

# 最終報告書

シクロヘキセンのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：4801 ( 115-143 )

平成 13 年 6 月 6 日

試験委託者  
厚生労働省 医薬局

財団法人  
食品農医薬品安全性評価センター

## 目 次

1. 要約 .....	5
2. 緒言 .....	7
3. 表題 .....	8
4. 試験目的 .....	8

13. 試験材料および方法 .....	11
14. 試験結果 .....	20
15. 考察および結論 .....	25
16. 参考文献 .....	28

Figures		F-1~4
Figure 1	Body weight change of male rats	F-1
Figure 2	Body weight change of female rats	F-2
Figure 3	Food consumption of male rats	F-3
Figure 4	Food consumption of female rats	F-4

Tables		T-01~46
Table 1-1	Clinical observations in male rats	T-01
Table 1-2	Clinical observations in female rats (Before and during mating period)	T-03
Table 1-3	Clinical observations in female rats (Gestation period)	T-04
Table 1-4	Clinical observations in female rats (Lactation period)	T-06
Table 2-1	Body weight change of male rats	T-07
Table 2-2	Body weight change of female rats	T-08
Table 3-1	Food consumption of male rats	T-09

Table 3-2	Food consumption of female rats	T-10
Table 4-1	Hematology of male rats	T-11
Table 4-2	Hematology of female rats	T-12
Table 5-1	Coagulation of male rats	T-13
Table 5-2	Coagulation of female rats	T-14
Table 6-1	Blood chemistry of male rats	T-15
Table 6-2	Blood chemistry of female rats	T-16
Table 7	Urinalysis of male rats	T-17
Table 8-1	Absolute and relative organ weight of male rats	T-19
Table 8-2	Absolute and relative organ weight of female rats	T-20
Table 9-1	Summary of gross findings (dead, male)	T-21
Table 9-2	Summary of gross findings (sacrificed, not copulation and non-pregnancy, male)	T-22
Table 9-3	Summary of gross findings (sacrificed, female)	T-23
Table 9-4	Summary of gross findings (not copulation, female)	T-24
Table 9-5	Summary of gross findings (non-pregnancy, female)	T-25
Table 10-1	Summary of histological findings (dead, male)	T-26
Table 10-2	Summary of histological findings (sacrificed, male)	T-27
Table 10-3-1	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-29
Table 10-3-2	Summary of histological findings (sacrificed, female)	T-31
Table 10-4	Summary of histological findings (not copulation, male)	T-33
Table 10-5-1	Summary of histological findings (not copulation, female)	T-34
Table 10-5-2	Summary of histological findings (not copulation, female)	T-35
Table 10-6-1	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)	T-36
Table 10-6-2	Summary of histological findings (non-pregnancy, male)	T-37
Table 10-7	Summary of histological findings (non-pregnancy, female)	T-38
Table 10-8	Summary of histological findings (all pups died, female)	T-39
Table 10-9	Cell type and number per Sertoli cell in seminiferous tubules of rats at VII – VIII stage of spermatogenesis during dosing period	T-40
Table 11	Copulation and fertility results in rats	T-41
Table 12	Findings of delivery in dams(F0)	T-42
Table 13	External observations on live pups(F1) from rats	T-43
Table 14	Body weight change of pups(F1) from rats	T-44
Table 15-1	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, male)	T-45
Table 15-2	Summary of gross findings of pups(F1) from rats (sacrificed, female)	T-46

## 1. 要約

既存化学物質の毒性学的性質を評価するため、シクロヘキセンの0（溶媒のコーンオイルのみ投与）、50、150 および 500 mg/kg/day を雌雄のCrj:CD(SD)IGS系ラットに交配前14日間、交配期間、妊娠期間および哺育4日まで連続強制経口投与し、反復投与毒性に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

その結果は次のように要約される。

### 1) 反復投与毒性

被験物質投与の影響と考えられる死亡動物は認められなかった。

投与後の一般状態の変化として、雌雄の150 mg/kg以上の投与群で流涎が、雌雄の500 mg/kg群および雌の150 mg/kg群で流涙が認められた。

体重および摂餌量では、雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった。臨床検査では被験物質投与の影響を示唆する変化として、雄の150 mg/kg以上の投与群および雌の全ての投与群で総胆汁酸の高値、雄の500 mg/kg群で中性脂肪の低値が認められた。しかし、いずれも機序については不明であった。

病理学検査では、剖検所見および組織所見に被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。器官重量では雄の500 mg/kg群で腎臓の相対重量が高値を示し、組織所見で対応する変化は認められなかったが、被験物質投与の影響が疑われた。

### 2) 生殖発生毒性

性周期、交尾能、受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。

また、分娩状態、妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。

新生児の外表検査では、被験物質投与の影響と考えられる異常は認められず、体重変化にも影響は認められなかった。

死亡児および哺育4日の剖検でも被験物質投与の影響と考えられる異常所見は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下ではシクロヘキセンの反復投与により雌雄とも投与後に流涎および流涙が観察され、血液生化学検査項目の一部で変化が認められた。特に総胆汁酸の高値は、雄では150 mg/kg群から、雌では50 mg/kg群から認められており、無影響量は雄では50 mg/kg/day、雌では確認できず50 mg/kg/day未満と判断された。

雌雄の生殖に及ぼす影響は500 mg/kg/dayでも認められず、無影響量は雌

雄とも 500 mg/kg/day と判断された。

児動物の発生・発育に及ぼす影響は 500 mg/kg/day でも認められず，無影響量は 500 mg/kg/day と判断された。

## 2. 緒言

シクロヘキセンはシクロヘキサノール, L-リジンの原料, 特殊溶剤, シクロヘキセンオキサイド等各種有機合成原料として使用されている. 本化合物の毒性については, 経口投与によるマウスのLD<sub>50</sub>値が<sup>3</sup>2300 mg/kgと報告されている. しかし, 生殖毒性に関する報告はなく, 今回, OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環としてシクロヘキセンの反復投与毒性および生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する.

3. 表題

シクロヘキセンのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

4. 試験目的

既存化学物質の毒性学的性質を評価する一環として、ラットを用いた反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、一般毒性学的影響に加えて生殖・発生に及ぼす影響を検討した。

### 13. 試験材料および方法

#### 13.1. 被験物質

シクロヘキセン (Cyclohexene, CAS No. 110-83-8, 製造, Lot No. , 純度 98.6 wt%, 分子量 82.14) は無色透明の液体であり, 使用時まで被験物質保管庫に密閉容器で保管した. シクロヘキセンを実測した結果を, Reference data 1 に示した. 被験物質はコーンオイル (ナカライテスク株式会社, Lot No. V0H7150) に溶解し, 調製した. 被験物質のコーンオイル中での安定性は, 3 および 200 mg/mL の濃度について室温 (約 25℃) 保存下 24 時間および冷蔵 (約 4℃) 保存下 7 日間安定であることが当センター代謝分析室において確認されている [試験番号: 4798 ( 115-140 )].

投与液の濃度分析は, 調製開始時に調製した全ての試験群の投与液について行った. その結果, 表示濃度に対し 101.4~101.9% の範囲であった (Reference data 2). したがって, 投与液にはほぼ所定量のシクロヘキセンが含有されていることを確認した.

投与終了後に製造元に返却した被験物質について, 製造元で再分析した結果, 純度は 99.6% であり, 被験物質は投与期間中安定であったことが確認された (Reference data 3). 投与液は 7 日に 1 回以上調製し, 投与まで冷暗所に保存した.

#### 13.2. 使用動物および飼育条件

試験には, 日本チャールス・リバー株式会社から購入した生後 8 週齢の CD(SD)IGS[SPF]系雌雄ラットを使用した. 購入した動物は 7 日間検疫・馴化飼育した後, 体重推移および一般状態に異常が認められなかったものを予備飼育に移行した.

動物は, 温度  $24 \pm 3^{\circ}\text{C}$  (実測値:  $21.8 \sim 25.4^{\circ}\text{C}$ ), 湿度  $55 \pm 20\%$  (実測値:  $39 \sim 73\%$ ), 換気回数 15 回/時間, 照度 150~300 lux, 照明時間 12 時間 (午前 7 時点灯, 午後 7 時消灯) に設定されたバリアシステムの 505 号飼育室 (W 5.7×D 10.0×H 2.5 m,  $142.5 \text{ m}^3$ ) で飼育した. 株式会社東京技研サービスの自動水洗式飼育機を使用し, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 15.8×D 23.8×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース  $6017 \text{ cm}^3$ ) に動物を 1 匹ずつ収容し飼育した. 但し, 雄は交配期間中, アルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm, 飼育ケージ・スペース  $14720 \text{ cm}^3$ ) に収容した. 妊娠 18 日以降の母動物は哺育 4 日までアルミ製前面・床ステンレス網目飼育ケージ (W 36.8×D 25.0×H 16.0 cm)

に哺育トレーおよび日本チャールス・リバー株式会社製の巣作り材料（サンフレーク）を入れて飼育した。

飼育ケージは隔週1回、給餌器は週1回交換した。

飼料は、オリエンタル酵母工業株式会社製造のNMF固型飼料（放射線滅菌飼料；Lot No. 000810）を使用し、飼育期間中自由に摂取させた。飲水は、水道水を給水ノズルより自由に摂取させた。供給した飼料および水にはReference data 4および5に示した如く試験に支障を来す可能性の考えられる夾雑物の混在はなかった。

したがって、動物の馴化期間を含め、飼育期間中、データ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なかった。

### 13.3. 群分け・個体識別

群分けは雌雄ともに検疫・馴化期間終了後8日間の予備飼育期間の後に10週齢で行った。

群分け時の動物の体重は群分け対象外の動物を含めた平均体重の20%以内に収まっており、群分け終了時の体重は、雄で341~406g、雌で207~252gの範囲であった。投与開始日の体重をもとに層別化し、無作為抽出法により1群当たり雌雄各12匹を振り分けた。群分け後の動物の識別は耳介に群番号および群内番号を入墨すると共にケージに動物標識番号（Animal ID-No.）をつけた。

但し、群分け前までは仮動物番号により管理した。

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

### 13.4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

本被験物質のラットを用いた急性経口毒性試験〔試験番号4798（115-140）〕の結果を参考に、2週間投与予備試験〔シクロヘキセンのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験—2週間投与予備試験〔試験番号4800（115-142）〕〕を0, 30, 100, 300および1000mg/kg/dayの用量で実施した。その結果、1000mg/kg/day投与では雌雄とも死亡例が認められ、投与後症状として流涎、流涙、さらに体重増加抑制、摂餌量の減少など明らかな毒性影響が確認された。しかし、300mg/kg/day投与では投与後症状として流涎は認められたものの十分な毒性発現量ではなかった。したがって、本試験では予備試験に比べ投与期間が延長されることを考慮し、500mg/kg/dayを高用量とし、以下公比約3で除し150および50mg/kg/dayを設定した。

投与経路は、OECDガイドライン「反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験」で指示されている投与経路に準じて強制経口投与とした。

投与容量は、体重 100 g 当たり 0.5 mL とし、交配前および交配期間中の雌雄では個体別に測定した最新体重に基づき算出した。また、妊娠期間および哺育期間中の雌は、妊娠 0, 7, 14, 20 および哺育 0 日に測定した個体別体重に基づいて算出した。投与液は、胃ゾンデを用いて毎日 1 回 (7 日/週) 8:42~12:00 に強制経口投与した。対照群には溶媒であるコーンオイルのみを投与した。

投与期間は、雄は交配前 14 日間と交配期間 14 日間および交配期間終了後 20 日間の連続 48 日間とした。雌は交配前 14 日間と交配期間中 (最長 14 日間) および交尾成立雌は妊娠期間を通じて分娩後の哺育 4 日まで (42~53 日間) とした。交尾不成立の雌は交配期間終了後 24 日間の連続 52 日間とした。また、交尾成立後分娩しない雌は妊娠 25 日の解剖前日まで (40~43 日間) とした。

### 13.5. 観察および検査

#### 13.5.1. 一般状態

雌雄とも、一般状態の観察は毎日 2 回以上 (剖検日は 1 回) 行い、異常および死亡の有無を記録した。

#### 13.5.2. 体重

雄は投与 1 (投与開始日), 8, 15, 22, 29, 36, 43 および 49 日 (剖検日) に測定し、投与 1 から 43 日までの体重増加量を算出した。

雌は投与 1 (投与開始日), 8 および 15 日に測定し、投与 1 から 15 日までの体重増加量を算出した。交尾不成立の雌はそれ以降の投与 22, 29, 36, 43, 50 および 53 日に測定した。また、交尾成立後の雌は、妊娠 0, 7, 14 および 20 日に、分娩した雌は哺育 0, 4 および 5 日 (剖検日) に測定し、それぞれ妊娠 0 から 20 日および哺育 0 から 4 日までの体重増加量を算出した。測定は電子天秤 PG2002-S (メトラー・トレド社) を用いて行い、記録した。死亡動物については発見時にも測定した。

#### 13.5.3. 摂餌量

雄は投与 1 (投与開始日), 8, 15, 22, 29, 36, 43 および 48 日 (剖検前日) に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに投与 1 から 15 日および投与 22 から 48 日までの累積摂餌量を算出した。

雌は投与 1 (投与開始日), 8 および 15 日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに投与 1

から 15 日までの累積摂餌量を算出した。

交尾の成立しなかった雌はそれ以降の投与 29, 36, 43, 50 および 52 日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出した。また、交尾が成立した雌は妊娠 0, 7, 14 および 20 日に、分娩した雌は哺育 0 および 4 日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの摂餌量を求め平均 1 日摂餌量を算出するとともに妊娠 0 から 20 日までの累積摂餌量を算出した。

