

食薬セ研第10-1629号

2000年 8月25日

1-ブロモ-3-クロロプロパンの
ラットを用いる
28日間反復経口投与毒性試験（回復14日間）

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦 野 研 究 所

【目 次】

	頁
要 約	1
緒 言	4
方 法	5
1. 被験物質	5
2. 使用動物および飼育方法	5
3. 投与検体の調製	6
4. 群および群分け	6
5. 投与方法	7
6. 検査項目	7
7. データ解析法	10
結 果	11
1. 死亡例	11
2. 一般状態	11
3. 体重	11
4. 摂餌量	12
5. 尿検査所見	12
6. 血液学検査所見	12
7. 生化学検査所見	12
8. 病理学検査所見	13
考 察	16
文 献	19
 Figures 1～2	 20
Tables 1～10	23

【要 約】

1-ブromo-3-クロロプロパンの28日間反復経口投与毒性試験(回復14日間)を雌雄のSprague-Dawley系ラットを用いて実施した。雌雄とも4群構成とし、1群には媒体であるコーン油を、他の3群には被験物質を、それぞれ20、100および500 mg/kgの用量で28日間にわたり強制経口投与した。雌雄とも回復試験に用いる動物を含む対照群および500 mg/kg投与群は各10匹、その他の群は各5匹とした。なお、500 mg/kg投与群の雄で投与期間中に10例中9例が死亡または切迫屠殺したため、回復試験は、雌雄の対照群および雌の500 mg/kg投与群の各5匹で実施した。今回の試験において認められた主な変化を以下に要約する。

500 mg/kg投与群の雌雄では、投与第1週から3週に、活動性の低下、閉眼あるいは半眼が散見されたが、これらの症状はいずれも投与した翌日には消失した。また、投与第3週以降に、雌雄とも前肢の引っ掻き様常同行動がみられるようになり、雄では投与第20日以降に間代性あるいは強直性痙攣がみられ、投与第21日から25日の間に10例中4例が死亡し、5例が瀕死状態となったため切迫屠殺した。この他、投与期間中に、500 mg/kg投与群では流涙が散発的に観察され、100 mg/kg以上の投与群では流涎が認められた。さらに、500 mg/kg投与群の雌では、投与最終日から尿によると考えられる下腹部を中心とした被毛の汚れが回復試験期間中継続して認められる例があった。

体重の変化としては、500 mg/kg投与群の雄で投与第15日以降に有意な低値が認められた。また、摂餌量の変化としては、500 mg/kg投与群の雌雄で投与第1週に有意な低値が認められ、雄では投与第4週の摂餌量も有意な低値であったが、雌では投与第3週の摂餌量が有意な高値を示した。

投与第4週の尿検査では、500 mg/kg投与群の雌雄とも尿pHが低い傾向にあったが、雌における回復第2週の検査では著しい変化は認められなかった。

血液学検査では、100 mg/kg投与群の雄でヘマトクリット値の有意な減少と平均赤血球血色素濃度の有意な上昇が認められた。なお、20 mg/kg投与群の雄でも平均赤血球血色素濃度の上昇はみられたが、赤血球数は対照群の値を上回った。また、雌では投与期間終了時に著しい変化は認められなかったが、回復試験期間終了時の検査で赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の有意な減少が認められた。

生化学検査では、血漿中塩素濃度が用量に依存して上昇し、雄では20 mg/kg以上、雌では100 mg/kg以上の投与群で有意差がみられ、切迫屠殺例でも同様の変化が認め

られた。また、雌の回復試験期間終了時の検査では、塩素濃度の有意な上昇がみられたが、投与期間終了時の値と比較すると軽減する傾向にあった。なお、その後の検討により、血漿中塩素濃度測定値の上昇には臭素イオンが測定系に影響したものと考えられるデータが得られた。この他、投与期間終了時には、500 mg/kg 投与群の雌でアルブミン濃度、カリウム濃度および γ -GTP 活性の有意な上昇が認められた。

器官重量では、肝臓の絶対あるいは相対重量の有意な増加が 100 mg/kg 以上の投与群に、また、腎臓の絶対あるいは相対重量の有意な増加が 100 mg/kg 投与群の雄および 500 mg/kg 投与群の雌に認められた。回復試験期間終了時には、雌の被験物質投与群の脳の絶対重量に有意な減少がみられ、肝臓の相対重量に有意な増加が認められた。

剖検所見としては、死亡例、切迫屠殺例および投与期間終了時の 500 mg/kg 投与群の一部の例に、前胃あるいは腺胃粘膜の肥厚、腺胃の暗色点が認められた。また、死亡および切迫屠殺例では、脾臓の小型化および淡色化、腎臓の大型化あるいは肺の暗色部が観察される例があった。組織学検査では、死亡および切迫屠殺例を含め、肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大が 100 mg/kg 以上の投与群の雌雄に認められた。脳では、視床下部、視床の空胞変性が 500 mg/kg 投与群に観察された。脾臓では、ヘモジデリン沈着の増強が 500 mg/kg 投与群に認められ、死亡あるいは切迫屠殺例では、髄外造血がほとんどみられず、萎縮が観察される例があった。精巣では、精細管の萎縮が 100 mg/kg 以上の投与群にみられ、500 mg/kg 投与群では、精巣上体管腔内の細胞残屑と精子数の減少が認められる例があった。胃では、軽微から軽度な前胃粘膜の過形成が 100 mg/kg 以上の投与群の雄および 500 mg/kg 投与群の雌にみられたほか、剖検所見で病変がみられた胃では、前胃あるいは腺胃粘膜のびらん、腺胃粘膜の出血、前胃あるいは腺胃粘膜固有層の好中球の浸潤が認められた。一方、雌の回復試験期間終了時の検査では、脾臓のヘモジデリン沈着がさらに増強したが、死亡例、切迫屠殺例および投与期間終了時の被験物質投与群でみられた肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大および脳の空胞変性はいずれも観察されなかった。

以上のように、1-ブromo-3-クロロプロパンの反復投与により、500 mg/kg の用量では、脳の視床下部、視床に空胞変性がみられ、雄では痙攣等の神経症状を示した後に死亡した。また、100 mg/kg 以上の用量では、雌雄とも肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大がみられ、雄

では精細管の萎縮が認められた。この他貧血所見がみられ、脾臓のヘモジデリン沈着が増強した。これらのことから、本試験条件下における 1-ブロモ-3-クロロプロパンの無影響量は、雌雄とも 20 mg/kg であると考えられる。

【緒 言】

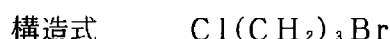
1-ブロモ-3-クロロプロパン（以下 BCP と略記）は、短鎖ハロゲン化アルカンの一種で、短鎖ハロゲン化アルカンは抽出溶剤、脱脂混合剤、コポリマー架橋性薬剤、殺虫剤等に使用されている¹⁾。BCP の毒性については、ラットにおける単回経口投与時の LD₅₀が 930 mg/kg であること²⁾、また、微生物を用いた変異原性試験では、陽性であることなどが報告されている³⁾。さらに、ハロゲン化プロパンは、ラットの腎臓や精巣に DNA 障害に起因する変化を起こし、中でも 1,2-ジブロモ-3-クロロプロパン、1,2,3-トリブロモプロパンはその作用が強いが、BCP は比較的毒性の弱い物質として分類されている¹⁾。今回、OECD 既存化学物質安全性点検等に係る毒性調査の一環として、BCP の安全性確認の資料を得るために、ラットにおける28日間反復経口投与毒性試験および14日間回復試験を実施した。

なお、本試験は、「化審法毒性試験法、スクリーニング毒性試験－ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験－」（昭和61年12月5日、環保業第700号、薬発第1039号、61基局第1014号）および「化学物質GLP」（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和63年11月18日改正、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に準拠して実施した。

【方 法】

1. 被験物質

被験物質として、1-ブロモ-3-クロロプロパン（以下 BCP と略記）を用いた。本被験物質は、別名を塩化臭素トリメチレンと称し、英名は 1-bromo-3-chloropropane であり、CAS No.109-70-6、分子量 157.44、分子式 C_3H_5BrCl 、沸点 143.36℃、蒸気圧 9 mmHg (25℃) の無色透明の液体である。BCP の構造式を以下に示す。



本試験には、より提供された BCP（ロット番号： 純度：99.9 area %）を用いた。受領した被験物質は、使用時まで被験物質受領保管室にて、遮光して室温で保管した。

2. 使用動物および飼育方法

生後4週で購入した雌雄の Sprague-Dawley 系ラット [Crj:CD(SD) IGS、SPF、日本チャールス・リバー株式会社、筑波飼育センター] (注1) を検疫と馴化を兼ねて6日間にわたり予備飼育した後、一般状態に異常の認められなかった雌雄各30匹を試験に供した (注2)。動物は、全飼育期間を通じて、基準温度 $24 \pm 1^\circ C$ 、基準湿度 50~65%、換気回数約15回/時、照明12時間 (7~19時点灯) に設定された飼育室内で、金属製金網床ケージ (220w×270d×190h mm) に1匹ずつ収容し、固型飼料 (CE-2、日本クレア株式会社) および水道水 (秦野市水道局給水) を自由摂取させて飼育した。なお、飼育期間中、飼育室の温湿度の実測値は、空調機の定期的管理作業あるいは湿式清掃のために最長約1時間45分にわたり湿度が基準値を外れた以外いずれも基準値内にあった (注3)。また、供給した飼料および水には、試験に支障を来す可能性のある混入物はなかった。

(注1)

動物購入日：1999年2月10日

入荷匹数：雄34匹 雌34匹

入荷時体重：雄77.9~95.4g (平均85.6g) 雌73.7~84.9g (平均78.5g)

(注2)

投与開始日：1999年2月16日

投与開始時体重：雄131.6~159.6g (平均146.5g) 雌117.3~134.2g (平均126.9g)

(注3)

動物飼育期間中の温湿度の実測値 温度23.0~24.5℃ 湿度44~68%

各動物の耳介には、耳パンチを用いて一連の動物番号を標識し、また、群ごとに色の異なる動物カードに試験計画番号、性別、群（投与量）、動物番号を記入して飼育ケージに掛け、個体識別の補助とした。

3. 投与検体の調製

用量ごとに被験物質を秤量し、所定濃度となるようにコーン油（英名：Corn oil、商品名：トウモロコシ油、ロット番号：V8P7069、ナカライテスク株式会社）を加えて溶解して調製した。

秦野研究所にて、初回に調製した各濃度の投与検体の含量測定を実施した結果、溶液中の被験物質の平均含量は、所定濃度の99.9～102%であった（Appendix A）。また、動物試験に先立って、安定性試験を実施した結果、被験物質の 0.4 および 20 w/v% 溶液は、室温、遮光条件下で10日間は安定であることが確認された（Appendix B）ため、投与検体の調製は1週間に1回の頻度で調製し、室温、遮光下で保管した。なお、投与検体は溶液であることから、均一性試験は実施しなかった。調製検体中の被験物質の濃度は、ガスクロマトグラフ法により測定した（Appendix C）。

