

最終報告書

表 題：ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドのラットにおける 28 日間反復経口投
与毒性試験

試験番号：SR06163

株式会社 化合物安全性研究所

目次

	頁
表紙-----	1
目次-----	5
要約-----	12
緒言-----	13
材料および方法-----	13
成績-----	27
考察-----	31
参考資料-----	32

Figures

1 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163) -----	34
2 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163) -----	35
3 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163) -----	36
4 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163) -----	37

Tables

1 General appearance of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163) -----	38
2 General appearance of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163) -----	39

3	Detailed clinical observation, in the cage, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	40
4	Detailed clinical observation, on the hand, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	42
5	Detailed clinical observation, in the open-field, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	44
6	Detailed clinical observation, in the cage, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	46
7	Detailed clinical observation, on the hand, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	48
8	Detailed clinical observation, in the open-field, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	50
9	Functional observation of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	52
10	Functional observation of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	53
11	Grip strength and motor activity measurements of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	54
12	Grip strength and motor activity measurements of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	55
13	Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	56
14	Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	57
15	Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	58
16	Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	59
17	Urinary findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	60
18	Urinary findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	61
19	Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	62

20	Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	63
21	Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	64
22	Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	66
23	Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	68
24	Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	69
25	Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	70
26	Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	72
27	Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	74
28	Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	75
29	Gross findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	76
30	Gross findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	77
31	Absolute and relative organ weights of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	78
32	Absolute and relative organ weights of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	79
33	Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	80
34	Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	81
35	Histopathological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	82
36	Histopathological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide (SR06163)	83

要 約

ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドの 0(対照、1(w/v)%メチルセルロース水溶液)、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群雄雌各 6 匹の Cr1:CD(SD) ラットに、28 日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0 および 1000 mg/kg について 1 群雄雌各 6 匹の回復群を設け、投与終了の翌日から 14 日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討し、以下の成績を得た。

1. 病理組織学的検査で、300 mg/kg 以上の投与群の雄の腎臓に軽度な近位尿細管上皮の硝子滴、1000 mg/kg 投与群の雄では好酸性小体(α_{2u} -グロブリン染色陽性)が認められたが、この変化には休薬による回復性が認められた。一方、雌には同様の変化は認められなかった。
2. 一般状態、詳細な一般状態観察および機能検査、体重推移、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検所見および器官重量には、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のことから、本試験条件下におけるジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドの無影響量(NOEL)は雄で 100 mg/kg/day、雌で 1000 mg/kg/day と推察された。

緒言

ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドの 0(対照、1(w/v)%メチルセルロース水溶液)、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群雄雌各 6 匹の Cr1:CD(SD) ラットに、28 日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0 および 1000 mg/kg について 1 群雄雌各 6 匹の回復群を設け、投与終了の翌日から 14 日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討した。

材料および方法

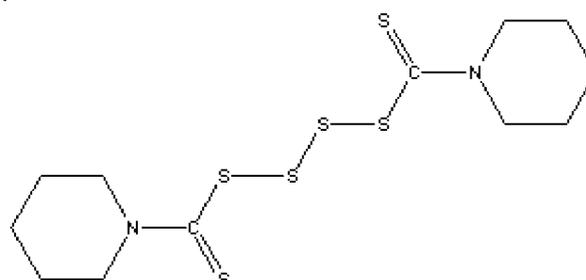
1. 被験物質

被験物質は、ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィド[純度：98.75% (Appendix 1-2)] を 500 g 購入して、使用した。受入後は、冷蔵保存(実測範囲 1~10°C)した。

被験物質サンプルとして、約 1 g を採取し、試験施設の資料保存室に保存した。試験操作終了後、残余の被験物質の一部について純度の分析を行い、試験期間中の保存安定性を確認した (Appendix 1-3)。

被験物質の特性情報を以下に示す。

- 名称 : ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィド ;
Dipentamethylenethiuram tetrasulfide
- 別名 : ビス[ピペリジノ(チオカルボニル)]=テトラスルフィド¹⁾
Bis(piperidinothiocarbonyl) tetrasulphide¹⁾
Bis(pentamethylenethiocarbamoyl) Tetrasulfide²⁾
- CAS No. : 120-54-7
- 化審法官報公示整理番号 : (5)-793^{1)、2)}
- 示性式(構造式) :



分子式 : $C_{12}H_{20}N_2S_6$ ^{1)、2)}

調製日	調製濃度 (mg/mL)	被験物質秤量値 (g)	投与液調製量 (mL)
2008年1月28日 濃度確認実施	10	2.2000	220
	30	6.6001	220
	100	36.0006	360
2008年2月1日	10	2.8000	280
	30	8.4007	280
	100	44.0001	440
2008年2月7日	10	2.8005	280
	30	8.4007	280
	100	44.0008	440
2008年2月15日	10	2.2002	220
	30	6.6002	220
	100	36.0000	360
2008年2月20日 濃度確認実施	10	2.8003	280
	30	8.4002	280
	100	36.0008	360

(2) 投与液の化学分析

投与開始前に、被験物質の均一性および安定性を確認した。

被験物質調製液について、0.8 および 100 mg/mL 投与液中における均一性および調製後の室温保存 6 時間および冷蔵保存 3、8 および 14 日間の安定性を確認した。その結果、変動係数はそれぞれ 1.4 および 1.0 であり判定基準とした 5%以内であることから均一と判断され (Appendix 2-1)、残存率は室温保存 6 時間でそれぞれ 99.6 および 101.2%、冷蔵保存 3、8 および 14 日間でそれぞれ 102.2、99.8、103.0% および 103.4、101.2、103.4% であり、この成績から、被験物質は調製液中で、室温保存で 6 時間、冷蔵保存で 14 日間はいずれも安定であると判断した (Appendix 2-2)。

初回および最終回調製時のすべての投与液について、被験物質の濃度を分析した結果、10、30 および 100 mg/mL 調製液の含有率は、所定の濃度に対して初回調製時で 100.0、101.3 および 100.0%、最終回調製時で 101.0、96.7 および 96.6% であった。これらの投与液はいずれも規定範囲とした 90~110% の範囲内にあり、かつ変動係数も 0.6~1.4% で規定の 5% 以下であったことから、調製液の濃度は適正と判断した (Appendix 2-3 および 2-4)。

(3) 濃度分析方法(純度分析を含む)

標準物質として、被験物質を用いた。

システム適合性試験用溶液 (50 µg/mL) : ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィド 20 mg を正確に秤量し、50 mL 容の褐色メスフラスコに入れた。調製溶液で定容し、400 µg/mL 溶液を調製した。さらに、この溶液 2.5 mL を正確に 20 mL 容の褐色メスフラスコに採取し、調製溶液で定容してシステム適合性試験用溶液 (50 µg/mL) とした。調製は 1 回、HPLC への注人は 6 回とした。

移動相の調製：蒸留水 300 mL にテトラヒドロフラン 700 mL を加え、十分に混合した。この液 1000 mL に酢酸を 0.3 mL 加え、十分に混合したものを移動相とした。調製後は室温で保存し、9 日以内に使用した。

オートサンプラ洗浄液の調製：蒸留水 150 mL にテトラヒドロフラン 350 mL を加え、十分に混合したものをオートサンプラ洗浄液とした。調製後は室温で保存し、15 日以内に使用した。

洗浄用注入液の調製：テトラヒドロフランそのものを洗浄用注入液とした。

標準溶液または試料溶液およびシステム適合性試験用溶液 (50 µg/mL) の調製：ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィド 20 mg を正確に秤量し、50 mL 容の褐色メスフラスコに入れた。調製溶液で定容し、400 µg/mL 溶液を調製した。さらに、この溶液 2.5 mL を正確に 20 mL 容の褐色メスフラスコに採取し、調製溶液で定容して 50 µg/mL 試料溶液とした。標準溶液の調製は 1 回、HPLC への注入は 3 回とした。純度確認試験の試料溶液の調製は 3 回、HPLC への注入は各 1 回とした。また、システム適合性試験用溶液では、調製は 1 回、HPLC への注入は 6 回とした。

被験物質調製液の採取点数は、濃度確認試験および安定性試験については被験物質調製液の中層付近から 3 点とし、均一性試験については被験物質調製液の上、中、下層付近から各 3 点の計 9 点とした。なお、均一性試験の中層の濃度を安定性試験の調製時の分析結果とした。各被験物質調製液を採取し、被験物質の最終濃度が 50 µg/mL 付近、対照溶媒の割合が 5% 以下となるように、調製溶液を加えたものを試料溶液とした。試料溶液の調製は 1 点につき 1 回、HPLC への注入は各 1 回とした。

調製溶液：テトラヒドロフランの 300 mL に対し酢酸を 0.09 mL の割合で加え、十分に混合した。調製後は室温で保存し、翌日中に使用した。

高速液体クロマトグラフ (HPLC) の構成および測定条件は以下の通りである。

高速液体クロマトグラフ (HPLC)

UV-VIS Detector	L-4200	株式会社 日立製作所
UV Detector	L-4000 (純度測定に使用)	株式会社 日立製作所
Intelligent Pump	L-6200	株式会社 日立製作所
Column Oven	L-5025	株式会社 日立製作所
	655A-52 (純度測定に使用)	株式会社 日立製作所
Autosampler	AS-2000	株式会社 日立製作所
Degasser	ERC-3315 α	株式会社 イーアールシー
データ処理装置	Empower 2	日本ウォーターズ株式会社

測定条件

カラム	: GL-Pack Nucleosil 100-10C18、4.0 mm I.D. × 250 mm、10 μm (ジーエルサイエンス株式会社)
移動相	: 蒸留水/テトラヒドロフラン/酢酸(300 : 700 : 0.3)
オートサンブラ洗浄液	: 蒸留水/テトラヒドロフラン(150 : 350)
洗浄用注入液	: テトラヒドロフラン
測定波長	: 280 nm
カラム温度	: 35°C
流量	: 0.8 mL/min
注入量	: 10 μL
オートサンブラ温度	: 約 7°C
分析時間	: 濃度確認試験 8 分(システム適合性試験用溶液を含む) 純度確認試験 25 分

測定は、システム適合性試験用溶液を連続して 6 回測定し、試料溶液を各 1 回測定した。

濃度確認試験では、Empower 2 を用いて標準溶液のピーク面積と濃度から作成した検量線より、各試料溶液の測定濃度を求め、以下の式より調製液中の被験物質濃度、変動係数、含有率および残存率を算出した。

$$\text{被験物質濃度 (mg/mL)} = \frac{\text{測定濃度 (}\mu\text{g/mL)} \times \text{希釈係数}}{1000}$$

$$\text{変動係数 (\%)} = \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均値}} \times 100$$

$$\text{含有率 (\%)} = \frac{\text{被験物質濃度平均値}}{\text{調製液の表示濃度}} \times 100$$

$$\text{残存率 (\%)} = \frac{\text{保存後の被験物質濃度平均値}}{\text{調製時の被験物質濃度平均値}} \times 100$$

純度確認試験では、Empower 2 を用いて注入ピーク以降に検出される各ピークを解析し、得られたジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドの%面積から、以下の式より純度および変動係数を算出した。

$$\text{純度 (\%)} = \% \text{面積平均値}$$

$$\text{変動係数 (\%)} = \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均値}} \times 100$$

4. 試験方法

(1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター生産の SPF Cr1:CD(SD) ラットを用いた。ラットは毒性試験等で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

