

最終報告書

N-エチルアニリンのラットを用いた経口投与による
28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 93-053)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目次

要約	1
試験目的	2
試験材料及び方法	
1. 被験物質及び対照物質	2
2. 供試動物	2
3. 飼育条件	2
4. 試験群の構成及び投与量の設定	3
5. 被験物質の調製及び投与方法	3
6. 観察及び検査項目	
1) 一般状態観察	3
2) 体重及び摂餌量測定	4
3) 尿検査	4
4) 血液学的検査	5
5) 血液生化学的検査	6
6) 病理学的検査	
(1) 剖検及び臓器重量測	7
(2) 組織学的検査	7
7. 統計処理	8
試験結果	
1. 一般状態及び死亡	8
2. 体重	8
3. 摂餌量	8
4. 尿所見	9
5. 血液学的所見	9
6. 血液生化学的所見	9
7. 病理学的所見	
1) 剖検所見	10
2) 臓器重量	10

3) 組織学的所見	1 0
(1)投与期間終了後屠殺動物	1 0
(2)回復期間終了後屠殺動物	1 1
考察及び結論	1 1
参考文献	1 2
添付資料	

A. 図・群別平均値表

Figures	1, 2	体重
Tables	1, 2	一般状態及び死亡
Tables	3, 4	体重
Tables	5, 6	摂餌量
Tables	7 ~ 10	尿所見
Tables	11 ~ 14	血液学的所見
Tables	15 ~ 18	血液生化学的所見
Tables	19 ~ 22	剖検所見
Tables	23 ~ 26	臓器重量
Tables	27 ~ 30	組織学的所見

要約

既存化学物質安全性点検の一環として、N-エチルアニリンの毒性を評価するため、SD系〔Crj:CD(SD)〕ラットに本物質の0（溶媒対照、雌雄各12匹）、1（各6匹）、5（各6匹）、25（各6匹）及び125（各12匹）mg/kg/日用量を28日間にわたって経口投与した。対照及び125 mg/kg群の雌雄各6匹については、14日間の回復試験を行うための回復群に当てた。

1 mg/kg群においては、N-エチルアニリン投与の影響は認められなかった。5 mg/kg群では赤血球数の減少が雌雄に、血色素量及びヘマトクリット値の減少並びに脾臓におけるヘモジデリン沈着及び赤芽球系髄外造血巣の増加が雌に、プロトロンビン時間の短縮が雄に認められた。25mg/kg群では、5 mg/kg群で認められた変化が雌雄に認められたほか、メトヘモグロビン及び網状赤血球数の増加、赤血球内ハイנטツ小体出現、脾臓におけるうっ血や濾胞縁帯リンパ球減少、骨髓における赤芽球系造血亢進が雌雄に、血清カリウム量及び脾臓重量の増加が雄に、肝臓におけるヘモジデリン沈着の増加が雌に認められた。125mg/kg群では、赤血球は大型となりヘマトクリット値の減少程度は軽減したものの、その他の変化はより高度となり、ラットは毎日の投与後チアノーゼを呈し、また眼球褐色化、全身蒼白、尿の褐色化、肝臓、腎臓、脾臓のヘモジデリン沈着による黒色化、脾臓の腫大、肝臓における赤芽球系髄外造血巣の増加、血清総ビリルビン及びカリウム量の増加が雌雄に、血小板数、血清グロブリン及びナトリウム量の減少、アルブミン量の増加、体重増加抑制並びに摂餌量の減少が雄に認められた。

このような125 mg/kg群で認められた変化は、14日間の回復期間により、いずれも回復あるいは回復傾向を示し、可逆的な変化であることが確認された。

以上の結果から、N-エチルアニリンの主な毒性は、血液、特に赤血球に対する影響であり、メトヘモグロビン血症並びにそれに伴う溶血性貧血が発現することが明らかとなった。また、無影響量（NOEL）については、1 mg/kg/日であると推定された。

試験目的

N-エチルアニリン（CAS No. 103-69-5）は、分子量121.18の淡黄色～淡褐色液体で、有機合成原料、アゾ染料、トリフェニルメタン染料などの重要な中間物として使用されている化学物質である。本物質の毒性については、メトヘモグロビン形成を起こすアニリンの毒性と類似すると推察されるが、これについて検討した報告は認められない。

この試験は、厚生省の既存化学物質安全性点検事業の一環として実施したものであり、N-エチルアニリンをラットに28日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、本物質の毒性を明らかにするために実施した。

試験材料および方法

1. 被験物質（資料1、2）および対照物質

N-エチルアニリンは、から提供されたもの（ロット番号 純度99.6%）を用いた。N-エチルアニリンの詳細は、資料1に示したとおりである。投与終了後、に委託して試験に用いたN-エチルアニリンを分析し、投与期間中安定であったことを確認した（資料2）。

対照物質は、N-エチルアニリンを投与形態に調製するための溶媒として使用した局方ゴマ油[宮澤薬品株式会社製、製造番号A113]を用いた。

2. 供試動物

4週齢のSD系[Crj:CD(SD)]SPFラットを日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市下古沢795番地）から導入（雌雄各52匹）し、12-13日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各42匹を、5週齢で試験に供した。投与開始時の平均体重（体重範囲）は、雄171(160-181)g、雌146(139-156)gであった。

3. 飼育条件（資料3-5）

動物の飼育は、馴化、投与および回復期間とも、温度 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 10\%$ （温度・湿度の測定結果：資料3）、換気回数10回以上/時（オールフレッシュエアー方式）、照明12時間（午前6時点灯、午後6時消灯）に設定したバリアーシステム動物室で、ステンレス製金網ケージ〔276W×426D×200H（mm）〕に1匹ずつ収容して行った。飼料（日本農産工業株式会社製、固型飼料ラボMRストック、ロット番号 93.07.71及び93.09.51、汚染物質の分析結果：資料4）と水（1μmカートリッジフィルター濾過後紫外線照射した殺菌水道水、汚染物質の分析結果：資料5）は、それぞれ給餌器及び自動給水装置により自由摂取

させた。動物の個体識別は、ラック及びケージへの標識札貼付と耳パンチ法により行った。

なお、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化は認められなかった。

4. 試験群の構成及び投与量の設定（資料6）

投与量は、14日間反復投与による用量設定試験の結果（資料6）に基づいて、28日間の反復投与により明らかな毒性影響の発現が予想された125mg/kg/日用量を高用量、毒性影響の発現が認められないことが予想された1 mg/kg/日を低用量とし、これらの用量の間に25及び5mg/kg/日の中用量を設けた。

試験群の構成は、(1)溶媒投与群（以下、対照群）、(2)N-エチルアニリン 1 mg/kg/日投与群（1 mg/kg群）、(3)同 5 mg/kg/日投与群（5 mg/kg群）(4)同 25 mg/kg/日投与群（25 mg/kg群）、(5)同 125 mg/kg/日投与群（125 mg/kg群）の5群とした。

各群の動物数は、雌雄それぞれ対照及び125 mg/kg群は12匹、1、5及び25 mg/kg群は6匹とし、このうち対照及び125 mg/kg群の雌雄各6匹は投与期間終了後14日間の回復試験を行うための回復群に当てた。各群への動物の割り付けは、投与開始日の体重に基づく層化無作為抽出法を用いて行った。

5. 被験物質の調製及び投与方法（資料7）

N-エチルアニリンは、ゴマ油を溶媒とし、体重1 kg当たりの投与液量が3 mlで、所定の投与用量になるような濃度[1 mg/kg群：0.033w/v%、5 mg/kg群：0.17w/v%、25 mg/kg群：0.83w/v%、125 mg/kg群：4.2w/v%]の溶液として調製し、投与直前まで冷所遮光（4℃）下に保管した。投与は、胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、1日1回（午前中）、28日間にわたって強制的に経口投与した。各個体の投与液量は、投与直前の測定体重に基づいて算出した。

なお、投与液中のN-エチルアニリンは均一に分散し、また冷所遮光下（4℃）で少なくとも7日間は安定であることが確認されているので、投与液の使用期間は6日以内とし、5回にわたって調製した。また、1回目と5回目に調製した投与液については濃度を分析し、所定の濃度に調製されていることを確認した（資料7）。投与液の分析は、財団法人 食品農医薬品安全性評価センター（静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜582-2）に委託して実施した。

6. 観察及び検査

観察期間は投与期間の28日間とそれに続く回復期間の14日間とし、次の観察及び検査を実施した。

1) 一般状態観察

毎日、生死及び外観・行動などを観察した。

2) 体重及び摂餌量測定

体重については、投与期間中は毎日投与直前に、回復期間中は週1回測定した。摂餌量については、毎週1回、1日(24時間)の飼料消費量を測定した。測定は、電子上皿天秤(メトラー社製、PL3000)を用いて行った。

3) 尿検査

投与24日(雄)及び25日(雌)、並びに投与終了後10日(雄)及び11日(雌)に腰背部を刺激して強制排尿させ、外観の観察、並びにpH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビン及びウロビリノーゲン(以上、試験紙法:マイルス・三共株式会社製、マルティスティックス®)を検査した。