4. 群および群分け

本試験の投与量は、投与量設定のための予備試験（試験計画番号：C-98-008、投与量：0、125、250 および 500 mg/kg）の結果に基づき決定した。すなわち、BCP を Sprague-Dawley 系ラットに7日間反復投与することにより、雌雄とも 500 mg/kg 投与群で、投与後に活動性の低下および閉眼などの症状が観察され、投与初期には体重の減少ないし増加抑制がみられるが、いずれの所見も悪化する傾向はなかった。以上のことから、500 mg/kg は、被験物質による毒性影響が明らかに認められ、かつ28日間の反復投与に耐えうる用量であると判断し、本試験の用量は、高用量を 500 mg/kg とし、以下公比 5 で除して 100 および 20 mg/kg を中用量および低用量とした。また、雌雄とも媒体であるコーン油を投与する対照群を設けた。

本試験では、雌雄とも投与期間終了後14日間の回復試験を行う対照群および 500 mg/kg 投与群は各10匹、その他の群は各 5 匹としたが、500 mg/kg 投与群の雄では投与期間中に10例中 9 例が死亡または切迫屠殺したため、回復試験は、雌雄の対照群および雌の 500 mg/kg 投与群の各 5 匹で実施した。

群分けは、検疫終了時の測定体重をもとに体重別層化無作為抽出法により行った。各群の投与量および動物番号等を以下に示した。

群	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	動物番号	
			雄	雌
対 照 群	0	5	1～10	31～40
低用量群	20	5	11～15	41～45
中用量群	100	5	16～20	46～50
高用量群	500	5	21～30	51～60

雌雄の対照群および雌の 500 mg/kg 投与群では、動物番号の若い方から 5 匹を回復試験に用いた。

5. 投与方法

投与経路は、化審法ガイドラインに従い経口とした。投与時刻は 9 時から 12 時の間とし、1 日 1 回、28 日間、ラット用胃管を用いて強制投与した。投与容量は 5 mL/kg とし、各投与時の最近時の体重をもとに個体別に算出した。

なお、投与期間中の日数および週の表記法は、投与開始日および投与開始週をそれぞれ投与第 1 日および投与第 1 週とし、回復試験期間中の日数および週の表記法もこれに準じて回復第 1 日および回復第 1 週とした。

6. 検査項目

1) 一般検査

全例について、毎日（投与期間中は投与前および投与後）一般状態の観察を行った。また、全例の体重および摂餌量を以下のとおり測定した。体重は、投与第 1 週には投与第 1 日の投与直前と投与第 4 日、投与第 2 週以降の投与期間および回復試験期間中は 1 週に 2 回の頻度で測定した。その他、投与期間終了日、回復試験期間終了日および剖検日、ならびに死亡および切迫屠殺時にも測定した。摂餌量は、投与第 1 週では、投与第 1 日から 2 日にかけて 1 日あたりの摂餌量を測定し、以後回復試験期間終了週まで毎週 1 回の頻度で測定した。

2) 尿検査

各群とも生存している全例について、投与第 4 週（投与第 24 日）および回復試験期間終

了週（回復第10日）に、動物を代謝ケージに収容し、4時間尿あるいは新鮮尿で次の項目について検査した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
色調・混濁度 pH・潜血・蛋白・糖・ケトン体 ウリノーゲン・ビリルビン	視 診 試験紙法 同上	— クリテック 200+ (バイエル・三共) 同上

3) 血液学検査

投与期間終了時および回復試験期間終了時に解剖を行った動物（以下、定期解剖例と記す）は、全例採血前（屠殺剖検前）に18～24時間絶食させた。その後、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で、腹部後大静脈から抗凝固剤として EDTA-2K を用いて採血し、以下の項目について検査した。なお、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の測定に用いる血液については、クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として用いて採取した。また、切迫屠殺例でも絶食を除き、可能な限り定期解剖例と同様の検査を実施したが、5例中3例ではプロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間測定用の採血および検査は、他の検査項目を優先したため実施しなかった。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
赤血球数 (RBC)	自動（電気抵抗法）	Coulter Counter Model S-PLUS IV (コルター・エレクトロニクス)
白血球数 (WBC)	同上（ 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)	同上（電気抵抗法）	同上
血小板数	同上（ 同上 ）	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)	同上 ($Hb \times 1000 / RBC$)	
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	同上 ($Hb \times 100 / Ht$)	
白血球分類	視算（静脈血塗抹標本 Wright-Giemsa 染色）	光学顕微鏡
網状赤血球比率	Brecher 法	同上
プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出法	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

4) 生化学検査

前述の採血に引き続き、同様の麻酔および採血部位の条件下で、死亡例を除く全例からヘパリンを抗凝固剤として用いて採取した血液について、以下の項目を検査した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
総蛋白濃度	ビレット法	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
総コレステロール濃度	COD・DAOS法	同上
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼ G6PDH法	同上
尿素窒素濃度 (BUN)	ウレアーゼ G O. DH法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé法 (Rate)	同上
ALP活性	GSCC法	同上
GOT活性	IFCC法	同上
GPT活性	同上	同上
γ-GTP活性	γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法	同上
トリグリセリド濃度	GPO・DAOS法	同上
無機リン濃度 (Inorg. phos.)	モリブデン酸直接法	同上
カルシウム濃度	OCPC法	同上
A/G比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05 (A&T)
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

5) 病理学検査

採血後、死亡例を除いては必要に応じて腋窩動脈を切断して放血屠殺した後、器官および組織を肉眼的に観察し、各動物の以下に示す器官の重量を測定した。また、各器官重量を剖検日の体重で除してそれぞれの相対重量を算出した。

重 量 測 定 器 官
脳、心臓、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣

肉眼的観察に引き続き、以下の器官あるいは組織を摘出して保存した。精巣および精巣上体はブアン液に固定し（長期保存は 0.1 M リン酸緩衝10%ホルマリン溶液を使用した）、その他の器官・組織は 0.1 M リン酸緩衝10%ホルマリン溶液に固定した。次に、投与期間終了時の全群の*印を付した器官・組織をパラフィン包埋して薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製した。その後、光学顕微鏡を用いて、対照群および切迫屠殺例ならびに死亡例を含む高用量群の組織学検査を実施した。なお、当初、脳および脊髄は、組織学検査対象器官ではなかったが、切迫屠殺例および死亡例に痙攣などの神経症状が観察されたため、これに加えた。その他、全例の肉眼的に異常が認められた器官・組織の標本作製し、組織学検査を行った。

以上の病理学検査ならびに血液学検査の結果から、雌雄の肝臓、脳、脾臓、胃および大

腿骨骨髓、雄の精巣および精巣上体に被験物質投与との関連が疑われる変化が認められたため、必要な組織標本を追加作製し、これらの器官・組織については、全例の組織学検査を実施した。さらに、脾臓については、被験物質投与群の褐色色素沈着の程度が対照群と比較して強かったことから全例のベルリンブルー染色標本を作製し、組織学検査を追加した。

固 定 ・ 保 存 器 官 ・ 組 織

脳*、下垂体、脊髄*、眼球、甲状腺、上皮小体、心臓*、気管、気管支、肺、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、精巣*、精巣上体*、前立腺、精囊、卵巣*、子宮、陰、乳腺、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、骨格筋（下腿部）、坐骨神経、大腿骨骨髓、脾臓、顎下腺、舌下腺、舌、食道、大動脈、ハーダー腺、皮膚、病変部

7. データ解析法

体重、摂餌量ならびに定期解剖例の血液学検査、生化学検査および器官重量は、群ごとに平均値および標準偏差を求めた。また、試験群の構成が対照群を含めて3群以上あった場合は、Bartlettの方法により分散の一意性について検定（有意水準：5%）を行った。分散が一意である場合には一元配置型の分散分析を行い、群間に有意性（有意水準：5%）が認められた場合は、Dunnett法により多重比較を行った。また、分散が一意でない場合は、Kruskal-Wallisの順位検定を行い、群間に有意性（有意水準：5%）が認められた場合には、Dunnett型の検定法で多重比較を行った。但し、いずれかの群で分散が0となった場合には、Bartlett法による検定は行わずにKruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett型の検定法により多重比較を行った。一方、試験群が対照群を含め2群となった場合には、対照群と被験物質投与群の平均値の差の検定は、各群の平均値および標準偏差値を求めた後、F検定（有意水準：5%）を行い、等分散の場合にはStudentのt検定法、不等分散の場合にはAspin-Welchのt検定法を用いて有意差検定を行った。但し、どちらかの群で分散が0となった場合には、t検定は実施しなかった。さらに、病理組織所見中グレード分けしたデータはMann-WhitneyのU検定（両側検定）法により、また、陽性グレードの合計値はFisherの直接確率片側検定法により、対照群と被験物質投与群との間の有意差検定を行った（有意水準：5%）。

【結 果】

1. 死亡例 (Table 1、Appendix 1)

投与第21日から25日の間に、500 mg/kg 投与群の雄10例中4例が死亡し、また、5例が瀕死状態となったため、切迫屠殺した。

2. 一般状態 (Table 1、Appendix 1)

500 mg/kg 投与群の雌雄では、投与第1週から3週に、活動性の低下、閉眼あるいは半眼が散見されたが、これらの症状はいずれも投与翌日には消失した。また、投与第3週以降に、雌雄とも前肢の引っ掻き様常同行動がみられるようになり、雄では投与第20日以降に間代性あるいは強直性痙攣がみられ、痙攣の発症した例では死亡あるいは瀕死状態となった。これらの例では、痙攣がみられるようになると腹臥位あるいは横臥位姿勢をとり、呼吸深大、過敏、削瘦、被毛の汚れ、排便量の減少、立毛などの症状が付随して認められた。この他、500 mg/kg 投与群では、投与期間中に流涎が散発的に観察された。これらの症状に加えて、投与期間中、100 mg/kg 以上の投与群に流涎が認められた。すなわち、投与直後の流涎が、500 mg/kg 投与群の雌雄全例、100 mg/kg 投与群の雄3例、雌2例に認められた。500 mg/kg 投与群でみられた流涎は、投与後1時間以上継続してみられることが多く、また、投与初日から観察された例をはじめ、投与期間の前半からみられ、雄2例、雌1例では投与後1時間以上経過した後に認められることもあった。一方、100 mg/kg 投与群でみられた流涎は、いずれも投与後1時間以内に消失する一過性のものであった。なお、100 および 500 mg/kg 投与群でみられた流涎は、個体によっては投与時の保定の段階でみられることがあった。さらに、500 mg/kg 投与群の雌では、投与最終日から尿によると考えられる下腹部を中心とした被毛の汚れがみられ、2例では回復試験期間終了時まで継続して認められた。その他、500 mg/kg 投与群の雄1例では、原因不明の頭部の腫脹が投与第14日から23日にかけてみられ、また、20 mg/kg 投与群の雄1例では、事故によるものと考えられる上顎切歯の不整咬合が投与第24日以降に認められた。