雄雌各 42 匹(発注数 雄雌各 40 匹)を 2008 年 1 月 23 日に 4 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 86~100 g、雌で 65~78 g であった。

(2) 検疫および馴化

受入後、個々の動物について馴化 1 日(受入日)から、雄雌とも馴化 7 日までの 6 日間、一般状態観察を 1 日 1 回、さらに体重を受入時および群分け時(投与開始前々日)に測定した。検疫および馴化期間中に異常は認められなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、異常の認められない健康な動物を雄雌各 36 匹選抜して、5 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間最終日(投与開始前々日)の体重に基づいて、層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行った。群分け時の動物の体重範囲は、雄で 144~166 g、雌で 110~124 g であり、平均体重(雄 155.5 g、雌 116.8 g)の±20%以内であった。選抜から外れた動物は試験から除外して安楽死とした。なお、選抜された動物について投与開始前日に一般状態に異常がないことを確認した。

なお、投与開始時の体重範囲は、雄で 160~192 g、雌で 120~137 g であり、平均体重(雄 175.8 g、雌 129.0 g)であった。

(4) 動物およびケージの識別

動物は、群分け前は受入時に油性フェルトペンで尾部に印を付け、群分け後は耳介に動物番号を入墨し、個体識別を行った。

飼育ケージは、群分け前は性別毎に色分けしたラベルに試験番号および受入時の動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。群分け後は性別毎に色分けしたラベルに試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

動物は温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (実測範囲 $21 \sim 25^{\circ}\text{C}$)、湿度 $50 \pm 20\%$ (実測範囲 $39 \sim 56\%$)、換気回数 $10 \sim 15$ 回/時間、照明時間 12 時間 (8:00~20:00、人工照明) の動物飼育室 (303 号室) で飼育した。

2) 飼育器材および飼育方法

ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm) に、検疫および馴化期間中は雄雌別に 3 匹ずつ、群分け後は 1 匹ずつ収容した。ケージおよび給餌器は群分け時および投与 7 日、その後は 2 週に 1 回交換した。受皿は週 2 回洗浄滅菌済みのものと交換した。自動給水装置の水抜きは週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、1 日 1 回実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用した。

3) 飼料

オリエンタル酵母工業株式会社製、 γ 線照射固型飼料 CRF-1 を、金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット (070802、071105、080107) の飼料について確認した。汚染物質の分析は財団法人 日本食品分析センターにおいて、微生物検査は飼料製造業者がそれぞれ行った。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった (Appendix 3-1-1~3-2-3)。

4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。ただし、尿検査時には給水瓶を使用した。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2008 年 1 月 7 日および 2008 年 4 月 1 日に当該飼育室と同系統配管の最末端 (301 号室) から試料を採取して確認した。分析は日本衛生株式会社が行った。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった (Appendix 4-1 および 4-2)。

(6) 試験群の構成

試験群の構成と各群の動物番号を以下に示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数(動物番号)	
			雄	雌
<毒性試験群>				
対照群	0	0	6 (101~106)	6 (151~156)
低用量群	100	10	6 (201~206)	6 (251~256)
中用量群	300	30	6 (301~306)	6 (351~356)
高用量群	1000	100	6 (401~406)	6 (451~456)
<回復性試験群>				
対照群	0	0	6 (107~112)	6 (157~162)
高用量群	1000	100	6 (407~412)	6 (457~462)

対照群には、他の群と同様の方法で媒体のみを投与した。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

1群につき雄雌各3匹のSD系ラット[Cr1:CD(SD)]に、1(w/v)%メチルセルロース水溶液(1%MC)に溶解させた被験物質の0(対照)、8、40、200および1000 mg/kgを14日間反復経口投与した予備試験(SR06163P2)³⁾の結果、いずれの投与群の雄雌にも被験物質投与による影響は認められなかった。このことから、28日間反復経口投与毒性試験では、1000 mg/kg/dayを最高用量に設定し、以下公比約3で除し、300および100 mg/kg/dayを中用量および低用量に設定した。なお、対照群および1000 mg/kg/dayの2用量については28日間投与後14日間休薬による回復性を検討する回復群を設定した。

2) 投与

被験物質がヒトに経口的に暴露される可能性を考慮し、OECD試験法ガイドライン(407)に従って、1日1回28日間、9:00~12:00、尿検査時は11:00~12:00の間にディスポーザブル胃ゾンデおよびディスポーザブルシリンジを用いて強制的に胃内に経口投与した。

投与容量は10 mL/kgとし、各個体の投与液量は投与日に最も近い測定日の体重に基づいて算出した。

(8) 観察、測定および検査項目

1) 一般状態観察

全例について個々の動物の生死、外観、行動等について、投与開始日を投与1日、投与28日の翌日を回復1日として起算し、投与1日から剖検日(投与28日あるいは回復14日の翌日)まで午前(投与前)および午後の1日2回、剖検日は午前中に1回観察した。

2) 詳細な一般状態観察

全例について、投与開始前ならびに投与7、14、21および28日、回復7および14日に、詳細な一般状態観察を行った。観察項目は、ケージ外から姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦・痙攣、常同行動/回転・旋回、異常行動/自傷について、ケージから取り出す時に取り出し易さ、扱い易さ、筋緊張、立毛、被毛の状態、皮膚、眼球突出、瞳孔径、可視粘膜、流涙、流涎、体温について、オープンフィールド内で痙攣、歩行、覚醒状態、排尿、排糞、常同行動/毛繕い・匂嗅ぎ、異常行動/後方突進・発声、呼吸について、それぞれあらかじめ定めたスコアリング法を用いてスコアを記録した。

3) 機能検査

全例について、投与4週および回復2週に、機能検査および以下の測定を行った。検査台上で視覚(接近反応)、触覚(接触反応)、聴覚(音に対する反応)、痛覚(尾根部を挟む)、固有受容反応(強制姿勢からの復帰)、空中正向反射についてあらかじめ定めたスコアリング法を用いて観察し、そのスコアを記録した。また、握力および自発運動量を測定した。握力はCPUゲージ(アイコーエンジニアリング株式会社)を用いて前肢および後肢の握力を各3回測定し、1g単位で記録した。自発運動量は自発運動量測定装置(スーパーメックスおよびCompACT AMS、室町機械株式会社)を用いて測定し、データの収集間隔を10分として1時間測定した。

4) 体重測定

全例について、投与1、7、14、21および28日の投与前、回復7および14日ならびに剖検日に電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ)を用いて測定し、1g単位で記録した。

以下の式により体重増加量および体重増加率を算出した。

投与期間

$$\text{体重増加量(g)} = \text{投与28日体重(g)} - \text{投与1日体重(g)}$$

$$\text{体重増加率(\%)} = \frac{\text{体重増加量(g)}}{\text{投与1日体重(g)}} \times 100$$

回復期間

$$\text{体重増加量(g)} = \text{回復14日体重(g)} - \text{投与28日体重(g)}$$

$$\text{体重増加率(\%)} = \frac{\text{体重増加量(g)}}{\text{投与28日体重(g)}} \times 100$$

5) 摂餌量測定

全例について、投与 1、7、14、21 および 28 日の投与前、回復 7 および 14 日に、電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ)を用いて測定し、1 g 単位で記録した。投与開始前日に適当量を測定後ケージ毎に給与し、その後は測定日に残量および給与量を測定した。ただし、剖検前日は残量のみを測定した。以下の式により摂餌量(g/rat/day)を算出した。

$$\text{摂餌量 (g/rat/day)} = \frac{\text{給与量 (g/rat)} - \text{残量 (g/rat)}}{\text{測定日間の日数 (day)}}$$

6) 尿検査

全例について投与 4 週および回復 2 週に、非絶食下でラット用代謝ケージ(KN-646、B-1 型、夏目製作所)を用いて採尿し、投与直後から約 3 時間の蓄尿で①～⑧を、また約 21 時間の蓄尿で⑨および⑩を実施し、採取した尿は検査終了後廃棄した。

検査項目および検査方法：

①pH	試験紙法(マルティスティックス、バイエルメディカル)
②蛋白(Protein)	試験紙法(マルティスティックス、バイエルメディカル)
③糖 (Glucose)	試験紙法(マルティスティックス、バイエルメディカル)
④ケトン体(Ketone body)	試験紙法(マルティスティックス、バイエルメディカル)
⑤ウロビリノーゲン(Urobilinogen)	試験紙法(マルティスティックス、バイエルメディカル)
⑥ビリルビン(Bilirubin)	試験紙法(マルティスティックス、バイエルメディカル)
⑦潜血反応(Occult blood)	試験紙法(マルティスティックス、バイエルメディカル)
⑧色調(Color)	肉眼観察
⑨尿量(Urine Volume)	容量測定
⑩比重(Specific gravity)	屈折計法(尿比重屈折計エリコン-S、アタコ)

7) 血液学的検査

全例について剖検時に 16～22 時間の絶食下でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。①～⑩については EDTA・2K (ベノジェクト II 真空採血管、テルモ株式会社) で処理した血液約 1 mL を用い、⑪、⑫については 3.8% クエン酸ナトリウムで処理した血液約 1～2 mL を 3500 回転/分で 10 分間遠心分離して得られた血漿を用いた。得られた血液および血漿は検査終了後廃棄した。

検査項目および検査方法：

①赤血球数(RBC)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
②ヘマトクリット値(Ht)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
③ヘモグロビン量(Hb)	シアンメトヘモグロビン法 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
④平均赤血球容積(MCV)	RBC, Ht 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑤平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)	RBC, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)	Ht, Hb 値より算出 (自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑦網赤血球数(Reticulocyte)	Brecher 法(鏡検)
⑧血小板数(Platelet)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑨白血球数(WBC)	電気抵抗法(自動血球計数装置 F-820、シスメックス)
⑩白血球百分比 (Differential count of WBC)	May-Grünwald-Giemsa 染色(鏡検)
⑪プロトロンビン時間(PT)	トロンボプラスチン法 (血液凝固自動測定装置 KC4デルタ、トリニティ・バイオテック)
⑫活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	エラジン酸法 (血液凝固自動測定装置 KC4デルタ、トリニティ・バイオテック)

8) 血液化学的検査

全例について剖検時に 16～22 時間絶食させたラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。検査項目のうち①および⑤については血液 1 mL あたりヘパリンナトリウム（ヘパリンナトリウム注 N「味の素」、1000 単位/mL、味の素株式会社）約 20 単位で処理後、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血漿を用いて検査した。他の項目については分離剤入り試験管（セパクリーン、栄研器材株式会社）に血液を採取し、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血清を用いて検査した。得られた血漿および血清は検査終了後、-20℃ 以下で凍結保存し、最終報告書提出後、廃棄する。

検査項目および検査方法：

①AST	JSCC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
②ALT	JSCC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
③アルカリホスファターゼ (ALP)	JSCC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
④γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑤グルコース (Glucose)	ヘキソキナーゼ法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑥総コレステロール (T-Cho)	酵素法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑦トリグリセリド (TG)	遊離グリセロール消去法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑧総ビリルビン (T-Bil)	アゾビリルビン法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑨尿素窒素 (UN)	ウレアーゼ・GLDH 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑩クレアチニン (Crea)	Jaffé 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑪ナトリウム (Na)	イオン選択電極 (ISE) 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑫カリウム (K)	イオン選択電極 (ISE) 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑬クロール (Cl)	イオン選択電極 (ISE) 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑭カルシウム (Ca)	OCPC 法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑮無機リン (IP)	Fiske-Subba Row 法 (自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑯総蛋白 (TP)	ビウレット法(自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジー [®])
⑰蛋白分画 (Protein fraction)	セルロースアセテート膜電気泳動法 (自動電気泳動装置 AES320、三島オリンパス)
⑱A/G 比 (A/G ratio)	蛋白分画より算出
⑲アルブミン (Albumin)	総蛋白と蛋白分画より算出