4) 血液学的検査

供試血液の採取は、投与期間及び回復期間終了翌日における屠殺剖検時に行った。動物は採血前日の午後5時より除餌し、水のみを給与した。採血は、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より行ない、以下の項目について検査した。なお、採取した血液は3分割し、その一部は3.8%クエン酸ナトリウム液で凝固阻止処理して血漿を得、プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間測定用に、一部は、EDTA-2K処理してその他の血液検査に供した。メトヘモグロビン濃度は、van Kampen-Zijlstraによる Evelyn-Malloy法の変法¹⁾により測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
①赤血球数 (RBC)	電気抵抗検出方式	多項目自動血球計数装置 [E-4000: 東亜医用電子(株)]
②血色素量 (Hb)	ラウリル硫酸ナトリウム-ヘモグロビン法	
③ヘマトクリット値 (Ht)	パルス検出方式	
④平均赤血球容積 (MCV)	計算値	
⑤平均赤血球血色素量 (MCH)	計算値	
⑥平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	計算値	
⑦白血球数 (WBC)	電気抵抗検出方式	
⑧血小板数 (Plat.)	電気抵抗検出方式	
⑨網状赤血球数 (Ret.)	Brilliant cresyl blue染色した塗抹標本の鏡検	
⑩白血球百分率	May-Grünwald-Giemsa	血液凝固自動測定装置 (KC-10A: 米アメルング社)
好塩基球 (Baso.)	染色した塗抹標本の鏡検	
好酸球 (Eosin.)		
好中球 (Neutro.)		
桿状核 (Stab.)		
分節核 (Seg.)		
リンパ球 (Lymph.)		
単球 (Mono.)		
⑪メトヘモグロビン濃度 (Met-Hb)	Evelyn-Malloy 変法	
⑫ハインツ小体保有赤血球数 (Hein-B)	Neutral red-brilliant green染色した塗抹標本の鏡検	
⑬プロトロンビン時間 (PT)	Quick一段法	
⑭活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	エラジン酸活性化法	

5) 血液生化学的検査

採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
① 総タンパク (T.P.)	Biuret法	生化学自動分析 装置 [JCA-VX- 1000型クリナ ライザー : 日本 電子(株)]
② アルブミン (Alb.)	BCG法	
③ A/G比 (A/G)	計算値	
④ 血糖 (Glu.)	酵素法 (GK ¹⁾ -G6PDH ²⁾ -UV系)	
⑤ トリグリセライド (T.G.)	酵素法 (LPL ³⁾ -GPO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
⑥ 総コレステロール (T-Cho.)	酵素法 (CES ⁶⁾ -COD ⁷⁾ -POD系)	
⑦ 総ビリルビン (T-Bil.)	Jendrassik法	
⑧ 尿素窒素 (BUN)	Urease-UV法	
⑨ クレアチニン (Crea.)	Jaffe法	
⑩ GOT (GOT)	SSCC ⁸⁾ 法	
⑪ GPT (GPT)	SSCC法	
⑫ γ -GTP (γ -GTP)	SSCC法	
⑬ ALP (ALP)	GSCC ⁹⁾ 法	
⑭ カルシウム (Ca)	OCPC法	
⑮ 無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹⁰⁾ -XOD ¹¹⁾ -POD系)	
⑯ ナトリウム (Na)	イオン電極法	電解質自動分析 装置 [NAKL-1 : 東亜電波工業(株)]
⑰ カリウム (K)	イオン電極法	
⑱ 塩素 (Cl)	イオン電極法	

1) グルコキナーゼ、2) グルコース6リン酸脱水素酵素、3) リボプロテインリパーゼ、4) グリセロリン酸酸化酵素、5) ペルオキシダーゼ、6) コレステロールエステラーゼ、7) コレステロールオキシダーゼ、8) スカンジナビア臨床化学会、9) ドイツ臨床化学会、10) プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ、11) キサンチンオキシダーゼ

6) 病理学的検査

(1) 剖検及び臓器重量測定

採血後に放血屠殺し、剖検を行った。また、電子上皿天秤（メトラー社製、AT200）を用いて、脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣又は卵巣を秤量（絶対重量）し、屠殺日の体重を基に対体重比（相対重量）を算出した。

(2) 組織学的検査

次の臓器を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液にて固定保存した。

脳、下垂体、眼球、ハート腺、甲状腺(上皮小体を含む)、唾液腺、胸腺、気管、肺(気管支を含む)、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、膵臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、膣、大動脈(胸部)、脊髄(頸膨大部、腰膨大部)、座骨神経、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部リンパ節、腸間膜リンパ節)、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚(腹部)、乳腺(腹部)及び肉眼的異常部位

組織学的検査は、次の臓器について常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色を施して鏡検した。組織標本の作製は、株式会社 組織科学研究所(東京都青梅市黒沢二丁目984-1)に委託して実施した。

群	投与期間終了後屠殺動物	回復期間終了後屠殺動物
対照群	雌雄：心臓・肝臓・腎臓 脾臓・副腎・骨髓 雄：精巣	雌雄：肝臓・腎臓・脾臓 骨髓
1.5及び25 mg/kg群	雌雄：肝臓・腎臓・脾臓 骨髓	
125 mg/kg群	雌雄：心臓・肝臓・脾臓 腎臓・副腎・骨髓 雄：精巣	雌雄：肝臓・腎臓・脾臓 骨髓

7. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との間の有意差（危険率5%以下）を次の方法で検定した。すなわち、3群以上の場合、定量的所見についてはBartlettの分散検定を行い、分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行った。分散が一樣でない場合、白血球百分率及び尿所見はKruskal-Wallisの順位検定を行った。それらの結果有意差を認めた場合、Dunnett法により対照群に対する各群の比較検定を行った。また、剖検及び病理組織学的所見については χ^2 検定を用いた。一方、2群の場合、定量的所見についてはF検定を行い、その結果分散が一樣な場合はStudentのt検定を、一樣でない場合はAspin-Welchのt検定を行った。また、白血球百分率及び尿所見についてはMann-WhitneyのU検定を、剖検及び病理組織学的所見についてはFisherの直接確率法を用いた。

試験結果

1. 一般状態(Tables 1, 2, Appendices 1, 2)及び死亡

対照群並びに、1、5及び25 mg/kg群では異常は認められなかった。高用量の125 mg/kg群では、雌雄の全例とも毎日の投与後約15分より皮膚、口唇はチアノーゼ、眼球は褐色となり、チアノーゼは翌日の投与前には消失していたが眼球的褐色はわずかに残存していた。また、投与開始4日頃より投与前の観察で全身蒼白、投与3-4週では著明な眼球退色を伴っていた。これらの変化のうち、眼球的褐色は投与期間終了後2日、全身蒼白はほとんどの例で4-5日には消失した。さらに、肩、腹、後頭部などに痂皮が形成されその部が脱毛する例が、投与期間中においては雌の2匹に、回復期間中においては雄の2匹に認められ、また雌の1匹には脱毛のみが認められた。

2. 体重(Figures 1, 2, Tables 3, 4, Appendices 3, 4)

投与期間において、125 mg/kg群の体重は、雌雄とも増加抑制の傾向がみられ、雄では投与7、27及び28日の体重が対照群に比べ有意差が認められた。回復期間においては、雄は対照群とほぼ平行して推移したものの対照群と比べ有意差は認められなくなり、雌では対照群の体重に近づく傾向が認められた。

3. 摂餌量(Tables 5, 6, Appendices 5, 6)

投与期間において、125 mg/kg群の雄の摂餌量は対照群に比べてやや少ない傾向にあり、投与1週における値は対照群と比べて有意差が認められた。しかし、回復期間においては対照群と差はなく、むしろやや上回る傾向にあった。

4. 尿所見(Tables 7-10, Appendices 7-10)

投与期間終了前の検査において、125mg/kg群の雌雄に、尿が褐色化する傾向が認められた。回復期間終了前の検査では、異常は認められなかった。

5. 血液学的所見(Tables 11-14, Appendices 11-14)

投与期間終了後屠殺動物において、いずれも統計学的に有意な赤血球数の減少が5 mg/kg以上の群の雌雄に、血色素量の減少が25 mg/kg以上の群の雄と5 mg/kg以上の群の雌に、ヘマトクリット値の減少が25 mg/kg群の雄と5mg/kg以上の群の雌に認められた。また、網状赤血球数及びメトヘモグロビン含有率の増加が25 mg/kg以上の群の雌雄に、ハインツ小体保有赤血球数の増加が125 mg/kg群の雌雄に認められた。さらに、統計学的有意差はみられなかったものの血色素量及びヘマトクリット値の減少傾向が5 mg/kg群の雄に、ハインツ小体保有赤血球の出現は25 mg/kg群の雌雄にも認められ、125 mg/kg群の雌雄の赤血球は、塗抹標本の観察で明らかに大球性となり、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量は高値を、平均赤血球血色素濃度は低値を示した。これらの5 mg/kg以上の群の雌雄における用量依存的な溶血性貧血所見に加えて、いずれも有意なプロトロンビン時間の短縮が5 mg/kg以上の群の雄と25 mg/kg以上の群の雌に、血小板数の減少が125 mg/kg群の雄に認められた。

回復期間終了後屠殺動物の125 mg/kg群においては、雌雄とも減少した赤血球数は対照群の値に近づいて、統計学的有意差は認められなくなり、血色素量及びヘマトクリット値は逆に有意に増加した。したがって、平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量は高値を示した。また、メトヘモグロビン含有率も雌で有意な増加が認められたものの変化は軽減し、雌雄とも明らかな回復傾向を示した。さらに、投与期間終了後屠殺動物で認められたその他の変化も回復していた。なお、血小板数の有意な減少は、投与期間終了後屠殺動物では雄のみに認められたが、回復期間終了後屠殺動物では雌雄に認められた。

6. 血液生化学的所見(Tables 15-18, Appendices 15-18)

投与期間終了後屠殺動物において、いずれも統計学的に有意な総ビリルビン量とカリウム量の増加が125mg/kg群の雌雄に認められた。カリウム量の有意な増加は25 mg/kg群の雄でも認められたほか、いずれも有意なナトリウム量の減少並びにアルブミン量の増加及びA/G比の上昇が125 mg/kg群の雄で認められた。このA/G比の上昇は、総タンパク量からみて、アルブミン量の増加に加えてグロブリン量の減少を示すものであった。また、統計学的有意差は認められなかったがアルブミンの増加とA/G比の上昇傾向は125mg/kg群の雌にも認められた。

