

R-1068 (訂正版)

## 最 終 報 告 書

### (訂正版)

試験表題：1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノンのラットを用いた  
経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：R-1068

作成日：2012年4月12日

試験期間：2010年9月6日～2011年3月30日

試験施設  
株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所  
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど1284

試験委託者  
厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室  
〒100-8916 東京都千代田区霞が関1-2-2

株式会社ボゾリサーチセンター  
〒151-0065 東京都渋谷区大山町36-7

# R-1068 (訂正版)

## 1. 目次

1. 目次 .....	2
3. 要約 .....	10
3.1 反復投与毒性 .....	10
3.2 生殖発生毒性 .....	10
4. 緒言 .....	12
5. 試験材料及び方法 .....	13
5.1 被験物質及び媒体 .....	13
5.1.1 被験物質 .....	13
5.1.2 媒体 .....	14
5.2 投与液の調製及び保存方法 .....	14
5.2.1 媒体の調製及び保存 .....	14
5.2.2 被験液の調製及び保存 .....	14
5.2.3 被験液の安定性及び均一性 .....	15
5.2.4 被験液の濃度・均一性確認 .....	15
5.3 試験動物種及び系統の選択理由 .....	17
5.4 試験動物 .....	17
5.5 飼育条件 .....	18
5.6 動物の識別 .....	18

## R-1068 (訂正版)

5.7	投与経路、投与期間及び投与回数並びに回復期間とそれらの選択理由 .....	19
5.8	投与方法 .....	19
5.9	投与量及び群構成 .....	19
5.10	投与量の設定根拠 .....	20
5.11	観察及び検査の方法 .....	20
5.11.1	一般状態の観察 .....	20
5.11.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定 .....	20
5.11.3	体重測定 .....	21
5.11.4	摂餌量測定 .....	22
5.11.5	膣垢検査 .....	22
5.11.6	交配方法 .....	22
5.11.7	分娩及び哺育観察 .....	22
5.11.8	尿検査（摂水量測定を含む） .....	24
5.11.9	血液学検査 .....	25
5.11.10	血液化学検査 .....	26
5.11.11	血中ホルモン（TSH、T <sub>3</sub> 及びT <sub>4</sub> ）測定 .....	26
5.11.12	病理学検査 .....	27
5.12	統計解析 .....	28
5.12.1	パラメータの算出 .....	28
5.12.2	検定 .....	29
6.	試験結果 .....	31
6.1	一般状態（Table 1-1~1-11、Appendix 1-1~1-34） .....	31
6.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定及び自発運動量の測定 (Fig. 1~5、Table 2-1~2-84、Appendix 2-1~2-258) .....	31
6.3	体重（Fig. 6~8、Table 3-1~3-7、Appendix 3-1~3-22） .....	32
6.4	摂餌量（Fig. 9~11、Table 4-1~4-7、Appendix 4-1~4-22） .....	33
6.5	尿検査（摂水量測定を含む）（Table 5-1~5-16、Appendix 5-1~5-30） .....	33
6.6	血液学検査（Table 6-1~6-10、Appendix 6-1~6-10） .....	34
6.7	血液化学検査（Table 7-1~7-10、Appendix 7-1~7-10） .....	34
6.8	血中ホルモン（TSH、T <sub>3</sub> 及びT <sub>4</sub> ）測定（Table 8-1~8-5、 Appendix 8-1~8-5） .....	35
6.9	器官重量（Table 9-1~9-12、Appendix 9-1~9-46） .....	35
6.10	剖検所見（Table 10-1~10-6、Appendix 10-1~10-116） .....	35
6.11	病理組織学検査（Table 11-1~11-16、Appendix 10-1~10-116） .....	37
6.12	性周期（Table 12、Appendix 11-1~11-4） .....	39
6.13	交配成績（Table 13、Appendix 12-1~12-4） .....	39
6.14	分娩成績（Table 14、Appendix 13-1~13-4） .....	39

## R-1068 (訂正版)

6.15	出生児の性比及び外表観察 (Table 15、Appendix 14-1~14-4) .....	39
6.16	出生児の生存率 (Table 16、Appendix 15-1~15-4) .....	39
6.17	出生児の体重 (Table 17、Appendix 16-1~16-4) .....	39
6.18	出生児の生後 4 日剖検所見 (Table 18、Appendix 17-1~17-4) .....	39
6.19	出生児の生後 4 日病理組織学所見 (Table 19) .....	40
7.	考察 .....	41
7.1	反復投与毒性 .....	41
7.2	生殖発生毒性 .....	43
8.	文献 .....	44

### 図

- Fig. 1~5                   自発運動量の測定  
Fig. 6~8                   体重  
Fig. 9~11                  摂餌量

### 表

- Table 1-1~1-11           一般状態  
Table 2-1~2-23           ホームケージ内観察  
Table 2-24~2-46           手に持つての観察  
Table 2-47~2-69           オープンフィールド内観察  
Table 2-70~2-74           機能検査  
Table 2-75~2-79           握力測定  
Table 2-80~2-84           自発運動量の測定

R-1068 (訂正版)

Table 3-1~3-7	体重
Table 4-1~4-7	摂餌量
Table 5-1~5-16	尿検査（含、摂水量）
Table 6-1~6-10	血液学検査
Table 7-1~7-10	血液化学検査
Table 8-1~8-5	血中ホルモン測定
Table 9-1~9-12	器官重量
Table 10-1~10-6	剖検所見
Table 11-1~11-16	病理組織学検査
Table 12	性周期
Table 13	交配成績
Table 14	分娩成績
Table 15	出生児の性比及び外表観察
Table 16	出生児の生存率
Table 17	出生児の体重
Table 18	出生児の生後 4 日剖検所見
Table 19	出生児の生後 4 日病理組織学所見

### 3. 要約

1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノンの0（対照群：0.5 w/v%メチルセルロース溶液）、12、60及び300 mg/kgを、Sprague-Dawley系SPFラット（雌雄各12匹/群、雌には非交配群として対照群及び300 mg/kg投与群に各10匹を追加）の、雄には交配前14日間に加え交配期間を通して剖検前日まで（42日間）、交配群雌には交配前14日間に加え交配期間及び妊娠期間を通して授乳4日まで（41~46日間）、非交配群雌には42日間強制経口投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性を検討した。更に、0及び300 mg/kg投与群の一部の動物については、非交配群雌及び雄とともに42日間投与した後14日間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

#### 3.1 反復投与毒性

いずれの投与群においても死亡動物はみられず、一般状態及び詳細な一般状態、体重、機能検査、握力、自発運動量及び尿検査には被験物質投与の影響は認められなかった。

300 mg/kgでは、雄で肝臓重量に高値、組織学的に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられた。非交配群雌でALTに高値、肝臓及び副腎重量に高値、脾臓及び卵巣重量に低値、組織学的に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大及び副腎の皮質細胞肥大がみられた。交配群雌で白血球数、好中球数、好塩基球数及び単球数に低値、T<sub>3</sub>及びT<sub>4</sub>に高値が認められ、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられ、胸腺の萎縮の発現頻度及び所見の程度が増強した。

60 mg/kgでは、雄で肝臓重量に高値、組織学的に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられた。交配群雌で白血球数、好中球数、好塩基球数及び単球数に低値、T<sub>3</sub>及びT<sub>4</sub>に高値が認められ、組織学的に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられた。

雄、交配群雌及び非交配群雌の各用量群で皮膚や組織あるいは尿や糞の着色がみられたが、これらは有害影響とは無関係な被験物質の色調を反映した変化と考えられた。

交配群雌の12 mg/kg以上で周産期の摂餌量に低値が認められたが、これらは周産期という生理状態における限定的な被験物質投与の影響と考えられ、当該期間の体重推移に影響はないことから毒性学的意義はないと考えられた。

投与期間中にみられた変化はいずれも回復期間中にはほぼ消失あるいは頻度及び程度とも減弱し、回復傾向が認められたことから、可逆性の変化と考えられた。

#### 3.2 生殖発生毒性

性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には被験物質投与の影響は認められなかった。更に、出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数及び出生率に被験物質投与の影響は認められなかった。

300 mg/kgで、授乳期間中に哺育行動の低下を示しほぼ全例の母体で全哺育児が死亡した。

## R-1068 (訂正版)

出生児では、出生時の外表観察、生後 0 及 4 日の性比に被験物質投与による影響は認められなかった。体重では生後 0 日に 60 mg/kg 以上、生後 4 日に 12 mg/kg 以上の雌雄（全例死亡した 300 mg/kg 投与群の雌を除く）でいずれも低値が認められ、生後 4 日の生存率に 60 mg/kg 以上で低値が認められた。剖検では 12 mg/kg 以上の雌雄で器官/組織又は消化管内容物の青色化がみられたが、雌雄親動物でみられた変化同様、有害影響とは無関係な被験物質の色調を反映した変化と考えられた。なお、肉眼的にみられた青色化に相当する組織学的所見はみられなかった。

これらの結果から、本試験条件下において、本被験物質の雌雄動物における反復投与毒性に対する無影響量は非交配群雌及び雄で 12 mg/kg、交配群雌で 12 mg/kg 未満、無毒性量はいずれの雌雄とも 12 mg/kg と判断した。また、雌雄親動物と児動物における生殖発生毒性に対する無影響量及び無毒性量は、いずれも雄親動物で 300 mg/kg 以上、雌親動物で 60 mg/kg、児動物で 12 mg/kg 未満と判断した。

R-1068 (訂正版)

#### 4. 緒言

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室の委託により、1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノンのラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施したので、その成績を報告する。

## 5. 試験材料及び方法

### 5.1 被験物質及び媒体

#### 5.1.1 被験物質

1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノンは

以下の情報とともに供給された。また、試験開始前に赤外吸収スペクトルの測定により特性が確認されている（試験番号：A-2312、添付資料1）。

名称 : 1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノン

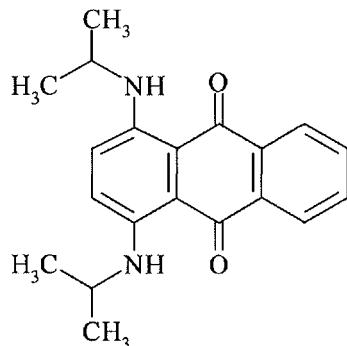
英語名称 : 1,4-Bis(isopropylamino)anthraquinone

別名 : ソルベントブルー36

CAS 番号 : 14233-37-5

官報公示整理番号 : 4-1263、5-5112

構造式又は示性式 :



分子式 : C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

分子量 : 322.40

常温における性状 : 暗青色粉末

融点 : 165~175°C

溶解度 : 対水 ; 1.33 μg/L(25°C)、対アセトニトリル ; 5 g/L 以上、  
対メタノール ; 2 g/L 以上

密度 : 1.163 g/cm<sup>3</sup>

純度 : 100%

入手量 : 1888 g

保存方法 : 密閉、冷暗所[冷暗所として冷蔵庫内(許容値:1~10°C、  
実測値:3~6°C)に保存した]

保存場所 : 御殿場研究所被験物質保存室及び第2研究棟4階被験  
物質調製室

取扱い上の注意 : 作業場の換気を十分に行い、マスク、保護眼鏡、保護

- 手袋等の適切な保護具を着用し、直接の接触を防ぐ。  
取り扱い後は、手、顔等を良く洗い、うがいをする。
- 安定性 : 投与期間終了後に株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所において、残余被験物質の赤外吸収スペクトルを確認した結果、実験実施前に確認した参照スペクトルとほぼ同様であり安定性に問題はなかった。（添付資料2）。
- 残量の処理 : 被験物質5gを保存試料として御殿場研究所の資料保存施設に保存した。動物試験及び分析終了後の残量は全て焼却処分した。

### 5.1.2 媒体

- 名称 : 0.5 w/v%メチルセルロース溶液（略称：0.5 w/v%MC溶液）

なお、媒体については、本試験に先立って実施した被験液中濃度測定法バリデーション及び安定・均一性試験（試験番号：A-2312）において、0.5 w/v%MC溶液中の被験物質の安定性及び均一性に良好な結果が得られていることから、0.5 w/v%MC溶液を選択した。

## 5.2 投与液の調製及び保存方法

### 5.2.1 媒体の調製及び保存

メチルセルロース（METOLOSE SM-400、日本薬局方、信越化学工業株式会社、ロット番号：8105606）を注射用水（日本薬局方、株式会社大塚製薬工場、ロット番号：0A98、0F87）に溶解して0.5 w/v%MC溶液とした。調製した媒体は、調製当日に被験液の調製に使用した。また、被験液調製当日の被験物質を取り扱う前に対照群投与液として、必要量の媒体を褐色ガラス瓶に分注し、投与に使用するまで被験液と同様に保存した。

### 5.2.2 被験液の調製及び保存

濃度ごとに必要量の被験物質を正確に秤取した。媒体を少量ずつ添加し、乳鉢及び乳棒を用いて被験物質を媒体に懸濁させた。懸濁液をメスシリンダーに移すとともに、乳鉢及び乳棒を少量の媒体で数回洗い、その液もメスシリンダーに加えた。更に媒体をメスシリンダーに加えて規定量にメスアップし、所定の濃度液を調製した。調製は最大7日分を一括して行い、調製した被験液は褐色ガラス瓶に入れて冷所（冷蔵庫内、許容値：1~10°C、実測値：4~9°C）に保存し、安定性の確認された範囲内で投与に使用した。残液はポリ瓶に回収又はペーパータオル等に吸着させて焼却処分した。

### 5.2.3 被験液の安定性及び均一性

本被験物質の 1.00 及び 100 mg/mL 懸濁液（媒体：0.5 w/v%MC 溶液）は、褐色ガラス瓶に入れ冷所（冷蔵庫内、許容値：1~10°C）で 7 日間、その後室温で 24 時間安定かつ均一であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（試験番号：A-2312、添付資料 3）。

### 5.2.4 被験液の濃度・均一性確認

雄の投与 1 週と投与 6 週の 2 回、投与に用いる各濃度の被験液について、投与に使用する前に株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で吸光光度法により濃度及び均一性確認を実施した。その結果、各濃度液における表示値に対する被験物質の割合は 95.8~103.3%、変動係数は 1.3%以下であり、いずれも許容範囲内（濃度：表示値に対する割合；100.0±10.0%、均一性：CV10.0%以内）であった（添付資料 4、5）ことから、被験液の調製に問題はなかったと考えられた。分析法の概略を以下に示す。

#### [測定対象標準物質]

被験物質の一部を標準物質として使用した。

名称	:	1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノン
ロット番号	:	R006493
保存方法	:	密閉、冷暗所[冷暗所として冷蔵庫内（許容値：1~10°C、実測値：2~8°C）に保存した]
保存場所	:	御殿場研究所被験物質保存室及び生化学部標準物質保存場所

#### [試薬]

試薬名	等級	メーカー
エタノール (99.5)	試薬特級	和光純薬工業株式会社
精製水	Milli-Q 水製造システム	

#### [使用機器]

##### 1) 自記分光光度計

機器名及び型式	メーカー
自記分光光度計 U-3200	株式会社日立製作所

##### 2) 天秤

機器名及び型式	メーカー
分析用上皿電子天秤 AE240	Mettler-Toledo AG

##### 3) その他の機器

機器名及び型式	メーカー
Milli-Q 水製造システム Milli-Q Advantage A10	Millipore Corporation
マグネチックスターラー MGM-66	柴田科学株式会社

[試液の調製]

エタノール (99.5) 1600 mL と精製水 400 mL を混合し、希釀液[エタノール／精製水混液 (8/2、v/v)]を調製した。本試液は調製日の翌日までに使用した。

[標準原液及び標準溶液の調製]

標準物質の 0.0100 g を秤量し、希釀液を加えて全量 100 mL として標準原液を n=1 で用時調製した（調製濃度：100 µg/mL）。この標準原液の 1 mL を正確に採取し、希釀液を加えて全量 20 mL として標準溶液を n=1 で用時調製した（調製濃度：5.00 µg/mL）。

[測定実測試料の調製]

各測定試料をマグネチックスターラーで攪拌しながら、n=1 で正確に採取し、以下の表に従って測定実測試料を用時調製した。

測定試料 (mg/mL)	1 次希釀		2 次希釀		希釀率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	
1.2	1	20	1	10	200
6	1	50	1	20	1000
30	1	100	1	50	5000

溶媒：希釀液

[吸光光度計測定条件]

測定波長 : 640 nm

対照試料 : 希釀液

セル : 1 cm 石英セル

ゼロ補正 : 測定実施前に、対照セル及びサンプルセルに対照試料を入れ、ゼロ補正を実施した。

測定順序 :

測定順序	測定回数	測定内容
1	3	標準溶液（システム適合性用）
2	3	標準溶液（定量用）
3	1	測定実測試料（1.2 mg/mL-上層）
4	1	測定実測試料（1.2 mg/mL-中層）
5	1	測定実測試料（1.2 mg/mL-下層）
6	1	測定実測試料（6 mg/mL-上層）
7	1	測定実測試料（6 mg/mL-中層）
8	1	測定実測試料（6 mg/mL-下層）
9	1	測定実測試料（30 mg/mL-上層）
10	1	測定実測試料（30 mg/mL-中層）
11	1	測定実測試料（30 mg/mL-下層）

[測定システム適合性]

測定開始時に標準溶液を 3 回連續注入し、1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノンの吸光度の再現性を確認した。判定基準は吸光度の相対標準偏差（RSD）が

5%以下とした。その結果、吸光度の相対標準偏差は0.2%以下であり、判定基準を満たす結果であったことから、本測定のシステムの妥当性に問題はなかったと考えられた。

#### [測定試料中1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノン濃度の算出]

標準溶液を3回測定して1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノンの吸光度の平均値( $Q_s$ )を求めた。次に測定実測試料を1回測定して1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノンの吸光度( $Q_t$ )を求め、以下の式により測定試料中の1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノン濃度(mg/mL)を求めた。なお、被験液の濃度は、上、中、下層の平均値とし、その平均値及び標準偏差を用いて表示値に対する割合(%)及び変動係数(%)を算出した。

$$\text{測定試料中1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノン濃度(mg/mL)} = \frac{Q_t}{Q_s} \times A \times F \times \frac{1}{1000}$$

Qt : 測定実測試料の1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノンの吸光度  
 Qs : 標準溶液の1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノンの平均吸光度  
 A : 標準溶液中の1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノン濃度(μg/mL)  
 F : 希釈率

### 5.3 試験動物種及び系統の選択理由

毒性試験法ガイドラインによりげっ歯類を用いた試験が必要とされていることからラットを選択した。また、この試験に使用された系統のラットは一般毒性試験、生殖発生毒性試験に広く用いられ、かつ、その特性がよく知られており、背景資料が豊富であることから選択した。

### 5.4 試験動物

Sprague-Dawley系SPFラット[Crl:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター]の雄62匹及び雌83匹をそれぞれ8週齢で入手<sup>注)</sup>し、入荷日を馴化1日と起算して、3日間の検疫期間を含む19日間の馴化飼育を行った。その間、一般状態の観察(1回/日)、体重測定(馴化1、3、8、13及び19日の5回)、詳細な一般状態の観察(馴化17日に1回)及び膣垢検査(馴化4から17日の14日間)を実施した結果、一般状態で右眼球混濁(耳標番号:263)及び赤色尿(耳標番号:317)が各1例、膣垢検査で性周期異常が1例(耳標番号:321)にみられた。それらの異常例を除き、一般状態、詳細な一般状態及び性周期に異常がなく、体重増加が良好な雄48匹及び雌68匹を選択し、10週齢で投与に使用した。なお、性周期については、膣垢像を発情前期、発情期、発情後期及び発情休止期に分類し、それらの周期が4~5日ごとに繰り返されない場合を性周期異常とした。動物は検疫・馴化期間中の体重増加量(検疫初回の体重~群分け時の体重)により選別後、群分け当日(投与開始の前日)の体重により、非交配群も含め各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群に割

付けた。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組み合わせ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた）で行った。投与開始時の体重範囲は雄で 385~475 g（平均体重：416 g）、雌は 230~279 g（平均体重：253 g）であった。群分けから除外された動物のうち、雄 14 匹と性周期異常の雌 1 匹は投与開始翌日に試験から除外し、動物管理責任者に移管した。残りの雌 14 匹は無処置動物として継続飼育した。なお、継続飼育した無処置動物の雌は、試験群で死亡などにより交配すべき相手がない動物は認められず、交配に用いなかつたため、交配終了後に試験から除外し、動物管理責任者に移管した。

注) : 試験計画書に従い、動物発注数は雄 60 匹及び雌 80 匹であったが、実際には雄 62 匹及び雌 83 匹が納入された。

### 5.5 飼育条件

動物は、温度  $23\pm3^{\circ}\text{C}$ （実測値：22~26°C）、相対湿度  $50\pm20\%$ （実測値：33~50%）、換気回数 10~15 回/h、照明 12 時間/日（07:00~19:00）の動物飼育室（飼育室番号：904 号室）でブラケット式金属製網ケージ（W254×D350×H170 mm：リードエンジニアリング株式会社）に個別に、交配中は雌雄各 1 匹の計 2 匹を収容した。なお、妊娠 17 日から授乳 4 日までは、床敷（ホワイトフレーク：日本チャールス・リバー株式会社）を入れたプラスチック製エコンケージ（W340×D400×H185 mm：日本クレア株式会社）に収容した。飼料は NMF 固形（放射線滅菌、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：100713、100817）をステンレス製給餌器により自由に摂取させた。飲料水は水道水（御殿場市営水道水：自動給水装置使用）を自由に摂取させた。ただし、プラスチック製エコンケージに収容している間は給水瓶を使用した。飼料及び床敷中の混入物質等に関しては、供試飼料全ロットについて、Eurofins Scientific Analytice で実施した分析結果入手し、床敷については、Eurofins Scientific Analytice で定期的（年 6 回）に実施した分析結果入手した。飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を芝浦セムテック株式会社（旧社名：東芝機械環境センター株式会社）に定期的（年 4 回）に依頼し、結果入手した。これらのデータにより飼料、飲料水及び床敷中の混入物質が試験成績に影響を与える可能性のないことを確認し、分析報告書の写しを保存した。

### 5.6 動物の識別

動物の個体識別は入荷時に小動物用耳標（雄：256~317、雌：318~400）をつけて行った。群分け後は、性別及び投与量ごと（対照群、低、中及び高用量の順）に 4 枠の番号をつけた。なお、1000 の位は群、100 の位は性（0 番を雄、1 番を雌）、10 と 1 の位は個体番号とした。飼育ケージに投与量（群）ごとに色分けしたケージラベルを付け、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号、剖検予定日（雄及び非交配群の雌）、交尾成立日（交配群の雌雄）及び分娩日（交配群の雌）を明記した。

### 5.7 投与経路、投与期間及び投与回数並びに回復期間とそれらの選択理由

投与経路は、OECD Guideline for Testing of Chemicals 422に準じ、経口投与を選択した。投与期間は、雄では42日間（交配前14日間、交配期間14日間、その後14日間）、交配群の雌では41~46日間（交配前14日間、交配期間及び妊娠期間を通して授乳4日まで）、非交配群の雌では42日間とした。また、不妊であった動物（動物番号：1104及び1107）については40日間とした。回復期間は投与終了後14日間とし、その間投与を行わなかった。投与回数は反復投与試験で一般的に行われている1回/日（7回/週）とした。

### 5.8 投与方法

投与方法は、げっ歯類の経口投与に際して一般的な強制経口投与とした。投与容量は10mL/kg体重とし、フレキシブル胃ゾンデを用いて投与液を1日1回、08:53~12:18の間に強制経口投与した。ただし、投与時に分娩中であった動物は分娩終了を待って、14:50~15:38の間に投与した。対照群には媒体（0.5w/v%MC溶液）のみを同様に投与した。個体ごとの投与液量（表示単位：0.1mL、小数第二位を四捨五入）は、直近の体重を基準に算出した。

### 5.9 投与量及び群構成

投与量は12、60及び300mg/kgの3用量とし、媒体を投与する対照群を加え4群構成とした。1群当たりの動物数は交配を行う交配群として各群で雌雄各12匹、交配しない非交配群として対照群及び高用量群で雌各10匹とした。なお、対照群及び高用量群における雄の群内番号8番以降、雌の群内番号18番以降の各5匹は、最終投与終了日以降、回復動物とした。群構成をText table 1-1.及び1-2.に示した。

Text table 1-1.群構成表（雄）

試験群	投与量 (mg/kg)	被験液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	交配群	
				動物数	動物番号
対照群	0	0	10	12	1001~1012注 <sup>1</sup>
低用量群	12	1.2	10	12	2001~2012
中用量群	60	6	10	12	3001~3012
高用量群	300	30	10	12	4001~4012注 <sup>1</sup>

注1：群内番号8番以降の5匹は、最終投与終了日以降、回復動物とした。

Text table 1-2.群構成表（雌）

試験群	投与量 (mg/kg)	被験液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	交配群		非交配群	
				動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	10	12	1101~1112	10	1113~1122注 <sup>2</sup>
低用量群	12	1.2	10	12	2101~2112	—	—
中用量群	60	6	10	12	3101~3112	—	—
高用量群	300	30	10	12	4101~4112	10	4113~4122注 <sup>2</sup>

注2：群内番号18番以降の5匹は、最終投与終了日以降、回復動物とした。

## 5.10 投与量の設定根拠

本試験の投与量は、先に実施した「1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノンのラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（投与量設定試験）」<sup>1)</sup>の結果（添付資料 6）を参考に設定した。すなわち、投与量設定試験では、1000 mg/kg 投与群においても死亡動物はみられなかった。100、300 及び 1000 mg/kg 投与群の一般状態で皮膚の青色化、濃青色便、紫色尿、剖検所見で全身脂肪組織あるいは諸臓器の青色化がみられ、摂餌量の低値及び肝臓重量の高値が認められた。加えて 1000 mg/kg 投与群の雌雄で軽度な体重増加抑制、雄で尿素窒素の低値、雌で総コレステロールの高値、雌で副腎重量の高値が認められた。したがって、本試験では、投与期間が約 3 倍になることを考慮し、明らかな毒性徴候が予想される 300 mg/kg を高用量とし、以下公比 5 で除して 60 及び 12 mg/kg をそれぞれ中及び低用量に設定した。

## 5.11 観察及び検査の方法

試験日の起算は、投与開始日を投与 1 日、投与 1 日から 7 日を投与 1 週、回復開始日（投与期間終了の翌日）を回復 1 日、回復 1 日から 7 日を回復 1 週、交尾成立日を妊娠 0 日、分娩終了日を授乳 0 日、出産日（出生日）を哺育 0 日（生後 0 日）とし、以下に示す項目について、それぞれ記載の時期に観察及び検査を実施した。

### 5.11.1 一般状態の観察

全個体について、馴化期間中は毎日 1 回、投与期間中は毎日 3 回（投与前、投与直後及び投与後 1~3 時間）、回復期間中は毎日 1 回（午前中）、それぞれ体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態における異常の有無を観察した。なお、投与 2 週以降の動物を手に持つての定期的な観察は、詳細な一般状態の観察と兼ねて行った。排泄物の色調変化については、毎日、糞尿受けバットを交換し、投与前の観察時点でバット上の排泄物の色調を確認したが、交配期間中は雌雄を同居させるためバット上の排泄物では個体を特定することが不可能であり、また、妊娠 17 日以降授乳 4 日までエコンケージに収容される母体では、エコンケージの頻繁な交換はストレスの原因となる恐れがあったことから、交配群における排泄物の色調の確認は、交配前投与期間、交尾確認後の雄並びに妊娠 1~17 日及び授乳 5 日の雌について行った。