9) 剖検

全例について、投与 28 日の翌日および回復 14 日の翌日に剖検した。体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、以下の器官・組織を 10%中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存し、精巣および精巣上体はブアン液で固定、70%エタノールに保存した。肺については固定液を注入後浸漬固定とした。左右のある器官については、原則として左右とも固定・保存した。

器官・組織名：脳(大脳、小脳および延髄)、下垂体、脊髄、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、心臓、舌、食道、胃、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊(凝固腺含む)、卵巣、子宮、膣、眼球、ハーダー腺、大腿骨(骨髓含む、右) および坐骨神経。

他に、1 例(No. 154)の肺および 1 例(No. 461)の回腸について、肉眼的異常部位を正常組織との境界部を含めて採取した。

10) 器官重量測定

全例について、剖検時に電子式上皿天秤(ER-180A、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて以下の器官について重量を測定した。なお、左右のある器官については、左右合わせて測定した。

器官名：脳、下垂体、甲状腺、副腎、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、胸腺、精巣、精巣上体、前立腺、精囊(凝固腺含む)、卵巣、子宮

以下の式により相対重量を算出した。

$$\text{相対重量(\%)} = \frac{\text{絶対重量(g)}}{\text{剖検日体重(g)}} \times 100$$

11) 病理組織学的検査

剖検時に固定・保存した全例の全器官・組織についてパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、対照群および 1000 mg/kg 投与群(高用量群)の全例について鏡検した。

鏡検の結果、被験物質投与の影響と考えられる変化のみられた腎臓については、その他の投与群の動物についても雄雌全例の鏡検を行った。また、各群の代表例について、免疫染色による α_{2u} -グロブリン(R&D Systems, Inc.; 抗体、ダコ・ジャパン株式会社; LSAB2 キット/HRP)の確認を行った。

5. 統計学的方法

投与期間中は回復群の動物を合わせて集計した。

握力、自発運動量、体重、体重増加量および増加率、摂餌量、尿量、血液学的検査、血液化学的検査、器官の絶対重量および相対重量の成績について平均値および標準偏差を算出し、Bartlett の検定法により等分散性を解析した。等分散 ($p > 0.05$) の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散 ($p \leq 0.05$) の場合は Kruskal-Wallis の検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Dunnett の検定法を用いて対照群との比較を行った。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照群との比較を行った。

詳細な一般状態観察および機能検査の観察項目、尿検査の定性的項目および尿比重の成績について Kruskal-Wallis の検定法で解析し、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Mann-Whitney の U-検定法を用いて対照群との比較を行った。

対照群との比較検定については、有意水準を 5% とした。なお、統計学的方法に関する表示方法を INDIVIDUAL DATA の冒頭に示す。

成 績

1. 一般状態

一般状態の成績を Table 1 および 2、INDIVIDUAL DATA 1-1-1~1-2-4 に示す。

[投与期間]

対照群および各投与群(100、300 および 1000 mg/kg)の雄雌ともに異常は認められなかった。

[回復期間]

対照群および 1000 mg/kg 投与群の雄雌ともに異常は認められなかった。

2. 詳細な一般状態観察

詳細な一般状態観察の成績を Table 3~8、INDIVIDUAL DATA 2-1-1~4-14-2 に示す。

[投与期間]

各投与群の雄雌ともにいずれの検査時にも各観察項目に対照群と比較して有意な差は認められず、鎮静、興奮あるいは行動異常等の神経行動学的な異常は認められなかった。

[回復期間]

1000 mg/kg 投与群の雄雌ともにいずれの検査時にも各観察項目に対照群と比較して有意な差は認められず、鎮静、興奮あるいは行動異常等の神経行動学的な異常は認められなかった。

3. 機能検査

機能検査の成績を Table 9~12、INDIVIDUAL DATA 5-1-1~6-4-2 に示す。

[投与 4 週]

各投与群の雄雌ともに各機能検査、握力および自発運動量に対照群と比較して有意な差は認められなかった。

[回復 2 週]

1000 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

4. 体重推移

体重推移を Figure 1 および 2、Table 13 および 14、INDIVIDUAL DATA 7-1-1~7-2-4 に示す。

[投与期間]

各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

[回復期間]

1000 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

5. 摂餌量

摂餌量を Figure 3 および 4、Table 15 および 16、INDIVIDUAL DATA 8-1-1～8-2-4 に示す。

[投与期間]

100 および 300 mg/kg 投与群では、雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、雌で投与 7 日に有意な低値が認められたが、体重推移に影響を及ぼしていないことから毒性学的な意義はないと判断した。雄には有意な変化は認められなかった。

[回復期間]

1000 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

6. 尿検査

尿検査の成績を Table 17～20、INDIVIDUAL DATA 9-1-1～9-4-2 に示す。

[投与 4 週]

100 mg/kg 投与群では、雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

300 mg/kg 投与群では、雄の尿比重に有意な低値、尿量に有意な高値が認められたが、いずれも用量依存性のない変化であり、毒性学的な意義はないと判断した。雌には有意な変化は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

[回復 2 週]

1000 mg/kg 投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

7. 血液学的検査

血液学的検査の成績を Table 21～24、INDIVIDUAL DATA 10-1-1～10-4-4 に示す。

[投与期間終了時]

各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

1000 mg/kg 投与群の雌の網赤血球数に対照群と比較して有意な低値が認められたが、投与終了時には認められていない変化であり、赤血球系の変化を伴わないことから、毒性学的な意義はないと判断した。雄には有意な変化は認められなかった。

8. 血液化学的検査

血液化学的検査の成績を Table 25～28、INDIVIDUAL DATA 11-1-1～11-4-4 に示す。

[投与期間終了時]

100 および 300 mg/kg 投与群では、雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、雌のアルカリホスファターゼに有意な低値が認められたが、他の肝機能項目および肝胆道系の項目に変化がないことから、毒性学的な意義はないと判断した。雄には有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

1000 mg/kg 投与群の雌の A/G 比に対照群と比較して有意な高値が認められたが、総蛋白やアルブミンに変化がないことから、毒性学的な意義はないと判断した。雄には有意な変化は認められなかった。

9. 剖検

剖検所見を Table 29 および 30、INDIVIDUAL DATA 12-1-1～12-4-2 に示す。

[投与期間終了時]

各投与群の雄雌ともに異常所見は認められなかった。

なお、対照群の雌 1 例 (No. 154) の右肺に壁側胸膜の癒着が認められた。雄には異常は認められなかった。

[回復期間終了時]

対照群には雄雌ともに異常所見は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、雌 1 例 (No. 461) の回腸に憩室が認められたが、投与終了時には認められていない変化であり、先天的あるいは自然発生性の変化と判断した。雄には異常所見は認められなかった。

10. 器官重量

器官重量の成績を Table 31～34、INDIVIDUAL DATA 13-1-1～13-4-4 に示す。

[投与期間終了時]

100 mg/kg 投与群では、雄の脳および胸腺ならびに雌の心臓の絶対重量に対照群と比較して有意な高値が認められた。また、雄の胸腺の相対重量に有意な高値、雌の脳および副腎の相対重量に有意な低値が認められた。これらの変化は、いずれも用量依存性がなく、毒性学的な意義はないと判断した。

300 mg/kg 投与群では、雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

1000 mg/kg 投与群では、雄の脳の絶対重量に有意な高値が認められたが、相対重量には差がなく毒性学的な意義はないと判断した。雌には有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

1000 mg/kg 投与群の雄の甲状腺および雌の腎臓の絶対重量に対照群と比較して有意な低値が認められた。これらの変化は、片性のみの変化であり、いずれも投与終了時には認められていないことから、毒性学的な意義はないと判断した。

11. 病理組織学的検査

病理組織学的所見を Table 35 および 36、INDIVIDUAL DATA 14-1-1～14-4-2 に示す。

[投与期間終了時]

腎臓：近位尿細管上皮の硝子滴が、雄で対照群に 1 例、100 mg/kg 投与群に 2 例、300 mg/kg 投与群に 5 例および 1000 mg/kg 投与群に 6 例(全例)認められ、用量依存性の認められる発現率の増加を示し、また、近位尿細管上皮の好酸性小体が 1000 mg/kg 投与群の雄 2 例に認められていることから、被験物質投与に関連した変化と考えられた。これらの例では、 α_{2u} -グロブリンの陽性反応が認められた。一方、雌には同様の所見は認められなかった。

尿細管上皮の再生が各投与群の雄雌に散見されたが、その発現は対照群で雄 2 例および雌 1 例、100 mg/kg 投与群で雄 3 例、300 mg/kg 投与群で雄 2 例および雌 1 例、1000 mg/kg 投与群で雄 1 例および雌 1 例と用量依存性が認められず、被験物質投与との関連はないと判断した。

他には、硝子円柱および嚢胞が各 1 例に散見されたのみであり、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

その他の器官・組織：対照群および 1000 mg/kg 投与群の雄雌ともに例数やグレードが正常範囲を逸脱する変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

腎臓およびその他の器官・組織：

対照群および 1000 mg/kg 投与群の雄雌ともに例数やグレードが正常範囲を逸脱する変化は認められなかった。

考 察

ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドの 0(対照、1(w/v)%メチルセルロース水溶液)、100、300 および 1000 mg/kg を 1 群雄雌各 6 匹の Cr1:CD(SD) ラットに、28 日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0 および 1000 mg/kg について 1 群雄雌各 6 匹の回復群を設け、投与終了の翌日から 14 日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討した。

病理組織学的検査で、雄の腎臓に軽度な近位尿細管上皮の硝子滴が 300 mg/kg 投与群で 6 例中 5 例、1000 mg/kg 投与群で 6 例全例と用量依存性に例数増加して認められ、また、1000 mg/kg 投与群で 2 例に好酸性小体も認められた。硝子滴中には α_{2u} -グロブリンが蓄積することから α_{2u} -グロブリン腎症と呼ばれ、雄ラットに特異的に発現する変化である。今回の試験において認められた変化は、雄のみに発現し α_{2u} -グロブリンが陽性であることおよび近位尿細管上皮に発現していることから、 α_{2u} -グロブリン腎症と同様の変化と考えられた。一方、雌には同様の変化はいずれの投与群にも認められなかった。

この近位尿細管上皮の硝子滴および好酸性小体(α_{2u} -グロブリン染色陽性)は、回復期間終了時には対照群と差のない発現頻度であり、休薬により回復性を示すものと考えられた。

なお、一般状態、詳細な一般状態観察および機能検査、体重推移、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検所見および器官重量には、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のように、被験物質投与に関連した変化として、300 mg/kg 以上の投与群の雄に近位尿細管上皮の硝子滴が認められたが、雌には同様の変化は認められなかった。

したがって、本試験条件下におけるジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドの無影響量(NOEL)は雄で 100 mg/kg/day、雌で 1000 mg/kg/day と推察された。