測定は電子天秤 PG2002-S (メトラー・トレド社) を用いて行い、記録した。

なお、交配期間中の同居動物は摂餌量を測定しなかった。

#### 13.5.4. 交配

交配は交配前 14 日間の性周期観察を行った雌と同群内の雄を 1 対 1 で最長 2 週間毎晩同居させ、翌朝、膣栓または膣垢中の精子確認をもって交尾成立とし、その日を妊娠 0 日とした。

性周期観察は交尾成立日まで行い、発情期から次の発情期までの間の日数を性周期日数として平均性周期を算出した。また、性周期観察期間中の異常性周期 (4 または 5 日以外の性周期) 発現率 [(異常性周期を示す雌動物数 / 観察雌動物数) × 100] を算出した。

交配結果から各群について交尾率 [(交尾成立動物数 / 同居動物数) × 100] を算出した。

#### 13.5.5. 自然分娩時および出生児の観察

##### 13.5.5.1. 母体の観察

妊娠動物は全て自然分娩させた。

自然分娩時に分娩状態の観察を行った。分娩の確認を妊娠 20 から 25 日の午前 9~10 時の間に行い、この時間帯に分娩が完了していることを確認した動物および分娩を開始した動物は分娩完了まで待ち、その日を哺育 0 日とした。午前 10 時を過ぎて分娩を開始した場合は翌日を哺育 0 日とした。また、妊娠期間 (哺育 0 日の年月日から妊娠 0 日の年月日を減じた日数)、受胎率 [(受胎動物数 / 交尾成立動物数) × 100]、出産率 [(生児出産雌数 / 妊娠雌数) × 100]、着床率 [(着床痕数 / 妊娠黄体数) × 100]、分娩率 [(総出産児数 / 着床痕数) × 100]、出生率 [(出產生児数 / 総出産児数) × 100] を算出した。妊娠 25 日の午前 9 時までには分娩のみられない動物は病理解剖し、Salewski 法を応用して子宮を検査した。着床痕の認められない場合、妊娠不成立と判定した。哺育 5 日に母動物は病理解剖し、

黄体数および着床痕数を調べ肉眼的に異常の有無を調べた。

#### 13.5.5.2. 出生児 (F1) の観察

出産後、出産児数 (生存児+死亡児) を調べ、出生児の性別を判定し、性比 (雄/雌) を算出した。また、外表異常の有無を調べた。また、出生児の体重は、哺育 0 および 4 日に雌雄個体別に電子天秤 PG2002-S (メトラー・トレド社) を用いて測定し、1 腹の雌雄別平均体重を算出した。出生児は哺育 4 日に全例をエーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った。また、死産児および哺育期間中の死亡児はブアン氏液に固定し、器官・組織の肉眼的観察を実施した。また、出生児の 4 日生存率 [(哺育 4 日生児数/出產生児数) ×100] を算出した。

#### 13.5.6. 臨床検査

血液学検査および血液生化学検査は雄および自然分娩した雌の剖検時 (雄: 投与 49 日, 雌: 哺育 5 日) に各群の全例について実施した。採血するに当たり、絶食のために前日の午後 5 時に餌箱を取り除いた。動物をエーテルで麻酔後開腹し、腹部大動脈から採血した。

##### 13.5.6.1. 血液学検査

抗凝固剤 (EDTA-2K) 入り採血管インセパック-E (積水化学工業株式会社) に新鮮血を採取し、総合血液学検査装置 ADVIA120 (バイエル社) を用いて白血球数 (WBC: フローサイトメトリー法), 赤血球数 (RBC: 暗視野板法), ヘモグロビン量 (HGB: シアンメトヘモグロビン法), ヘマトクリット値 (HCT: RBC, MCV より算出), 平均赤血球容積 (MCV: 暗視野板法), 平均赤血球血色素量 (MCH: HGB, RBC より算出), 平均赤血球血色素濃度 (MCHC: HGB, HCT より算出), 血小板数 (PLT: 暗視野板法), 白血球百分率 (フローサイトメトリー法) および網赤血球率 (Reticulocyte: RNA 染色法) を測定した。

白血球百分率は前述の機器で測定したが、別途血液塗抹標本を作製し、メイ・グリエンワルド・ギムザ染色して保管した。

##### 13.5.6.2. 血液凝固能検査

抗凝固剤 (3.13%クエン酸ナトリウム水溶液) 入り採血管ベノジェクト II (テルモ株式会社) に血液を採取した後、3000 r.p.m. で 13 分間遠心分離して得た血漿を検査に用いた。血液凝固測定装置 KC-40 (アメルング社) を用いてプロトロンビン時間 (PT: Quick 一段法) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT: クロット法) を測定した。

## 13.5.6.3. 血液生化学検査

インセパック-SQ(積水化学工業株式会社)に血液を採取した後, 3000 r.p.m. で7分間遠心分離して得た血清を検査に用いた. 多項目生化学自動分析装置日立 7170 (株式会社日立製作所) を用いて総蛋白 (T. protein : Biuret 法), アルブミン (Albumin : BCG 法), A/G (計算値), 血糖 (Glucose : HK-G-6-PDH 法), 中性脂肪 (Triglyceride : GK-GPO 遊離グリセロール消去法), 総コレステロール (T. cholesterol : コレステロールオキシダーゼ・HDAOS 法), 尿素窒素 (BUN : ウレアーゼ・GLDH 法), クレアチニン (Creatinine : 酵素法), 総ビリルビン (T. bilirubin : バナジン酸酸化法), アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST : 酵素-UV 法), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT : 酵素-UV 法), アルカリホスファターゼ (ALP : P-ニトロフェニルリン酸基質法), カルシウム (Calcium : MXB 法), 無機リン (I. phosphorus : PNP-XDH 法) および総胆汁酸 (T. bile acid : 酵素サイクリング法) を, 電解質測定装置 EA06R (株式会社エイアンドティー) を用いてナトリウム (Sodium : イオン選択電極法), カリウム (Potassium : イオン選択電極法) および塩素 (Chloride : イオン選択電極法) を測定した.

## 13.5.6.4. 尿検査

投与期間終了週に, 各群それぞれ5例(動物番号 1001~1005, 1101~1104, 1106, 1201~1205, 1301~1305) の雄動物について検査を行った.

給餌・給水の条件下で採尿ケージを用いて3時間尿(午前10時から午後1時まで) および24時間尿(午前10時から翌日午前10時まで) を採取した.

3時間尿を用いてpH, 潜血, 糖および蛋白を検査した. 検査にはN-マルティステイックスSG(バイエル・三共株式会社)を用い, 判定は尿分析装置CLINITEK500(バイエル社)で行った.

24時間尿を用いて尿量(計量)および色調(目視)を検査した後, 尿を室温, 1500 r.p.m. で5分間遠心し, 上清および残渣に分離した. 上清を用いてAuto&stat OM-6030(株式会社アークレイファクトリー)で尿浸透圧(氷点降下法)を測定した.

## 13.5.7. 病理学検査

## 13.5.7.1. 剖検および器官重量

解剖では動物の外観, 口腔, 鼻孔および頭蓋腔, 骨格, 脳および脊髄の外観と切断面, 胸腔, 腹腔および骨盤腔とその内臓, 頸部の組織および器官

を検査した。生殖器官については、特に注意を払い検査した。  
 全ての肉眼的異常について、部位、大きさ、硬さなどを記録した。  
 器官重量は、器官重量測定用自動天秤 PE360 (メトラー・トレド社) を用  
 いて測定し、その数値を記録した。

#### ①死亡動物

死亡動物 (動物番号 1105) は発見後直ちに解剖した。

皮膚、乳腺、リンパ節 (腸間膜リンパ節、下顎リンパ節)、胸骨、大腿骨、  
 骨髄 (胸骨、大腿骨)、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺、上  
 皮小体、舌、食道、胃および十二指腸、小腸 (パイエル板を含む)、大腸  
 (パイエル板を含む)、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢、前立  
 腺、眼球、ハーダー腺、脳 (大脳、小脳、橋を含む)、下垂体、脊髄 (頸  
 部、胸部、腰部)、坐骨神経 (筋肉近位端を含む) を 10 vol% 中性緩衝ホル  
 マリン液に、精巣および精巣上体をブアン氏液に固定した。

#### ②雄動物

48 日間投与後、午後 5 時から絶食させ、翌日エーテル麻酔下で採血安楽  
 死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、脳、胸腺、肝臓、腎臓、脾  
 臓、副腎、精巣および精巣上体重量を測定し器官重量・体重比を得られた  
 体重および器官重量から算出した。また、全動物について皮膚、乳腺、リ  
 ンパ節 (腸間膜リンパ節、下顎リンパ節)、胸骨、大腿骨、骨髄 (胸骨、  
 大腿骨)、胸腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺、上皮小体、舌、  
 食道、胃および十二指腸、小腸 (パイエル板を含む)、大腸 (パイエル板  
 を含む)、肝臓、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢、前立腺、眼球、  
 ハーダー腺、脳 (大脳、小脳、橋を含む)、下垂体、脊髄 (頸部、胸部、  
 腰部)、坐骨神経 (筋肉近位端を含む) を 10 vol% 中性緩衝ホルマリン液  
 に、精巣および精巣上体をブアン氏液に固定した。

#### ③自然分娩した雌

哺育 4 日の投与後、午後 5 時から絶食させ、翌日エーテル麻酔下で採血安  
 楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、脳、胸腺、肝臓、腎臓、  
 脾臓、副腎および卵巣重量を測定し器官重量・体重比を得られた体重およ  
 び器官重量から算出した。また、全動物について皮膚、乳腺、リンパ節 (腸  
 間膜リンパ節、下顎リンパ節)、胸骨、大腿骨、骨髄 (胸骨、大腿骨)、胸  
 腺、気管、肺および気管支、心臓、甲状腺、上皮小体、舌、食道、胃およ  
 び十二指腸、小腸 (パイエル板を含む)、大腸 (パイエル板を含む)、肝臓、  
 膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、卵巣、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、脳  
 (大脳、小脳、橋を含む)、下垂体、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、坐骨神経  
 (筋肉近位端を含む) を 10 vol% 中性緩衝ホルマリン液に固定した。なお、

剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

④交尾の成立しなかった雌（動物番号 2108）

52 日間投与の翌日、エーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、③に示した全ての固定器官を同様に固定した。

⑤自然分娩の認められない雌（動物番号 2004, 2107, 2205, 2209, 2307, 2312）

妊娠 25 日に、エーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、③に示した全ての固定器官を同様に固定した。着床痕が認められない動物は妊娠不成立と判定した。

⑥全児死亡の認められた雌（動物番号 2012）

生存児全ての死亡または喰殺が確認された日にエーテル麻酔下で放血安楽死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った後、③に示した全ての固定器官を同様に固定した。なお、剖検時に黄体数および着床痕数を調べた。

#### 13.5.7.2. 病理組織学検査

下記に該当する動物について病理組織学検査を実施した。

組織は常法に従って株式会社組織科学研究所でパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色した。鏡検は安評センターで実施し、病変の種類、程度について記録した。

①死亡動物（動物番号 1105）および全児死亡動物（動物番号 2012）

全固定器官。

②妊娠を成立させた雄

対照群と高用量群の各 5 例（動物番号 1001～1003, 1005, 1006, 1301～1305）の全固定器官およびそれ以外の異常病変部組織（精巣上体：動物番号 1008, 1011, 1102, 1112, 1308, 肝臓：動物番号 1212, 皮膚：動物番号 1203, 1310）。

③自然分娩した雌

対照群と高用量群の各 5 例（動物番号 2001～2003, 2005, 2006, 2301～2305）の全固定器官およびそれ以外の異常病変部組織（胸腺：動物番号 2106, 2310, 腎臓：動物番号 2106, 肝臓：動物番号 2102, 2110, 皮膚：動物番号 2106, 2210）。

④交尾の成立しなかった雌雄（動物番号 1108, 2108）

膣, 子宮, 卵巣, 精巣, 精巣上体, 精囊, 前立腺および異常病変部組織（腎臓：動物番号 2108）。

⑤妊娠を成立させなかった雄（動物番号 1004, 1107, 1205, 1209, 1307, 1312）および妊娠不成立の雌（動物番号 2004, 2107, 2205, 2209, 2307,

2312)

腔, 子宮, 卵巢, 精巢, 精巢上部, 精囊および前立腺.

なお, 精巢については PAS・ヘマトキシリン染色およびヘマトキシリン・エオジン染色した後, ヘマトキシリン・エオジン染色標本で一般的病変を検査し, PAS・ヘマトキシリン染色標本で精子形成サイクル (VII または VIII) を検査したり.

### 13.6. 統計解析

体重, 体重増加量, 摂餌量, 累積摂餌量, 平均性周期, 黄体数, 着床痕数, 妊娠期間, 出産児数, 死産児数, 性比, 着床率, 出生率, 分娩率, 外表異常発現率, 出生児の 4 日生存率, 血液学検査値, 血液生化学検査値, 尿検査値 (尿量および浸透圧), 器官重量および器官重量・体重比については自動判別方式<sup>2)</sup>に従い, 最初に Bartlett の等分散検定を実施した. 等分散の場合は Dunnett の多重比較検定<sup>3)</sup>で対照群と各投与群間の有意差を検定した. Bartlett の等分散検定で不等分散の場合は Steel の検定<sup>4)</sup>で対照群と各投与群間の有意差を検定した.

出産率, 交尾率および受胎率については  $X^2$  検定を用いた.

異常性周期発現率, 剖検所見および病理組織所見の発生率については Fisher の直接確率検定法で検定した.

有意水準は Bartlett の等分散検定については 5%, その他の検定は 5 および 1% の両側検定で実施した.

但し, 供試動物数が 1 群につき 2 例以下の場合, 有意差検定は行わなかった.

なお, 哺育期間中の出生児に関する成績は 1 母体当たりの平均を 1 標本として集計した.

