) の出生児は、哺育 4 日における体重が同群の他の腹と比較して著しく低く、また、剖検では、外表および内臓諸器官に異常は認められなかったが、全例の胃内に乳汁の貯留が認め

られなかったことから、哺育状態の不良があったものと判断された。1000 mg/kg 投与群では、生存産児が1匹のみであった例（動物番号：FB04008）において哺育3日から4日まで間、母動物の乳頭に突出不良が認められ、また、哺育4日における出生児の剖検においても削瘦および脱水が認められたことから、哺育状態の不良があったものと判断された。対照群の動物の分娩状態および哺育状態に異常は認められなかった。また、妊娠期間は対照群と BEHA 投与群との間で有意差は認められなかった。

4. 黄体数および着床数 (Table 26; Appendices 26-1~26-4)

BEHA 各投与群の黄体数は対照群と同様の値であった。着床数については、1000 mg/kg 投与群において数が少なく、着床率の低い例が認められたが、対照群と BEHA 各投与群の間で着床数および着床率に有意差は認められなかった。

5. 出生児所見

1) 一般状態および生存性 (Table 26; Appendices 26-1~26-4)

いずれの投与群の動物も行動を含む一般状態に異常は認められなかった(表に示さず)。

母動物に哺育状態の不良が認められた 100 mg/kg および 300 mg/kg 投与群の各1腹が、それぞれ哺育1日および2日に全出生児が死亡したが、これらの投与群については産児数、分娩率、生存産児数、生児出産率、出生率、新生児生存率のいずれにも対照群との間で有意差は認められなかった。1000 mg/kg 投与群では、着床数が少なかった例の他に、産児数が少なかった例があり、さらに産児数は通常数えられるのと同様の値であったが生存産児数の少ない例もあった。このために、分娩率および生児出産率が低値を示す例が認められた。しかし、対照群と比較して、産児数、分娩率、生児出産率および出生率に有意差は認められず、新生児生存率は対照群と同様の値であった。また、哺育0日および哺育4日における性比にも対照群と BEHA 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2) 体重 (Table 27; Appendices 27-1~27-4)

雌雄ともにいずれの時期も対照群と BEHA 各投与群との間で有意差は認められなかった。

3) 形態観察所見 (Table 28)

生存産児の形態観察では、100 mg/kg 投与群において分娩状態の不良が認められた例（母動物番号：FB02008）の雄生存産児の 1 例に両側後肢の内側回転が観察された。死亡児の観察ならびに哺育 4 日における剖検では、いずれの動物にも異常は観察されなかった。

【 考 察 】

1. 反復投与毒性

1000 mg/kg までの BEHA を連日経口投与しても死亡する例は認められず、毎週実施したスコアリングによる詳細な症状観察においても BEHA 投与の影響は認められなかった。さらに、最終投与後に実施した神経学的検査においても異常は認められなかったことから、1000 mg/kg までの BEHA に明瞭な神経毒性はないものと考えられた。1000 mg/kg 投与群において雌雄動物に貧毛／脱毛が認められたが、少数例であり、雌では100 mg/kg 投与群においても1例に認められ、用量に依存した変化ではなかったことから、偶発的な変化であると考えられる。また、100 mg/kg および300 mg/kg 投与群の雌動物において、分娩後に被毛汚染や削瘦など一般状態の不良を認める例があったが、1000 mg/kg 投与群では類似した変化が認められなかったことから、BEHA 投与に起因した変化ではないと判断された。これらのことから、1000 mg/kg までの BEHA 投与は雌雄いずれに対しても一般状態に影響を及ぼさないと考えられた。

体重増加に関しては、雄に対して1000 mg/kg を反復投与することにより、投与末期に増加抑制が認められたが、雌では、BEHA 投与の影響は認められなかった。摂餌量については雌雄いずれにおいても BEHA 投与の影響は認められなかった。

雄の剖検では、1000 mg/kg 投与群において肝臓の相対重量が増加し、腎臓の重量および相対重量がともに増加した。肝臓重量の増加は、予備試験において1000 mg/kg 投与により認められている変化であり、腎臓は実測値の増加も認められていることから、BEHA 投与により惹起された変化であると考えられる。これらの器官の病理組織学検査では、腎臓には BEHA 投与に起因すると考えられる変化は認められなかったが、肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大および門脈周囲性の脂肪化の減弱が認められた。小葉中心性の肝細胞肥大は対照群との間に有意差は認められなかったが、1000 mg/kg 投与群においてのみ認められた変化であり、門脈周囲性の脂肪化の減弱は対照群との間に有意差の認められた所見であることから、いずれも BEHA 投与により惹起された変化であると考えられる。1000 mg/kg 投与群では、血液生化学検査において A/G 比の増加が

認められた。アルブミン濃度は対照群と同様のレベルであったことから、1000 mg/kg 投与群では、アルブミン以外の血漿タンパク質濃度の軽度な低下があったものと推測される。血液学検査成績には BEHA 投与の影響はいずれの投与群においても認められなかった。

雌の剖検においても、雄と同様に1000 mg/kg 投与群において肝臓および腎臓の相対重量が増加し、BEHA 投与による影響であると考えられた。また、血液生化学検査では総タンパク質濃度が低下して A/G 比が増加した。アルブミン濃度には投与の影響が認められなかったことから、雄と同様に、1000 mg/kg の反復投与によりアルブミン以外の血漿タンパク質濃度が低下したことにより増加したものと推測される。A/G 比の増加は、300 mg/kg 投与群の雌においても認められた。しかし、300 mg/kg 投与群では、1000 mg/kg 投与群とは異なり、総タンパク濃度およびアルブミン濃度がむしろ増加の傾向を示していたことから、A/G 比の増加はアルブミン濃度の上昇によるものであると判断された。さらに、300 mg/kg 投与群の雄には同様の変化が認められていないことから、300 mg/kg 投与群の雌における A/G 比の増加に BEHA 投与が関与している可能性は乏しいと考えられる。100 mg/kg 投与群におけるブドウ糖濃度の低下および300 mg/kg 投与群におけるアルカリフォスファターゼ活性の低下は、これらの投与群の雌にのみ認められた軽度な変化であることから偶発的な変化であると考えられる。

1000 mg/kg 投与群の雌では、血液生化学検査においてカルシウム濃度が僅かであるが有意に低下した。1000 mg/kg 投与群では、総タンパク質濃度が低下していたことから、血漿タンパク質に結合して循環しているカルシウム濃度が低下したことによる変化である可能性が考えられ、BEHA 投与による影響であると考えられる。これらの他に、1000 mg/kg 投与群ではクレアチニン濃度の低下も認められた。しかし、その他の検査においてクレアチニン濃度の低下を伴うような所見は認められなかったことから、クレアチニン濃度の低下は偶発的な変化であると考えられる。

1000 mg/kg 投与群の雌の白血球数が減少した。病理組織学検査では造血あるいは免疫系の組織に異常は観察されなかったこと、ならびにいずれの投与群も白血球数の変動幅が大きいことから、白血球の産生に対する障害あるいは白血球の破壊亢進によるものではないと考えられる。

雌では、分娩から剖検までの期間が短く、また、盛んに泌乳が行われている時期に剖検を行うことから、哺育児数により泌乳量が異なり、それぞれの生理的条件も異なっている。1000 mg/kg 投与群では、対照群との間に有意差はなかったが、哺育4日における生存児数が少ない例がやや多かったことから、BEHA 投与による影響より、むしろ哺育条件の違いに起因した偶発的变化である可能性が考えられる。血液学検査では活性部分トロンボプラスチン時間も短縮した。しかし、雄にはこうした変化は認められなかったこと、およびプロトロンビン時間には変化は認められなかったことから、偶発的变化であると考えられる。

2. 生殖発生毒性

平均発情回帰日数が 1000 mg/kg 投与群において軽度延長した。また、投与開始後に性周期の型が変化する例にも増加の傾向が認められ、変化した例はいずれも発情回帰日数が延長していたことから、BEHA 投与の影響が疑われる。300 mg/kg 以下の投与群については、投与開始後に性周期が変化してもその変化に一定の傾向が認められず、平均発情回帰日数にも対照群との間に有意差は認められなかったことから、BEHA 投与の影響はなかったものと考えられる。

交配成績については、各群に1～2例の不妊動物が認められたが、受胎率に BEHA 投与の影響は認められず、対照群を含む全ての動物が初回の発情で交尾した。また哺育5日に数えた妊娠黄体数にも対照群と BEHA 投与群との間で差は認められなかったことから、1000 mg/kg までの BEHA は排卵、交尾、受胎および着床に影響を及ぼさないと考えられた。

分娩状態の不良ならびにそれによると考えられる全出生児の死亡が 100 mg/kg および 300 mg/kg 投与群に、また、哺育状態の不良が 300 mg/kg 投与群および 1000 mg/kg 投与群にそれぞれ1例ずつ認められた。1000 mg/kg 投与群における例は、生存産児数が1と著しく少なく、出生児による吸乳刺激が少なかったことに起因した変化であると考えられる。妊娠期間および出産率についても対照群と BEHA 投与群との間に有意差は認められなかったことから、1000 mg/kg までの BEHA 投与は分娩および哺育に影響を及ぼさないと考えられる。

1000 mg/kg 投与群では分娩率および生児出産率が低値を示す例があった。しかし、対照群で

も分娩率の低い例があり、これらの値に対照群との間で有意差は認められていない。また、着床数の少なかった例と交尾した雄動物の生殖器官に異常は認められていない。さらに、これらの値の低下した原因が、着床数の減少によるもの、産児数の減少によるもの、あるいは生存産児数の少なかった例と、個体によって異なっていることから、分娩率および生児出産率の低下傾向は偶発的変化である可能性が高い。

出生児の生存性、体重増加にみられた発育、ならびに性比に BEHA 投与の影響は認められなかった。

出生児の形態観察では、100 mg/kg 投与群において、1 例に外表奇形が観察されたが、300 mg/kg および 1000 mg/kg 投与群では、いずれの時期の形態観察においても異常は認められなかったことから、自然発生によるもので、BEHA 投与による形態変化ではないと考えられる。

3. 無作用量

以上の試験成績から、本試験条件下では、BEHA の無作用量は、反復投与毒性に関しては、雌雄いずれにおいても 1000 mg/kg 投与群において、A/G 比の増加ならびに肝臓および腎臓重量あるいはそれらの相対重量の増加が認められたことから、雌雄ともに 300 mg/kg/day と結論される。生殖発生毒性に関しては、1000 mg/kg/day の投与により、雌において交配前における性周期の間隔が対照群と比較して延長したことから、300 mg/kg/day であると結論される。雄ならびに出生児に関しては 1000 mg/kg/day を投与しても BEHA 投与に起因した影響が認められなかったことから 1000 mg/kg/day であると結論される。

【 文 献 】

- 1) 代田 眞理子：「アゼライン酸ビス（2-エチルヘキシル）のラットを用いる急性経口投与
毒性試験」報告書
- 2) 吉村 功：毒性・薬効データの統計解析（吉村 功編）、サイエンティスト社、東京
(1977).
- 3) 丹後俊郎：医学への統計学（古川俊之 監修）、朝倉書店、東京（1985）.
- 4) 石居 進：生物統計学入門、培風館、東京（1992）.
- 5) 佐久間昭：薬効評価－計画と解析、東京大学出版会、東京（1977）.
- 6) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics,
20: 482-491 (1964).
- 7) Kruskal, W. H., Wallis, W. A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis. J.
Amer. Statist. Assoc., 47: 583-621 (1952).