回復期間終了後屠殺動物の125 mg/kg群においては、投与期間終了後屠殺動物で認められた変化はいずれも認められなかった。ただし、これらの変化とは別に、総コレステロールとカルシウム量の有意な減少が雄に認められた。しかし、いずれも軽度な変化であった。

7. 病理学的所見

1) 剖検所見(Tables 19-22, Appendices 19-22)

投与期間終了後屠殺動物において、25mg/kg以上の群の雌雄で脾臓の腫大、黒色化が認められ、125mg/kg群の雌雄では、肝臓及び腎臓も黒味を帯びて黒褐色となり、特に125mg/kg群における脾臓の黒色化及び腫大は顕著な変化であった。

回復期間終了後屠殺動物の125 mg/kg群では、肝臓の色調変化は認められず、腎臓及び脾臓の色調変化や脾臓の腫大も、発現率の減少傾向や変化の程度の軽減傾向が認められた。

なお、用量依存性傾向のみられない変化として、投与期間終了後屠殺動物と回復期間終了後屠殺動物の各1匹の肺に赤色点が認められた。

2) 臓器重量(Tables 23-26, Appendices 23-30)

投与期間終了後屠殺動物において、脾臓の絶対及び相対重量に共通した有意な増加が25 mg/kg以上の群の雄と125 mg/kg群の雌に認められた。

回復期間終了後屠殺動物の125mg/kg群においても、雌雄に脾臓の絶対及び相対重量に共通した有意な増加が認められたが、変化の程度は投与期間終了後屠殺動物に比べて小さく、回復傾向が認められた。

3) 組織学的所見(Tables 27-30, Photos 1-16, Appendices 19-22)

(1) 投与期間終了後屠殺動物

対照群及び125 mg/kg群については、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎並びに血液学的所見で造血系の異常が考えられたので骨髓について検査した。さらに、125 mg/kg群の精巣重量が統計学的有意差は認められなかったものの他の群に比べてわずかに大きい傾向にあり、確認のため雄は精巣も検査した。その結果、N-エチルアニリン投与と関連する変化が、肝臓、腎臓、脾臓及び骨髓に認められたので、これらの臓器については、1、5及び25 mg/kg群についても検査した。得られた結果は、次のとおりである。

a. 肝臓：クッパー細胞への褐色色素の沈着が、25 mg/kg以上の群の雌と125 mg/kg群の雄に認められた。この褐色色素は、ベルリンブルー染色陽性で、ヘモジデリンと同定された。また、主に赤芽球系の髄外造血巣が125mg/kg群の雌雄に認められた。

b. 腎臓：近位尿細管上皮における褐色色素沈着が、125mg/kg群の雌雄に認められた。この褐色色素は、大部分がベルリンブルー染色陽性、一部シモール反応陽性で、主にヘモジデリン及び一部はリポフスチンと同定された。

c. 脾臓：赤脾髄において、いずれも生理的に認められる網内系細胞への褐色色素沈着と髄外造血巣、特に赤芽球系造血細胞の増加が5mg/kg以上の群の雌と25 mg/kg以上の群の雄に認められた。褐色色素はベルリンブルー染色陽性で、ヘモジデリンと同定された。さらに、25 mg/kg以上の群の雌雄では、濾胞縁帯のリンパ球が減少し、赤脾髄にはうっ血が認められた。

- d. 骨髓：赤芽球系造血細胞の増加が、25 mg/kg以上の群の雌雄に認められた。
- e. 心臓・副腎・精巣（雄）：N－エチルアニリン投与との関連性が考えられる変化は認められなかった。

（２）回復期間終了後屠殺動物

投与期間終了後屠殺動物で変化の認められた肝臓、腎臓、脾臓及び骨髓を検査した。

- a. 肝臓：クッパー細胞のヘモジデリン沈着が125 mg/kg群の雌雄に認められたが、いずれも軽度な変化で、投与期間終了後屠殺動物における変化と比べて明らかに軽減していた。また、髄外造血巣は認められず、回復していた。
- b. 腎臓：近位尿細管上皮の褐色色素沈着は125 mg/kg群の雌雄に認められたが、投与期間終了後屠殺動物に比べて変化の程度は軽度なものであった。
- c. 脾臓：網内系細胞へのヘモジデリン沈着の増加及びリンパ濾胞縁帯のリンパ球減少は認められたものの、投与期間終了後屠殺動物に比べて軽減する傾向にあり、またうっ血や髄外造血等の増加は認められなかった。
- d. 骨髓：著変は認められず、回復していた。

なお、以上の所見以外にも、投与期間終了後屠殺動物及び回復期間終了後屠殺動物に変化は認められたが、散発的で変化傾向に用量依存性は認められず、いずれも偶発所見と判断される変化であった。

考察及び結論

N－エチルアニリンの反復投与毒性を、ラットへの0、1、5、25及び125mg/kg/日用量、28日間経口投与により検討した結果、認められた変化は主に血液、特に赤血球に対する影響であった。

ラットは、毎日の投与後にチアノーゼを呈し、血液学的検査で高濃度のメトヘモグロビンが検出され、N－エチルアニリンはアニリン色素と同様¹⁾にメトヘモグロビン血症を惹起することが確認された。また、ラットの眼は褐色を呈したが、これは黒褐色のメトヘモグロビンによる色調変化と考えられた。

赤血球中にはハインツ小体が形成され、血色素の異化過程における異常がうかがわれるとともに、赤血球数、血色素量及びヘマトクリット値は著減し、ラットは蒼白となるなど、高度の貧血所見が認められた。

赤血球数及び血色素量の変化は用量依存的であったが、ヘマトクリット値の変化は高用量の125mg/kg群でむしろ軽減し、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量は高値を、平均赤血球血色素濃度は低値を示し、大球性貧血の像を呈した。

脾臓、肝臓および腎臓へのヘモジデリン沈着の増加並びに血清総ビリルビンおよびカリウム量の増加は、赤血球の破壊亢進を示唆する所見と解せられた。また、骨髓、脾臓および肝臓における赤芽球系の造血亢進所見並びに末梢血中の網状赤血球数の増加は、貧血に対する代償性の反応と考えられ、これらはいずれも異常ヘモグロビン産生による溶血に随伴する変化と判断される。さらに、脾臓重量の増加は溶血に伴う

赤脾髄のうっ血や髄外造血巣の増加によるものと考えられ、125mg/kg群の雄のみに認められた血小板数の減少も脾腫による脾臓の機能亢進の影響が軽度に見れたものと推察される。

これらの赤血球に対する影響およびそれとの関連性が考えられる所見は、アニリンやニトロベンゼンなどの酸化物質投与により認められる変化^{2,3,4)}と類似したもので、N-エチルアニリンは、アニリンと同様にその代謝物が血色素のヘムを構成する還元型の2価鉄イオンを酸化して3価鉄イオンとし、メトヘモグロビンを形成させ、溶血性貧血を惹起する⁵⁾ものと推察される。

プロトロンビン時間の短縮、血清アルブミン量の増加とグロブリン量の減少によるA/G比の上昇や脾臓の濾胞縁帯リンパ球減少は、毒性がN-エチルアニリンと類似する3-メトキシベンゼナミンのラットへの投与においても認められている⁶⁾が、メトヘモグロビン血症や溶血性貧血の発現との関連性については不明である。

以上の変化は、3mg/kgあるいはそれ以上の用量で発現し、1mg/kg群では特に変化は認められなかった。また、発現した変化は回復期間により回復あるいは回復傾向を示し、可逆的であることが確認された。

なお、125mg/kg群で精巣重量が対照群に比べてわずかに高値を示したこと、並びにN-エチルアニリンと同様にメトヘモグロビン血症を起こすニトロベンゼンには精巣毒性が知られていることから、精巣についても組織学的検査を実施したが、異常は認められなかった。また、回復期間終了後屠殺動物においては、投与期間終了後屠殺動物では認められなかった血清総コレステロールおよびカルシウム量の減少が認められたが、いずれも軽度な変化であった。さらに、血色素量およびヘマトクリット値は逆に対照群に比べて増加していたが、これは貧血の回復期におけるリバウンド現象と解せられる。また、125mg/kg群において、投与期間中あるいは回復期間中に掻き傷と思われる痂皮の形成をとまなう軽度外傷が散発的に認められた。この変化は、痒みを示唆するものとも推察されるが、発現率は雌雄併せて投与期間中は2/24匹、回復期間中は3/12匹と低いもので、直ちにN-エチルアニリン投与と関連付けるのは困難であった。

以上の結果から、N-エチルアニリンのラット28日間反復投与における無影響量(NoEL)は、1mg/kgと推定された。

参考文献

- 1) van Kampen EJ, Zijlstra WG, *Adv. Clin. Chem.*, 8, 141 (1965)
- 2) J.H. Harrison, D.J. Jollow, *Mol. Pharmacol.*, 32, 423 (1987)
- 3) V. Facchini, L.A. Griffiths, *Biochem. Pharmacol.*, 30, 931 (1981)
- 4) 宮地隆興, 日本臨床, 37, 3942 (1979)
- 5) 谷本義文, "毒性試験講座6-毒性生化学<下>", 佐藤哲男, 上野芳夫, 遠藤仁編, 地人書館, 1988, P520
- 6) "化学物質毒性試験報告", 1, 263 (1994)

N－エチルアニリンのラットを用いた経口投与による
28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 93-053)

最終報告書 添付資料 A
(図・群別平均値表)