3. 体重 (Fig. 1、Table 2、Appendix 2)

500 mg/kg 投与群の雄では、投与第15日以降の体重が対照群と比較して有意な低値を示したが、他の被験物質投与群では、観察期間中、対照群との間に体重の有意な差は認めら

れなかった。

4. 摂餌量 (Fig. 2、Table 3、Appendix 3)

500 mg/kg 投与群では、雌雄とも投与第1週の摂餌量が対照群と比較して有意な低値を示し、また、雄では投与第4週の摂餌量も有意な低値であったほか、雌では投与第3週の摂餌量が有意な高値を示した。その他の被験物質投与群では、観察期間中、対照群との間に摂餌量の有意な差は認められなかった。

5. 尿検査所見 (Table 4、Appendix 4)

投与第24日の検査では、500 mg/kg 投与群の雌雄とも尿 pH が低い傾向にあり、pH 6 以下を示す例が、対照群では雌雄各10例中雌の1例であったのに対し、500 mg/kg 投与群では雄3例中2例、雌10例中6例であった。また、対照群の雌1例、500 mg/kg 投与群の雌2例では、尿潜血反応が陽性であった。また、回復第10日の検査では、各検査項目とも、対照群と被験物質投与群との間に著しい差は認められなかった。

6. 血液学検査所見 (Table 5、Appendix 5)

1) 投与期間終了時

100 mg/kg 投与群の雄では、ヘマトクリット値の有意な減少と平均赤血球血色素濃度の有意な上昇がみられ、平均赤血球血色素濃度は、20 mg/kg 投与群の雄でも有意な上昇が認められた。なお、雌では投与期間終了時のいずれの検査項目においても、対照群と被験物質投与群の間に有意な差は認められなかった。

2) 回復試験期間終了時

被験物質投与群の雌では、赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の有意な減少が認められた。

3) 切迫屠殺例

投与期間中の切迫屠殺例では、血液学検査所見に一定の傾向の変化は認められなかった。

7. 生化学検査所見 (Table 6、Appendix 6)

1) 投与期間終了時

被験物質投与群では塩素濃度が用量に依存して上昇した。すなわち、雄では 20 および

100 mg/kg 投与群、また、雌では 100 mg/kg 以上の投与群において塩素濃度の有意な上昇がみられ、500 mg/kg 投与群の雄 1 例でも著しく高い値を示した。また、500 mg/kg 投与群の雌では、アルブミン濃度、カリウム濃度、 γ -GTP 活性の有意な上昇がみられたほか、尿素窒素濃度の有意な低下が認められた。この他、100 mg/kg 投与群の雄では、クレアチニン濃度の有意な低下が認められた。

2) 回復試験期間終了時

被験物質投与群の雌では塩素濃度の有意な上昇がみられたほか、クレアチニン濃度の有意な上昇と GPT 活性の有意な低下が認められた。

3) 切迫屠殺例

投与期間中の切迫屠殺例では、投与期間終了時の検査と同様に塩素濃度の著しい上昇がみられたほか、他の電解質も高い傾向にあった。

8. 病理学検査所見

1) 器官重量 (Table 7, 8, Appendix 7, 8)

(1) 投与期間終了時解剖例

100 mg/kg 投与群の雄および 500 mg/kg 投与群の雌では、肝臓の絶対および相対重量ともに有意な増加がみられ、100 mg/kg 投与群の雌では、相対重量の有意な増加が認められた。500 mg/kg 投与群の雌では、腎臓の絶対および相対重量の有意な増加がみられ、100 mg/kg 投与群の雄では、絶対重量の有意な増加が認められた。この他、20 mg/kg 投与群の雌では、脾臓の絶対重量に、また、500 mg/kg 投与群の雌では、心臓の相対重量に、それぞれ有意な増加が認められた。

(2) 回復試験期間終了時

被験物質投与群の雌では、脳の絶対重量に有意な減少がみられ、心臓および肝臓の相対重量に有意な増加が認められた。

(3) 切迫屠殺例

投与期間中の切迫屠殺例における器官重量では、肝臓および腎臓重量が増加し、脾臓重量が低値の傾向にあった以外に著しい変化は認められなかった。

2) 肉眼所見 (Table 9、Appendix 9)

(1) 投与期間終了時解剖例

腺胃粘膜の肥厚が 500 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 2 例に、腺胃の暗色点が 500 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた。また、肺の暗色点が 100 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。

(2) 回復試験期間終了時

卵巣の暗色点が 500 mg/kg 投与群の 1 例に認められた。

(3) 死亡例および切迫屠殺例

投与第21日から25日の間に死亡あるいは切迫屠殺した 9 例のうち、4 例では前胃および腺胃粘膜の肥厚が、また、他の 4 例では腺胃粘膜の暗色点が認められた。また、脾臓の小型化が 8 例、淡色化が 4 例に観察された。その他、腎臓の大型化と肺の暗色部がそれぞれ 2 例に認められた。

3) 組織学検査所見 (Table 10、Appendix 10)

(1) 投与期間終了時解剖例

肝臓では、軽微から軽度な小葉中心性の肝細胞肥大 (Photo 1) が 100 mg/kg 以上の投与群の雌雄に観察された。脳では、視床下部、視床に軽微から軽度な空胞変性 (Photo 2) が 500 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 5 例に観察された。脾臓では、ヘモジデリン沈着が 500 mg/kg 投与群の雌で増強した。精巣では、軽微な精細管の萎縮が 500 mg/kg 投与群の 1 例、100 mg/kg 投与群の 2 例に観察され、500 mg/kg 投与群の 1 例では精巣上体管腔内にも細胞残屑がみられた。卵巣には異常所見は認められなかった。胃では、軽微な前胃粘膜の過形成が 500 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 2 例および 100 mg/kg 投与群の雄 1 例に認められた。この他、Table 10-1-1 および 10-1-2 に示す所見が観察されたが、いずれも対照群と比較してその程度あるいは頻度に有意差のある変化ではなかった。なお、肉眼的に病変がみられた部位の所見として、腺胃粘膜の肥厚が観察された 500 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 2 例のうち、雌 2 例では腺胃の粘膜固有層に好中球の浸潤が認められ、腺胃の暗色点が観察された 500 mg/kg 投与群の雌 1 例では、腺胃粘膜の出血が観察された。また、肺の暗色点が観察された 100 mg/kg 投与群の雄 1 例では、この部に一致して肺胞の限局性出血がみられた。他の病変部には異常は認められなかった。

(2)回復試験期間終了時解剖例

脾臓では、被験物質投与群にヘモジデリン沈着の増強が認められた。また、肉眼的に病変がみられた部位の所見として、卵巣の暗色点が観察された被験物質投与群の1例では、黄体の軽微な出血が観察された。なお、投与期間終了時に被験物質投与群でみられた肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大および脳の空胞変性は、回復試験期間終了時の検査ではいずれも観察されなかった。

(3)死亡例および切迫屠殺例

肝臓では、軽微から軽度な小葉中心性の肝細胞肥大が8例に、また、軽微な門脈周囲性の脂肪化が5例に認められた。脳では、視床下部、視床の軽微から軽度な空胞変性が7例に観察された。脾臓では、軽度な萎縮が3例にみられ、軽微から軽度のヘモジデリン沈着が8例に認められたほか、髄外造血は1例を除き認められなかった。精巣では、精細管の萎縮 (Photo 3) が8例にみられ、その程度は中等度1例、軽微7例であった。精巣上体では、管腔内の細胞残屑が全例にみられたほか、精子数の減少が2例に認められた (Photo 4)。胃では、軽微から軽度な前胃粘膜の過形成が8例に観察されたほか、前胃あるいは腺胃粘膜のびらんが3例、前胃粘膜固有層の好中球浸潤が1例、腺胃粘膜固有層の好中球浸潤が6例にみられ、肉眼的に肺の暗色部がみられた2例中1例では肺水腫が認められたほか、Appendix 10-3 に示す所見が観察された。

【考 察】

BCP をコーン油に溶解して、20、100 および 500 mg/kg の用量で雌雄の Sprague-Dawley 系ラットに28日間にわたって強制経口投与し、その後14日間の回復試験期間を設けた。

その結果、主として脳、肝臓、精巣および造血系で被験物質投与に起因したと考えられる毒性変化が生じ、500 mg/kg 投与群の雄には死亡例がみられた。すなわち、500 mg/kg 投与群の雌雄では、投与期間の前半に、活動性の低下、閉眼あるいは半眼が散見され、その後、前肢の引っ掻き様常同行動がみられるようになり、雄では投与第20日以降、間代性あるいは強直性痙攣がみられ、痙攣の発症した例では死亡あるいは瀕死状態となった。この他、投与期間中に、100 mg/kg 以上の投与群では流涎が、また、500 mg/kg 投与群では流涙が観察され、特に 500 mg/kg 投与群の流涎は、投与後1時間以上継続してみられる例が多かった。これらの所見に関連した変化として、500 mg/kg 投与群では、死亡あるいは切迫屠殺例を含め、雌雄とも視床下部あるいは視床に空胞変性が認められた。また、雌の回復試験では、投与を中止した後、前述の症状は消失し、回復試験終了時解剖例の脳の絶対重量が減少したが、組織学検査では異常所見がなかったことから、雌では脳の所見は可逆的变化であることが確認された。後述するように、BCP 投与により、血漿中の臭素イオン濃度が上昇していると考えられ、いわゆるブロム中毒の可能性があるが、一般に臭化物は脳皮質の機能を鎮静化するとされており、今回みられた痙攣を伴う症状の報告はみあたらない。また、大西ら⁴⁾は、BCP と同様なハロゲン化プロパンの一種である 1-bromopropane の吸入曝露により失調性歩行と小脳プルキンエ細胞の変性を生じることが明らかにしているが、その症状と組織学変化は、今回の試験結果と一致しなかった。

肝臓に関する所見としては、100 mg/kg 以上の投与群で雌雄とも肝臓重量が増加し、小葉中心性の肝細胞肥大が観察された。生化学検査所見としては、500 mg/kg 投与群の雌でアルブミン濃度が増加し、 γ -GTP 活性の上昇がみられたが、いずれも変化としては、軽度なものであった。また、雌の回復試験では、肝臓の相対重量の増加はみられたが、投与期間終了時にみられた他の変化は認められなかった。これらの所見の成因および関連性については、本試験では明らかにすることはできなかったが、BCP 投与により肝臓への影響があるものと考えられる。

