

最終報告書

3, 3-ビス (p-ジメチルアミノフェニル) -6-ジメチルアミノフタリドの
ラットを用いた経口投与による 28 日間反復投与毒性試験

(試験番号 : B010049)

2002 年 9 月 6 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目次

要約.....	5
緒言.....	6
材料および方法.....	7
1. 被験物質.....	7
2. 試験動物.....	7
3. 動物飼育.....	8
4. 投 与.....	9
5. 群構成.....	10
6. 観察・測定項目.....	10
6.1 一般状態.....	10
6.2 体 重.....	10
6.3 摂餌量.....	10
6.4 血液学的検査.....	10
6.5 血液化学的検査.....	11
6.6 尿検査.....	11
6.7 病理学的検査.....	12
7. 統計学的解析.....	13
結果.....	14
1. 一般状態.....	14
2. 体重.....	14
3. 摂餌量.....	14
4. 血液学的検査.....	14
5. 血液化学的検査.....	14
6. 尿検査.....	15
7. 器官重量.....	15
8. 病理解剖所見.....	15
9. 病理組織学的所見.....	15

考察および結論.....	17
参考文献.....	19

図および群別表（1～45 頁）

要約

3, 3-ビス (p-ジメチルアミノフェニル) - 6-ジメチルアミノフタリドを 0, 8, 30, 120 および 500 mg/kg の用量で雌雄の Crl:CD(SD)IGS ラット(SPF)に 28 日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察し、その毒性と回復性を評価した。

被験物質に起因すると思われる変化が雌雄の甲状腺と雄の上皮小体および肝臓に認められた。

病理組織学的検査で、雌雄の甲状腺濾胞上皮細胞のび慢性肥大および雄の上皮小体主細胞の肥大が認められた。甲状腺濾胞上皮細胞のび慢性肥大は、雌雄ともに 500 mg/kg 群で認められ、上皮小体主細胞の肥大は 500 mg/kg 群の雄で認められた。これらの変化は投与を中止することで消失したことから、容易に回復するものと思われる。肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が投与期間終了時の 500 mg/kg 群の雄 1 例で認められ、被験物質投与に起因すると思われる変化と思われた。

その他の検査では被験物質に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、被験物質投与に起因すると考えられる変化が、雌雄とも 500 mg/kg 群で認められた。従って、本試験条件下における 3, 3-ビス (p-ジメチルアミノフェニル) - 6-ジメチルアミノフタリドの無影響量 (NOEL) は雌雄とも 120 mg/kg と判断した。

緒言

既存化学物質の安全性点検事業の一環として、ラットを用いて3, 3-ビス (p-ジメチルアミノフェニル) - 6-ジメチルアミノフタリドを28日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化について検討したので報告する。

材料および方法

1. 被験物質

から提供された 3, 3-ビス (p-ジメチルアミノフェニル) - 6-ジメチルアミノフタリド (略称: CVL, 別名: 6- (ジメチルアミノ) - 3, 3-ビス [4- (ジメチルアミノ) フェニル] - 1 (3H) - イソベンゾフラノン)) を使用した. 被験物質は下記の物性を有する淡黄褐色粉末である. 被験物質入手後は室温・密封条件下で保存した. 試験に使用したロットの安定性は, 製造元より安定性を保証する資料を入手し, 確認した.

名 称 : 3, 3-ビス (p-ジメチルアミノフェニル) - 6-ジメチルアミノフタリド[略称: CVL]

CAS No. : 1552-42-7

化 学 式 : $C_{26}H_{29}N_3O_2$

物理化学的性状:

融点 179~184°C, 揮発性なし, 臭気なし, 通常の実験では安定, 水に難溶解性で安定, DMSO, アセトンに溶解, 酸と接触して発色するが, 反応性による危険性はない.

入 手 日 : 2001 年 3 月 28 日

ロット番号 :

純 度 : 99.5wt%

不 純 物 : 不明 0.8% (メチル基の 1 つが水素と置換したと推測される)

取扱上の注意: 保護メガネ, マスク, ゴム手袋を着用した.

2. 試験動物

日本チャールス・リバー(株)厚木生産所から 2001 年 8 月 22 日に Cj:CD(SD)IGS ラット (SPF) 雌雄各 52 匹 (発注動物数: 雌雄各 50 匹) を入手し, そのうち雌雄各 48 匹を使用した.

動物入荷後, 雌雄とも 5 日間の検疫期間中一般状態を毎日 (1 日 1 回) 観察, 健康状態が良好なことを確認した. さらに動物は検疫終了後投与開始日まで馴化し, 一般状態を毎日観察した. また入荷時および馴化終了時に体重を測定した. 投与開始前日に体重

層別無作為抽出法によって、各群の平均体重がほぼ均一となるように群分けした。投与開始時の週齢は 5 週齢、体重範囲は雄が 155～180 g、雌が 129～153 g であった。個別の体重範囲が、平均体重 $\pm$ 20 %以内であることを確認した。

動物は、油性インクで標識（群分け前）および耳パンチ法（群分け後）で個体識別した。ケージには検疫・馴化期間中（群分け前）は、試験番号、ケージ番号、検疫・馴化期間、性別、ケージ内匹数、動物番号、試験責任者、試験責任者連絡先を記載したラベルを付け、群分け以降は、試験番号、被験物質名、試験種、群名（用量）、性別、動物種、系統、動物番号および投与期間を記載したラベルを付けた。

3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通じて、温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ （許容範囲 $19.0\sim 25.0^{\circ}\text{C}$ ）、相対湿度 $55\pm 15\%$ （許容範囲 $35.0\sim 75.0\%$ ）、換気 6～20 回／時（オールフレッシュエア供給）、照明 12 時間／日（7:00-19:00）に自動調節した飼育室（2113 室）を使用した。飼育期間中の温湿度の実測値は $21.4\sim 25.4^{\circ}\text{C}$ 、 $46.3\sim 84.0\%$ であった（特記事項参照）。

動物を滅菌済の実験動物用床敷（ベータチップ、日本チャールス・リバー㈱）を敷いたポリカーボネート製ケージ（ $265\text{W}\times 426\text{D}\times 200\text{Hmm}$ 、トキワ科学器械㈱）で飼育した。群分け前は 1 ケージあたり 4 あるいは 5 匹（同性）、群分け後は、1 ケージあたり 2 匹（同性）収容し、スチール製架台（トキワ科学器械㈱）に配置して飼育した。ケージの配置場所は、週 1 回ローテーションした。給餌には滅菌済ステンレス製固型飼料用給餌器（トキワ科学器械㈱）、給水には滅菌済ポリカーボネート製給水瓶（700 mL、トキワ科学器械㈱）を使用した。ケージ（含床敷）、給餌器および給水瓶は週 1 回以上交換した。

動物には、実験動物用固型飼料（MF、オリエンタル酵母工業㈱）と、 $5\text{ }\mu\text{m}$ のフィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自由に摂取させ、週 1 回以上交換した。

飼料中の残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所で定めた基準に適合していることを確認した。床敷については、残留農薬等の汚染物質の分析結果を定期的に入手し、当研究所で定めた基準に適合していることを確認した。また、飲用水は水道法に準拠した水質検査を定期的の実施し、分析値が基準に適合していることを確認した。

4. 投 与

投与経路は、本試験に適用したガイドラインに準じて経口投与とした。投与期間は28日間とし、ディスポーザブルシリンジに装着したラット用胃ゾンデを用いて1日1回、午前中に強制経口投与した。

急性毒性試験（試験番号：B010048、用量：0および2000 mg/kg、動物数雌雄5匹）の結果、異常は認められなかった。

また、本試験の用量を設定するために実施した14日間反復投与予備試験（用量：1000, 500, 100 および 0 mg/kg, 動物数：各群雌雄3匹）の結果、器官重量において、1000 mg/kg 群の雌雄および 500 mg/kg 群の雄で肝臓重量（絶対重量）の高値、500 mg/kg 群の雄で副腎重量（相対重量）の低値、1000 mg/kg および 500 mg/kg 群の雌で肝臓重量（相対重量）の高値が認められた。一般状態、体重、血液学的検査、剖検所見に異常は認められなかった。従って、本試験における最高用量を 500 mg/kg とし、以下公比約4で120, 30, 8 mg/kg の計4用量群を設定した。また、溶媒（0.1%Tween80 添加 0.5%CMC-Na 水溶液）のみを投与する対照群を設けた。投与液量は 10 mL/kg とし、至近日に測定した体重に基づいて各動物の投与液量を算出した。