平成 6 年 5 月 30 日

財団法人 畜産生物科学安全研究所

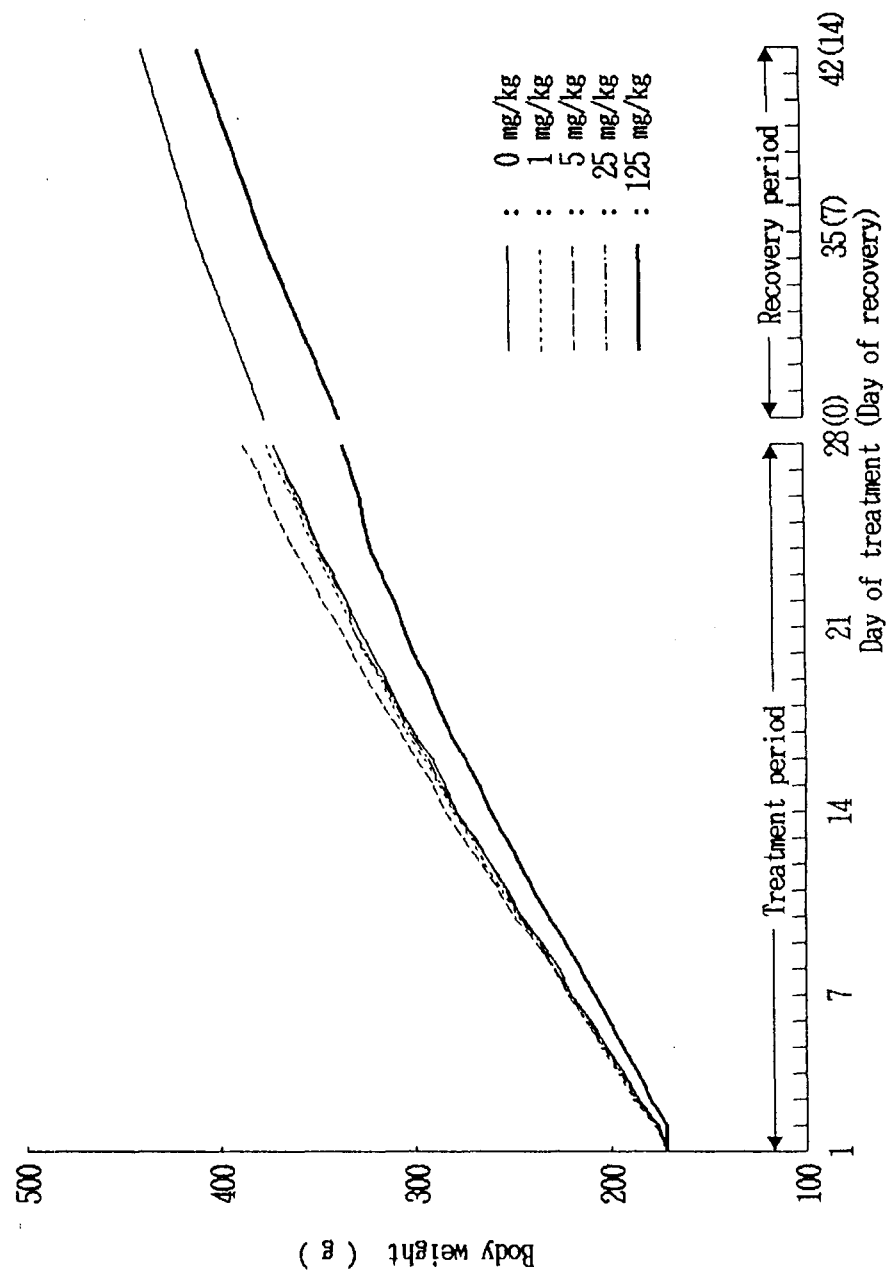


Fig. 1 Body weight change in male rats

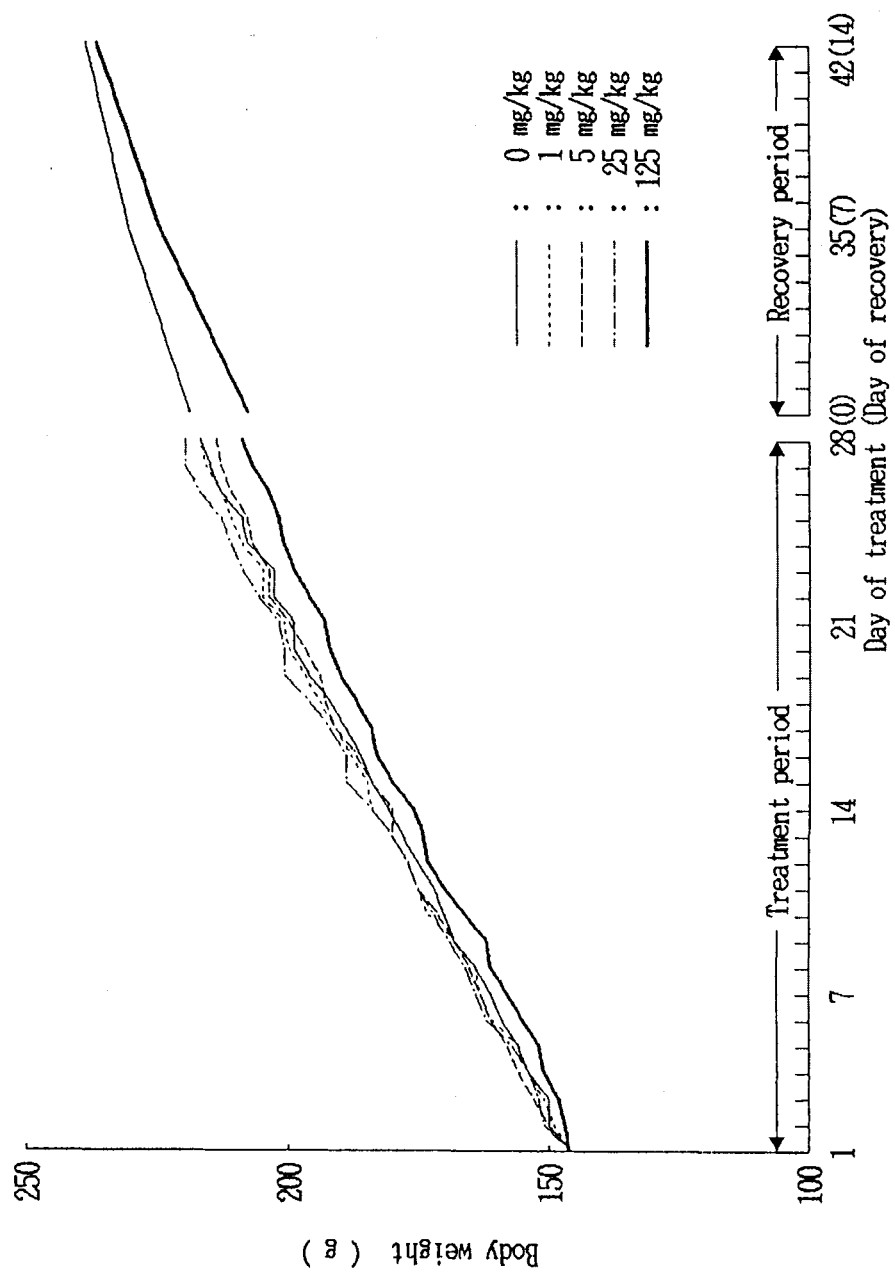


Fig. 2 Body weight change in female rats

Table 1 Incidence of clinical signs and death - Summarized data in male rats

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Treatment period					Recovery period	
		0	1	5	25	125	0	125
	No. of animals examined	12	6	6	6	12	6	6
Cyanosis		0	0	0	0	12	0	0
Brown in color of eyes		0	0	0	0	12	0	6
Pallor		0	0	0	0	12	0	6
Scab followed by hair loss		0	0	0	0	0	0	2
Death		0	0	0	0	0	0	0

Table 2 Incidence of clinical signs and death — Summarized data in female rats

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Treatment period					Recovery period	
		0	1	5	25	125	0	125
	No. of animals examined	12	6	6	6	12	6	6
Cyanosis		0	0	0	0	12	0	0
Brown in color of eyes		0	0	0	0	12	0	5
Pallor		0	0	0	0	12	0	6
Scab followed by hair loss or hair loss region		0	0	0	0	2	0	1
Death		0	0	0	0	0	0	0

Table 3 Body weights - Group mean values in male rats

(g)