参考資料

- 1) 既存化学物質安全性点検データ. 独立行政法人 製品評価技術基盤機構.
- 2) 製品安全データシート. 東京化成工業株式会社.
- 3) ジペンタメチレンチウラムテトラスルフィドのラットにおける 14 日間反復経口投与毒性予備試験(S R 0 6 1 6 3 P 2) 最終報告書. 株式会社 化合物安全性研究所. (2008)

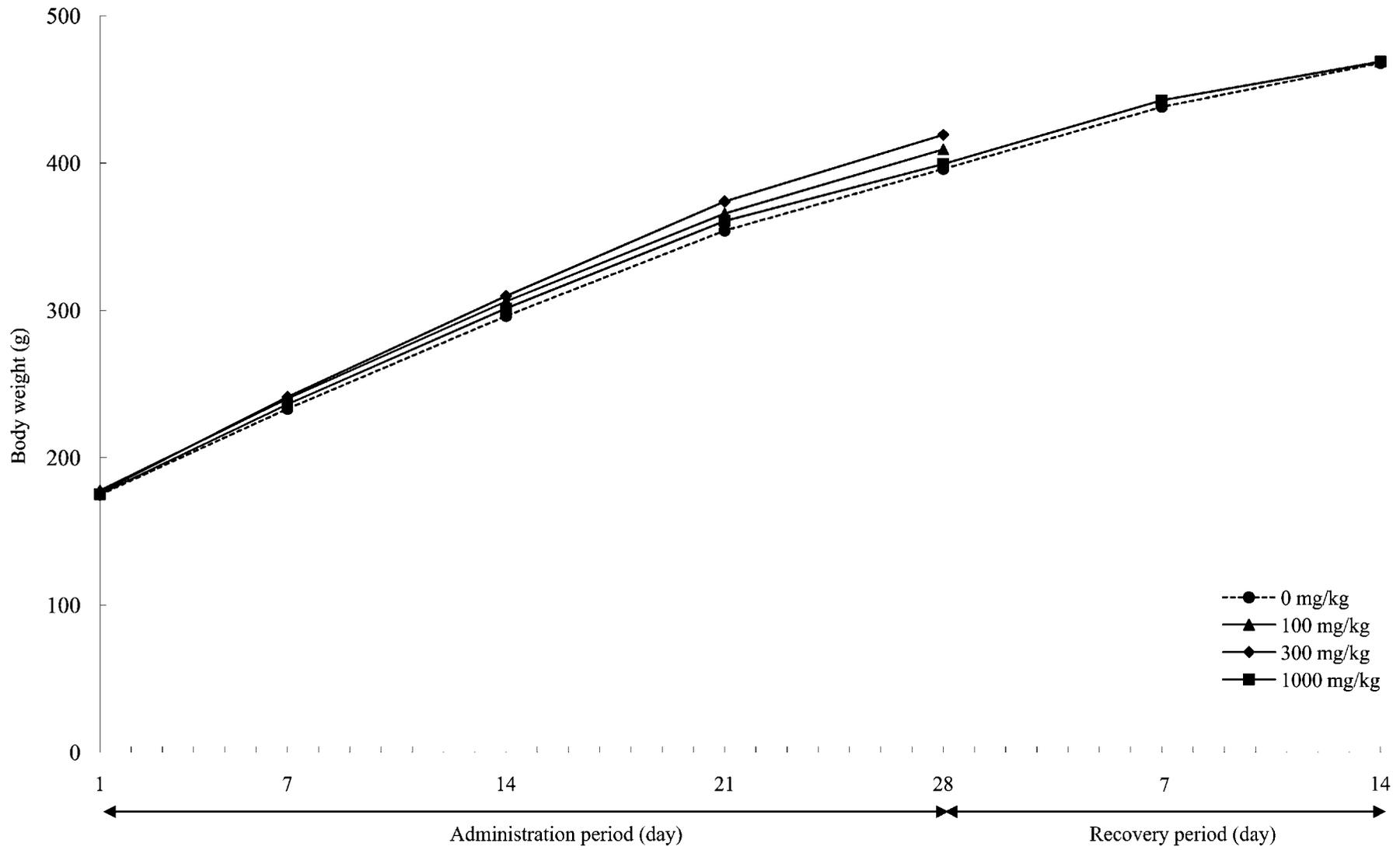


Figure 1 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

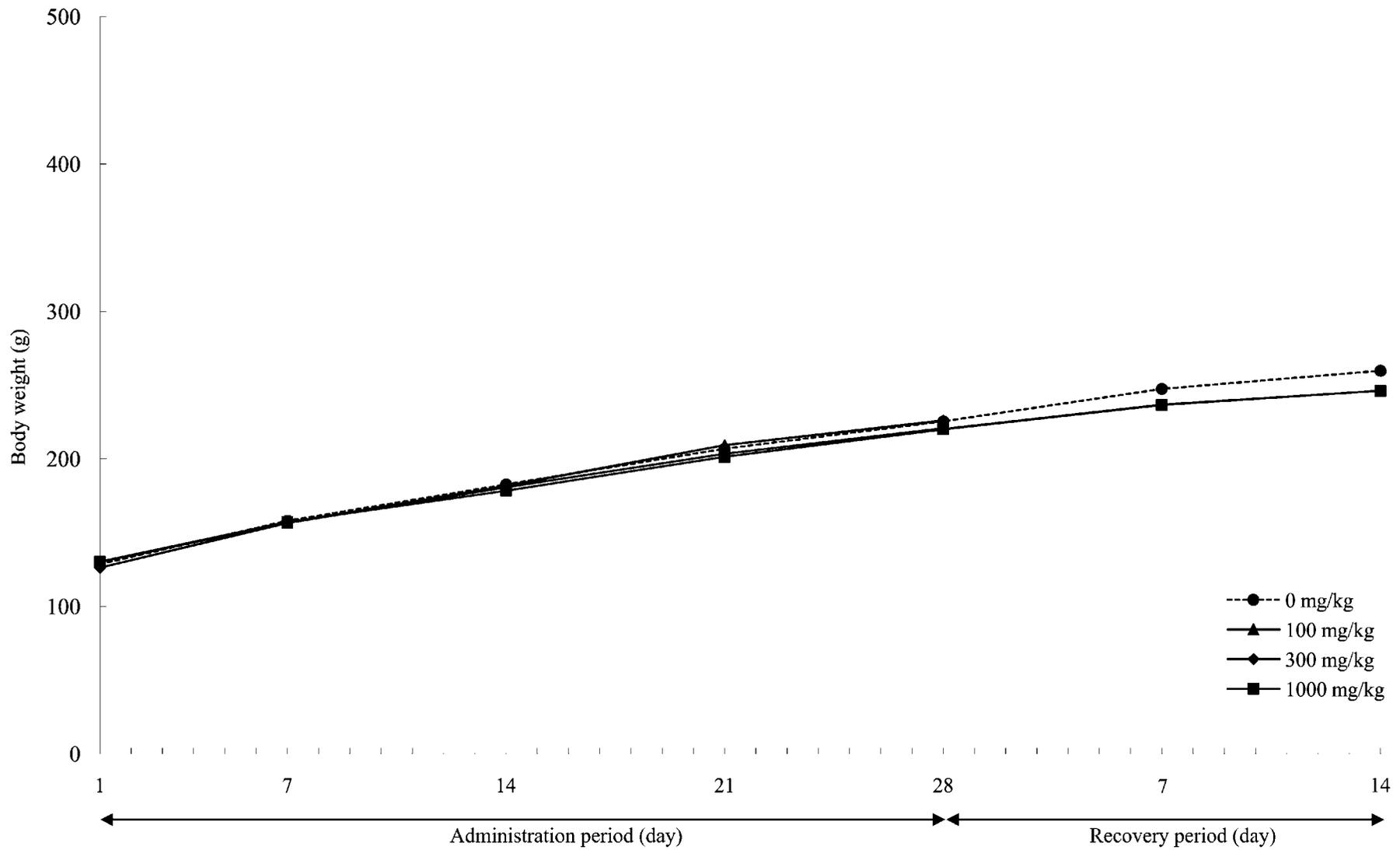


Figure 2 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

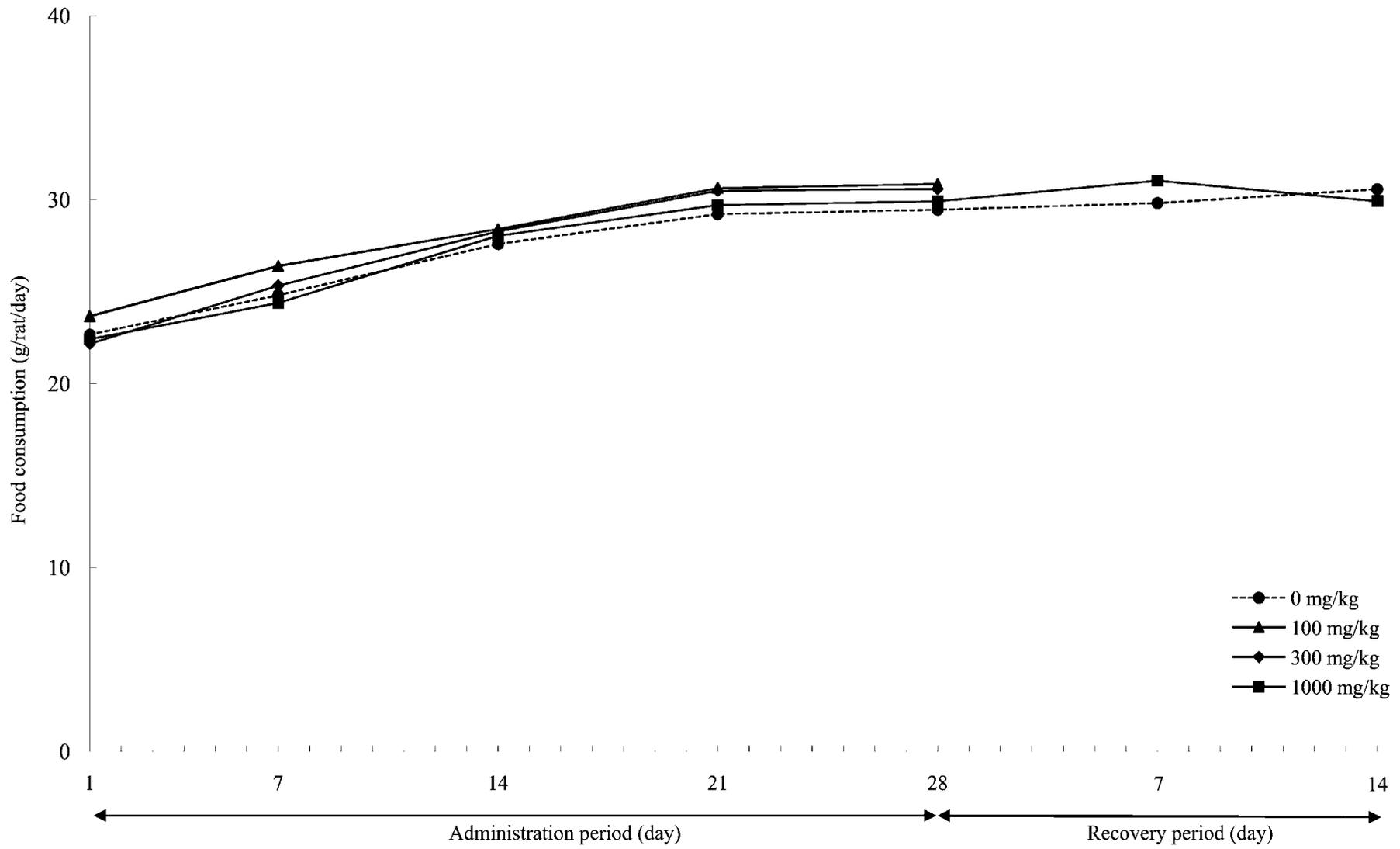


Figure 3 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

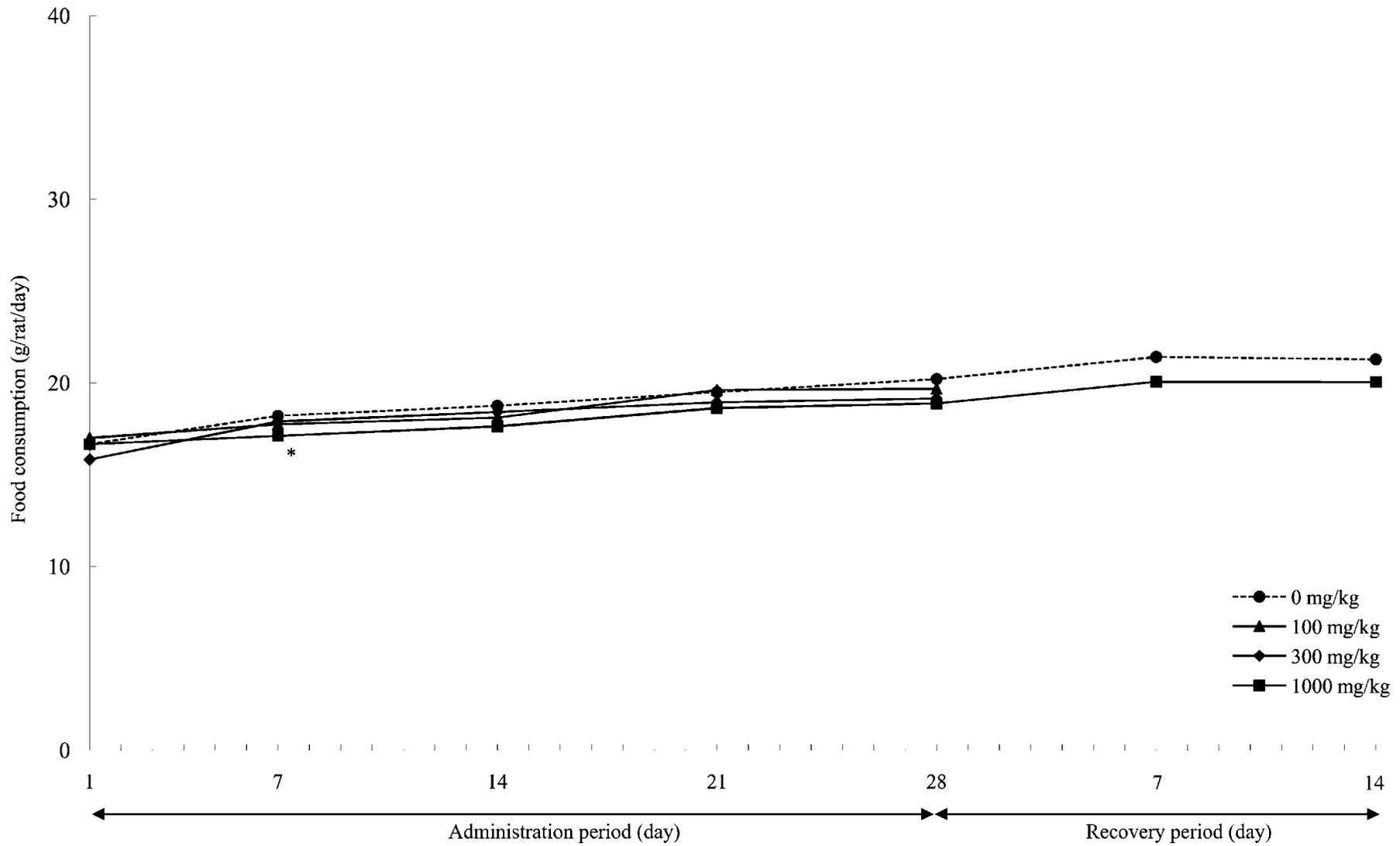


Figure 4 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure)

Table 1 General appearance of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Findings	Administration period (day)	Autopsy	Recovery period (day)	Autopsy
		1 - 28	day	1 - 14	day
0 mg/kg	Number of animals examined	12	6	6	6
	No abnormal findings	12	6	6	6
100 mg/kg	Number of animals examined	6	6	-	-
	No abnormal findings	6	6	-	-
300 mg/kg	Number of animals examined	6	6	-	-
	No abnormal findings	6	6	-	-
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	6	6	6
	No abnormal findings	12	6	6	6

Values are number of animals with findings.

- : Blank value.

Table 2 General appearance of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Findings	Administration period (day)	Autopsy	Recovery period (day)	Autopsy
		1 - 28	day	1 - 14	day
0 mg/kg	Number of animals examined	12	6	6	6
	No abnormal findings	12	6	6	6
100 mg/kg	Number of animals examined	6	6	-	-
	No abnormal findings	6	6	-	-
300 mg/kg	Number of animals examined	6	6	-	-
	No abnormal findings	6	6	-	-
1000 mg/kg	Number of animals examined	12	6	6	6
	No abnormal findings	12	6	6	6

Values are number of animals with findings.

- : Blank value.

Table 3 Detailed clinical observation, in the cage, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Category	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor/ Convulsion 1	Stereotype		Bizarre behavior
								Rolling 0	Circling 0	Selfmutilation 1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

(to be continued)

Table 3 Detailed clinical observation, in the cage, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Period	Group	Number of animals	Category	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor/ Convulsion 1	Stereotype		Bizarre behavior
								Rolling 0	Circling 0	Selfmutilation 1
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 4 Detailed clinical observation, on the hand, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Category	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Piloerection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrimation 1	Salivation 1	Body temperature 1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

(to be continued)

Table 4 Detailed clinical observation, on the hand, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Period	Group	Number of animals	Category	Handling		Treating		Muscle tone 2	Piloerection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrimation 1	Salivation 1	Body temperature 1
				1	2	1	2										
Day 28	0 mg/kg	12		12	0	12	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	0	6	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		5	1	5	1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	0	12	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	0	6	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	0	6	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	0	6	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	0	6	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 5 Detailed clinical observation, in the open-field, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Convulsion Category	Gait	Arousal	Urination				Defecation		Stereotype		Bizarre behavior			
						1	1	1	0		1		Grooming	Sniffing	Walking backward	Vocalization	Respiratory pattern
									0	1	0	1					
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	8	4	11	1	12	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	5	1	5	1	6	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	3	3	3	3	6	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	9	3	10	2	12	12	12	12	12		
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	10	2	11	1	12	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	4	2	4	2	6	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	5	1	5	1	6	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	10	2	12	12	12	12	12		
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	5	1	5	1	6	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12		
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	4	2	6	0	6	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	8	4	11	1	12	12	12	12	12		

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

(to be continued)

Table 5 Detailed clinical observation, in the open-field, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Period	Group	Number of animals	Convulsion Category	Gait	Arousal	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior			