### 5.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

詳細な一般状態の観察は全個体について行った。投与開始前（馴化期間中）に 1 回、また、雄及び非交配群は投与期間中及び回復期間中毎週 1 回、交配群雌は交配前投与期間中毎週 1 回、交配期間中、妊娠期間中及び授乳期間中は指定された日（交尾動物は妊娠 1、7、14 及び 20 日、分娩動物は授乳 4 日）にそれぞれ行った。

機能検査、握力測定及び自発運動量の測定は、雄では群内番号 8~12 番、交配群雌では分娩順で動物番号が若い順<sup>注1)</sup>、非交配群では群内番号 18~22 番のそれぞれ 5 匹について行った。投与期間中は、交配群の雌で授乳 4 日（投与 41~44 日）に、その他は

## R-1068 (訂正版)

投与期間終了週（投与 6 週、投与 40 日）に、回復期間中は、対照群及び高用量群の雌雄で回復期間終了週（回復 2 週、雌雄ともに回復 12 日）に行った。

上記の観察、検査及び測定は、動物をランダムに配置し、観察者に対して投与量などの情報を制限（ブラインド化）した状態で行った。ただし、自発運動量の測定に関しては、ブラインド化を行わなかった。なお、詳細な一般状態の観察及び機能検査の観察・検査結果について、実数データ以外はスコア化した評点法を用いて記録した。

注 1：交配群雌の検査対象動物を以下に示した。

試験群	動物番号
対照群	1101、1105、1108、1109、1110
低用量群	2101、2102、2103、2106、2108
中用量群	3103、3105、3107、3111、3112
高用量群	4107

### 1) 詳細な一般状態の観察

ケージ内観察として姿勢、痙攣、異常行動、手を持っての観察としてケージからの取り出し易さ、被毛・皮膚の状態、眼・鼻の分泌物、眼球突出、眼瞼閉鎖状態、可視粘膜、自律神経機能（流涙、流涎、立毛、瞳孔径、異常呼吸）、ハンドリングに対する反応、ハンドリング時の発声、オープンフィールド内観察として覚醒状態、痙攣、異常行動、常同行動、歩行、姿勢、身繕い、立ち上がり回数、排泄物（排糞数、排尿）について観察した。

### 2) 機能検査

聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射、着地開脚幅について検査した。

### 3) 握力測定

機能検査に引き続き、CPU ゲージ MODEL-RX-5（アイコーエンジニアリング株式会社）を用いて前肢及び後肢の握力を測定した。

### 4) 自発運動量の測定

握力測定に引き続き、実験動物用自発運動センサーNS-AS01（株式会社ニューロサイエンス）を用いて自発運動量を測定した。測定時間は 1 時間とし、10 分間隔及び 0~60 分の測定値を集計した。

### 5.11.3 体重測定

全個体について、馴化 1、3、8、13 及び 19 日に体重を測定した。交配群の雄及び非交配群の雌は投与 1、4、8、11、15、18、22、25、29、32、36、39、42 日及び剖検日に、回復動物は更に回復 1、4、8、11、14 日及び剖検日に、交配群の雌は投与 1、4、8、11、15 日（未交尾動物は交配期間中の投与 18 日）、妊娠 0、4、7、11、14、17 及び 20 日、授乳 0 及び 4 日並びに剖検日に体重を測定した。なお、午後の分娩観察時に分娩の終了が確認された個体の授乳 0 日の体重測定(14:28~17:02)を除き、08:16~11:23 の間に体重測定を行った。剖検日には、前日から約 16 時間絶食させた後、相対器官重

量算出に備えて体重を 07:46~08:21 の間に測定した。妊娠 25 日未分婉動物及び授乳期間中に全哺育児が死亡した母動物については、搬出前に測定した（ただし、データは参考値とし帳票には記載しなかった）。

#### 5.11.4 摂餌量測定

全個体について、交配群の雄及び非交配群の雌は投与 1、4、8、11、15、32、36、39 及び 42 日に、回復動物は更に回復 1、4、8、11 及び 14 日に、交配群の雌は投与 1、4、8、11 及び 15 日、妊娠 1、4、7、11、14、17 及び 20 日並びに授乳 2 及び 4 日に残餌量を測定し、前日の給餌量との差から 1 匹当たりの 1 日摂餌量を算出した。給餌量及び残餌量の測定は 08:14~11:27 の間に行った。

#### 5.11.5 膀塢検査

馴化期間中は雌全個体について、膀塢を採取し鏡検した。投与期間中は交配群の雌の全個体について、投与開始翌日から交尾が認められるまで毎日膀塢を採取し、鏡検した。馴化期間中の標本については性周期異常の有無について調べた。交配前投与期間中の標本については多数の角化上皮細胞から成る膀塢像を発情の指標とし、発情期像発現回数及び発情期から次の発情期までの日数（性周期）を調べ、交配期間中は膀塢内の精子の有無を調べた。

#### 5.11.6 交配方法

交配前投与期間終了後、交配群の同じ投与群の雌雄を 1:1 で終夜同居させ、翌朝、膀栓形成あるいは膀塢中に精子を確認したものを交尾成立とみなした。交配開始日を 0 日と起算して交尾までに要した日数を調べた。同一雌雄による同居期間は最長 5 日間であった。

#### 5.11.7 分娩及び哺育観察

##### 1) 母動物の観察

交尾の確認された雌動物は全例自然分娩させ、分娩状態の異常の有無を観察した。分娩終了の確認（授乳 0 日の測定及び観察）は、妊娠 21 日から妊娠 25 日までの午前・午後、1 日 2 回（妊娠 25 日は午前 10 時までに 1 回）行い、妊娠期間を 0.5 日単位で表示し、1 日単位で算出した。分娩が 17 時までに終了していた場合、その日を授乳 0 日とした。胎盤及び羊膜の処理の有無を観察後、分娩が終了した母動物は授乳 4 日まで出生児を哺育させ、児集め、営巣及び授乳を指標として哺育状態を観察した。

分娩した母動物は授乳 5 日の時点で、授乳期間中に全児が死亡した母動物はその時点で、対象動物は採血後に、それぞれ病理学検査に供した。なお、妊娠 25 日の 10 時までに分娩が終了しなかった対照群の 2 例（動物番号：1104 及び 1107）は、イソフルラン麻酔下で採血後、腹大動脈切断により放血致死させ、病理学検査に供した。妊娠の有無を確認した結果、着床が認められなかつたため不妊とみなし、妊娠期間中の

データを統計解析より除外した。

## 2) 出生児の観察

出生日（生後 0 日）に出生児数及び死産児数を数えた。出生児は外表異常の有無を観察<sup>注)</sup>し、性別を判定して体重を測定した後、母動物に哺育させた。出生児の生死の観察を生後 4 日まで毎日 1 回行った。なお、死産児及び死亡児は廃棄した。

生後 4 日に体重を測定した後、全例をエーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈切断により放血致死させ剖検を行い、体外表、胸部・腹部を含む器官・組織の異常の有無を調べた。肉眼所見（皮膚あるいは皮下脂肪組織などの青色化）がみられため、試験計画書に規定はなかったが評価上有用と判断し、所見の確認と病理組織学検査に備え、投与群の出生児全例（全身）と比較対照として対照群の出生児全例（全身）をリン酸緩衝 10vol% ホルマリン液に固定・保存した。なお、出生児の体重は個体別に測定し、各腹単位で雌雄別に平均値を算出した。

注) : 頭部の陥没や裂、顔面の鼻吻や上下顎、口唇のゆがみや裂、眼瞼や耳介の大きさ、形状、左右のバランス、胸腔部のゆがみや大きさ、内部臓器の突出、尾部の長さ、形状、数、欠損、四肢部の長さ、形状、指の数、欠損及び左右のバランスに注意して観察し、正常と異なる場合を異常とした。

### 5.11.8 尿検査（摂水量測定を含む）

投与期間終了週（投与 6 週、投与 36~37 日）及び回復期間終了週（回復 2 週、回復 8~9 日）に検査を実施した。投与期間中は検査当日の投与後に、雄では群内番号 8~12 番、非交配群では群内番号 18~22 番の各群それぞれ 5 匹を、回復期間中は回復動物の全個体を、それぞれ採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で 4 時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の 20 時間尿を採取した。検査項目を Text table 2. に示した。採取した最初の 4 時間尿について pH 以下沈渣までの検査と尿量を、その後に得られた 20 時間尿を用いて浸透圧及び尿量の測定を行った。尿量は 4 時間の尿量と 20 時間の尿量を合計して 1 日量を算出した。摂水量は、採尿器をセットしたケージに収容した状態で前日からの 1 日の摂取量を、給水瓶を用いて測定した。

Text table 2. 尿検査の項目、測定法及び使用機器など

検査項目	測定方法
pH	オーションステイックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] <sup>a)</sup>
たん白質	オーションステイックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] <sup>a)</sup>
ケトン体	オーションステイックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] <sup>a)</sup>
グルコース	オーションステイックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] <sup>a)</sup>
潜血	オーションステイックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] <sup>a)</sup>
ビリルビン	オーションステイックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] <sup>a)</sup>
ウロビリノーゲン	オーションステイックス-7EA 試験紙 [アークレイ株式会社] <sup>a)</sup>
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量（4 時間量）	目盛付スピッツ管を用いた容量測定（単位：mL）
浸透圧	氷点下降法 <sup>b)</sup> （単位：mOsm/kg）
尿量（20 時間量）	メスシリンドーを用いた容量測定（単位：mL）
摂水量（24 時間量）	重量測定
使用測定機器	
a) : AUTION MINI™ AM-4290 (アークレイ株式会社)	
b) : 自動浸透圧測定装置 オートアンドスタート OM-6030 (アークレイ株式会社)	

### 5.11.9 血液学検査

全例を最終投与翌日あるいは回復期間終了日の前日から一夜(16~20時間)絶食させ、そのうち対照群及び高用量群は全例、低及び中用量群は雌雄各5匹(動物番号が若い順、但し、交配群雌は分娩順の5匹)<sup>注1</sup>について、イソフルラン麻酔下に開腹し、腹大動脈からEDTA-2K加採血瓶(SB-41:シスメックス株式会社)に血液約1mLを採取した。得られた血液について、次のText table 3.-1)に記載した項目及び方法により検査した。また、3.8%クエン酸ナトリウム溶液加試験管(血液9容に対し1容の割合)に採取した血液を遠心分離(3,000 rpm、1,600×g、10分間)し、得られた血漿についてText table 3.-2)に記載の項目及び方法により検査した。なお、採血した全例について、May-Grünwald-Giemsa染色法による血液塗抹標本を作製した。妊娠25日未分娩動物及び授乳期間中に全哺育児が死亡した母動物についても検査したが、その成績は統計解析から除外した。

注1: 交配群雌の検査対象動物を以下に示した。

試験群	動物番号
対照群	1101~1103、1105、1108~1112
低用量群	2101、2102、2103、2106、2108
中用量群	3103、3105、3107、3111、3112
高用量群	4107

Text table 3. 血液学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) EDTA-2K加血液についての検査

検査項目	測定方法	単位
赤血球数(RBC)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 <sup>c)</sup>	10 <sup>4</sup> /μL
ヘモグロビン量(Hb)	シアノメトヘモグロビン変法 <sup>c)</sup>	g/dL
ヘマトクリット値(Ht)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出 <sup>c)</sup>	%
平均赤血球容積(MCV)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 <sup>c)</sup>	fL
平均赤血球血色素量(MCH)	赤血球数及びヘモグロビン量から算出 <sup>c)</sup>	pg
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出 <sup>c)</sup>	g/dL
網赤血球率(Reticulocyte)	RNA染色によるレーザーフローサイトメトリー法 <sup>c)</sup>	%
血小板数(Platelet)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 <sup>c)</sup>	10 <sup>4</sup> /μL
白血球数(WBC)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 <sup>c)</sup>	10 <sup>2</sup> /μL
白血球百分率 <sup>注2)</sup>	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法 +2角度レーザーフローサイトメトリー法 <sup>c)</sup>	%
白血球各細胞の絶対数 <sup>注2)</sup>	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法 +2角度レーザーフローサイトメトリー法 <sup>c)</sup>	10 <sup>2</sup> /μL

2) クエン酸ナトリウム加血液から分離した血漿についての検査

検査項目	測定方法	単位
プロトロンビン時間(PT)	クロット法 <sup>d)</sup>	s
活性化部分トロンボプラスチック時間(APTT)	クロット法 <sup>d)</sup>	s
フィブリノーゲン量(Fibrinogen)	トロンボプラスチック法 <sup>d)</sup>	mg/dL

使用測定機器

c) : 総合血液学検査装置 アドヴィア 120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)

d) : 血液凝固自動分析装置 ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory, MA, USA)

注) : 好中球(Neut.)、好酸球(Eosino.)、好塩基球(Baso.)、リンパ球(Lymph.)、单球(Mono.)  
及び大型非染色球(LUC)

### 5.11.10 血液化学検査

血液学検査用試料と同時に採取した血液約 6 mL を凝固促進剤入り試験管（ベノジエクト II-オートセッピ：テルモ株式会社）に採り、遠心分離（3,000 rpm、1,670×g、10 分間）し、得られた血清について Text table 4.-1) に記載の項目及び方法により検査した。また、ヘパリン加試験管（血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン）に採取した血液約 2 mL を遠心分離（3,000 rpm、1,600×g、10 分間）して得られた血漿について Text table 4.-2) に記載の項目及び方法により検査した。妊娠 25 日未分婬動物及び授乳期間中に全哺育児が死亡した母動物についても検査したが、その成績は統計解析から除外した。

Text table 4. 血液化学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) 分離した血清についての検査		
検査項目	測定方法	単位
ALP	Bessey-Lowry 法 <sup>e)</sup>	IU/L
総コレステロール(T.cho)	CEH-COD-POD 法 <sup>e)</sup>	mg/dL
トリグリセライド(TG)	LPL-GK-GPO-POD 法 <sup>e)</sup>	mg/dL
リン脂質(PL)	PLD-ChOD-POD 法 <sup>e)</sup>	mg/dL
総ビリルビン(T.bilirubin)	ビリルビンオキシダーゼ法 <sup>e)</sup>	mg/dL
グルコース(Glucose)	グルコースデヒドログナーゼ法 <sup>e)</sup>	mg/dL
尿素窒素(BUN)	Urease-LEDH 法 <sup>e)</sup>	mg/dL
クレアチニン(Creatinine)	Creatininase-creatinase-sarcosine oxidase-POD 法 <sup>e)</sup>	mg/dL
ナトリウム(Na)	イオン選択電極法 <sup>e)</sup>	mmol/L
カリウム(K)	イオン選択電極法 <sup>e)</sup>	mmol/L
塩素(Cl)	イオン選択電極法 <sup>e)</sup>	mmol/L
カルシウム(Ca)	OCPC 法 <sup>e)</sup>	mg/dL
無機リン(P)	モリブデン酸法 <sup>e)</sup>	mg/dL
総たん白質(TP)	Biuret 法 <sup>e)</sup>	g/dL
アルブミン(Albumin)	BCG 法 <sup>e)</sup>	g/dL
A/G 比	総たん白質及びアルブミンから算出	
2) ヘパリン加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
AST(GOT)	UV-rate 法 <sup>e)</sup>	IU/L
ALT(GPT)	UV-rate 法 <sup>e)</sup>	IU/L
LDH	UV-rate 法 <sup>e)</sup>	IU/L
γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド法 <sup>e)</sup>	IU/L
使用測定機器		
e) : 臨床化学自動分析装置 TBA-120FR 形 (東芝メディカルシステムズ株式会社)		

### 5.11.11 血中ホルモン (TSH、T<sub>3</sub> 及び T<sub>4</sub>) 測定

5.11.10 で得られた血清について、Text table 5. に記載の項目及び方法により検査した。血清は約 0.5 mL×3 本をサンプルチューブに分注し、測定まで -80°C の冷凍庫（許容範囲 : -70°C 以下、実測値 : -86~ -72°C）に保存した。ただし、妊娠 25 日未分婬動物及び授乳期間中に全哺育児が死亡した母動物については、測定は実施しなかった。

Text table 5. 血中ホルモン測定の項目、測定法及び使用機器など

検査項目	測定方法	単位
T <sub>3</sub>	CLEIA 法 <sup>f)</sup>	ng/dL
T <sub>4</sub>	CLEIA 法 <sup>f)</sup>	μg/dL
TSH	CLEIA 法 <sup>f)</sup>	ng/mL
使用測定機器		
f) : 全自動免疫化学発光測定システム IMMULYZE(Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)		

### 5.11.12 病理学検査

#### 1) 剖検及び器官重量測定

最終投与翌日及び回復期間終了日に全ての生存動物について、血液学検査、血液化学検査及び血中ホルモン測定のために採血した動物は採血後に、その他の動物はイソフルラン麻酔下で、腹大動脈切断により放血致死させ、それぞれ体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。なお、母動物については剖検時に黄体数及び着床痕数を数えた。次いで、全例の精巣及び精巣上体と、血液学検査、血液化学検査及び血中ホルモン測定の採血を行った動物について、以下に示す器官の重量を測定した。それら器官重量（絶対重量）と剖検時の体重から体重 100 g 当たりの相対重量を算出した。なお、精巣及び精巣上体と\*印をつけた両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。妊娠 25 日未分婏動物及び授乳期間中に全哺育児が死亡した母動物については、採血して放血致死させた後、病理解剖を行い、器官の重量を測定したが、統計解析からは除外した。

脳、下垂体、甲状腺\*（上皮小体を含む）、副腎\*、胸腺、脾臓、心臓、肝臓、腎臓\*、前立腺、精囊（凝固腺を含む）、卵巣\*、子宮

#### 2) 病理組織学検査

全ての個体について、以下に示す全検査対象器官/組織をリン酸緩衝 10 vol% ホルマリン液で固定し、保存した。固定時に肺にはリン酸緩衝 10 vol% ホルマリン液を注入した。ただし、眼球、視神経はリン酸緩衝液で調製した 3 vol% グルタルアルデヒド・2.5 vol% ホルマリン液で固定後、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、リン酸緩衝 10 vol% ホルマリン液に置換し保存した。次いで、パラフィン包埋した後、切片とし（下線を施した器官・組織は固定・保存のみとした）、ヘマトキシリノ・エオジン（H・E）染色を行った。肉眼的異常部位のうち、脂肪組織の青色化(全身性)については雄では精索脂肪組織、雌では子宮間膜脂肪組織を、皮膚の青色化(全身性)については耳介皮膚をそれぞれの代表として標本を作製した。両側性の器官については両側を摘出し、坐骨神経、眼球、甲状腺、上皮小体、副腎、顎下腺、腎臓、大腿骨（骨髓を含む）及び乳腺（鼠径部）は左側、精巣、卵巣、精巣上体及び精囊は両側並びに子宮は両角部を鏡検した。なお、舌下腺、視神経及び皮膚（鼠径部）は H・E 染色標本作製までとし、病理組織学検査は実施しなかった。鏡検は、まず投与終了時剖検群にお

ける対照群及び高用量群の全個体の全検査対象器官/組織並びに全動物の肉眼的異常部位について行った。その結果、高用量群の検査において、雌雄の肝臓及び雌の胸腺に被験物質投与による影響が疑われたため、中及び低用量群並びに回復終了時剖検群を含め全例について当該組織を鏡検した。更に回復動物については、非交配群雌において被験物質投与の影響が疑われた副腎についても検索を行った。なお、精巢についてはH·E染色標本で被験物質投与の影響が認められなかつたため、PAS染色標本による観察は行わなかつた。また、腎臓所見で「好酸性小体」は観察されなかつたため、 $\alpha$ 2uグロブリンの免疫組織化学的染色による観察は行わなかつた。

生後4日の出生児については、被験物質投与による変化が疑われた代表例、すなわち皮膚及び諸臓器の青色化がみられた高用量群の雄1例、脂肪組織の青色化がみられた中用量群の雄1例並びに対照群の雄1例、計雄3例の肝臓、腎臓、皮膚（皮下脂肪組織、皮膚組織）についてH·E染色標本を作製し、鏡検した。

大脳、小脳（橋を含む）、坐骨神経、脊髄（胸部）、眼球、視神経、ハーダー腺、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、胸腺、脾臓、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、胸大動脈、気管、肺（気管支を含む）、舌、喉頭、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、顎下腺、舌下腺、肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、精巣、卵巣、精巣上体、子宮、腔、前立腺、精嚢（凝固腺を含む）、乳腺（鼠径部）、胸骨（骨髓を含む）、大腿骨（骨髓を含む）、大腿部骨格筋、皮膚（鼠径部）、肉眼的異常部位、個体識別部（耳標を装着した耳介）

## 5.12 統計解析

### 5.12.1 パラメータの算出

以下の式により交尾率、授精率、受胎率及び出産率を群ごとに、妊娠期間、着床率、死産児率、外表異常率、出生率、生後4日生存率、生後0及び4日の出生児の性比を母動物ごとに算出した。なお、出生児の体重については母動物ごと雌雄別に平均値を求めた。

$$\text{交尾率(%)} = (\text{交尾動物数}/\text{同居動物数}) \times 100$$

$$\text{授精率(%)} = (\text{雌を妊娠させた雄の数}/\text{交尾した雄の数}) \times 100$$

$$\text{受胎率(%)} = (\text{妊娠した雌の数}/\text{交尾した雌の数}) \times 100$$

$$\text{妊娠期間(日)} = \text{妊娠0日から分娩した日までの日数}$$

$$\text{出産率(%)} = (\text{出生児出産雌数}/\text{妊娠雌数}) \times 100$$

$$\text{着床率(%)} = (\text{着床痕数}/\text{黄体数}) \times 100$$

$$\text{死産児率(%)} = (\text{死産児数}/\text{出生児数及び死産児数}) \times 100$$

$$\text{外表異常率(%)} = (\text{外表異常児数}/\text{出生児数}) \times 100$$

$$\text{出生率(%)} = (\text{出生児数}/\text{着床痕数}) \times 100$$

$$\text{生後4日生存率(%)} = (\text{生後4日の生存児数}/\text{出生児数}) \times 100$$

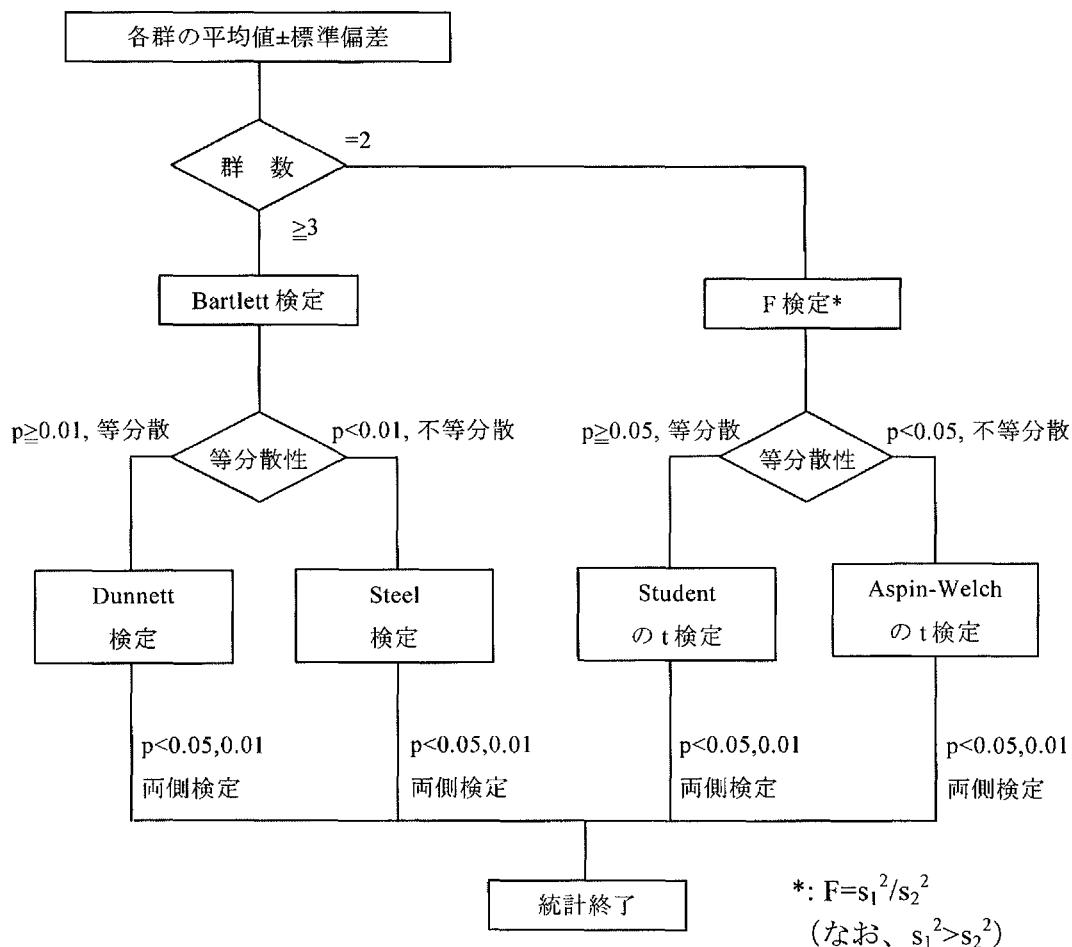
生後 0 日の性比 = 雄出生児数/出生児数

生後 4 日の性比 = 生後 4 日の雄生存児数/生後 4 日の生存児数

### 5.12.2 検定

データは対照群と各用量群との差について統計学的有意性の検定を行った。

体重、体重増加量（雄及び非交配群雌：投与 1~42 日及び回復 1~14 日、交配群雌：投与 1~15 日、妊娠 0~20 日及び授乳 0~4 日、出生児：生後 0~4 日）、摂餌量、摂水量、発情期像発現回数、性周期（発情周期）、交尾までに要した日数、妊娠期間、黄体数、着床痕数、生存児数、性比（生後 0 及び 4 日）、オープンフィールド内観察（排糞数、立ち上がり回数）、機能検査（着地開脚幅）、握力及び自発運動量、尿検査の定量的項目、血液学検査、血液化学検査、血中ホルモン及び器官重量（含、剖検時体重）は、群ごとに平均値及び標準偏差を求め、次に示す模式図の方法に従って検定した<sup>2),3),4)</sup>。



着床率、死産児率、外表異常率、出生率及び生後 4 日生存率については、群ごとに平均値及び標準偏差を求め、Steel 検定（有意水準 0.05 及び 0.01、両側）を行った<sup>4)</sup>。

交尾率、授精率、受胎率、出産率、聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳

R-1068 (訂正版)

孔反射、空中正向反射は、各群の交尾動物数、雌を妊娠させた雄動物数、妊娠雌動物数、出生児出産雌動物数、正常反射のみられた動物数より算出し、期待度数が 5 以下のセルであったため Fisher の直接確率計算法により検定（有意水準 0.05 及び 0.01、両側）を行った<sup>4)</sup>。