Dose (mg/kg)	Day of treatment																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
0	171 ± 6 (12)	176 ± 6 (12)	186 ± 6 (12)	193 ± 6 (12)	202 ± 7 (12)	210 ± 8 (12)	220 ± 8 (12)	226 ± 8 (12)	235 ± 9 (12)	245 ± 10 (12)	252 ± 12 (12)	261 ± 11 (12)	269 ± 12 (12)	278 ± 14 (12)	284 ± 14 (12)	291 ± 15 (12)	
1	172 ± 5 (6)	178 ± 6 (6)	189 ± 6 (6)	196 ± 6 (6)	205 ± 7 (6)	212 ± 9 (6)	221 ± 9 (6)	228 ± 11 (6)	238 ± 13 (6)	247 ± 13 (6)	255 ± 14 (6)	264 ± 16 (6)	271 ± 18 (6)	280 ± 19 (6)	287 ± 21 (6)	295 ± 21 (6)	
5	171 ± 7 (6)	177 ± 7 (6)	188 ± 7 (6)	195 ± 7 (6)	204 ± 7 (6)	213 ± 6 (6)	222 ± 6 (6)	229 ± 7 (6)	238 ± 8 (6)	249 ± 6 (6)	257 ± 7 (6)	266 ± 7 (6)	275 ± 7 (6)	284 ± 7 (6)	290 ± 7 (6)	299 ± 8 (6)	
25	172 ± 5 (6)	177 ± 6 (6)	187 ± 7 (6)	194 ± 6 (6)	203 ± 7 (6)	211 ± 8 (6)	220 ± 6 (6)	228 ± 9 (6)	236 ± 8 (6)	246 ± 10 (6)	253 ± 10 (6)	261 ± 9 (6)	270 ± 11 (6)	279 ± 10 (6)	286 ± 12 (6)	293 ± 12 (6)	
125	171 ± 6 (12)	172 ± 6 (12)	180 ± 7 (12)	186 ± 7 (12)	194 ± 8 (12)	201 ± 9 (12)	208* ± 9 (12)	215 ± 10 (12)	223 ± 10 (12)	231 ± 11 (12)	239 ± 11 (12)	246 ± 12 (12)	253 ± 12 (12)	261 ± 12 (12)	267 ± 14 (12)	274 ± 14 (12)	
Dose (mg/kg)	Day of treatment												(Day of recovery)				
	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	28(0)	35(7)	42(14)		
0	300 ± 16 (12)	308 ± 18 (12)	314 ± 18 (12)	321 ± 20 (12)	328 ± 20 (12)	334 ± 22 (12)	340 ± 22 (12)	348 ± 23 (12)	353 ± 24 (12)	358 ± 25 (12)	365 ± 26 (12)	371 ± 26 (12)	376 ± 25 (6)	411 ± 27 (6)	438 ± 33 (6)		
1	304 ± 22 (6)	311 ± 24 (6)	317 ± 25 (6)	325 ± 27 (6)	331 ± 28 (6)	337 ± 27 (6)	344 ± 28 (6)	350 ± 29 (6)	356 ± 32 (6)	361 ± 32 (6)	369 ± 33 (6)	375 ± 34 (6)					
5	307 ± 8 (6)	316 ± 11 (6)	324 ± 11 (6)	331 ± 10 (6)	338 ± 12 (6)	347 ± 12 (6)	353 ± 12 (6)	361 ± 12 (6)	368 ± 12 (6)	374 ± 14 (6)	379 ± 13 (6)	387 ± 15 (6)					
25	302 ± 14 (6)	309 ± 15 (6)	316 ± 16 (6)	324 ± 16 (6)	331 ± 19 (6)	334 ± 18 (6)	342 ± 19 (6)	349 ± 20 (6)	354 ± 24 (6)	360 ± 24 (6)	366 ± 27 (6)	371 ± 27 (6)					
125	282 ± 15 (12)	288 ± 14 (12)	293 ± 15 (12)	300 ± 15 (12)	305 ± 16 (12)	310 ± 16 (12)	316 ± 17 (12)	322 ± 17 (12)	325 ± 17 (12)	327 ± 18 (12)	331* ± 20 (12)	336* ± 19 (12)	337* ± 23 (6)	377 ± 27 (6)	409 ± 25 (6)		

Each value is expressed as mean±SD.

(n): No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 4 Body weights - Group mean values in female rats

																(g)
Dose (mg/kg)	Day of treatment															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
0	146 ± 5 (12)	150 ± 6 (12)	150 ± 8 (12)	154 ± 8 (12)	156 ± 8 (12)	159 ± 9 (12)	161 ± 10 (12)	164 ± 10 (12)	168 ± 10 (12)	170 ± 10 (12)	172 ± 12 (12)	175 ± 11 (12)	178 ± 12 (12)	181 ± 13 (12)	184 ± 14 (12)	186 ± 14 (12)
1	146 ± 6 (6)	149 ± 6 (6)	151 ± 8 (6)	154 ± 8 (6)	156 ± 8 (6)	161 ± 10 (6)	163 ± 8 (6)	164 ± 9 (6)	168 ± 8 (6)	173 ± 9 (6)	175 ± 10 (6)	177 ± 10 (6)	180 ± 9 (6)	184 ± 11 (6)	185 ± 11 (6)	188 ± 10 (6)
5	146 ± 3 (6)	150 ± 5 (6)	153 ± 5 (6)	156 ± 7 (6)	158 ± 6 (6)	161 ± 7 (6)	163 ± 7 (6)	165 ± 8 (6)	168 ± 7 (6)	171 ± 7 (6)	175 ± 8 (6)	177 ± 10 (6)	180 ± 8 (6)	180 ± 7 (6)	184 ± 11 (6)	187 ± 12 (6)
25	146 ± 4 (6)	151 ± 4 (6)	152 ± 4 (6)	154 ± 6 (6)	157 ± 6 (6)	162 ± 4 (6)	164 ± 5 (6)	166 ± 7 (6)	169 ± 8 (6)	172 ± 5 (6)	175 ± 7 (6)	177 ± 9 (6)	180 ± 9 (6)	184 ± 6 (6)	189 ± 7 (6)	189 ± 9 (6)
125	146 ± 5 (12)	147 ± 6 (12)	148 ± 6 (12)	151 ± 6 (12)	152 ± 6 (12)	155 ± 6 (12)	158 ± 6 (12)	161 ± 7 (12)	162 ± 7 (12)	166 ± 7 (12)	170 ± 7 (12)	173 ± 8 (12)	174 ± 8 (12)	176 ± 8 (12)	180 ± 8 (12)	183 ± 8 (12)
Dose (mg/kg)	Day of treatment												(Day of recovery)			
	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	28(0)	35(7)	42(14)	
0	189 ± 14 (12)	192 ± 15 (12)	196 ± 16 (12)	199 ± 16 (12)	199 ± 15 (12)	203 ± 14 (12)	203 ± 18 (12)	208 ± 17 (12)	209 ± 18 (12)	213 ± 18 (12)	215 ± 19 (12)	217 ± 18 (12)	219 ± 17 (6)	231 ± 22 (6)	239 ± 21 (6)	
1	191 ± 9 (6)	194 ± 11 (6)	197 ± 12 (6)	200 ± 12 (6)	201 ± 10 (6)	205 ± 11 (6)	205 ± 12 (6)	209 ± 11 (6)	211 ± 10 (6)	213 ± 10 (6)	216 ± 11 (6)	217 ± 11 (6)				
5	191 ± 11 (6)	193 ± 10 (6)	194 ± 11 (6)	197 ± 13 (6)	200 ± 13 (6)	204 ± 12 (6)	204 ± 12 (6)	207 ± 14 (6)	208 ± 13 (6)	211 ± 13 (6)	213 ± 15 (6)	214 ± 15 (6)				
25	192 ± 8 (6)	196 ± 5 (6)	201 ± 6 (6)	201 ± 9 (6)	202 ± 8 (6)	206 ± 4 (6)	209 ± 6 (6)	211 ± 8 (6)	213 ± 8 (6)	217 ± 4 (6)	220 ± 6 (6)	220 ± 7 (6)				
125	184 ± 8 (12)	187 ± 8 (12)	190 ± 9 (12)	192 ± 10 (12)	193 ± 8 (12)	196 ± 8 (12)	199 ± 10 (12)	201 ± 9 (12)	202 ± 9 (12)	204 ± 9 (12)	207 ± 10 (12)	209 ± 10 (12)	208 ± 13 (6)	225 ± 18 (6)	237 ± 18 (6)	

Each value is expressed as mean±SD.
(n): No. of animals

Table 5 Food consumption - Group mean values in male rats

Dose (mg/kg)	No. of cages	(g/rat/day)						
		Week of treatment		(Week of recovery)				
		1	2	3	4	4 (0)	5 (1)	6 (2)
0	12	29 ± 3 (12)	33 ± 3 (12)	34 ± 4 (12)	34 ± 4 (12)	34 ± 3 (6)	34 ± 4 (6)	36 ± 4 (6)
1	6	29 ± 1 (6)	33 ± 4 (6)	34 ± 5 (6)	34 ± 6 (6)			
5	6	29 ± 1 (6)	31 ± 2 (6)	35 ± 2 (6)	35 ± 2 (6)			
25	6	29 ± 1 (6)	30 ± 1 (6)	34 ± 2 (6)	34 ± 4 (6)			
125	12	26* ± 2 (12)	30 ± 2 (12)	32 ± 4 (12)	31 ± 5 (12)	31 ± 6 (6)	38 ± 4 (6)	38 ± 2 (6)

Each value is expressed as mean±SD.

(n): No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 6

Food consumption - Group mean values in female rats

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4 (0)	5 (1)	6 (2)
0	12	20 ± 2 (12)	20 ± 2 (12)	20 ± 2 (12)	21 ± 3 (12)	23 ± 2 (6)	25 ± 3 (6)	23 ± 5 (6)
1	6	20 ± 2 (6)	20 ± 2 (6)	21 ± 2 (6)	22 ± 2 (6)			
5	6	22 ± 2 (6)	21 ± 2 (6)	20 ± 2 (6)	22 ± 2 (6)			
25	6	22 ± 1 (6)	22 ± 2 (6)	23 ± 3 (6)	22 ± 4 (6)			
125	12	19 ± 2 (12)	21 ± 2 (12)	20 ± 2 (12)	21 ± 2 (12)	22 ± 1 (6)	27 ± 3 (6)	24 ± 4 (6)

Each value is expressed as mean±SD.