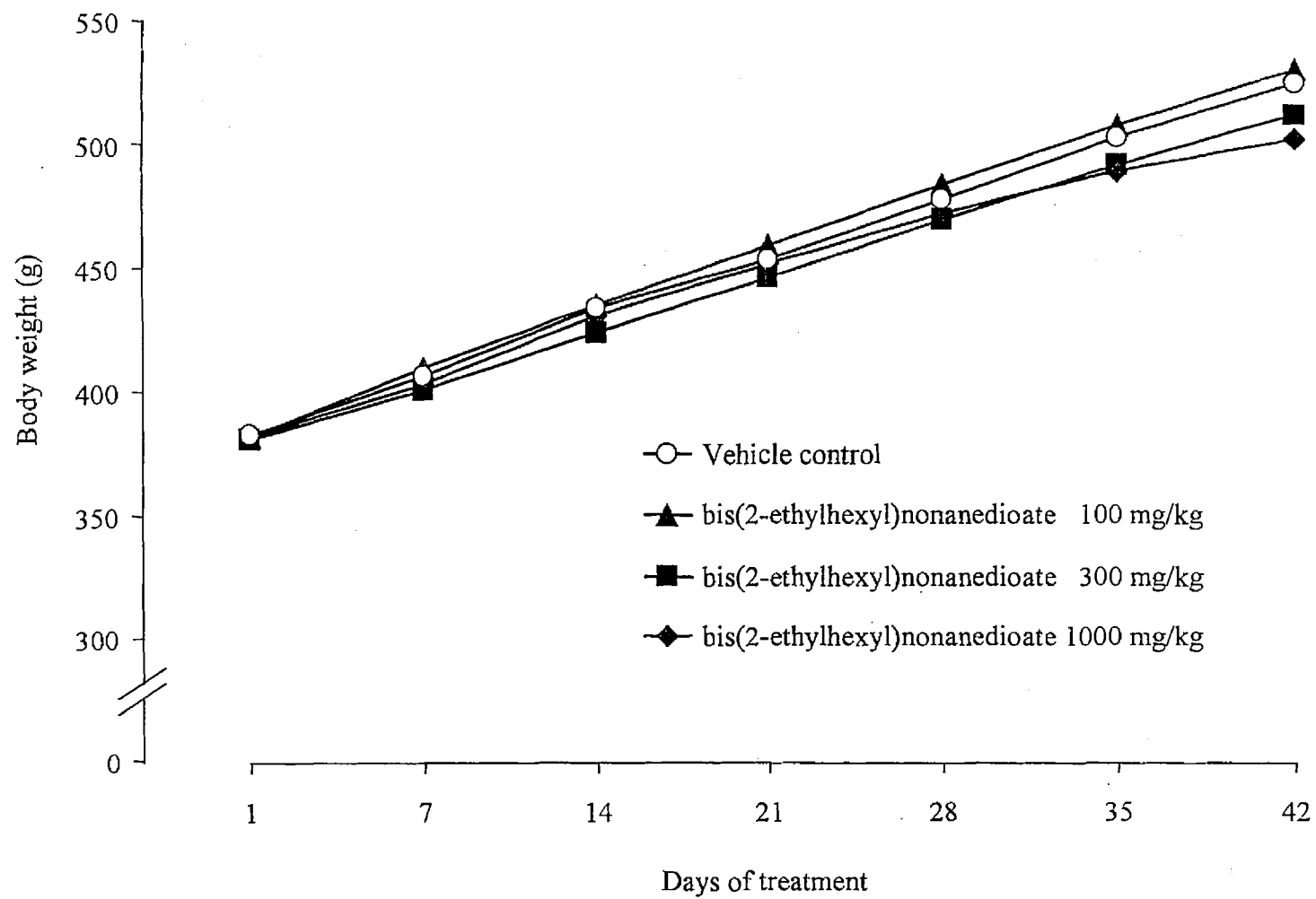


Fig.1 Body weight of males

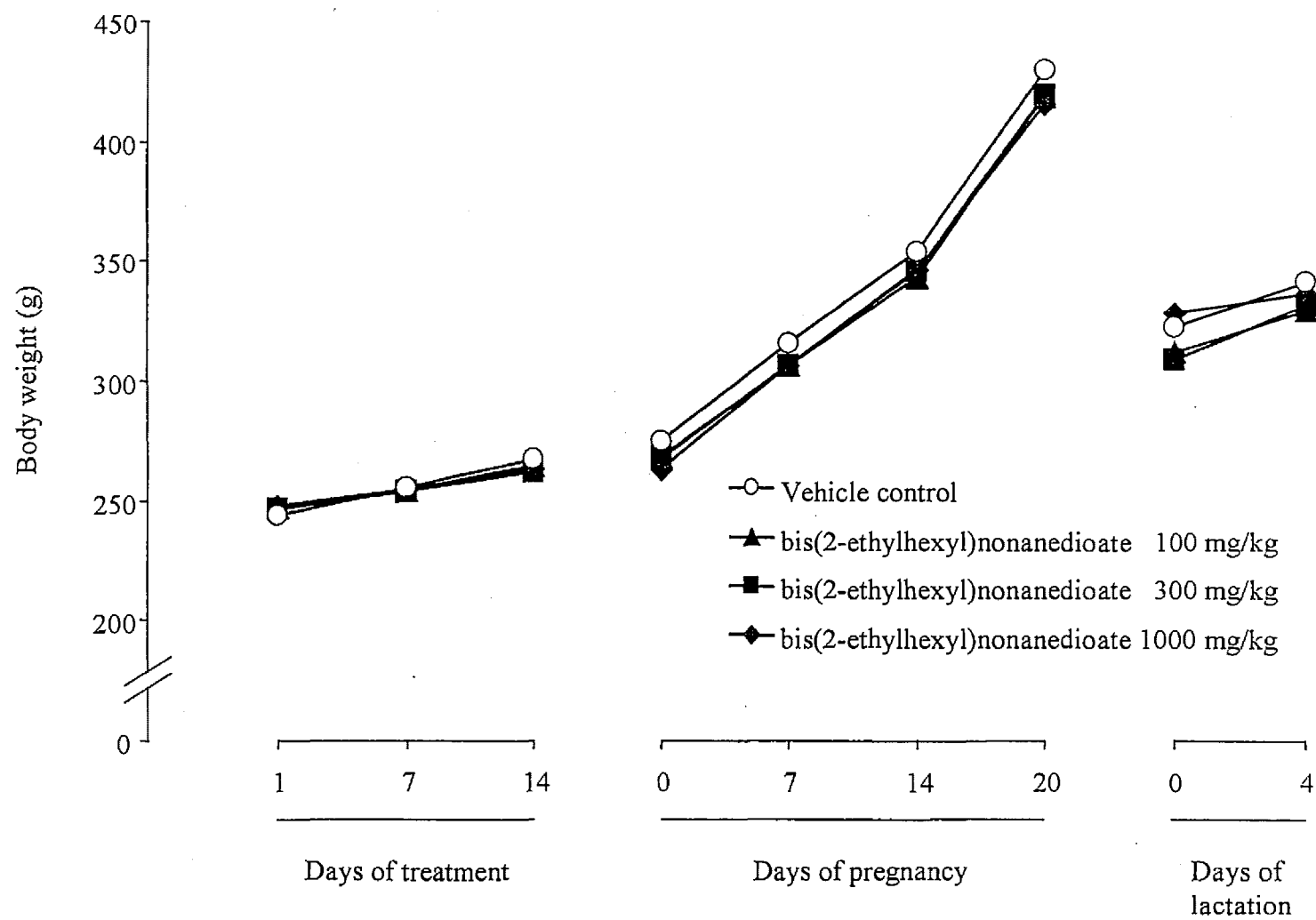


Fig.2 Body weight of females

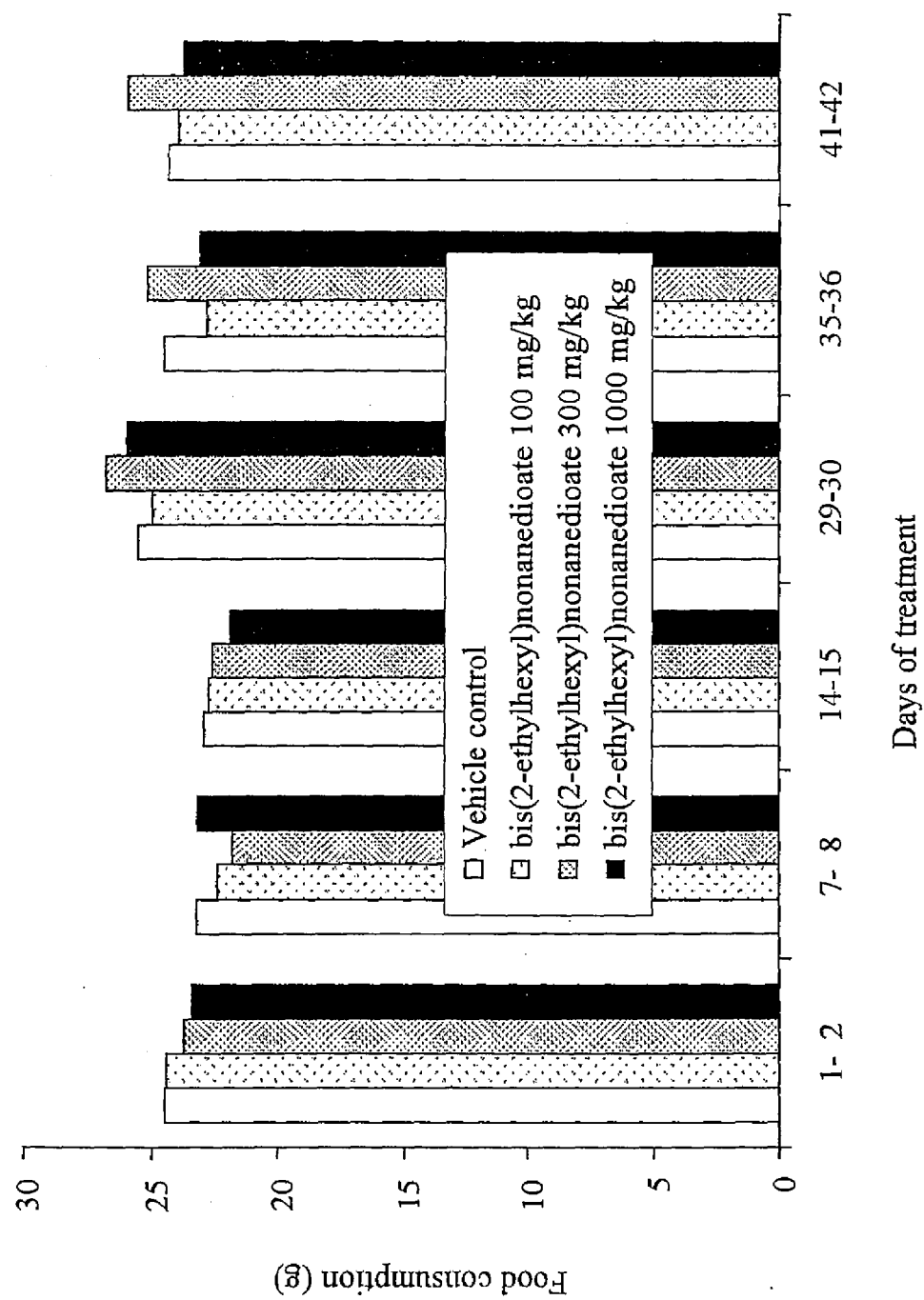


Fig.3 Food consumption of males

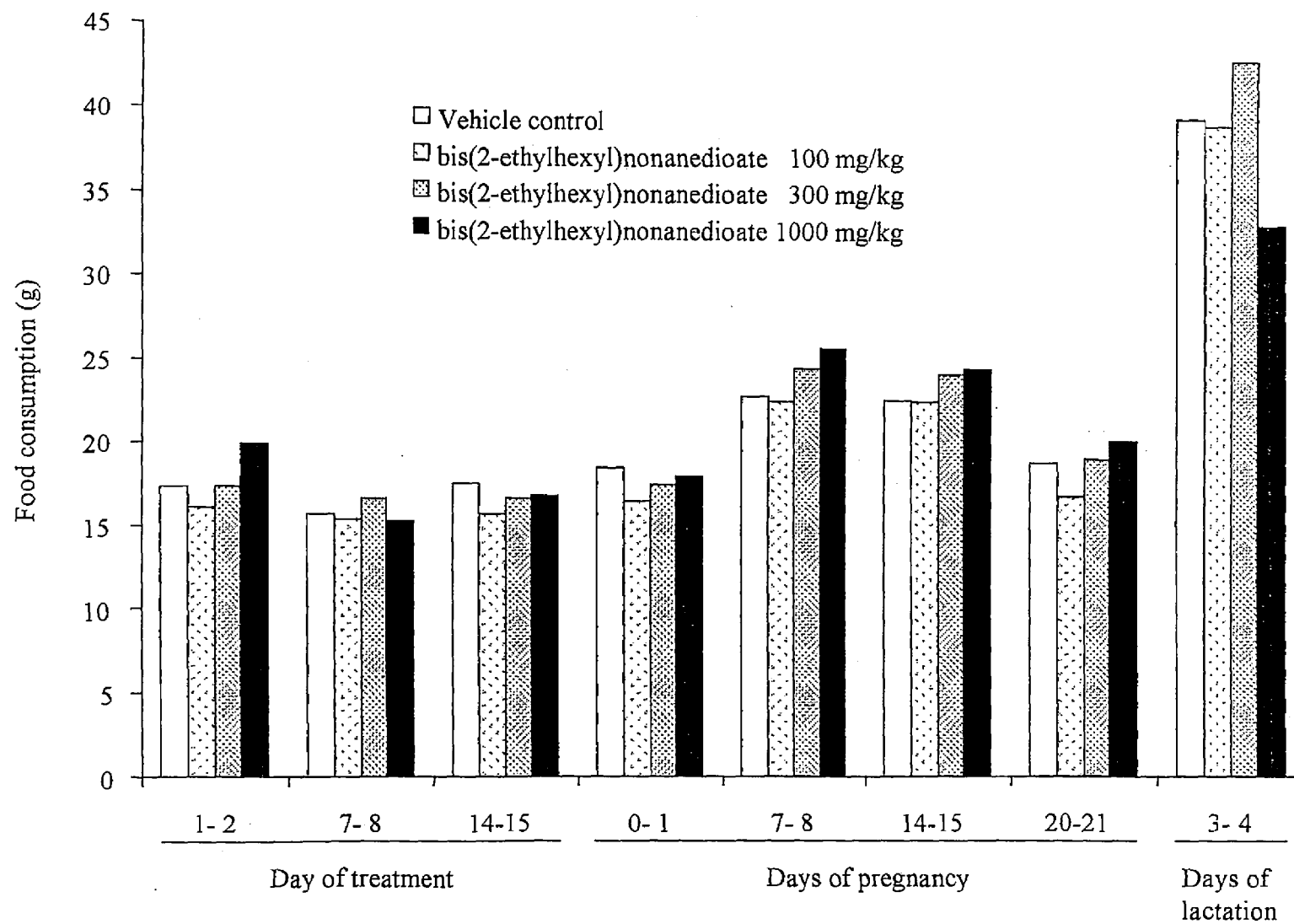


Fig.4 Food consumption of females

Table 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Summary of clinical signs of males

Clinical signs	Dose groups (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs							Total
			Days of treatment							
			1 - 7	8 - 14	15 - 21	22 - 28	29 - 35	36 - 42	43	
Loss of fur	0 ^{a)}	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	300	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	13	0	0	0	0	0	1	1	1

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Summary of clinical signs of females

Clinical signs	Dose groups (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs									Total
			Days of treatment									
			1 - 7	8 - 14	15 - 21	22 - 28	29 - 35	36 - 42	43 - 49	50 - 56	57 -	
Loss of fur	0 ^{a)}	13	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
	100	13	0	0	0	0	0	1	1	0		1
	300	13	0	0	0	0	0	0	0			0
	1000	13	1	0	0	0	0	0	0			1
Soiled fur	0 ^{a)}	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	1	1	0		1
	300	13	0	0	0	0	0	1	2			2
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0			0
Wasting	0 ^{a)}	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0	0		0
	300	13	0	0	0	0	0	1	2			2
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0			0
Mass	0 ^{a)}	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	13	0	0	0	0	0	0	0	0		0
	300	13	0	0	0	0	0	1	1			1
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0			0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 3 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical observations of males (at home cage)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose groups (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
-1	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	12
	Rearing (N)	0	0	0	1
Locomotor	Normal (N)	11	9	11	13
	Sleep (N)	2	4	2	0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
7	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Locomotor	Normal (N)	13	13	13	13
	Sleep (N)	0	0	0	0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
14	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Locomotor	Normal (N)	12	13	12	13
	Sleep (N)	1	0	1	0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
21	No. of males	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Locomotor	Normal (N)	12	12	13	12
	Sleep (N)	0	0	0	0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
28	No. of males	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Locomotor	Normal (N)	12	10	11	12
	Sleep (N)	0	2	2	0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
35	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Locomotor	Normal (N)	10	11	11	9
	Sleep (N)	3	2	2	4
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
42	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Locomotor	Normal (N)	12	10	10	10
	Sleep (N)	1	3	3	3
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 3 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical observations of males (during the handling)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
-1	No. of males	13	13	13	13
Responses to capture	(Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Responses to handling	(Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 2	0 $\pm$ 1	1 $\pm$ 2	0 $\pm$ 0
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	13	13	13	13
Skin color	Normal (N)	13	13	13	13
Lacrimation	Not observed (N)	13	13	13	13
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
7	No. of males	13	13	13	13
Responses to capture	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Responses to handling	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	13	13	13	13
Skin color	Normal (N)	13	13	13	13
Lacrimation	Not observed (N)	13	13	13	13
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
14	No. of males	13	13	13	13
Responses to capture	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Responses to handling	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	13	13	13	13
Skin color	Normal (N)	13	13	13	13
Lacrimation	Not observed (N)	13	13	13	13
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
21	No. of males	12	12	13	12
Responses to capture	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Responses to handling	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	12	12	13	12
Skin color	Normal (N)	12	12	13	12
Lacrimation	Not observed (N)	12	12	13	12
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 3 - 2 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical observations of males (during the handling)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
28	No. of males	12	12	13	12
Responses to capture	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1
Responses to handling	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	12	12	13	12
Skin color	Normal (N)	12	12	13	12