						1	1	0	1	0	1	Grooming	Sniffing	Walking backward	Vocalization
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	11	1	12	0	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	0	6	0	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	5	1	6	0	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	10	2	12	0	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	0	5	1	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	3	3	5	1	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	0	5	1	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	3	3	6	0	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 6 Detailed clinical observation, in the cage, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Category	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor/Convulsion 1	Stereotype		Bizarre behavior
								Rolling 0	Circling 0	Selfmutilation 1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

(to be continued)

Table 6 Detailed clinical observation, in the cage, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Period	Group	Number of animals	Category	Posture 1	Ptosis 1	Respiratory pattern 1	Tremor/ Convulsion 1	Stereotype		Bizarre behavior
								Rolling 0	Circling 0	Selfmutilation 1
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 7 Detailed clinical observation, on the hand, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Category	Handling 1	Treating 1	Muscle tone 2	Piloerection 1	Fur 1	Skin 1	Eyes 1	Pupil size 1	Mucous membranes 1	Lacrimation 1	Salivation 1	Body temperature 1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

(to be continued)

Table 7 Detailed clinical observation, on the hand, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Period	Group	Number of animals	Category	Handling	Treating	Muscle tone	Piloerection	Fur	Skin	Eyes	Pupil size	Mucous membranes	Lacrimation	Salivation	Body temperature
				1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 8 Detailed clinical observation, in the open-field, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Convulsion Category	Gait	Arousal	Stereotype						Bizarre behavior						
						1	1	1	Urination		Defecation		Grooming		Sniffing	Walking backward	Vocalization	Respiratory pattern
									0	1	0	1	0	1				
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	0	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	0	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	0	12	12	12	12		
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	0	12	12	12	12		
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12		
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	11	1	12	12	12	12		
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6		
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6		
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	0	12	12	12	12		

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

(to be continued)

Table 8 Detailed clinical observation, in the open-field, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Period	Group	Number of animals	Convulsion Category	Gait	Arousal	Urination		Defecation		Stereotype		Bizarre behavior				
						1	1	0	1	0	1	Grooming	Sniffing	Walking backward	Vocalization	Respiratory pattern
						1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	0	6	0	6	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	0	6	0	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	0	12	0	12	12	12	12	12	12	
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6	6	

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 9 Functional observation of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Category	Reactivity					Righting reflex
				Visual	Touch	Auditory	Pain	Proprioceptive	
				4	2	1	2	1	1
Week 4	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12
R-Week 2	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Week 4 : Week 4 of administration.

R-Week 2 : Week 2 of recovery.

Visual reactivity: approach response.

Touch reactivity: touch response.

Auditory reactivity: response to Galton's whistle.

Pain reactivity: tail pinch response.

Proprioceptive reactivity: returning from enforced posture.

Righting reflex: landing performance from 30 cm above.

Table 10 Functional observation of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Category	Reactivity					Righting reflex
				Visual	Touch	Auditory	Pain	Proprioceptive	
				4	2	1	2	1	1
Week 4	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12
R-Week 2	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Week 4 : Week 4 of administration.

R-Week 2 : Week 2 of recovery.

Visual reactivity: approach response.

Touch reactivity: touch response.

Auditory reactivity: response to Galton's whistle.

Pain reactivity: tail pinch response.

Proprioceptive reactivity: returning from enforced posture.

Righting reflex: landing performance from 30 cm above.