(n): No. of animals

Table 7

Urinary findings - Summarized data in male rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color					Cloudy		pH						Protein					
		C	PY	Y	PB	B	-	+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	12		12					12	3	5	4						10	2		
1	6		6					6	1	2	3						6			
5	6		6					6		4	2						6			
25	6		6					6	2	3	1				1		5			
125	12		2		6	4**		12	7	3	2						6	6		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose				Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	12	12				12					7	4	1			12				12			
1	6	6				6					5	1				6				6			
5	6	6				6					5		1			6				6			
25	6	6				6					6					6				6			
125	12	12				12					12					12				12			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 8

Urinary findings - Summarized data in female rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color					Cloudy		pH						Protein					
		C	PY	Y	PB	B	-	+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	12	1	11				12		2	6	3	1			1	3	7	1		
1	6		6				6		2	2	2					1	5			
5	6		6				6			2	3	1				6				
25	6		6				6		3	3							6			
125	12		1		8	3**	12		9	3						1	11			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose				Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	12	12				12					11	1				12							12
1	6	6				6					6					6							6
5	6	6				6					6					6							6
25	6	6				6					6					6							6
125	12	12				12					12					12							12

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 9

Urinary findings - Summarized data in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color					Cloudy		pH						Protein					
		C	PY	Y	PB	B	-	+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	6		6				6			2	3	1			5	1				
125	6		6				6			3	1	2			3	3				

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose				Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	6	6				5	1				2	4				6				6			
125	6	6				4	2				3	2	1			6				6			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 10

Urinary findings - Summarized data in female rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color					Cloudy		pH						Protein					
		C	PY	Y	PB	B	-	+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	6		6				6			2	3	1				3	3			
125	6		6				6			1	2	1	2			4	2			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose				Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	6	6				6					5	1				6				6			
125	6	6				6					6					6				6			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown), B(brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 11 Hematological findings - Group mean values in male rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	Met-Hb (%)	Hein-B (%)
0	6	775 ± 31	15.5 ± 0.6	44.0 ± 1.8	57 ± 1	20.0 ± 0.4	35.2 ± 0.6	39 ± 11	0.5 ± 0.3	0 ± 0
1	6	748 ± 30	15.1 ± 0.7	42.8 ± 1.3	57 ± 1	20.2 ± 0.5	35.2 ± 0.6	45 ± 14	0.7 ± 0.1	0 ± 0
5	6	724* ± 37	14.7 ± 0.4	42.0 ± 1.1	58 ± 2	20.4 ± 1.1	35.1 ± 0.8	45 ± 12	0.7 ± 0.3	0 ± 0
25	6	670** ± 27	13.8** ± 0.5	40.0** ± 1.0	60 ± 1	20.7 ± 0.6	34.5 ± 0.7	96* ± 3	1.6* ± 0.4	17 ± 12
125	6	467** ± 40	12.3** ± 1.0	41.8 ± 2.1	90** ± 7	26.4** ± 1.0	29.5** ± 1.6	451** ± 110	4.7** ± 1.0	237** ± 36

Dose (mg/kg)	No. of animals	Plat. (10 ⁴ /μl)	PT (sec)	APTT (sec)	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)						
						Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other
Stab.	Seg.											
0	6	142 ± 14	12.7 ± 0.2	17.7 ± 1.4	77 ± 11	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	10 ± 3	88 ± 4	1 ± 1	0 ± 0
1	6	151 ± 18	12.5 ± 0.3	18.8 ± 1.1	84 ± 44	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	14 ± 6	83 ± 7	2 ± 1	0 ± 0
5	6	156 ± 8	11.3** ± 0.2	17.6 ± 0.9	72 ± 17	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	13 ± 4	86 ± 4	1 ± 1	0 ± 0
25	6	157 ± 16	11.5** ± 0.1	18.5 ± 1.2	72 ± 17	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	14 ± 4	84 ± 4	1 ± 1	0 ± 0
125	6	110** ± 7	11.0** ± 0.2	18.3 ± 1.4	66 ± 15	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1	18 ± 9	80 ± 8	1 ± 1	0 ± 0

Each value is expressed as mean±SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 12

Hematological findings - Group mean values in female rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	Met-Hb (%)	Hein-B (%)
0	6	772 ± 46	15.3 ± 0.9	43.2 ± 2.6	56 ± 2	19.8 ± 0.7	35.5 ± 0.3	28 ± 8	0.6 ± 0.2	0 ± 0
1	6	756 ± 36	14.9 ± 0.7	41.6 ± 1.9	55 ± 1	19.7 ± 0.4	35.7 ± 0.4	27 ± 4	0.5 ± 0.3	0 ± 0
5	6	714* ± 36	13.9** ± 0.4	39.2** ± 0.9	55 ± 2	19.4 ± 0.5	35.4 ± 0.3	48 ± 13	0.6 ± 0.3	0 ± 0
25	6	655** ± 32	13.5** ± 0.4	39.0** ± 1.1	60 ± 2	20.7 ± 0.5	34.6 ± 0.3	79* ± 14	1.2* ± 0.2	2 ± 2
125	6	494** ± 31	12.7** ± 0.6	39.9* ± 1.7	81* ± 5	25.8** ± 0.9	31.8** ± 1.1	422** ± 75	3.9** ± 0.5	340** ± 41

Dose (mg/kg)	No. of animals	Plat. (10 ⁴ /μl)	PT (sec)	APTT (sec)	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)						
						Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other
								Stab.	Seg.			
0	6	137 ± 7	13.3 ± 0.4	16.8 ± 1.1	38 ± 15	0 ± 0	2 ± 1	0 ± 0	14 ± 5	84 ± 7	1 ± 1	0 ± 0
1	6	128 ± 6	13.0 ± 0.7	16.4 ± 1.0	39 ± 14	0 ± 0	2 ± 1	0 ± 0	15 ± 5	83 ± 5	1 ± 1	0 ± 0
5	6	130 ± 13	13.2 ± 0.4	16.4 ± 0.8	36 ± 15	0 ± 0	1 ± 2	0 ± 0	16 ± 6	82 ± 7	1 ± 1	0 ± 0
25	6	134 ± 33	12.1** ± 0.3	16.0 ± 0.7	48 ± 17	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	18 ± 10	81 ± 11	1 ± 1	0 ± 0
125	6	129 ± 12	12.3** ± 0.3	16.7 ± 1.1	40 ± 9	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	17 ± 6	81 ± 6	1 ± 1	0 ± 0

Each value is expressed as mean±SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 13 Hematological findings - Group mean values in male rats
< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	Met-Hb (%)	Hein-B (%)
0	6	796 ± 46	15.4 ± 0.9	43.1 ± 2.7	54 ± 2	19.4 ± 0.8	35.7 ± 0.8	29 ± 8	0.3 ± 0.2	0 ± 0
125	6	747 ± 37	16.4* ± 0.4	46.3* ± 0.9	63** ± 3	22.0** ± 0.9	35.4 ± 0.5	31 ± 7	0.6 ± 0.3	0 ± 0

Dose (mg/kg)	No. of animals	Plat. (10 ⁴ /μl)	PT (sec)	APTT (sec)	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							
						Neutro.							
						Baso.	Eosin.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	6	152 ± 13	13.5 ± 0.3	18.3 ± 0.9	84 ± 35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	8 ± 2	91 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	
125	6	116** ± 9	13.3 ± 0.3	18.1 ± 1.0	92 ± 17	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	7 ± 2	92 ± 2	1 ± 1	0 ± 0	

Each value is expressed as mean±SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 14 Hematological findings - Group mean values in female rats
< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	Met-Hb (%)	Hein-B (‰)
0	6	777 ± 35	14.9 ± 0.6	41.7 ± 1.4	54 ± 1	19.2 ± 0.4	35.8 ± 0.4	21 ± 5	0.3 ± 0.4	0 ± 0
125	6	742 ± 32	16.6** ± 0.7	45.9** ± 1.4	62** ± 2	22.4** ± 0.8	36.2 ± 0.5	24 ± 6	0.8* ± 0.2	0 ± 0

Dose (mg/kg)	No. of animals	Plat. (10 ⁴ /μl)	PT (sec)	APTT (sec)	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)						
						Neutro.						
						Baso.	Eosin.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other
0	6	133 ± 4	13.5 ± 0.2	15.2 ± 0.6	41 ± 13	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	7 ± 3	91 ± 5	1 ± 1	0 ± 0
125	6	112** ± 9	13.7 ± 0.1	16.0 ± 0.8	58 ± 21	0 ± 0	1 ± 2	0 ± 0	7 ± 2	91 ± 2	1 ± 1	0 ± 0

Each value is expressed as mean±SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 15

Biochemical findings - Group mean values in male rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	60 $\pm$ 5	31 $\pm$ 4	436 $\pm$ 89	0.52 $\pm$ 0.39	6.10 $\pm$ 0.26	3.00 $\pm$ 0.07	0.97 $\pm$ 0.08	84 $\pm$ 19	63 $\pm$ 23
1	6	61 $\pm$ 7	28 $\pm$ 5	393 $\pm$ 105	0.41 $\pm$ 0.43	6.14 $\pm$ 0.17	3.08 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.08	87 $\pm$ 15	77 $\pm$ 39
5	6	57 $\pm$ 5	28 $\pm$ 5	364 $\pm$ 83	0.49 $\pm$ 0.36	6.07 $\pm$ 0.21	3.05 $\pm$ 0.10	1.01 $\pm$ 0.03	87 $\pm$ 16	89 $\pm$ 37
25	6	58 $\pm$ 6	27 $\pm$ 2	380 $\pm$ 37	0.33 $\pm$ 0.27	6.22 $\pm$ 0.08	3.12 $\pm$ 0.09	1.01 $\pm$ 0.09	87 $\pm$ 15	70 $\pm$ 18
125	6	68 $\pm$ 7	36 $\pm$ 18	384 $\pm$ 69	0.66 $\pm$ 0.69	5.99 $\pm$ 0.14	3.33** $\pm$ 0.20	1.25** $\pm$ 0.12	83 $\pm$ 15	59 $\pm$ 6
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	148 $\pm$ 4	0.34 $\pm$ 0.03	16.1 $\pm$ 2.0	0.47 $\pm$ 0.06	9.9 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.6	140 $\pm$ 1	4.36 $\pm$ 0.17	103 $\pm$ 1
1	6	142 $\pm$ 9	0.34 $\pm$ 0.06	14.7 $\pm$ 0.9	0.48 $\pm$ 0.03	9.9 $\pm$ 0.3	7.2 $\pm$ 0.5	140 $\pm$ 1	4.59 $\pm$ 0.37	103 $\pm$ 1
5	6	150 $\pm$ 6	0.36 $\pm$ 0.04	15.6 $\pm$ 2.2	0.51 $\pm$ 0.05	10.1 $\pm$ 0.2	7.8 $\pm$ 0.6	140 $\pm$ 1	4.61 $\pm$ 0.32	102 $\pm$ 1
25	6	147 $\pm$ 13	0.38 $\pm$ 0.04	16.5 $\pm$ 1.6	0.52 $\pm$ 0.05	10.0 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.5	140 $\pm$ 1	5.17* $\pm$ 0.33	103 $\pm$ 1
125	6	135 $\pm$ 9	0.72** $\pm$ 0.13	16.6 $\pm$ 3.2	0.48 $\pm$ 0.04	9.8 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.4	139** $\pm$ 1	7.15** $\pm$ 0.91	104 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 16