## 6. 試験結果

### 6.1 一般状態 (Table 1-1~1-11、Appendix 1-1~1-34)

交配群及び非交配群のいずれの投与群においても死亡動物はみられなかった。

雄では、60 及び 300 mg/kg 投与群で投与 2 日以降、濃青色便及び紫色尿が全例にみられた。また、60 及び 300 mg/kg 投与群でそれぞれ投与 7 及び 4 日から皮膚の青色化がみられ、徐々に例数を増し、それぞれ投与 16 及び 13 日以降、全例にみられた。濃青色便、紫色尿及び皮膚の青色化は、回復期間中に例数を減じそれぞれ回復 2、5 及び 15 日に消失した。12 mg/kg 投与群では投与期間を通じ一般状態に異常はみられなかった。

交配群雌では、300 mg/kg 投与群で投与 2 日以降、濃青色便及び紫色尿が全例にみられた。また、同群では皮膚の青色化が投与 2 日に 2/12 例にみられ、徐々に例数を増し、投与 4 日以降、全例にみられた。60 mg/kg 投与群で投与 4 日以降、濃青色便が全例にみられた。また、同群では皮膚の青色化が投与 4 日に 1/12 例にみられ、徐々に例数を増し、投与 13 日以降、全例にみられた。12 mg/kg 投与群で皮膚の青色化が妊娠 4 日に 4/12 例にみられ、徐々に例数を増し、妊娠 7 日以降、全例にみられた。

被験物質投与群で授乳 1 日から哺育行動の低下を示す母体が散見され、授乳 1 日から 3 日に対照群の 1/10 例、12、60 及び 300 mg/kg 投与群のそれぞれ 1/12、2/12 及び 11/12 例で全哺育児が死亡した。

非交配群雌では、300 mg/kg 投与群で投与 2 日以降、濃青色便及び紫色尿が全例にみられた。また、同群では皮膚の青色化が投与 2 日に 2/10 例にみられ、徐々に例数を増し、投与 4 日以降、全例にみられた。濃青色便、紫色尿及び皮膚の青色化は、回復期間中に例数を減じ、濃青色便及び紫色尿はそれぞれ回復 2 及び 6 日に消失し、皮膚の青色化は、回復 15 日には 1/5 例にみられるのみであった。

対照群のいずれの動物にも投与期間及び回復期間を通じて異常はみられなかった。

### 6.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定及び自発運動量の測定

(Fig. 1~5、Table 2-1~2-84、Appendix 2-1~2-258)

#### 1) ホームケージ内観察 (Table 2-1~2-23、Appendix 2-1~2-72)

交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間中及び回復動物雌雄の回復期間中は、いずれの動物にも異常はみられなかった。

#### 2) 手に持つての観察 (Table 2-24~2-46、Appendix 2-73~2-144)

軽度にケージから取り出しにくい動物が、雄の 60 mg/kg 投与群で投与 4 及び 5 週に各 1 例、対照群で投与 5 週に 1 例、ハンドリング時にやわらかく発声する動物が、雄の 60 mg/kg 投与群で投与 3 及び 5 週に各 1 例、非交配群雌の対照群で投与 5 週に 1 例、軽度に扱いにくい動物が、雄の 60 mg/kg 投与群で投与 4 及び 5 週に各 1 例、非交配群雌の対照群で投与 5 週に 1 例みられたが、発現頻度から偶発性と判断した。その他の観察項目では、交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間中及び回復動物雌雄の回復期間

中は、いずれの動物にも異常はみられなかった。

3) オープンフィールド内観察 (Table 2-47~2-69、Appendix 2-145~2-216)

雄の 60 mg/kg 投与群で投与 5 週の立ち上がり回数に対照群と比べ有意な高値が認められたが、用量に関連しない変化であった。非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で投与 1 週の立ち上がり回数に対照群と比べ有意な低値が認められたが、交配群雌の同用量群の同観察時点では同様の傾向は認められないことから、偶発性変化と判断した。ほとんど動かず歩行の評価ができない、あるいは少量を排尿した動物が対照群を含む各群でみられたが、被験物質投与群に偏った発現ではなかった。その他の観察項目では、交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間中及び回復動物雌雄の回復期間中は、いずれの動物にも異常はみられなかった。また、排糞の個数には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

4) 機能検査 (Table 2-70~2-74、Appendix 2-217~2-230)

交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間終了週並びに回復動物雌雄の回復期間終了週の検査では、いずれの動物にも異常はみられなかった。また、着地開脚幅に対照群と各被験物質投与群との間に有意な差はなく、空中正向反射にも異常はみられなかった。

5) 握力測定 (Table 2-75~2-79、Appendix 2-231~2-244)

交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間終了週並びに回復動物雌雄の回復期間終了週の測定には、対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

6) 自発運動量の測定 (Fig. 1~5、Table 2-80~2-84、Appendix 2-245~2-258)

交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間終了週の測定には、対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

回復終了週に雄の 300 mg/kg 投与群で 10-20 分の間の運動量、雌の 300 mg/kg 投与群で 50-60 分の間の運動量に対照群と比べいずれも有意な低値が認められたが、投与期間終了週には異常は認められていないことから、偶発性変化と判断した。

### 6.3 体重 (Fig. 6~8、Table 3-1~3-7、Appendix 3-1~3-22)

#### 1) 投与期間

雄では、いずれの被験物質投与群においても、投与期間を通じて対照群と同等の推移を示し、増加量を含め、対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

交配群雌では、いずれの被験物質投与群においても、交配前投与期間及び妊娠期間を通じて対照群と同等の推移を示し、増加量を含め、対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。300 mg/kg 投与群で授乳 4 日まで児を哺育し得た 1 例の授乳 4 日の体重が対照群と比べ低値を示し、授乳 0 日に比べ減少した。12 及び 60

## R-1068 (訂正版)

mg/kg 投与群の授乳 0 及び 4 日の体重並びにその間の体重増加量には対照群と比べ有意な差は認められなかった。

非交配群雌では、300 mg/kg 投与群の投与期間中の各測定時点の体重及び投与期間中の体重増加量に対照群と比べ有意な差は認められなかった。

### 2) 回復期間

雌雄とも、回復期間中の各測定時点の体重及び回復期間中の体重増加量に対照群と比べ有意な差は認められなかった。

## 6.4 摂餌量 (Fig. 9~11、Table 4-1~4-7、Appendix 4-1~4-22)

### 1) 投与期間

雄では、対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

交配群雌では、300 mg/kg 投与群で妊娠 20 日及び授乳 2 日に対照群と比べ有意な低値が認められ、授乳 4 日にも低値を示した。60 mg/kg 投与群で授乳 2 及び 4 日に、12 mg/kg 投与群で授乳 4 日に対照群と比べ有意な低値が認められた。

非交配群雌では、300 mg/kg 投与群の投与期間中の各測定時点の摂餌量に対照群と比べ有意な差は認められなかった。

### 2) 回復期間

雌雄とも、回復期間中の各測定時点の摂餌量に対照群と比べ有意な差は認められなかった。

## 6.5 尿検査（摂水量測定を含む） (Table 5-1~5-16、Appendix 5-1~5-30)

### 1) 投与期間終了週検査

淡紫色尿が雄の 12、60 及び 300 mg/kg 投与群でそれぞれ 5/5、5/5 及び 2/5 例、雌の 300 mg/kg 投与群で 1/5 例に、紫色尿が雄の 300 mg/kg 投与群で 3/5 例、雌の 300 mg/kg 投与群で 2/5 例に、濃紫色尿が雌の 300 mg/kg 投与群で 2/5 例にみられた。その他の定性項目については、雄及び非交配群雌のいずれの動物にも異常はみられなかった。

定量項目については、いずれの検査項目においても雄及び非交配群雌の各被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

### 2) 回復期間終了週検査

淡紫色尿が雄の 300 mg/kg 投与群で 2/5 例、雌の 300 mg/kg 投与群で 3/5 例にみられた。その他の定性項目については、雄及び非交配群雌のいずれの動物にも異常はみられなかった。

定量項目については、いずれの検査項目においても雄及び非交配群雌の被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

## 6.6 血液学検査 (Table 6-1~6-10, Appendix 6-1~6-10)

### 1) 投与期間終了時検査

雄では、対照群と比べ 300 mg/kg 投与群で好酸球比率の有意な低値、好中球数の有意な高値、60 mg/kg 投与群で網赤血球率、白血球数、好中球数及び単球数の有意な高値が認められたが、いずれも軽微で用量に関連性の無い変化であるため生理学的変動範囲内の変化と判断した。その他の項目には対照群との間に有意差は認められなかった。

交配群雌では、対照群と比べ 60 mg/kg 投与群及び 300 mg/kg 投与群の授乳 4 日まで児を哺育し得た 1 例で白血球数、好中球数、好塩基球数及び単球数の有意な低値又は低値傾向が認められた。その他の項目には対照群との間に有意差は認められなかった。

非交配群雌では、対照群と比べヘマトクリット値の有意な低値が認められたが、軽微な変化であり、他の赤血球系パラメータに異常はみられないことから、生理学的変動範囲内の変化と判断した。その他の項目には対照群との間に有意差は認められなかった。

### 2) 回復期間終了時検査

雄の 300 mg/kg 投与群の各項目には、対照群との間に有意な差は認められなかった。

非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で対照群と比べフィブリノーゲン量に有意な高値が認められたが、投与期間終了時検査にみられない軽微な変化であり、他の血液凝固系パラメータに異常はみられないことから、生理学的変動範囲内の変化と判断した。その他の項目には対照群との間に有意差は認められなかった。

## 6.7 血液化学検査 (Table 7-1~7-10, Appendix 7-1~7-10)

### 1) 投与期間終了時検査

雄では、対照群と比べ 60 mg/kg 投与群でトリグリセライド及びグルコースの有意な高値、12 mg/kg 投与群でグルコースの有意な高値が認められたが、いずれも軽微で用量に相関性のみられない変化であるため生理学的変動範囲内の変化と判断した。その他の項目には対照群との間に有意差は認められなかった。

交配群雌では、対照群と比べ 60 mg/kg 投与群及び 300 mg/kg 投与群の授乳 4 日まで児を哺育し得た 1 例で ALT の有意な低値又は低値傾向、グルコースの有意な高値又は高値傾向が認められ、60 mg/kg 投与群でクレアチニンの有意な低値が認められたが、いずれも軽微な変化であり、300 mg/kg 投与群の全哺育児死亡母体の個体値を含めた比較においても明確な用量との関連が認められないことから、生理学的変動範囲内の変化と判断した。その他の項目には対照群との間に有意差は認められなかった。

非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で対照群と比べ ALT の有意な高値、尿素窒素の有意な低値が認められた。尿素窒素については軽微な変化であり、背景値 (Mean  $\pm$  SD [Min-Max], 17  $\pm$  2 [14-19], N=40) の範囲内であることから、生理学的変動範囲内の変化と判断した。その他の項目には対照群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復期間終了時検査

雄の 300 mg/kg 投与群で対照群と比べ尿素窒素の有意な低値、非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で対照群と比べ尿素窒素、クレアチニン及び A/G 比の有意な低値が認められたが、いずれも軽微な変化であり、生理学的変動範囲内の変化と判断した。

6.8 血中ホルモン (TSH、 $T_3$  及び  $T_4$ ) 測定 (Table 8-1~8-5、Appendix 8-1~8-5)

1) 投与期間終了時検査

交配群雌では、対照群と比べ 60 及び 300 mg/kg 投与群で  $T_3$  及び  $T_4$  に有意な高値又は高値傾向が認められた。

交配群雄及び非交配群雌の各被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

2) 回復期間終了時検査

雄及び非交配群雌の被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

6.9 器官重量 (Table 9-1~9-12、Appendix 9-1~9-46)

1) 投与期間終了時検査

雄では、対照群と比べ 60 mg/kg 投与群で肝臓の絶対及び相対重量に、300 mg/kg 投与群で相対重量にいずれも有意な高値が認められた。12 mg/kg 投与群で前立腺の相対重量に有意な低値が認められたが、用量に関連しない変化であった。その他には、いずれの器官重量にも、各被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

交配群雌では、対照群と比べ 60 mg/kg 投与群で下垂体の絶対及び相対重量に、12 mg/kg 投与群で副腎の絶対及び相対重量にいずれも有意な低値が認められたが、用量に関連しない変化であった。その他には、いずれの器官重量にも、各被験物質投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。

非交配群雌では、対照群と比べ 300 mg/kg 投与群で肝臓及び副腎の絶対及び相対重量に有意な高値、脾臓の絶対及び相対重量、卵巣の絶対重量に有意な低値が認められた。

2) 回復期間終了時検査

雌雄とも、いずれの器官重量にも対照群との間に有意な差は認められなかった。

6.10 剥検所見 (Table 10-1~10-6、Appendix 10-1~10-116)

1) 投与期間終了時検査

被験物質投与の影響と考えられる変化として、脂肪組織の青色化(全身性)、皮膚の青色化(全身性)、全身諸臓器の青色化がみられた。

諸器官/組織 : 交配群では、脂肪組織の青色化(全身性)が雌雄の 12、60 及び 300 mg/kg 投与群に、皮膚の青色化(全身性)が雌の 12、60 及び 300 mg/kg 及び雄の 60 及び 300 mg/kg 投与群に、全身諸臓器（脂肪組織及び皮膚を除く）の青色化が雌の 12、60 及び 300 mg/kg 投与群にみられた。また、全哺育児死亡動物及び非交配群雌の投与群においても同様の変化がみられた。

Text table 6-1.剖検所見（雄及び非交配群雌）の総括

器官/組織 所見	性別: 群: mg/kg: 検査例数:	雄				雌	
		交配群				非交配群	
		0	12	60	300	0	300
全身脂肪組織		7	12	12	7	5	5
青色化		0	12	12	7	0	5
全身皮膚							
青色化		0	0	12	7	0	5
全身諸臓器 <sup>a)</sup>							
青色化		0	0	0	0	0	5

a) : 脂肪組織及び皮膚を除く

Text table 6-2.剖検所見（交配群雌）の総括

器官/組織 所見	性別: 群: mg/kg: 検査例数:	雌			
		交配群			
		0	12	60	300
全身脂肪組織		12(3)	12(1)	12(2)	12(11)
青色化		0	12(1)	12(2)	12(11)
全身皮膚					
青色化		0	9(1)	12(2)	12(11)
全身諸臓器 <sup>a)</sup>					
青色化		0	1	10(2)	12(11)

( )内は妊娠 25 日未分婉動物又は全哺育児死亡動物

a) : 脂肪組織及び皮膚を除く

その他、精巣上体に白色巣が 12 mg/kg 投与群の 1/12 例に、肺に暗赤色巣が交配群雌の対照群の 1/12 例に、胃の腺胃部に暗赤色巣が雄の 60 mg/kg 投与群の 1/12 例と交配群雌の 60 mg/kg 投与群の 2/12 例に、胸腺の小型化が交配群雌の 300 mg/kg 投与群の 2/12 例にみられたが、出現頻度及び病理学的性状から偶発的変化と考えられた。

## 2) 回復期間終了時検査

脂肪組織の青色化(全身性)が雌雄で、皮膚の青色化(全身性)が雌でみられた。

Text table 6-3.剖検所見（回復動物）の総括

器官/組織 所見	性別: 群: mg/kg: 検査例数:	雄		雌	
		交配群		非交配群	
		0	300	0	300
全身脂肪組織		5	5	5	5
青色化		0	2	0	3
全身皮膚		0	0	0	1
青色化		0	0	0	1

その他、肺に暗赤色巣が雄の 300 mg/kg 投与群の 1/5 例に、胃の腺胃部に暗赤色巣が雄の対照群の 1/5 例と非交配群雌の 300 mg/kg 投与群の 1/5 例にみられたが、出現頻度及び病理学的性状から偶発的変化と考えられた。

### 6.11 病理組織学検査 (Table 11-1~11-16、Appendix 10-1~10-116)

#### 1) 投与期間終了時検査

被験物質投与の影響と考えられる変化が肝臓、胸腺及び副腎にみられた。

肝臓 : 小葉中心性肝細胞肥大が、交配群の 60 mg/kg 以上の投与群の雌雄及び非交配群の 300 mg/kg 投与群の雌に軽微又は軽度にみられた。

Text table 7-1.病理組織学検査所見（雄及び非交配群雌）の総括（肝臓）

器官/組織 所見	性別: 群: mg/kg: 検査例数:	雄		雌	
		交配群		非交配群	
		0	12	60	300
肝臓		7	12	12	7
小葉中心性肝細胞肥大		0	0	3	7
軽微		0	0	3	7
軽度		0	0	0	0
					1

Text table 7-2.病理組織学検査所見（交配群雌）の総括（肝臓）

器官/組織 所見	性別: 群: mg/kg: 検査例数:	雌			
		交配群			
		0	12	60	300
肝臓		12(3)	12(1)	12(2)	12(11)
小葉中心性肝細胞肥大		0	0	2(0)	7(6)
軽微		0	0	2(0)	7(6)

()内は妊娠 25 日未分婴動物又は全哺育児死亡動物

胸腺 : 委縮が、対照群を含めすべての投与群の雌にみられたが、交配群の 300 mg/kg 投与群では対照群に比べて強い程度で複数例にみられ、発生頻度が高いことから被験物質投与の影響が推察された。なお、60 mg/kg 投与

群の1例が中等度な程度を示したが、同群の発生頻度は対照群と大差がなかったことから被験物質投与との関連はないと判断した。

Text table 7-3.病理組織学検査所見（交配群雌）の総括（胸腺）

器官/組織 所見	性別:	雌			
	群:	交配群			
	mg/kg:	0	12	60	300
	検査例数:	12(3)	12(1)	12(2)	12(11)
胸腺					
萎縮		5(1)	4(1)	6(1)	11(10)
軽微		3(1)	2(1)	4(1)	4(3)
軽度		2	2	1	3(3)
中等度		0	0	1	4(4)

()内は妊娠25日未分婬動物又は全哺育児死亡動物

副腎 : 皮質細胞肥大が非交配群雌の300 mg/kg投与群に軽微又は軽度にみられた。

Text table 7-4.病理組織学検査所見（非交配群雌）の総括（副腎）

器官/組織 所見	性別:	雌	
	群:	非交配群	
	mg/kg:	0	300
	検査例数:	5	5
副腎			
皮質細胞肥大		0	4
軽微		0	3
軽度		0	1

以上その他に、いくつかの器官・組織に種々の変化がみられたが、この系統の動物に背景的にみられる変化と質的及び頻度的な差はなく、その病理組織学的性状及び発現状況から、偶発的変化と判断した。

## 2) 回復期間終了時検査

肝臓に軽微な小葉中心性肝細胞肥大が雌でみられた。投与終了時にみられた副腎の変化は、回復動物では消失した。

Text table 7-5.病理組織学検査所見（回復動物）の総括（肝臓）

器官/組織 所見	性別:	雄		雌	
	群:	交配群		非交配群	
	mg/kg:	0	300	0	300
	検査例数:	5	5	5	5
肝臓					
小葉中心性肝細胞肥大		0	0	0	1
軽微		0	0	0	1

Table 及び Appendix に示すその他の所見は、出現状況及び病理組織学的性状から偶

発的変化と考えられた。

#### 6.12 性周期 (Table 12、Appendix 11-1~11-4)

性周期異常の動物はみられず、発情期像発現回数及び平均性周期日数には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

#### 6.13 交配成績 (Table 13、Appendix 12-1~12-4)

交配 5 日までに全例の交尾が成立し、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

#### 6.14 分娩成績 (Table 14、Appendix 13-1~13-4)

妊娠動物の分娩状態では、妊娠 21 又は 22 日に全例が正常に分娩し、出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数及び出生率には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

#### 6.15 出生児の性比及び外表観察 (Table 15、Appendix 14-1~14-4)

出生時及び生後 4 日の性比には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差はなく、外表異常を有する出生児もみられなかった。

#### 6.16 出生児の生存率 (Table 16、Appendix 15-1~15-4)

授乳期間中の死亡児は対照群で 19 例、12、60 及び 300 mg/kg 投与群でそれぞれ 17、133 及び 191 例であった。また、授乳 1 日から 3 日の間に対照群の 1/10 例、12、60 及び 300 mg/kg 投与群のそれぞれ 1/12、2/12 及び 11/12 例で全哺育児が死亡した。60 及び 300 mg/kg 投与群の生後 4 日生存率に対照群と比べ有意な低値が認められた。

#### 6.17 出生児の体重 (Table 17、Appendix 16-1~16-4)

60 及び 300 mg/kg 投与群の出生時の雌雄体重、12、60 及び 300 mg/kg 投与群の生後 4 日の雌雄体重（全例死亡した 300 mg/kg 投与群の雌を除く）に対照群と比べ有意な低値又は低値傾向が認められ、生後 0~4 日の間の体重増加量も 60 mg/kg 投与群の雌雄で対照群と比べ有意な低値を示し、300 mg/kg 投与群の雄では出生時と比べ生後 4 日の体重が減少した。

#### 6.18 出生児の生後 4 日剖検所見 (Table 18、Appendix 17-1~17-4)

12 及び 60 mg/kg 投与群の雌雄で脂肪組織の青色化（全身性）、皮膚の青色化（全身性）及び消化管内容物の青色化がみられた。300 mg/kg 投与群の雄 1 例のみの生存例において、皮膚の青色化（全身性）及び全身諸臓器の青色化がみられた。

R-1068 (訂正版)

#### 6.19 出生児の生後 4 日病理組織学所見 (Table 19)

60 及び 300 mg/kg 投与群の検索例の肝臓、腎臓、皮膚（鼠径部の皮下脂肪組織及び皮膚組織）に被験物質に関連した変化はみられなかった。なお、60 mg/kg 投与群の例で腎臓に軽度の鉛沈着がみられたが、300 mg/kg 投与群の例にみられないため、偶発性と判断した。

## 7. 考察

1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノンの0(対照群: 0.5 w/v%MC溶液)、12、60及び300 mg/kgを、Sprague-Dawley系SPFラットの、雄には交配前14日間に加え交配期間を通して剖検前日まで(42日間)、雌には交配前14日間に加え交配期間及び妊娠期間を通して授乳4日まで(41~46日間)強制経口投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性を検討した。更に、0及び300 mg/kg投与群の一部の動物については雌雄ともに42日間投与した後、14日間の回復期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

### 7.1 反復投与毒性

いずれの投与群においても死亡動物はみられず、詳細な一般状態、機能検査、握力、自発運動量及び尿検査の定量項目には被験物質投与の影響は認められなかった。

一般状態では、排泄物の色調の変化が60 mg/kg以上の雌雄で、皮膚の青色化が12 mg/kg以上の雌、60 mg/kg以上の雄でみられた。12 mg/kgの雄の一般状態には被験物質投与の影響は認められなかった。被験物質は暗青色粉末であり、これらは有害影響とは無関係な被験物質の色調を反映した変化と考えられた。なお、排泄物の色調の変化及び皮膚の青色化は、いずれも回復期間中にほぼ消失したことから、可逆性の変化と考えられた。

体重では、交配群雌の300 mg/kgで授乳4日まで児を哺育し得た1例の授乳4日の体重が低値を示し、授乳0日に比べ減少したが、全哺育児死亡母動物における授乳0日と剖検時の体重の比較に関しては対照群との差はなく一定の傾向は認められなかつたことから、体重減少は偶発性と考えられた。雄及び非交配群雌の体重には被験物質投与の影響は認められなかった。

摂餌量では、交配群雌の12 mg/kg以上で授乳期間中に低値が認められ、300 mg/kgでは妊娠20日にも低値が認められた。これらは周産期という限定的な生理状態における被験物質投与の影響と考えられたが、前述のように当該期間の体重推移に影響はないことから毒性学的意義はないと判断した。雄及び非交配群雌の摂餌量には被験物質投与の影響は認められなかった。

尿検査では、投与期間終了週検査で尿の色調変化が雄の12 mg/kg以上と非交配群雌の300 mg/kgでみられた。これらは、一般状態における変化と同様、有害影響とは無関係な被験物質の色調を反映した変化と考えられた。尿の色調変化は、回復期間終了週検査では、頻度及び程度とも減弱したことから、可逆性の変化と考えられた。

血液学検査では、交配群雌の60 mg/kgと300 mg/kgの授乳4日まで児を哺育し得た1例で白血球数、好中球数、好塩基球数及び単球数の低値が認められ、被験物質投与の影響と考えられた。雄及び非交配群雌の血液学検査には被験物質投与の影響は認められなかった。

血液化学検査では、非交配群雌の300 mg/kgでALTの高値が認められた。本変化は

肝臓における重量高値及び小葉中心性肝細胞肥大と関連した変化と考えられ、被験物質投与の影響と判断した。雄及び交配群雌の血液化学検査には被験物質投与の影響は認められなかった。

一方、300 mg/kg の全哺育児死亡母体の血液及び血液化学検査の各項目個体値と対照群の比較において明らかな差は認められず、被験物質投与と全哺育児死亡母体における各検査値との関連性は不明であった。

血中ホルモン (TSH、T<sub>3</sub> 及び T<sub>4</sub>) では、交配群雌の 60 mg/kg 以上で T<sub>3</sub> 及び T<sub>4</sub> に高値又は高値傾向が認められたが、甲状腺の重量や組織に異常はみられないことから、その影響は軽度なものと考えられた。雄及び非交配群雌の TSH、T<sub>3</sub> 及び T<sub>4</sub> には被験物質投与の影響は認められなかった。

器官重量では、雄の 60 mg/kg 以上で肝臓重量に高値が認められ、非交配群雌の 300 mg/kg で肝臓及び副腎重量に高値、脾臓及び卵巣重量に低値が認められた。投与期間終了時検査でみられた重量変化は回復期間終了週検査ではいずれも消失したことから、可逆性の変化と考えられた。交配群雌の器官重量には被験物質投与の影響は認められなかった。

病理学検査では、肉眼的に交配群では脂肪組織の青色化(全身性)が雌雄の 12 mg/kg 以上に、皮膚の青色化(全身性)が雌の 12 mg/kg 以上及び雄の 60 mg/kg 以上に、全身諸臓器の青色化が雌の 12 mg/kg 以上にみられた。また、全哺育児死亡動物及び非交配群雌においても同様の変化がみられた。回復動物 (300 mg/kg) では投与終了時剖検群の雄にみられた皮膚の青色化(全身性)及び雌にみられた全身諸臓器の青色化は消失し、雌雄に脂肪組織の青色化(全身性)及び雌に皮膚の青色化(全身性)がみられたが、投与終了時剖検群に比して例数の減少がみられ、回復傾向が認められた。組織学的には、肝臓において小葉中心性肝細胞肥大が、交配群の 60 mg/kg 以上の雌雄及び非交配群の 300 mg/kg の雌にみられた。本変化は、雄及び非交配群雌にみられた肝重量増加に関連した変化と考えられた。これらの変化は、投与期間終了後に雄では消失し、非交配群雌では投与終了時剖検群に比して程度及び頻度が軽減し、回復傾向が認められた。胸腺において萎縮が交配群雌の 300 mg/kg では対照群に比べて強い程度で複数例にみられた。このような変化は対照群を含む交配群雌のみでみられたことから、妊娠・分娩時のストレスを背景として、300 mg/kg では何らかの要因が加わることによって変化が増強された可能性が考えられた。副腎において皮質細胞肥大が非交配群雌の 300 mg/kg にみられた。同群にはその他の組織・器官にストレス性の変化はみられず、また交配動物の副腎に同様の変化がみられないことから、その毒性学的意義を含めた詳細は明らかでなかった。本変化は投与を行わないことにより消失した。肉眼検査で青色化がみられた脂肪組織、皮膚及び全身諸臓器には、青色化に相当する組織学的变化あるいはそれに対する生体反応は確認できず、これらは有害影響とは無関係な被験物質の色調を反映した変化と考えられた。

## 7.2 生殖発生毒性

性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には被験物質投与の影響は認められなかった。更に、出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数及び出生率に被験物質投与の影響は認められなかつたことから 300 mg/kg においても雌雄動物の交尾能、授精能及び受胎能、母動物の妊娠維持、分娩などへの被験物質投与による影響はないと判断した。300 mg/kg で授乳期間中に哺育行動の低下を示し、ほぼ全例で全哺育児が死亡した。

出生児では、出生時の外表観察、生後 0 及 4 日の性比に被験物質投与による影響は認められなかつた。体重では、低値が生後 0 日に 60 mg/kg 以上の雌雄に、生後 4 日に 12 mg/kg 以上の雌雄（全例死亡した 300 mg/kg の雌を除く）に認められ、生後 4 日の生存率の低値が 60 mg/kg 以上に認められたことから、被験物質投与により子宮内及び生後の発育並びに生後 4 日までの生存性に影響を及ぼすことが考えられた。剖検では、12 mg/kg 以上の雌雄で全身脂肪組織あるいは皮膚又は消化管内容物の青色化がみられ、300 mg/kg の雄 1 例のみの生存例において、全身皮膚及び諸臓器の青色化がみられた。消化管内容物の青色化がみられていることから、被験物質の乳汁への移行が推測され、これら脂肪組織あるいは皮膚の青色化は雌雄親動物と同様に有害影響とは無関係な被験物質の色調を反映した変化と考えられた。なお、肉眼的にみられた青色化に相当する組織学的所見は、出生児の肝臓、腎臓、皮膚（鼠径部の皮下脂肪組織及び皮膚組織）にはみられなかつた。

これらの結果から、本試験条件下で 1,4-ビス（イソプロピルアミノ）アントラキノンを反復経口投与することにより、雌雄の 60 mg/kg 以上の肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が惹起され、交配群雌の 12 mg/kg 以上で周産期の摂餌量の低値が認められた。また、300 mg/kg ではほぼ全母体の全哺育児が死亡し、12 mg/kg 以上の出生児体重に低値が認められた。したがって、本被験物質の雌雄動物における反復投与毒性に対する無影響量は非交配群雌及び雄で 12 mg/kg、交配群雌で 12 mg/kg 未満、無毒性量はいずれの雌雄とも 12 mg/kg と判断した。また、雌雄親動物と児動物における生殖発生毒性に対する無影響量及び無毒性量は、いずれも雄親動物で 300 mg/kg 以上、雌親動物で 60 mg/kg、児動物で 12 mg/kg 未満と判断した。

## 8. 文献

- 1) 1,4-ビス(イソプロピルアミノ)アントラキノンのラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験(投与量設定試験) (株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号: C-R150、2010年)
- 2) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods, 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1989.
- 3) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50: 1096-121.
- 4) 佐久間昭 (1981) : 薬効評価—計画と分析-II, pp.23-27, 387-389, 東京大学出版会, 東京.