## 14. 試験結果

### 14.1. 反復投与毒性

#### 14.1.1. 死亡および一般状態 (Table 1-1~1-4, Appendix 1-1~1-4)

死亡例が 50 mg/kg 群の雄で投与 33 日に 1 例 (動物番号 1105) 認められた。しかし、この動物は飼育ケージに誤って挟まれて死亡した事故死であり、被験物質投与と関連しないものであった。

一般状態の観察で、雄では、被験物質投与の影響と考えられる症状として流涎が 150 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 3 および 12 例 (全例)、流涙が 500 mg/kg 群で 2 例に認められた。その他、鼻分泌物が 50 および 150 mg/kg 群でそれぞれ 2 および 1 例、軟便が対照群、50 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 1, 2 および 1 例、脱毛が 50, 150 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 1, 1 および 4 例、痂皮が 150 および 500 mg/kg 群で各 1 例、外傷が 500 mg/kg 群で 1 例に観察された。150 mg/kg 群で観察された流涎の多くは投与直後から投与後 5 分程度までの一過性の変化であった。一方、500 mg/kg 群での流涎は投与後 30 から 60 分まで継続していた。

雌では交配前、交配、妊娠および哺育期間を通じて流涎が 150 および 500 mg/kg 群で 2 および 12 例 (全例)、流涙が 150 および 500 mg/kg 群で各 1 例に観察された。その他、鼻分泌物、眼分泌物が 500 mg/kg 群でそれぞれ 1 例、脱毛が 50, 150 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 2 例、痂皮が 50, 150 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 1, 1 および 2 例に観察された。流涎は 150 mg/kg 群では投与直後から投与後 5 分程度までの一過性の変化であった。一方、500 mg/kg 群では投与後 6 時間まで継続する動物も数例認められた。

#### 14.1.2. 体重 (Figure 1~2, Table 2-1~2-2, Appendix 2-1~2-2)

雌雄とも対照群と被験物質投与群との間に有意な変化は認められなかった。

#### 14.1.3. 摂餌量 (Figure 3~4, Table 3-1~3-2, Appendix 3-1~3-2)

雄では対照群に比べ 500 mg/kg 群で投与 43 から 48 日の平均 1 日摂餌量が有意な高値を示したが、僅かな変化であり被験物質投与の影響とは判断しなかった。また、投与 1 から 15 日および 22 から 48 日間の累積摂餌量には、いずれの被験物質投与群にも差は認められなかった。

雌では対照群と被験物質投与群との間で有意な差は認められなかった。

## 14.1.4. 臨床検査

## 14.1.4.1. 血液学検査 (Table 4-1~4-2, 5-1~5-2, Appendix 4-1~4-2, 5-1~5-2)

雄では、対照群に比べ 500 mg/kg 群で網赤血球率が有意な高値を示した。雌では、500 mg/kg 群で大型非染色細胞比率が有意な高値を示したが、軽微な変化であった。

血液凝固能検査において、雄では対照群に比べ 500 mg/kg 群で活性化部分トロンボプラスチン時間が有意な短縮を示した。雌では 500 mg/kg 群でプロトロンビン時間が有意な延長を示したが、軽微な変化であった。

## 14.1.4.2. 血液生化学検査 (Table 6-1~6-2, Appendix 6-1~6-2)

雄では、対照群に比べ 150 および 500 mg/kg 群で A/G 比および総胆汁酸が有意な高値または高値傾向、500 mg/kg 群で中性脂肪が低値傾向を示した。さらに、500 mg/kg 群で総ビリルビン量が有意な高値を示したが、軽微な変化であった。

雌では、全ての被験物質投与群で総胆汁酸が有意な高値または高値傾向を示した。また、500 mg/kg 群で ALT が有意な低値を示した。

## 14.1.4.3. 尿検査 (Table 7, Appendix 7)

尿色観察で、対照群、50、150 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 3、2、1 および 0 例に黄褐色尿が認められ、用量に関連して黄褐色尿例が減少した。他の検査項目には、対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

## 14.1.5. 病理学検査

## 14.1.5.1. 器官重量 (Table 8-1~8-2, Appendix 8-1~8-2)

雄では対照群に比べ 500 mg/kg 群で腎臓の相対重量が有意な高値を示した。雌ではいずれの測定器官にも対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

## 14.1.5.2. 剖検所見 (Table 9-1~9-5, Appendix 9-1~9-2)

雄の 50 mg/kg 群で認められた死亡動物 (動物番号 1105) の剖検では、肝臓の癒痕および脳の赤色斑点が観察された。

計画解剖した雄では、小腸の憩室が対照群および 500 mg/kg 群で各 1 例、横隔膜結節が 150 mg/kg 群で 1 例、精巣および精巣上体の萎縮が対照群、50 および 500 mg/kg 群で各 1 例、精巣上体の結節が対照群、50 および 500 mg/kg 群で 2、2 および 1 例、脱毛が 150 および 500 mg/kg 群で各 1 例に

観察された。

計画解剖した雌では胸腺の萎縮，肝臓の白色斑点および黄色斑点，腎臓の淡色化および皮膚の痂皮が 50 mg/kg 群で各 1 例，胸腺の赤色化が 500 mg/kg 群で 1 例，脱毛が 150 および 500 mg/kg 群で各 1 例に観察された。

50 mg/kg 群の雌で 1 例（動物番号 2108）に認められた交尾不成立動物の解剖では，腎臓の腎盂拡張および尿管の内腔拡張が観察された。

対照群，50，150 および 500 mg/kg 群でそれぞれ 1，1，2 および 2 例（動物番号 2004，2107，2205，2209，2307，2312）に認められた妊娠不成立雌の剖検では，子宮の嚢胞が対照群で 1 例に観察された。

#### 14.1.5.3. 組織所見 (Table 10-1~10-9, Appendix 10-1~10-3)

50 mg/kg 群の死亡動物（動物番号 1105）では，肺の動脈中膜肥厚，肝臓の出血，腎臓の尿細管好塩基化および硝子円柱，甲状腺のリンパ球浸潤，副腎の空胞変性，脳および脊髄の出血が観察された。

妊娠を成立させた雄では，対照群と比較して被験物質投与群に多く発生した所見は認められなかった。所見としては心臓の細胞浸潤，肝臓の脂肪化および小肉芽腫，腎臓の尿細管好塩基化および硝子滴，前立腺のリンパ球浸潤が対照群および 500 mg/kg 群で多数例に観察された。その他，認められた所見は単発性あるいは散発性の発現であった。また，肉眼所見の異常病変に相当して肝横隔膜結節および精巣上体の精子肉芽腫が観察された。対照群および 500 mg/kg 群の妊娠を成立させた雄各 5 例の精巣について精子形成サイクルのステージ VII-VIII における精細管の精上皮細胞数を測定した結果，いずれの細胞数も対照群と同程度であった。なお，交尾の成立しなかった雄（動物番号 1108），妊娠を成立させなかった雄の 3 例（動物番号 1205，1209，1307）における精上皮細胞数は妊娠を成立させた雄の精上皮細胞数と差がみられなかった。妊娠を成立させなかった雄の他の 3 例（動物番号 1004，1107，1312）は組織学的に精細管が萎縮しており，精子形成サイクルの測定は不可能であった。

自然分娩した雌では，対照群と比較して被験物質投与群に多く発生した所見は認められなかった。所見としては脾臓の髓外造血，肝臓の脂肪化および小肉芽腫，乳腺の増生，子宮の分娩後病変が対照群および 500 mg/kg 群で多数例に観察された。その他，認められた所見は単発性あるいは散発性の発現であった。また，肉眼所見の異常病変に相当して胸腺の出血，萎縮（中等度），肝臓の小肉芽腫および髓外造血，腎臓の尿細管好塩基化，硝子円柱，管内細胞残屑，近位尿細管の変性，空胞変性および管上皮壊死，皮膚の潰瘍が観察された。

50 mg/kg 群で交尾の成立しなかった雌雄 1 組では、雄に前立腺のリンパ球浸潤、雌に腎臓の尿細管好塩基化および腎盂拡張（中等度）および子宮の内腔拡張が観察された。

妊娠を成立させなかった雄では、精巢の精細管の萎縮（中等度）および間細胞増生が対照群、50 および 500 mg/kg 群で各 1 例、精巢の多核巨細胞出現が 50 および 500 mg/kg 群で各 1 例、精巢上体の精子減少が対照群、50 および 500 mg/kg 群で各 1 例観察された。

妊娠不成立の雌では、子宮の腺腔拡張が観察された。

全児死亡の認められた対照群の雌では、脾臓の色素沈着および髄外造血、胸腺の嚢胞、肺のマクロファージ集簇、肝臓のリンパ球浸潤、小肉芽腫および髄外造血、腎臓の尿細管好塩基化およびリンパ球浸潤、ハーダー腺の小肉芽腫が観察された。

## 14.2. 生殖発生毒性

### 14.2.1. 交尾および受胎能 (Table 11, Appendix 11-1~11-2)

交尾は 50 mg/kg 群の 1 組を除き全て成立（交尾率 100%）し、50 mg/kg 群の交尾率は 91.7%であった。受胎は対照群、50、150 および 500 mg/kg 群で 1、1、2 および 2 例が成立せず、受胎率はそれぞれ 91.7、90.9、83.3 および 83.3%であった。

性周期観察では、平均性周期に対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。異常性周期を示す動物が 150 および 500 mg/kg 群で 1 および 2 例認められたが、異常性周期発現率に差は認められなかった。

### 14.2.2. 分娩および哺育 (Table 12, Appendix 12)

分娩状態に異常は観察されなかった。各群の妊娠期間、黄体数、着床痕数、出産児数および出産生児数はほぼ同様な値を示し、出産率、着床率、出生率、性比および生後 4 日生存率に対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

### 14.2.3. 新生児の形態、体重および剖検所見 (Table 13, 14, 15-1~15-2, Appendix 13, 14, 15-1~15-2)

新生児の外表検査では、500 mg/kg 群で鎖肛および無尾が同一の個体に認められた。

哺育 0 および 4 日の体重では、雌雄ともに対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

哺育期間中の死亡児の剖検では、腎盂拡張が 150 mg/kg 群の雄で 1 例に認

められた (Table, Appendix には示していない).

哺育4日の剖検では、胸腺頸部残留が雌雄の150および雄の500 mg/kg 群でそれぞれ1例、肝臓の白色斑点が雄の500および雌の50 mg/kg 群で各1例、腎臓の腎盂拡張が雄の50, 150および500 mg/kg 群でそれぞれ4, 3および1例、雌の対照群, 50, 150および500 mg/kg 群でそれぞれ4, 4, 2および1例、尿管拡張が雄の50, 150および500 mg/kg 群でそれぞれ4, 3および1例、雌の対照群, 50, 150および500 mg/kg 群でそれぞれ1, 3, 5および4例、尾の痂皮が雌雄の150 mg/kg 群でそれぞれ3例、尾の壊疽が対照群の雌で1例、無尾、鎖肛および肝臓の白色化が500 mg/kg 群の雌で1例および皮膚の痂皮が500 mg/kg 群の雄で1例に観察された (Appendix には示していない).

## 15. 考察および結論

### 15.1. 反復投与毒性

被験物質投与の影響と考えられる死亡動物は認められなかった。投与後の一般状態の変化として、流涎が雄の 150 mg/kg 群で 3 例、500 mg/kg 群で 12 例全例、雌では 150 mg/kg 群で 2 例、500 mg/kg 群で 12 例全例に観察された。さらに、少数例の発現ではあるが流涙が雄の 500 mg/kg 群で 2 例、雌の 150 および 500 mg/kg 群で各 1 例に観察された。どちらの所見も 2 週間投与予備試験でも雌雄の 300 mg/kg 以上の群で認められており、被験物質投与の影響と判断した。その他、観察された所見は自然発生性の変化と考えられ、被験物質投与の影響ではないと判断した。

体重および摂餌量では、雌雄とも被験物質投与の影響は認められなかった。臨床検査では血液学検査において、雄の 500 mg/kg 群で網赤血球率の高値が認められたが僅かな変化であり、他の赤血球項目に変化が認められなかったため、毒性学的には意義のない変化であったと考えた。雌では被験物質投与の影響は認められなかった。

血液凝固能検査では、雄の 500 mg/kg 群で活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が認められたが、同項目の短縮は毒性学的に意味のない変化と考えた。雌では被験物質投与の影響は認められなかった。

血液生化学検査において、雄の 150 および 500 mg/kg 群、雌の全ての被験物質投与群で認められた総胆汁酸の高値、雄の 500 mg/kg 群で認められた中性脂肪の低値については被験物質投与の影響と考えられたが、機序については不明であった。その他、雄の 150 および 500 mg/kg 群で A/G 比の高値が認められたが僅かな変化であり、総蛋白およびアルブミン量には変化が認められなかったことから毒性学的には意義のない変化と判断した。また、雌の 500 mg/kg 群で ALT の低値が認められたが、この項目の低値は毒性学的に意味のない変化と考えた。

雄の尿検査では、用量に関連して黄褐色尿例が減少したが、異常を示唆する尿色ではないことから被験物質投与の影響とは考えなかった。

病理学検査では、事故により死亡した 50 mg/kg 群の雄動物に剖検で観察された肝臓の癒痕と脳の赤色斑点は、組織学的には肝臓の出血、脳および脊髄の出血に相当した。妊娠を成立させた雄および自然分娩した雌において、剖検および組織所見とも被験物質の影響と考えられる所見は観察されなかった。認められた所見はいずれも対照群と 500 mg/kg 群で同程度の発生数であるか、少数または単発性の発生であることから自然発生性と考えた。対照群および 500 mg/kg 群の精巣について実施した精子形成サイクル

における精細管の精上皮細胞数を測定したところ、被験物質投与の影響は認められなかった。また、腎臓の相対重量の増加が雄の 500 mg/kg 群において認められ、組織所見で対応する変化は認められなかったが、被験物質投与の影響が疑われた。