投与液は被験物質を必要量秤量し、乳鉢に入れ、溶媒（0.1%Tween80（関東化学㈱, ロット番号:210D2073）添加 0.5%CMC-Na 水溶液（関東化学㈱, ロット番号:201G1785））を加えながら乳棒で懸濁させ、乳鉢を溶媒で共洗いしながらメートルグラスに移した。十分に攪拌後、定容として 50, 12, 3.0 および 0.8 mg/mL の投与液とした。調製頻度は週1回とし、投与に供するまで7日間を限度に冷蔵・暗所に保存した。投与液中の被験物質の均一性および冷蔵・暗所保存条件下での8日間の安定性を 200 および 0.4 mg/mL の濃度で HPLC 法により確認した。また、初回調製時に各用量群の投与液を HPLC 法により分析し、投与開始前に設定濃度±10%以内であることを確認した（添付資料1参照）。

対照群と 500 および 120 mg/kg 群の雌雄各6匹に、投与期間終了後14日間の回復期間を設けた。

5. 群構成

群 名	濃度 (mg/mL)	投与期間終了後解剖 ^{*1}		回復期間終了後解剖 ^{*2}	
		雄	雌	雄	雌
対 照	0	6 ^{*3} (10101-10106) ^{*4}	6 (50101-50106)	6 (10107-10112)	6 (50107-50112)
8 mg/kg	0.8	6 (10201-10206)	6 (50201-50206)		
30 mg/kg	3.0	6 (10301-10306)	6 (50301-50306)		
120 mg/kg	12	6 (10401-10406)	6 (50401-50406)	6 (10407-10412)	6 (50407-50412)
500 mg/kg	50	6 (10501-10506)	6 (50501-50506)	6 (10507-10512)	6 (50507-50512)

*1, 最終投与日の翌日（第 29 日）に解剖； *2, 回復期間終了翌日（第 43 日）に解剖；

*3, 動物数； *4, 動物番号。

6. 観察・測定項目

下記の項目を検査した。なお、日と週の表記は投与開始日を第 1 日、第 1～7 日を第 1 週とした。また、第 29 日以降を回復期間とした。

6.1 一般状態

投与期間は 1 日 2 回（投与前、後）、回復期間は 1 日 1 回午前中に観察した。

6.2 体 重

全例の体重を電子上皿天秤（EB-5000, (株)島津製作所）を用いて第 1, 8, 15, 22, 28, 29, 36, 42 および 43 日に測定した。ただし、第 29 日および 43 日の絶食後体重は体重データとしては利用せず、それぞれ解剖時の器官相対重量の算出のみに用いた。

6.3 摂餌量

各ケージ毎に風袋込み重量を電子上皿天秤（EB-5000, (株)島津製作所）を用いて第 1, 8, 15, 22, 24, 28, 29, 36, 38 および 42 日に測定し、1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。

6.4 血液学的検査

投与および回復期間終了時の計画解剖日（第 29 および 43 日）に、全対象動物を前日夕方より絶食し、チオペンタールナトリウム（ラボナール, 田辺製薬(株)）を腹腔内投与して麻酔し、後大静脈より採血した。採取した血液を用いて次に示す項目を測定した。プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定には、凝固阻止剤として 3.2w/v%クエン酸三ナトリウム水溶液を使用し、遠心分離して得られた血漿を用いた。その他の項目の測定には、凝固阻止剤 EDTA-2K で処理した血液を用いた。

項 目	方 法	測定機器
赤血球数 (RBC)	球状化处理二次元レーザーFCM 法	(a)
ヘモグロビン濃度 (Hb)	シアンメトヘモグロビン法	(a)
ヘマトクリット値 (Ht)	球状化处理二次元レーザーFCM 法	(a)
平均赤血球容積 (MCV)	RBC, Ht より算出	
平均赤血球血色素量 (MCH)	RBC, Hb より算出	
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	Hb, Ht より算出	
網赤血球数 (Ret)	RNA 染色によるレーザーFCM 法	(a)
血小板数 (PLT)	球状化处理二次元レーザーFCM 法	(a)
プロトロンビン時間 (PT)	光散乱検出方式	(b)
活性化部分トロンボプラスチン 時間 (APTT)	光散乱検出方式	(b)
白血球数 (WBC)	酸性界面活性剤によるレーザーFCM 法	(a)
白血球百分率	Wright 染色塗抹標本について測定	(c)

測定機器： (a), ADVIA120 (バイエル メディカル株)
(b), CA-510 (シスメックス株)
(c), MICROX HEG-50, HEG-50VF (オムロン株)

6.5 血液化学的検査

計画解剖時に採取した血液の一部を室温で約 30 分間放置後遠心分離し、得られた血清を用いて下記の項目を測定した。検査後の血清は-80℃で凍結保存し、試験終了時（最終報告書作成時）に廃棄した。

項 目	方 法
ASAT (GOT)	UV-rate 法 (JSCC 改良法)
ALAT (GPT)	UV-rate 法 (JSCC 改良法)
γGT	γ-グルタミル-p-ニトロアニリド基質法(SSCC 改良法)
ALP	p-ニトロフェニルリン酸基質法 (JSCC 改良法)
総ビリルビン	酵素法 (BOD 法)
尿素窒素	酵素-UV 法 (Urease-LEDH 法)
クレアチニン	酵素法(Creatine-Kinase 法)
グルコース	酵素法 (GlcK-G6PDH 法)
総コレステロール	酵素法 (CO-HDAOS 法)
トリグリセライド	酵素法 (GPO-HDAOS 法), グリセリン消去法
総蛋白	Biuret 法
アルブミン	BCG 法
A/G 比	総蛋白およびアルブミンより算出
カルシウム	OCPC 法
無機リン	酵素法 (PNP-XOD-POD 法)
ナトリウム	イオン選択電極法
カリウム	イオン選択電極法
クロール	イオン選択電極法

測定機器：TBA-200FR (株東芝)

6.6 尿検査

投与期間最終週（第 23 日）に各用量群の雌雄各 6 匹（各群の動物番号の若い順）の新鮮尿を採取して、次に示す試験紙法による項目を測定した。その結果、雌の 120 および 500 mg/kg 群の pH で被験物質投与の影響を疑わせる変化が認められたため、雌につ

いて約 21 時間蓄積尿を採取して（第 24 日）その他の項目を測定した。回復期間最終週（第 37 日）にも雌のみ試験紙法による項目を測定した。その結果被験物質投与の影響を疑わせる変化が認められなかったため、その他の検査は実施しなかった。

項 目	方 法	測定機器
pH	試験紙法	(a)
蛋白	試験紙法	(a)
グルコース	試験紙法	(a)
ケトン体	試験紙法	(a)
ビリルビン	試験紙法	(a)
潜血	試験紙法	(a)
ウロビリノーゲン	試験紙法	(a)
尿量	メスシリンダーで測定	
比重	屈折法	(b)
ナトリウム	イオン選択電極法	(c)
カリウム	イオン選択電極法	(c)
クロール	電量滴定法	(c)
測定機器：	(a) マルティスティックスおよびクリニテック 100 (パイエル メディカル(株)) (b) ユリコン-JE (株)アタゴ (c) PVA- α III (株)エイアンドティー	

6.7 病理学的検査

(1) 器官重量

全動物の下記の器官重量を電子上皿天秤（AEG-120, ED-H60, AEU-210, (株)島津製作所）を用いて測定した。また、解剖日の体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣、胸腺、脾臓、脳、心臓

(2) 病理解剖検査

全動物について、採血後、腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後剖検した。

(3) 病理組織学的検査

全動物の下記の器官・組織を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。ただし、精巣はブアン液(Bouin液)で、眼球とハーダー腺はダビドソン液(Davidson液)でそれぞれ固定後、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で保存した。

脳（大脳、小脳および橋を含む部位）、脊髄、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、心臓、胸腺、眼球・ハーダー腺、下垂体、甲状腺（上皮小体含む）、気管および肺、精巣、卵巣、精巣上体、前立腺、子宮、膣、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、坐骨神経（大腿筋に付けて採材）、骨髓（大腿骨）、肉眼的異常部位