R-1068

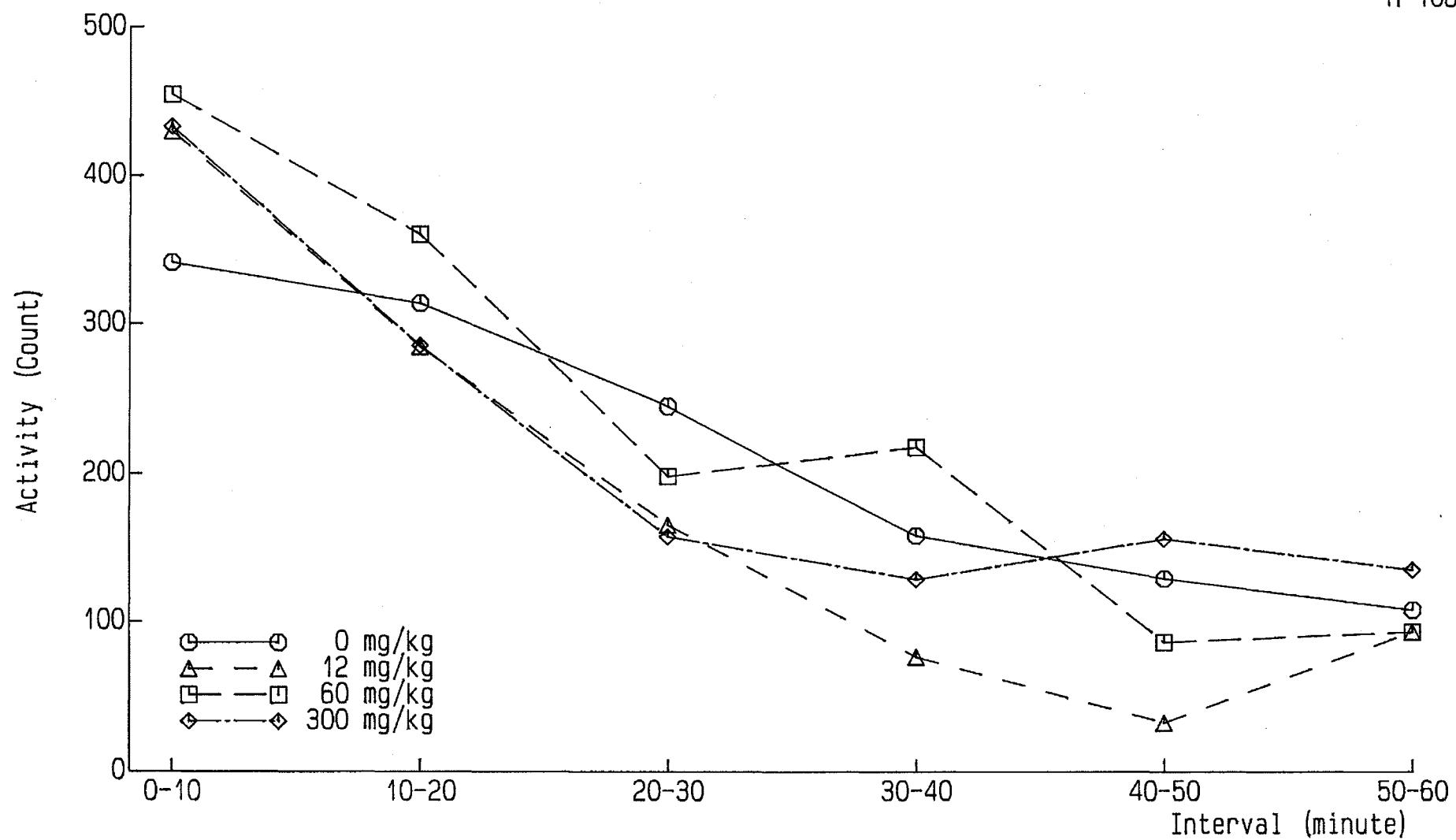


Fig. 1 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis (isopropylamino) anthraquinone by oral administration in rats  
Motor activity of male rats (Week 6 of administration)

R-1068

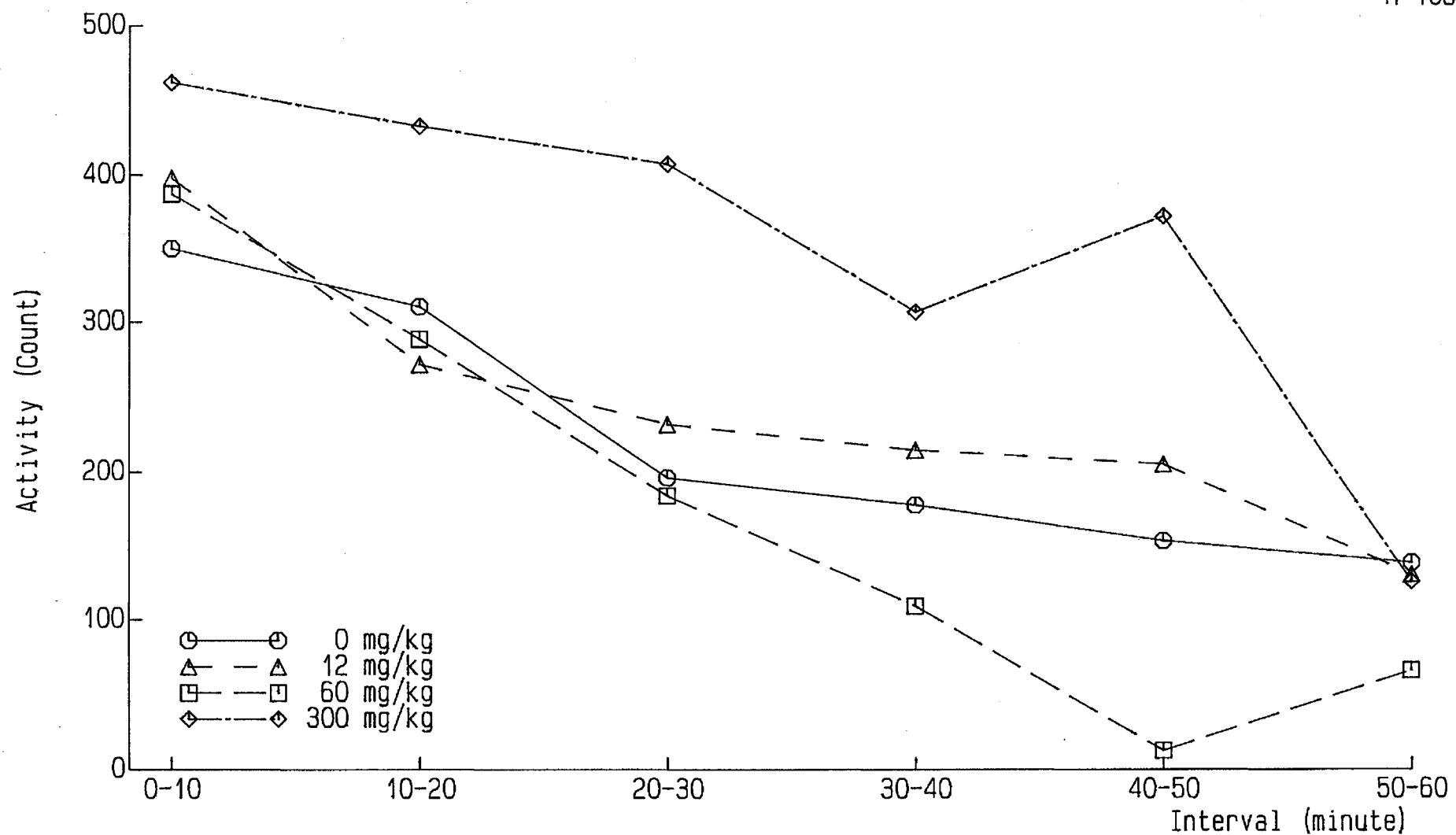


Fig. 2 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis (isopropylamino) anthraquinone by oral administration in rats  
Motor activity of female rats (Main group, Lactation day 4)

R-1068

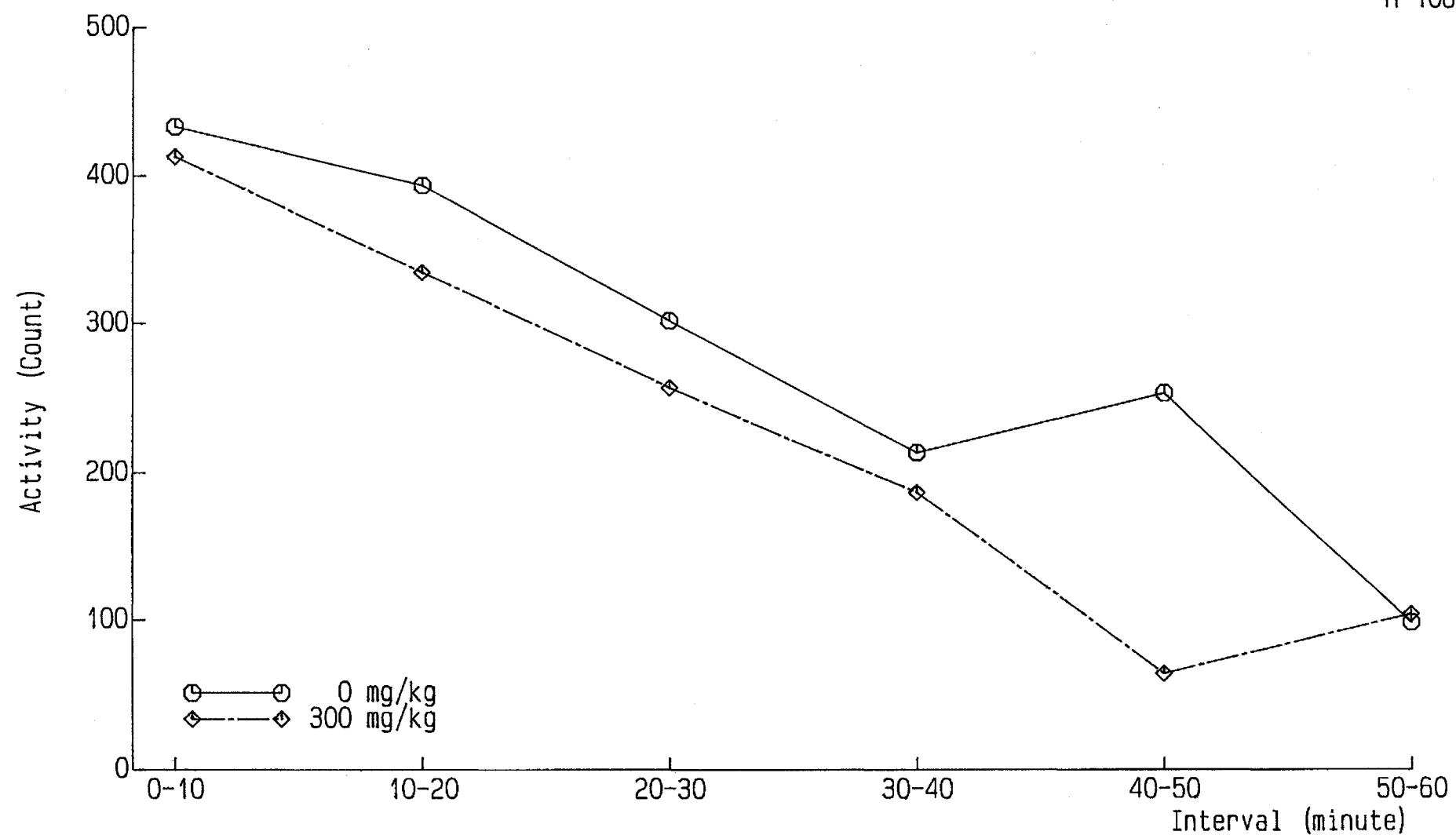


Fig.3 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis (isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats  
Motor activity of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

R-1068

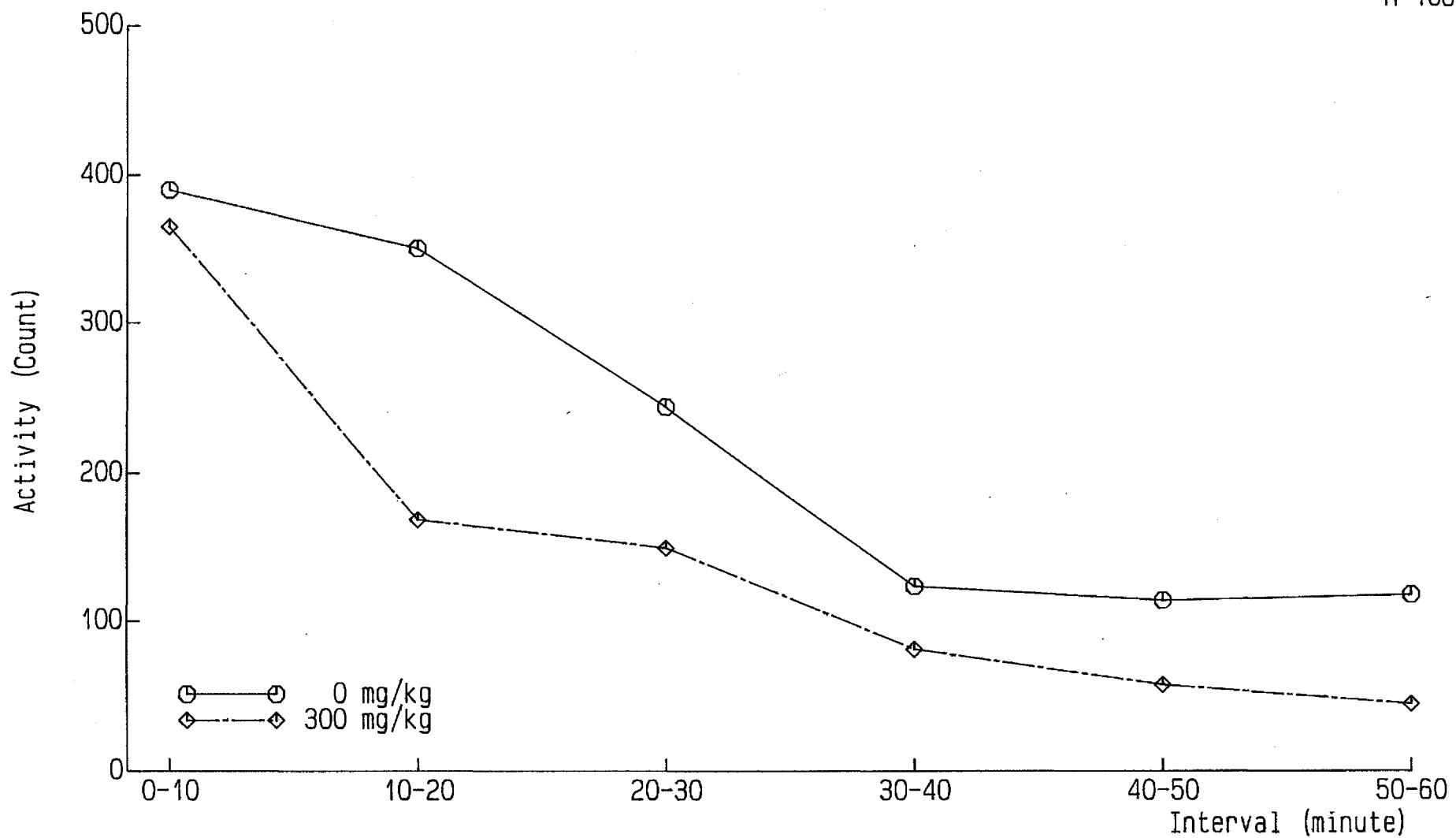


Fig.4 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis (isopropylamino) anthraquinone by oral administration in rats  
Motor activity of male rats (Week 2 of recovery)

R-1068

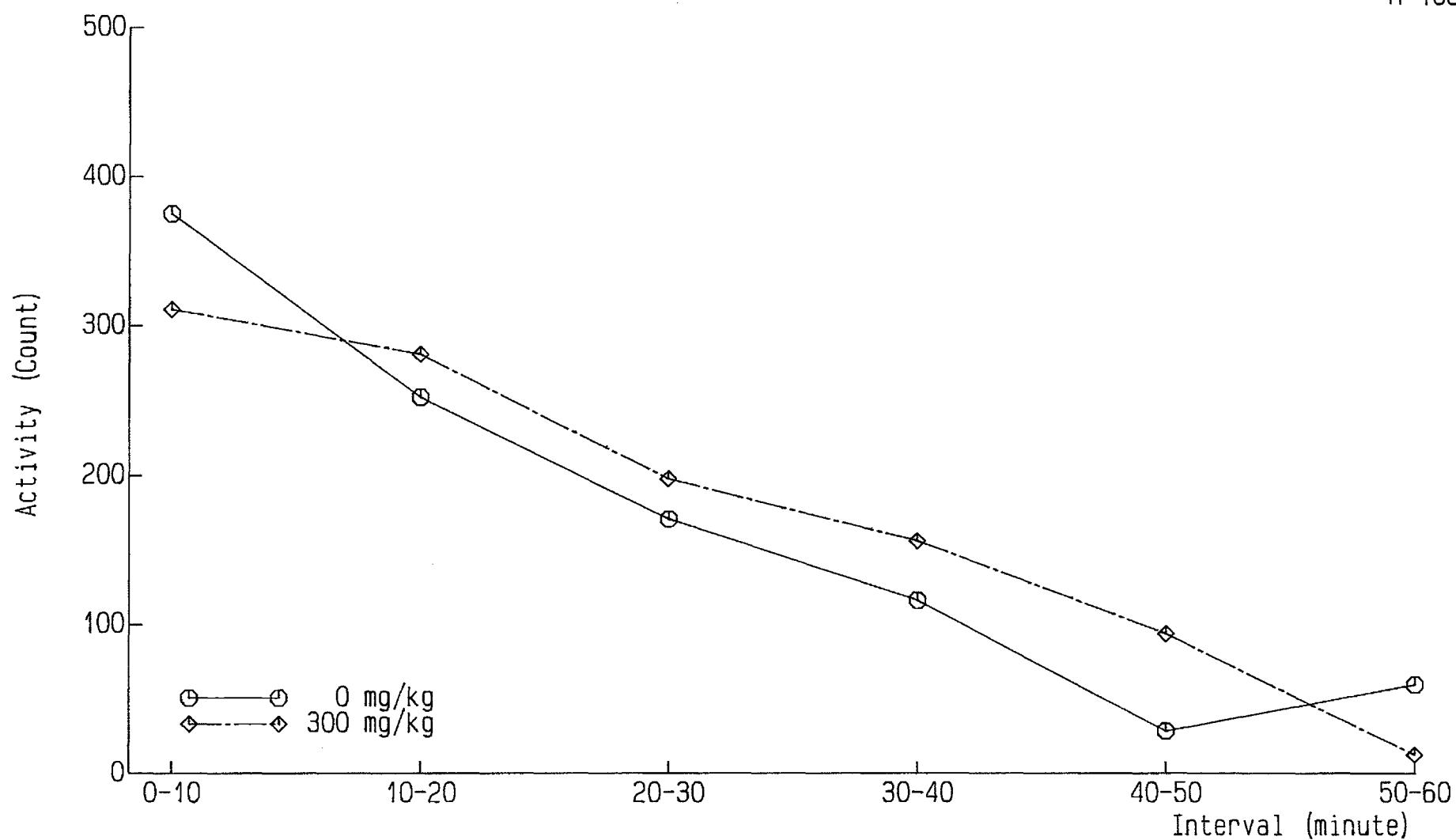


Fig.5 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis (isopropylamino) anthraquinone by oral administration in rats  
Motor activity of female rats (Week 2 of recovery)

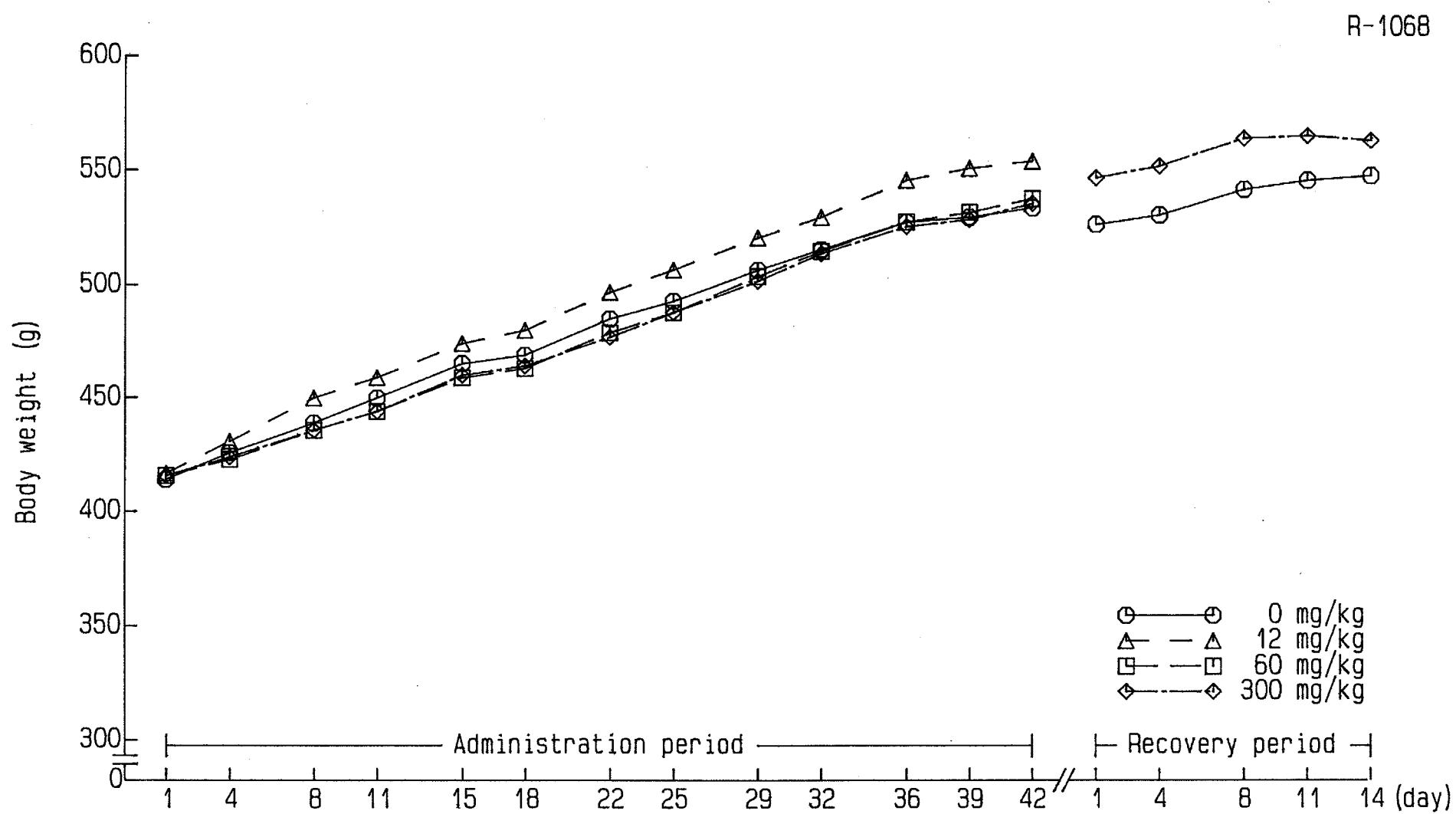


Fig.6 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis (isopropylamino) anthraquinone by oral administration in rats  
                   Body weight of male rats