以上のことから、シクロヘキセンの反復投与により投与後症状として流涎および流涙が雌雄の 150 mg/kg 以上の投与群で観察された。また、血液生化学検査で雄の 150 mg/kg 以上、雌の 50 mg/kg 以上の投与群で総胆汁酸が高値、雄の 500 mg/kg 群で中性脂肪が低値を示した。

したがって、本試験条件下におけるシクロヘキセンの反復投与による無影響量は雄では 50 mg/kg/day、雌では確認できず 50 mg/kg/day 未満と判断された。

## 15.2. 生殖発生毒性

性周期、交尾能および受胎能に被験物質投与の影響は認められなかった。異常性周期が 150 および 500 mg/kg 群で、1 および 2 例に認められたが、150 mg/kg 群の 1 例および 500 mg/kg 群の 1 例については発情休止期が 10 日程続いており偽妊娠と考えられた。また、500 mg/kg 群の残りの 1 例については投与開始前から 6 日の周期が観察されていた。したがって、これら異常性周期に被験物質投与との関連性はないものと判断した。50 mg/kg 群で交尾の成立しなかった雌雄についての病理学検査では、特異的な変化は認められず、その原因は明らかにできなかった。

分娩時観察では交尾成立動物のうち（対照群を含め）83.3～91.7%が正常に分娩し、妊娠期間にも被験物質投与の影響は認められなかった。妊娠不成立の動物において、雄では肉眼所見において精巣および精巣上体の萎縮が観察された。そのうち対照群、50 および 500 mg/kg 群の数例では組織学的に精巣の精細管萎縮と間細胞増生および精巣上体の精子減少が観察され、これらの動物では妊娠不成立の原因に精巣の精細管萎縮が関与していると考えられた。その他の雄と雌においては、妊娠不成立の原因は剖検および組織所見から明らかにできなかった。しかし、不妊動物は対照群でも認められており、被験物質投与とは関連のない現象と考えた。

また、対照群で哺育期間中に全児死亡が 1 例に認められたが、剖検および組織所見から、その原因は不明であった。

その他、妊娠黄体数、着床痕数、出産児数、出產生児数、性比、哺育 4 日生児数、出産率、着床率、出生率、生後 4 日生存率、雌雄の哺育 0 および 4 日の平均体重に被験物質投与の影響は認められなかった。

新生児の外表検査では、500 mg/kg 群で鎖肛および無尾を伴った児が観察されたが、1例のみの発現であることから被験物質投与の影響とは考えなかった。

死亡児および哺育4日の剖検では、被験物質投与によると考えられる異常所見は観察されなかった。

以上のことから、シクロヘキセンの生殖能および次世代児に対する影響はともに 500 mg/kg/day 投与によっても認められず、無影響量は 500 mg/kg/day と判断された。

16. 参考文献

- 1) 高橋道人：精巢毒性評価のための精細管アトラス：ソフトサイエンス社, (1994).
- 2) KOBAYASHI, K *et.al.* : 産業衛生学雑誌, 42 (4) : 125-129, (2000).
- 3) YOSHIDA, M. : J. Japanese Soc. Comp. Stat., 1 : 111-122, (1988).
- 4) Steel, R. G. D. : Biometrics, 15 : 560-572, (1959).