投与期間終了後解剖動物の対照群および 500 mg/kg 群の雌雄全例の器官・組織、ならびに対照群を含む全動物の肉眼的異常部位は常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、鏡検した。(眼球・ハーダー腺は片側のみ標本作製し、鏡検した。)その結果、500 mg/kg 群の雌雄の肝臓、甲状腺、雄の腎臓、上皮小体に被験物質の影響が疑われたため、投与期間終了後解剖動物の 8, 30 および 120 mg/kg 群と回復期間終了後解剖動物の雌雄の肝臓、甲状腺ならびに雄の腎臓、上皮小体について追加検査した。さらに回復期間終了後解剖動物の器官重量測定の結果、雌の脾臓の相対重量で対照群との間に有意な差がみられたため、回復期間終了後解剖動物の対照群と 120 および 500 mg/kg 群の雌の脾臓についても検査した。また全試験動物の肉眼的異常部位についても併せて検査した。なお、5 例(動物番号 10105, 10106, 10206, 10403, 10506)の片側上皮小体については、標本作製することができなかった。

7. 統計学的解析

計量データは、多重比較検定法で統計学的有意性を検討した。すなわち Bartlett 法による等分散性の検定を行い、分散が等しい場合は一元配置分散分析、分散が等しくない場合は、Kruskal-Wallis の検定を行った。群間に有意な差が認められた場合は Dunnett 法または Dunnett 型の多重比較検定を行った。計数データは、 $a \times b$ の χ^2 検定を行い、有意差が認められた場合は Armitage の χ^2 検定で対照群と各用量群を比較した。なお、一般状態は、投与期間中および回復期間中を通して異常が認められなかったため統計学的解析は実施しなかった。有意水準はいずれも 5%とした。Armitage の χ^2 検定はパーソナルコンピュータを用いた自家製ソフトウェアを、その他はコンピュータシステム(MiTOX, 三井造船システム技研㈱)を用いて解析した。

統計学的解析の対象項目を以下に示した。

多重比較検定 : 体重, 摂餌量, 血液学的検査, 血液化学的検査, 尿検査(尿量, 比重, ナトリウム, カリウム, クロール), 器官重量(絶対重量, 相対重量)

χ^2 検定 : 尿検査(pH, 蛋白, グルコース, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲン), 病理解剖検査, 病理組織学的検査

結果

1. 一般状態 (Table 1)

投与および回復期間中ともに、異常は認められなかった。

2. 体重 (Figure 1, Table 2)

投与および回復期間中ともに、対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

3. 摂餌量 (Table 3)

第 15 日に 500, 120 および 30 mg/kg 群の雄で高値、第 28, 36 および 42 日に 500 および 120 mg/kg 群の雄で高値が認められた。

4. 血液学的検査 (Table 4)

投与期間終了時の検査では、30 mg/kg 群の雄でヘモグロビン濃度および白血球数の高値、500 mg/kg 群の雄で血小板数の高値および PT の延長、500, 120 および 30 mg/kg 群の雌で白血球百分率リンパ球比の高値、500 および 30 mg/kg 群の雌で白血球百分率分葉核球比の低値が認められた。

回復期間終了時の検査では、120 mg/kg 群の雌で赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の低値が認められた。

これらの変化のうち、投与期間終了時に認められた 30 mg/kg 群の雄でのヘモグロビン濃度および白血球数の高値は、120 および 500 mg/kg 群では認められていないことから、回復期間終了時に認められた 120 mg/kg 群の雌での赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値は、投与期間終了時には認められていないことから被験物質投与とは関連のない偶発的変化と判断した。

5. 血液化学的検査 (Table 5)

投与期間終了時の検査では、120 mg/kg 群の雌でナトリウムの低値が認められた。

回復期間終了時の検査では、500 mg/kg 群の雄で ALP の低値、120 mg/kg 群の雌で無機リンの低値が認められた。

これらの変化のうち、投与期間終了時に認められた 120 mg/kg 群の雌におけるナトリウムの低値は、500 mg/kg 群では認められていないことから、回復期間終了時に認められた 500 mg/kg 群の雄における ALP の低値、120 mg/kg 群の雌における無機リンの低値は投与期間終了時には認められていないことから、いずれも被験物質投与とは関連のない偶発的变化と判断した。

6. 尿検査 (Table 6, 7)

投与期間最終週の検査において、500 および 120 mg/kg 群の雌で pH の低値が認められた。雄では対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

回復期間最終週の雌の検査においては、対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

7. 器官重量 (Table 8, 9)

投与期間終了時の検査では、500 mg/kg 群の雌で肝臓の相対重量の高値が認められた。

回復期間終了時の検査では、120 mg/kg 群の雄で脾臓の絶対重量の高値、500 mg/kg 群の雌で脾臓の相対重量の低値が認められた。

これらの変化のうち、回復期間終了時に認められた脾臓の変化は、双方とも投与期間終了時には認められていないことから、被験物質投与とは関連のない偶発的变化と判断した。

8. 病理解剖所見 (Table 10, 11)

被験物質に起因すると思われる変化は認められなかった。

偶発的变化として、肺の褐色斑、肝臓の横隔膜面結節、腎臓の嚢胞、腎盂拡張、甲状腺の右側欠損が、投与期間および回復期間終了後解剖動物で用量群と関係なく散発的に認められた。

9. 病理組織学的所見 (Table 12, 13)

被験物質に起因すると思われる変化が、雌雄の甲状腺、雄の上皮小体および肝臓に認められた。

投与期間終了後解剖動物において、甲状腺濾胞上皮細胞のび慢性肥大が、500 mg/kg

群の雌雄各 3 例に認められ、対照群と比較して有意差もみられた。変化のみられた甲状腺では、濾胞腔が狭小化し、濾胞上皮細胞は丈を増していた。上皮小体主細胞の肥大が、500 mg/kg 群の雄 4 例に認められ、対照群と比較して有意差もみられた。肥大した主細胞の細胞質は拡張し淡明化していた。回復期間終了後解剖動物においては甲状腺、上皮小体の変化はともに消失していた。

投与期間終了後解剖動物において、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が、500 mg/kg 群の雄 1 例に認められた。器官重量測定の結果、有意な増加のみられた 500 mg/kg 群の雌の肝臓では、重量増加に関わるような組織学的変化は認められなかった。

30 mg/kg 群の雄で、腎臓の腎盂拡張が 3 例に認められたが、この変化は高用量群では認められなかったため、被験物質とは関連のない変化と判断した。雄の腎臓の近位尿細管上皮の硝子滴発現は、被験物質投与群のみで認められたが、発現状況に一定の傾向が認められなかったため、被験物質とは関連のない変化と判断した。回復期間終了後解剖動物において、器官重量測定の結果、相対重量で対照群と比較して有意な低値のみられた 500 mg/kg 群の雌の脾臓では、変化は認められなかった。

その他に、心臓の限局性心筋変性／線維化、脾臓の赤血球系髄外造血、肺の泡沫細胞集簇・限局性炎症性細胞浸潤、肝臓の限局性肝細胞脂肪化・門脈周囲性の肝細胞脂肪化・限局性炎症性細胞浸潤・小肉芽腫・限局性肝細胞壊死、腎臓の好塩基性近位尿細管・嚢胞・近位尿細管上皮の硝子滴・集合管上皮細胞の過形成・間質における限局性リンパ球浸潤・皮髄境界部における鉍質沈着、精巣上体の限局性リンパ球浸潤、前立腺の限局性リンパ球浸潤、下垂体のラトケ嚢の嚢胞状拡張、甲状線の異所性胸腺・限局性リンパ球浸潤、気管の気管支腺の拡張、胃の前胃における異所性腺胃組織が認められたが、被験物質投与群で有意に多発したものはなく、いずれも被験物質投与とは関連のない偶発的变化と判断した。

考察および結論

3, 3-ビス (p-ジメチルアミノフェニル) - 6-ジメチルアミノフタリドを 0, 8, 30, 120 および 500 mg/kg の用量で雌雄の Crj:CD(SD)IGS ラット(SPF)に 28 日間反復経口投与し、現れる生体の機能および形態の変化を観察した。