Lacrimation	Not observed (N)	12	12	13	12
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
35	No. of males	13	13	13	13
Responses to capture	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Responses to handling	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	13	13	13	13
Skin color	Normal (N)	13	13	13	13
Lacrimation	Not observed (N)	13	13	13	13
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
42	No. of males	13	13	13	13
Responses to capture	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Responses to handling	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	13	13	13	13
Skin color	Normal (N)	13	13	13	13
Lacrimation	Not observed (N)	13	13	13	13
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 3 - 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical observations of males (outside of home cage)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
-1	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
7	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
14	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
21	No. of males	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	12	12	13	12
Bizarre behavior	Not observed (N)	12	12	13	12
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 3 - 3 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical observations of males (outside of home cage)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
28	No. of males	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Exploration	(Mean ± S.D.)	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0
Grooming	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Vocalization	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	0 ± 0
Straub tail	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Gait	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Stereotypy	Not observed (N)	12	12	13	12
Bizarre behavior	Not observed (N)	12	12	13	12
Tremor	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Convulsion	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Respiratory rate	(Mean ± S.D.)	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0
Piloerection	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Palpebral opening	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
35	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean ± S.D.)	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0
Grooming	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Vocalization	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Straub tail	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Gait	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Convulsion	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Respiratory rate	(Mean ± S.D.)	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0
Piloerection	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Palpebral opening	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
42	No. of males	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean ± S.D.)	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0
Grooming	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Vocalization	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Straub tail	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Gait	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Convulsion	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Respiratory rate	(Mean ± S.D.)	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0
Piloerection	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Palpebral opening	(Mean ± S.D.)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 4 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical signs of females (at home cage)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose groups (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
-1	No. of females	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Locomotor	Normal (N)	13	11	11	12
	Sleep (N)	0	2	2	1
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
7	No. of females	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Locomotor	Normal (N)	7	7	8	8
	Sleep (N)	6	6	5	5
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
14	No. of females	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	12	13	13
	Rearing (N)	0	1	0	0
Locomotor	Normal (N)	9	7	9	7
	Sleep (N)	4	6	4	6
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
21	No. of females	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Locomotor	Normal (N)	6	5	4	4
	Sleep (N)	6	7	9	8
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
28	No. of females	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Locomotor	Normal (N)	5	8	8	2
	Sleep (N)	7	4	5	10
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
35	No. of females	8	6	8	4
Posture	Sitting or standing (N)	8	6	8	4
Locomotor	Normal (N)	4	5	5	3
	Sleep (N)	4	1	3	1
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
42	No. of females	1	1	0	0
Posture	Sitting or standing (N)	1	1		
Locomotor	Normal (N)	1	1		
	Sleep (N)	0	0		
Vocalization	(Mean)	0	0		
Tremor	(Mean)	0	0		
Convulsion	(Mean)	0	0		