Table 11 Grip strength and motor activity measurements of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Grip strength		Motor activity measurements (count)							
			Forelimb	Hindlimb	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	Total	
			(g)	(g)								
Week 4	0 mg/kg	12	Mean	1022.03	374.73	510.5	356.5	268.9	217.4	125.3	72.8	1551.3
			S.D.	88.50	42.66	220.4	143.1	146.3	118.0	119.2	112.1	704.5
	100 mg/kg	6	Mean	1029.60	332.12	551.0	344.8	290.5	258.8	203.5	133.8	1782.5
			S.D.	179.91	71.75	161.7	106.8	100.7	186.5	116.8	116.6	720.7
	300 mg/kg	6	Mean	1064.60	380.73	490.3	301.0	231.7	218.2	140.2	82.7	1464.0
			S.D.	115.52	72.88	120.5	78.4	91.6	88.0	78.2	90.4	391.7
	1000 mg/kg	12	Mean	1119.64	378.48	603.8	436.2	314.7	249.3	139.8	116.6	1860.3
			S.D.	141.83	37.68	161.4	140.4	147.6	149.4	76.3	133.3	656.3
R-week 2	0 mg/kg	6	Mean	1369.18	567.33	547.0	411.2	281.0	314.2	228.3	161.8	1943.5
			S.D.	158.12	107.85	260.5	163.9	121.5	173.5	129.6	79.1	865.8
	1000 mg/kg	6	Mean	1458.62	501.50	577.3	462.2	331.5	267.5	214.2	130.0	1982.7
			S.D.	193.58	72.05	182.6	145.3	121.2	132.2	102.8	73.0	657.2

Week 4 : Week 4 of administration.

R-week 2 : Week 2 of recovery.

Table 12 Grip strength and motor activity measurements of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Period	Group	Number of animals	Grip strength		Motor activity measurements (count)							
			Forelimb	Hindlimb	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'	Total	
			(g)	(g)								
Week 4	0 mg/kg	12	Mean	785.00	332.78	749.3	556.5	439.2	349.7	224.2	153.9	2472.8
			S.D.	88.52	36.69	269.8	239.7	201.2	196.8	173.7	126.5	995.6
	100 mg/kg	6	Mean	802.23	344.88	675.5	494.8	333.0	255.7	265.3	141.7	2166.0
			S.D.	35.66	51.58	204.2	104.3	122.8	58.7	98.9	109.1	384.7
	300 mg/kg	6	Mean	779.38	349.88	784.5	592.5	458.0	343.3	363.7	254.8	2796.8
			S.D.	175.81	73.04	212.8	218.4	209.0	242.1	231.2	240.8	1187.3
	1000 mg/kg	12	Mean	783.44	344.55	698.1	524.4	389.8	334.4	233.4	191.1	2371.2
			S.D.	84.06	50.24	274.1	206.9	189.7	152.2	181.4	178.4	880.8
R-week 2	0 mg/kg	6	Mean	1032.05	465.65	637.5	405.7	348.3	302.3	295.2	260.8	2249.8
			S.D.	78.89	97.98	212.0	165.7	142.9	125.1	247.9	128.5	896.7
	1000 mg/kg	6	Mean	1093.48	487.07	525.8	421.7	317.8	306.0	268.3	236.7	2076.3
			S.D.	37.92	89.25	188.4	55.9	53.5	87.5	71.7	49.4	248.6

Week 4 : Week 4 of administration.

R-week 2 : Week 2 of recovery.

Table 13 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Body weight (g)						Body weight gain		Body weight (g)		Body weight gain	
		Administration period (day)						1-28		Recovery period (day)		0-14	
		1	7	14	21	28	g	%	7	14	g	%	
0 mg/kg	12	Mean	174.9	233.2	296.2	354.2	396.0	221.1	126.366	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	7.4	11.7	16.1	22.5	28.8	24.9	12.899	438.2	468.0	71.2	17.883
100 mg/kg	6	Mean	177.8	240.0	306.0	365.8	409.3	231.5	130.138	-	-	-	-
		S.D.	8.2	9.7	13.6	18.0	27.8	22.5	10.500	-	-	-	-
300 mg/kg	6	Mean	176.7	241.3	309.7	374.0	419.2	242.5	136.823	-	-	-	-
		S.D.	7.7	12.2	21.3	35.0	47.1	40.9	19.560	-	-	-	-
1000 mg/kg	12	Mean	175.3	236.2	301.3	360.7	399.4	224.1	127.829	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	6.3	10.9	15.8	19.9	24.8	22.3	12.493	442.7	468.8	66.5	16.657

Values in parentheses are number of animals.

Recovery day 0 is administration day 28.

- : Blank value.

Table 14 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Body weight (g)						Body weight gain		Body weight (g)		Body weight gain	
		Administration period (day)						1-28		Recovery period (day)		0-14	
		1	7	14	21	28	g	%	7	14	g	%	
0 mg/kg	12	Mean	128.7	158.1	182.7	206.9	225.5	96.8	75.280	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	4.2	7.8	9.4	11.6	14.5	13.2	10.012	247.5	259.8	28.7	12.390
100 mg/kg	6	Mean	130.2	156.8	181.7	209.3	226.0	95.8	73.377	-	-	-	-
		S.D.	5.0	8.8	13.1	16.8	23.0	19.3	13.495	-	-	-	-
300 mg/kg	6	Mean	126.2	156.7	180.8	203.5	220.8	94.7	74.870	-	-	-	-
		S.D.	5.9	8.1	7.4	14.2	18.2	13.5	8.747	-	-	-	-
1000 mg/kg	12	Mean	130.2	157.3	178.5	201.4	220.2	90.0	69.129	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	4.4	6.2	9.6	12.6	12.7	10.5	7.562	236.7	246.2	27.0	12.290

Values in parentheses are number of animals.

Recovery day 0 is administration day 28.

- : Blank value.

Table 15 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Food consumption (g/rat/day)							
		Administration period (day)					Recovery period (day)		
		1	7	14	21	28	7	14	
0 mg/kg	12	Mean	22.67	24.81	27.59	29.22	29.46	(6)	(6)
		S.D.	1.44	1.27	1.66	2.32	2.49	29.82	30.57
100 mg/kg	6	Mean	23.67	26.40	28.40	30.63	30.85	-	-
		S.D.	2.25	1.56	1.56	1.19	2.52	-	-
300 mg/kg	6	Mean	22.17	25.33	28.28	30.48	30.58	-	-
		S.D.	2.32	1.67	2.16	3.06	3.51	-	-
1000 mg/kg	12	Mean	22.42	24.39	28.04	29.71	29.91	(6)	(6)
		S.D.	1.88	2.67	2.35	2.37	1.99	31.03	29.92
							1.45	1.15	

Values in parentheses are number of animals.

- : Blank value.

Table 16 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Food consumption (g/rat/day)							
		Administration period (day)					Recovery period (day)		
		1	7	14	21	28	7	14	
0 mg/kg	12	Mean	16.67	18.21	18.76	19.50	20.22	(6)	(6)
		S.D.	1.44	0.65	0.74	1.08	1.53	21.42	21.28
100 mg/kg	6	Mean	17.00	17.75	18.12	19.62	19.68	-	-
		S.D.	1.10	1.19	1.69	1.77	2.58	-	-
300 mg/kg	6	Mean	15.83	17.90	18.42	18.95	19.15	-	-
		S.D.	1.72	1.05	0.96	1.93	1.93	-	-
1000 mg/kg	12	Mean	16.67	17.12*	17.63	18.63	18.88	(6)	(6)
		S.D.	1.44	1.26	1.36	1.52	1.46	20.07	20.05

Values in parentheses are number of animals.

* : Significantly different from the control group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

- : Blank value.

Table 17 Urinary findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	pH				Protein					Glucose -	Ketone body -	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bilirubin -
		7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+				
0 mg/kg	12	0	0	0	12	0	5	5	2	0	12	12	12	12
100 mg/kg	6	0	0	0	6	0	4	1	1	0	6	6	6	6
300 mg/kg	6	0	0	0	6	0	4	2	0	0	6	6	6	6
1000 mg/kg	12	1	0	0	11	0	4	7	0	1	12	12	12	12

Group	Number of animals	Occult blood				Color A	Specific gravity				Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
		-	±	1+	2+		1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<	
0 mg/kg	12	12	0	0	0	12	1	4	3	4	15.42 ± 8.34
100 mg/kg	6	5	1	0	0	6	0	4	2	0	17.67 ± 4.57
300 mg/kg	6	6	0	0	0	6	[2	4	0	0]+	19.92 ± 2.58 +
1000 mg/kg	12	8	2	1	1	12	0	4	7	1	15.54 ± 2.81

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, 1+ ; Moderate, 2+ ; Severe, 3+ ; Very severe.

Color : A; Pale yellow or yellow.

[]+ or + : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 18 Urinary findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	pH				Protein			Glucose -	Ketone body -	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bilirubin -
		7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+				
0 mg/kg	12	1	0	2	9	7	3	2	12	12	12	12
100 mg/kg	6	0	0	2	4	4	2	0	6	6	6	6
300 mg/kg	6	0	0	1	5	5	1	0	6	6	6	6
1000 mg/kg	12	1	2	4	5	8	2	2	12	12	12	12

Group	Number of animals	Occult blood		Color A	Specific gravity					Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
		-	±		1.011-1.020	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<	
0 mg/kg	12	11	1	12	0	1	6	4	1	11.38 ± 3.77
100 mg/kg	6	5	1	6	0	2	1	2	1	12.92 ± 5.29
300 mg/kg	6	6	0	6	0	1	3	2	0	11.17 ± 2.02
1000 mg/kg	12	12	0	12	1	1	3	3	4	13.00 ± 10.19

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, 1+ ; Moderate.

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 19 Urinary findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	pH		Protein					Glucose	Ketone body	Urobilinogen	Bilirubin
		8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+				
0 mg/kg	6	1	5	0	0	3	3	0	6	6	6	6
1000 mg/kg	6	0	6	0	0	5	0	1	6	6	6	6

Group	Number of animals	Occult blood			Color A	Specific gravity			Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
		-	±	1+		1.031-1.041	1.041-1.050	<1.050	
0 mg/kg	6	5	1	0	6	3	1	2	14.67 ± 3.20
1000 mg/kg	6	5	0	1	6	2	3	1	16.50 ± 4.30

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, 1+ ; Moderate, 2+ ; Severe, 3+ ; Very severe.

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 20 Urinary findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	pH 8.5	Protein				Glucose -	Ketone body -	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bilirubin -
			-	±	1+	2+				
0 mg/kg	6	6	1	2	2	1	6	6	6	6
1000 mg/kg	6	6	3	1	2	0	6	6	6	6

Group	Number of animals	Occult blood		Color A	Specific gravity					Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
		-	±		1.011-1.020	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	<1.050	
0 mg/kg	6	5	1	6	0	0	5	0	1	14.58 ± 3.25
1000 mg/kg	6	6	0	6	1	0	2	2	1	14.92 ± 7.68

Values are number of animals with findings.

- ; Normal, ± ; Slight, 1+ ; Moderate, 2+ ; Severe.