精巣に関する所見としては、100 mg/kg 以上の投与群で精細管の萎縮があり、500

mg/kg 投与群では、精巣上体管腔内の細胞残屑と精子数の減少が認められる例があった。BCP のサルモネラ菌に S9Mix を加えた代謝活性化法の変異原性試験は陽性であり³⁾、また、ハロゲン化プロパンは、ラットの精巣に DNA 障害に起因する変化を起こすことが知られている¹⁾ことから、本試験でみられた精巣および精巣上体の所見も、被験物質投与に起因する変化と考えられる。

血液学検査所見としては、投与期間終了時では、100 mg/kg 投与群の雄にヘマトクリット値の減少と平均赤血球血色素濃度の上昇が認められた。また、雌では投与期間終了時には血液学検査所見に変化はなかったが、回復試験期間終了時の検査では、赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の減少が認められた。これらの変化に関連して、500 mg/kg 投与群の脾臓ではヘモジデリン沈着の増強がみられたが、骨髓には変化は認められなかった。ハロゲン化プロパンの一種である 1,2-dichloropropane 投与により、血中グルタチオンが低下し、溶血が生じることが報告されており²⁾、今回投与期間終了時の 100 mg/kg 投与群の雄および回復試験期間終了時の雌でみられた貧血所見も BCP 投与による溶血が主な成因と考えられる。なお、投与期間終了時に 20 mg/kg 投与群の雄でも平均赤血球血色素濃度の有意な上昇がみられたが、赤血球数は対照群の値を上回っていたことから投与による影響であるか否かは不明であった。

この他、血漿中の塩素濃度測定値が用量に依存して上昇し、雄では 20 mg/kg 以上、雌では 100 mg/kg 以上の用量で有意差が認められ、500 mg/kg 投与群では、150 mEq/L を超える個体もあった。関連する所見としては、500 mg/kg 投与群の雌では、カリウム濃度の上昇がみられ、また、同群では、雌雄とも投与第 4 週に検査した尿の pH は低い傾向にあった。塩素濃度の測定には、イオン電極法を用いたが、この方法は臭素イオン等により影響を受けることが知られている⁶⁾ことから、塩素濃度の高い値を示した例の血漿について、イオンクロマトグラフ法により各陰イオン濃度の確認をした。その結果、多量の臭素イオンが検出され、本試験で認められた血漿中塩素濃度測定値の上昇には臭素イオンが影響したものと判断した。したがって、BCP 投与により血中の臭素イオンが増加し、高用量群では臭素イオンの排泄にともなって水素イオンの排泄が増えて尿の pH が低い値を示したものと考えられる。

死亡例および切迫屠殺例を主に、前胃粘膜の過形成、前胃あるいは腺胃粘膜のびらん、胃粘膜固有層の好中球の浸潤などの所見が認められた。これらは高用量群を中心に投与後の流涎が顕著であったことから、投与検体の刺激性に起因した変化と考えられる。

その他、500 mg/kg 投与群では、雄において投与第15日以降の体重に減少あるいは増加抑制がみられ、雌雄とも投与第1日から2日の摂餌量が低値であった。これらの変化は、前述の一般状態の症状に関連した変化と考えられる。なお、500 mg/kg 投与群の雌において、投与第3週の摂餌量が高値を示したが、体重に増加傾向もみられないことから餌こぼし量の増加による可能性がある。また、500 mg/kg 投与群の雌では腎臓および心臓重量に、100 mg/kg 投与群の雄では腎臓重量に、それぞれ増加がみられたが、いずれも組織学検査では関連する変化が認められず、これらの器官の重量増加の成因は、本試験では明らかにすることはできなかった。

これら以外に、生化学検査所見および器官重量で、対照群と被験物質投与群との間に有意差が認められた項目があったが、他の関連所見がなかったこと、用量依存性のある変化でなかったことなどから、被験物質投与に起因した変化でないと考えられた。

以上のように、BCP の反復投与により、500 mg/kg の用量では、脳の視床下部、視床に空胞変性がみられ、雄では痙攣等の神経症状を示した後に死亡した。また、100 mg/kg 以上の用量では、雌雄とも肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大がみられ、雄では精細管の萎縮が認められた。この他貧血所見がみられ、脾臓のヘモジデリン沈着が増強した。これらのことから、本試験条件下における BCP の無影響量は、雌雄とも 20 mg/kg であると考えられる。

【文 献】

- 1) Lag M., Soderlund E. J., Omichinski J. G., Brunborg G., Holme J. A., Dahl J. E., Nelson S. D., Dybing E. : Effect of bromine and chlorine positioning in the induction of renal and testicular toxicity by halogenated propanes. Chem. Res. Toxicol. 4. 528-534 (1991)
- 2) RTECS(R) : 98-3 (August, 1998)
Reference : Toksikologiya Novykh Promyshlennykh Khimicheskikh Veshchestv. 12. 93-100 (1971)
- 3) 労働安全衛生法 有害性調査制度に基づく既存化学物質 変異原性試験データ集 : 社団法人日本化学物質安全・情報センター (1996) pp. 167
- 4) 大西晃生、石田尾徹、笠井孝彦、嵐谷奎一、保利一 : ラットにおける 1-Bromopropane の神経毒性 産業医科大学雑誌 21 (1) : 23-28 (1999)
- 5) Imberti R., Mapelli A., Colombo P. Richelmi P., Bertè F., Bellomo G. : 1,2-Dichloropropane (DCP) toxicity is correlated with DCP-induced glutathione (GSH) depletion and is modulated by factors affecting intracellular GSH. Archives of Toxicology 64. 459-465 (1990)
- 6) 化学物質点検推進連絡協議会化学物質毒性試験報告 vol. 4、pp. 81-86、東京 (1996)

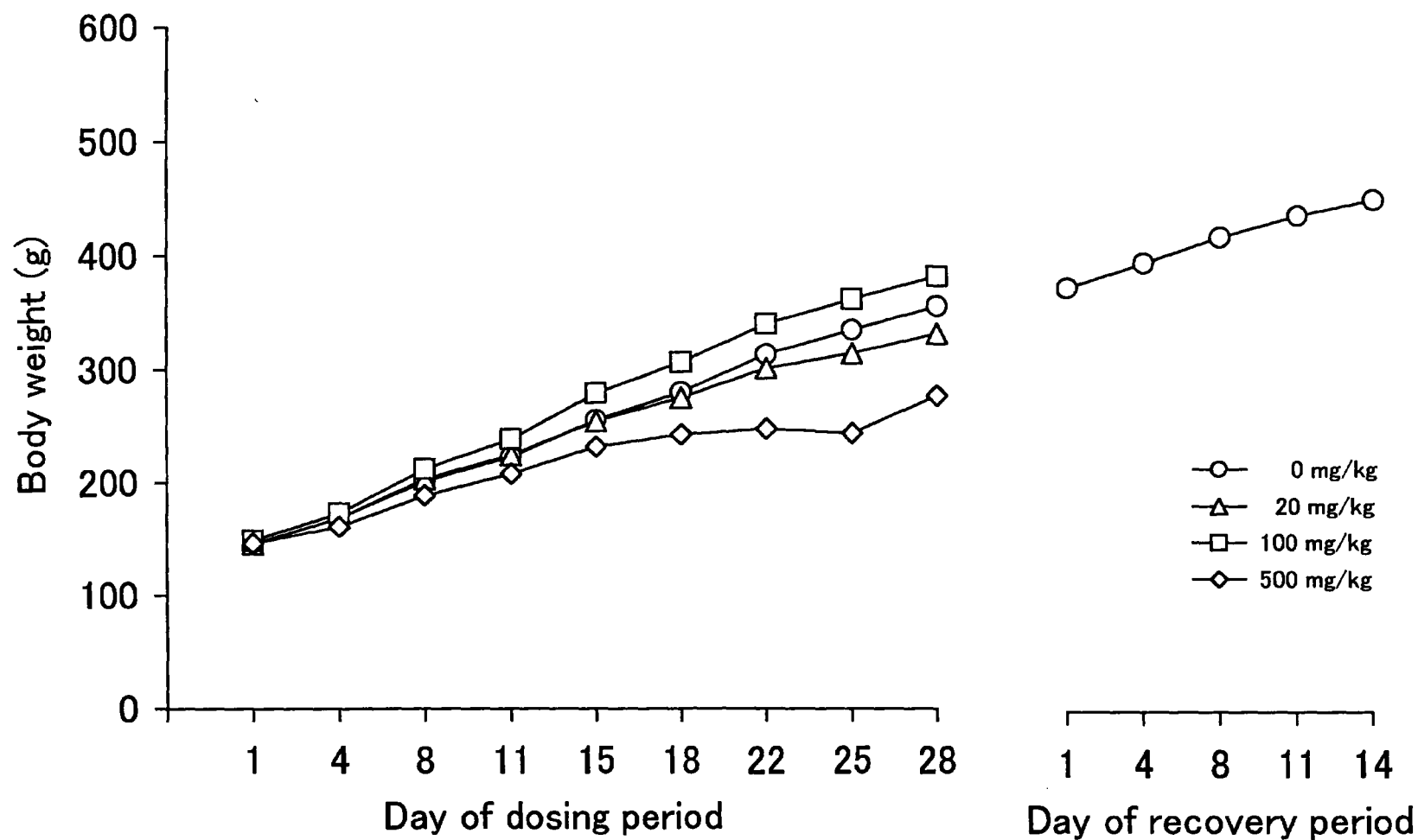


Fig. 1-1
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Body weight changes in males