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 4 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical signs of females (during the handling)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
-1	No. of females	13	13	13	13
	Responses to captu (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
	Responses to handl (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	Heart beats (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Body temperature (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Fur Normal (N)	13	13	13	13
	Skin color Normal (N)	13	13	13	13
	Lacrimation Not observed (N)	13	13	13	13
	Exophthalmos (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Pupil size (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Salivation (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
7	No. of females	13	13	13	13
	Responses to captu (Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
	Responses to handl (Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
	Heart beats (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Body temperature (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Fur Normal (N)	13	13	13	13
	Skin color Normal (N)	13	13	13	13
	Lacrimation Not observed (N)	13	13	13	13
	Exophthalmos (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Pupil size (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Salivation (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
14	No. of females	13	13	13	13
	Responses to captu (Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
	Responses to handl (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
	Heart beats (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Body temperature (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Fur Normal (N)	13	13	13	13
	Skin color Normal (N)	13	13	13	13
	Lacrimation Not observed (N)	13	13	13	13
	Exophthalmos (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Pupil size (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Salivation (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
21	No. of females	12	12	13	12
	Responses to captu (Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
	Responses to handl (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
	Heart beats (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Body temperature (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Fur Normal (N)	12	12	13	12
	Skin color Normal (N)	12	12	13	12
	Lacrimation Not observed (N)	12	12	13	12
	Exophthalmos (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Pupil size (Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
	Salivation (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 4 - 2 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Scores in detailed clinical signs of females (during the handling)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
28	No. of females	12	12	13	12
Responses to captu	(Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1
Responses to handl	(Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	12	12	13	12
Skin color	Normal (N)	12	12	13	12
Lacrimation	Not observed (N)	12	12	13	12
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
35	No. of females	8	6	8	4
Responses to captu	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Responses to handl	(Mean $\pm$ S.D.)	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Heart beats	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Body temperature	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Fur	Normal (N)	8	6	8	4
Skin color	Normal (N)	8	6	8	4
Lacrimation	Not observed (N)	8	6	8	4
Exophthalmos	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Pupil size	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Salivation	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
42	No. of females	1	1	0	0
Responses to captu	(Mean)	2	0		
Responses to handl	(Mean)	2	0		
Heart beats	(Mean)	4	4		
Body temperature	(Mean)	4	4		
Fur	Normal (N)	1	1		
Skin color	Normal (N)	1	1		
Lacrimation	Not observed (N)	1	1		
Exophthalmos	(Mean)	4	4		
Pupil size	(Mean)	4	4		
Salivation	(Mean)	0	0		

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 4 - 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Detailed clinical signs of females (outside of home cage)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
-1	No. of females	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
7	No. of females	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
14	No. of females	13	13	13	13
Posture	Sitting or standing (N)	13	13	13	13
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	13	13	13	13
Bizarre behavior	Not observed (N)	13	13	13	13
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
21	No. of females	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	12	12	13	12
Bizarre behavior	Not observed (N)	12	12	13	12
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 4 - 3 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Detailed clinical signs of females (outside of home cage)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
Dose group (mg/kg)		0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment					
28	No. of females	12	12	13	12
Posture	Sitting or standing (N)	12	12	13	12
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	12	12	13	12
Bizarre behavior	Not observed (N)	12	12	13	12
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
35	No. of females	8	6	8	4
Posture	Sitting or standing (N)	8	6	8	4
Exploration	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Grooming	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Vocalization	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Straub tail	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Gait	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Stereotypy	Not observed (N)	8	6	8	4
Bizarre behavior	Not observed (N)	8	6	8	4
Tremor	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Convulsion	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Respiratory rate	(Mean $\pm$ S.D.)	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0	4 $\pm$ 0
Piloerection	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Palpebral opening	(Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
42	No. of females	1	1	0	0
Posture	Sitting or standing (N)	1	1		
Exploration	(Mean)	4	4		
Grooming	(Mean)	0	0		
Vocalization	(Mean)	0	0		
Straub tail	(Mean)	0	0		
Gait	(Mean)	0	0		
Stereotypy	Not observed (N)	1	1		
Bizarre behavior	Not observed (N)	1	1		
Tremor	(Mean)	0	0		
Convulsion	(Mean)	0	0		
Respiratory rate	(Mean)	4	4		
Piloerection	(Mean)	0	0		
Palpebral opening	(Mean)	0	0		

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Functional findings of animals

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
	0 ^{a)}	100	300	1000
<u>Male</u>				
Preyer's reflex	100	100	100	100
Pupillary reflex	100	100	100	100
Pain response	100	100	100	100
Hind-limb withdrawal	100	100	100	100
Corneal reflex	100	100	100	100
Righting	100	100	100	100
<u>Female</u>				
Preyer's reflex	100	100	100	100
Pupillary reflex	100	100	100	100
Pain response	100	100	100	100
Hind-limb withdrawal	100	100	100	100
Corneal reflex	100	100	100	100
Righting	100	100	100	100

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Values represent % of animals (N=5) showing normal responses.

Table 6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Body weight of males (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate							
Dose groups (mg/kg)	0 ^{a)}		100		300		1000	
Days of treatment								
1 (initial body weight)	383.8 ± 17.0	(13)	383.1 ± 15.9	(13)	381.9 ± 17.5	(13)	383.0 ± 17.9	(13)
7	407.4 ± 25.3	(13)	410.4 ± 18.2	(13)	401.9 ± 23.1	(13)	404.5 ± 21.0	(13)
14	434.8 ± 31.5	(13)	436.5 ± 19.4	(13)	425.3 ± 26.0	(13)	431.8 ± 24.1	(13)
21	455.2 ± 32.5	(13)	460.6 ± 20.6	(13)	447.4 ± 29.1	(13)	453.0 ± 25.2	(13)
28	479.6 ± 36.1	(13)	485.8 ± 22.6	(13)	471.5 ± 31.8	(13)	473.8 ± 26.4	(13)
35	505.0 ± 39.3	(13)	510.3 ± 24.7	(13)	493.6 ± 31.1	(13)	491.1 ± 26.8	(13)
42	527.5 ± 44.4	(13)	532.9 ± 25.7	(13)	514.6 ± 33.3	(13)	504.2 ± 26.4	(13)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Body weight gain of males (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
	0 ^{a)}	100	300	1000
Days of treatment				
1 - 7	23.6 $\pm$ 10.1 (13)	27.3 $\pm$ 7.5 (13)	19.9 $\pm$ 11.9 (13)	21.5 $\pm$ 4.6 (13)
7 - 14	27.4 $\pm$ 7.9 (13)	26.1 $\pm$ 6.8 (13)	23.4 $\pm$ 6.1 (13)	27.3 $\pm$ 5.6 (13)
14 - 21	20.4 $\pm$ 5.9 (13)	24.1 $\pm$ 4.0 (13)	22.1 $\pm$ 6.7 (13)	21.2 $\pm$ 8.5 (13)
21 - 28	24.4 $\pm$ 8.8 (13)	25.2 $\pm$ 4.0 (13)	24.1 $\pm$ 7.9 (13)	20.8 $\pm$ 5.4 (13)
28 - 35	25.4 $\pm$ 5.3 (13)	24.5 $\pm$ 5.0 (13)	22.1 $\pm$ 4.3 (13)	17.3 $\pm$ 5.0 ** (13)
35 - 42	22.5 $\pm$ 6.2 (13)	22.7 $\pm$ 4.7 (13)	21.0 $\pm$ 5.4 (13)	13.1 $\pm$ 6.0 ** (13)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

**, Significant difference from control, $p < 0.01$ (by multiple comparisons)

Table 8

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of males (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
Dose groups (mg/kg)	0 ^{a)}			100			300			1000						
Days of treatment																
1 - 7	23.6	±	10.1	(13)	27.3	±	7.5	(13)	19.9	±	11.9	(13)	21.5	±	4.6	(13)
1 - 14	51.0	±	17.0	(13)	53.4	±	12.3	(13)	43.3	±	14.6	(13)	48.7	±	8.6	(13)
1 - 21	71.4	±	18.8	(13)	77.5	±	14.8	(13)	65.4	±	17.3	(13)	69.9	±	9.8	(13)
1 - 28	95.8	±	23.3	(13)	102.7	±	17.4	(13)	89.6	±	20.7	(13)	90.7	±	11.0	(13)
1 - 35	121.2	±	25.8	(13)	127.2	±	19.3	(13)	111.7	±	21.2	(13)	108.0	±	13.4	(13)
1 - 42	143.7	±	31.2	(13)	149.8	±	20.8	(13)	132.7	±	22.6	(13)	121.2	±	15.0 *	(13)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

*, Significant difference from control, $p < 0.05$ (by multiple comparisons)

Table 9

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Body weight of females (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
Dose groups (mg/kg)	0 ^{a)}			100			300			1000						
Days of treatment																
1	243.8	±	11.1	(13)	247.0	±	9.6	(13)	246.5	±	10.4	(13)	247.8	±	12.3	(13)
7	255.3	±	12.7	(13)	254.3	±	11.4	(13)	254.6	±	12.8	(13)	255.1	±	12.3	(13)
14	267.0	±	12.5	(13)	265.0	±	10.7	(13)	262.4	±	15.1	(13)	263.2	±	14.4	(13)
Days of pregnancy																
0	275.3	±	20.4	(12)	268.5	±	13.8	(11)	268.1	±	13.1	(11)	263.5	±	15.7	(11)
7	315.8	±	20.6	(12)	306.5	±	14.4	(11)	307.0	±	18.0	(11)	306.8	±	18.8	(11)
14	354.9	±	20.0	(12)	343.9	±	17.3	(11)	346.6	±	23.2	(11)	347.1	±	23.8	(11)
20	431.9	±	22.7	(12)	421.0	±	25.7	(11)	421.8	±	33.3	(11)	417.9	±	33.8	(11)
Days of lactation																
0	322.8	±	25.5	(12)	312.9	±	23.8	(11)	309.1	±	26.9	(11)	328.7	±	32.0	(11)
4	342.4	±	20.0	(12)	331.5	±	26.9	(10)	333.3	±	36.4	(10)	337.3	±	25.0	(11)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 10