被験物質に起因すると思われる変化が雌雄の甲状腺、雄の上皮小体および肝臓に認められた。

病理組織学的検査で、500 mg/kg 群の雌雄の甲状腺濾胞上皮細胞のび慢性肥大および雄の上皮小体主細胞の肥大が認められ、被験物質に起因する変化と思われた。甲状腺濾胞上皮細胞の肥大は、種々の化学物質投与によってしばしば惹起される変化であり、その多くは循環血液中の甲状腺ホルモン低下によるネガティブフィードバック機構が関与した、持続性の濾胞上皮細胞の刺激が原因となる[1, 2]。この変化は化学物質の投与を中止することで回復するとされており[2]、今回の試験でも、被験物質の投与を中止することで変化は消失していた。しかし、今回の検査だけでは濾胞上皮細胞肥大の機序を明らかにすることはできなかった。上皮小体主細胞の肥大は、上皮小体の機能亢進に伴う変化で、慢性腎疾患や、カルシウム欠乏などの栄養障害でも二次的に生じる[3]。今回の試験では、腎臓、骨などに関連する変化は認められず、血液化学的検査でもカルシウムや無機リン濃度に変化はみられなかったことから、主細胞肥大の原因は明らかにならなかった。

今回の試験では、甲状腺濾胞上皮細胞のび慢性肥大が、雌雄ともに 500 mg/kg 群で認められ、上皮小体主細胞の肥大が 500 mg/kg 群の雄に認められた。これらの変化は投与を中止することで消失したことから、容易に回復するものと思われる。

500 mg/kg 群の雄 1 例で認められた小葉中心性の肝細胞肥大は、同群の雌で組織学的変化はないものの、肝臓相対重量の高値が認められていること、予備試験において 500 mg/kg で雌雄の肝臓重量の高値が認められていることから、被験物質投与に起因する変化と思われた。

雄で認められた摂餌量の高値は、一般に毒性学的に問題となる低値とは逆の方向への変化であること、体重には異常は認められなかったことから、被験物質投与とは関連のない偶発的变化と判断した。

血液学的検査で認められた投与期間終了時の 500 mg/kg 群の雄における血小板数の高値および PT の延長は、病理組織学的検査で骨髄および肝臓に異常は認められなかったこと、

他の血球系および凝固系測定値に異常は認められなかったことから、被験物質投与とは関連のない偶発的変化と判断した。また、白血球百分率で認められた雌の 500, 120 および 30 mg/kg 群での白血球百分率リンパ球比の高値, 500 および 30 mg/kg 群の白血球百分率分葉核球比の低値は、白血球数に異常は認められなかったこと、リンパ球増多症を引き起こす感染症等の要因[4]や好中球減少症を引き起こす造血臓器疾患等の要因[5]は認められなかったことから、被験物質投与とは関連のない偶発的変化と判断した。

投与期間中の尿検査で認められた雌の 120 および 500 mg/kg 群の pH の低値（酸性側への変動）は、雄では pH の異常は認められなかったこと、尿 pH が低くなる病態として考えられるいずれにも該当しないこと[6]から、被験物質投与とは関連のない偶発的変化と判断した。

一般状態、体重では異常は認められなかった。

以上の結果から、被験物質投与に起因すると考えられる変化が、雌雄とも 500 mg/kg 群で認められた。従って、本試験条件下における 3, 3-ビス（p-ジメチルアミノフェニル）-6-ジメチルアミノフタリドの無影響量（NOEL）は雌雄とも 120 mg/kg と判断した。

参考文献

1. Gopinath, C., Prentice, D. E. and Lewis, D. J. 1987. The endocrine glands, thyroid. pp. 112-113. *In: Atlas of Experimental Toxicological Pathology* (Gopinath, C., Prentice, D. E. and Lewis, D. J. eds.), MTP Press, Lancaster.
2. 今井 清, 広瀬 雅雄. 2000. 甲状腺／上皮小体, 非腫瘍性病変, 甲状腺, 濾胞上皮細胞のびまん性過形成 (びまん性過形成性甲状腺腫). pp. 436-437. *In: 毒性病理組織学* (前川 昭彦 責任編集), 日本毒性病理学会, 名古屋.
3. Capen, C. C., DeLellis, R. A. and Yarrington, J. T. 2002. Endocrine system, parathyroid gland, mechanisms of toxicity, modification of parathyroid function associated with metabolic disorders. pp. 761-765. *In: Handbook of Toxicologic Pathology* (Haschek, W. M., Rousseaux, C. G. and Walling, M. A. eds.), Academic Press, San Diego.
4. 河合忠ら 1986. リンパ球数と subpopulation. pp.43-46. *In: Laboratory medicine 異常値の出るメカニズム*, (株)医学書院, 東京.
5. 河合忠ら 1986. 白血球数と好中球数. pp.39-42. *In: Laboratory medicine 異常値の出るメカニズム*, (株)医学書院, 東京.
6. 河合忠ら 1986. 尿 pH, 1.尿検査. pp.7-10. *In: Laboratory medicine 異常値の出るメカニズム*, (株)医学書院, 東京.

図および群別表

Figure 1	体重	1
Table 1	一般状態	3
Table 2	体重	7
Table 3	摂餌量	9
Table 4	血液学的検査	11
Table 5	血液化学的検査	17
Table 6	尿検査（定性検査）	21
Table 7	尿検査（定量検査）	26
Table 8	器官重量（絶対重量）	27
Table 9	器官重量（相対重量）	30
Table 10	病理解剖所見（投与期間終了時）	33
Table 11	病理解剖所見（回復期間終了時）	35
Table 12	病理組織学的所見（投与期間終了時）	36
Table 13	病理組織学的所見（回復期間終了時）	44

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of
3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats

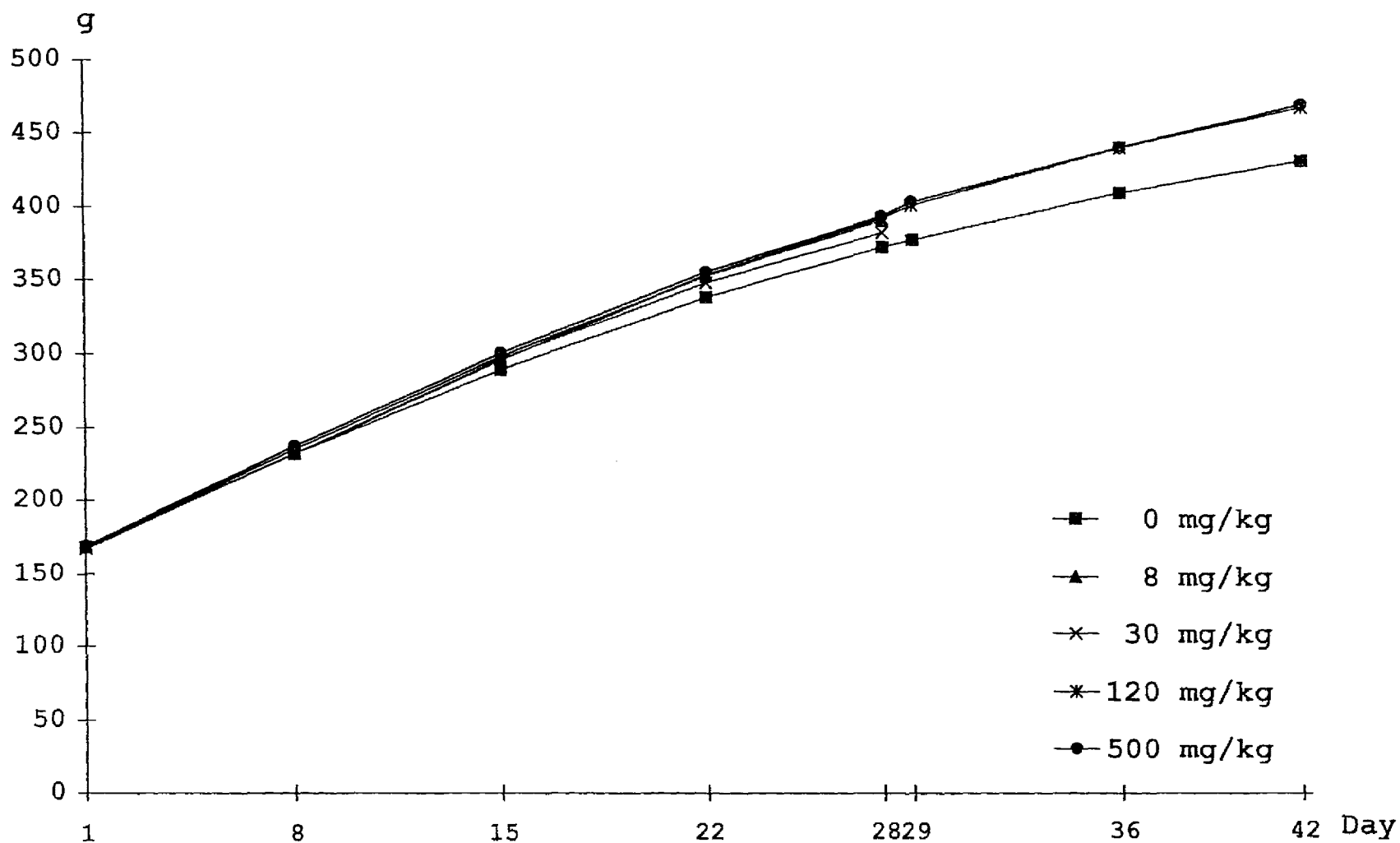


Figure 1 Body Weight (Male)

**Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of
3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats**

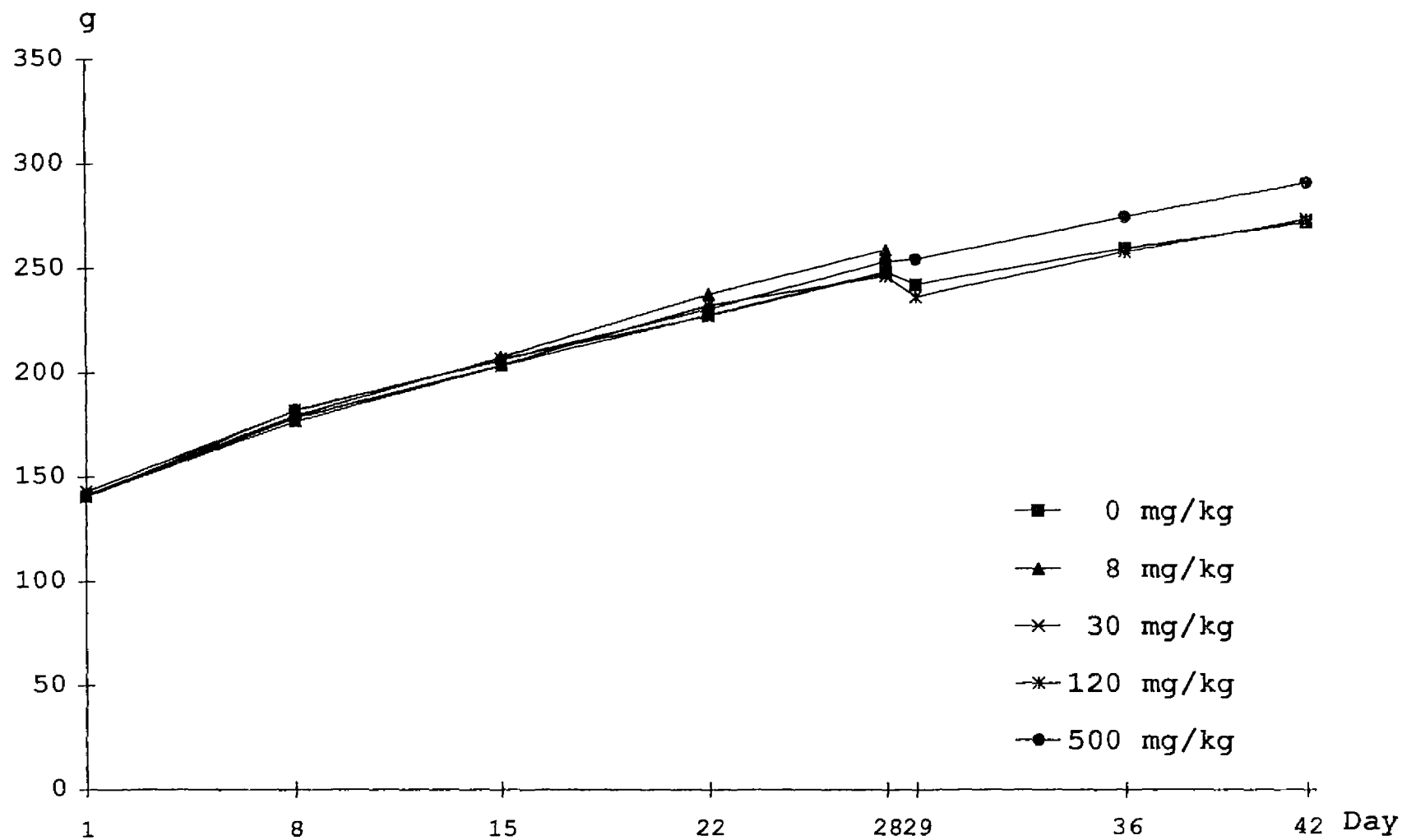


Figure 1 Body Weight (Female)

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 1 Clinical Sign - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	Day Time	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15		16		17		20
			10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20			
CVL 0	Number of Animals No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12		
CVL 8	Number of Animals No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
CVL 30	Number of Animals No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
CVL 120	Number of Animals No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CVL 500	Number of Animals No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	Day Time	18		19		20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
			10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	
CVL 0	Number of Animals No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
CVL 8	Number of Animals No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6												
		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6												
CVL 30	Number of Animals No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6												
		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6												
CVL 120	Number of Animals No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
CVL 500	Number of Animals No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time 10, Just before dose; Time 20, Just after dose;
Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 1 Clinical Sign - Summary Male

Study No. B010049

Test Substance	Dose(mg/kg)	Findings	Day Time	41	42	43
CVL	0	Number of Animals No Abnormality		6 6	6 6	6 6
CVL	8	Number of Animals No Abnormality				
CVL	30	Number of Animals No Abnormality				
CVL	120	Number of Animals No Abnormality		6 6	6 6	6 6
CVL	500	Number of Animals No Abnormality		6 6	6 6	6 6

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
 Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 1 Clinical Sign - Summary

Study No. B010049

Test Substance	Dose(mg/kg)	Findings	Day	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14		15		16		17					
			Time	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20				
CVL	0	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
		No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12			
CVL	8	Number of Animals		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
CVL	30	Number of Animals		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
CVL	120	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
CVL	500	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Test Substance	Dose(mg/kg)	Findings	Day	18		19		20		21		22		23		24		25		26		27		28		29		30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	
			Time	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20		
CVL	0	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
		No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
CVL	8	Number of Animals		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
CVL	30	Number of Animals		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		No Abnormality		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	
CVL	120	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	500	Number of Animals		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No Abnormality		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time 10, Just before dose; Time 20, Just after dose;
Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 1 Clinical Sign - Summary Female

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)	Findings	Day Time	41	42	43
CVL 0	Number of Animals No Abnormality		6 6	6 6	6 6
CVL 8	Number of Animals No Abnormality				
CVL 30	Number of Animals No Abnormality				
CVL 120	Number of Animals No Abnormality		6 6	6 6	6 6
CVL 500	Number of Animals No Abnormality		6 6	6 6	6 6

+, Present; 1. Slight; 2. Moderate; 3. Severe;
 Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 2 Body Weight - Summary

Study No. B010049
Unit : g

Test Substance		Day	1	8	15	22	28	29	36	42
Dose (mg/kg)										
CVL	0	Mean	168.2	231.8	288.7	337.3	370.9	376.2	407.3	428.2
		S.D.	6.1	8.1	10.8	18.2	21.8	18.1	25.2	25.6
		n	12	12	12	12	12	6	6	6
CVL	8	Mean	167.8	234.8	297.8	351.5	389.3			
		S.D.	7.7	13.1	17.5	21.5	22.9			
		n	6	6	6	6	6			
CVL	30	Mean	167.5	231.7	296.0	347.0	381.0			
		S.D.	7.6	11.9	17.5	21.2	22.0			
		n	6	6	6	6	6			
CVL	120	Mean	166.7	231.7	295.1	352.4	390.8	399.5	437.5	464.3
		S.D.	5.5	7.3	15.4	24.4	29.3	24.4	28.8	33.8
		n	12	12	12	12	12	6	6	6
CVL	500	Mean	168.8	237.0	299.9	354.3	392.3	401.7	437.8	466.3
		S.D.	5.8	9.6	14.7	22.3	25.7	31.9	31.3	37.0
		n	12	12	12	12	12	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 2 Body Weight - Summary