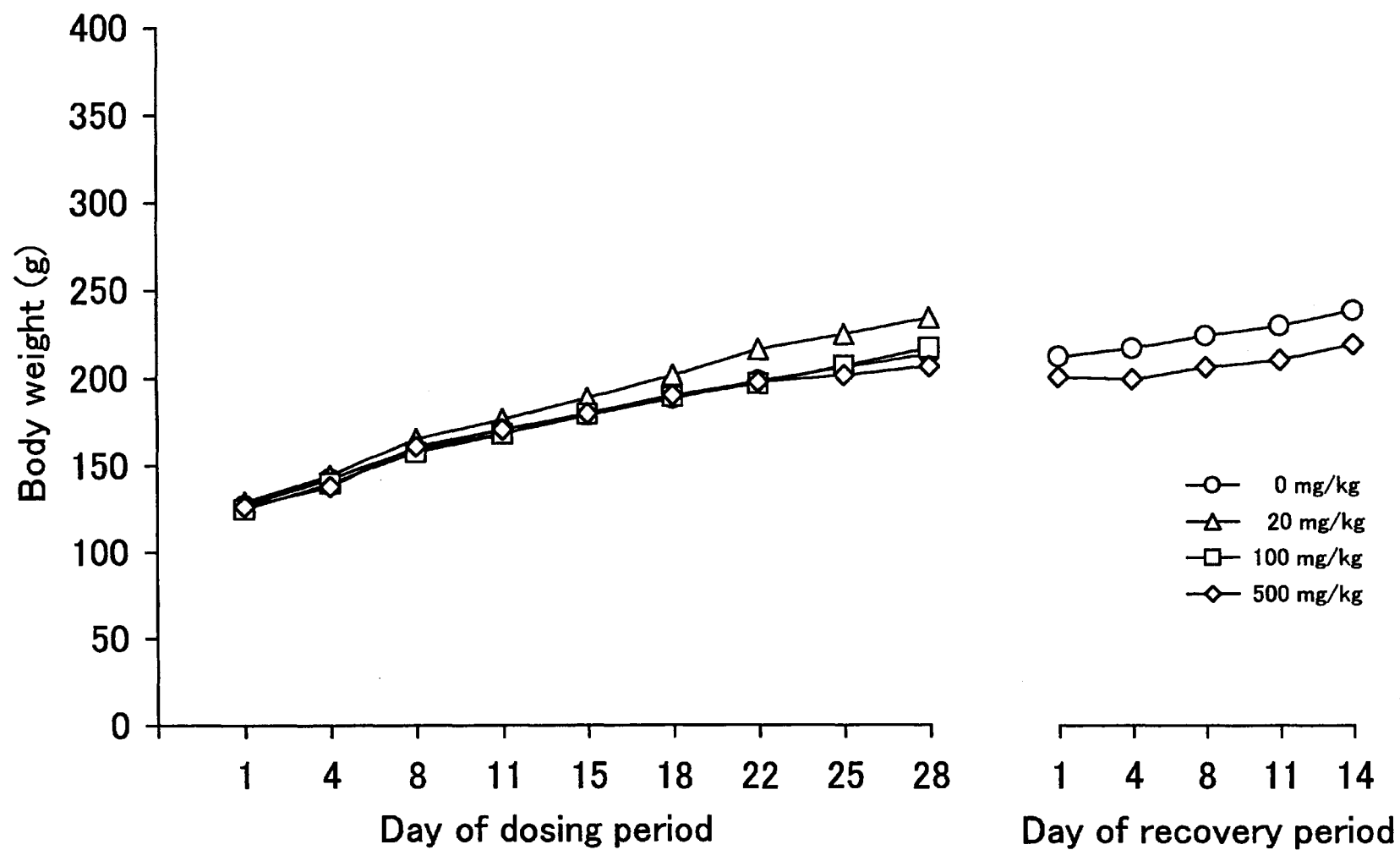


Fig. 1-2
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Body weight changes in females

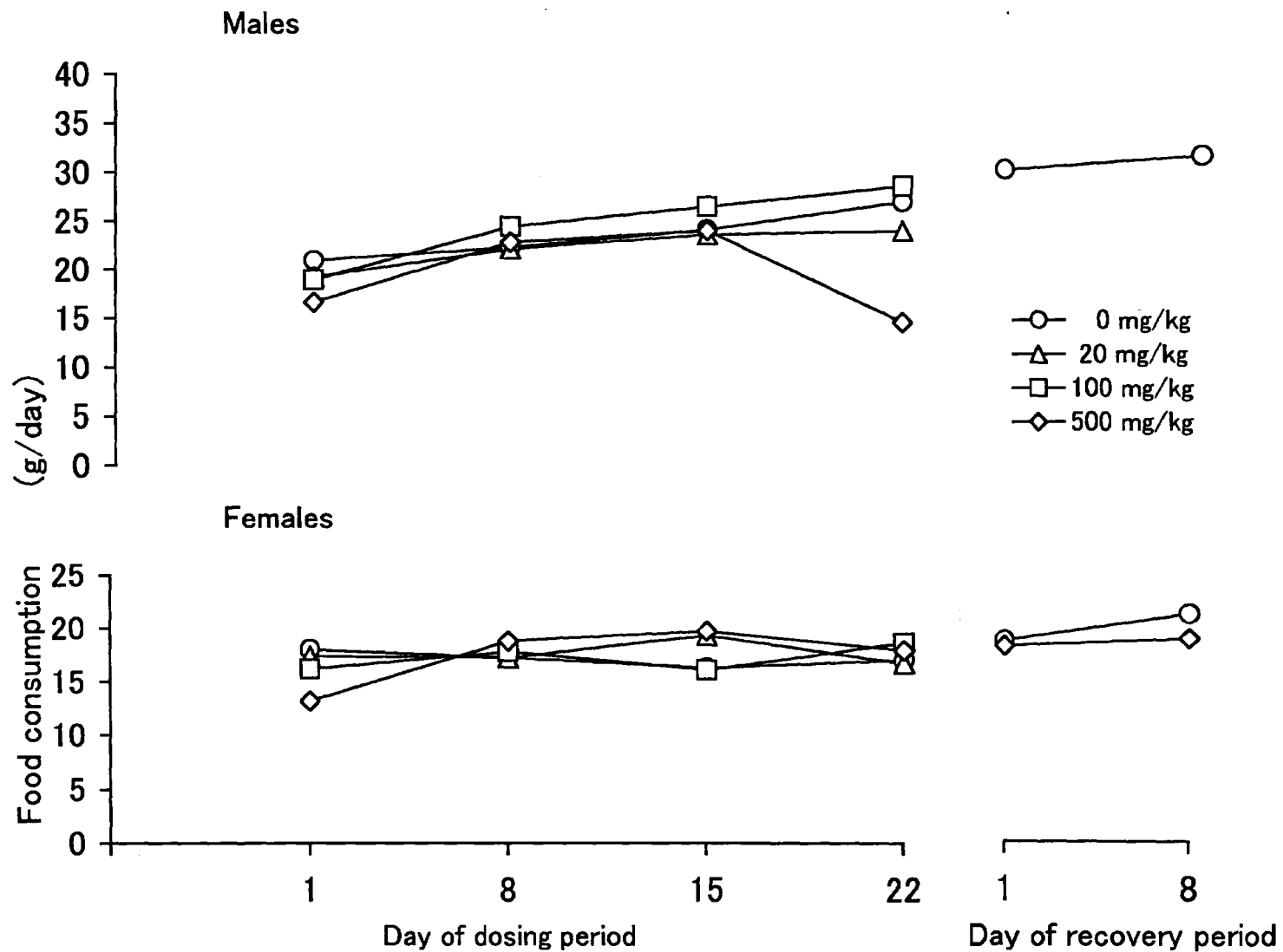


Fig. 2
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Food consumption in males and females

Table 1-1
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Clinical signs in males

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs																												Day of recovery period ^{a)}				Total
			Day of dosing period																												1~10	11	12	13	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28					
Salivation occurred just after administration (disappeared within about one hour)	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	3		
	500	10	1	2	2	6	4	8	6	4	9	7	4	5	9	5	1	7	5	2	3	3	1	1	4	2	1	1	1	1	-	-	-	10	
Salivation occurred just after administration (continuously observed for about one hour or more)	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	-	-	-	2	2	-	2	6	1	3	6	5	1	5	9	3	5	8	7	7	6	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	
Salivation was observed about one hour after administration or later	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2	
Decrease in locomotor activity	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	1	3	2	2	-	-	-	2	-	-	2	1	2	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
Eyelid closure	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	1	2	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	
Incomplete eyelid opening	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	-	1	1	-	-	-	-	2	-	-	2	1	3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
Lacrimation	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	5	
Scratching	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	10	10	10	10	10	7	5	4	2	1	-	1	1	-	-	10	
Prone position	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
Cumulative number of death/ moribund sacrifice	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	5	6	8	9	9	9	9	-	-	-	9	

a), recovery test was performed in 5 animals of the vehicle control group.
-, no animal showed the sign.

Table 1-1 (continued)
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Clinical signs in males

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs																												Day of recovery period ^{a)}					Total
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	1~10	11	12	13	14	
Side position	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	6		
Labored respiration	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2		
Clonic convulsion	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
Tonic convulsion	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	4		
Hypersensitivity	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
Emaciation	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	5		
Soiled fur	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	6		
Decreased fecal volume	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	4		
Piloerection	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
Cumulative number of death/ moribund sacrifice	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	5	6	8	9	9	9	9	-	-	-	-		

a). recovery test was performed in 5 animals of the vehicle control group.
-, no animal showed the sign.

Table 1-1 (continued)

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Clinical signs in males

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs																												Day of recovery period ^{a)}					Total
			Day of dosing period																																	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	1~10	11	12	13	14	
Swelling of head	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1			
Malocclusion	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	1	-	-	-	1			
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
Cumulative number of death/ moribund sacrifice	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	5	6	8	9	9	9	9	9	9			

a), recovery test was performed in 5 animals of the vehicle control group.

-, no animal showed the sign.

Table 1-2
Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Clinical signs in females

Clinical signs	Dose (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs																												Day of recovery period ^{a)}				Total	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	1~10	11	12	13		14
Salivation occurred just after administration (disappeared within about one hour)	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
	500	10	1	1	2	6	6	8	4	7	4	5	4	5	6	6	4	6	4	4	5	6	8	5	8	5	5	2	7	1	6	5	-	-	-	-
Salivation occurred just after administration (continuously observed for about one hour or more)	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	3	-	2	1	1	-	3	2	6	3	5	4	4	4	5	4	5	6	3	3	2	3	1	3	5	3	4	5	-	-	-	-	7	
Salivation was observed about one hour after administration or later	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
Decrease in locomotor activity	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	2	2	3	1	-	-	-	-	-	1	-	1	3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	
Eyelid closure	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
Incomplete eyelid opening	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	-	1	3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
Lacrimation	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1	-	2	1	-	1	-	-	1	-	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	7		
Scratching	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	1	10	10	-	10		
Soiled fur	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	100	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		
	500	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3	2	2	2	5	

a). recovery test was performed in 5 animals of the vehicle control and 500 mg/kg groups.
-, no animal showed the sign.