F i g u r e s

F-1

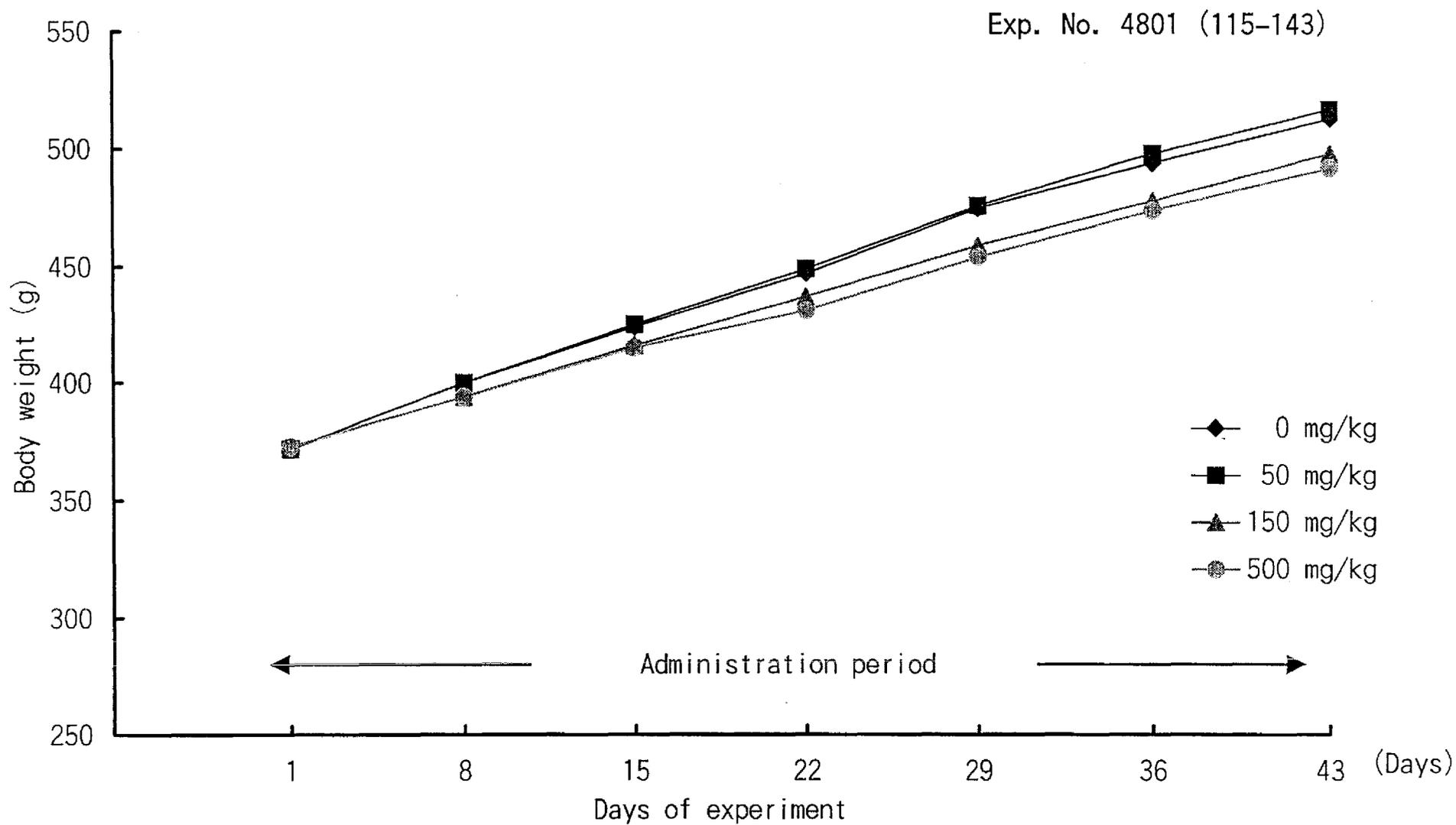


Figure 1 Body weight change of male rats

F-2

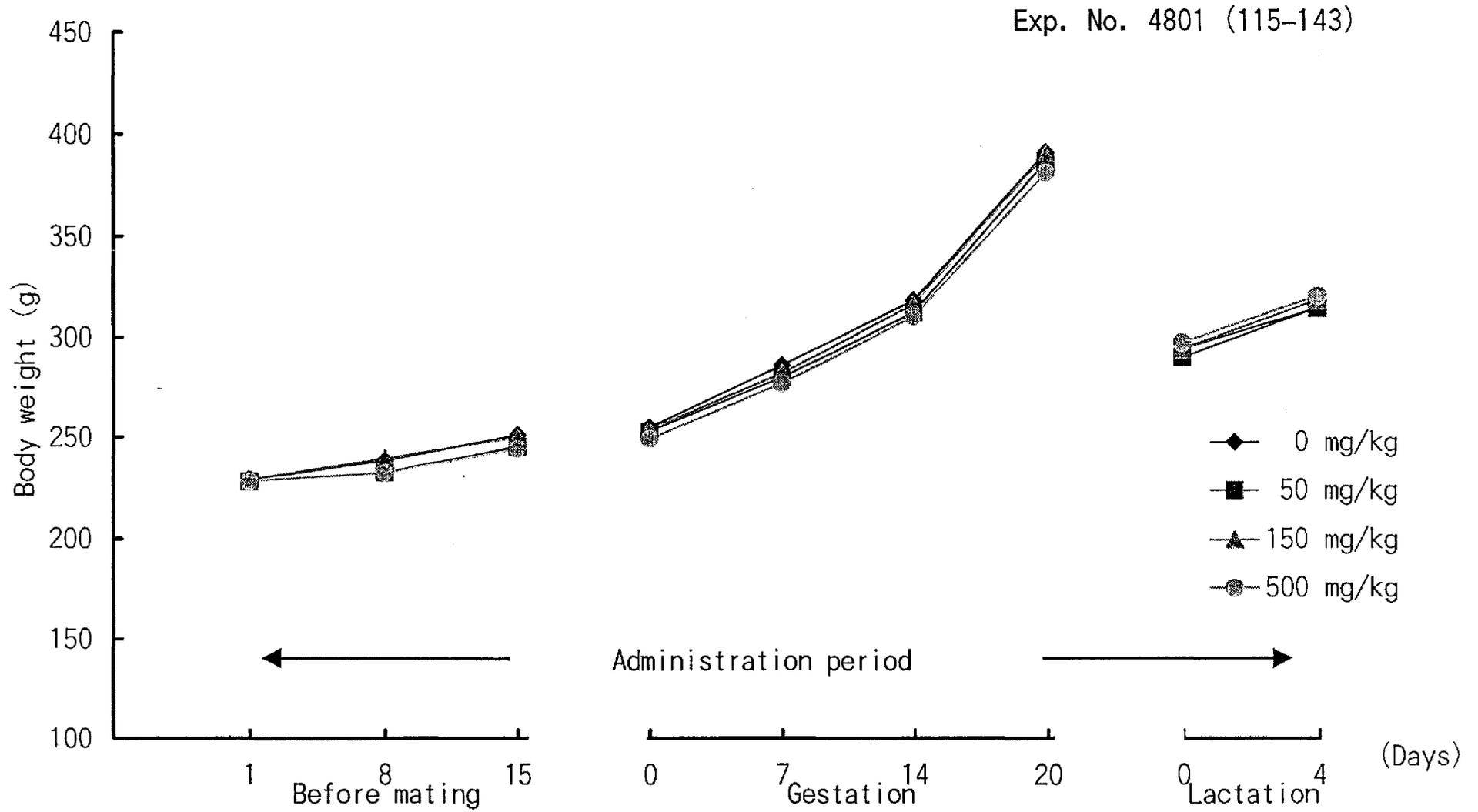


Figure 2 Body weight change of female rats

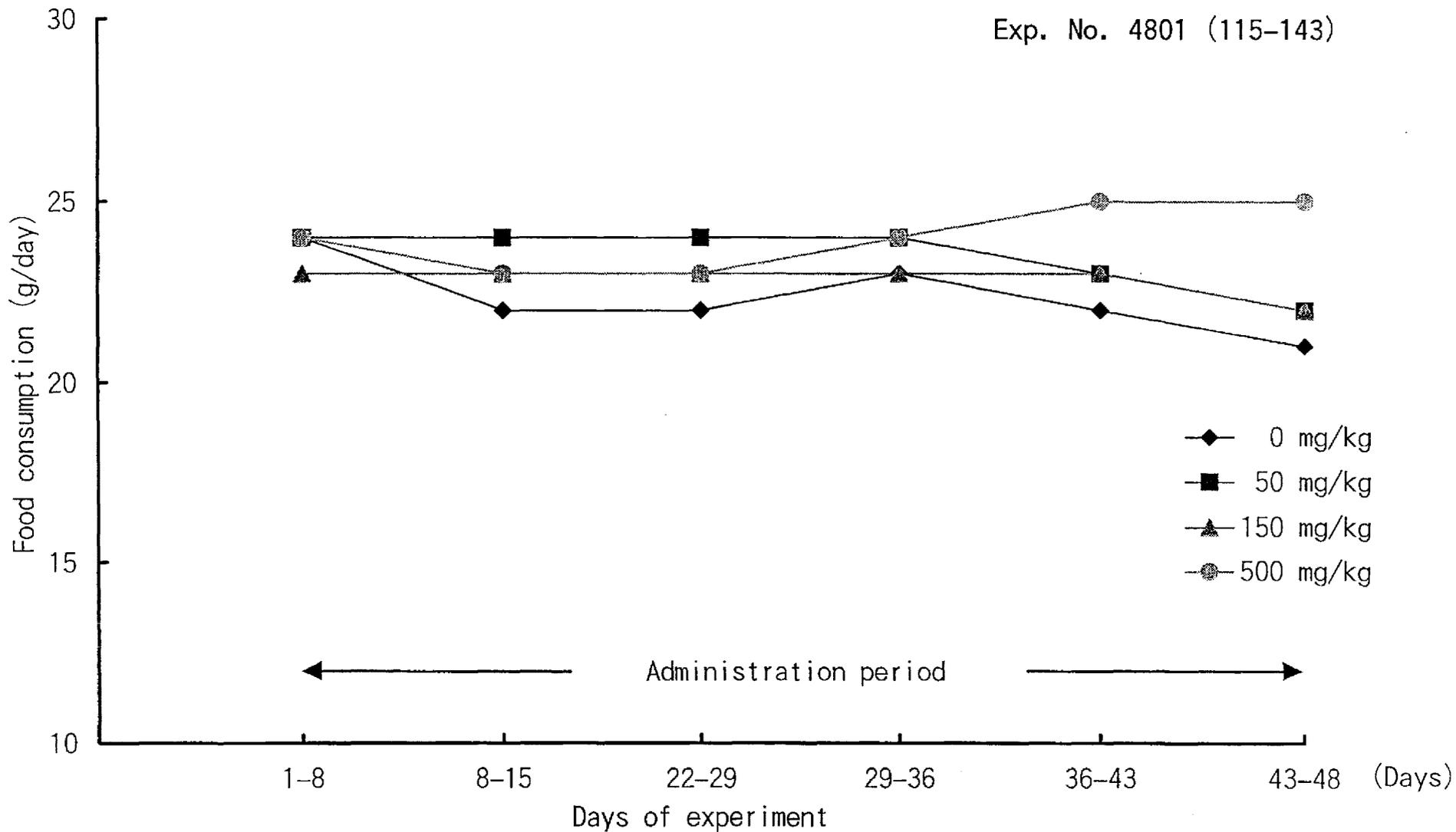


Figure 3 Food consumption of male rats

F-4

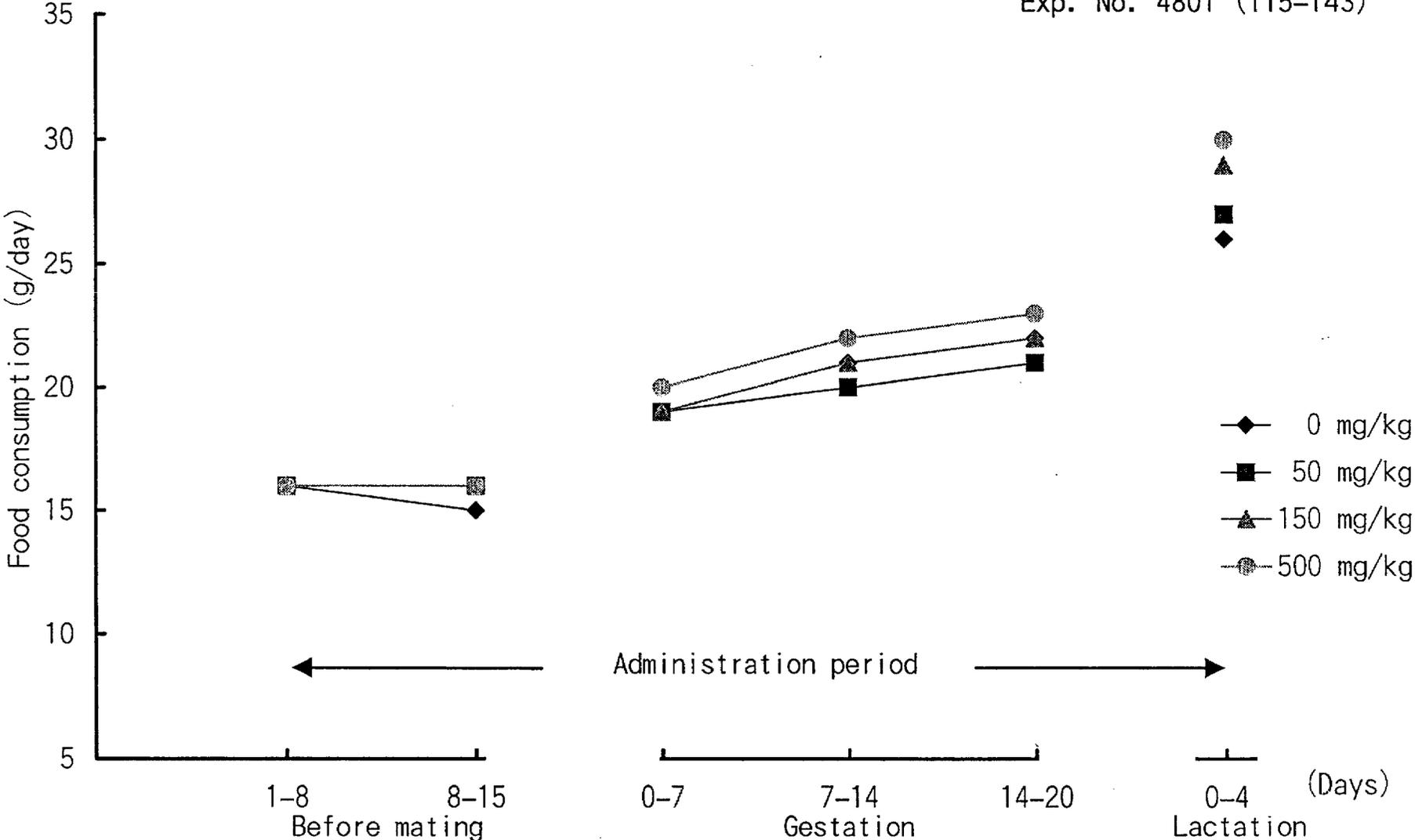


Figure 4 Food consumption of female rats

T a b l e s

Table 1-1

## Clinical observations in male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment							Total (1-49)
		1- 7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	
number per group	0	12	12	12	12	12	12	12	
	50	12	12	12	12	12	11	11	
	150	12	12	12	12	12	12	12	
	500	12	12	12	12	12	12	12	
normal	0	12	11	12	12	12	12	12	11
	50	9	9	11	12	11	11	11	7
	150	11	11	10	9	10	10	9	8
	500	5	4	0	0	0	0	0	0
dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	1	0	0	1
	150	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	1	1 a)	0	0	0	0	1 b)
	150	1	1	1	1	1	1	1	1
	500	1	1	3	3	3	2	1	4
trauma	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	1	0	0	0	1
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	1	0	0	0	0	0	1
	500	0	0	0	1	1	0	0	1
lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	1	0	0	1	0	0	0	2
nasal discharge	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	1	2	0	0	0	0	0	2
	150	0	0	0	1	0	0	0	1
	500	0	0	0	0	0	0	0	0

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 1-1 -continued

## Clinical observations in male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment						Total (1-49)	
		1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42		43-49
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	1	2	2	2	2	3	3
	500	6	8	12	12	12	12	12	12
loose stool	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	50	2	0	0	0	0	0	0	2
	150	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	1	0	0	0	0	0	0	1

Table 1-2

Clinical observations in female rats  
(Before and during mating period)

Exp. No. 4801 (115-143)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of experiment								Total (1-53)
		1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42	43-49	50-53	
number per group	0	12	12	12	0	0	0	0	0	
	50	12	12	12	1	1	1	1	1	
	150	12	12	12	0	0	0	0	0	
	500	12	12	12	1	0	0	0	0	
normal	0	12	12	12	0	0	0	0	0	12
	50	11	11	11	1	1	1	1	1	11
	150	9	10	11	0	0	0	0	0	7
	500	5	2	3	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	1	1	1 a)	0	0	0	0	0	1 b)
	150	0	1	1	0	0	0	0	0	1
	500	1	1	1	1	0	0	0	0	2
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0
lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	500	1	0	0	0	0	0	0	0	1
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	1	0	0	0	0	0	0	0	1
nasal discharge	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	1	0	0	0	0	0	0	0	1
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	1	1	0	0	0	0	0	0	2
	500	5	10	9	1	0	0	0	0	12

a) No. of animals with clinical sign in group

b) Total no. of animals with clinical sign in group

Table 1-3

Clinical observations in female rats  
(Gestation period)

Exp. No. 4801 (115-143)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
number per group	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	50	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	150	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	500	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
normal	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
	50	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	150	10	10	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9	
	500	1	1	2	2	2	1	2	0	1	3	1	1	2
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	500	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	8	9	8	8	8	9	8	10	9	7	9	9	8

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of gestation											Total (0-23)	
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		
number per group	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6	
	50	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	2	
	150	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	3	
	500	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5	
normal	0	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	6	11
	50	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	2	9
	150	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	3	8
	500	0	1	1	1	0	0	1	3	3	4	5	5	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
	150	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
	500	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	2
crust	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	500	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1
discharge of eye	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500	9	7	9	9	8	8	8	6	6	5	0	0	10

Table 1-4

Clinical observations in female rats  
(Lactation period)

Exp. No. 4801 (115-143)

Signs	Dose level (mg/kg)	Days of lactation						Total ( 0- 5)
		0	1	2	3	4	5	
number per group	0	11	11	11	10	10	10	
	50	10	10	10	10	10	10	
	150	10	10	10	10	10	10	
	500	10	10	10	10	10	10	
normal	0	11	11	10	10	10	10	10
	50	9	9	8	8	8	9	8
	150	9	9	9	9	9	9	9
	500	3	1	0	2	1	9	0
all pups died	0	0	0	1	0	0	0	1
	50	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0
loss of hair	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	1	1	1	1	1	0	1
	150	1	1	1	1	1	1	1
	500	1	1	1	1	1	1	1
crust	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	1	1	1	1	1
	150	0	0	0	0	0	0	0
	500	0	0	0	0	0	0	0
salivation	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0
	150	0	0	0	0	0	0	0
	500	7	8	9	7	8	0	10

Table 2-1

## Body weight change of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Unit : g

Dose level (mg/kg)	0			50			150			500		
No. of animals	12			12			12			12		
	Mean	± S.D.	( N )	Mean	± S.D.	( N )	Mean	± S.D.	( N )	Mean	± S.D.	( N )
Days of experiment	1	372 ± 20	(12)	372 ± 20	(12)	373 ± 20	(12)	373 ± 19	(12)	373 ± 19	(12)	(12)
	8	400 ± 29	(12)	400 ± 24	(12)	394 ± 20	(12)	394 ± 22	(12)	394 ± 22	(12)	(12)
	15	424 ± 35	(12)	425 ± 25	(12)	416 ± 24	(12)	415 ± 22	(12)	415 ± 22	(12)	(12)
	22	447 ± 38	(12)	449 ± 28	(12)	437 ± 27	(12)	431 ± 25	(12)	431 ± 25	(12)	(12)
	29	475 ± 42	(12)	476 ± 30	(12)	459 ± 34	(12)	454 ± 26	(12)	454 ± 26	(12)	(12)
	36	494 ± 48	(12)	498 ± 35	(11)	478 ± 37	(12)	474 ± 29	(12)	474 ± 29	(12)	(12)
	43	513 ± 52	(12)	517 ± 38	(11)	498 ± 37	(12)	492 ± 33	(12)	492 ± 33	(12)	(12)
	49	494 ± 51	(12)	500 ± 38	(11)	481 ± 37	(12)	469 ± 31	(12)	469 ± 31	(12)	(12)
Gain 1-43	141 ± 34	(12)		144 ± 20	(11)		125 ± 28	(12)		119 ± 22	(12)	

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 2-2

Body weight change of female rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Unit : g

Dose level (mg/kg)		0		50		150		500	
Before mating period									
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean ± S.D. (N)							
Days of before mating	1	229 ± 12	(12)	228 ± 11	(12)	229 ± 12	(12)	228 ± 12	(12)
	8	238 ± 10	(12)	232 ± 11	(12)	239 ± 13	(12)	232 ± 12	(12)
	15	251 ± 12	(12)	245 ± 13	(12)	250 ± 13	(12)	244 ± 13	(12)
Gain	1-15	23 ± 7	(12)	17 ± 8	(12)	20 ± 9	(12)	16 ± 6	(12)
-----									
Gestation period									
No. of dams		11		10		10		10	
		Mean ± S.D. (N)							
Days of gestation	0	255 ± 11	(11)	253 ± 10	(10)	254 ± 15	(10)	249 ± 18	(10)
	7	286 ± 16	(11)	280 ± 16	(10)	282 ± 16	(10)	277 ± 19	(10)
	14	318 ± 18	(11)	312 ± 16	(10)	316 ± 17	(10)	310 ± 19	(10)
	20	391 ± 22	(11)	386 ± 19	(10)	390 ± 19	(10)	381 ± 21	(10)
Gain	0-20	136 ± 20	(11)	133 ± 11	(10)	135 ± 11	(10)	132 ± 14	(10)
-----									
Lactation period									
No. of dams		11		10		10		10	
		Mean ± S.D. (N)							
Days of lactation	0	294 ± 28	(11)	290 ± 16	(10)	294 ± 23	(10)	297 ± 19	(10)
	4	314 ± 21	(10)	314 ± 37	(10)	318 ± 22	(10)	320 ± 19	(10)
	5	289 ± 18	(10)	285 ± 27	(10)	293 ± 23	(10)	287 ± 19	(10)
Gain	0-4	27 ± 15	(10)	24 ± 32	(10)	23 ± 18	(10)	23 ± 8	(10)

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 3-1

## Food consumption of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)		0		50		150		500	
No. of animals		12		12		12		12	
		Mean ± S.D. ( N )		Mean ± S.D. ( N )		Mean ± S.D. ( N )		Mean ± S.D. ( N )	
Days of experiment	1-8	24 ± 4	(12)	24 ± 2	(12)	23 ± 2	(12)	24 ± 3	(12)
	8-15	22 ± 4	(12)	24 ± 2	(12)	23 ± 2	(12)	23 ± 3	(12)
	22-29	22 ± 3	(12)	24 ± 2	(11)	23 ± 2	(12)	23 ± 2	(11)
	29-36	23 ± 4	(12)	24 ± 2	(11)	23 ± 2	(12)	24 ± 3	(12)
	36-43	22 ± 3	(12)	23 ± 3	(11)	23 ± 2	(12)	25 ± 3	(12)
	43-48	21 ± 3	(12)	22 ± 2	(11)	22 ± 2	(12)	25 ± 3**	(12)
Cumulative consumption (g)	1-15	323 ± 51	(12)	337 ± 31	(12)	323 ± 21	(12)	327 ± 35	(12)
	22-48	577 ± 90	(12)	601 ± 57	(10)	596 ± 49	(12)	614 ± 62	(11)