Study No. B010049
Unit : g

Test Substance	Day		1	8	15	22	28	29	36	42
Dose (mg/kg)										
CVL	0	Mean	140.7	176.6	203.1	226.8	247.3	241.2	258.3	270.3
		S. D.	6.8	9.8	12.4	14.8	15.7	19.8	26.1	23.8
		n	12	12	12	12	12	6	6	6
CVL	8	Mean	141.5	179.3	207.0	236.7	257.8			
		S. D.	7.2	11.9	11.7	18.3	18.0			
		n	6	6	6	6	6			
CVL	30	Mean	143.0	181.7	206.3	226.5	246.7			
		S. D.	8.2	18.8	14.1	11.1	14.6			
		n	6	6	6	6	6			
CVL	120	Mean	140.5	178.3	203.3	231.5	245.3	235.3	256.5	271.7
		S. D.	6.2	14.3	15.6	21.5	24.2	20.1	19.0	24.1
		n	12	12	12	12	12	6	6	6
CVL	500	Mean	140.4	182.0	205.8	229.8	252.3	253.2	273.2	289.0
		S. D.	6.1	12.7	11.4	16.8	21.8	28.5	32.3	29.4
		n	12	12	12	12	12	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 3 Food Consumption - Summary

Study No. B010049
Unit : g/animal/day

Test Substance	Dose (mg/kg)	Day	8	15	22	28	36	42
CVL	0	Mean	20.33	21.87	23.30	23.88	23.53	22.87
		S.D.	0.83	0.69	1.49	1.65	0.51	0.78
		n	6	6	6	6	3	3
CVL	8	Mean	21.30	23.50	24.90	25.70		
		S.D.	1.30	1.23	1.44	1.15		
		n	3	3	3	3		
CVL	30	Mean	21.53	23.70*	25.27	25.43		
		S.D.	0.92	0.79	1.50	0.93		
		n	3	3	3	3		
CVL	120	Mean	20.95	23.47*	25.25	26.07*	25.90**	25.77*
		S.D.	0.48	0.87	1.06	1.13	0.50	0.71
		n	6	6	6	6	3	3
CVL	500	Mean	21.58	23.58*	25.27	26.28*	26.20**	25.90*
		S.D.	0.87	1.15	1.37	0.99	0.95	1.13
		n	6	6	6	6	3	3

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 3 Food Consumption - Summary Female

Study No. B010049
Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)	Day	8	15	22	28	36	42
CVL 0	Mean	16.35	16.60	17.57	19.10	17.70	17.50
	S. D.	0.69	0.86	0.64	0.56	1.61	1.06
	n	6	6	6	6	3	3
CVL 8	Mean	16.13	16.70	18.50	19.93		
	S. D.	0.61	0.79	1.23	0.51		
	n	3	3	3	3		
CVL 30	Mean	16.53	16.50	17.13	18.37		
	S. D.	2.32	1.68	0.81	0.87		
	n	3	3	3	3		
CVL 120	Mean	16.65	16.70	17.62	18.78	18.23	17.83
	S. D.	1.42	1.40	1.56	1.84	1.53	1.54
	n	6	6	6	6	3	3
CVL 500	Mean	17.10	17.35	18.08	19.37	19.00	19.30
	S. D.	1.76	1.13	1.51	1.34	1.59	1.91
	n	6	6	6	6	3	3

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 4 Hematology - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)		Red Blood Cell Count x10E6/ μ L		Hemoglobin conc. g/dL		Hematocrit %		MCV fL		MCH pg		MCHC %		Platelet Count x10E3/ μ L		Reticulocyte Ratio %		PT sec	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	7.767	8.347	15.00	15.47	46.33	47.07	59.65	56.40	19.30	18.55	32.38	32.88	1174.2	1153.8	2.65	2.17	15.78	16.00
	S.D.	0.335	0.254	0.59	0.36	1.86	1.28	0.85	1.59	0.30	0.51	0.29	0.32	79.1	98.0	0.31	0.28	0.26	0.28
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	7.732		14.98		45.57		58.95		19.38		32.88		1087.7		2.83		16.22	
	S.D.	0.262		0.29		1.65		1.18		0.58		0.92		104.2		0.33		0.83	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 30	Mean	7.942		15.67*		47.62		59.98		19.73		32.88		1245.0		2.63		15.92	
	S.D.	0.274		0.31		0.84		1.59		0.59		0.29		101.8		0.24		0.75	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 120	Mean	7.833	8.283	14.95	15.38	45.90	46.72	58.68	56.40	19.10	18.62	32.58	32.98	1307.8	1202.7	2.93	2.45	16.70	16.70
	S.D.	0.519	0.154	0.60	0.25	1.98	0.66	1.37	1.69	0.59	0.55	0.32	0.22	79.1	102.2	0.39	0.29	0.65	0.50
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	8.020	8.302	15.18	15.13	46.87	46.00	58.50	55.48	18.97	18.25	32.38	32.90	1353.8*	1152.8	2.62	2.30	17.13**	16.48
	S.D.	0.243	0.348	0.23	0.27	1.07	0.99	1.66	2.34	0.47	0.67	0.38	0.25	169.0	142.6	0.34	0.29	0.55	0.66
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 4 Hematology - Summary Male

Study No. B010049

Test Substance		APIT	
Dose (mg/kg)		sec	
		Week 5	Week 7
CVL	Mean	16.22	17.00
	0 S. D.	0.44	0.35
	n	6	6
CVL	Mean	17.35	
	8 S. D.	0.93	
	n	6	
CVL	Mean	16.98	
	30 S. D.	0.54	
	n	6	
CVL	Mean	17.48	16.37
	120 S. D.	1.33	1.52
	n	6	6
CVL	Mean	17.43	15.97
	500 S. D.	0.74	0.96
	n	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 4 Hematology - Summary Male

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)		White Blood Cell Count x10E3/ μ L		Lymphocyte %		Neutrophilic Segmented %		Neutrophilic Band %		Eosinophil %		Basophil %		Monocyte %	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	8.420	9.590	91.65	90.48	5.52	7.02	0.00	0.00	0.83	1.33	0.00	0.00	2.00	1.17
	S.D.	1.575	1.948	3.28	2.43	2.75	1.80	0.00	0.00	0.75	1.21	0.00	0.00	2.53	1.94
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	8.483		93.63		4.70		0.17		0.50		0.00		1.00	
	S.D.	0.457		2.91		2.69		0.41		0.55		0.00		1.26	
	n	6		6		6		6		6		6		6	
CVL 30	Mean	11.163*		93.98		4.02		0.00		0.83		0.00		1.17	
	S.D.	0.708		3.23		3.36		0.00		0.75		0.00		0.75	
	n	6		6		6		6		6		6		6	
CVL 120	Mean	9.097	12.817	93.13	90.32	5.53	7.02	0.00	0.00	0.83	1.00	0.00	0.00	0.50	1.67
	S.D.	2.121	3.167	2.63	1.74	2.27	2.37	0.00	0.00	0.75	0.89	0.00	0.00	0.55	0.82
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	9.698	10.642	91.67	93.00	6.67	5.83	0.00	0.17	0.83	0.33	0.00	0.00	0.83	0.67
	S.D.	2.160	3.411	5.20	3.41	5.20	2.48	0.00	0.41	0.41	0.82	0.00	0.00	0.75	0.52
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 4 Hematology - Summary