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Body weight gain of females (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
Dose groups (mg/kg)	0 ^{a)}				100			300			1000					
Days of treatment																
1 - 7	11.5	±	7.7	(13)	7.3	±	4.6	(13)	8.1	±	4.2	(13)	7.3	±	7.3	(13)
7 - 14	11.8	±	5.8	(13)	10.7	±	5.3	(13)	7.7	±	6.8	(13)	8.1	±	12.0	(13)
Days of pregnancy																
0 - 7	40.6	±	10.6	(12)	38.0	±	6.2	(11)	38.9	±	10.6	(11)	43.4	±	7.8	(11)
7 - 14	39.1	±	7.6	(12)	37.4	±	5.8	(11)	39.6	±	7.7	(11)	40.3	±	6.8	(11)
14 - 20	77.0	±	14.2	(12)	77.1	±	13.0	(11)	75.3	±	15.6	(11)	70.8	±	19.2	(11)
Days of lactation																
0 - 4	19.6	±	19.2	(12)	14.9	±	20.6	(10)	17.8	±	30.1	(10)	8.6	±	12.7	(11)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 11

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of females (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
Dose groups (mg/kg)	0 ^{a)}				100			300			1000					
Days of treatment																
1 - 7	11.5	±	7.7	(13)	7.3	±	4.6	(13)	8.1	±	4.2	(13)	7.3	±	7.3	(13)
1 - 14	23.3	±	7.9	(13)	18.0	±	7.1	(13)	15.9	±	6.7	(13)	15.4	±	10.0	(13)
Days of pregnancy																
0 - 7	40.6	±	10.6	(12)	38.0	±	6.2	(11)	38.9	±	10.6	(11)	43.4	±	7.8	(11)
0 - 14	79.7	±	15.6	(12)	75.4	±	9.5	(11)	78.5	±	15.1	(11)	83.6	±	12.4	(11)
0 - 20	156.6	±	15.1	(12)	152.5	±	16.2	(11)	153.7	±	25.1	(11)	154.5	±	25.5	(11)
Days of lactation																
0 - 4	19.6	±	19.2	(12)	14.9	±	20.6	(10)	17.8	±	30.1	(10)	8.6	±	12.7	(11)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 12

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Food consumption of males (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate							
Dose groups (mg/kg)	0 ^{a)}		100		300		1000	
Days of treatment								
1 - 2	24.5 ± 4.0	(13)	24.4 ± 2.1	(13)	23.7 ± 2.7	(13)	23.4 ± 2.5	(13)
7 - 8	23.2 ± 2.7	(13)	22.4 ± 2.6	(13)	21.8 ± 2.4	(13)	23.2 ± 2.3	(13)
14 - 15	23.0 ± 2.5	(13)	22.8 ± 2.3	(13)	22.7 ± 2.6	(13)	21.9 ± 1.3	(13)
29 - 30	25.6 ± 3.8	(13)	25.0 ± 2.7	(13)	26.9 ± 3.0	(13)	26.1 ± 1.6	(13)
35 - 36	24.6 ± 3.4	(13)	22.9 ± 2.4	(13)	25.3 ± 3.5	(13)	23.2 ± 2.2	(13)
41 - 42	24.5 ± 3.3	(13)	24.1 ± 2.3	(13)	26.1 ± 3.0	(13)	23.9 ± 2.5	(13)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 13

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Food consumption of females (g); mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
Dose groups (mg/kg)	0 ^{a)}			100			300			1000						
Days of treatment																
1 - 2	17.3	±	2.7	(13)	16.1	±	3.4	(13)	17.3	±	2.1	(13)	19.9	±	3.6	(13)
7 - 8	15.7	±	3.2	(13)	15.4	±	2.3	(13)	16.6	±	1.6	(13)	15.3	±	4.5	(13)
14 - 15	17.5	±	3.3	(13)	15.7	±	2.4	(13)	16.6	±	2.3	(13)	16.8	±	3.4	(13)
Days of pregnancy																
0 - 1	18.4	±	2.7	(12)	16.4	±	2.8	(11)	17.4	±	3.3	(11)	17.9	±	2.5	(11)
7 - 8	22.8	±	3.2	(12)	22.4	±	4.2	(11)	24.4	±	4.0	(11)	25.6	±	3.5	(11)
14 - 15	22.5	±	2.2	(12)	22.4	±	2.4	(11)	24.1	±	3.7	(11)	24.4	±	3.7	(11)
20 - 21	18.8	±	2.5	(12)	16.8	±	4.8	(11)	19.0	±	5.4	(11)	20.1	±	4.4	(11)
Days of lactation																
3 - 4	39.5	±	8.3	(12)	39.3	±	10.0	(10)	42.8	±	13.8	(10)	33.1	±	11.4	(11)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 14

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Hematological findings in males; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
		0 ^{a)}				100				300				1000			
Dose groups (mg/kg)																	
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	846	$\pm$	21	(13)	861	$\pm$	35	(13)	851	$\pm$	56	(12)	833	$\pm$	38	(13)
Hemoglobin	(g/dL)	15.0	$\pm$	0.6	(13)	15.2	$\pm$	0.7	(13)	15.4	$\pm$	0.7	(12)	14.8	$\pm$	0.8	(13)
Hematocrit	(%)	45.0	$\pm$	1.3	(13)	46.0	$\pm$	1.9	(13)	46.1	$\pm$	2.2	(12)	44.5	$\pm$	2.4	(13)
MCV	(fL)	53.2	$\pm$	1.0	(13)	53.4	$\pm$	1.3	(13)	54.2	$\pm$	1.9	(12)	53.5	$\pm$	1.3	(13)
MCH	(pg)	17.7	$\pm$	0.5	(13)	17.7	$\pm$	0.5	(13)	18.1	$\pm$	0.8	(12)	17.7	$\pm$	0.5	(13)
MCHC	(g/dL)	33.2	$\pm$	0.5	(13)	33.1	$\pm$	0.3	(13)	33.3	$\pm$	0.6	(12)	33.1	$\pm$	0.4	(13)
WBC	($\times 100/\mu\text{L}$)	60.8	$\pm$	18.1	(13)	47.1	$\pm$	13.5	(13)	58.3	$\pm$	20.1	(13)	53.4	$\pm$	18.3	(13)
Neutrophil	(%)	19	$\pm$	6	(13)	27	$\pm$	11	(13)	21	$\pm$	7	(13)	22	$\pm$	10	(13)
Eosinophil	(%)	1	$\pm$	1	(13)	1	$\pm$	1	(13)	2	$\pm$	1	(13)	2	$\pm$	1	(13)
Basophil	(%)	0	$\pm$	0	(13)	0	$\pm$	0	(13)	0	$\pm$	0	(13)	0	$\pm$	0	(13)
Monocyte	(%)	5	$\pm$	2	(13)	4	$\pm$	2	(13)	5	$\pm$	2	(13)	6	$\pm$	2	(13)
Lymphocyte	(%)	75	$\pm$	6	(13)	68	$\pm$	12	(13)	73	$\pm$	8	(13)	71	$\pm$	10	(13)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	99.4	$\pm$	8.4	(13)	103.0	$\pm$	14.2	(13)	95.6	$\pm$	12.2	(12)	98.1	$\pm$	8.4	(13)
PT	(sec)	16.1	$\pm$	3.3	(13)	15.7	$\pm$	2.1	(13)	15.6	$\pm$	1.7	(13)	15.5	$\pm$	3.2	(13)
APTT	(sec)	21.5	$\pm$	2.3	(13)	21.8	$\pm$	2.8	(13)	21.2	$\pm$	1.6	(13)	21.3	$\pm$	1.7	(13)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 15

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Hematological findings in females; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
		0 ^{a)}				100				300				1000			
Dose groups (mg/kg)																	
RBC	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	677	$\pm$	34	(12)	660	$\pm$	46	(10)	654	$\pm$	57	(9)	692	$\pm$	34	(11)
Hemoglobin	(g/dL)	13.2	$\pm$	0.5	(12)	13.0	$\pm$	0.7	(10)	12.9	$\pm$	0.8	(9)	13.4	$\pm$	0.6	(11)
Hematocrit	(%)	39.4	$\pm$	1.6	(12)	38.7	$\pm$	2.0	(10)	38.3	$\pm$	2.4	(9)	40.4	$\pm$	1.8	(11)
MCV	(fL)	58.2	$\pm$	1.8	(12)	58.6	$\pm$	2.1	(10)	58.7	$\pm$	2.5	(9)	58.5	$\pm$	2.1	(11)
MCH	(pg)	19.5	$\pm$	0.6	(12)	19.6	$\pm$	0.7	(10)	19.8	$\pm$	0.8	(9)	19.4	$\pm$	0.8	(11)
MCHC	(g/dL)	33.5	$\pm$	0.5	(12)	33.5	$\pm$	0.2	(10)	33.7	$\pm$	0.6	(9)	33.1	$\pm$	0.3	(11)
WBC	($\times 100/\mu\text{L}$)	102.8	$\pm$	24.9	(12)	86.1	$\pm$	27.7	(10)	84.9	$\pm$	36.2	(9)	66.3	$\pm$	16.7	** (11)
Neutrophil	(%)	17	$\pm$	4	(12)	21	$\pm$	7	(10)	26	$\pm$	25	(9)	19	$\pm$	6	(11)
Eosinophil	(%)	1	$\pm$	0	(12)	1	$\pm$	1	(10)	1	$\pm$	0	(9)	1	$\pm$	1	(11)
Basophil	(%)	0	$\pm$	0	(12)	0	$\pm$	0	(10)	0	$\pm$	0	(9)	0	$\pm$	0	(11)
Monocyte	(%)	5	$\pm$	1	(12)	6	$\pm$	2	(10)	5	$\pm$	3	(9)	7	$\pm$	3	(11)
Lymphocyte	(%)	77	$\pm$	5	(12)	71	$\pm$	8	(10)	68	$\pm$	24	(9)	73	$\pm$	7	(11)
Platelet	($\times 10^4/\mu\text{L}$)	109.9	$\pm$	12.0	(12)	114.6	$\pm$	11.8	(10)	118.6	$\pm$	18.4	(9)	112.1	$\pm$	13.2	(11)
PT	(sec)	13.3	$\pm$	0.4	(12)	12.9	$\pm$	0.4	(10)	13.2	$\pm$	0.6	(10)	13.5	$\pm$	0.6	(11)
APTT	(sec)	18.8	$\pm$	1.2	(12)	18.0	$\pm$	1.1	(10)	17.8	$\pm$	1.5	(10)	17.3	$\pm$	2.8	** (11)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)**, Significant difference from control, $p < 0.01$ (by multiple comparisons)