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 3-2

## Food consumption of female rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Unit : g/day

Dose level (mg/kg)	0	50	150	500
Before mating period No. of animals	12	12	12	12
	Mean ± S.D. ( N )			
Days of before mating 1- 8	16 ± 2 (12)	16 ± 1 (12)	16 ± 2 (12)	16 ± 1 (12)
8-15	15 ± 2 (12)	16 ± 1 (12)	16 ± 2 (12)	16 ± 1 (12)
Cumulative consumption (g) 1-15	219 ± 22 (12)	219 ± 13 (12)	225 ± 27 (12)	225 ± 16 (12)
Gestation period No. of dams	11	10	10	10
	Mean ± S.D. ( N )			
Days of gestation 0- 7	19 ± 2 (11)	19 ± 2 (10)	19 ± 2 (10)	20 ± 1 (10)
7-14	21 ± 2 (11)	20 ± 2 (10)	21 ± 3 (10)	22 ± 1 (10)
14-20	22 ± 2 (11)	21 ± 2 (10)	22 ± 3 (10)	23 ± 2 (10)
Cumulative consumption (g) 0-20	414 ± 37 (11)	397 ± 35 (10)	413 ± 42 (10)	427 ± 25 (10)
Lactation period No. of dams	10	10	10	10
	Mean ± S.D. ( N )			
Days of lactation 0- 4	26 ± 5 (10)	27 ± 10 (10)	29 ± 7 (10)	30 ± 4 (10)

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 4-1

## Hematology of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0			50			150			500		
No. of animals	12			11			12			12		
	Mean	± S.D.	( N )	Mean	± S.D.	( N )	Mean	± S.D.	( N )	Mean	± S.D.	( N )
WBC ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	8.7	± 3.3	(12)	8.6	± 2.3	(11)	7.9	± 2.4	(12)	9.9	± 2.4	(12)
RBC ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	8.76	± 0.40	(12)	8.71	± 0.35	(11)	8.66	± 0.29	(12)	8.82	± 0.27	(12)
HGB (g/dL)	15.7	± 0.5	(12)	15.6	± 0.5	(11)	15.6	± 0.4	(12)	15.9	± 0.6	(12)
HCT (%)	46.8	± 1.9	(12)	46.2	± 1.7	(11)	46.3	± 1.0	(12)	47.6	± 1.9	(12)
MCV ( $\mu\text{m}^3$ )	53.4	± 1.5	(12)	53.1	± 1.1	(11)	53.5	± 1.4	(12)	54.0	± 1.8	(12)
MCH (pg)	18.0	± 0.6	(12)	17.9	± 0.5	(11)	18.0	± 0.6	(12)	18.0	± 0.6	(12)
MCHG (%)	33.6	± 0.6	(12)	33.7	± 0.6	(11)	33.6	± 0.4	(12)	33.3	± 0.4	(12)
PLT ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	1196	± 143	(12)	1263	± 112	(11)	1109	± 81	(12)	1101	± 87	(12)
Differential leukocyte counts (%)												
NEUT	17	± 5	(12)	14	± 5	(11)	16	± 5	(12)	18	± 6	(12)
LYMPH	79	± 6	(12)	82	± 6	(11)	81	± 5	(12)	79	± 7	(12)
MONO	2	± 1	(12)	2	± 1	(11)	2	± 1	(12)	2	± 1	(12)
EOSN	1	± 1	(12)	1	± 1	(11)	2	± 1	(12)	1	± 0	(12)
BASO	0	± 0	(12)	0	± 0	(11)	0	± 0	(12)	0	± 0	(12)
LUC	0	± 0	(12)	0	± 0	(11)	0	± 0	(12)	1	± 0	(12)
Reticulocyte (%)	2.1	± 0.3	(12)	2.3	± 0.3	(11)	2.4	± 0.3	(12)	2.5	± 0.4*	(12)

NEUT : Neutrophil    LYMPH : Lymphocyte    MONO : Monocyte    EOSN : Eosinophil    BASO : Basophil    LUC : Large unstained cells  
 Significant difference from control group;    \*:  $p \leq 0.05$     \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 4-2

## Hematology of female rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0		50		150		500	
No. of animals	10		10		10		10	
	Mean ± S.D.	( N )						
WBC( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	10.7 ± 2.3	(10)	12.4 ± 4.4	(10)	10.7 ± 3.2	(10)	8.4 ± 1.9	(10)
RBC( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	6.69 ± 0.41	(10)	6.54 ± 0.78	(10)	6.85 ± 0.32	(10)	7.05 ± 0.36	(10)
HGB(g/dL)	12.9 ± 0.9	(10)	12.7 ± 1.4	(10)	12.9 ± 0.8	(10)	13.8 ± 0.4	(10)
HCT(%)	39.1 ± 2.1	(10)	38.1 ± 4.6	(10)	39.1 ± 2.1	(10)	41.1 ± 0.9	(10)
MCV( $\mu\text{m}^3$ )	58.5 ± 2.4	(10)	58.2 ± 1.9	(10)	57.1 ± 1.8	(10)	58.4 ± 2.5	(10)
MCH(pg)	19.3 ± 0.9	(10)	19.5 ± 0.5	(10)	18.8 ± 0.6	(10)	19.5 ± 0.8	(10)
MCHC(%)	32.9 ± 0.5	(10)	33.5 ± 0.7	(10)	33.0 ± 0.6	(10)	33.5 ± 0.5	(10)
PLT ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	1423 ± 234	(10)	1581 ± 584	(10)	1497 ± 232	(10)	1336 ± 142	(10)
Differential leukocyte counts(%)								
NEUT	36 ± 10	(10)	35 ± 10	(10)	34 ± 11	(10)	31 ± 5	(10)
LYMPH	62 ± 11	(10)	62 ± 10	(10)	63 ± 9	(10)	65 ± 5	(10)
MONO	2 ± 1	(10)	2 ± 1	(10)	2 ± 1	(10)	2 ± 1	(10)
EOSN	1 ± 1	(10)	1 ± 0	(10)	1 ± 1	(10)	1 ± 0	(10)
BASO	0 ± 0	(10)	0 ± 0	(10)	0 ± 0	(10)	0 ± 0	(10)
LUC	0 ± 0	(10)	0 ± 0	(10)	0 ± 1	(10)	1 ± 0*	(10)
Reticulocyte(%)	7.9 ± 1.6	(10)	9.5 ± 4.4	(10)	7.0 ± 1.3	(10)	6.9 ± 1.4	(10)

NEUT : Neutrophil    LYMPH : Lymphocyte    MONO : Monocyte    EOSN : Eosinophil    BASO : Basophil    LUC : Large unstained cells  
 Significant difference from control group;    \*:  $p \leq 0.05$     \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 5-1

## Coagulation of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0	50	150	500
No. of animals	12	11	12	12
	Mean $\pm$ S.D. (N)			
PT(sec.)	15.8 $\pm$ 1.3 (12)	15.5 $\pm$ 2.0 (11)	15.8 $\pm$ 1.3 (12)	15.0 $\pm$ 0.8 (12)
APTT(sec.)	22.0 $\pm$ 2.1 (12)	20.4 $\pm$ 1.2 (11)	20.6 $\pm$ 2.0 (12)	19.4 $\pm$ 1.9** (12)

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 5-2

## Coagulation of female rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0	50	150	500
No. of animals	10	10	10	10
	Mean $\pm$ S.D. (N)			
PT(sec.)	14.5 $\pm$ 0.5 (10)	15.2 $\pm$ 0.6 (10)	15.1 $\pm$ 0.6 (10)	15.4 $\pm$ 0.6** (10)
APTT(sec.)	14.9 $\pm$ 2.6 (10)	15.0 $\pm$ 2.4 (10)	14.7 $\pm$ 1.9 (10)	15.0 $\pm$ 1.2 (10)

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 6-1

## Blood chemistry of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0		50		150		500	
No. of animals	12		11		12		12	
	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )
T.protein(g/dL)	6.11 ± 0.36	(12)	5.97 ± 0.21	(11)	5.99 ± 0.30	(12)	6.01 ± 0.28	(12)
Albumin(g/dL)	3.62 ± 0.26	(12)	3.58 ± 0.16	(11)	3.67 ± 0.08	(12)	3.68 ± 0.21	(12)
A/G	1.46 ± 0.10	(12)	1.50 ± 0.14	(11)	1.60 ± 0.17*	(12)	1.59 ± 0.11	(12)
Glucose(mg/dL)	148 ± 16	(12)	151 ± 19	(11)	148 ± 15	(12)	137 ± 16	(12)
Triglyceride(mg/dL)	39.2 ± 22.4	(12)	36.8 ± 18.8	(11)	27.7 ± 16.7	(12)	22.5 ± 7.7	(12)
T.cholesterol(mg/dL)	52 ± 9	(12)	57 ± 9	(11)	55 ± 16	(12)	52 ± 9	(12)
BUN(mg/dL)	13.5 ± 1.4	(12)	14.0 ± 1.5	(11)	14.6 ± 1.6	(12)	13.0 ± 1.8	(12)
Creatinine(mg/dL)	0.28 ± 0.04	(12)	0.28 ± 0.03	(11)	0.28 ± 0.04	(12)	0.25 ± 0.03	(12)
T.bilirubin(mg/dL)	0.03 ± 0.01	(12)	0.04 ± 0.01	(11)	0.05 ± 0.01	(12)	0.05 ± 0.01*	(12)
AST(U/L)	65 ± 12	(12)	73 ± 26	(11)	67 ± 7	(12)	78 ± 27	(12)
ALT(U/L)	30 ± 6	(12)	31 ± 8	(11)	30 ± 8	(12)	38 ± 22	(12)
ALP(U/L)	394 ± 66	(12)	380 ± 105	(11)	436 ± 118	(12)	421 ± 98	(12)
Calcium(mg/dL)	10.04 ± 0.36	(12)	9.94 ± 0.39	(11)	9.87 ± 0.34	(12)	9.99 ± 0.28	(12)
I.phosphorus(mg/dL)	6.66 ± 0.71	(12)	6.81 ± 0.83	(11)	6.57 ± 0.67	(12)	7.15 ± 0.80	(12)
Sodium(mmol/L)	144.6 ± 1.2	(12)	144.0 ± 0.9	(11)	144.1 ± 0.9	(12)	143.8 ± 0.8	(12)
Potassium(mmol/L)	4.17 ± 0.23	(12)	4.36 ± 0.27	(11)	4.24 ± 0.23	(12)	4.32 ± 0.20	(12)
Chloride(mmol/L)	108.0 ± 1.4	(12)	108.3 ± 2.2	(11)	108.6 ± 2.2	(12)	107.8 ± 1.9	(12)
Total Bile Acid(μmol/L)	18.8 ± 15.0	(12)	20.8 ± 16.6	(11)	39.9 ± 21.0*	(12)	32.6 ± 25.5	(12)

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 6-2

## Blood chemistry of female rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0		50		150		500	
No. of animals	10		10		10		10	
	Mean ± S.D.	( N )						
T.protein(g/dL)	5.85 ± 0.26	(10)	5.79 ± 0.35	(10)	5.78 ± 0.17	(10)	5.75 ± 0.24	(10)
Albumin(g/dL)	3.55 ± 0.15	(10)	3.56 ± 0.19	(10)	3.53 ± 0.11	(10)	3.58 ± 0.15	(10)
A/G	1.57 ± 0.19	(10)	1.62 ± 0.18	(10)	1.58 ± 0.13	(10)	1.66 ± 0.14	(10)
Glucose(mg/dL)	141 ± 16	(10)	131 ± 25	(10)	141 ± 16	(10)	136 ± 17	(10)
Triglyceride(mg/dL)	45.4 ± 24.9	(10)	66.6 ± 85.8	(10)	37.8 ± 9.0	(10)	39.4 ± 13.9	(10)
T.cholesterol(mg/dL)	59 ± 16	(10)	60 ± 13	(10)	58 ± 9	(10)	55 ± 6	(10)
BUN(mg/dL)	16.2 ± 2.8	(10)	25.5 ± 24.5	(10)	15.7 ± 2.5	(10)	19.6 ± 2.8	(10)
Creatinine(mg/dL)	0.31 ± 0.04	(10)	0.42 ± 0.32	(10)	0.29 ± 0.03	(10)	0.31 ± 0.06	(10)
T.bilirubin(mg/dL)	0.04 ± 0.01	(10)	0.05 ± 0.02	(10)	0.05 ± 0.02	(10)	0.06 ± 0.01	(10)
AST(U/L)	103 ± 29	(10)	92 ± 22	(10)	90 ± 15	(10)	81 ± 15	(10)
ALT(U/L)	61 ± 17	(10)	56 ± 18	(10)	51 ± 9	(10)	45 ± 10*	(10)
ALP(U/L)	398 ± 172	(10)	361 ± 115	(10)	310 ± 122	(10)	274 ± 105	(10)
Calcium(mg/dL)	10.21 ± 0.28	(10)	10.08 ± 0.37	(10)	10.08 ± 0.35	(10)	10.06 ± 0.24	(10)
I.phosphorus(mg/dL)	7.36 ± 0.61	(10)	7.36 ± 1.05	(10)	7.03 ± 0.32	(10)	7.32 ± 0.57	(10)
Sodium(mmol/L)	142.4 ± 1.6	(10)	141.0 ± 2.0	(10)	142.2 ± 2.6	(10)	142.3 ± 1.1	(10)
Potassium(mmol/L)	4.50 ± 0.32	(10)	4.51 ± 0.25	(10)	4.56 ± 0.41	(10)	4.48 ± 0.37	(10)
Chloride(mmol/L)	107.5 ± 2.4	(10)	107.8 ± 1.6	(10)	107.4 ± 2.2	(10)	107.4 ± 1.9	(10)
Total Bile Acid(μmol/L)	19.3 ± 8.6	(10)	49.2 ± 28.8*	(10)	31.2 ± 19.7	(10)	82.2 ± 81.1*	(10)

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 7

## Urinalysis of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (mL) Mean $\pm$ S.D.	Color											pH							Occult blood					
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	$\geq 9$	-	+/-	1+	2+
0	5	18.7 $\pm$ 4.6		2	3														1	4				1	3	1
50	5	18.5 $\pm$ 7.6		3	2															5				2	2	1
150	5	18.2 $\pm$ 8.3		4	1															5				4	1	
500	5	18.3 $\pm$ 6.7		5													1		4				3	1	1	

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$ Color: 1= Colorless, 2= Slight yellow, 3= Yellow-brown, 4= Red, 5= Red-brown, 6= Dark red, 7= Dark brown, 8= Brown-black,  
9= Milky white, 10= Fluorescent green, 11= Blue.