Table 2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Body weight changes in males

Dose (mg/kg)	Day of dosing period									Day of recovery period				
	1	4	8	11	15	18	22	25	28	1	4	8	11	14
0	(10) 145.7 ±7.1	(10) 169.1 ±7.5	(10) 201.4 ±9.9	(10) 223.1 ±12.9	(10) 255.5 ±18.3	(10) 279.5 ±22.3	(10) 313.1 ±28.3	(10) 334.2 ±31.5	(10) 355.1 ±32.9	(5) 371.8 ±37.9	(5) 393.5 ±40.6	(5) 415.9 ±44.9	(5) 434.9 ±47.1	(5) 448.2 ±52.0
20	(5) 146.1 ±2.3	(5) 169.1 ±6.0	(5) 203.5 ±11.0	(5) 224.7 ±15.4	(5) 254.2 ±21.4	(5) 274.8 ±25.6	(5) 300.9 ±30.6	(5) 314.0 ±34.9	(5) 331.2 ±37.6					
100	(5) 148.8 ±5.8	(5) 173.2 ±6.1	(5) 212.6 ±9.0	(5) 238.7 ±8.4	(5) 278.6 ±9.0	(5) 305.9 ±11.1	(5) 339.7 ±13.8	(5) 361.4 ±16.6	(5) 381.5 ±18.6					
500	(10) 146.3 ±6.4	(10) 161.3 ±7.6	(10) 188.9 ±19.7	(10) 208.1 ±19.3	(10) 231.9* ±24.2	(10) 242.7** ±22.9	(6) 247.7** ±17.6	(2) 243.4**	(1) 276.3					

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

*, significantly different from control, $p < 0.05$
**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Body weight changes in females

Dose (mg/kg)	Day of dosing period									Day of recovery period				
	1	4	8	11	15	18	22	25	28	1	4	8	11	14
0	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	127.2 ±5.4	142.5 ±6.9	159.7 ±8.8	168.9 ±10.2	179.1 ±13.3	188.7 ±14.9	198.7 ±17.4	206.3 ±17.2	214.0 ±19.3	212.4 ±13.4	217.3 ±15.1	224.4 ±20.7	230.0 ±18.7	239.0 ±19.6
20	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)					
	129.0 ±1.3	144.2 ±4.6	165.7 ±5.1	176.7 ±6.0	189.1 ±5.6	201.9 ±6.4	216.6 ±9.7	225.3 ±12.0	234.5 ±15.5					
100	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)					
	124.8 ±3.9	139.8 ±4.5	157.7 ±9.4	168.5 ±13.5	180.0 ±16.2	189.5 ±16.2	197.1 ±17.5	207.3 ±20.5	217.3 ±22.4					
500	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	126.4 ±3.7	138.0 ±6.4	161.3 ±10.3	171.1 ±11.1	180.2 ±11.7	190.6 ±17.8	198.1 ±16.4	201.9 ±19.8	206.9 ±20.0	200.9 ±21.0	199.5 ±22.5	206.5 ±22.9	210.7 ±22.0	219.5 ±21.8

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

Table 3-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Food consumption in males

Dose (mg/kg)	Day of dosing period				Day of recovery period	
	1	8	15	22	1	8
0	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
	20.9	22.3	24.1	27.0	30.5	32.0
	±1.2	±2.3	±2.8	±3.2	±4.5	±4.0
20	(5)	(5)	(5)	(5)		
	19.2	22.1	23.6	24.0		
	±1.1	±2.8	±3.3	±4.2		
100	(5)	(5)	(5)	(5)		
	18.9	24.4	26.5	28.6		
	±0.8	±1.4	±1.7	±3.3		
500	(10)	(10)	(10)	(5)		
	16.6**	22.8	24.0	14.6**		
	±2.4	±3.7	±2.5	±8.1		

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

**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 3-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Food consumption in females

Dose (mg/kg)	Day of dosing period				Day of recovery period	
	1	8	15	22	1	8
0	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
	18.0	17.2	16.3	17.0	19.3	21.9
	±1.6	±1.7	±2.3	±2.2	±3.4	±1.6
20	(5)	(5)	(5)	(5)		
	17.4	17.2	19.3	16.7		
	±1.1	±1.8	±3.1	±0.6		
100	(5)	(5)	(5)	(5)		
	16.2	17.8	16.1	18.6		
	±0.8	±2.3	±2.4	±3.5		
500	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
	13.2**	18.8	19.7*	17.9	18.8	19.5
	±2.3	±3.1	±3.3	±3.3	±4.8	±3.4

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

*, significantly different from control, p<0.05
**, significantly different from control, p<0.01

Table 4-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Urinalysis in males and females on day 24 of dosing period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Color ^{a)}			Turbidity ^{b)}		pH										Protein ^{c)}					Glucose ^{d)}		Ketone ^{b)}				Bilirubin ^{b)}		Occult blood ^{b)}					Urobilinogen ^{e)}	
			ly	y	yb	—	+	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	—	±	+	++	+++	—	—	±	+	++	—	+	—	±	+	++	+++	±	+		
Male	0	10	9	1	0	10	0	0	0	0	2	1	1	2	4	0	0	8	2	0	10	2	6	1	1	9	1	10	0	0	0	0	9	1			
	20	5	5	0	0	5	0	0	1	0	1	3	0	0	0	0	0	3	2	0	5	0	3	2	0	5	0	5	0	0	0	0	5	0			
	100	5	3	2	0	5	0	0	0	0	1	1	2	0	1	0	0	0	2	3	0	5	0	2	3	0	4	1	5	0	0	0	0	5	0		
	500	3	2	1	0	3	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	2	1	0	2	1	3	0	0	0	0	2	1		
Female	0	10	9	0	1	9	1	1	0	0	1	4	2	1	1	0	4	3	2	0	1	10	6	4	0	0	9	1	9	0	0	0	1	9	1		
	20	5	4	1	0	5	0	0	0	1	1	2	0	1	0	0	2	1	1	1	0	5	2	1	2	0	4	1	5	0	0	0	0	5	0		
	100	5	5	0	0	5	0	0	0	2	1	0	0	1	0	1	1	1	2	1	0	5	2	2	1	0	5	0	5	0	0	0	0	4	1		
	500	10	10	0	0	10	0	0	1	5	3	1	0	0	0	0	3	2	4	1	0	10	5	5	0	0	10	0	8	0	1	1	0	10	0		

a) ly, light yellow; y, yellow; yb, yellowish brown

b) -, negative; ±, trace; +, slight; ++, moderate; +++, marked

c) -, negative; ±, trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL; +++, ≥300 mg/dL

d) -, negative

e) ±, 0.1 E.U./dL; +, 1.0 E.U./dL

Table 4-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Urinalysis in males and females on day 10 of recovery period

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals	Color ^{a)}	Turbidity ^{b)}	pH								Protein ^{c)}				Glucose ^{d)}		Ketone ^{b)}				Bilirubin ^{b)}		Occult blood ^{b)}		Urobilinogen ^{e)}	
			ly	—	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	—	±	+	++	—	—	±	+	—	+	—	±	±	+			
Male	0	5	5	5	0	1	1	0	2	0	1	0	0	4	1	5	0	2	3	5	0	4	1	2	3			
Female	0	5	5	5	1	0	3	0	0	1	0	2	3	0	0	5	4	1	0	5	0	5	0	5	0			
	500	5	5	5	1	1	3	0	0	0	0	2	1	2	0	5	3	2	0	4	1	4	1	3	2			

a) ly, light yellow

b) —, negative; ±, trace; +, slight

c) —, negative; ±, trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL

d) —, negative

e) ± 0.1 E.U./dL; +, 1.0 E.U./dL

Table 5-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Hematological findings in males at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 690 ± 15	(5) 14.8 ± 0.3	(5) 43.9 ± 0.7	(5) 63.5 ± 1.3	(5) 21.5 ± 0.2	(5) 33.8 ± 0.5	(5) 3.8 ± 1.0	(5) 100.7 ± 8.1	(5) 16.6 ± 1.5	(5) 19.9 ± 0.5
20	(5) 725 ± 21	(5) 15.0 ± 0.4	(5) 43.6 ± 1.1	(5) 60.2 ± 1.4	(5) 20.8 ± 0.6	(5) 34.5* ± 0.2	(5) 3.6 ± 0.7	(5) 98.5 ± 5.5	(5) 16.2 ± 2.9	(5) 20.2 ± 1.7
100	(5) 674 ± 36	(5) 14.3 ± 0.4	(5) 41.6* ± 1.3	(5) 61.8 ± 2.8	(5) 21.3 ± 0.8	(5) 34.4* ± 0.3	(5) 4.4 ± 1.0	(5) 99.1 ± 7.5	(5) 15.2 ± 3.3	(5) 20.2 ± 3.3
500	(1) 701	(1) 14.5	(1) 43.1	(1) 61.5	(1) 20.7	(1) 33.6	(1) 2.7	(1) 84.5	(1) 21.3	(1) 21.9

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 105 ± 9	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 3	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 1	(5) 1 ± 1	(5) 91 ± 4
20	(5) 97 ± 21	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 5	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 92 ± 6
100	(5) 103 ± 16	(5) 0 ± 0	(5) 5 ± 2	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 3	(5) 93 ± 3
500	(1) 92	(1) 0	(1) 7	(1) 0	(1) 0	(1) 1	(1) 92

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals*, significantly different from control, $p < 0.05$

Table 5-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Hematological findings in females at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 691 ± 22	(5) 14.2 ± 0.3	(5) 41.1 ± 1.5	(5) 59.6 ± 1.1	(5) 20.5 ± 0.6	(5) 34.4 ± 0.9	(5) 2.6 ± 1.1	(5) 99.4 ± 7.7	(5) 11.4 ± 0.2	(5) 16.7 ± 0.9
20	(5) 671 ± 31	(5) 13.8 ± 0.8	(5) 39.8 ± 2.6	(5) 59.2 ± 2.4	(5) 20.5 ± 0.8	(5) 34.7 ± 0.5	(5) 2.8 ± 0.6	(5) 97.9 ± 5.8	(5) 11.3 ± 0.4	(5) 15.8 ± 0.8
100	(5) 707 ± 46	(5) 14.4 ± 0.5	(5) 41.5 ± 1.7	(5) 58.8 ± 2.4	(5) 20.4 ± 1.2	(5) 34.7 ± 0.7	(5) 2.1 ± 0.3	(5) 101.2 ± 5.6	(5) 11.5 ± 0.5	(5) 16.5 ± 0.5
500	(5) 641 ± 29	(5) 13.3 ± 0.5	(5) 39.4 ± 1.6	(5) 61.5 ± 1.9	(5) 20.8 ± 0.9	(5) 33.8 ± 0.6	(5) 3.8 ± 1.3	(5) 88.4 ± 10.1	(5) 11.1 ± 0.3	(5) 16.9 ± 1.3

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 42 ± 6	(5) 0 ± 0	(5) 6 ± 4	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 1	(5) 1 ± 2	(5) 91 ± 5
20	(5) 42 ± 3	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 6	(5) 1 ± 1	(5) 1 ± 1	(5) 1 ± 2	(5) 86 ± 6
100	(5) 36 ± 11	(5) 0 ± 0	(5) 10 ± 6	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 0	(5) 86 ± 7
500	(5) 36 ± 4	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 5	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 1	(5) 85 ± 5