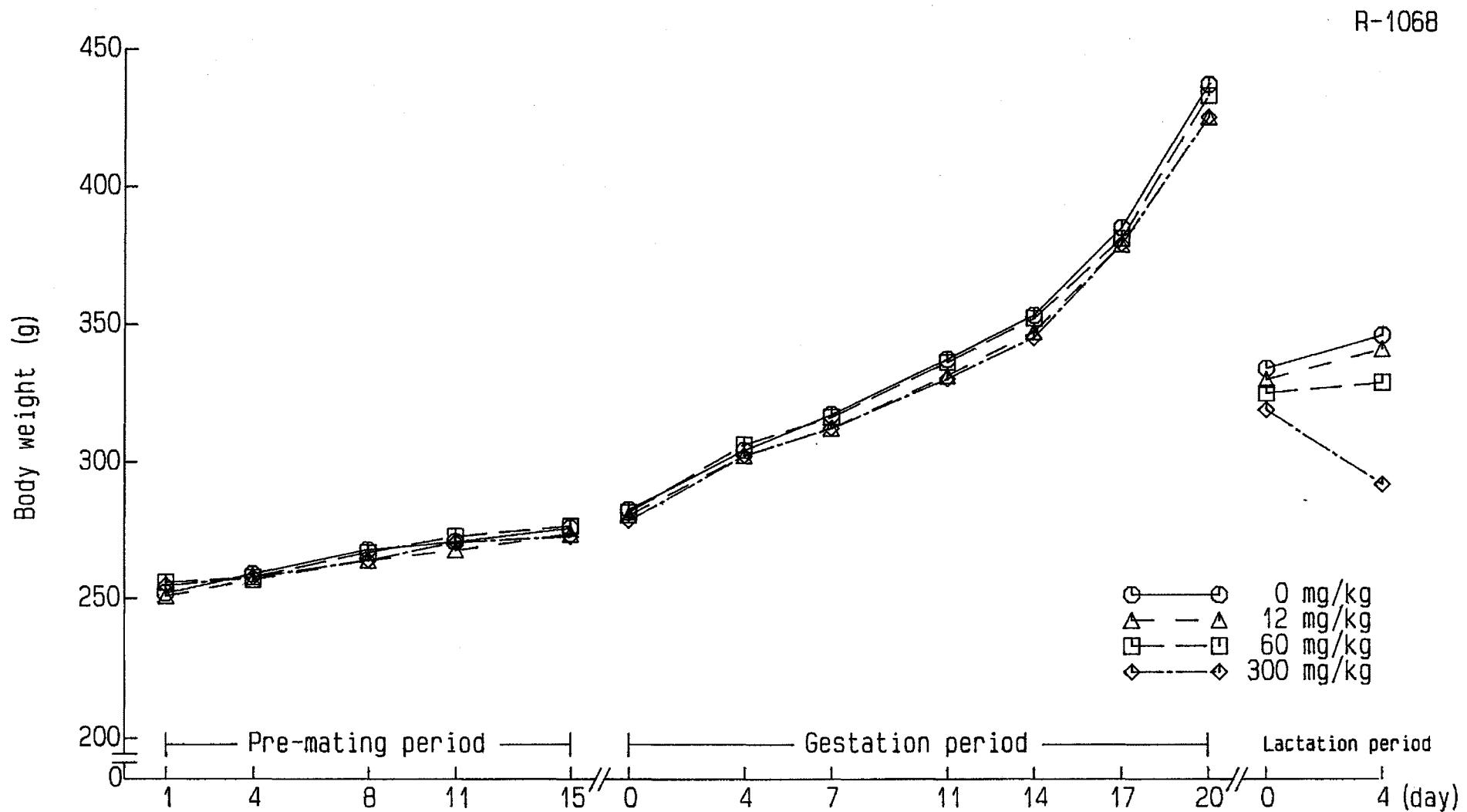


Fig. 7 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats  
Body weight of female rats (Main group)

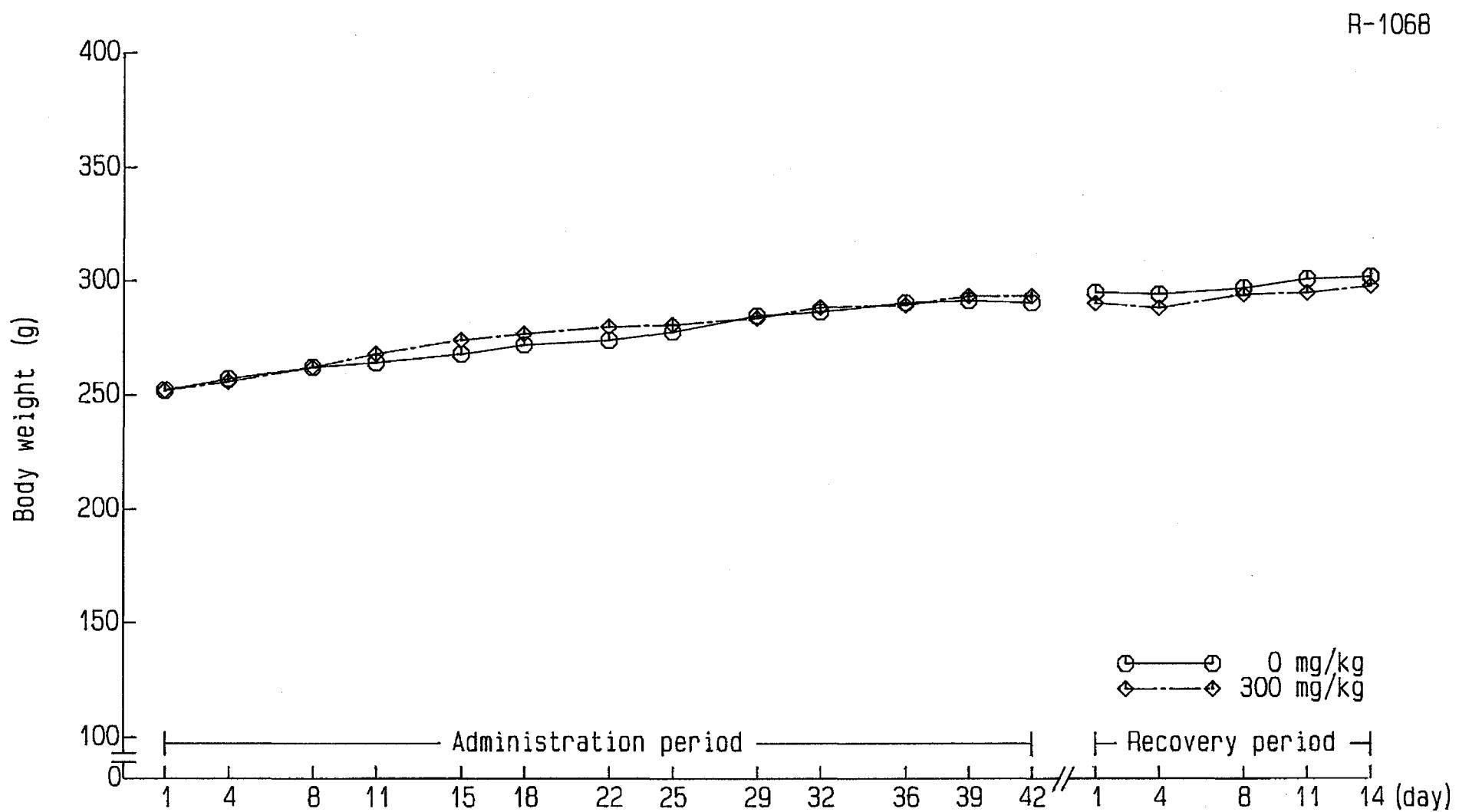


Fig.8 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats  
Body weight of female rats (Satellite group)

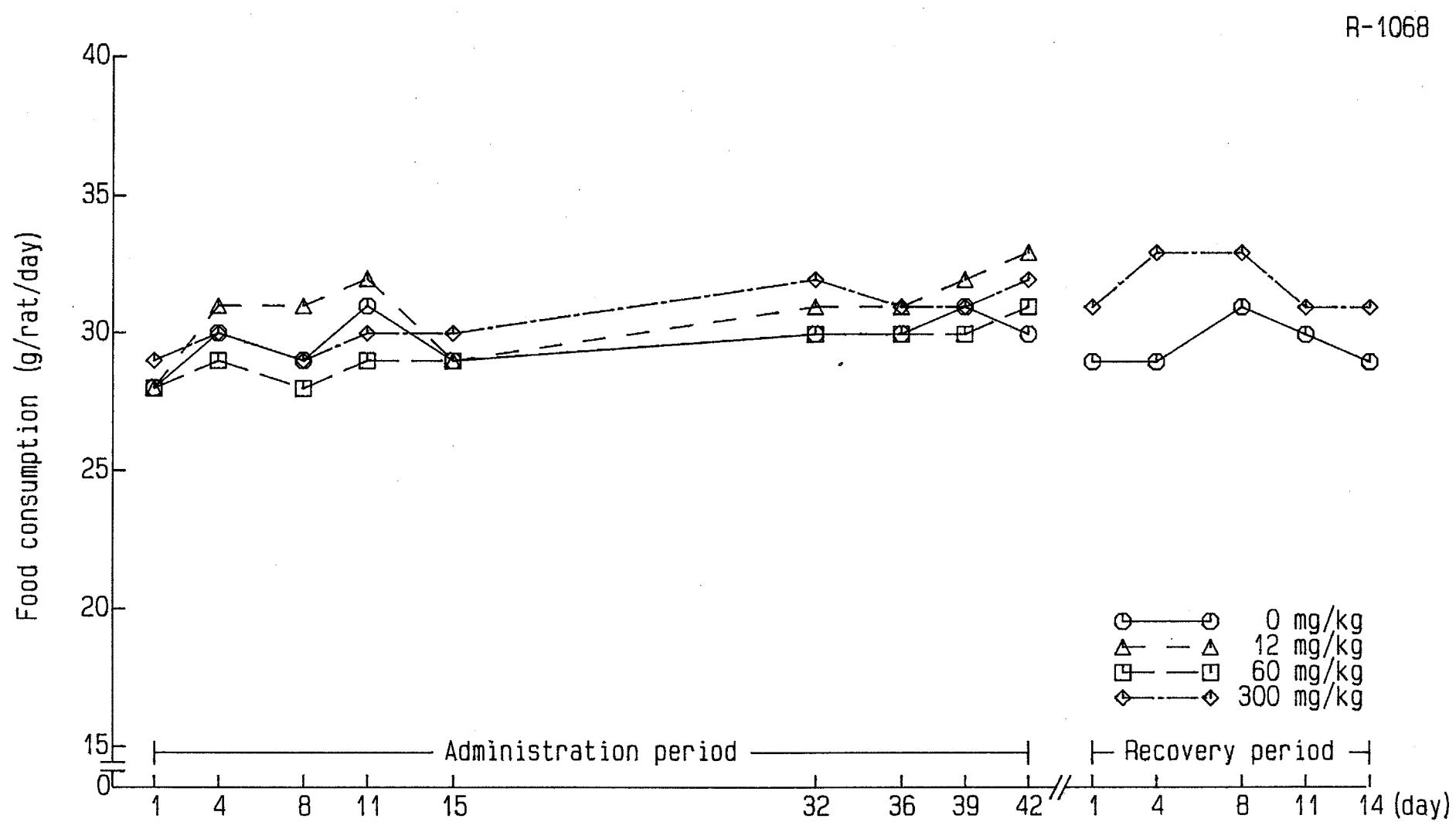


Fig.9 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats  
Food consumption of male rats

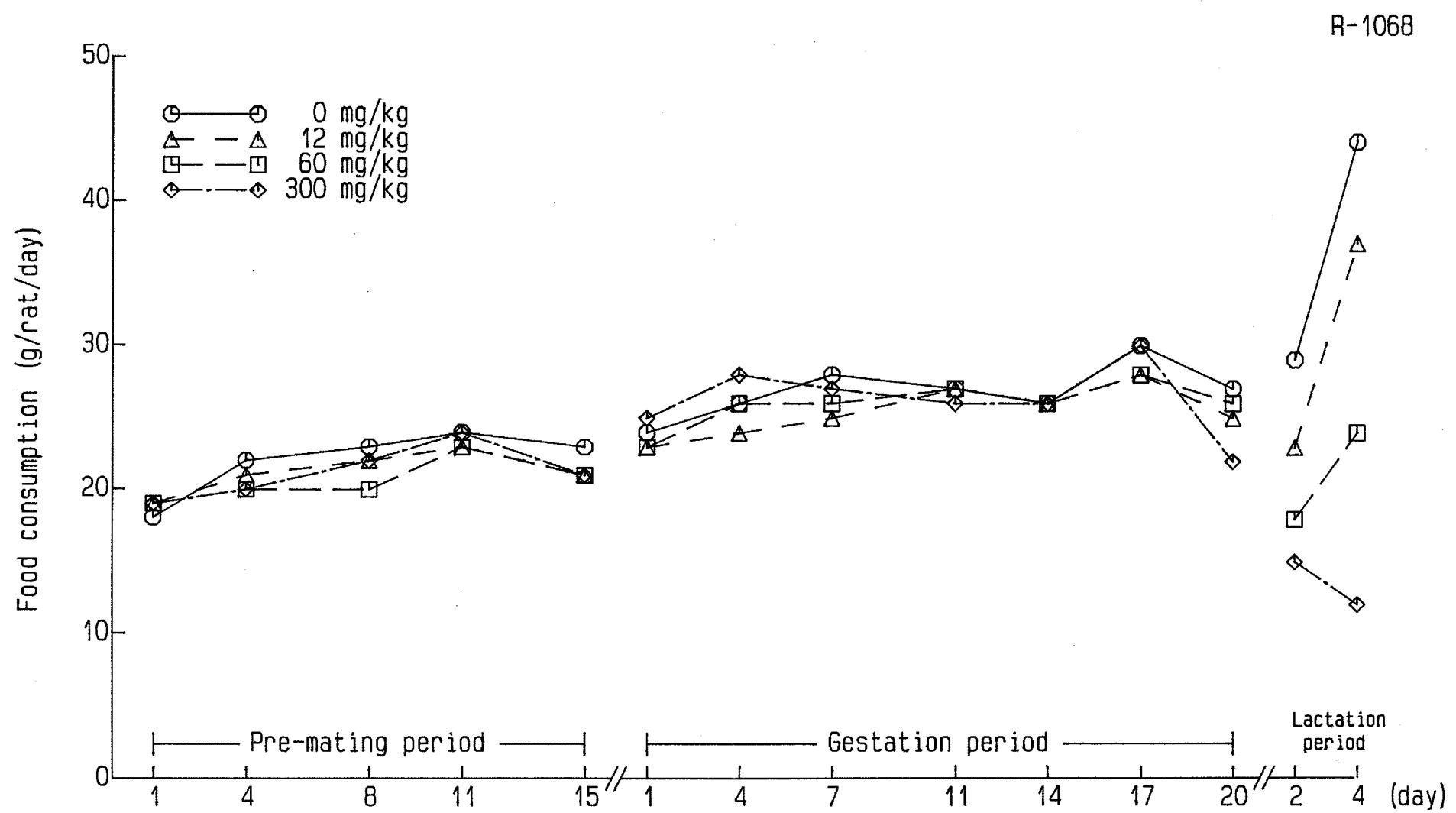


Fig.10 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1, 4-bis (isopropylamino) anthraquinone by oral administration in rats  
 Food consumption of female rats (Main group)

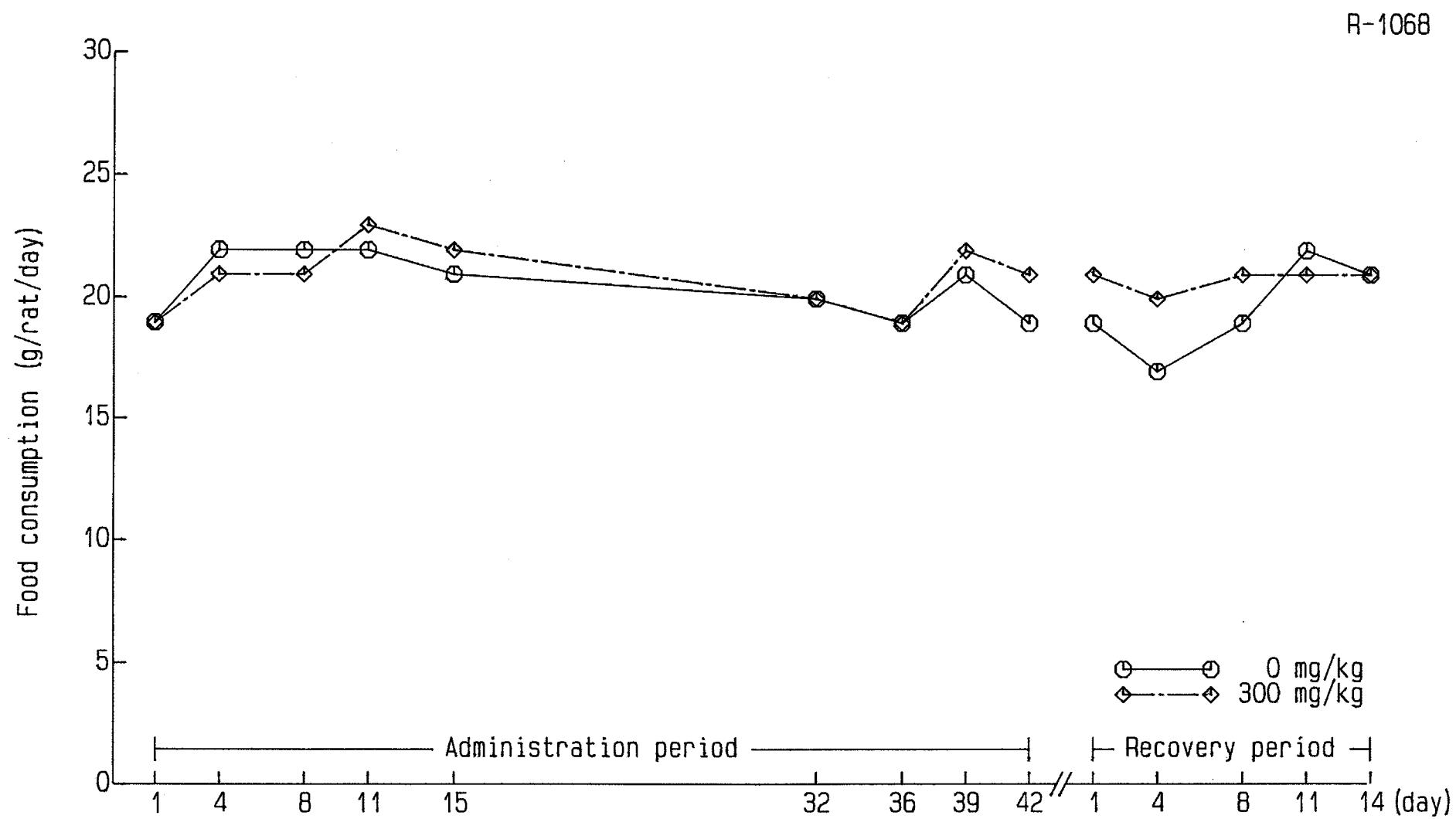


Fig.11 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats  
Food consumption of female rats (Satellite group)

Table 1-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Clinical signs in male rats (Administration period)

Dose mg/kg	Signs	Day of administration													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Dark blue feces	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Purplish urine	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Blue coloration, skin	0	0	0	0	0	0	2	4	4	4	4	4	6	9
300	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Dark blue feces	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Purplish urine	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Blue coloration, skin	0	0	0	4	8	8	9	9	9	9	10	10	12	12

Table 1-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

#### Clinical signs in male rats (Administration period)

Table 1-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Clinical signs in male rats (Administration period)

Dose mg/kg	Signs	Day of administration														
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43a)
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Dark blue feces	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Purplish urine	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Blue coloration, skin	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
300	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7
	No. of animals with abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7
	Dark blue feces	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7
	Purplish urine	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7
	Blue coloration, skin	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7

a): Day of necropsy

Table 1-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

#### Clinical signs in female rats during the pre-mating period (Main group)

Table 1-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Clinical signs in dams during the gestation period (Main group)

Dose mg/kg	Signs	Administration																						
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22a)
0	No. of dams	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	2
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	4	5	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2
	Blue coloration, skin	0	0	0	0	4	5	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	2
60	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0
	No. of dams with abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0
	Dark blue feces	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0
	Blue coloration, skin	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
300	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4
	No. of dams with abnormal findings	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4
	Dark blue feces	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0
	Purplish urine	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	0
	Blue coloration, skin	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	4

a): Gestation day

Table 1-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Clinical signs in dams during the lactation period (Main group)

Dose mg/kg	Signs	Administration					
		0	1	2	3	4a)	5b)
0	No. of dams	10	10	10	9 <sup>c)</sup>	9	9
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
12	No. of dams	12	12	12	11 <sup>c)</sup>	11	11
	No. of dams with abnormal findings	12	12	12	11	11	11
	Blue coloration, skin	12	12	12	11	11	11
	Decrease in nursing behavior	0	1	0	0	0	0
60	No. of dams	12	12	12	11 <sup>c)</sup>	10 <sup>d)</sup>	10
	No. of dams with abnormal findings	12	12	12	11	10	10
	Dark blue feces	0	0	0	0	0	10
	Blue coloration, skin	12	12	12	11	10	10
	Decrease in nursing behavior	0	1	0	2	2	0
300	No. of dams	12	12	9 <sup>e)</sup>	6 <sup>f)</sup>	1 <sup>g)</sup>	1
	No. of dams with abnormal findings	12	12	9	6	1	1
	Dark blue feces	0	0	0	0	0	1
	Purplish urine	0	0	0	0	0	1
	Blue coloration, skin	12	12	9	6	1	1
	Decrease in nursing behavior	0	4	5	1	1	0

a): Lactation day

b): Day of necropsy

c): One dam was necropsied on lactation day 2 because all pups died.

d): One dam was necropsied on lactation day 3 because all pups died.

e): Three dams were necropsied on lactation day 1 because all pups died.

f): Three dams were necropsied on lactation day 2 because all pups died.

g): Five dams were necropsied on lactation day 3 because all pups died.

Table 1-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

#### Clinical signs in female rats (Satellite group, administration period)

Table 1-8

## A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

#### Clinical signs in female rats (Satellite group, administration period)

Table 1-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Clinical signs in female rats (Satellite group, administration period)

Dose mg/kg	Signs	Day of administration														
		29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43a)
0	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	No. of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5
	No. of animals with abnormal findings	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5
	Dark blue feces	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5
	Purplish urine	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5
	Blue coloration, skin	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	5

a): Day of necropsy

Table 1-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Clinical signs in male rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Signs	Day of recovery														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15a)
0	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No. of animals with abnormal findings	5	5	4	4	3	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0
	Dark blue feces	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Purplish urine	5	5	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Blue coloration, skin	5	5	4	4	3	2	2	2	2	2	2	1	1	1	0

a): Day of necropsy

Table 1-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Clinical signs in female rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Signs	Day of recovery														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15a)
0	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No. of animals with abnormal findings	5	5	5	5	5	5	5	3	3	3	3	2	2	2	1
	Dark blue feces	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Purplish urine	5	5	5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Blue coloration, skin	5	5	5	5	5	5	3	3	3	3	2	2	2	2	1

a): Day of necropsy

Table 2-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Main group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Main group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Main group, Gestation day 1)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12

Table 2-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Main group, Gestation day 7)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12

Table 2-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Main group, Gestation day 14)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
		10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12

Table 2-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Main group, Gestation day 20)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12

Table 2-13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Main group, Lactation day 4)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
		No. of animals	9	11	10
Posture					
Normal		9	11	10	1
Convulsion					
None		9	11	10	1
Abnormal behavior					
None		9	11	10	1

Table 2-14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Satellite group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Posture			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10

Table 2-15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Satellite group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Posture			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10

Table 2-16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Satellite group, Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Posture			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10

Table 2-17

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Satellite group, Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Posture			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10

Table 2-18

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Satellite group, Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Posture			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10

Table 2-19

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Satellite group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Posture			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10

Table 2-20

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-21

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: home cage observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)		
		0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-22

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
		No. of animals	No. of animals
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-23

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: home cage observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Posture			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5

Table 2-24

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		12	12	12	12
Fur condition					
Normal		12	12	12	12
Skin					
Normal		12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		12	12	12	12
Lacrimation					
Normal		12	12	12	12
Piloerection					
Absent		12	12	12	12
Pupil size					
Normal		12	12	12	12
Salivation					
None		12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		12	12	12	12
Vocalization					
None		12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		12	12	12	12

Table 2-25

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-26

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	11	12	0
Soft	0	0	1	0	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-27

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	11	12	
Some resistance/avoidance	0	0	1	0	
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	
Skin					
Normal	12	12	12	12	
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	
Lacration					
Normal	12	12	12	12	
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	
Salivation					
None	12	12	12	12	
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	
Vocalization					
None	12	12	12	12	
Reactivity to handling					
Easy	12	12	11	12	
Slightly awkward	0	0	1	0	

Table 2-28

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	11	12	11	12	
Some resistance/avoidance	1	0	1	0	
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	
Skin					
Normal	12	12	12	12	
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	
Salivation					
None	12	12	12	12	
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	
Vocalization					
None	12	12	11	12	
Soft	0	0	1	0	
Reactivity to handling					
Easy	12	12	11	12	
Slightly awkward	0	0	1	0	

Table 2-29

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-30

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Main group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		12	12	12	12
Fur condition					
Normal		12	12	12	12
Skin					
Normal		12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		12	12	12	12
Lacrimation					
Normal		12	12	12	12
Piloerection					
Absent		12	12	12	12
Pupil size					
Normal		12	12	12	12
Salivation					
None		12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		12	12	12	12
Vocalization					
None		12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		12	12	12	12

Table 2-31

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Main group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		12	12	12	12
Fur condition					
Normal		12	12	12	12
Skin					
Normal		12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		12	12	12	12
Lacrimation					
Normal		12	12	12	12
Piloerection					
Absent		12	12	12	12
Pupil size					
Normal		12	12	12	12
Salivation					
None		12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		12	12	12	12
Vocalization					
None		12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		12	12	12	12

Table 2-32

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Main group, Gestation day 1)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	10	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	10	12	12	12	12
Skin					
Normal	10	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	10	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	10	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	10	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	10	12	12	12	12
Lacration					
Normal	10	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	10	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	10	12	12	12	12
Salivation					
None	10	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	10	12	12	12	12
Vocalization					
None	10	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	10	12	12	12	12

Table 2-33

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Main group, Gestation day 7)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		10	12	12	12
Fur condition					
Normal		10	12	12	12
Skin					
Normal		10	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		10	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		10	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		10	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		10	12	12	12
Lacrimation					
Normal		10	12	12	12
Piloerection					
Absent		10	12	12	12
Pupil size					
Normal		10	12	12	12
Salivation					
None		10	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		10	12	12	12
Vocalization					
None		10	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		10	12	12	12

Table 2-34

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Main group, Gestation day 14)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	10	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	10	12	12	12	12
Skin					
Normal	10	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	10	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	10	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	10	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	10	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	10	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	10	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	10	12	12	12	12
Salivation					
None	10	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	10	12	12	12	12
Vocalization					
None	10	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	10	12	12	12	12