Table 7 -continued

## Urinalysis of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (g/dL)					Protein (mg/dL)				osmotic pressure (mOsm/kg)	
		-	0.1	0.25	0.5	≥1.0	-	+/-	30	100	≥300	Mean ± S.D.
0	5	5						2	3			1432 ± 420
50	5	4	1					2	1	2		1466 ± 606
150	5	5						1		4		1694 ± 626
500	5	5						2	1	2		1756 ± 417

Table 8-1

Absolute and relative organ weight of male rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0		50		150		500	
No. of animal examined	12		11		12		12	
	Mean ± S.D.		Mean ± S.D.		Mean ± S.D.		Mean ± S.D.	
Body weight (g)	494 ± 51		500 ± 38		481 ± 37		469 ± 31	
Brain	(g)	2.25 ± 0.08	(g)	2.26 ± 0.08	(g)	2.24 ± 0.08	(g)	2.20 ± 0.09
	(g%)	0.460 ± 0.046		0.455 ± 0.037		0.466 ± 0.026		0.470 ± 0.037
Thymus	(mg)	303 ± 67	(mg)	331 ± 85	(mg)	329 ± 60	(mg)	287 ± 89
	(mg%)	61.146 ± 11.919		66.042 ± 15.556		68.422 ± 11.517		60.728 ± 17.533
Liver	(g)	14.00 ± 2.59	(g)	13.93 ± 1.97	(g)	13.72 ± 2.23	(g)	13.23 ± 1.34
	(g%)	2.817 ± 0.262		2.777 ± 0.196		2.837 ± 0.263		2.815 ± 0.170
Spleen	(g)	0.77 ± 0.07	(g)	0.73 ± 0.12	(g)	0.73 ± 0.13	(g)	0.77 ± 0.13
	(g%)	0.158 ± 0.018		0.146 ± 0.024		0.152 ± 0.023		0.163 ± 0.023
Kidneys	(g)	3.21 ± 0.33	(g)	3.09 ± 0.27	(g)	3.20 ± 0.27	(g)	3.31 ± 0.34
	(g%)	0.652 ± 0.057		0.619 ± 0.031		0.667 ± 0.059		0.705 ± 0.053*
Adrenals	(mg)	59 ± 10	(mg)	55 ± 10	(mg)	59 ± 8	(mg)	53 ± 7
	(mg%)	12.135 ± 2.565		10.925 ± 1.801		12.190 ± 1.545		11.365 ± 1.795
Testes	(g)	3.10 ± 0.72	(g)	3.15 ± 0.68	(g)	3.28 ± 0.36	(g)	3.19 ± 0.62
	(g%)	0.628 ± 0.151		0.633 ± 0.147		0.683 ± 0.075		0.683 ± 0.144
Epididymides	(mg)	1244 ± 244	(mg)	1205 ± 189	(mg)	1218 ± 94	(mg)	1187 ± 214
	(mg%)	253.135 ± 53.559		242.973 ± 46.304		253.778 ± 19.329		254.433 ± 50.877

(%) (Organ weight / body weight) x 100

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 8-2

## Absolute and relative organ weight of female rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0		50		150		500	
No. of dams examined	10		10		10		10	
	Mean	± S.D.						
Body weight (g)	289	± 18	285	± 27	293	± 23	287	± 19
Brain	(g)	2.03 ± 0.08	(g)	2.08 ± 0.09	(g)	2.05 ± 0.07	(g)	2.06 ± 0.08
	(g%)	0.706 ± 0.061	(g%)	0.735 ± 0.089	(g%)	0.701 ± 0.045	(g%)	0.722 ± 0.051
Thymus	(mg)	187 ± 81	(mg)	183 ± 78	(mg)	210 ± 88	(mg)	188 ± 49
	(mg%)	63.994 ± 27.374	(mg%)	62.495 ± 23.920	(mg%)	70.360 ± 26.673	(mg%)	65.652 ± 17.445
Liver	(g)	10.07 ± 1.27	(g)	10.12 ± 0.75	(g)	10.46 ± 1.07	(g)	10.13 ± 0.61
	(g%)	3.474 ± 0.269	(g%)	3.560 ± 0.218	(g%)	3.563 ± 0.156	(g%)	3.539 ± 0.158
Spleen	(g)	0.59 ± 0.09	(g)	0.68 ± 0.14	(g)	0.64 ± 0.10	(g)	0.60 ± 0.12
	(g%)	0.205 ± 0.030	(g%)	0.239 ± 0.049	(g%)	0.218 ± 0.024	(g%)	0.210 ± 0.046
Kidneys	(g)	1.91 ± 0.09	(g)	1.97 ± 0.27	(g)	1.99 ± 0.21	(g)	2.02 ± 0.20
	(g%)	0.664 ± 0.039	(g%)	0.703 ± 0.174	(g%)	0.678 ± 0.046	(g%)	0.706 ± 0.064
Adrenals	(mg)	78 ± 14	(mg)	77 ± 11	(mg)	83 ± 12	(mg)	74 ± 8
	(mg%)	27.189 ± 5.475	(mg%)	27.285 ± 3.924	(mg%)	28.493 ± 3.730	(mg%)	25.664 ± 2.344
Ovaries	(mg)	104 ± 11	(mg)	95 ± 12	(mg)	105 ± 9	(mg)	99 ± 10
	(mg%)	36.099 ± 3.119	(mg%)	33.550 ± 4.599	(mg%)	36.061 ± 3.939	(mg%)	34.688 ± 3.495

(%) (Organ weight / body weight) x 100

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 9-1

## Summary of gross findings ( dead )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	0	1	0	0
Organ_____ Findings_____				
DIGESTIVE SYSTEM				
liver       scarred	-	1	-	-
NERVOUS SYSTEM				
brain       red patch/zone	-	1	-	-

Table 9-2

Summary of gross findings ( sacrificed,not copulation and non-pregnancy )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	12	11	12	12
Organ Findings				
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>				
small intestine				
liver				
diverticulum	1	0	0	1
hepatodiaphragmatic nodule	0	0	1	0
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>				
testis				
atrophic	1	1	0	1
epididymis				
atrophic	1	1	0	1
nodule	2	2	0	1
<b>INTEGUMENTARY SYSTEM</b>				
hair				
thin	0	0	1	1

Significant difference from control group; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Table 9-3

## Summary of gross findings ( sacrificed )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	10	10	10	10
Organ_____ Findings_____				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
thymus	0	1	0	0
	atrophic			
	reddish	0	0	1
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	0	1	0	0
	white patch/zone			
	yellow patch/zone	0	0	0
URINARY SYSTEM				
kidney	0	1	0	0
	pale			
INTEGUMENTARY SYSTEM				
skin	0	1	0	0
	scab			
hair	0	0	1	1
	thin			

Significant difference from control group; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$

Table 9-4

## Summary of gross findings ( not copulation )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	0	1	0	0
Organ Findings				
URINARY SYSTEM				
kidney dilated pelvis	-	1	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus dilated lumen	-	1	-	-

Table 9-5

## Summary of gross findings ( non-pregnancy )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	1	1	2	2
Organ Findings				
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus cyst	1	0	0	0

Table 10-1

## Summary of histological findings ( dead )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ_____ Findings_____				
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>				
lung				
hypertrophy, media, artery	-	1	-	-
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>				
liver				
hemorrhage	-	1	-	-
<b>URINARY SYSTEM</b>				
kidney				
basophilic tubules	-	1	-	-
cast, hyaline	-	1	-	-
<b>ENDOCRINE SYSTEM</b>				
thyroid gland				
cellular infiltration, lymphocyte	-	1	-	-
adrenal gland				
degeneration, vacuolar	-	1	-	-
<b>NERVOUS SYSTEM</b>				
brain				
hemorrhage	-	1	-	-
spinal cord				
hemorrhage	-	1	-	-

Table 10-2

Summary of histological findings ( sacrificed )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	11	9	10	10
No. of animals examined histologically	7	2	2	7
Organ Findings				
<b>CARDIOVASCULAR SYSTEM</b>				
heart	(5)			(5)
cellular infiltration	4	-	-	3
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>				
spleen	(5)			(5)
deposit, pigment	1	-	-	1
thymus	(5)			(5)
cyst	2	-	-	0
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>				
lung	(5)			(5)
accumulation of macrophage hypertrophy, media, artery	1	-	-	0
	1	-	-	1
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>				
exocrine pancreas	(5)			(5)
degeneration, vacuolar	1	-	-	0
cellular infiltration, lymphocyte	1	-	-	0
small intestine	(5)			(5)
diverticula	1	-	-	1
hyperplasia, lymphoid tissue	1	-	-	1
liver	(5)		(1)	(5)
fatty change	4	-	0	5
cellular infiltration, lymphocyte	2	-	0	1
microgranuloma	5	-	0	5
hepatodiaphragmatic nodule	0	-	1	0
<b>URINARY SYSTEM</b>				
kidney	(5)			(5)
basophilic tubules	5	-	-	3
cast, hyaline	1	-	-	0
dilatation, tubules	1	-	-	2
eosinophilic body	2	-	-	3
hyaline droplet	3	-	-	4
cellular infiltration, lymphocyte	2	-	-	1

Significant difference from control group: \* :  $P \leq 0.05$     \*\* :  $P \leq 0.01$   
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site

Table 10-2 -continued

## Summary of histological findings ( sacrificed )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	11	9	10	10
No. of animals examined histologically	7	2	2	7
Organ _____ Findings _____				
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>				
testis	(5)			(5)
atrophy, seminiferous tubule	1	-	-	1
epididymis				(6)
spermatic granuloma	2	2	-	1
prostate	(5)			(5)
cellular infiltration, lymphocyte	3	-	-	3
<b>ENDOCRINE SYSTEM</b>				
adrenal gland	(5)			(5)
degeneration, vacuolar	1	-	-	2
<b>SPECIAL SENSE SYSTEM</b>				
Harderian gland	(5)			(5)
cellular infiltration, lymphocyte	1	-	-	1

Significant difference from control group; \* :  $P \leq 0.05$     \*\* :  $P \leq 0.01$   
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	10	10	10	10
No. of animals examined histologically	5	3	1	6
Organ..... Findings.....				
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>				
spleen				(5)
thymus				
hematopoiesis, extramedullary	4	-	-	4
hemorrhage	0	0	-	1
atrophy	1	1	-	0
cyst	2	0	-	1
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>				
lung				(5)
accumulation of macrophage	2	-	-	1
hypertrophy, media, artery	1	-	-	2
trachea				(5)
dilatation, gland	2	-	-	1
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>				
small intestine				(5)
hyperplasia, lymphoid tissue	2	-	-	1
large intestine				(5)
hyperplasia, lymphoid tissue	2	-	-	2
liver				(5)
fatty change	4	0	-	5
microgranuloma	5	2	-	4
hematopoiesis, extramedullary	3	1	-	2
<b>URINARY SYSTEM</b>				
kidney				(5)
basophilic tubules	3	1	-	1
cast, hyaline	0	1	-	0
cell debris, lumen	0	1	-	0
degeneration	0	1	-	0
degeneration, vacuolar	0	1	-	0
mineralization	1	0	-	1
necrosis, tubular epithelium	0	1	-	0

Significant difference from control group; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$   
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site

Table 10-3-1 -continued

## Summary of histological findings ( sacrificed )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	10	10	10	10
No. of animals examined histologically	5	3	1	6
Organ _____ Findings _____				
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>				
mammary gland				(5)
hyperplasia	5	-	-	5
uterus				(5)
post delivery lesion	4	-	-	4
<b>ENDOCRINE SYSTEM</b>				
thyroid gland				(5)
ultimobranchial remnant	1	-	-	1
<b>INTEGUMENTARY SYSTEM</b>				
skin				(5)
ulcer	0	1 (1)	0	0

Significant difference from control group; \* :  $P \leq 0.05$  \*\* :  $P \leq 0.01$   
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )		0				50				150				500			
No. of animals initially in study		10				10				10				10			
No. of animals necropsied		10				10				10				10			
No. of animals examined histologically		5				3				1				6			
Organ	Findings	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>																	
spleen		( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )			
	hematopoiesis, extramedullary	-	4	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0	0
thymus		( 5 )				( 1 )				( 0 )				( 6 )			
	hemorrhage	-	0	0	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	atrophy	-	1	0	0	-	0	1	0	-	-	-	-	-	0	0	0
	cyst	-	2	0	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>																	
lung		( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )			
	accumulation of macrophage	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
	hypertrophy, media, artery	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
trachea		( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )			
	dilatation, gland	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>																	
small intestine		( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )			
	hyperplasia, lymphoid tissue	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0
large intestine		( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )			
	hyperplasia, lymphoid tissue	-	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0	0
liver		( 5 )				( 2 )				( 0 )				( 5 )			
	fatty change	-	4	0	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	5	0	0
	microgranuloma	-	5	0	0	-	2	0	0	-	-	-	-	-	4	0	0
	hematopoiesis, extramedullary	-	3	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	2	0	0
<b>URINARY SYSTEM</b>																	
kidney		( 5 )				( 1 )				( 0 )				( 5 )			
	basophilic tubules	-	3	0	0	-	0	1	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	cast, hyaline	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0
	cell debris, lumen	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0
	degeneration	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0
	degeneration, vacuolar	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0
	mineralization	-	1	0	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	1	0	0
	necrosis, tubular epithelium	-	0	0	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked  
 =: benign #: malignant  
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

T-31

Table 10-3-2 -continued

## Summary of histological findings ( sacrificed )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0				50				150				500							
No. of animals initially in study	10				10				10				10							
No. of animals necropsied	10				10				10				10							
No. of animals examined histologically	5				3				1				6							
Organ	Findings				T 1 2 3				T 1 2 3				T 1 2 3							
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>																				
mammary gland	( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )							
hyperplasia		5	0	0		-	-	-		-	-	-		5	0	0				
uterus	( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )							
post delivery lesion		-	4	0	0		-	-	-		-	-	-		-	4	0	0		
<b>ENDOCRINE SYSTEM</b>																				
thyroid gland	( 5 )				( 0 )				( 0 )				( 5 )							
ultimobranchial remnant		-	1	0	0		-	-	-		-	-	-		-	1	0	0		
<b>INTEGUMENTARY SYSTEM</b>																				
skin	( 5 )				( 1 )				( 1 )				( 5 )							
ulcer		-	0	0	0		-	1	0	0		-	0	0	0		-	0	0	0

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked

=: benign #: malignant

(): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 10-4

## Summary of histological findings ( not copulation )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ_____ Findings_____				
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>				
prostate				
cellular infiltration, lymphocyte	-	1	-	-

Table 10-5-1

## Summary of histological findings ( not copulation )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	0	1	0	0
No. of animals examined histologically	0	1	0	0
Organ_____ Findings_____				
URINARY SYSTEM				
kidney				
basophilic tubules	-	1	-	-
dilatation, renal pelvis	-	1	-	-
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus				
dilatation, lumen	-	1	-	-

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0				50				150				500			
No. of animals initially in study	0				1				0				0			
No. of animals necropsied	0				1				0				0			
No. of animals examined histologically	0				1				0				0			
Organ	Findings				T 1 2 3				T 1 2 3				T 1 2 3			
<b>URINARY SYSTEM</b>																
kidney					( 1 )											
basophilic tubules	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-
dilatation, renal pelvis	-	-	-	-	-	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>																
uterus					( 1 )											
dilatation, lumen	-	-	-	-	-	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-

T: tumor 1: slight 2: moderate 3: marked  
 =: benign #: malignant  
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site. -: Not applicable.