Study No. 8010049

Test Substance Dose(mg/kg)		Red Blood Cell Count x10E6/ μ L		Hemoglobin conc. g/dL		Hematocrit %		MCV fL		MCH pg		MCHC %		Platelet Count x10E3/ μ L		Reticulocyte Ratio %		PT sec	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL	Mean	7.305	8.213	14.38	15.48	42.92	45.27	58.73	55.07	19.70	18.82	33.57	34.20	1188.7	1156.3	2.20	2.02	17.00	16.93
	S.D.	0.365	0.466	0.75	1.10	2.14	3.53	1.21	1.82	0.43	0.69	0.19	0.44	63.5	59.5	0.57	0.50	1.34	0.68
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	7.365		14.50		43.02		58.45		19.72		33.58		1214.3		2.43		16.50	
	S.D.	0.373		0.66		1.61		0.95		0.25		0.40		113.3		0.60		0.69	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	7.417		14.23		42.55		57.40		19.20		33.45		1179.0		2.30		15.95	
	S.D.	0.361		0.45		1.27		1.39		0.42		0.29		87.2		0.19		0.75	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	7.272	7.647*	14.35	14.37**	42.20	42.08*	58.02	55.05	19.73	18.77	34.00	34.10	1214.8	1132.8	2.27	2.65	16.95	16.95
	S.D.	0.140	0.278	0.34	0.30	0.92	0.90	1.28	1.53	0.54	0.58	0.32	0.38	112.7	92.4	0.35	0.40	1.37	0.59
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	7.368	7.757	14.62	14.73	43.20	42.60	58.67	54.97	19.87	19.00	33.85	34.52	1299.2	1138.7	2.55	2.40	17.03	16.47
	S.D.	0.375	0.247	0.63	0.44	2.18	1.40	1.56	1.48	0.73	0.53	0.66	0.48	149.7	118.6	0.30	0.46	0.84	0.88
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Test Substance		APTT	
Dose (mg/kg)		sec	
		Week 5	Week 7
CVL	Mean	14.75	14.52
	S. D.	1.29	0.64
	n	6	6
CVL	Mean	13.92	
	S. D.	1.19	
	n	6	
CVL	Mean	14.70	
	S. D.	1.52	
	n	6	
CVL	Mean	13.80	14.40
	S. D.	1.34	1.50
	n	6	6
CVL	Mean	14.32	14.67
	S. D.	0.86	1.50
	n	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 4 Hematology - Summary Female

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)		White Blood Cell Count x10E3/ μ L		Lymphocyte %		Neutrophilic Segmented %		Neutrophilic Band %		Eosinophil %		Basophil %		Monocyte %	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	8.498	7.698	89.65	92.48	7.68	4.85	0.00	0.00	0.67	0.67	0.00	0.00	2.00	2.00
	S.D.	1.966	1.400	5.31	3.61	3.21	2.72	0.00	0.00	1.03	0.82	0.00	0.00	2.10	2.28
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	6.933		93.32		5.17		0.00		0.33		0.00		1.18	
	S.D.	1.739		1.76		2.32		0.00		0.52		0.00		2.08	
	n	6		6		6		6		6		6		6	
CVL 30	Mean	7.342		95.17*		3.50*		0.00		0.50		0.00		0.83	
	S.D.	2.631		3.25		3.15		0.00		0.55		0.00		0.75	
	n	6		6		6		6		6		6		6	
CVL 120	Mean	8.162	6.337	94.98*	91.80	3.85	6.03	0.00	0.17	0.67	0.83	0.00	0.00	0.50	1.17
	S.D.	1.875	1.085	1.92	4.16	1.49	2.93	0.00	0.41	0.82	0.75	0.00	0.00	0.84	0.98
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	7.470	8.642	95.67*	92.00	3.50*	7.00	0.00	0.17	0.67	0.67	0.00	0.00	0.17	0.17
	S.D.	2.077	1.855	2.58	3.16	2.59	2.83	0.00	0.41	0.82	0.52	0.00	0.00	0.41	0.41
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 5 Blood Chemistry - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)		ASAT(GOT) U/L		ALAT(GPT) U/L		γ GT U/L		ALP U/L		Total Bilirubin mg/dL		Urea Nitrogen mg/dL		Creatinine mg/dL		Glucose mg/dL		Total Cholesterol mg/dL	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	109.2	102.5	30.0	32.5	0.0	1.3	621.7	574.7	0.10	0.10	14.88	16.52	0.20	0.23	124.0	137.2	48.8	52.5
	S.D.	26.4	12.0	5.4	4.8	0.0	0.8	71.6	81.2	0.00	0.00	1.78	1.64	0.00	0.05	12.7	20.4	8.5	11.0
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	109.7		33.8		0.3		734.8		0.10		15.10		0.22		124.8		44.3	
	S.D.	10.5		5.3		0.5		236.8		0.00		2.89		0.04		13.2		4.9	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 30	Mean	106.5		32.8		0.2		618.3		0.08		15.95		0.20		126.7		47.8	
	S.D.	25.2		2.8		0.4		132.3		0.04		1.54		0.00		21.7		9.1	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 120	Mean	97.5	106.2	29.0	30.8	0.2	0.8	644.8	520.7	0.10	0.10	15.02	16.52	0.23	0.25	122.7	140.5	44.3	50.2
	S.D.	14.0	18.7	3.0	4.7	0.4	0.8	89.4	74.2	0.00	0.00	1.95	2.69	0.05	0.05	10.1	12.8	7.7	9.4
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	108.5	125.8	31.2	30.8	0.7	0.8	612.0	423.0**	0.07	0.10	15.82	14.85	0.23	0.22	125.5	140.5	43.7	49.0
	S.D.	12.5	28.8	4.3	5.0	0.8	0.8	150.2	83.4	0.05	0.00	1.75	0.83	0.05	0.04	13.8	7.2	10.1	3.9
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 5 Blood Chemistry - Summary Male

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)		Triglyceride mg/dL		Total Protein g/dL		Albumin g/dL		A/G Ratio		Calcium mg/dL		Inorganic Phosphorus mg/dL		Na mmol/L		K mmol/L		Cl mmol/L	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL	Mean	24.7	29.5	6.23	6.62	3.23	3.40	1.080	1.058	10.00	9.97	9.38	8.43	148.2	148.5	4.35	4.55	105.5	105.8
	S. D.	15.8	10.0	0.18	0.34	0.10	0.15	0.018	0.041	0.27	0.30	0.48	0.31	0.8	1.8	0.16	0.18	1.5	2.1
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	28.7		6.40		3.35		1.085		10.10		9.57		147.5		4.38		105.2	
	S. D.	12.3		0.20		0.16		0.074		0.13		0.59		0.5		0.15		0.4	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	36.5		6.45		3.27		1.040		10.08		9.57		147.7		4.53		105.5	
	S. D.	15.4		0.16		0.08		0.035		0.12		0.33		0.5		0.29		1.0	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	46.5	42.0	6.38	6.58	3.33	3.33	1.078	1.032	10.08	10.05	9.32	8.72	147.3	148.0	4.60	4.53	105.7	106.3
	S. D.	17.7	16.6	0.25	0.10	0.18	0.08	0.084	0.070	0.23	0.19	0.27	0.52	1.0	0.0	0.19	0.12	1.0	1.2
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	31.5	40.7	6.63	6.67	3.42	3.35	1.072	1.002	10.08	10.08	9.05	8.73	148.3	148.3	4.40	4.53	106.8	107.0
	S. D.	7.3	19.7	0.50	0.22	0.25	0.12	0.090	0.049	0.45	0.16	0.37	0.39	1.2	0.8	0.18	0.22	2.0	0.9
	n	6	6	6	6	5	6	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 5 Blood Chemistry - Summary Female