Table 2-35

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Main group, Gestation day 20)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	10	12	12	12	
Fur condition					
Normal	10	12	12	12	
Skin					
Normal	10	12	12	12	
Secretions-Eye, Nose					
Absent	10	12	12	12	
Exophthalmos					
Absent	10	12	12	12	
Palpebral closure					
Normal	10	12	12	12	
Mucosal membranes					
Normal	10	12	12	12	
Lacrimation					
Normal	10	12	12	12	
Piloerection					
Absent	10	12	12	12	
Pupil size					
Normal	10	12	12	12	
Salivation					
None	10	12	12	12	
Abnormal respiration					
Absent	10	12	12	12	
Vocalization					
None	10	12	12	12	
Reactivity to handling					
Easy	10	12	12	12	

Table 2-36

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Main group, Lactation day 4)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	9	11	10	1
Ease of removal from cage					
Easy					
Fur condition					
Normal					
Skin					
Normal					
Secretions-Eye, Nose					
Absent					
Exophthalmos					
Absent					
Palpebral closure					
Normal					
Mucosal membranes					
Normal					
Lacrimation					
Normal					
Piloerection					
Absent					
Pupil size					
Normal					
Salivation					
None					
Abnormal respiration					
Absent					
Vocalization					
None					
Reactivity to handling					
Easy					

Table 2-37

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Satellite group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Ease of removal from cage			
Easy	10	10	
Fur condition			
Normal	10	10	
Skin			
Normal	10	10	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	10	10	
Exophthalmos			
Absent	10	10	
Palpebral closure			
Normal	10	10	
Mucosal membranes			
Normal	10	10	
Lacrimation			
Normal	10	10	
Piloerection			
Absent	10	10	
Pupil size			
Normal	10	10	
Salivation			
None	10	10	
Abnormal respiration			
Absent	10	10	
Vocalization			
None	10	10	
Reactivity to handling			
Easy	10	10	

Table 2-38

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Satellite group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Ease of removal from cage			
Easy	10	10	
Fur condition			
Normal	10	10	
Skin			
Normal	10	10	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	10	10	
Exophthalmos			
Absent	10	10	
Palpebral closure			
Normal	10	10	
Mucosal membranes			
Normal	10	10	
Lacrimation			
Normal	10	10	
Piloerection			
Absent	10	10	
Pupil size			
Normal	10	10	
Salivation			
None	10	10	
Abnormal respiration			
Absent	10	10	
Vocalization			
None	10	10	
Reactivity to handling			
Easy	10	10	

Table 2-89

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Satellite group, Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Ease of removal from cage			
Easy	10	10	
Fur condition			
Normal	10	10	
Skin			
Normal	10	10	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	10	10	
Exophthalmos			
Absent	10	10	
Palpebral closure			
Normal	10	10	
Mucosal membranes			
Normal	10	10	
Lacrimation			
Normal	10	10	
Piloerection			
Absent	10	10	
Pupil size			
Normal	10	10	
Salivation			
None	10	10	
Abnormal respiration			
Absent	10	10	
Vocalization			
None	10	10	
Reactivity to handling			
Easy	10	10	

Table 2-40

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Satellite group, Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Ease of removal from cage			
Easy	10	10	
Fur condition			
Normal	10	10	
Skin			
Normal	10	10	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	10	10	
Exophthalmos			
Absent	10	10	
Palpebral closure			
Normal	10	10	
Mucosal membranes			
Normal	10	10	
Lacrimation			
Normal	10	10	
Piloerection			
Absent	10	10	
Pupil size			
Normal	10	10	
Salivation			
None	10	10	
Abnormal respiration			
Absent	10	10	
Vocalization			
None	10	10	
Reactivity to handling			
Easy	10	10	

Table 2-41

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Satellite group, Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Ease of removal from cage			
Easy	10	10	
Fur condition			
Normal	10	10	
Skin			
Normal	10	10	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	10	10	
Exophthalmos			
Absent	10	10	
Palpebral closure			
Normal	10	10	
Mucosal membranes			
Normal	10	10	
Lacrimation			
Normal	10	10	
Piloerection			
Absent	10	10	
Pupil size			
Normal	10	10	
Salivation			
None	10	10	
Abnormal respiration			
Absent	10	10	
Vocalization			
None	9	10	
Soft	1	0	
Reactivity to handling			
Easy	9	10	
Slightly awkward	1	0	

Table 2-42

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Satellite group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Ease of removal from cage			
Easy	10	10	
Fur condition			
Normal	10	10	
Skin			
Normal	10	10	
Secretions-Eye, Nose			
Absent	10	10	
Exophthalmos			
Absent	10	10	
Palpebral closure			
Normal	10	10	
Mucosal membranes			
Normal	10	10	
Lacrimation			
Normal	10	10	
Piloerection			
Absent	10	10	
Pupil size			
Normal	10	10	
Salivation			
None	10	10	
Abnormal respiration			
Absent	10	10	
Vocalization			
None	10	10	
Reactivity to handling			
Easy	10	10	

Table 2-43

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)		
	0	300	
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		5	5
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-44

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: in-the-hand observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		5	5
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-45

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Week 1 of recovery)

Parameter	No. of animals	Dose (mg/kg)	0	300
			5	5
Ease of removal from cage				
Easy			5	5
Fur condition				
Normal			5	5
Skin				
Normal			5	5
Secretions-Eye, Nose				
Absent			5	5
Exophthalmos				
Absent			5	5
Palpebral closure				
Normal			5	5
Mucosal membranes				
Normal			5	5
Lacrimation				
Normal			5	5
Piloerection				
Absent			5	5
Pupil size				
Normal			5	5
Salivation				
None			5	5
Abnormal respiration				
Absent			5	5
Vocalization				
None			5	5
Reactivity to handling				
Easy			5	5

Table 2-46

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: in-the-hand observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Ease of removal from cage			
Easy		5	5
Fur condition			
Normal		5	5
Skin			
Normal		5	5
Secretions-Eye, Nose			
Absent		5	5
Exophthalmos			
Absent		5	5
Palpebral closure			
Normal		5	5
Mucosal membranes			
Normal		5	5
Lacrimation			
Normal		5	5
Piloerection			
Absent		5	5
Pupil size			
Normal		5	5
Salivation			
None		5	5
Abnormal respiration			
Absent		5	5
Vocalization			
None		5	5
Reactivity to handling			
Easy		5	5

Table 2-47

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)	5 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	4 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	
Urination					
None	8	10	9	12	
Small amount	4	2	3	0	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-48

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
		12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean+S.D.)		4± 2	5± 2	4± 3	4± 1
Defecation count (Mean+S.D.)		0± 1	0± 0	0± 1	0± 0
Urination					
None		8	10	10	12
Small amount		4	2	2	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-49

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
No/minimal location		1	0	0	0
Normal		11	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		4 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	4 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
Urination					
None		10	10	11	12
Small amount		2	2	1	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-50

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean+S.D.)		5± 2	5± 2	5± 2	4± 2
Defecation count (Mean+S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		7	8	10	10
Small amount		5	4	2	2

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-51

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
No/minimal location		1	1	0	0
Normal		11	11	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean±S.D.)		4± 2	4± 2	5± 2*D	4± 1
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		10	8	8	11
Small amount		2	4	4	1

\* : p&lt;0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 2-52

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		4 $\pm$ 2	4 $\pm$ 3	4 $\pm$ 1	3 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination					
None		8	8	8	8
Small amount		4	4	4	4

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-53

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		6 $\pm$ 2	8 $\pm$ 2	8 $\pm$ 2	7 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination					
None		12	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-54

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
No/minimal location		0	0	1	0
Normal		12	12	11	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean+S.D.)		8± 3	9± 2	8± 3	7± 3
Defecation count (Mean+S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		12	12	11	12
Small amount		0	0	1	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-55

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Gestation day 1)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Arousal					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12
Stereotypy					
None		10	12	12	12
Gait					
Normal		10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Grooming					
None		10	12	12	12
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		6 $\pm$ 2	7 $\pm$ 2	6 $\pm$ 2	6 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination					
None		10	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-56

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Gestation day 7)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Arousal					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12
Stereotypy					
None		10	12	12	12
Gait					
Normal		10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Grooming					
None		10	12	12	12
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		7 $\pm$ 1	7 $\pm$ 3	7 $\pm$ 3	5 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination					
None		10	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-57

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Gestation day 14)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	10	12	12	12
Arousal					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12
Stereotypy					
None		10	12	12	12
Gait					
Normal		10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Grooming					
None		10	12	12	12
Rearing (Mean+S.D.)		6± 2	6± 2	6± 1	5± 1
Defecation count (Mean+S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		10	12	12	11
Small amount		0	0	0	1

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-58

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Gestation day 20)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
		10	12	12	12
Arousal					
Normal		10	12	12	12
Convulsion					
None		10	12	12	12
Abnormal behavior					
None		10	12	12	12
Stereotypy					
None		10	12	12	12
Gait					
Normal		10	12	12	12
Posture					
Normal		10	12	12	12
Grooming					
None		10	12	12	12
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		5 $\pm$ 1	5 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	4 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination					
None		10	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-59

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Main group, Lactation day 4)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	9	11	10	1
Arousal					
Normal		9	11	10	1
Convulsion					
None		9	11	10	1
Abnormal behavior					
None		9	11	10	1
Stereotypy					
None		9	11	10	1
Gait					
Normal		9	11	10	1
Posture					
Normal		9	11	10	1
Grooming					
None		9	11	10	1
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		7 $\pm$ 3	7 $\pm$ 3	7 $\pm$ 2	8 $\pm$ 0
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination					
None		9	11	10	1

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-60

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Satellite group, Week 1 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Arousal			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10
Stereotypy			
None		10	10
Gait			
Normal		10	10
Posture			
Normal		10	10
Grooming			
None		10	10
Rearing (Mean+S.D.)		9± 2	6± 2*T
Defecation count (Mean+S.D.)		0± 0	0± 0
Urination			
None		10	10

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 2-61

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Satellite group, Week 2 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Arousal			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10
Stereotypy			
None		10	10
Gait			
Normal		10	10
Posture			
Normal		10	10
Grooming			
None		10	10
Rearing (Mean+S.D.)		9± 3	7± 3
Defecation count (Mean+S.D.)		0± 0	0± 0
Urination			
None		10	10

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-62

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Satellite group, Week 3 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Arousal			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10
Stereotypy			
None		10	10
Gait			
Normal		10	10
Posture			
Normal		10	10
Grooming			
None		10	10
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		10 $\pm$ 3	8 $\pm$ 3
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination			
None		9	9
Small amount		1	1

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-63

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Satellite group, Week 4 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Arousal			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10
Stereotypy			
None		10	10
Gait			
Normal		10	10
Posture			
Normal		10	10
Grooming			
None		10	10
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		9 $\pm$ 2	8 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination			
None		10	10

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-64

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Satellite group, Week 5 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Arousal			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10
Stereotypy			
None		10	10
Gait			
Normal		10	10
Posture			
Normal		10	10
Grooming			
None		10	10
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		10 $\pm$ 3	10 $\pm$ 3
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination			
None		9	10
Small amount		1	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-65

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Satellite group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	10	10
Arousal			
Normal		10	10
Convulsion			
None		10	10
Abnormal behavior			
None		10	10
Stereotypy			
None		10	10
Gait			
Normal		10	10
Posture			
Normal		10	10
Grooming			
None		10	10
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		9 $\pm$ 3	9 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination			
None		9	10
Small amount		1	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-66

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		3 $\pm$ 2	5 $\pm$ 1
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-67

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in male rats: open field observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
No/minimal location		1	1
Normal		4	4
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		3 $\pm$ 2	4 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination			
None		4	5
Small amount		1	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-68

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Week 1 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean $\pm$ S.D.)		8 $\pm$ 2	8 $\pm$ 2
Defecation count (Mean $\pm$ S.D.)		0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-69

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Detailed clinical signs in female rats: open field observation (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Arousal			
Normal		5	5
Convulsion			
None		5	5
Abnormal behavior			
None		5	5
Stereotypy			
None		5	5
Gait			
Normal		5	5
Posture			
Normal		5	5
Grooming			
None		5	5
Rearing (Mean+S.D.)		8± 2	7± 1
Defecation count (Mean+S.D.)		0± 0	0± 0
Urination			
None		5	5

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-70

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Manipulative test of male rats (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	5	5	5	5
Auditory response					
Normal	5	5	5	5	5
Approach response					
Normal	5	5	5	5	5
Touch response					
Normal	5	5	5	5	5
Tail pinch response					
Normal	5	5	5	5	5
Pupillary reflex					
Pass, both	5	5	5	5	5
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	
Landing foot splay (mm: Mean $\pm$ S.D.)	85 $\pm$ 13	71 $\pm$ 22	79 $\pm$ 10	91 $\pm$ 27	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-71

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Manipulative test of female rats (Main group, Lactation day 4)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
	No. of animals	5	5	5	1
Auditory response					
Normal	5	5	5	1	
Approach response					
Normal	5	5	5	1	
Touch response					
Normal	5	5	5	1	
Tail pinch response					
Normal	5	5	5	1	
Pupillary reflex					
Pass, both	5	5	5	1	
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	
Landing foot splay (mm: Mean $\pm$ S.D.)	53 $\pm$ 22	61 $\pm$ 22	42 $\pm$ 6	65 $\pm$ 0	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-72

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Manipulative test of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal		5	5
Approach response			
Normal		5	5
Touch response			
Normal		5	5
Tail pinch response			
Normal		5	5
Pupillary reflex			
Pass, both		5	5
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean+S.D.)		0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean+S.D.)		70±22	67±23

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-73

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Manipulative test of male rats (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal	5	5	
Approach response			
Normal	5	5	
Touch response			
Normal	5	5	
Tail pinch response			
Normal	5	5	
Pupillary reflex			
Pass, both	5	5	
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	
Landing foot splay (mm: Mean $\pm$ S.D.)	90 $\pm$ 19	101 $\pm$ 15	

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-74

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Manipulative test of female rats (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal	5	5	
Approach response			
Normal	5	5	
Touch response			
Normal	5	5	
Tail pinch response			
Normal	5	5	
Pupillary reflex			
Pass, both	5	5	
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean $\pm$ S.D.)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	
Landing foot splay (mm: Mean $\pm$ S.D.)	76 $\pm$ 12	84 $\pm$ 16	

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-75

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Grip strength of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1235	875
	S.D.	196	73
12	No.	5	5
	Mean	1117	860
	S.D.	153	175
60	No.	5	5
	Mean	1127	866
	S.D.	120	122
300	No.	5	5
	Mean	1192	880
	S.D.	254	159

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-76

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Grip strength of female rats (Main group, Lactation day 4)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1077	686
	S.D.	139	96
12	No.	5	5
	Mean	1265	738
	S.D.	116	118
60	No.	5	5
	Mean	1286	716
	S.D.	173	112
300	No.	1	1
	Mean	836	688
	S.D.		

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-77

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Grip strength of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	972	758
	S.D.	69	157
300	No.	5	5
	Mean	955	717
	S.D.	115	53

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-78

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Grip strength of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1542	928
	S.D.	179	76
300	No.	5	5
	Mean	1449	884
	S.D.	197	78

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-79

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Grip strength of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	963	715
	S.D.	220	54
300	No.	5	5
	Mean	1067	772
	S.D.	83	71

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-80

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Motor activity of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 341 177	5 314 91	5 246 162	5 159 146	5 130 167	5 109 129
12	No. Mean S.D.	5 430 42	5 285 138	5 166 107	5 77 72	5 33 37	5 94 76
60	No. Mean S.D.	5 455 28	5 361 39	5 199 142	5 219 123	5 87 102	5 94 104
300	No. Mean S.D.	5 433 31	5 286 150	5 158 116	5 129 114	5 157 144	5 136 137
							1298 208

Unit : Count

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-81

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Motor activity of female rats (Main group, Lactation day 4)

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 350 30	5 311 80	5 197 59	5 179 111	5 155 121	5 140 125
12	No. Mean S.D.	5 398 33	5 272 89	5 233 108	5 216 153	5 207 156	5 132 121
60	No. Mean S.D.	5 387 35	5 289 44	5 185 106	5 110 84	5 13 8	5 67 64
300	No. Mean S.D.	1 462	1 433	1 408	1 308	1 373	1 127
							2111

Unit : Count

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-82

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Motor activity of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. 5	5	5	5	5	5	5
	Mean 433	394	303	215	255	99	1698
	S.D. 25	52	61	144	252	115	391
300	No. 5	5	5	5	5	5	5
	Mean 413	335	258	188	65	105	1364
	S.D. 30	56	63	105	140	135	482

Unit : Count

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-83

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Motor activity of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 390 94	5 351 60	5 245 90	5 124 58	5 115 150	5 119 104
300	No. Mean S.D.	5 365 105	5 169* 141T	5 150 126	5 82 80	5 58 47	5 45 75
							1344 869 496

Unit : Count

No.: No. of animals

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T: Student's t-test

Table 2-84

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Motor activity of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 375 63	5 253 96	5 171 158	5 116 118	5 29 36	5 60 37 1002 398
300	No. Mean S.D.	5 311 77	5 281 99	5 198 86	5 156 122	5 94 120	5 13* 14AT 1052 386

Unit : Count

No.: No. of animals

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

AT: Aspin-Welch t-test

Table 3-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Body weight of male rats (Administration period)

Dose mg/kg	Day of administration													Gain 1-42
	1	4	8	11	15	18	22	25	29	32	36	39	42	
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
0	Mean	414	426	439	450	465	469	485	493	507	516	528	530	534
0	S.D.	21	19	21	22	21	19	22	25	26	26	26	27	30
12	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
12	Mean	417	431	450	459	474	480	497	507	521	530	546	551	554
12	S.D.	27	28	29	32	34	29	28	33	35	37	37	35	37
60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
60	Mean	416	423	436	444	459	463	479	488	504	515	528	532	538
60	S.D.	23	23	26	27	27	28	26	30	31	32	31	30	31
300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
300	Mean	416	424	436	444	460	464	477	488	502	514	526	529	536
300	S.D.	22	24	24	26	28	28	30	30	32	34	36	38	40

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Body weight of female rats during the pre-mating period (Main group)

Dose mg/kg	Day of administration					Gain 1-15
	1	4	8	11	15	
0	No.	12	12	12	12	12
	Mean	252	259	268	271	276
	S.D.	13	12	13	14	13
12	No.	12	12	12	12	12
	Mean	251	257	264	268	274
	S.D.	9	12	12	14	14
60	No.	12	12	12	12	12
	Mean	256	258	267	273	277
	S.D.	11	13	16	17	18
300	No.	12	12	12	12	12
	Mean	255	258	264	271	273
	S.D.	11	13	12	12	13

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Body weight of dams during the gestation period (Main group)

Dose mg/kg	Administration							Gain 0-20
	0	4	7	11	14	17	20a)	
0	No.	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	283	305	318	338	354	386	438
	S.D.	19	20	19	22	22	24	13
12	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	281	303	313	332	348	380	426
	S.D.	13	13	13	13	14	15	12
60	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	282	307	317	337	353	382	434
	S.D.	16	17	19	19	20	20	9
300	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	279	303	313	331	346	380	426
	S.D.	15	16	16	17	17	18	19

Unit: g

No.: No. of dams

a): Gestation day

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Body weight of dams during the lactation period (Main group)

Dose mg/kg	Administration		
	0	4a)	Gain 0-4
0	No.	10	9 <sup>b)</sup>
	Mean	335	347
	S.D.	28	21
12	No.	12	11 <sup>b)</sup>
	Mean	331	342
	S.D.	19	18
60	No.	12	10 <sup>c)</sup>
	Mean	326	330
	S.D.	26	25
300	No.	12	1 <sup>d)</sup>
	Mean	320	293
	S.D.	30	-7

Unit: g

No.: No. of dams

a): Lactation day

b): One dam was necropsied on lactation day 2 because all pups died.

c): Two dams were necropsied on lactation days 2 and 3 because all pups died.

d): Eleven dams were necropsied on lactation days 1, 2 and 3 because all pups died.

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Body weight of female rats (Satellite group, administration period)

Dose mg/kg	Day of administration												Gain 1-42
	1	4	8	11	15	18	22	25	29	32	36	39	
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	252	257	262	264	268	272	274	278	285	287	291	292
	S.D.	13	11	13	11	12	15	16	12	14	15	15	14
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	252	256	262	268	274	277	280	281	284	289	290	294
	S.D.	14	12	14	15	15	16	19	20	18	19	20	21

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Body weight of male rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery						Gain 1-14
	1	4	8	11	14		
0	No.	5	5	5	5	5	5
	Mean	527	531	542	546	548	20
	S.D.	14	16	19	15	19	7
300	No.	5	5	5	5	5	5
	Mean	547	552	564	565	563	16
	S.D.	42	38	41	44	56	22

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Body weight of female rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery					Gain 1-14
	1	4	8	11	14	
0	No.	5	5	5	5	5
	Mean	296	295	298	302	303
	S.D.	18	17	23	19	21
300	No.	5	5	5	5	5
	Mean	291	289	295	296	299
	S.D.	11	13	13	12	12

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Food consumption of male rats (Administration period)

Dose mg/kg	Day of administration								
	1	4	8	11	15	32	36	39	42
0	No. 12	12	12	12	12	12	12	12	12
0	Mean 28	30	29	31	29	30	30	31	30
0	S.D. 3	2	2	3	2	2	2	3	3
12	No. 12	12	12	12	12	12	12	12	12
12	Mean 28	31	31	32	29	31	31	32	33
12	S.D. 2	3	4	4	4	3	2	3	4
60	No. 12	12	12	12	12	12	12	12	12
60	Mean 28	29	28	29	29	30	30	30	31
60	S.D. 3	2	3	2	2	2	3	2	3
300	No. 12	12	12	12	12	12	12	12	12
300	Mean 29	30	29	30	30	32	31	31	32
300	S.D. 3	3	3	3	3	4	3	4	4

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Food consumption of female rats during the pre-mating period (Main group)

Dose mg/kg	Day of administration				
	1	4	8	11	15
0	No.	12	12	12	12
	Mean	18	22	23	24
	S.D.	3	2	2	2
12	No.	12	12	12	12
	Mean	19	21	22	23
	S.D.	3	2	2	3
60	No.	12	12	12	12
	Mean	19	20	20	23
	S.D.	3	3	3	4
300	No.	12	12	12	12
	Mean	19	20	22	24
	S.D.	3	3	3	4

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Food consumption of dams during the gestation period (Main group)

Dose mg/kg	Administration						
	1	4	7	11	14	17	20a)
0	No.	10	10	10	10	10	10
	Mean	24	26	28	27	26	30
	S.D.	3	3	3	3	2	3
12	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	23	24	25	27	26	28
	S.D.	2	2	2	2	2	3
60	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	23	26	26	27	26	28
	S.D.	3	2	3	3	2	1
300	No.	12	12	12	12	12	12
	Mean	25	28	27	26	26	30
	S.D.	4	5	4	4	4	5ST

Unit: g/rat/day

No.: No. of dams

a): Gestation day

\*: p<0.05 (Significant difference from control group)

ST: Steel's test

Table 4-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Food consumption of dams during the lactation period (Main group)

Dose mg/kg	Administration	
	2	4a)
0	No.	9 <sup>b)</sup>
	Mean	29
	S.D.	5
12	No.	11 <sup>b)</sup>
	Mean	23
	S.D.	8
60	No.	11 <sup>b)</sup>
	Mean	18**
	S.D.	7D
300	No.	10 <sup>c)</sup>
	Mean	24**
	S.D.	7D
300	No.	6 <sup>d)</sup>
	Mean	12
	S.D.	4D

Unit: g/rat/day

No.: No. of dams

a): Lactation day

b): One dam was necropsied on lactation day 2 because all pups died.

c): One dam was necropsied on lactation day 3 because all pups died.

d): Six dams were necropsied on lactation days 1 and 2 because all pups died.

e): Five dams were necropsied on lactation day 3 because all pups died.