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 21 Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		RBC 10 ⁴ /μL	Ht %	Hb g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC 10 ² /μL	Platelet 10 ⁴ /μL
0 mg/kg	6	Mean	810.5	47.28	16.72	58.35	20.60	35.37	107.3	123.42
		S.D.	17.4	2.00	0.46	1.60	0.27	0.69	16.5	12.74
100 mg/kg	6	Mean	774.0	46.05	16.40	59.53	21.20	35.60	118.2	117.25
		S.D.	28.3	1.45	0.62	1.42	0.65	0.42	20.0	11.85
300 mg/kg	6	Mean	799.3	46.95	16.48	58.75	20.63	35.12	99.2	111.95
		S.D.	36.1	2.45	0.83	1.47	0.40	0.42	19.8	15.51
1000 mg/kg	6	Mean	788.0	46.98	16.65	59.63	21.15	35.47	111.5	114.13
		S.D.	35.7	2.48	0.60	2.12	0.67	0.78	36.2	4.49

(to be continued)

Table 21 Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Group	Number of animals		Reticulo-cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho-cyte	Others
						Stab form	Segmented					
0 mg/kg	6	Mean	22.0	16.70	24.23	1.07	10.00	0.53	0.00	1.00	87.40	0.00
		S.D.	11.1	0.80	2.15	0.48	1.94	0.70	0.00	0.83	2.07	0.00
100 mg/kg	6	Mean	26.2	16.97	24.32	0.60	9.40	0.53	0.00	1.33	88.13	0.00
		S.D.	10.7	1.61	2.31	0.33	3.29	0.33	0.00	0.60	3.64	0.00
300 mg/kg	6	Mean	27.3	17.22	24.50	0.93	9.73	0.40	0.00	0.80	88.13	0.00
		S.D.	8.0	1.41	1.86	0.33	5.33	0.36	0.00	0.84	5.74	0.00
1000 mg/kg	6	Mean	20.2	18.43	24.88	0.67	10.27	0.27	0.00	0.80	88.00	0.00
		S.D.	3.4	1.93	3.18	0.41	4.78	0.48	0.00	0.57	4.79	0.00

Table 22 Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		RBC 10 ⁴ /μL	Ht %	Hb g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC 10 ² /μL	Platelet 10 ⁴ /μL
0 mg/kg	6	Mean	766.2	44.68	16.27	58.38	21.25	36.42	110.3	128.42
		S.D.	44.8	2.09	0.54	1.83	0.85	0.73	36.9	15.30
100 mg/kg	6	Mean	785.8	44.22	16.22	56.27	20.63	36.67	88.5	121.77
		S.D.	42.0	2.51	0.83	1.23	0.33	0.61	15.6	12.65
300 mg/kg	6	Mean	772.3	43.92	16.02	56.85	20.75	36.48	86.3	114.62
		S.D.	49.5	3.06	1.00	1.64	0.76	0.62	14.9	8.78
1000 mg/kg	6	Mean	777.3	43.68	16.17	56.25	20.80	37.03	86.7	129.13
		S.D.	47.1	2.28	0.78	2.11	0.57	0.47	14.6	15.87

(to be continued)

Table 22 Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Group	Number of animals		Reticulo-cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho-cyte	Others
						Stab form	Segmented					
0 mg/kg	6	Mean	15.5	16.10	18.87	1.27	14.00	0.73	0.07	0.87	83.07	0.00
		S.D.	1.0	1.20	1.25	0.59	10.10	0.47	0.16	0.53	11.00	0.00
100 mg/kg	6	Mean	19.5	16.27	18.97	1.20	9.33	0.73	0.00	1.00	87.73	0.00
		S.D.	4.8	0.56	0.65	0.51	3.84	0.30	0.00	0.66	4.42	0.00
300 mg/kg	6	Mean	19.8	16.48	19.60	0.93	11.73	1.00	0.07	1.00	85.27	0.00
		S.D.	5.5	1.06	1.26	0.33	3.34	0.70	0.16	0.66	3.36	0.00
1000 mg/kg	6	Mean	20.8	16.52	19.25	0.87	10.40	0.53	0.07	1.27	86.87	0.00
		S.D.	8.1	1.13	0.86	0.30	3.33	0.48	0.16	0.30	3.15	0.00

Table 23 Hematological findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
			10 ⁴ /μL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ² /μL	10 ⁴ /μL
0 mg/kg	6	Mean	870.7	48.98	17.30	56.30	19.88	35.32	114.0	124.10
		S.D.	28.0	1.31	0.59	2.06	0.90	0.50	23.1	11.25
1000 mg/kg	6	Mean	854.5	48.87	17.27	57.17	20.20	35.38	122.0	109.85
		S.D.	29.6	2.85	0.61	1.78	0.25	0.85	12.3	12.48

Group	Number of animals		Reticulo-cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lymphocyte	Others
						Stab form	Segmented					
0 mg/kg	6	Mean	26.0	21.42	27.82	0.80	10.60	0.27	0.07	1.53	86.73	0.00
		S.D.	6.8	2.81	1.79	0.36	3.78	0.21	0.16	0.93	4.77	0.00
1000 mg/kg	6	Mean	27.7	19.42	27.82	0.93	10.13	0.67	0.00	1.33	86.93	0.00
		S.D.	7.1	1.84	2.51	0.83	4.91	0.65	0.00	0.21	5.24	0.00

Table 24 Hematological findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		RBC	Ht	Hb	MCV	MCH	MCHC	WBC	Platelet
			10 ⁴ /μL	%	g/dL	fL	pg	g/dL	10 ² /μL	10 ⁴ /μL
0 mg/kg	6	Mean	800.7	44.35	16.38	55.43	20.50	36.95	111.3	114.67
		S.D.	39.7	1.66	0.68	1.32	0.35	0.55	35.4	15.20
1000 mg/kg	6	Mean	790.0	43.65	16.25	55.28	20.57	37.28	95.0	104.73
		S.D.	57.6	2.95	0.94	1.27	0.51	0.97	20.3	6.15

Group	Number of animals		Reticulo-cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC %						
						Neutrophil		Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lymphocyte	Others
						Stab form	Segmented					
0 mg/kg	6	Mean	27.7	16.67	19.35	1.07	10.13	0.60	0.00	1.07	87.13	0.00
		S.D.	5.6	0.81	1.91	0.70	6.22	0.33	0.00	0.48	6.54	0.00
1000 mg/kg	6	Mean	20.7*	16.63	18.52	0.80	8.73	1.33	0.00	1.53	87.60	0.00
		S.D.	4.1	0.61	1.83	0.25	2.60	1.40	0.00	0.59	3.75	0.00

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 25 Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
0 mg/kg	6	Mean	5.53	2.878	1.088	52.08	21.62	7.27	15.48	3.55	66.7	27.8	587.3	0.67	0.045
		S.D.	0.16	0.114	0.096	2.22	3.16	0.72	0.94	0.64	9.1	6.3	160.6	0.37	0.010
100 mg/kg	6	Mean	5.62	2.940	1.103	52.37	21.28	7.33	15.40	3.62	71.5	27.7	549.7	0.73	0.050
		S.D.	0.18	0.137	0.062	1.45	2.21	1.08	1.48	0.77	11.5	4.8	99.3	0.34	0.014
300 mg/kg	6	Mean	5.72	2.920	1.050	51.12	22.43	6.83	15.78	3.83	61.2	25.8	520.0	0.58	0.050
		S.D.	0.32	0.161	0.069	1.58	1.92	0.38	0.77	0.59	5.8	3.4	82.0	0.18	0.009
1000 mg/kg	6	Mean	5.65	2.905	1.063	51.45	21.15	7.47	16.15	3.78	88.8	32.2	643.8	0.67	0.047
		S.D.	0.24	0.079	0.097	2.21	3.38	0.40	1.08	0.87	48.4	10.3	188.5	0.29	0.012

(to be continued)

Table 25 Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
0 mg/kg	6	Mean	155.7	68.0	40.7	12.95	0.472	143.0	4.918	105.0	9.58	8.43
		S.D.	13.7	8.7	15.9	1.82	0.043	1.4	0.256	1.3	0.23	0.29
100 mg/kg	6	Mean	147.2	63.5	43.5	13.00	0.497	143.7	4.807	105.3	9.73	8.12
		S.D.	10.5	8.7	18.1	0.71	0.015	1.4	0.255	0.8	0.28	0.50
300 mg/kg	6	Mean	161.3	68.3	51.8	12.07	0.513	143.8	4.935	105.2	9.83	8.83
		S.D.	16.2	10.6	13.0	1.13	0.036	1.0	0.197	1.5	0.52	0.95
1000 mg/kg	6	Mean	162.5	62.5	36.8	12.02	0.500	143.7	4.690	105.8	9.58	8.38
		S.D.	10.9	14.4	7.3	0.64	0.019	1.2	0.259	1.0	0.47	0.68

Table 26 Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
0 mg/kg	6	Mean	5.83	3.045	1.105	52.20	19.55	6.87	15.53	5.85	67.7	23.5	453.3	1.25	0.052
		S.D.	0.18	0.257	0.160	3.85	1.53	1.61	2.03	1.36	9.2	2.4	68.7	0.65	0.013
100 mg/kg	6	Mean	5.87	3.238	1.233	55.13	20.07	5.98	14.02	4.80	57.5	21.8	340.3	0.92	0.063
		S.D.	0.34	0.280	0.109	2.23	1.92	0.43	0.99	0.51	7.6	3.5	115.5	0.28	0.010
300 mg/kg	6	Mean	5.63	3.077	1.203	54.57	19.95	6.15	14.58	4.75	67.2	22.2	397.0	1.10	0.062
		S.D.	0.10	0.089	0.031	0.68	1.63	0.76	1.10	1.30	8.1	1.6	103.8	0.25	0.012
1000 mg/kg	6	Mean	5.87	3.192	1.193	54.42	20.92	5.77	14.33	4.57	57.0	21.2	315.8*	1.12	0.053
		S.D.	0.23	0.188	0.089	1.93	1.98	0.68	0.61	0.71	4.3	2.9	40.9	0.17	0.012

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

(to be continued)

Table 26 Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163) (continued)

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
0 mg/kg	6	Mean	130.2	72.3	8.0	14.02	0.532	142.5	4.755	105.5	9.60	8.12
		S.D.	27.0	20.5	3.5	1.89	0.035	0.8	0.527	1.0	0.28	0.56
100 mg/kg	6	Mean	124.8	68.5	9.5	14.58	0.547	142.2	4.503	105.7	9.58	7.93
		S.D.	15.7	11.6	4.5	0.98	0.029	1.0	0.298	1.2	0.29	0.91
300 mg/kg	6	Mean	129.3	57.0	7.5	14.73	0.572	143.3	4.653	106.7	9.35	8.15
		S.D.	14.9	23.5	3.4	2.09	0.065	1.2	0.468	1.6	0.31	0.82
1000 mg/kg	6	Mean	140.3	72.7	7.5	14.03	0.515	142.8	4.688	107.0	9.58	7.68
		S.D.	17.1	13.7	1.2	2.27	0.026	1.0	0.313	0.9	0.21	0.48

Table 27 Biochemical findings of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ-GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α ₁	α ₂	β	γ					
0 mg/kg	6	Mean	5.58	2.803	1.007	50.18	23.27	6.60	15.83	4.12	65.5	24.0	480.2	0.43	0.043
		S.D.	0.12	0.072	0.056	1.30	2.11	0.66	0.62	0.71	5.0	2.6	137.3	0.29	0.014
1000 mg/kg	6	Mean	5.53	2.800	1.025	50.55	23.02	6.53	15.50	4.40	70.2	26.0	479.2	0.67	0.055
		S.D.	0.23	0.071	0.071	1.76	2.13	0.45	0.86	1.03	17.4	3.0	92.9	0.37	0.008

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
	S.D.	4.2	4.5	14.2	1.57	0.014	1.0	0.360	1.2	0.15	0.17	
1000 mg/kg	6	Mean	180.3	68.0	54.5	14.65	0.517	142.0	4.928	104.3	9.65	7.77
		S.D.	21.3	12.4	19.7	1.74	0.034	0.9	0.206	1.2	0.18	0.30

Table 28 Biochemical findings of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction %					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL
						Albumin	Globulin								
							α_1	α_2	β	γ					
0 mg/kg	6	Mean	5.93	3.210	1.178	54.05	19.52	5.85	14.83	5.75	60.0	22.3	310.8	0.63	0.072
		S.D.	0.22	0.131	0.058	1.31	1.84	0.36	0.88	1.51	6.2	2.3	63.8	0.24	0.020
1000 mg/kg	6	Mean	6.02	3.347	1.255*	55.60	18.53	5.78	14.32	5.77	64.5	22.7	321.3	0.75	0.070
		S.D.	0.17	0.130	0.055	1.14	1.68	0.13	1.18	1.16	9.3	4.3	92.1	0.48	0.018

Group	Number of animals		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL
		S.D.	18.7	8.7	7.0	1.47	0.046	1.6	0.228	1.7	0.31	0.69
1000 mg/kg	6	Mean	128.5	81.5	17.7	15.88	0.590	141.3	4.450	105.2	9.77	7.37
		S.D.	20.0	12.6	8.7	1.10	0.036	1.4	0.181	1.2	0.19	0.52

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 29 Gross findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

	End of administration				End of recovery	
	0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Table 30 Gross findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

	End of administration				End of recovery	
	0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings	5	6	6	6	6	5
Lung : Adhesion, parietal pleura, unilateral	1	0	0	0	0	0
Ileum : Diverticulum	0	0	0	0	0	1

Values are expressed as the number of animals.