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals

Table 5-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Hematological findings in males at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 749 ± 28	(5) 15.3 ± 0.5	(5) 44.7 ± 1.4	(5) 59.7 ± 0.8	(5) 20.4 ± 0.5	(5) 34.2 ± 0.5	(5) 2.4 ± 0.6	(5) 100.2 ± 9.6	(5) 17.1 ± 2.3	(5) 20.4 ± 2.6

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 95 ± 22	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 2	(5) 1 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 2	(5) 93 ± 2

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals

Table 5-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Hematological findings in females at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
0	(5) 752 ± 19	(5) 15.2 ± 0.5	(5) 44.5 ± 1.6	(5) 59.2 ± 1.8	(5) 20.3 ± 0.5	(5) 34.2 ± 0.5	(5) 2.4 ± 0.5	(5) 96.0 ± 13.6	(5) 11.7 ± 0.5	(5) 14.4 ± 1.9
500	(5) 666** ± 38	(5) 13.5** ± 0.8	(5) 38.7** ± 2.5	(5) 58.0 ± 1.7	(5) 20.3 ± 0.4	(5) 35.0 ± 0.8	(5) 4.2 ± 1.8	(5) 101.0 ± 12.3	(5) 11.5 ± 0.7	(5) 14.5 ± 2.6

Dose (mg/kg)	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
0	(5) 34 ± 7	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 7	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 87 ± 7
500	(5) 35 ± 6	(5) 0 ± 0	(5) 9 ± 5	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 0	(5) 89 ± 5

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 6-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Biochemical findings in males at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Inorg. Phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.4 ±0.1	(5) 3.1 ±0.1	(5) 1.41 ±0.12	(5) 154 ±11	(5) 43 ±9	(5) 51 ±18	(5) 11 ±3	(5) 0.6 ±0.1	(5) 7.6 ±0.3	(5) 8.7 ±0.2
20	(5) 5.4 ±0.2	(5) 3.1 ±0.2	(5) 1.38 ±0.16	(5) 138 ±14	(5) 44 ±6	(5) 43 ±15	(5) 13 ±4	(5) 0.6 ±0.0	(5) 7.8 ±0.5	(5) 8.7 ±0.2
100	(5) 5.3 ±0.1	(5) 3.1 ±0.1	(5) 1.37 ±0.15	(5) 145 ±15	(5) 40 ±8	(5) 37 ±9	(5) 11 ±3	(5) 0.5* ±0.1	(5) 7.6 ±0.3	(5) 8.9 ±0.2
500	(1) 5.0	(1) 2.8	(1) 1.27	(1) 144	(1) 45	(1) 45	(1) 7	(1) 0.6	(1) 9.1	(1) 8.9

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 144.7 ±1.1	(5) 3.66 ±0.08	(5) 106.4 ±1.7	(5) 433 ±92	(5) 26 ±3	(5) 58 ±2	(5) 0 ±1
20	(5) 145.1 ±1.4	(5) 3.84 ±0.24	(5) 110.1** ±1.7	(5) 374 ±63	(5) 25 ±2	(5) 56 ±7	(5) 0 ±0
100	(5) 143.8 ±0.9	(5) 3.68 ±0.21	(5) 117.3** ±1.2	(5) 407 ±28	(5) 25 ±3	(5) 54 ±3	(5) 0 ±1
500	(1) 145.0	(1) 4.23	(1) 146.2	(1) 322	(1) 24	(1) 72	(1) 1

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, p<0.05
**, significantly different from control, p<0.01

Table 6-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Biochemical findings in females at the end of dosing period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Inorg. Phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.0 ±0.2	(5) 2.9 ±0.2	(5) 1.31 ±0.07	(5) 116 ±9	(5) 39 ±6	(5) 28 ±5	(5) 15 ±2	(5) 0.5 ±0.0	(5) 6.4 ±0.6	(5) 8.4 ±0.2
20	(5) 5.1 ±0.3	(5) 3.0 ±0.1	(5) 1.49 ±0.10	(5) 120 ±5	(5) 42 ±10	(5) 25 ±5	(5) 14 ±1	(5) 0.5 ±0.0	(5) 6.1 ±0.6	(5) 8.5 ±0.3
100	(5) 5.2 ±0.2	(5) 3.0 ±0.2	(5) 1.37 ±0.17	(5) 117 ±9	(5) 48 ±15	(5) 25 ±11	(5) 16 ±2	(5) 0.5 ±0.1	(5) 6.5 ±0.8	(5) 8.5 ±0.2
500	(5) 5.5 ±0.4	(5) 3.3* ±0.3	(5) 1.48 ±0.19	(5) 125 ±12	(5) 50 ±9	(5) 28 ±5	(5) 10** ±1	(5) 0.6 ±0.0	(5) 6.6 ±1.0	(5) 8.8 ±0.2

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 144.8 ±0.9	(5) 3.33 ±0.27	(5) 109.0 ±0.8	(5) 287 ±65	(5) 19 ±4	(5) 59 ±9	(5) 1 ±1
20	(5) 145.4 ±1.3	(5) 3.25 ±0.19	(5) 111.6 ±2.0	(5) 256 ±62	(5) 22 ±4	(5) 59 ±7	(5) 1 ±1
100	(5) 145.0 ±0.6	(5) 3.42 ±0.13	(5) 120.6** ±2.1	(5) 225 ±29	(5) 20 ±4	(5) 60 ±4	(5) 1 ±1
500	(5) 142.9 ±1.7	(5) 3.80** ±0.20	(5) 145.6** ±3.4	(5) 262 ±40	(5) 30 ±16	(5) 69 ±18	(5) 2* ±1

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals*, significantly different from control, p<0.05
**, significantly different from control, p<0.01

Table 6-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Biochemical findings in males at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.5 ±0.3	(5) 3.2 ±0.2	(5) 1.34 ±0.17	(5) 150 ±17	(5) 49 ±9	(5) 59 ±22	(5) 17 ±4	(5) 0.6 ±0.1	(5) 7.4 ±0.5	(5) 8.8 ±0.2

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 144.3 ±1.0	(5) 3.89 ±0.21	(5) 106.6 ±1.9	(5) 298 ±33	(5) 25 ±4	(5) 63 ±8	(5) 0 ±0

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 6-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Biochemical findings in females at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	A/G	Glucose (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	Tri- glyceride (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	Inorg. phos. (mg/dL)	Ca (mg/dL)
0	(5) 5.2 ±0.2	(5) 3.0 ±0.2	(5) 1.33 ±0.11	(5) 133 ±4	(5) 48 ±14	(5) 21 ±5	(5) 19 ±1	(5) 0.6 ±0.1	(5) 6.2 ±0.8	(5) 8.4 ±0.1
500	(5) 5.2 ±0.2	(5) 2.9 ±0.2	(5) 1.34 ±0.15	(5) 137 ±12	(5) 50 ±6	(5) 24 ±6	(5) 19 ±2	(5) 0.6* ±0.1	(5) 6.9 ±1.2	(5) 8.6 ±0.3

Dose (mg/kg)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	ALP (U/L)	GPT (U/L)	GOT (U/L)	γ-GTP (U/L)
0	(5) 145.2 ±0.5	(5) 3.47 ±0.12	(5) 112.1 ±1.1	(5) 236 ±77	(5) 24 ±3	(5) 61 ±3	(5) 1 ±1
500	(5) 144.4 ±1.1	(5) 3.75 ±0.60	(5) 115.7** ±2.0	(5) 219 ±51	(5) 20* ±2	(5) 57 ±3	(5) 0 ±0

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, p<0.05
**, significantly different from control, p<0.01

Table 7-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

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

Dose	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Testes	Epididymides
(mg/kg)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
0	(5) 312.7 ±25.8	(5) 1843.9 ±69.0	(5) 579.5 ±64.8	(5) 1064.5 ±132.6	(5) 10433.6 ±1025.7	(5) 2340.4 ±214.0	(5) 688.3 ±141.7	(5) 52.6 ±10.5	(5) 2888.6 ±340.5	(5) 628.4 ±83.7
20	(5) 304.4 ±34.5	(5) 1912.6 ±61.0	(5) 486.2 ±69.0	(5) 1032.3 ±87.9	(5) 10088.1 ±1563.3	(5) 2358.8 ±242.2	(5) 622.3 ±60.3	(5) 48.1 ±6.9	(5) 2989.8 ±211.0	(5) 694.6 ±48.7
100	(5) 350.3 ±15.8	(5) 1931.4 ±68.3	(5) 795.2 ±201.8	(5) 1201.3 ±69.4	(5) 13195.9** ±633.2	(5) 2804.8* ±253.0	(5) 782.7 ±104.7	(5) 49.7 ±6.5	(5) 3137.0 ±142.5	(5) 674.8 ±20.9
500	(1) 255.0	(1) 1729.2	(1) 425.1	(1) 993.5	(1) 10923.9	(1) 2185.2	(1) 516.3	(1) 54.4	(1) 2784.6	(1) 603.5

Parameter, mean±S.D..
(), number of animals.

*, significantly different from control, p<0.05.
**, significantly different from control, p<0.01.

Table 7-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

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

Dose	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Ovaries
(mg/kg)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
0	(5) 201.5 ±22.4	(5) 1801.6 ±42.0	(5) 451.9 ±98.2	(5) 702.1 ±93.4	(5) 5995.1 ±628.4	(5) 1508.3 ±220.6	(5) 447.0 ±83.5	(5) 61.7 ±4.6	(5) 86.2 ±15.7
20	(5) 216.4 ±13.5	(5) 1825.3 ±30.1	(5) 513.5 ±60.1	(5) 776.9 ±65.3	(5) 7361.1 ±655.4	(5) 1759.9 ±202.2	(5) 603.1* ±149.2	(5) 67.8 ±10.6	(5) 90.0 ±13.0
100	(5) 198.4 ±20.5	(5) 1728.7 ±125.4	(5) 432.7 ±149.4	(5) 726.0 ±91.5	(5) 7066.2 ±1102.8	(5) 1634.5 ±219.5	(5) 473.6 ±72.0	(5) 67.4 ±4.0	(5) 81.4 ±12.6
500	(5) 191.9 ±15.4	(5) 1749.8 ±22.4	(5) 330.3 ±79.3	(5) 806.4 ±33.4	(5) 9451.3** ±1269.9	(5) 1910.0* ±186.6	(5) 439.8 ±33.7	(5) 65.3 ±8.7	(5) 86.2 ±13.4

Parameter, mean±S.D..
(), number of animals.

*, significantly different from control, p<0.05.
**, significantly different from control, p<0.01.