\*: p<0.05; \*\*: p<0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 4-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Food consumption of female rats (Satellite group, administration period)

Dose mg/kg	Day of administration								
	1	4	8	11	15	32	36	39	42
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	19	22	22	22	21	20	19	21
	S.D.	2	2	3	3	2	3	3	4
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	19	21	21	23	22	20	19	22
	S.D.	3	2	3	3	1	2	3	4

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Food consumption of male rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery				
	1	4	8	11	14
0	No.	5	5	5	5
	Mean	29	29	31	30
	S.D.	3	1	1	2
300	No.	5	5	5	5
	Mean	31	33	33	31
	S.D.	2	3	3	4

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Food consumption of female rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery				
	1	4	8	11	14
0	No.	5	5	5	5
	Mean	19	17	19	22
	S.D.	2	3	5	1
300	No.	5	5	5	5
	Mean	21	20	21	21
	S.D.	1	3	2	2

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein					2) Ketone body					3) Glucose								
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	
0	5	0	0	0	0	0	2	3	0		0	2	3	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	
12	5	0	0	0	0	1	1	2	1		0	4	1	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	
60	5	0	0	0	0	0	0	2	3	0		0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
300	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0		0	2	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0

1) - : <10 mg/dL      +- : 10 - 25 mg/dL      + : 26 - 85 mg/dL      ++ : 86 - 250 mg/dL      +++ : 251 - 600 mg/dL      +++++ : >600 mg/dL  
 2) - : <5 mg/dL      +- : 5 - 7.5 mg/dL      + : 7.6 - 30 mg/dL      ++ : 31 - 70 mg/dL      +++ : 71 - 125 mg/dL      +++++ : >125 mg/dL  
 3) - : <30 mg/dL      +- : 30 - 60 mg/dL      + : 61 - 125 mg/dL      ++ : 126 - 250 mg/dL      +++ : 251 - 750 mg/dL      +++++ : >750 mg/dL

Table 5-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood				5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color					
		-	+-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	Y	LP	P	DP
0	5	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0
12	5	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0
60	5	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0
300	5	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	2	3	0

4) - : <0.03 mg/dL      +- : 0.03 - 0.05 mg/dL      + : 0.06 - 0.15 mg/dL      ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL      +++ : >0.75 mg/dL

5) - : <0.5 mg/dL      + : 0.5 - 1.5 mg/dL      ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL      +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL      +++++ : >10.0 mg/dL

6) +- : <2.0 mg/dL      + : 2.0 - 3.5 mg/dL      ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL      +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL      +++++ : >12.0 mg/dL

7) Y : Yellow      LP : Light purple      P : Purple      DP : Dark purple

Table 5-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT												CRYSTALLIZATION						PS			CO							
		RBC				WBC				SEC				SREC				Cast			PS			CO						
		-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	1	4	0	0	0	5	0	0	0	0
12	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	1	4	0	0	0	5	0	0	0	0
60	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	4	1	0	0	5	0	0	0	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	4	1	0	0	5	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell      - : Negative  
 SREC : Small Round Epithelial Cell      +- : Slight  
 PS : Phosphate Salts      + : Mild  
 CO : Calcium Oxalate      ++ : Moderate  
 +++ : Severe

Table 5-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Water intake and urinalysis (Week 6 of administration)

Male

Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	48	21.2	1872
		S.D.	8	6.0	266
12	5	Mean	42	22.1	1900
		S.D.	5	2.1	425
60	5	Mean	45	21.6	1834
		S.D.	7	6.3	484
300	5	Mean	44	17.0	2076
		S.D.	6	3.5	393

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 5-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Urinalysis of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein				2) Ketone body				3) Glucose									
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	++	+	++	+++	++++	-	++	+	++	+++	++++	-	++	+	++	+++	++++
0	5	0	0	1	0	1	1	0	2	0	2	2	0	1	0	0	3	1	1	0	0	0	5	0	0	0	0	0
300	5	0	0	1	2	1	1	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0

Table 5-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Urinalysis of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood			5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color					
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	--	+	++	+++	++++	Y	LP	P	DP
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	1	2	2

4) - : <0.03 mg/dL      +- : 0.03 - 0.05 mg/dL      + : 0.06 - 0.15 mg/dL      ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL      +++ : >0.75 mg/dL

5) - : <0.5 mg/dL      + : 0.5 - 1.5 mg/dL      ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL      +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL      +++++ : >10.0 mg/dL

6) +- : <2.0 mg/dL      + : 2.0 - 3.5 mg/dL      ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL      +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL      +++++ : >12.0 mg/dL

7) Y : Yellow      LP : Light purple      P : Purple      DP : Dark purple

Table 5-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Urinalysis of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT												CRYSTALLIZATION						PS			CO							
		RBC				WBC				SEC				SREC				Cast			PS			CO						
		-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell      - : Negative  
 SREC : Small Round Epithelial Cell      +- : Slight  
 PS : Phosphate Salts      + : Mild  
 CO : Calcium Oxalate      ++ : Moderate  
 +++ : Severe

Table 5-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Water intake and urinalysis (Satellite group, Week 6 of administration)

Female

Dose mg/kg	No.	Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean S.D.	28 5	7.8 3.3
300	5	Mean S.D.	31 8	10.4 2.5
				2403 611
				2008 295

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein					2) Ketone body					3) Glucose									
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++		
0	5	0	0	0	0	1	0	2	1	1	1	1	3	0	0	0	2	3	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0		
300	5	0	0	0	0	1	2	1	1	0	3	2	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0		
1)	- : <10 mg/dL	+- : 10 - 25 mg/dL				+ : 26 - 85 mg/dL	++ : 86 - 250 mg/dL				+++ : 251 - 600 mg/dL				++++ : >600 mg/dL				- : <5 mg/dL				+- : 5 - 7.5 mg/dL				+ : 7.6 - 30 mg/dL			
2)	- : <5 mg/dL	+- : 30 - 60 mg/dL				+ : 61 - 125 mg/dL	++ : 126 - 250 mg/dL				+++ : 251 - 750 mg/dL				++++ : >750 mg/dL				- : <30 mg/dL				+- : 30 - 60 mg/dL				+ : 61 - 125 mg/dL			
3)	- : <30 mg/dL	+- : 30 - 60 mg/dL				+ : 61 - 125 mg/dL	++ : 126 - 250 mg/dL				+++ : 251 - 750 mg/dL				++++ : >750 mg/dL				- : <30 mg/dL				+- : 30 - 60 mg/dL				+ : 61 - 125 mg/dL			

Table 5-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color			
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	Y	LP	P	DP
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0
300	5	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0

4) - : <0.03 mg/dL      +- : 0.03 - 0.05 mg/dL      + : 0.06 - 0.15 mg/dL      ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL      +++ : >0.75 mg/dL

5) - : <0.5 mg/dL      + : 0.5 - 1.5 mg/dL      ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL      +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL      +++++ : >10.0 mg/dL

6) +- : <2.0 mg/dL      + : 2.0 - 3.5 mg/dL      ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL      +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL      +++++ : >12.0 mg/dL

7) Y : Yellow      LP : Light purple      P : Purple      DP : Dark purple

Table 5-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

### Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

URINE SEDIMENT															CRYSTALLIZATION								
Dose mg/kg	No.	RBC			WBC			SEC			SREC			Cast		PS			CO				
		-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+	-	+-	++	+++	-	+-	++	+++
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0

SEC	: Squamous Epithelial Cell	-	: Negative
SREC	: Small Round Epithelial Cell	+-	: Slight
PS	: Phosphate Salts	+	: Mild
CO	: Calcium Oxalate	++	: Moderate
		+++	: Severe

Table 5-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	53	18.0	1856
		S.D.	14	6.2	414
300	5	Mean	49	18.4	1974
		S.D.	7	2.9	401

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

### Urinalysis of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein				2) Ketone body				3) Glucose									
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
0	5	0	0	1	2	1	0	1	0	0	1	2	2	0	0	0	1	1	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0
300	5	0	0	0	4	0	0	1	0	0	0	2	3	0	0	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0

Table 5-14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Urinalysis of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood				5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color				
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	Y	LP	P	DP
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2	3	0	0

4) - : <0.03 mg/dL      +- : 0.03 - 0.05 mg/dL      + : 0.06 - 0.15 mg/dL      ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL      +++ : >0.75 mg/dL

5) - : <0.5 mg/dL      + : 0.5 - 1.5 mg/dL      ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL      +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL      +++++ : >10.0 mg/dL

6) +- : <2.0 mg/dL      + : 2.0 - 3.5 mg/dL      ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL      +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL      +++++ : >12.0 mg/dL

7) Y : Yellow      LP : Light purple      P : Purple      DP : Dark purple

Table 5-15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of 1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

### Urinalysis of female rats (Week 2 of recovery)

URINE SEDIMENT															CRYSTALLIZATION																
Dose mg/kg	No.	RBC				WBC				SEC				SREC				Cast		PS				CO							
		-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++		
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0	0	
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	1	4	0	0	0	5	0	0	0	0

SEC	: Squamous Epithelial Cell	-	: Negative
SREC	: Small Round Epithelial Cell	+-	: Slight
PS	: Phosphate Salts	+	: Mild
CO	: Calcium Oxalate	++	: Moderate
		+++	: Severe

Table 5-16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery)

## Female

Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	35	6.8	2398
		S.D.	6	1.9	411
300	5	Mean	35	8.7	2235
		S.D.	7	1.8	460

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.	RBC X10 <sup>6</sup> /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 <sup>4</sup> /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	7	Mean 878	15.4	44.6	50.9	17.5	34.4	2.0	113.1	12.8	18.8	283
		S.D. 32	0.6	1.8	1.1	0.4	0.3	0.3	20.4	0.7	3.0	35
12	5	Mean 860	15.2	44.3	51.5	17.7	34.4	1.9	109.2	14.0	19.8	275
		S.D. 41	0.5	1.5	2.1	0.7	0.8	0.2	10.6	2.7	3.3	16
60	5	Mean 864	15.1	44.4	51.4	17.6	34.1	2.7*	113.5	13.0	19.3	272
		S.D. 24	0.4	1.4	0.9	0.4	0.4	0.5D	7.8	1.8	2.9	41
300	7	Mean 904	15.3	44.9	49.7	17.0	34.1	2.2	123.1	14.0	19.9	280
		S.D. 58	0.7	2.2	1.3	0.5	0.3	0.5	6.0	1.9	2.4	25

\* : p&lt;0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.	WBC X10 <sup>3</sup> /μL	Differential leukocyte counts (%)						Differential leukocyte counts (X10 <sup>2</sup> /μL)						
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	7	Mean	81.1	76.0	19.7	1.5	0.2	2.1	0.4	62.2	15.4	1.2	0.2	1.7	0.3
		S.D.	14.7	6.1	5.5	0.3	0.1	0.5	0.2	15.0	2.9	0.3	0.1	0.3	0.2
12	5	Mean	72.6	74.3	21.4	1.4	0.2	2.4	0.3	54.0	15.5	1.1	0.1	1.8	0.2
		S.D.	10.9	4.4	4.6	0.2	0.1	0.5	0.0	9.4	3.7	0.3	0.1	0.6	0.0
60	5	Mean	111.0*	71.8	23.3	1.2	0.3	2.9	0.6	80.3	25.2*	1.3	0.3	3.1**	0.7
		S.D.	19.2D	5.4	5.6	0.2	0.1	0.9	0.4	19.9	4.8D	0.5	0.1	0.9D	0.5
300	7	Mean	97.8	72.1	23.6	1.1*	0.3	2.4	0.5	70.5	23.1*	1.1	0.3	2.4	0.5
		S.D.	21.4	5.5	5.2	0.3D	0.1	0.4	0.3	16.8	7.4D	0.2	0.1	0.7	0.3

LUC : Large unstained cells

\* : p&lt;0.05 ; \*\* : p&lt;0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnnett's test

Table 6-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (Lactation day 5)

## Female

Dose mg/kg	No.		RBC ×10 <sup>6</sup> /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let ×10 <sup>3</sup> /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	9	Mean	735	13.6	40.3	54.9	18.5	33.7	7.1	143.7	12.4	17.1	316
		S.D.	33	0.6	1.6	1.5	0.5	0.4	1.5	21.3	0.8	2.4	69
12	5	Mean	720	13.3	39.5	54.9	18.4	33.6	6.4	139.8	11.8	17.0	274
		S.D.	34	0.5	1.4	1.7	0.7	0.5	1.2	11.2	0.5	1.0	30
60	5	Mean	741	13.6	40.3	54.4	18.4	33.8	5.5	139.2	12.0	17.4	246
		S.D.	25	0.6	1.6	1.5	0.6	0.3	1.1	22.3	0.3	1.9	33
300	1	Mean	748	14.4	41.1	55.0	19.3	35.0	3.2	119.8	12.5	15.7	223
		S.D.											

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (Lactation day 5)

## Female

Dose mg/kg	No.	WBC X10 <sup>3</sup> /μL	Differential leukocyte counts (%)						Differential leukocyte counts (X10 <sup>3</sup> /μL)						
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	9	Mean	132.5	59.8	36.1	0.8	0.2	2.6	0.6	79.8	47.4	1.0	0.3	3.3	0.8
		S.D.	31.7	12.1	11.9	0.5	0.1	0.7	0.4	26.5	18.8	0.5	0.1	0.7	0.5
12	5	Mean	119.4	61.8	34.3	0.6	0.2	2.6	0.4	71.6	43.3	0.7	0.3	3.0	0.5
		S.D.	42.9	12.7	12.9	0.2	0.1	0.6	0.1	26.1	22.0	0.3	0.1	1.0	0.3
60	5	Mean	67.9**	72.7	22.7	0.8	0.2	3.2	0.4	49.6	15.1**	0.5	0.1*	2.2*	0.3
		S.D.	17.5D	5.5	4.7	0.2	0.1	0.9	0.2	15.2	3.4D	0.1	0.0D	0.7D	0.2
300	1	Mean	64.8	71.0	24.2	1.2	0.2	3.0	0.4	46.0	15.7	0.8	0.1	1.9	0.3
		S.D.													

LUC : Large unstained cells

\* : p&lt;0.05 ; \*\* : p&lt;0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (Satellite group, End of administration)

## Female

Dose mg/kg	No.	RBC X10 <sup>4</sup> /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 <sup>4</sup> /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL	
0	5	Mean S.D.	856 31	15.1 0.4	44.2 1.4	51.7 1.3	17.7 0.5	34.2 0.6	1.7 0.4	109.2 11.1	11.7 1.3	17.4 2.1	233 50
300	5	Mean S.D.	818 27	14.8 0.2	42.6* 0.6T	52.1 1.4	18.1 0.6	34.7 0.3	2.2 0.5	129.1 27.9	11.6 0.7	16.6 1.2	185 21

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 6-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.	WBC X10 <sup>3</sup> /μL	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts (X10 <sup>3</sup> /μL)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	64.8	79.3	16.9	1.3	0.2	1.8	0.5	50.9	11.4	0.8	0.1	1.2	0.3
		S.D.	8.8	10.1	10.2	0.4	0.1	0.7	0.2	6.6	7.8	0.3	0.0	0.5	0.1
300	5	Mean	57.7	75.6	19.8	1.2	0.2	2.9	0.4	44.2	10.7	0.7	0.1	1.8	0.2
		S.D.	13.2	8.7	9.0	0.3	0.1	1.3	0.2	13.8	4.2	0.3	0.1	0.9	0.1

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (End of recovery)

## Male

Dose mg/kg	No.	RBC X10 <sup>6</sup> /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 <sup>3</sup> /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	5	Mean	931	16.0	47.3	50.8	17.2	33.9	1.8	112.7	13.7	20.0
		S.D.	24	0.4	0.7	1.5	0.6	0.5	0.4	4.1	1.6	2.6
300	5	Mean	902	15.6	46.4	51.4	17.3	33.7	1.8	105.4	14.3	20.2
		S.D.	16	0.3	0.9	0.7	0.2	0.1	0.7	8.6	1.5	3.2

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (End of recovery)

## Male

Dose mg/kg	No.	WBC X10 <sup>3</sup> /μL	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts (X10 <sup>3</sup> /μL)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	96.1	75.5	19.2	1.6	0.3	2.7	0.6	71.7	19.2	1.5	0.3	2.8	0.6
		S.D.	21.6	9.4	8.5	0.3	0.1	0.8	0.1	14.3	11.5	0.5	0.1	1.2	0.3
300	5	Mean	82.0	77.9	17.1	1.9	0.2	2.5	0.5	64.9	13.2	1.5	0.2	1.9	0.4
		S.D.	27.7	8.0	7.2	0.6	0.1	0.9	0.2	25.9	5.8	0.6	0.1	0.3	0.1

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (End of recovery)

## Female

Dose mg/kg	No.	RBC X10 <sup>6</sup> /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 <sup>3</sup> /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	5	Mean	862	15.5	45.2	52.5	18.0	34.2	2.0	116.7	11.5	16.4
		S.D.	36	0.6	1.2	1.5	0.4	0.5	0.5	10.9	0.5	0.9
300	5	Mean	854	15.3	44.3	51.9	17.9	34.6	1.8	119.3	11.6	17.6
		S.D.	25	0.3	1.3	0.4	0.3	0.4	0.3	5.6	0.6	1.9

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 6-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hematology (End of recovery)

## Female

Dose mg/kg	No.	WBC X10 <sup>3</sup> /μL	Differential leukocyte counts (%)						Differential leukocyte counts (X10 <sup>3</sup> /μL)						
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	67.4	79.0	16.8	1.7	0.3	1.9	0.4	54.1	10.5	1.0	0.2	1.3	0.3
		S.D.	27.8	6.2	6.1	0.6	0.1	0.2	0.1	26.0	3.4	0.1	0.1	0.6	0.2
300	5	Mean	61.5	78.8	17.3	1.6	0.2	1.7	0.5	48.8	10.3	0.9	0.1	1.0	0.3
		S.D.	9.7	6.3	6.7	0.3	0.1	0.4	0.2	10.7	2.9	0.3	0.1	0.4	0.1

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	$\gamma$ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	7	Mean	64	27	49	1	324	51	20	81	0.1	128
		S.D.	5	3	9	0	74	7	5	9	0.0	13
12	5	Mean	60	28	46	1	350	49	47	83	0.1	150*
		S.D.	4	2	4	0	20	10	46	14	0.0	13D
60	5	Mean	57	27	50	1	314	44	51* 39ST	79	0.1	156** 11D
		S.D.	6	4	4	0	36	8		10	0.0	
300	7	Mean	60	29	47	1	343	48	37	82	0.1	140
		S.D.	5	4	9	0	79	6	18	12	0.0	13

\* : p<0.05 ; \*\* : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

ST : Steel's test

Table 7-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Blood chemistry (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	7	Mean	14	0.22	144	4.4	107	9.5	6.1	5.9	3.0	1.05
		S.D.	1	0.03	1	0.2	2	0.2	0.5	0.2	0.2	0.11
12	5	Mean	14	0.22	143	4.5	106	9.4	6.1	5.9	3.1	1.09
		S.D.	1	0.02	1	0.3	2	0.3	0.4	0.2	0.1	0.09
60	5	Mean	13	0.20	144	4.5	108	9.6	6.2	5.8	3.1	1.12
		S.D.	1	0.03	1	0.3	1	0.3	0.5	0.2	0.1	0.08
300	7	Mean	14	0.21	144	4.5	107	9.5	6.1	5.8	3.0	1.07
		S.D.	2	0.03	1	0.3	1	0.3	0.7	0.1	0.1	0.08

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (Lactation day 5)

## Female

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	$\gamma$ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	9	Mean	76	51	42	1	249	53	44	107	0.1	125
		S.D.	8	6	9	0	88	9	11	15	0.0	13
12	5	Mean	69	44	40	1	249	60	40	116	0.1	133
		S.D.	10	18	11	0	103	16	23	26	0.0	12
60	5	Mean	65	32*	45	1	144	62	26	115	0.1	144*
		S.D.	14	11D	12	0	44	10	7	10	0.0	15D
300	1	Mean	69	31	49	1	178	76	23	140	0.1	160
		S.D.										

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)  
D : Dunnett's test

Table 7-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (Lactation day 5)

Female

Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	9	Mean	14	0.27	140	4.2	106	9.8	6.4	6.3	3.3	1.10
		S.D.	2	0.02	1	0.4	2	0.2	0.5	0.2	0.2	0.14
12	5	Mean	14	0.26	140	4.4	107	9.8	5.9	6.3	3.3	1.11
		S.D.	2	0.03	1	0.3	2	0.2	0.5	0.2	0.1	0.06
60	5	Mean	14	0.24*	141	4.3	107	10.1	6.3	6.6	3.5	1.12
		S.D.	2	0.01D	1	0.4	2	0.4	0.9	0.3	0.2	0.04
300	1	Mean	12	0.27	141	4.1	107	9.8	4.7	6.7	3.5	1.09
		S.D.										

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 7-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	$\gamma$ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	61	26	41	1	186	65	18	122	0.1	129
		S.D.	5	1	6	0	77	14	5	22	0.0	10
300	5	Mean	67	36*	46	1	162	72	22	134	0.1	133
		S.D.	6	8AT	7	0	42	14	9	20	0.0	11

\* : p&lt;0.05 (Significant difference from control group)

AT : Aspin-Welch t-test

Table 7-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean 17	0.31	142	4.1	108	9.5	4.1	6.4	3.6	1.24
		S.D. 2	0.03	1	0.1	2	0.2	0.3	0.4	0.2	0.05
300	5	Mean 14*	0.30	142	4.2	108	9.7	4.0	6.8	3.7	1.20
		S.D. 1T	0.03	2	0.3	2	0.1	0.8	0.2	0.2	0.11

\* : p&lt;0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 7-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (End of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	$\gamma$ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	61	29	46	1	363	51	41	85	0.1	131
		S.D.	7	5	7	0	99	10	15	12	0.0	8
300	5	Mean	63	29	46	0	312	48	38	80	0.1	139
		S.D.	9	7	7	1	57	12	24	17	0.0	10

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (End of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean 1	0.27 0.02	143 2	4.5 0.1	107 2	9.6 0.3	5.5 0.3	6.0 0.2	3.1 0.1	1.10 0.05
300	5	Mean 1T	0.25 0.03	143 2	4.5 0.1	108 2	9.5 0.3	5.7 0.5	5.9 0.3	3.0 0.1	1.08 0.05

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 7-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (End of recovery)

## Female

Dose mg/kg	No.	AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	$\gamma$ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	75	37	56	1	179	59	14	112	0.1
		S.D.	18	14	19	1	44	10	3	20	0.0
300	5	Mean	87	57	43	2	171	68	17	126	0.1
		S.D.	33	44	3	1	56	13	5	16	0.0

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Blood chemistry (End of recovery)

## Female

Dose mg/kg	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean 1	0.36 0.02	143 1	4.4 0.3	109 1	9.8 0.3	5.3 0.5	6.4 0.3	3.6 0.3	1.25 0.07
300	5	Mean 2T	15* 0.02T	142 1	4.4 0.1	108 2	9.8 0.4	5.4 0.4	6.7 0.3	3.5 0.2	1.13* 0.08T

\* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 8-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hormones (End of administration)

## Male

Dose mg/kg	No.		T <sub>3</sub> ng/dL	T <sub>4</sub> μg/dL	TSH ng/mL
0	7	Mean	77.9	5.2	2.19
		S.D.	17.5	0.9	0.99
12	5	Mean	86.9	6.6	4.60
		S.D.	16.3	1.7	3.93
60	5	Mean	74.2	7.1	2.88
		S.D.	14.0	1.3	1.86
300	7	Mean	81.3	6.5	1.76
		S.D.	12.3	1.1	0.79

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Hormones (Lactation day 5)

Female

Dose mg/kg	No.		T <sub>3</sub> ng/dL	T <sub>4</sub> μg/dL	TSH ng/mL
0	9	Mean	73.1	3.8	1.89
		S.D.	14.0	0.8	1.38
12	5	Mean	75.8	4.3	2.50
		S.D.	14.8	0.8	1.86
60	5	Mean	93.0*	6.4**	4.13
		S.D.	10.6D	0.7D	2.73
300	1	Mean	83.9	6.7	1.25
		S.D.			

\* : p<0.05 ; \*\* : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 8-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Hormones (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.		T <sub>3</sub> ng/dL	T <sub>4</sub> μg/dL	TSH ng/mL
0	5	Mean	73.7	2.8	1.71
		S.D.	12.3	0.3	1.38
300	5	Mean	58.6	4.0	1.90
		S.D.	11.0	1.2	1.90

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hormones (End of recovery)

## Male

Dose mg/kg	No.		T <sub>3</sub> ng/dL	T <sub>4</sub> μg/dL	TSH ng/mL
0	5	Mean	85.2	5.7	1.61
		S.D.	19.7	1.6	1.90
300	5	Mean	73.9	5.6	1.97
		S.D.	18.2	1.8	1.73

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Hormones (End of recovery)

Female

Dose mg/kg	No.		T <sub>3</sub> ng/dL	T <sub>4</sub> μg/dL	TSH ng/mL
0	5	Mean	100.9	3.7	3.27
		S.D.	30.1	1.3	1.93
300	5	Mean	92.8	3.7	1.46
		S.D.	17.0	0.5	0.58

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of male rats (End of administration period)

	Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	7 515 36	7 2.18 0.09	7 15.6 2.3	7 27.4 8.7	7 337 71
Absolute	12	No. Mean S.D.	5 525 52	5 2.17 0.05	5 14.9 1.0	5 27.4 2.1	5 313 75
	60	No. Mean S.D.	5 511 38	5 2.11 0.07	5 13.4 0.8	5 23.4 2.9	5 362 127
	300	No. Mean S.D.	7 501 39	7 2.13 0.07	7 13.9 2.8	7 26.2 3.7	7 301 45
	0	No. Mean S.D.	7 0.42 0.03	7 3.0 0.4	7 5.3 1.5	7 66 13	7 0.27 0.03
Relative	12	No. Mean S.D.	5 0.42 0.04	5 2.8 0.1	5 5.2 0.6	5 59 13	5 0.29 0.03
	60	No. Mean S.D.	5 0.42 0.04	5 2.6 0.3	5 4.6 0.9	5 71 23	5 0.29 0.04
	300	No. Mean S.D.	7 0.43 0.03	7 2.8 0.4	7 5.3 0.9	7 60 11	7 0.29 0.02

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of male rats (End of administration period)

		Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	Seminal vesicle	Prostate
Dose mg/kg		g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No. Mean S.D.	7 12.07 0.74	7 0.89 0.09	7 3.43 0.37	7 79 12	7 1.90 0.28
	12	No. Mean S.D.	5 13.61 2.01	5 0.78 0.09	5 3.43 0.23	5 67 4	5 1.79 0.28
	60	No. Mean S.D.	5 14.55* 1.25D	5 0.77 0.08	5 3.42 0.23	5 75 6	5 1.93 0.23
Relative	300	No. Mean S.D.	7 13.79 1.69	7 0.82 0.07	7 3.57 0.42	7 68 7	7 1.96 0.51
	0	No. Mean S.D.	7 2.35 0.11	7 0.17 0.02	7 0.67 0.07	7 15 2	7 0.37 0.04
	12	No. Mean S.D.	5 2.58 0.14	5 0.15 0.01	5 0.66 0.03	5 13 1	5 0.34 0.08
	60	No. Mean S.D.	5 2.85** 0.12D	5 0.15 0.02	5 0.67 0.03	5 15 1	5 0.38 0.03
	300	No. Mean S.D.	7 2.75** 0.23D	7 0.16 0.02	7 0.71 0.04	7 14 2	7 0.39 0.09
							0.29 0.03

\*: p<0.05; \*\*: p<0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 9-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of male rats (End of administration period)

	Dose mg/kg		Body weight g	Testis (R+L) g(g/100g BW)	Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	7	7	7
		Mean	515	3.58	1358
		S.D.	36	0.23	122
	12	No.	12	12	12
		Mean	525	3.44	1325
		S.D.	35	0.16	54
	60	No.	12	12	12
		Mean	508	3.49	1285
		S.D.	27	0.20	66
	300	No.	7	7	7
		Mean	501	3.48	1289
		S.D.	39	0.27	64
Relative	0	No.	7	7	7
		Mean	0.70	264	13
		S.D.	0.03		
	12	No.	12	12	12
		Mean	0.66	254	19
		S.D.	0.06		
	60	No.	12	12	12
		Mean	0.69	253	16
		S.D.	0.06		
	300	No.	7	7	7
		Mean	0.70	259	23
		S.D.	0.07		

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of female rats (Main group, end of administration period)

		Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	9	9	9	9	9	9
		Mean	311	2.00	19.0	16.5	218	1.04
		S.D.	19	0.06	1.5	3.8	67	0.10
	12	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	314	1.97	18.1	16.6	208	0.99
		S.D.	16	0.06	2.1	2.5	75	0.06
	60	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	305	2.02	16.2*	19.0	232	0.98
		S.D.	27	0.04	2.6D	1.7	92	0.12
	300	No.	1	1	1	1	1	1
		Mean	275	1.88	16.6	12.9	126	0.88
		S.D.						
Relative	0	No.	9	9	9	9	9	9
		Mean	0.65	6.1	5.3	70	0.34	
		S.D.	0.04	0.6	1.3	21	0.02	
	12	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.63	5.8	5.3	66	0.32	
		S.D.	0.02	0.5	0.9	23	0.02	
	60	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.67	5.3*	6.3	75	0.32	
		S.D.	0.07	0.6D	1.0	29	0.01	
	300	No.	1	1	1	1	1	1
		Mean	0.68	6.0	4.7	46	0.32	
		S.D.						