Table 16

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Biochemical findings in males; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		bis(2-ethylhexyl)nonanedioate															
Dose groups (mg/kg)		0 ^{a)}			100			300			1000						
Total protein	(g/dL)	5.5	±	0.4	(13)	5.6	±	0.3	(13)	5.4	±	0.2	(13)	5.3	±	0.3	(13)
Albumin	(g/dL)	3.0	±	0.2	(13)	3.0	±	0.2	(13)	3.0	±	0.2	(13)	3.0	±	0.2	(13)
A/G		1.18	±	0.09	(13)	1.16	±	0.10	(13)	1.21	±	0.11	(13)	1.28	±	0.09 *	(13)
BUN	(mg/dL)	18	±	2	(13)	18	±	3	(13)	19	±	3	(13)	18	±	2	(13)
Creatinine	(mg/dL)	0.8	±	0.1	(13)	0.7	±	0.1	(13)	0.7	±	0.1	(13)	0.7	±	0.1	(13)
Glucose	(mg/dL)	153	±	18	(13)	154	±	14	(13)	150	±	11	(13)	144	±	10	(13)
Total cholesterol	(mg/dL)	42	±	5	(13)	43	±	11	(13)	45	±	11	(13)	45	±	8	(13)
Triglyceride	(mg/dL)	21	±	8	(13)	19	±	11	(13)	18	±	5	(13)	26	±	10	(13)
ALP	(U/L)	222	±	44	(13)	272	±	54	(13)	252	±	72	(13)	285	±	88	(13)
GPT	(U/L)	32	±	6	(13)	39	±	12	(13)	36	±	9	(13)	38	±	24	(13)
GOT	(U/L)	72	±	15	(13)	77	±	19	(13)	70	±	17	(13)	83	±	44	(13)
γ-GTP	(U/L)	0	±	1	(13)	0	±	1	(13)	1	±	1	(13)	0	±	1	(13)
Total bilirubin	(mg/dL)	0.09	±	0.05	(13)	0.11	±	0.04	(13)	0.09	±	0.03	(13)	0.09	±	0.04	(13)
Inorg. phos.	(mg/dL)	6.5	±	0.8	(13)	6.3	±	0.9	(13)	6.6	±	0.9	(13)	6.5	±	0.8	(13)
Ca	(mg/dL)	9.0	±	0.4	(13)	9.1	±	0.3	(13)	9.0	±	0.3	(13)	8.9	±	0.2	(13)
Na	(mEq/L)	146.3	±	0.7	(13)	145.6	±	1.1	(13)	146.2	±	1.1	(13)	145.5	±	1.3	(13)
K	(mEq/L)	4.17	±	0.25	(13)	4.25	±	0.31	(13)	4.01	±	0.21	(13)	4.13	±	0.25	(13)
Cl	(mEq/L)	108.5	±	1.8	(13)	108.5	±	1.4	(13)	109.1	±	1.1	(13)	109.1	±	1.7	(13)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)*, Significant difference from control, $p < 0.05$ (by multiple comparisons)

Table 17

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Biochemical findings in females; mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		bis(2-ethylhexyl)nonanedioate							
Dose groups (mg/kg)		0 ^{a)}		100		300		1000	
Total protein	(g/dL)	5.4 $\pm$ 0.2	(12)	5.4 $\pm$ 0.2	(10)	5.5 $\pm$ 0.3	(9)	5.1 $\pm$ 0.2	** (11)
Albumin	(g/dL)	3.0 $\pm$ 0.1	(12)	3.1 $\pm$ 0.2	(10)	3.2 $\pm$ 0.2	(9)	3.0 $\pm$ 0.2	(11)
A/G		1.26 $\pm$ 0.07	(12)	1.32 $\pm$ 0.08	(10)	1.41 $\pm$ 0.16 *	(9)	1.45 $\pm$ 0.13 **	(11)
BUN	(mg/dL)	19 $\pm$ 3	(12)	20 $\pm$ 4	(10)	18 $\pm$ 4	(9)	18 $\pm$ 3	(11)
Creatinine	(mg/dL)	0.7 $\pm$ 0.1	(12)	0.7 $\pm$ 0.0	(10)	0.8 $\pm$ 0.1	(9)	0.6 $\pm$ 0.1	** (11)
Glucose	(mg/dL)	140 $\pm$ 15	(12)	127 $\pm$ 10 *	(10)	136 $\pm$ 11	(9)	142 $\pm$ 12	(11)
Total cholesterol	(mg/dL)	53 $\pm$ 11	(12)	51 $\pm$ 10	(10)	58 $\pm$ 14	(9)	59 $\pm$ 7	(11)
Triglyceride	(mg/dL)	46 $\pm$ 24	(12)	37 $\pm$ 17	(10)	61 $\pm$ 42	(9)	49 $\pm$ 17	(11)
ALP	(U/L)	179 $\pm$ 85	(12)	199 $\pm$ 85	(10)	115 $\pm$ 30 *	(9)	140 $\pm$ 34	(11)
GPT	(U/L)	40 $\pm$ 8	(12)	37 $\pm$ 3	(10)	44 $\pm$ 10	(9)	34 $\pm$ 11	(11)
GOT	(U/L)	68 $\pm$ 21	(12)	65 $\pm$ 7	(10)	66 $\pm$ 21	(9)	56 $\pm$ 11	(11)
γ -GTP	(U/L)	1 $\pm$ 1	(12)	1 $\pm$ 1	(10)	2 $\pm$ 0	(9)	1 $\pm$ 1	(11)
Total bilirubin	(mg/dL)	0.10 $\pm$ 0.05	(12)	0.08 $\pm$ 0.03	(10)	0.10 $\pm$ 0.04	(9)	0.10 $\pm$ 0.03	(11)
Inorg. phos.	(mg/dL)	7.2 $\pm$ 0.7	(12)	7.7 $\pm$ 1.2	(10)	7.4 $\pm$ 1.1	(9)	6.8 $\pm$ 0.7	(11)
Ca	(mg/dL)	9.8 $\pm$ 0.2	(12)	9.9 $\pm$ 0.3	(10)	9.8 $\pm$ 0.4	(9)	9.4 $\pm$ 0.3 **	(11)
Na	(mEq/L)	144.4 $\pm$ 1.0	(12)	144.5 $\pm$ 1.1	(10)	143.5 $\pm$ 1.5	(9)	143.5 $\pm$ 1.2	(11)
K	(mEq/L)	4.28 $\pm$ 0.39	(12)	3.95 $\pm$ 0.31	(10)	4.34 $\pm$ 0.49	(9)	4.16 $\pm$ 0.41	(11)
Cl	(mEq/L)	106.2 $\pm$ 1.2	(12)	107.6 $\pm$ 1.6	(10)	107.1 $\pm$ 1.9	(9)	107.8 $\pm$ 1.3	(11)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)*, Significant difference from control, $p < 0.05$ (by multiple comparisons)**, Significant difference from control, $p < 0.01$ (by multiple comparisons)

Table 18

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Absolute and relative organ weight in males, Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate							
Dose groups (mg/kg)		0 ^{a)}		100		300		1000	
Final body weight (g)		496.4 $\pm$ 42.5	(13)	503.1 $\pm$ 26.0	(13)	482.0 $\pm$ 34.2	(13)	473.7 $\pm$ 25.3	(13)
Brain (g)		2.02 $\pm$ 0.04	^{b)} (13)	2.04 $\pm$ 0.10	(13)	2.02 $\pm$ 0.07	(13)	1.97 $\pm$ 0.11	(13)
		0.41 $\pm$ 0.04	^{c)} (13)	0.41 $\pm$ 0.02	(13)	0.42 $\pm$ 0.03	(13)	0.41 $\pm$ 0.02	(13)
Heart (g)		1.39 $\pm$ 0.14	(13)	1.41 $\pm$ 0.09	(13)	1.35 $\pm$ 0.13	(13)	1.32 $\pm$ 0.13	(13)
		0.28 $\pm$ 0.02	(13)	0.28 $\pm$ 0.02	(13)	0.28 $\pm$ 0.02	(13)	0.28 $\pm$ 0.02	(13)
Thymus (mg)		319.5 $\pm$ 51.2	(13)	305.8 $\pm$ 66.6	(13)	318.6 $\pm$ 57.5	(13)	324.2 $\pm$ 73.7	(13)
		64.7 $\pm$ 11.3	(13)	60.7 $\pm$ 12.8	(13)	66.3 $\pm$ 12.4	(13)	68.7 $\pm$ 16.4	(13)
Liver (g)		14.22 $\pm$ 1.61	(13)	15.07 $\pm$ 1.66	(13)	14.19 $\pm$ 1.14	(13)	15.48 $\pm$ 1.34	(13)
		2.86 $\pm$ 0.16	(13)	2.99 $\pm$ 0.26	(13)	2.95 $\pm$ 0.17	(13)	3.27 $\pm$ 0.21	** (13)
Kidneys (g)		3.23 $\pm$ 0.29	(13)	3.23 $\pm$ 0.30	(13)	3.31 $\pm$ 0.22	(13)	3.64 $\pm$ 0.29	** (13)
		0.65 $\pm$ 0.06	(13)	0.64 $\pm$ 0.07	(13)	0.69 $\pm$ 0.04	(13)	0.77 $\pm$ 0.06	** (13)
Spleen (g)		0.79 $\pm$ 0.11	(13)	0.80 $\pm$ 0.09	(13)	0.75 $\pm$ 0.11	(13)	0.79 $\pm$ 0.11	(13)
		0.16 $\pm$ 0.02	(13)	0.16 $\pm$ 0.02	(13)	0.16 $\pm$ 0.02	(13)	0.17 $\pm$ 0.02	(13)
Adrenal glands (mg)		58.1 $\pm$ 6.6	(13)	57.5 $\pm$ 6.4	(13)	60.6 $\pm$ 10.0	(13)	53.3 $\pm$ 3.6	(13)
		11.7 $\pm$ 1.3	(13)	11.4 $\pm$ 1.2	(13)	12.5 $\pm$ 1.9	(13)	11.3 $\pm$ 1.0	(13)
Testes (g)		3.29 $\pm$ 0.16	(13)	3.27 $\pm$ 0.16	(13)	3.23 $\pm$ 0.22	(13)	3.29 $\pm$ 0.22	(13)
		0.67 $\pm$ 0.06	(13)	0.65 $\pm$ 0.04	(13)	0.67 $\pm$ 0.05	(13)	0.69 $\pm$ 0.06	(13)
Epididymides (g)		1.29 $\pm$ 0.08	(13)	1.31 $\pm$ 0.10	(13)	1.27 $\pm$ 0.08	(13)	1.27 $\pm$ 0.08	(13)
		0.26 $\pm$ 0.03	(13)	0.26 $\pm$ 0.02	(13)	0.26 $\pm$ 0.02	(13)	0.27 $\pm$ 0.02	(13)

^{a)} vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

**, Significant difference from control, p<0.01 (by multiple comparisons)

^{b)} absolute weight^{c)} relative weight (g or mg per 100g body weight)