Table 10-6-1

## Summary of histological findings ( non-pregnancy )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	1	1	2	2
No. of animals examined histologically	1	1	2	2
Organ_____ Findings_____				
REPRODUCTIVE SYSTEM				
testis				
atrophy, seminiferous tubule	1	1	0	1
multinucl. giant cell formation	0	1	0	1
interstitial cell hyperplasia	1	1	0	1
epididymis				
decrease, sperm	1	1	0	1
prostate				
cellular infiltration, lymphocyte	1	1	1	2

Sex: Male

Dose level ( mg/kg )	0				50				150				500			
No. of animals initially in study	1				1				2				2			
No. of animals necropsied	1				1				2				2			
No. of animals examined histologically	1				1				2				2			
Organ _____ Findings _____	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3	T	1	2	3
<b>REPRODUCTIVE SYSTEM</b>																
testis	( 1 )				( 1 )				( 2 )				( 2 )			
atrophy, seminiferous tubule	-	0	1	0	-	0	1	0	-	0	0	0	-	0	1	0
multinucl. giant cell formation	-	0	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
interstitial cell hyperplasia	-	1	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
epididymis	( 1 )				( 1 )				( 2 )				( 2 )			
decrease, sperm	-	1	0	0	-	1	0	0	-	0	0	0	-	1	0	0
prostate	( 1 )				( 1 )				( 2 )				( 2 )			
cellular infiltration, lymphocyte	-	1	0	0	-	1	0	0	-	1	0	0	-	2	0	0

T: tumor    1: slight    2: moderate    3: marked  
 =: benign    #: malignant  
 ( ): No. of animals examined microscopically at this site.

-: Not applicable.

Table 10-7

## Summary of histological findings ( non-pregnancy )

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	1	1	2	2
No. of animals examined histologically	1	1	2	2
Organ_____ Findings_____				
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus				
dilatation, gland	1	0	0	0

Sex: Female

Dose level ( mg/kg )	0	50	150	500
No. of animals necropsied	1	0	0	0
No. of animals examined histologically	1	0	0	0
Organ _____ Findings _____				
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>				
spleen				
deposit, pigment	1	-	-	-
hematopoiesis, extramedullary	1	-	-	-
thymus				
cyst	1	-	-	-
<b>RESPIRATORY SYSTEM</b>				
lung				
accumulation of macrophage	1	-	-	-
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>				
liver				
cellular infiltration, lymphocyte	1	-	-	-
microgranuloma	1	-	-	-
hematopoiesis, extramedullary	1	-	-	-
<b>URINARY SYSTEM</b>				
kidney				
basophilic tubules	1	-	-	-
cellular infiltration, lymphocyte	1	-	-	-
<b>SPECIAL SENSE SYSTEM</b>				
Harderian gland				
microgranuloma	1	-	-	-

Table 10-9

Cell type and number per Sertoli cell in seminiferous tubules of rats at VII - VIII stage of spermatogenesis during dosing period

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0			500		
No. of animals examined histologically	5			5		
	Mean	±	S. D.	Mean	±	S. D.
Spermatogonia type A	0.18	±	0.02	0.20	±	0.02
Preleptotene spermatocyte	2.13	±	0.24	2.27	±	0.23
Pachytene spermatocyte	3.49	±	0.29	3.59	±	0.31
Round spermatid	8.39	±	0.75	8.25	±	0.47

Dose level (mg/kg)	0	50	150	500
First				
No. of pairs mated	12	12	12	12
No. of pairs copulated	12	11	12	12
No. of pregnant females	11	10	10	10
Copulation index (%) 1)	100.0	91.7	100.0	100.0
Fertility Index (%) 2)	91.7	90.9	83.3	83.3
Estrous cycle				
No. of animals examined	12	12	12	12
Mean estrous cycle (days, Mean $\pm$ S.D)	4.1 $\pm$ 0.1	4.1 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.4 (11)	4.1 $\pm$ 0.3
Irregular cycle a) (%) 3)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (8.3)	2 (16.7)

- 1) (No. of animals with successful copulation / no. of animals mated) x 100  
 2) (No. of pregnant animals / no. of animals with successful copulation) x 100  
 3) (No. of animals having irregular estrous cycle / no. of animals examined) x 100  
 a) No. of animals having irregular estrous cycle  
 Values in parentheses are expressed no. of animals observed  
 Significant difference from control group; \*:  $P \leq 0.05$  \*\*:  $P \leq 0.01$

Table 12

## Findings of delivery in dams (F0)

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0	50	150	500
No. of dams observed	11	10	10	10
No. of dams delivered live pups	11	10	10	10
Duration of gestation (Mean $\pm$ S.D.)	22.5 $\pm$ 0.5	22.2 $\pm$ 0.4	22.3 $\pm$ 0.5	22.5 $\pm$ 0.5
No. of total corpora lutea (Mean $\pm$ S.D.)	211(19.2 $\pm$ 2.6)	174(17.4 $\pm$ 3.3)	184(18.4 $\pm$ 3.2)	201(20.1 $\pm$ 3.8)
No. of total implants (Mean $\pm$ S.D.)	151(13.7 $\pm$ 3.0)	144(14.4 $\pm$ 1.6)	143(14.3 $\pm$ 1.5)	143(14.3 $\pm$ 1.6)
No. of total pups born (Mean $\pm$ S.D.)	144(13.1 $\pm$ 3.5)	135(13.5 $\pm$ 1.6)	139(13.9 $\pm$ 1.4)	128(12.8 $\pm$ 1.5)
No. of total live pups born (Mean $\pm$ S.D.)	141(12.8 $\pm$ 3.5)	134(13.4 $\pm$ 1.6)	135(13.5 $\pm$ 2.1)	125(12.5 $\pm$ 2.2)
Male	62( 5.6 $\pm$ 1.9)	72( 7.2 $\pm$ 2.0)	67( 6.7 $\pm$ 2.6)	51( 5.1 $\pm$ 1.9)
Female	79( 7.2 $\pm$ 2.3)	62( 6.2 $\pm$ 1.9)	68( 6.8 $\pm$ 2.3)	74( 7.4 $\pm$ 2.4)
Sex ratio (Mean $\pm$ S.D.)	0.80 $\pm$ 0.23	1.32 $\pm$ 0.68	1.14 $\pm$ 0.60	0.81 $\pm$ 0.56
No. of total live pups on day 4 (Mean $\pm$ S.D.)				
Male	61( 5.5 $\pm$ 2.2)	69( 6.9 $\pm$ 2.1)	67( 6.7 $\pm$ 2.6)	50( 5.0 $\pm$ 2.1)
Female	75( 6.8 $\pm$ 2.8)	62( 6.2 $\pm$ 1.9)	67( 6.7 $\pm$ 2.4)	72( 7.2 $\pm$ 2.0)
No. of total dead pups (Mean $\pm$ S.D.)	3( 0.3 $\pm$ 0.6)	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	1( 0.1 $\pm$ 0.3)	3( 0.3 $\pm$ 0.9)
No. of total cannibalism (Mean $\pm$ S.D.)	0( 0.0 $\pm$ 0.0) a)	0( 0.0 $\pm$ 0.0) a)	3( 0.3 $\pm$ 0.9) a)	0( 0.0 $\pm$ 0.0) a)
Gestation index (%) 1)	100.0	100.0	100.0	100.0
Implantation index (% Mean $\pm$ S.D.) 2)	73.2 $\pm$ 20.3	84.1 $\pm$ 9.7	79.0 $\pm$ 10.6	72.9 $\pm$ 13.1
Delivery index (% Mean $\pm$ S.D.) 3)	93.2 $\pm$ 11.9	93.8 $\pm$ 6.1	97.3 $\pm$ 4.7	90.0 $\pm$ 10.3
Live birth index (% Mean $\pm$ S.D.) 4)	98.0 $\pm$ 4.7	99.3 $\pm$ 2.3	96.9 $\pm$ 9.7	97.0 $\pm$ 9.5
Viability index on day 4 (% Mean $\pm$ S.D.) 5)				
Male	90.9 $\pm$ 30.2 a)	95.3 $\pm$ 10.0 a)	100.0 $\pm$ 0.0 a)	96.7 $\pm$ 10.5 a)
Female	88.6 $\pm$ 29.8 a)	100.0 $\pm$ 0.0 a)	98.3 $\pm$ 5.3 a)	98.3 $\pm$ 5.3 a)

1) (No. of females with live pups / no. of pregnant females) x 100

2) (No. of implants / no. of corpora lutea) x 100

3) (No. of pups born / no. of implants) x 100

4) (No. of live pups born / no. of pups born) x 100

5) (No. of live pups on day 4 after birth / no. of live pups born) x 100

a) Bartlett's test can not be calculate

Significant difference from control group; \*: P  $\leq$  0.05 \*\*: P  $\leq$  0.01

Table 13

## External observations on live pups(F1) from rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Dose level (mg/kg)	0	50	150	500
No. of litters	11	10	10	10
No. of live pups examined	141	134	135	125
No. of live pups with external anomalies (% Mean $\pm$ S.D.)	0	0	0	1 0.8 $\pm$ 2.4
Type and incidence of external anomalies (%) 1)				
anal atresia	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	1 ( 0.8)
acaudate	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	0 ( 0.0)	1 ( 0.8)

1) (No. of live pups with external anomalies / no. of live pups examined) x 100  
 Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 14

Body weight change of pups(F1) from rats

Exp. No. 4801 (115-143)

Unit : g

Dose level (mg/kg)	0		50		150		500	
No. of litters	11		10		10		10	
	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )	Mean ± S.D.	( N )
Male								
Days after birth	0	6.5 ± 0.4 (11)	6.6 ± 0.6 (10)	6.5 ± 0.5 (10)	6.6 ± 0.5 (10)	6.6 ± 0.5 (10)	6.6 ± 0.5 (10)	
	4	9.8 ± 1.0 (10)	9.6 ± 1.8 (10)	9.4 ± 1.2 (10)	10.2 ± 0.9 (10)	10.2 ± 0.9 (10)	10.2 ± 0.9 (10)	
Female								
Days after birth	0	6.2 ± 0.5 (11)	6.2 ± 0.7 (10)	6.1 ± 0.7 (10)	6.2 ± 0.5 (10)	6.2 ± 0.5 (10)	6.2 ± 0.5 (10)	
	4	9.3 ± 1.0 (10)	9.1 ± 1.7 (10)	9.0 ± 1.5 (10)	9.8 ± 1.0 (10)	9.8 ± 1.0 (10)	9.8 ± 1.0 (10)	

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	50	150	500
No. of pups necropsied		61	69	67	50
Organ	Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM					
thymus	thymic remnant in the neck	0	0	1	1
DIGESTIVE SYSTEM					
liver	white patch/zone	0	1	0	0
URINARY SYSTEM					
kidney	dilated pelvis	0	4	3	1
ureter	dilated lumen	0	4	3	1
INTEGUMENTARY SYSTEM					
tail	scab	0	0	3	0
skin	scab	0	0	0	1

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$

Table 15-2

Summary of gross findings of pups(F1) from rats(sacrificed)

Exp. No. 4801 (115-143)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)		0	50	150	500
No. of pups necropsied		75	62	67	72
Organ	Findings				
<b>HEMATOPOIETIC SYSTEM</b>					
thymus	thymic remnant in the neck	0	0	1	0
<b>DIGESTIVE SYSTEM</b>					
liver	white patch/zone	0	0	0	1
	white	0	0	0	1
anus	imperforate anus	0	0	0	1
<b>URINARY SYSTEM</b>					
kidney	dilated pelvis	4	4	2	1
ureter	dilated lumen	1	3	5	4
<b>INTEGUMENTARY SYSTEM</b>					
tail	scab	0	0	3	0
	gangrenous	1	0	0	0
	absence tail	0	0	0	1

Significant difference from control group; \*:  $p \leq 0.05$  \*\*:  $p \leq 0.01$