\*: p<0.05 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 9-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of female rats (Main group, end of administration period)

		Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	Ovary (R+L)	Uterus
Dose mg/kg		g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No. Mean S.D.	9 10.27 0.65	9 0.74 0.14	9 2.14 0.22	9 85 7	9 113.2 13.7
	12	No. Mean S.D.	5 10.21 0.74	5 0.67 0.08	5 2.23 0.24	5 74* 7D	5 110.0 8.6
	60	No. Mean S.D.	5 10.11 1.19	5 0.74 0.15	5 2.26 0.28	5 83 8	5 115.1 20.8
	300	No. Mean S.D.	1 9.26	1 0.51	1 1.95	1 83	1 98.7
	0	No. Mean S.D.	9 3.30 0.11	9 0.24 0.04	9 0.69 0.06	9 27 1	9 36.5 4.5
	12	No. Mean S.D.	5 3.25 0.11	5 0.21 0.02	5 0.71 0.06	5 24** 1D	5 35.0 2.5
Relative	60	No. Mean S.D.	5 3.31 0.17	5 0.24 0.03	5 0.74 0.05	5 27 2	5 37.7 5.0
	300	No. Mean S.D.	1 3.37	1 0.19	1 0.71	1 30	1 35.9
							1 402

\*: p<0.05; \*\*: p<0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 9-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of female rats (Satellite group, end of administration period)

		Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	274	1.95	17.8	15.0	267	0.88
		S.D.	15	0.06	2.1	2.0	52	0.07
	300	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	282	1.98	16.5	14.7	232	0.90
		S.D.	24	0.05	2.0	3.3	28	0.06
Relative	0	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.71	6.5	5.5	97	0.32	0.32
		S.D.	0.04	1.0	0.7	16	0.01	0.01
	300	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.70	5.8	5.2	82	0.32	0.32
		S.D.	0.05	0.6	1.0	4	0.02	0.02

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of female rats (Satellite group, end of administration period)

Dose mg/kg		Liver		Spleen		Kidney (R+L)		Adrenal (R+L)		Ovary (R+L)		Uterus	
		g(g/100g BW)		g(g/100g BW)		g(g/100g BW)		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)	
Absolute	0	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	6.80		0.58		1.91		69		93.3		551
		S.D.	0.67		0.04		0.18		5		9.4		61
	300	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	7.96*		0.53*		1.96		86**		81.8*		555
		S.D.	0.83T		0.01AT		0.14		9T		4.3T		145
Relative	0	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	2.49		0.21		0.70		25		34.3		202
		S.D.	0.24		0.01		0.06		1		4.5		25
	300	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	2.82*		0.19**		0.70		30**		29.2		196
		S.D.	0.18T		0.01T		0.03		2T		3.7		43

\*: p<0.05; \*\*: p<0.01 (Significant difference from control group)

T: Student's t-test

AT: Aspin-Welch t-test

Table 9-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of male rats (End of recovery period)

	Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	514	2.16	14.2	25.6	261
		S.D.	17	0.10	2.0	4.2	88
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	528	2.17	15.2	25.9	286
		S.D.	55	0.08	1.3	1.5	89
Relative	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.42	2.8	5.0	50	0.26
		S.D.	0.01	0.4	0.9	16	0.01
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.41	2.9	4.9	54	0.29
		S.D.	0.04	0.5	0.6	15	0.03

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of male rats (End of recovery period)

		Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	Seminal vesicle	Prostate
Dose mg/kg		g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No. Mean S.D.	5 13.16 1.13	5 0.81 0.10	5 3.44 0.32	5 61 8	5 1.88 0.24
	300	No. Mean S.D.	5 13.64 2.63	5 0.82 0.11	5 3.72 0.38	5 68 6	5 2.05 0.27
Relative	0	No. Mean S.D.	5 2.56 0.19	5 0.16 0.02	5 0.67 0.06	5 12 2	5 0.37 0.05
	300	No. Mean S.D.	5 2.56 0.26	5 0.16 0.02	5 0.70 0.04	5 13 3	5 0.39 0.04

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of male rats (End of recovery period)

Dose mg/kg		Testis (R+L)		Epididymis (R+L)	
		g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)		
Absolute	0	No.	5	5	
		Mean	3.42	1436	
		S.D.	0.35	72	
	300	No.	5	5	
		Mean	3.61	1405	
		S.D.	0.29	67	
Relative	0	No.	5	5	
		Mean	0.67	280	
		S.D.	0.06	20	
	300	No.	5	5	
		Mean	0.68	268	
		S.D.	0.05	32	

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of female rats (End of recovery period)

Dose mg/kg		Body weight g	Brain	Pituitary	Thyroid (R+L)	Thymus	Heart
			g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	285	1.97	16.7	282	0.87
		S.D.	19	0.10	2.9	77	0.07
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	280	1.99	17.3	246	0.86
		S.D.	13	0.09	2.7	58	0.02
Relative	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.70	5.9	5.6	99	0.30
		S.D.	0.06	1.0	1.4	29	0.02
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.71	6.2	6.1	88	0.31
		S.D.	0.01	1.2	0.9	20	0.02

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Organ weight of female rats (End of recovery period)

Dose mg/kg		Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	Ovary (R+L)	Uterus
		g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No. Mean S.D.	5 6.85 0.66	5 0.55 0.03	5 1.88 0.16	5 68 9	5 77.7 7.0
	300	No. Mean S.D.	5 7.17 0.45	5 0.53 0.06	5 1.93 0.11	5 75 6	5 75.9 12.0
Relative	0	No. Mean S.D.	5 2.40 0.09	5 0.19 0.02	5 0.67 0.08	5 24 4	5 27.4 3.6
	300	No. Mean S.D.	5 2.57 0.25	5 0.19 0.02	5 0.69 0.05	5 27 3	5 27.2 4.9

No significant difference between treated group and control group.

Table 10-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Gross pathological findings (End of administration period (D42))

Organs	Sex:	M	M	M	M
Findings	Dose(mg/kg):	0	12	60	300
	Number:	7	12	12	7
Epididymis					
Focus,white		0	1	0	0
Stomach					
Focus,dark red,glandular stomach		0	0	1	0
Adipose tissue,general					
Discoloration,blue		0	12	12	7
Skin,general					
Discoloration,blue		0	0	12	7

M : Male

Table 10-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Gross pathological findings (End of administration period (D42))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 5	F 300 5
General descriptions			
Discoloration,blue,general a)		0	5
Adipose tissue,general			
Discoloration,blue		0	5
Skin,general			
Discoloration,blue		0	5

F : Female

a): Except for adipose tissue and skin

Table 10-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Gross pathological findings (End of administration period (L4))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 9	F 12 11	F 60 10	F 300 1
General descriptions					
Discoloration,blue,general a)		0	1	8	1
Lung(bronchus)					
Focus,dark red		1	0	0	0
Stomach					
Focus,dark red,glandular stomach		0	0	2	0
Adipose tissue,general					
Discoloration,blue		0	11	10	1
Skin,general					
Discoloration,blue		0	8	10	1

F : Female

a): Except for adipose tissue and skin

Table 10-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Gross pathological findings (End of recovery period)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 5	M 300 5	F 0 5	F 300 5
Lung(bronchus) Focus,dark red		0	1	0	0
Stomach Focus,dark red,glandular stomach		1	0	0	1
Adipose tissue,general Discoloration,blue		0	2	0	3
Skin,general Discoloration,blue		0	0	0	1

M : Male, F : Female

Table 10-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Gross pathological findings (Undelivered)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg):	0
	Number:	2
All tissues		
Not remarkable		2

F : Female

Table 10-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Gross pathological findings (All littermates died)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 1	F 12 1	F 60 2	F 300 11
General descriptions					
Discoloration,blue,general a)		0	0	2	11
Thymus					
Small		0	0	0	2
Adipose tissue,general					
Discoloration,blue		0	1	2	11
Skin,general					
Discoloration,blue		0	1	2	11

F : Female

a): Except for adipose tissue and skin

Table 11-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 7	M 12 12	M 60 12	M 300 7
Adrenal					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Bone+Bone marrow,femoral					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Bone+Bone marrow,sternal					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Cerebellum(pons)					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Cerebrum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Epididymis					
Number examined		7	1	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Granuloma,spermatic mild		0	1	0	0
Eye					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Heart					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		6	0	0	6
Cell infiltration minimal		1	0	0	1
Intestine,duodenum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,jejunum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,ileum(Peyer's patch)					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,cecum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		6	0	0	7
Cell infiltration,mucosal minimal		1	0	0	0
Intestine,colon					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,rectum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7

M : Male

Table 11-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs	Sex:	M	M	M	M
Findings	Dose(mg/kg):	0	12	60	300
	Number:	7	12	12	7
Kidney					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		5	0	0	3
Regeneration,tubular		2	0	0	4
minimal		2	0	0	4
Liver					
Number examined		7	12	12	7
Not remarkable		0	1	0	0
Microgranuloma		7	11	12	7
minimal		7	11	12	7
Hypertrophy, hepatocyte,centrilobular		0	0	3	7
minimal		0	0	3	7
Lung(bronchus)					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		4	0	0	3
Cell infiltration,perivascular		1	0	0	1
minimal		1	0	0	1
Appearance,alveolar macrophage		3	0	0	3
minimal		3	0	0	3
Granuloma		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Lymph node,mesenteric					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Lymph node,submandibular					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Mammary gland,inguinal					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Pancreas					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Parathyroid					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Pituitary					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Prostate					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		3	0	0	4
Cell infiltration,inflammatory		4	0	0	3
minimal		4	0	0	3
Salivary gland,submandibular					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Sciatic nerve					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7

M : Male

Table 11-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs	Sex:	M	M	M	M
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 7	12 12	60 12	300 7
Seminal vesicle(coagulating gland)					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	7	0	0	7	
Spinal cord, thoracic					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	7	0	0	7	
Spleen					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	3	0	0	1	
Hematopoiesis, extramedullary					
minimal	4	0	0	6	
mild	4	0	0	4	
moderate	0	0	0	2	
Stomach					
Number examined	7	0	1	7	
Not remarkable	7	0	0	7	
Erosion, glandular stomach					
minimal	0	0	1	0	
Testis					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	7	0	0	7	
Thymus					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	7	0	0	7	
Thyroid					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	7	0	0	7	
Trachea					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	7	0	0	7	
Urinary bladder					
Number examined	7	0	0	7	
Not remarkable	7	0	0	6	
Cell infiltration, mucosal					
minimal	0	0	0	1	
White adipose tissue					
Number examined	0	12	12	7	
Not remarkable	0	12	12	7	
Skin, auricle					
Number examined	0	0	12	7	
Not remarkable	0	0	12	7	

M : Male

Table 11-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs	Sex:	F		F
Findings	Dose(mg/kg):	Number:		Number:
Adrenal				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		1
Hypertrophy,cortical cell		0		4
minimal		0		3
mild		0		1
Bone+Bone marrow,femoral				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Bone+Bone marrow,sternal				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Cerebellum(pons)				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Cerebrum				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Eye				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Heart				
Number examined		5		5
Not remarkable		3		5
Cell infiltration		2		0
minimal		2		0
Intestine,duodenum				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Intestine,jejunum				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Intestine,ileum(Peyer's patch)				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Intestine,cecum				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Intestine,colon				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Intestine,rectum				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Kidney				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		3
Regeneration,tubular		0		2
minimal		0		2

F : Female

Table 11-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs	Sex:	F		F
Findings	Dose(mg/kg):	0		300
	Number:	5		5
Liver				
Number examined		5		5
Microgranuloma		5		5
minimal		5		4
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0		3
minimal		0		1
mild		0		
Lung(bronchus)				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Lymph node,mesenteric				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Lymph node,submandibular				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Mammary gland,inguinal				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Ovary				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Pancreas				
Number examined		5		4
Not remarkable		4		4
Atrophy,acinar,focal		1		1
minimal		1		1
Parathyroid				
Number examined		5		3
Not remarkable		5		3
No sample		0		2
Pituitary				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Salivary gland,submandibular				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Sciatic nerve				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Spinal cord,thoracic				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Spleen				
Number examined		5		5
Not remarkable		4		2
Hematopoiesis,extramedullary		4		3
minimal		4		3

F : Female

Table 11-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs	Sex:	F		F
Findings	Dose(mg/kg):	0	300	5
Stomach				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		4
Erosion,glandular stomach		0		1
minimal		0		1
Thymus				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Thyroid				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Trachea				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Urinary bladder				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Uterus				
Number examined		5		5
Not remarkable		5		5
Vagina				
Number examined		5		5
Not remarkable		4		5
Cell infiltration,mucosal		1		0
minimal		1		0
White adipose tissue				
Number examined		0		5
Not remarkable		0		5
Skin,auricle				
Number examined		0		5
Not remarkable		0		5

F : Female

Table 11-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (End of administration period (L4))

Organs	Sex:	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg):	0	12	60	300
	Number:	9	11	10	1
Adrenal					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Bone+Bone marrow,femoral					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Bone+Bone marrow,sternal					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Cerebellum(pons)					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Cerebrum					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Eye					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Heart					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		7	0	0	1
Cell infiltration		2	0	0	0
minimal		2	0	0	0
Intestine,duodenum					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		8	0	0	0
Erosion		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Intestine,jejunum					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Intestine,ileum(Peyer's patch)					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Intestine,cecum					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Intestine,colon					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Intestine,rectum					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Kidney					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		8	0	0	1
Regeneration,tubular		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0

F : Female

Table 11-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Histopathological findings (End of administration period (L4))

Organs	Sex:	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg):	0	12	60	300
	Number:	9	11	10	1
Liver					
Number examined		9	11	10	1
Not remarkable		4	2	1	0
Microgranuloma		5	9	9	1
minimal		5	9	9	1
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0	0	2	1
minimal		0	0	2	1
Lung(bronchus)					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		7	0	0	1
Appearance, alveolar macrophage		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Pneumonia, focal		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Lymph node,mesenteric					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Lymph node,submandibular					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Mammary gland,inguinal					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Ovary					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Pancreas					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Parathyroid					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Pituitary					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Salivary gland,submandibular					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Sciatic nerve					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Spinal cord,thoracic					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		9	0	0	1
Spleen					
Number examined		9	0	0	1
Not remarkable		0	0	0	1
Hematopoiesis, extramedullary		9	0	0	0
minimal		1	0	0	0
mild		8	0	0	0

F : Female

Table 11-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Histopathological findings (End of administration period (L4))

Organs	Sex:	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 9	12 11	60 10	300 1
Stomach					
Number examined	9	0	2	1	
Not remarkable	9	0	0	1	
Erosion,glandular stomach	0	0	2	0	
minimal	0	0	2	0	
Thymus					
Number examined	9	11	10	1	
Not remarkable	5	8	5	0	
Atrophy	4	3	5	1	
minimal	2	1	3	1	
mild	2	2	1	0	
moderate	0	0	1	0	
Thyroid					
Number examined	9	0	0	1	
Not remarkable	8	0	0	1	
Ectopic thymus	1	0	0	0	
minimal	1	0	0	0	
Trachea					
Number examined	9	0	0	1	
Not remarkable	9	0	0	1	
Urinary bladder					
Number examined	9	0	0	1	
Not remarkable	8	0	0	1	
Cell infiltration,mucosal	1	0	0	0	
minimal	1	0	0	0	
Uterus					
Number examined	9	0	0	1	
Not remarkable	9	0	0	1	
Vagina					
Number examined	9	0	0	1	
Not remarkable	9	0	0	1	
White adipose tissue					
Number examined	0	11	10	1	
Not remarkable	0	9	9	1	
Cell infiltration,inflammatory	0	2	1	0	
minimal	0	2	1	0	
Skin,auricle					
Number examined	0	8	10	1	
Not remarkable	0	8	10	1	

F : Female

Table 11-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Histopathological findings (End of recovery period)

Organs	Sex:	M	M	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 5	300 5	0 5	300 5
Adrenal					
Number examined		0	0	5	5
Not remarkable		0	0	5	5
Liver					
Number examined		5	5	5	5
Microgranuloma		5	5	5	5
minimal		5	5	5	5
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Lung(bronchus)					
Number examined		0	1	0	0
Cell infiltration, perivascular		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Appearance, alveolar macrophage		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Stomach					
Number examined		1	0	0	1
Erosion, glandular stomach		1	0	0	1
minimal		1	0	0	1
Thymus					
Number examined		0	0	5	5
Not remarkable		0	0	5	5
White adipose tissue					
Number examined		0	2	0	3
Not remarkable		0	2	0	3
Skin, auricle					
Number examined		0	0	0	1
Not remarkable		0	0	0	1

M : Male, F : Female

Table 11-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Histopathological findings (Undelivered)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg):	
	Number:	2
Adrenal		
Number examined		2
Not remarkable		2
Bone+Bone marrow,femoral		
Number examined		2
Not remarkable		2
Bone+Bone marrow,sternal		
Number examined		2
Not remarkable		2
Cerebellum(pons)		
Number examined		2
Not remarkable		2
Cerebrum		
Number examined		2
Not remarkable		2
Eye		
Number examined		2
Not remarkable		2
Heart		
Number examined		2
Not remarkable		2
Intestine,duodenum		
Number examined		2
Not remarkable		2
Intestine,jejunum		
Number examined		2
Not remarkable		2
Intestine,ileum(Peyer's patch)		
Number examined		2
Not remarkable		2
Intestine,cecum		
Number examined		2
Not remarkable		2
Intestine,colon		
Number examined		2
Not remarkable		2
Intestine,rectum		
Number examined		2
Not remarkable		2
Kidney		
Number examined		2
Regeneration,tubular		2
minimal		2
Liver		
Number examined		2
Microgranuloma		2
minimal		2

F : Female

Table 11-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (Undelivered)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg):	
Lung(bronchus)		
Number examined		2
Not remarkable		2
Lymph node,mesenteric		
Number examined		2
Not remarkable		2
Lymph node,submandibular		
Number examined		2
Not remarkable		2
Mammary gland,inguinal		
Number examined		2
Not remarkable		2
Ovary		
Number examined		2
Not remarkable		2
Pancreas		
Number examined		2
Not remarkable		2
Parathyroid		
Number examined		2
Not remarkable		2
Pituitary		
Number examined		2
Not remarkable		2
Salivary gland,submandibular		
Number examined		2
Not remarkable		2
Sciatic nerve		
Number examined		2
Not remarkable		2
Spinal cord,thoracic		
Number examined		2
Not remarkable		2
Spleen		
Number examined		2
Hematopoiesis,extramedullary		2
minimal		2
Stomach		
Number examined		2
Not remarkable		2
Thymus		
Number examined		2
Not remarkable		2
Thyroid		
Number examined		2
Not remarkable		1
Ectopic thymus		1
minimal		1

F : Female

Table 11-13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (Undelivered)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg):	0
	Number:	2
Trachea		
Number examined		2
Not remarkable		2
Urinary bladder		
Number examined		2
Not remarkable		2
Uterus		
Number examined		2
Not remarkable		2
Vagina		
Number examined		2
Not remarkable		2

F : Female

Table 11-14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (All littermates died)

Organs	Sex:	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 1	12 1	60 2	300 11
Adrenal					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Bone+Bone marrow,femoral					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Bone+Bone marrow,sternal					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Cerebellum(pons)					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Cerebrum					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Eye					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Heart					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	10
Cell infiltration		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Intestine,duodenum					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	10
Erosion		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Intestine,jejunum					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Intestine,ileum(Peyer's patch)					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Intestine,cecum					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Intestine,colon					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Intestine,rectum					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Kidney					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	10
Regeneration,tubular		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1

F : Female

Table 11-15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (All littermates died)

Organs	Sex:	F 0 Number: 1	F 12 1	F 60 2	F 300 11
Findings	Dose (mg/kg):				
Liver					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	1	5
Microgranuloma		0	0	1	4
minimal		0	0	1	4
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		0	0	0	6
minimal		0	0	0	6
Lung(bronchus)					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	8
Appearance, alveolar macrophage		0	0	0	3
minimal		0	0	0	3
Lymph node,mesenteric					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Lymph node,submandibular					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Mammary gland,inguinal					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Ovary					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Pancreas					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Parathyroid					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Pituitary					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Salivary gland,submandibular					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Sciatic nerve					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Spinal cord,thoracic					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Spleen					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		0	1	2	1
Hematopoiesis, extramedullary		1	0	0	10
minimal		0	0	0	2
mild		1	0	0	8

F : Female

Table 11-16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings (All littermates died)

Organs	Sex:	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg):	0	12	60	300
	Number:	1	1	2	11
Stomach					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Thymus					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		0	0	1	1
Atrophy		1	1	1	10
minimal		1	1	1	3
mild		0	0	0	3
moderate		0	0	0	4
Thyroid					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Trachea					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Urinary bladder					
Number examined		1	1	2	11
Not remarkable		1	1	2	11
Uterus					
Number examined		1	1	1	11
Not remarkable		1	1	1	11
Vagina					
Number examined		1	1	1	11
Not remarkable		1	1	1	11
White adipose tissue					
Number examined		0	1	2	11
Not remarkable		0	1	1	11
Cell infiltration,inflammatory		0	0	1	0
minimal		0	0	1	0
Skin,auricle					
Number examined		0	1	2	11
Not remarkable		0	1	2	11

F : Female

Table 12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Estrous cycle in female rats during the pre-mating period

Dose mg/kg	No. of animals	Count of estrus					Mean duration of cycles Mean±S.D.
		0	1	2	3	4	
0	12	0	0	1	6	5	3.3±0.7 4.2±0.4
12	12	0	0	1	7	4	3.3±0.6 4.2±0.5
60	12	0	0	1	9	2	3.1±0.5 4.2±0.4
300	12	0	0	0	8	4	3.3±0.5 4.2±0.3

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Mating and fertility of animals

Dose mg/kg	No. of males	Male			Female			Fertility index (%) c)
		Days until copulation Mean±S.D.	Copulation index (%) a)	Insemination index (%) b)	No. of females	Days until copulation Mean±S.D.	Copulation index (%) a)	
0	12	2.5±1.2	12/12(100.0)	10/12( 83.3)	12	2.5±1.2	12/12(100.0)	10/12( 83.3)
12	12	2.7±1.1	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.7±1.1	12/12(100.0)	12/12(100.0)
60	12	2.4±1.4	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.4±1.4	12/12(100.0)	12/12(100.0)
300	12	2.7±1.2	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.7±1.2	12/12(100.0)	12/12(100.0)

a): (No. of copulated animals / No. of mated animals) × 100

b): (No. of males which impregnated females / No. of copulated males) × 100

c): (No. of pregnant females / No. of copulated females) × 100

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Delivery data on dams

Dose mg/kg		No. of pregnant females	No. of females with liveborns	Delivery index % a)	Gestation length in days	No. of corpora lutea	No. of implan- tation sites	Implan- tation index % b)	No. of stillborns (%)c)	No. of liveborns	Live birth index % d)
0	Total	10	10	100.0	21.7 0.5	166	161	96.9	0 ( 0.0)	150	93.1 7.3
	Mean					16.6	16.1	3.3	( 0.0)	15.0	
	S.D.					1.4	1.7			2.1	
12	Total	12	12	100.0	21.7 0.5	200	192	96.1	1 ( 0.5)	176	91.8 10.4
	Mean					16.7	16.0	6.5	( 1.7)	14.7	
	S.D.					1.5	1.7			2.0	
60	Total	12	12	100.0	21.8 0.5	208	199	96.1	0 ( 0.0)	189	95.0 5.0
	Mean					17.3	16.6	5.9	( 0.0)	15.8	
	S.D.					2.1	1.4			1.5	
300	Total	12	12	100.0	22.0 0.0	211	204	96.5	3 ( 1.6)	192	94.4 8.0
	Mean					17.6	17.0	5.6	( 4.0)	16.0	
	S.D.					1.9	2.3			2.3	

a): (No. of females which delivered liveborns / No. of pregnant females) × 100

b): (No. of implantation sites / No. of corpora lutea) × 100

c): (No. of stillborns / No. of liveborns and stillborns) × 100

d): (No. of liveborns / No. of implantation sites) × 100

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Sex ratio and external examination of pups

Dose mg/kg	No. of dams	Liveborns		Sex ratio of liveborns at birth a)	Day 4		Sex ratio of live pups on day 4 b)	External c) abnor- malities (%)d)
		No. of males	No. of females		No. of males	No. of females		
0	10	Total	82	68	73	58	0.56	0
		Mean	8.2	6.8	8.1	6.4	0.56	( 0.0)
		S.D.	2.3	2.6	2.1	1.9	0.13	( 0.0)
12	12	Total	84	92	79	80	0.50	0
		Mean	7.0	7.7	7.2	7.3	0.50	( 0.0)
		S.D.	3.0	2.5	2.4	2.4	0.16	( 0.0)
60	12	Total	102	87	32	24	0.63	0
		Mean	8.5	7.3	3.2	2.4	0.25	( 0.0)
		S.D.	2.3	1.5	1.9	2.2		
300	12	Total	90	102	1	0	1.00	0
		Mean	7.5	8.5	1.0	0.0		( 0.0)
		S.D.	1.9	2.6	0.13			( 0.0)

a): No. of liveborn males / No. of liveborns

b): No. of live males on day 4 / No. of live pups on day 4

c): No. of liveborns with external abnormalities

d): (No. of liveborns with external abnormalities / No. of liveborns) × 100

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Viability index of pups

Dose mg/kg	No. of dams	No. of live pups		Viability index on postnatal day 4 % a)
		Day 0	Day 4	
0	Total	10	150	131
	Mean		15.0	13.1
	S.D.		2.1	4.8
12	Total	12	176	159
	Mean		14.7	13.3
	S.D.		2.0	4.2
60	Total	12	189	56
	Mean		15.8	4.7
	S.D.		1.5	3.8
300	Total	12	192	1
	Mean		16.0	0.1
	S.D.		2.3	0.3

a): (No. of live pups on day 4 / No. of liveborns on day 0) × 100

\*\*: p<0.01 (Significant difference from control group)

ST: Steel's test

Table 17

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Body weight of pups

Dose mg/kg	Male			Female		
	0	4a)	Gain	0	4a)	Gain
0	No. Mean S.D.	10 6.4 0.5	9 <sup>b)</sup> 9.6 0.9	9 3.1 0.6	10 6.1 0.4	9 <sup>b)</sup> 9.0 0.9
12	No. Mean S.D.	12 6.1 0.6	11 <sup>b)</sup> 8.4* 0.9D	11 2.3 0.5	12 5.8 0.5	11 <sup>b)</sup> 7.9* 0.8D
60	No. Mean S.D.	12 5.9* 0.3D	10 <sup>c)</sup> 6.2** 1.3D	10 0.3** 1.2D	12 5.6* 0.3D	8 <sup>d)</sup> 5.8** 1.0D
300	No. Mean S.D.	12 5.6** 0.5D	1 <sup>e)</sup> 5.0 -1.1	12 5.3** 0.5D	0 <sup>f)</sup>	

Unit: g

No.: No. of dams

a): Postnatal day

b): All pups in one dam died.

c): All pups in two dams died.

d): All pups in four dams died.

e): All pups in eleven dams died.

f): All pups in twelve dams died.

\*: p&lt;0.05; \*\*: p&lt;0.01 (Significant difference from control group)

D: Dunnett's test

Table 18

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

## Gross pathological findings in pups on postnatal day 4

Organs Findings	Dose (mg/kg)	0	12	60	300
<b>Male</b>					
No. of pups examined	73	79	32	1	
No. of pups with abnormal findings	0	79	31	1	
Adipose tissue, subcutaneous, general					
Discoloration, blue	0	79	31	0	
Skin, general					
Discoloration, blue	0	6	19	1	
General descriptions					
Discoloration, blue, gastrointestinal content	0	31	30	0	
Discoloration, blue, general	0	0	0	1	
<b>Female</b>					
No. of pups examined	58	80	24	0	
No. of pups with abnormal findings	0	80	24	0	
Adipose tissue, subcutaneous, general					
Discoloration, blue	0	80	24	0	
Skin, general					
Discoloration, blue	0	9	15	0	
General descriptions					
Discoloration, blue, gastrointestinal content	0	27	28	0	

Table 19

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study of  
1,4-bis(isopropylamino)anthraquinone by oral administration in rats

Histopathological findings in pups on postnatal day 4

Dose mg/kg	Animal number	Organs	Findings
0	1101-1M	Examined all tissues	Not remarkable
60	3109-1M	Kidney	Mineralization, papillary: mild
		Liver	Not remarkable
		Skin(inguinal)	Not remarkable
		Subcutaneous adipose tissue	Not remarkable
300	4107-1M	Examined all tissues	Not remarkable