Table 19

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Absolute and relative organ weight in females, Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound		Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate							
Dose groups (mg/kg)		0 ^{a)}		100		300		1000	
Final body weight	(g)	319.5 $\pm$ 17.1	(12)	305.4 $\pm$ 16.4	(10)	309.6 $\pm$ 29.3	(10)	314.6 $\pm$ 22.1	(11)
Brain	(g)	1.89 $\pm$ 0.05	^{b)} (12)	1.89 $\pm$ 0.06	(10)	1.86 $\pm$ 0.08	(10)	1.87 $\pm$ 0.08	(11)
		0.59 $\pm$ 0.04	^{c)} (12)	0.62 $\pm$ 0.04	(10)	0.60 $\pm$ 0.05	(10)	0.60 $\pm$ 0.04	(11)
Heart	(g)	1.00 $\pm$ 0.11	(12)	0.95 $\pm$ 0.09	(10)	0.99 $\pm$ 0.08	(10)	0.92 $\pm$ 0.08	(11)
		0.31 $\pm$ 0.03	(12)	0.31 $\pm$ 0.02	(10)	0.32 $\pm$ 0.04	(10)	0.29 $\pm$ 0.02	(11)
Thymus	(mg)	202.7 $\pm$ 48.5	(12)	183.9 $\pm$ 56.0	(10)	187.2 $\pm$ 78.5	(10)	223.8 $\pm$ 63.7	(11)
		63.1 $\pm$ 13.4	(12)	59.8 $\pm$ 16.2	(10)	59.4 $\pm$ 24.4	(10)	70.9 $\pm$ 18.5	(11)
Liver	(g)	11.27 $\pm$ 1.22	(12)	10.71 $\pm$ 0.70	(10)	11.50 $\pm$ 1.69	(10)	12.34 $\pm$ 1.28	(11)
		3.53 $\pm$ 0.31	(12)	3.51 $\pm$ 0.22	(10)	3.70 $\pm$ 0.27	(10)	3.92 $\pm$ 0.24	** (11)
Kidneys	(g)	2.09 $\pm$ 0.18	(12)	1.99 $\pm$ 0.21	(10)	2.20 $\pm$ 0.19	(10)	2.28 $\pm$ 0.22	(11)
		0.65 $\pm$ 0.06	(12)	0.66 $\pm$ 0.07	(10)	0.72 $\pm$ 0.12	(10)	0.72 $\pm$ 0.04	* (11)
Spleen	(g)	0.68 $\pm$ 0.12	(12)	0.67 $\pm$ 0.16	(10)	0.65 $\pm$ 0.20	(10)	0.71 $\pm$ 0.17	(11)
		0.21 $\pm$ 0.04	(12)	0.22 $\pm$ 0.05	(10)	0.21 $\pm$ 0.06	(10)	0.23 $\pm$ 0.05	(11)
Adrenal glands	(mg)	76.2 $\pm$ 13.6	(12)	69.3 $\pm$ 7.1	(10)	82.0 $\pm$ 15.0	(10)	67.0 $\pm$ 6.7	(11)
		23.9 $\pm$ 4.4	(12)	22.7 $\pm$ 2.1	(10)	27.0 $\pm$ 7.8	(10)	21.3 $\pm$ 1.8	(11)

^{a)} vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)^{b)} absolute weight^{c)} relative weight (g or mg per 100g body weight)**, Significant difference from control, $p < 0.01$ (by multiple comparisons)*, Significant difference from control, $p < 0.05$ (by multiple comparisons)

Table 20

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Macroscopic findings in males at the end of dosing period

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate											
	0 a)			100			300			1000		
	[N]	-	+	[N]	-	+	[N]	-	+	[N]	-	+
Liver	[13]			[13]			[13]			[13]		
Dark		13	0		13	0		13	0		3	10
Pale		13	0		12	1		13	0		13	0
Enlargement		13	0		13	0		13	0		12	1
Skin	[13]			[13]			[13]			[13]		
Alopecia, forelimb, both		13	0		13	0		13	0		12	1

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

-: Negative

+: Positive

Table 21

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Macroscopic findings in females at the end of dosing period

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate											
	0 a)			100			300			1000		
	[N]	-	+	[N]	-	+	[N]	-	+	[N]	-	+
Kidney	[13]			[13]			[13]			[13]		
Yellowish / Yellowish brown		13	0		13	0		11	2		13	0
Rough surface		13	0		13	0		12	1		13	0
Dilatation, renal pelvis, right side		12	1		13	0		13	0		13	0
Adrenal gland	[13]			[13]			[13]			[13]		
Enlargement		13	0		13	0		11	2		13	0
Thymus	[13]			[13]			[13]			[13]		
Small		13	0		12	1		10	3		13	0
Spleen	[13]			[13]			[13]			[13]		
Enlargement		13	0		13	0		12	1		13	0
Small		13	0		13	0		11	2		13	0
Uterus	[13]			[13]			[13]			[13]		
Dilatation, lumen		13	0		12	1		13	0		13	0
Subcutaneous tissue of axilla	[13]			[13]			[13]			[13]		
Mass, with crust on skin		13	0		13	0		12	1		13	0
Skin	[13]			[13]			[13]			[13]		
Soil, brown, perineal region / perinasal area		13	0		13	0		11	2		13	0

-, Negative; +, Positive

[], number of animals examined.

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 22

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Histopathological findings in males

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate																											
	0 a)						100						300						1000									
	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.
Testis	[13]							[13]							[13]							[13]						
Atrophy, focal, seminiferous tubule		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	1	0	0	0	0		12	0	1	0	0	1
Hyperplasia, diffuse, Leydig cell		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	1	0	0	0	1
Epididymis	[13]							[13]							[13]							[13]						
Increase, cell debris, lumen		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	0	1	0	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium		12	1	0	0	0	1		11	2	0	0	0	2		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0
Liver	[5]							[5]							[5]							[12]						
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		7	5	0	0	0	5
Fatty change, periportal		0	2	3	0	0	5		0	2	2	1	0	5		0	5	0	0	0	0		7	5	0	0	0	5 #
Microgranuloma		3	2	0	0	0	2		4	1	0	0	0	1		5	0	0	0	0	0		5	6	1	0	0	7
Necrosis, focal, subcapsule		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		11	1	0	0	0	1
Kidney	[5]							[5]							[5]							[5]						
Eosinophilic body, cortex		2	2	1	0	0	3		4	1	0	0	0	1		3	0	2	0	0	0		1	1	2	1	0	4
Basophilic tubule, cortex		3	2	0	0	0	2		3	2	0	0	0	2		3	2	0	0	0	0		3	1	1	0	0	2
Cyst, with fibrosis, cortex		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		4	1	0	0	0	1
Fibrosis, focal, subcapsule		5	0	0	0	0	0		4	1	0	0	0	1		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0
Cyst, focal, cortico-medullary junction		5	0	0	0	0	0		4	0	1	0	0	1		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0
Brain	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Spinal cord	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Pituitary gland	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Heart	[5]							[0]							[0]							[5]						
Degeneration/fibrosis, focal, myocardium		2	3	0	0	0	3																3	2	0	0	0	2

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., total number of positive grade.

[], number of animals examined.

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

**, significantly different from control $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney U test)#, significantly different from control $p < 0.05$ (One-tailed Fisher exact test)

Table 22 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Histopathological findings in males

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate																											
	0 a)						100						300						1000									
	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.
Lung & bronchus	[5]							[0]							[0]							[5]						
Mineralization, artery wall, lung		3	2	0	0	0	2																3	2	0	0	0	2
Metaplasia, osseous, focal, alveolus		5	0	0	0	0	0																4	1	0	0	0	1
Trachea	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Thyroid gland	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Thymus	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Submandibular lymph node	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Spleen	[5]							[0]							[0]							[5]						
Hematopoiesis, extramedullary		0	2	2	1	0	5																0	4	1	0	0	5
Deposit, pigment, brown		0	2	3	0	0	5																0	3	2	0	0	5
Stomach	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Duodenum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Jejunum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Ileum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., total number of positive grade.

[], number of animals examined.

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 22 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Histopathological findings in males

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate																											
	0 a)							100							300							1000						
	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.	[N]	-	±	+	++	+++	Pos.
Cecum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Colon	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Rectum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Mesenteric lymph node	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Adrenal gland	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Sciatic nerve	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Urinary bladder	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Prostate; ventral lobe	[5]							[0]							[0]							[5]						
Cellular infiltration, lymphocyte & neutrophil, epithelium/interstitium			1	1	2	1	0																1	2	1	1	0	4
Seminal vesicle & coagulating gland	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Bone marrow of femur	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Skin	[0]							[0]							[0]							[1]						
Attachment, crust																							0	1	0	0	0	1

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., total number of positive grade.

[], number of animals examined.

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 23

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Histopathological findings in females

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate																											
	0 a)						100						300						1000									
	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.
Ovary	[13]							[13]							[13]							[13]						
Cyst, follicular		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	1	0	0	0	1
Liver	[5]							[5]							[5]							[5]						
Fatty change, periportal		4	1	0	0	0	1		3	2	0	0	0	2		4	1	0	0	0	1		4	1	0	0	1	
Vacuolation, hepatocyte, diffuse		5	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		4	0	1	0	0	1		5	0	0	0	0	
Microgranuloma		4	1	0	0	0	1		3	2	0	0	0	2		2	3	0	0	0	3		1	4	0	0	4	
Hematopoiesis, extramedullary		3	2	0	0	0	2		4	1	0	0	0	1		4	1	0	0	0	1		3	2	0	0	2	
Kidney	[6]							[5]							[6]							[5]						
Basophilic tubule, cortex		5	1	0	0	0	1		4	1	0	0	0	1		5	0	0	1	0	1		4	1	0	0	1	
Necrosis, epithelium, proximal tubule, cortex		6	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		4	0	2	0	0	2		5	0	0	0	0	
Vacuolation, epithelium, proximal tubule, cortex		5	1	0	0	0	1		3	1	1	0	0	2		4	0	0	2	0	2		5	0	0	0	0	
Cell debris, lumen, distal tubule, cortex		6	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		4	2	0	0	0	2		5	0	0	0	0	
Cast, hemoglobinogeneous, cortex		6	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0		4	0	2	0	0	2		5	0	0	0	0	
Dilatation, renal peribis, right side		5	0	0	1	0	1		5	0	0	0	0	0		6	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	
Brain	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Spinal cord	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Pituitary gland	[5]							[0]							[0]							[5]						
Dilation, Rathke's cleft		4	0	1	0	0	1																5	0	0	0	0	
Heart	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Lung & bronchus	[5]							[0]							[0]							[5]						
Mineralization, artery wall, lung		4	1	0	0	0	1																5	0	0	0	0	
Metaplasia, osseous, focal, alveolus		4	1	0	0	0	1																5	0	0	0	0	
Accumulation, foam cell, focal, alveolus		3	2	0	0	0	2																2	3	0	0	3	

-, Negative; +/-, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., total number of positive grade.

[], number of animals examined.