Biochemical findings - Group mean values in female rats

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Chol. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	64 $\pm$ 5	25 $\pm$ 3	290 $\pm$ 69	0.35 $\pm$ 0.32	6.39 $\pm$ 0.21	3.39 $\pm$ 0.17	1.13 $\pm$ 0.11	85 $\pm$ 8	30 $\pm$ 12
1	6	63 $\pm$ 7	26 $\pm$ 5	254 $\pm$ 43	0.48 $\pm$ 0.46	6.34 $\pm$ 0.30	3.36 $\pm$ 0.22	1.14 $\pm$ 0.17	85 $\pm$ 14	31 $\pm$ 10
5	6	65 $\pm$ 7	25 $\pm$ 6	260 $\pm$ 62	0.33 $\pm$ 0.24	6.29 $\pm$ 0.19	3.30 $\pm$ 0.22	1.11 $\pm$ 0.11	85 $\pm$ 27	31 $\pm$ 24
25	6	71 $\pm$ 11	27 $\pm$ 3	258 $\pm$ 37	0.43 $\pm$ 0.33	6.32 $\pm$ 0.23	3.31 $\pm$ 0.19	1.10 $\pm$ 0.05	91 $\pm$ 19	30 $\pm$ 20
125	6	69 $\pm$ 6	25 $\pm$ 5	257 $\pm$ 67	0.65 $\pm$ 0.35	6.28 $\pm$ 0.13	3.45 $\pm$ 0.12	1.22 $\pm$ 0.08	83 $\pm$ 15	29 $\pm$ 8
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	120 $\pm$ 13	0.26 $\pm$ 0.04	18.1 $\pm$ 1.8	0.54 $\pm$ 0.06	10.0 $\pm$ 0.3	6.0 $\pm$ 0.8	140 $\pm$ 1	4.05 $\pm$ 0.17	105 $\pm$ 1
1	6	124 $\pm$ 20	0.27 $\pm$ 0.02	17.1 $\pm$ 2.1	0.53 $\pm$ 0.07	9.9 $\pm$ 0.4	5.9 $\pm$ 0.6	140 $\pm$ 1	4.23 $\pm$ 0.25	104 $\pm$ 2
5	6	123 $\pm$ 11	0.28 $\pm$ 0.03	18.5 $\pm$ 2.3	0.51 $\pm$ 0.05	10.0 $\pm$ 0.2	6.5 $\pm$ 0.4	139 $\pm$ 1	4.31 $\pm$ 0.49	104 $\pm$ 1
25	6	136 $\pm$ 13	0.31 $\pm$ 0.03	17.0 $\pm$ 1.5	0.52 $\pm$ 0.04	9.9 $\pm$ 0.2	6.1 $\pm$ 0.7	138 $\pm$ 1	4.54 $\pm$ 0.16	104 $\pm$ 1
125	6	127 $\pm$ 8	0.56** $\pm$ 0.06	21.5 $\pm$ 6.9	0.51 $\pm$ 0.05	9.7 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 0.4	138 $\pm$ 2	5.74** $\pm$ 0.70	104 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ SD.

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 17

Biochemical findings - Group mean values in male rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	59 $\pm$ 6	33 $\pm$ 9	316 $\pm$ 70	0.48 $\pm$ 0.29	6.28 $\pm$ 0.06	3.03 $\pm$ 0.15	0.94 $\pm$ 0.09	92 $\pm$ 14	78 $\pm$ 20
125	6	61 $\pm$ 7	31 $\pm$ 4	349 $\pm$ 79	0.38 $\pm$ 0.48	6.22 $\pm$ 0.12	3.09 $\pm$ 0.16	0.99 $\pm$ 0.09	77* $\pm$ 8	61 $\pm$ 19
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	158 $\pm$ 16	0.36 $\pm$ 0.03	18.7 $\pm$ 2.7	0.55 $\pm$ 0.04	10.2 $\pm$ 0.2	7.3 $\pm$ 0.4	141 $\pm$ 1	4.39 $\pm$ 0.22	103 $\pm$ 1
125	6	147 $\pm$ 6	0.37 $\pm$ 0.05	18.9 $\pm$ 2.2	0.56 $\pm$ 0.03	9.9* $\pm$ 0.2	7.4 $\pm$ 0.5	141 $\pm$ 1	4.33 $\pm$ 0.17	103 $\pm$ 2

Each value is expressed as mean $\pm$ SD.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 18

Biochemical findings - Group mean values in female rats

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	66 $\pm$ 7	26 $\pm$ 5	195 $\pm$ 55	0.40 $\pm$ 0.22	6.29 $\pm$ 0.25	3.26 $\pm$ 0.28	1.08 $\pm$ 0.13	91 $\pm$ 15	34 $\pm$ 13
125	6	64 $\pm$ 3	30 $\pm$ 7	226 $\pm$ 38	0.45 $\pm$ 0.18	6.28 $\pm$ 0.25	3.27 $\pm$ 0.20	1.09 $\pm$ 0.07	90 $\pm$ 18	34 $\pm$ 13
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	135 $\pm$ 15	0.31 $\pm$ 0.04	19.0 $\pm$ 0.7	0.61 $\pm$ 0.05	10.0 $\pm$ 0.2	5.8 $\pm$ 0.6	140 $\pm$ 1	4.44 $\pm$ 0.31	104 $\pm$ 1
125	6	126 $\pm$ 16	0.27 $\pm$ 0.03	19.2 $\pm$ 2.3	0.59 $\pm$ 0.03	9.8 $\pm$ 0.3	5.5 $\pm$ 0.9	139 $\pm$ 1	4.60 $\pm$ 0.34	103 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ SD.

Table 19 Incidence of necropsy findings — Summarized data in male rats
< After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	1	5	25	125
Organ : Findings	No. of animals	6	6	6	6	6	
Liver : Dark	+	0	0	0	0	6**	
Kidney : Dark	+	0	0	0	0	6**	
Spleen : Enlargement	+	0	0	0	5	0	
	+++	0	0	0	0	6	
Total		0	0	0	5**	6**	
Dark	+	0	0	0	2	0	
	++	0	0	0	4	1	
	+++	0	0	0	0	5	
	Total	0	0	0	6**	6**	

+ : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 20 Incidence of necropsy findings — Summarized data in female rats
< After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	1	5	25	125
Organ : Findings	No. of animals		6	6	6	6	6
Lung : Red spots	+		0	1	0	0	0
Liver : Dark	+		0	0	0	0	6**
Kidney : Dark	+		0	0	0	0	6**
Spleen : Enlargement	+		0	0	0	3	0
	++		0	0	0	0	4
	+++		0	0	0	0	2
	Total		0	0	0	3*	6**
Dark	+		0	0	0	5	0
	++		0	0	0	1	0
	+++		0	0	0	0	6
	Total		0	0	0	6**	6**

+ : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 21 Incidence of necropsy findings — Summarized data in male rats
< After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)		
		0	125
	No. of animals	6	6
Lung : Red spots	+	1	0
Kidney : Dark	+	0	4*
Spleen : Enlargement	+	0	6**
Dark	+	0	6**

+ : Slight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 22 Incidence of necropsy findings — Summarized data in female rats
< After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)	0	125
	No. of animals	6	6
Kidney : Dark	+	0	5**
Spleen : Enlargement	+	0	3
Dark	+	0	6**

+ : Slight

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 23 Absolute and relative organ weights - Summarized data in male rats
 < After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)
Absolute	0	6	333 ± 25	1.98 ±0.03	10.42 ± 0.85	2.62 ±0.12	0.65 ±0.12	57.0 ± 9.5	3.06 ±0.21
	1	6	343 ± 33	1.95 ±0.09	10.70 ± 1.40	2.65 ±0.14	0.71 ±0.08	48.0 ±11.8	3.02 ±0.30
	5	6	356 ± 13	1.96 ±0.06	11.54 ± 0.61	2.70 ±0.18	0.74 ±0.09	53.8 ± 7.1	3.01 ±0.29
	25	6	338 ± 25	1.97 ±0.06	10.98 ± 1.13	2.63 ±0.20	1.11** ±0.15	56.4 ± 8.2	3.08 ±0.22
	125	6	304 ± 16	1.98 ±0.08	9.66 ± 0.42	2.59 ±0.19	2.98** ±0.27	43.1 ± 7.9	3.16 ±0.23
Relative@	0	6	333 ± 25	0.60 ±0.06	3.13 ±0.14	0.79 ±0.04	0.20 ±0.03	17.26 ± 3.58	0.92 ±0.13
	1	6	343 ± 33	0.57 ±0.06	3.11 ±0.20	0.78 ±0.05	0.21 ±0.03	13.82 ± 2.36	0.89 ±0.09
	5	6	356 ± 13	0.55 ±0.02	3.24 ±0.09	0.76 ±0.07	0.21 ±0.02	15.14 ± 2.25	0.85 ±0.09
	25	6	338 ± 25	0.59 ±0.03	3.25 ±0.14	0.78 ±0.03	0.33** ±0.03	16.70 ± 1.98	0.92 ±0.09
	125	6	304 ± 16	0.66 ±0.04	3.18 ±0.09	0.85 ±0.05	0.98** ±0.06	14.15 ± 2.18	1.04 ±0.09