Table 31 Absolute and relative organ weights of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	6	Mean	361.7	11.367	3.140	2.910	0.807	0.767	0.213	1.298	0.362	2.090	0.578	13.02	3.607
		S.D.	23.4	1.098	0.169	0.219	0.047	0.098	0.027	0.064	0.032	0.022	0.037	1.22	0.354
100 mg/kg	6	Mean	372.2	12.028	3.227	2.828	0.760	0.735	0.197	1.322	0.355	2.175+	0.585	12.83	3.437
		S.D.	24.4	1.188	0.159	0.252	0.037	0.111	0.019	0.069	0.024	0.070	0.036	2.07	0.414
300 mg/kg	6	Mean	380.5	12.642	3.318	2.937	0.773	0.810	0.213	1.370	0.358	2.132	0.567	13.28	3.502
		S.D.	41.1	1.703	0.189	0.279	0.044	0.179	0.034	0.195	0.013	0.107	0.063	1.56	0.328
1000 mg/kg	6	Mean	363.7	12.058	3.308	2.950	0.810	0.685	0.187	1.280	0.353	2.168++	0.600	12.70	3.487
		S.D.	26.3	1.332	0.198	0.173	0.025	0.056	0.008	0.160	0.038	0.048	0.043	1.60	0.312

Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Testis		Epididymis		Prostate		Seminal vesicle		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	g	%	
0 mg/kg	6	Mean	557.5	153.985	18.52	5.138	65.0	18.092	3.225	0.893	0.783	0.217	486.0	135.227	1.372	0.382
		S.D.	112.6	27.492	2.77	0.882	10.1	3.410	0.227	0.061	0.069	0.023	109.9	34.115	0.180	0.074
100 mg/kg	6	Mean	747.5*	200.828*	19.43	5.237	69.0	18.573	3.297	0.888	0.765	0.208	462.2	124.797	1.305	0.352
		S.D.	120.6	29.113	2.47	0.749	9.6	2.521	0.210	0.042	0.080	0.020	51.6	17.203	0.223	0.064
300 mg/kg	6	Mean	678.0	176.523	19.38	5.122	65.8	17.415	3.250	0.862	0.795	0.212	506.2	135.852	1.317	0.350
		S.D.	153.7	27.031	4.74	1.209	5.8	1.812	0.172	0.097	0.110	0.043	130.9	45.476	0.302	0.087
1000 mg/kg	6	Mean	566.5	155.935	17.62	4.892	62.8	17.342	3.100	0.855	0.768	0.212	464.8	129.155	1.362	0.378
		S.D.	111.8	29.292	2.85	1.043	4.6	1.574	0.221	0.092	0.037	0.021	92.2	30.607	0.269	0.087

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

+ : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Mann-Whitney's U-test).

++ : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 32 Absolute and relative organ weights of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	6	Mean	201.3	6.498	3.222	1.642	0.815	0.533	0.265	0.777	0.387	1.925	0.957	12.75	6.332
		S.D.	8.2	0.689	0.232	0.159	0.081	0.076	0.034	0.047	0.026	0.079	0.040	2.09	0.958
100 mg/kg	6	Mean	209.0	6.580	3.145	1.808	0.882	0.448	0.213	1.007+	0.503	1.725	0.810++	13.95	6.677
		S.D.	20.3	0.786	0.149	0.303	0.246	0.087	0.027	0.407	0.276	0.525	0.212	2.34	0.917
300 mg/kg	6	Mean	202.8	6.125	3.022	1.573	0.777	0.482	0.237	0.763	0.378	1.920	0.952	12.00	5.943
		S.D.	16.8	0.749	0.307	0.118	0.044	0.094	0.036	0.064	0.035	0.097	0.057	1.05	0.606
1000 mg/kg	6	Mean	204.5	6.505	3.178	1.717	0.840	0.445	0.217	0.767	0.377	1.900	0.932	14.20	6.938
		S.D.	9.2	0.558	0.180	0.139	0.073	0.098	0.049	0.082	0.048	0.064	0.050	2.66	1.234

Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Ovary		Uterus		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	
0 mg/kg	6	Mean	491.8	243.795	12.82	6.373	74.0	36.713	95.3	47.378	0.480	0.240
		S.D.	85.5	38.224	1.95	1.033	8.8	3.474	10.3	4.944	0.104	0.057
100 mg/kg	6	Mean	518.2	250.382	13.70	6.563	64.8	31.087*	92.2	43.952	0.527	0.248
		S.D.	55.0	40.063	2.86	1.267	8.5	3.362	18.1	6.519	0.244	0.101
300 mg/kg	6	Mean	473.3	233.212	13.18	6.492	66.8	32.897	91.7	45.375	0.447	0.218
		S.D.	70.4	27.549	2.12	0.880	9.4	3.518	6.0	3.756	0.195	0.091
1000 mg/kg	6	Mean	514.2	252.020	16.08	7.840	70.3	34.378	90.3	44.252	0.667	0.325
		S.D.	88.8	44.700	2.68	1.042	10.4	4.599	11.8	6.222	0.222	0.109

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

+ : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Mann-Whitney's U-test).

++ : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.01$ (Mann-Whitney's U-test).

Table 33 Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	6	Mean	429.2	13.145	3.057	3.150	0.733	0.778	0.182	1.430	0.333	2.195	0.513	14.13	3.287
		S.D.	42.9	1.849	0.206	0.369	0.029	0.122	0.016	0.183	0.014	0.108	0.033	2.41	0.406
1000 mg/kg	6	Mean	435.3	12.757	2.927	3.145	0.723	0.725	0.167	1.440	0.330	2.130	0.492	12.90	2.965
		S.D.	19.8	1.458	0.263	0.281	0.072	0.097	0.023	0.206	0.050	0.080	0.022	1.12	0.229

Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Testis		Epididymis		Prostate		Seminal vesicle		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	g	%	
0 mg/kg	6	Mean	517.7	120.590	21.97	5.198	64.0	14.907	3.488	0.817	1.063	0.252	561.8	131.768	1.497	0.352
		S.D.	79.8	13.483	2.24	0.999	7.5	0.813	0.280	0.076	0.054	0.026	95.7	23.584	0.108	0.039
1000 mg/kg	6	Mean	488.2	112.920	18.12*	4.187	66.7	15.353	3.360	0.773	1.027	0.235	606.5	139.765	1.587	0.365
		S.D.	75.7	22.305	2.62	0.739	4.3	1.411	0.201	0.048	0.048	0.015	116.0	29.035	0.199	0.043

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 34 Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery test following 28-day repeated oral dose of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	6	Mean	240.8	7.177	2.977	1.845	0.765	0.590	0.250	0.893	0.373	1.952	0.813	14.35	5.952
		S.D.	21.2	0.663	0.045	0.185	0.038	0.070	0.041	0.029	0.031	0.039	0.074	2.47	0.745
1000 mg/kg	6	Mean	229.5	6.562	2.857	1.630*	0.712	0.505	0.222	0.838	0.363	1.933	0.847	14.60	6.393
		S.D.	19.1	0.737	0.178	0.131	0.046	0.079	0.039	0.106	0.029	0.074	0.056	2.34	1.141

Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Ovary		Uterus		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	
0 mg/kg	6	Mean	525.7	217.277	14.02	5.837	73.5	30.740	97.7	40.830	0.590	0.245
		S.D.	112.3	38.537	1.40	0.548	7.4	4.336	14.1	7.332	0.252	0.095
1000 mg/kg	6	Mean	437.3	193.220	14.05	6.137	69.8	30.442	86.2	37.717	0.513	0.225
		S.D.	63.4	41.571	1.71	0.724	12.0	4.862	10.1	5.019	0.230	0.099

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's procedure).

Table 35 Histopathological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

		End of administration				End of recovery	
		0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6
Organ: Findings	Grade						
Lung: Accumulation, foamy cell	+	1	-	-	0	0	0
Metaplasia, osseous	+	1	-	-	0	1	0
Mineralization, artery	+	0	-	-	1	0	0
Liver: Microgranuloma	+	3	-	-	1	1	1
Necrosis, focal	+	0	-	-	1	0	0
Heart: Myocardial degeneration, focal	+	0	-	-	0	2	0
Kidney: Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	+	1	2	5	6	1	2
Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	+	0	0	0	2	1	2
Regeneration, tubular epithelium	+	2	3	2	1	1	2
Cast, hyaline	+	1	0	0	0	1	1
Cyst	+	0	0	0	0	0	2
Testis: Atrophy, seminiferous tubule	+	1	-	-	0	0	0
Prostate: Cellular infiltration, inflammatory cell	+	2	-	-	1	4	2

Values are number of animals with findings.

-: Blank value.

Grade; +: slight change.

Table 36 Histopathological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity test and 14-day recovery test of Dipentamethylenethiuram tetrasulfide (SR06163)

	Grade	End of administration				End of recovery	
		0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6
Organ: Findings							
Lung: Accumulation, foamy cell	+	0	-	-	1	0	1
Granuloma, foreign body	+	1	-	-	0	0	0
Cellular infiltration, inflammatory cell	++	1	-	-	0	0	0
Abscess	++	1	-	-	0	0	0
Fibrosis	++	1	-	-	0	0	0
Fibrosis, focal	+	0	-	-	0	1	0
Ileum: Diverticulum	+	0	-	-	0	0	1
Pancreas: Atrophy, acinar cell, focal	+	0	-	-	0	0	2
Liver: Microgranuloma	+	2	-	-	1	3	3
Heart: Cellular infiltration, inflammatory cell, epicardium	++	1	-	-	0	0	0
Kidney: Regeneration, tubular epithelium	+	1	0	1	1	0	2
Cast, hyaline	+	0	0	1	0	0	1
Cyst	+	0	0	1	0	0	1

Values are number of animals with findings.

-: Blank value.

Grade; +: slight change, ++: moderate change.