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 23 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Histopathological findings in females

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate																											
	0 a)						100						300						1000									
	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.
Trachea	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Thyroid gland	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Thymus	[5]							[1]							[3]							[5]						
Atrophy		5	0	0	0	0	0		0	0	1	0	0	1		1	0	0	1	1	2		5	0	0	0	0	0
Ultimobranchial rest		5	0	0	0	0	0		1	0	0	0	0	0		3	0	0	0	0	0		4	0	1	0	0	1
Submandibular lymph node	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Spleen	[5]							[0]							[3]							[5]						
Hematopoiesis, extramedullary		0	1	2	2	0	5									0	3	0	0	0	3		0	1	1	3	0	5
Deposit, pigment, brown		0	0	3	2	0	5									0	0	1	2	0	3		0	0	3	2	0	5
Increase, hematopoiesis, extramedullary, granulocyte		5	0	0	0	0	0									2	0	0	1	0	1		5	0	0	0	0	0
Decrease, area, white pulp		5	0	0	0	0	0									1	0	2	0	0	2		5	0	0	0	0	0
Decrease, area, red pulp		5	0	0	0	0	0									1	0	0	2	0	2		5	0	0	0	0	0
Stomach	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Duodenum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Jejunum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Ileum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Cecum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Colon	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Rectum	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., total number of positive grade.

[], number of animals examined.

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 23 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Histopathological findings in females

Compound Groups (mg/kg) Grade	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate																											
	0 a)						100						300						1000									
	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.	[N]	-	+/-	+	++	+++	Pos.
Mesenteric lymph node	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Adrenal gland	[5]							[0]							[2]							[5]						
Increase, vacuole, diffuse, cortical cell			5	0	0	0	0									0	0	0	1	1	2		5	0	0	0	0	0
Sciatic nerve	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Urinary bladder	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Uterus	[5]							[1]							[0]							[5]						
Dilatation, lumen			5	0	0	0	0		0	0	0	1	0	1									5	0	0	0	0	0
Cellular infiltration, neutrophil, epithelium			5	0	0	0	0		0	0	0	1	0	1									5	0	0	0	0	0
Cellular infiltration, neutrophil, endometrial stroma			5	0	0	0	0		0	0	1	0	0	1									5	0	0	0	0	0
Vagina	[5]							[0]							[0]							[5]						
Mucification, epithelium			5	0	0	0	0																4	0	1	0	0	1
Cellular infiltration, neutrophil, epithelium			0	3	2	0	0	5															0	4	1	0	0	5
Bone marrow of femur	[5]							[0]							[0]							[5]						
No remarkable change																												
Subcutaneous tissue of axilla	[0]							[0]							[1]							[0]						
Adenocarcinoma, mammary gland															tumor = 1													
Cellular infiltration, neutrophil & macrophage																0	0	0	1	0	1							
Crust, on skin																0	0	0	1	0	1							

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., total number of positive grade.

[], number of animals examined.

a), Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 24

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Summary of estrous cycles

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
	0 ^{a)}	100	300	1000
Dose groups (mg/kg)				
Number of females examined	13	13	13	13
<u>Pre-treatment period</u>				
Number of animals showing each type of cycle				
4-day cycle	10	10	10	10
4- and 5-day cycle	0	2	2	0
5-day cycle	3	0	1	3
irregular	0	1	0	0
Mean length of estrous cycle in days; mean $\pm$ S.D	4.2 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.4
<u>Treatment period</u>				
Number of animals showing each type of cycle				
4-day cycle	9	6	8	4
4- and 5-day cycle	1	4	3	2
5-day cycle	2	2	2	6
irregular	1	1	0	1
Mean length of estrous cycle in days; mean $\pm$ S.D	4.1 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.4	4.3 $\pm$ 0.4	4.6 $\pm$ 0.5 *
Frequency of animals of which type of cycle was changed after the treatment	3 / 13	5 / 13	5 / 13	8 / 13
Mean times of vaginal estrus during mating period; mean $\pm$ S.D. (N)	1.0 $\pm$ 0.0 (13)	1.0 $\pm$ 0.0 (13)	1.0 $\pm$ 0.0 (13)	1.0 $\pm$ 0.0 (12)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)* Significant difference from control, $p < 0.05$ (by multiple comparisons)

Table 25

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Reproductive performance of animals

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
	0 ^{a)}	100	300	1000
Dose groups (mg/kg)				
Number of pairs examined	13	13	13	13
Number of pairs copulated	13	13	13	13
Copulation index	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of pregnant females	12	11	11	12
Fertility index	92.3	84.6	84.6	92.3
Pairing days until copulation				
Mean ± S.D.	3.4 ± 3.3	3.0 ± 3.5	2.5 ± 1.1	1.8 ± 1.2

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Copulation index = (number of pairs copulated / number of pairs examined) × 100, %

Fertility index = (number of pregnant females / number of pairs copulated) × 100, %

Table 26

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Development of pups up to day 4 of lactation; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
	0 ^{a)}	100	300	1000
Dose groups (mg/kg)				
Number of pregnant females	12	11	11	11
Number of pregnant females with live newborns	12	11	11	11
Gestation index	100	100	100	100
Gestation length in days	22.6 $\pm$ 0.5 (12)	22.4 $\pm$ 0.5 (11)	22.7 $\pm$ 0.5 (11)	22.9 $\pm$ 0.3 (11)
Number of corpora lutea	16.2 $\pm$ 1.3 (12)	16.4 $\pm$ 1.7 (11)	16.6 $\pm$ 1.9 (11)	17.4 $\pm$ 2.9 (11)
Number of implantation sites	15.5 $\pm$ 1.2 (12)	15.8 $\pm$ 1.7 (11)	16.1 $\pm$ 1.7 (11)	14.9 $\pm$ 4.0 (11)
Implantation index	96.0 $\pm$ 5.2 (12)	96.8 $\pm$ 5.7 (11)	96.9 $\pm$ 4.0 (11)	85.7 $\pm$ 21.0 (11)
Day 0 of lactation				
Number of newborns	13.8 $\pm$ 2.0 (12)	14.9 $\pm$ 2.7 (11)	14.5 $\pm$ 1.9 (11)	12.3 $\pm$ 5.1 (11)
Delivery index	89.3 $\pm$ 11.2 (12)	93.6 $\pm$ 8.4 (11)	89.8 $\pm$ 6.2 (11)	78.3 $\pm$ 24.4 (11)
Number of live newborns	13.6 $\pm$ 2.2 (12)	13.6 $\pm$ 4.1 (11)	13.5 $\pm$ 2.4 (11)	9.9 $\pm$ 5.3 (11)
Birth index	87.7 $\pm$ 12.7 (12)	86.0 $\pm$ 22.1 (11)	83.8 $\pm$ 9.5 (11)	65.1 $\pm$ 29.6 (11)
Live birth index	98.1 $\pm$ 4.8 (12)	92.4 $\pm$ 23.0 (11)	93.5 $\pm$ 10.6 (11)	84.1 $\pm$ 28.0 (11)
Sex ratio on day 0	54.1 $\pm$ 11.5 (12)	47.0 $\pm$ 12.0 (11)	45.9 $\pm$ 17.6 (11)	48.5 $\pm$ 24.5 (11)
Day 4 of lactation				
Number of live pups	13.1 $\pm$ 3.1 (12)	14.2 $\pm$ 2.7 (10)	13.7 $\pm$ 1.9 (10)	9.6 $\pm$ 5.2 (11)
Viability index	95.6 $\pm$ 13.1 (12)	97.7 $\pm$ 7.4 (10)	98.1 $\pm$ 5.9 (10)	97.8 $\pm$ 3.8 (11)
Sex ratio on day 4	53.5 $\pm$ 11.3 (12)	44.1 $\pm$ 8.0 (10)	47.3 $\pm$ 17.9 (10)	48.8 $\pm$ 24.5 (11)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)Gestation index = (number of pregnant females with live newborns / number of pregnant females) $\times$ 100, %Implantation index = (number of implantations / number of corpora lutea) $\times$ 100, %Delivery index = (number of newborns / number of implantations) $\times$ 100, %Birth index = (number of live newborns / number of implantations) $\times$ 100, %Live birth index = (number of live newborns / number of newborns) $\times$ 100, %Sex ratio on day 0 = (number of male live newborns / number of live newborns) $\times$ 100, %Viability index = (number of live pups on day 4 of lactation / number of live newborns) $\times$ 100, %Sex ratio on day 4 = (number of male live pups on day 4 of lactation / number of live pups on day 4 of lactation) $\times$ 100, %

Table 27

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Body weight of pups up to day 4 of lactation; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate							
Dose groups (mg/kg)	0 a)		100		300		1000	
Day 0 of lactation								
Number of live pups								
Male	7.3 ± 1.5	(12)	6.2 ± 2.0	(11)	6.3 ± 2.8	(11)	5.3 ± 2.6	(10)
Female	6.3 ± 2.1	(12)	7.5 ± 2.7	(11)	7.3 ± 2.7	(11)	5.6 ± 2.5	(10)
Weight of pups (g)								
Male	7.2 ± 0.5	(12)	6.9 ± 0.8	(11)	7.2 ± 0.9	(11)	6.8 ± 0.7	(10)
Female	6.7 ± 0.7	(12)	6.5 ± 0.8	(11)	6.8 ± 0.9	(11)	6.5 ± 0.8	(10)
Day 4 of lactation								
Number of live pups								
Male	6.9 ± 1.9	(12)	6.3 ± 1.7	(10)	6.5 ± 2.7	(10)	5.2 ± 2.6	(10)
Female	6.2 ± 2.3	(12)	7.9 ± 1.7	(10)	7.2 ± 2.7	(10)	5.4 ± 2.5	(10)
Weight of pups (g)								
Male	11.6 ± 1.0	(12)	11.0 ± 2.3	(10)	11.7 ± 2.5	(10)	10.9 ± 2.4	(10)
Female	10.9 ± 1.5	(12)	10.5 ± 2.2	(10)	11.3 ± 2.4	(10)	11.0 ± 0.7	(10)

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5 mL/kg)

Table 28

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of bis(2-ethylhexyl)nonanedioate by oral administration in rats

Morphological observation of pups

Compound	Bis(2-ethylhexyl)nonanedioate			
	0 ^{a)}	100	300	1000
Dead pups				
Number of dead pups examined	4	16	17	21
External observation	4	16	17	21
Visceral observation	2	16	17	19
No. of dead pups with external changes	0	0	0	0
No. of dead pups with visceral changes	0	0	0	0
Live pups				
At birth (Day 0)				
Number of newborns examined	163	150	149	109
Number of newborns with external changes	0	1	0	0
Types and number				
Malrotated limb, inward rotation	0	1 ^{b)}	0	0
At necropsy (Day 4 of lactation)				
Number of pups examined	157	142	137	106
Number of pups with external changes	0	0	0	0
Number of pups with visceral changes	0	0	0	0

^{a)} Vehicle control (corn oil, 5mL/kg)^{b)} Male pups unbr FB02008 (dam no.)