Each value is expressed as mean±SD.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 24 Absolute and relative organ weights - Summarized data in female rats

< After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	200 ± 19	1.82 ±0.09	6.21 ± 0.99	1.56 ±0.13	0.44 ±0.05	64.1 ±11.7	80.2 ±19.1
	1	6	200 ± 9	1.83 ±0.03	6.19 ± 0.49	1.61 ±0.07	0.42 ±0.04	55.5 ± 5.5	74.9 ± 8.6
	5	6	199 ± 10	1.81 ±0.05	6.01 ± 0.72	1.67 ±0.12	0.45 ±0.08	66.0 ± 5.1	81.3 ± 8.8
	25	6	202 ± 7	1.87 ±0.07	6.21 ± 0.39	1.69 ±0.05	0.73 ±0.12	71.3 ± 7.6	84.2 ± 4.6
	125	6	189 ± 5	1.87 ±0.05	6.38 ± 0.39	1.67 ±0.16	1.71** ±0.23	63.8 ± 7.9	90.6 ± 9.6
Relative@	0	6	200 ± 19	0.92 ±0.07	3.09 ±0.21	0.78 ±0.06	0.22 ±0.03	31.88 ± 2.87	40.0 ± 8.1
	1	6	200 ± 9	0.92 ±0.04	3.10 ±0.19	0.81 ±0.03	0.21 ±0.03	27.81 ± 2.73	37.5 ± 4.2
	5	6	199 ± 10	0.91 ±0.05	3.01 ±0.24	0.84 ±0.08	0.23 ±0.04	33.25 ± 3.90	41.0 ± 6.0
	25	6	202 ± 7	0.93 ±0.03	3.08 ±0.17	0.84 ±0.03	0.36 ±0.05	35.32 ± 3.53	41.8 ± 2.7
	125	6	189 ± 5	0.99 ±0.04	3.38 ±0.24	0.89 ±0.08	0.91** ±0.14	33.82 ± 4.63	48.0 ± 4.7

Each value is expressed as mean±SD.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 25 Absolute and relative organ weights - Summarized data in male rats

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)
Absolute	0	6	402	2.01	11.96	2.72	0.75	53.4	3.18
			± 33	±0.03	± 0.97	±0.24	±0.08	± 7.7	±0.27
	125	6	375	2.00	11.35	2.73	1.13**	56.2	3.14
			± 25	±0.07	± 0.97	±0.22	±0.09	± 7.1	±0.34
Relative@	0	6	402	0.50	2.98	0.68	0.19	13.39	0.80
			± 33	±0.04	±0.13	±0.05	±0.02	± 2.48	±0.08
	125	6	375	0.53	3.03	0.73	0.30**	15.04	0.84
			± 25	±0.05	±0.18	±0.04	±0.02	± 2.21	±0.10

Each value is expressed as mean±SD.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 26 Absolute and relative organ weights - Summarized data in female rats

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	216 ± 18	1.85 ±0.05	6.08 ± 0.41	1.61 ±0.13	0.46 ±0.07	61.7 ± 8.2	81.3 ± 8.0
	125	6	218 ± 14	1.83 ±0.05	6.43 ± 0.41	1.71 ±0.13	0.71** ±0.13	58.1 ±10.0	80.0 ± 7.6
Relative@	0	6	216 ± 18	0.86 ±0.08	2.82 ±0.20	0.75 ±0.05	0.21 ±0.03	28.57 ± 3.55	37.8 ± 4.9
	125	6	218 ± 14	0.84 ±0.07	2.96 ±0.17	0.78 ±0.04	0.33** ±0.05	26.73 ± 4.42	36.8 ± 3.1

Each value is expressed as mean±SD.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 27- 1 Incidence of histological findings — Summarized data in male rats
 < After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	1	5	25	125
Organ : Findings		No. of animals	6	6	6	6	6
Liver	Hemosiderosis in Kupffer cell	+	0	0	0	0	1
		++	0	0	0	0	5
		Total	0	0	0	0	6**
	Extramedullary erythropoiesis	+	0	0	0	0	5
		++	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	6**
	Hepatocellular fatty change	+	0	1	0	0	0
		++	0	0	0	0	0
		Total	0	1	0	0	0
	Kidney : Brown pigmentation in cortical tubular epithelium	+	0	0	0	0	0
		++	0	0	0	0	6**
		Total	0	0	0	0	6**
Kidney	Eosinophilic bodies in proximal tubule	+	0	1	0	0	0
		++	1	0	0	0	0
		Total	1	1	0	0	0
	Focal tubular basophilic change	+	3	2	2	4	1
		++	0	0	0	0	0
		Total	3	2	2	4	1
	Focal tubular dilatation with hyaline casts	+	1	0	0	0	0
		++	0	0	0	0	0
		Total	1	0	0	0	0
	Cysts	+	0	1	0	0	0
		++	0	0	0	0	0
		Total	0	1	0	0	0

+ : Slight; ++ : Moderate

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 27- 2 Incidence of histological findings — Summarized data in male rats
 < After treatment period >

		Dose (mg/kg)				
		0	1	5	25	125
Organ	Findings	No. of animals				
		6	6	6	6	6
Testis	Focal hypospermatogenesis	+	1	—	—	1
Spleen	Congestion	+	0	0	0	1
		++	0	0	0	5
		Total	0	0	0	6**
			0	0	6**	6**
	Hemosiderosis	+	0	0	0	0
		++	0	0	0	6
		Total	0	0	0	6**
			0	0	6**	6**
	Increased extramedullary erythropoiesis	+	0	0	0	5
		++	0	0	0	6
		Total	0	0	0	5**
			0	0	5**	6**
	Decreased lymphocytes in marginal zone of lymph follicle	+	0	0	0	6
		++	0	0	0	6
		Total	0	0	0	6**
			0	0	6**	6**
Bone marrow	Increased erythropoiesis	+	0	0	0	5
		++	0	0	0	6
		Total	0	0	0	5**
			0	0	5**	6**

+ : Slight; ++ : Moderate; — : Not examined

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Organs of the heart, liver, kidney, testis, spleen, adrenal and bone marrow were examined from animals of control and at a dose of 125 mg/kg. Organs of the liver, kidney, spleen and bone marrow were examined from animals at doses of 1.5 and 25 mg/kg.

Table 28- 1 Incidence of histological findings — Summarized data in female rats
 < After treatment period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)					
	No. of animals	0	1	5	25	125
Liver : Hemosiderosis in Kupffer cell	+	0	0	0	2	3
	++	0	0	0	0	3
	Total	0	0	0	2	6**
Extramedullary erythropoiesis	+	0	0	0	0	5**
Hepatocellular fatty change	+	0	0	1	0	0
Kidney : Brown pigmentation in cortical tubular epithelium	+	0	0	0	0	3
	++	0	0	0	0	3
	Total	0	0	0	0	6**
Focal tubular basophilic change	+	1	0	1	3	2
Focal tubular dilatation with or without hyaline casts	+	1	2	0	1	0
Focal tubular mineralization	+	1	1	1	0	1

+ : Slight; ++ : Moderate

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 28- 2 Incidence of histological findings — Summarized data in female rats
< After treatment period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)					
	No. of animals	0	1	5	25	125
Spleen : Congestion	+	0	0	0	5	0
	++	0	0	0	0	6
	Total	0	0	0	5**	6**
Hemosiderosis	+	0	0	3	6	0
	++	0	0	0	0	6
	Total	0	0	3*	6**	6**
Increased extramedullary erythropoiesis	+	0	0	1	5	0
	++	0	0	0	0	6
	Total	0	0	1	5**	6**
Decreased lymphocytes in marginal zone of lymph follicle	+	0	0	0	2	0
	++	0	0	0	0	6
	Total	0	0	0	2	6**
Bone marrow : Increased erythropoiesis	+	0	0	0	3	0
	++	0	0	0	0	6
	Total	0	0	0	3*	6**

+ : Slight; ++ : Moderate

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Organs of the heart, liver, kidney, spleen, adrenal and bone marrow were examined from animals of control and at a dose of 125 mg/kg. Organs of the liver, kidney, spleen and bone marrow were examined from animals at doses of 1, 5 and 25 mg/kg.

Table 29 Incidence of histological findings — Summarized data in male rats
 < After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)		0	125
	No. of animals		6	6
Liver : Hemosiderosis in Kupffer cell	+	0	0	4*
Focal necrosis	+	1	1	0
Hepatocellular fatty change	+	1	1	0
Kidney : Brown pigmentation in cortical tubular epithelium	+	0	0	6**
Focal tubular basophilic change	+	3	3	3
Focal tubular dilatation with hyaline casts	+	1	1	0
Spleen : Hemosiderosis	+	0	0	4
	++	0	0	2
	Total	0	0	6**
Decreased lymphocytes in marginal zone of lymph follicle	+	0	0	6**

+ : Slight; ++ : Moderate

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Organs of the liver, kidney, spleen and bone marrow were examined from animals of control and at a dose of 125 mg/kg.

Table 30 Incidence of histological findings — Summarized data in female rats
 < After recovery period >

Organ : Findings	Dose (mg/kg)		0	125
	No. of animals		6	6
Liver : Hemosiderosis in Kupffer cell	+	0	0	5**
Kidney : Brown pigmentation in cortical tubular epithelium	+	0	0	6**
Focal tubular basophilic change	+	1	1	0
Focal tubular mineralization	+	1	1	0
Focal tubular dilatation with hyaline casts	+	1	1	0
Spleen : Hemosiderosis	+	1	1	1
	++	0	0	5
	Total		1	6**
Decreased lymphocytes in marginal zone of lymph follicle	+	0	0	5**

+ : Slight; ++ : Moderate

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Organs of the liver, kidney, spleen and bone marrow were examined from animals of control and at a dose of 125 mg/kg.