Table 7-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Absolute organ weights in males at the end of recovery period

Dose	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Testes	Epididymides
(mg/kg)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
0	(5) 411.3 ±45.7	(5) 2017.5 ±47.5	(5) 640.9 ±74.1	(5) 1402.3 ±202.8	(5) 12482.6 ±1898.7	(5) 2755.2 ±320.7	(5) 816.2 ±142.4	(5) 61.1 ±10.2	(5) 3324.7 ±274.6	(5) 979.9 ±112.1

Parameter. mean±S.D.
(), number of animals

Table 7-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Absolute organ weights in females at the end of recovery period

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg)	Thymus (mg)	Heart (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Spleen (mg)	Adrenal glands (mg)	Ovaries (mg)
0	(5) 216.9 ±17.2	(5) 1812.6 ±33.3	(5) 358.0 ±78.9	(5) 720.7 ±40.4	(5) 6040.7 ±448.9	(5) 1615.4 ±72.7	(5) 529.8 ±98.1	(5) 60.9 ±9.5	(5) 87.1 ±13.9
500	(5) 198.7 ±21.1	(5) 1724.7* ±75.4	(5) 379.0 ±120.2	(5) 736.6 ±84.4	(5) 6304.7 ±847.3	(5) 1542.8 ±148.6	(5) 518.0 ±125.6	(5) 60.3 ±11.2	(5) 90.6 ±14.4

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$

Table 8-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

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

Dose (mg/kg)	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Testes (mg/g)	Epididymides (mg/g)
0	(5) 312.7 ±25.8	(5) 5.918 ±0.351	(5) 1.863 ±0.253	(5) 3.399 ±0.232	(5) 33.376 ±1.997	(5) 7.490 ±0.420	(5) 2.192 ±0.318	(5) 0.168 ±0.022	(5) 9.223 ±0.443	(5) 2.006 ±0.158
20	(5) 304.4 ±34.5	(5) 6.337 ±0.604	(5) 1.600 ±0.166	(5) 3.404 ±0.213	(5) 33.054 ±2.165	(5) 7.762 ±0.347	(5) 2.051 ±0.156	(5) 0.158 ±0.019	(5) 9.878 ±0.797	(5) 2.307 ±0.317
100	(5) 350.3 ±15.8	(5) 5.528 ±0.416	(5) 2.261 ±0.508	(5) 3.429 ±0.065	(5) 37.679** ±0.863	(5) 8.009 ±0.633	(5) 2.227 ±0.207	(5) 0.142 ±0.021	(5) 8.959 ±0.242	(5) 1.931 ±0.134
500	(1) 255.0	(1) 6.781	(1) 1.667	(1) 3.896	(1) 42.839	(1) 8.569	(1) 2.025	(1) 0.213	(1) 10.920	(1) 2.367

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

**, significantly different from control. $p < 0.01$

Table 8-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

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

Dose	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Ovaries
(mg/kg)	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
0	(5) 201.5 ±22.4	(5) 9.021 ±0.924	(5) 2.225 ±0.280	(5) 3.478 ±0.180	(5) 29.787 ±1.265	(5) 7.493 ±0.803	(5) 2.205 ±0.196	(5) 0.308 ±0.030	(5) 0.427 ±0.053
20	(5) 216.4 ±13.5	(5) 8.459 ±0.465	(5) 2.372 ±0.232	(5) 3.588 ±0.130	(5) 34.016 ±1.909	(5) 8.123 ±0.573	(5) 2.792 ±0.692	(5) 0.314 ±0.052	(5) 0.416 ±0.055
100	(5) 198.4 ±20.5	(5) 8.738 ±0.364	(5) 2.158 ±0.650	(5) 3.653 ±0.129	(5) 35.473* ±2.479	(5) 8.226 ±0.489	(5) 2.381 ±0.228	(5) 0.342 ±0.027	(5) 0.409 ±0.040
500	(5) 191.9 ±15.4	(5) 9.161 ±0.687	(5) 1.710 ±0.320	(5) 4.215** ±0.243	(5) 49.204** ±4.707	(5) 9.973** ±0.922	(5) 2.296 ±0.145	(5) 0.345 ±0.073	(5) 0.450 ±0.070

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control. $p < 0.05$
**, significantly different from control. $p < 0.01$

Table 8-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Relative organ weights in males at the end of recovery period

Dose	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Testes	Epididymides
(mg/kg)	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
0	(5) 411.3 ±45.7	(5) 4.949 ±0.490	(5) 1.561 ±0.111	(5) 3.401 ±0.155	(5) 30.232 ±1.468	(5) 6.721 ±0.623	(5) 1.984 ±0.249	(5) 0.148 ±0.009	(5) 8.128 ±0.721	(5) 2.394 ±0.275

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 8-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Relative organ weights in females at the end of recovery period

Dose	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Ovaries
(mg/kg)	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
0	(5) 216.9 ±17.2	(5) 8.406 ±0.789	(5) 1.639 ±0.297	(5) 3.331 ±0.193	(5) 27.895 ±1.533	(5) 7.470 ±0.388	(5) 2.445 ±0.432	(5) 0.281 ±0.041	(5) 0.404 ±0.070
500	(5) 198.7 ±21.1	(5) 8.757 ±0.979	(5) 1.891 ±0.480	(5) 3.710* ±0.187	(5) 31.648** ±1.012	(5) 7.792 ±0.600	(5) 2.590 ±0.433	(5) 0.303 ±0.041	(5) 0.457 ±0.062

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$
**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 9-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Macroscopical findings in males at the end of dosing period

Dose Grade	0 mg/kg		20 mg/kg		100 mg/kg		500 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Stomach)	[5]		[5]		[5]		[1]	
Thickening, mucosa, glandular stomach	5	0	5	0	5	0	0	1
(Lung)	[5]		[5]		[5]		[1]	
Spot, dark	5	0	5	0	4	1	1	0

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

Table 9-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Macroscopical findings in females at the end of dosing period

Dose	0 mg/kg		20 mg/kg		100 mg/kg		500 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Stomach)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Thickening, mucosa, glandular stomach	5	0	5	0	5	0	3	2
Spot, dark, glandular stomach	5	0	5	0	5	0	4	1

-, negative; +, positive.

[], number of animals examined.

Table 9-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Macroscopical findings in females at the end of recovery period

Dose	0 mg/kg		500 mg/kg	
Grade	-	+	-	+
(Ovary)	[5]		[5]	
Spot, dark	5	0	4	1

[], number of animals examined.

Table 10-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Histological findings in males at the end of dosing period

Dose Grade	0 mg/kg						20 mg/kg						100 mg/kg						500 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]						[5]						[1]					
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	4 #	0	1	0	0	0	1
Fatty change, periportal	0	4	1	0	0	5	0	5	0	0	0	5	0	4	1	0	0	5	0	0	1	0	0	1
(Brain)	[5]						[5]						[5]						[1]					
Degeneration, vacuolar, hypothalamus and/or thalamus	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
(Spleen)	[5]						[5]						[5]						[1]					
Deposit, hemosiderin	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Hematopoiesis, extramedullary	0	0	2	3	0	5	0	2	2	1	0	5	0	1	2	2	0	5	0	1	0	0	0	1
(Testis)	[5]						[5]						[5]						[1]					
Atrophy, seminiferous tubule	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2	0	1	0	0	0	1
(Epididymis)	[5]						[5]						[5]						[1]					
Cell debris, lumen	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
(Bone marrow)	[5]						[5]						[5]						[1]					
No abnormalities																								
(Stomach)	[5]						[5]						[5]						[1]					
Squamous hyperplasia, forestomach	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
(Kidney)	[5]																		[1]					
Basophilic tubule, cortex	0	5	0	0	0	5													0	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte	0	5	0	0	0	5													0	1	0	0	0	1
(Heart)	[5]																		[1]					
No abnormalities																								
(Adrenal gland)	[5]																		[1]					
No abnormalities																								
(Spinal cord)	[5]																		[1]					
No abnormalities																								
(Lung)													[1]											
Hemorrhage, focal, alveolar													0	1	0	0	0	1						

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

[], number of animals examined.

#, significantly different from control, $p < 0.05$ (One-tailed Fisher exact test).

Table 10-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Histological findings in females at the end of dosing period

Dose Grade	0 mg/kg						20 mg/kg						100 mg/kg						500 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2	0	2	3	0	0	** 5 ##
Fatty change, periportal	0	3	2	0	0	5	0	1	4	0	0	5	0	5	0	0	0	5	1	3	1	0	0	4
(Brain)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Degeneration, vacuolar, hypothalamus and/or thalamus	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	** 5 ##
(Spleen)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Deposit, hemosiderin	1	4	0	0	0	4	0	5	0	0	0	5	0	4	1	0	0	5	0	0	5	0	0	** 5
Hematopoiesis, extramedullary	0	5	0	0	0	5	0	5	0	0	0	5	1	4	0	0	0	4	0	5	0	0	0	5
(Bone marrow)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Abnormality	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
(Stomach)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Cellular infiltration, neutrophil, lamina propria, glandular stomach	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2
Hemorrhage, mucosa, glandular stomach	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
Squamous hyperplasia, forestomach	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2
(Kidney)	[5]																		[5]					
Basophilic tubule, cortex	0	5	0	0	0	5													0	5	0	0	0	5
Cast, proteinous	2	3	0	0	0	3													3	2	0	0	0	2
Cellular infiltration, lymphocyte	1	4	0	0	0	4													2	3	0	0	0	3
(Heart)	[5]																		[5]					
No abnormalities																								
(Adrenal gland)	[5]																		[5]					
No abnormalities																								
(Ovary)	[5]																		[5]					
No abnormalities																								
(Spinal cord)	[5]																		[5]					
No abnormalities																								

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

[], number of animals examined.

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

Table 10-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Histological findings in individual males at the end of recovery period

Dose	0 mg/kg					Pos.
	-	±	+	++	+++	
Grade						
(Liver)	[5]					
Fatty change, periportal	0	5	0	0	0	5
(Spleen)	[5]					
Deposit, hemosiderin	0	5	0	0	0	5
Hematopoiesis, extramedullary	0	1	4	0	0	5
(Bone marrow)	[5]					
No abnormalities						
(Stomach)	[5]					
No abnormalities						

-, negative; ±, very slight; +, slight; ++, moderate; +++, severe;

Pos., total of positive grade.

[], number of animals examined.

Table 10-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of BCP in rats

Histological findings in females at the end of recovery period

Dose Grade	0 mg/kg						500 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]					
Fatty change, periportal	0	5	0	0	0	5	1	4	0	0	0	4
(Brain)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Spleen)	[5]						[5]					
Deposit, hemosiderin	0	2	3	0	0	5	0	0	1	4	0 *	5
Hematopoiesis, extramedullary	0	5	0	0	0	5	0	4	1	0	0	5
(Bone marrow)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Stomach)	[5]						[5]					
No abnormalities												
(Ovary)							[1]					
Hemorrhage, corpus luteum							0	1	0	0	0	1

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

[], number of animals examined.

*, significantly different from control, $p < 0.05$ (Two-tailed Mann-Whitney U test).