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)		ASAT (GOT) U/L		ALAT (GPT) U/L		γ GT U/L		ALP U/L		Total Bilirubin mg/dL		Urea Nitrogen mg/dL		Creatinine mg/dL		Glucose mg/dL		Total Cholesterol mg/dL	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	101.3	124.5	24.0	22.3	1.0	0.7	428.3	357.8	0.08	0.10	15.97	16.05	0.28	0.32	115.8	119.7	56.3	58.2
	S.D.	13.4	27.1	3.3	3.4	0.6	0.8	106.5	121.7	0.04	0.00	5.91	2.63	0.08	0.04	15.4	11.6	7.9	10.2
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	126.3		23.8		0.3		495.3		0.10		15.18		0.30		116.2		54.8	
	S.D.	25.5		3.1		0.5		137.4		0.00		1.19		0.06		10.7		13.0	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 30	Mean	115.0		22.2		0.5		432.8		0.07		15.17		0.28		122.2		59.7	
	S.D.	19.6		5.4		0.5		126.0		0.05		2.94		0.04		18.3		11.6	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 120	Mean	108.5	110.7	21.7	24.3	0.5	1.0	373.3	281.2	0.03	0.10	15.40	17.35	0.25	0.32	116.0	131.2	67.3	52.3
	S.D.	17.5	31.9	2.9	2.7	0.8	0.6	57.3	92.6	0.05	0.00	2.76	2.91	0.05	0.04	25.8	16.3	14.7	14.9
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	110.0	109.0	23.2	24.3	0.7	0.5	376.8	257.0	0.02	0.12	21.97	15.87	0.35	0.30	106.5	129.5	71.5	60.5
	S.D.	15.2	9.5	3.4	2.9	0.5	0.5	42.8	43.4	0.04	0.04	8.73	3.02	0.12	0.00	15.2	23.5	13.0	9.0
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 5 Blood Chemistry - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)		Female																			
		Triglyceride		Total Protein		Albumin		A/G Ratio		Calcium		Inorganic Phosphorus		Na		K		Cl			
		mg/dL		g/dL		g/dL				mg/dL		mg/dL		mmol/L		mmol/L		mmol/L			
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL	Mean	10.5	12.7	6.40	6.50	3.42	3.42	1.125	1.108	9.75	9.72	8.10	7.83	147.5	147.7	4.10	4.67	108.7	107.8		
	S.D.	4.4	6.4	0.20	0.24	0.10	0.15	0.042	0.054	0.27	0.59	0.57	0.86	0.8	0.5	0.09	1.47	1.9	1.5		
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	15.2		6.43		3.35		1.095		9.77		8.23		146.3		4.27		106.5			
	S.D.	9.8		0.25		0.10		0.057		0.24		0.91		1.0		0.27		2.4			
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6			
CVL	Mean	15.0		6.33		3.35		1.117		9.72		7.90		147.3		4.08		107.8			
	S.D.	8.2		0.21		0.10		0.065		0.35		0.96		1.0		0.28		1.8			
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6			
CVL	Mean	11.7	12.2	6.42	6.58	3.38	3.38	1.127	1.057	9.95	9.48	8.50	6.80*	145.8*	148.2	4.28	4.13	107.3	109.5		
	S.D.	2.4	6.4	0.51	0.36	0.27	0.25	0.061	0.061	0.19	0.36	0.38	0.33	1.2	1.0	0.12	0.28	1.4	0.8		
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	12.7	14.5	6.45	6.70	3.38	3.53	1.117	1.130	9.77	9.85	8.20	7.30	147.3	147.5	4.17	4.13	108.3	107.5		
	S.D.	10.8	3.7	0.20	0.45	0.12	0.27	0.052	0.045	0.48	0.36	0.51	0.34	0.8	1.0	0.32	0.16	0.8	1.5		
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 6 Urinalysis - Summary

Study No. B010049

Test Substance		pH										Protein					Glucose					Ketones					Bilirubin				Occult Blood				
Dose (mg/kg)		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	>=9	-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	
		Week 4										Week 4					Week 4					Week 4					Week 4				Week 4				
CVL	0																																		
	n	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	2	4	0	0	6	0	0	0	0	1	4	1	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	
CVL	8																																		
	n	0	0	0	0	0	0	1	5	0	1	1	3	1	0	6	0	0	0	0	2	4	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	
CVL	30																																		
	n	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	2	4	0	0	6	0	0	0	0	1	4	1	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	
CVL	120																																		
	n	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	6	0	0	0	0	0	3	3	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	
CVL	500																																		
	n	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	0	5	0	0	6	0	0	0	0	1	3	2	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 6 Urinalysis - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)		Urobilinogen				
		EU/dl				
		0.1	1.0	2.0	4.0	>=8
		Week 4				
CVL	0					
	n	4	2	0	0	0
CVL	8					
	n	4	2	0	0	0
CVL	30					
	n	5	1	0	0	0
CVL	120					
	n	4	2	0	0	0
CVL	500					
	n	6	0	0	0	0

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 6 Urinalysis - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)	pH	Protein										Glucose																												
		5.0 Week 4	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	>=9	5.0 Week 6	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	>=9	- Week 4	+/-	1+	2+	3+	- Week 6	+/-	1+	2+	3+	- Week 4	+/-	1+	2+	3+	- Week 6	+/-	1+	2+	3+	
CVL	0	n	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	3	1	2	0	0	2	2	2	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	
CVL	8	n	0	0	0	0	0	0	1	5	0									2	2	2	0	0					6	0	0	0	0							
CVL	30	n	0	0	0	0	0	0	0	5	1									1	4	0	1	0					6	0	0	0	0							
CVL	120	n									*																													
CVL	120	n	0	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	1	5	0	3	2	1	0	0	4	0	1	1	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
CVL	500	n									*																													
CVL	500	n	0	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	1	0	5	0	4	1	1	0	0	2	4	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 6 Urinalysis - Summary Female

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)	Ketones					Bilirubin					Occult Blood				
	-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+
	Week 4					Week 6					Week 4				
CVL															
0															
n	4	2	0	0	0	2	4	0	0	0	6	0	0	0	0
CVL															
8															
n	2	4	0	0	0						6	0	0	0	0
CVL															
30															
n	2	4	0	0	0						6	0	0	0	0
CVL															
120															
n	3	3	0	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
CVL															
500															
n	3	3	0	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 6 Urinalysis - Summary Female

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)	Urobilinogen										
	EU/dl										
	0.1	1.0	2.0	4.0	>=8	0.1	1.0	2.0	4.0	>=8	
	Week 4					Week 6					
CVL	0										
	n	4	2	0	0	0	3	3	0	0	0
CVL	8										
	n	2	4	0	0	0					
CVL	30										
	n	2	4	0	0	0					
CVL	120										
	n	5	1	0	0	0	4	2	0	0	0
CVL	500										
	n	5	1	0	0	0	3	3	0	0	0

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 7 Urinalysis - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)		Urine Specific Gravity	Urine Volume mL	Urine Na mmol	Urine K mmol	Urine Cl mmol
		Week 4	Week 4	Week 4	Week 4	Week 4
CVL 0	Mean	1.0573	8.38	0.875	2.340	1.160
	S. D.	0.0121	2.04	0.250	0.360	0.145
	n	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	1.0567	9.15	1.127	2.428	1.347
	S. D.	0.0085	2.29	0.107	0.338	0.130
	n	6	6	6	6	6
CVL 30	Mean	1.0582	10.13	0.887	2.510	1.258
	S. D.	0.0166	5.15	0.308	0.238	0.177
	n	6	6	6	6	6
CVL 120	Mean	1.0657	7.95	1.035	2.327	1.248
	S. D.	0.0212	3.32	0.313	0.488	0.341
	n	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	1.0520	10.70	1.020	2.387	1.242
	S. D.	0.0137	4.94	0.301	0.772	0.315
	n	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 8 Organ Weight - Summary

Study No. BD10049

Test Substance Dose(mg/kg)		Final Body Weight		Brain		Thymus		Heart		Liver		Spleen		Kidneys		Adrenals		Testes	
		g		g		mg		g		g		g		g		mg		g	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL	Mean	350.5	408.0	2.035	2.075	533.7	424.0	1.235	1.365	10.218	11.447	0.712	0.757	2.672	2.782	51.07	61.28	3.120	3.203
	S.D.	24.4	25.8	0.074	0.049	76.8	102.3	0.123	0.091	0.966	1.577	0.091	0.087	0.327	0.296	3.76	6.78	0.217	0.309
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	364.8		2.020		595.8		1.203		10.808		0.748		2.720		60.38		3.023	
	S.D.	21.1		0.040		58.2		0.100		0.835		0.072		0.165		5.33		0.099	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	359.7		2.013		644.0		1.258		10.983		0.762		2.667		55.65		3.025	
	S.D.	21.4		0.105		168.3		0.052		0.829		0.094		0.139		5.27		0.251	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	366.3	437.8	2.105	2.090	603.0	574.2	1.312	1.443	11.452	12.605	0.680	0.893*	2.628	3.035	58.00	65.10	3.120	3.292
	S.D.	31.8	31.2	0.058	0.054	128.0	144.2	0.063	0.265	1.280	1.217	0.053	0.074	0.207	0.284	8.03	7.73	0.260	0.171
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	365.0	437.0	2.050	2.083	556.8	505.2	1.218	1.498	11.705	12.588	0.742	0.823	2.692	3.105	58.13	65.57	2.903	3.203
	S.D.	20.7	34.1	0.033	0.087	61.0	78.9	0.073	0.201	1.343	1.687	0.192	0.093	0.220	0.192	2.04	2.31	0.238	0.196
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 8 Organ Weight - Summary Male

Study No. B010049

Test Substance		Epididymides	
Dose (mg/kg)		g	
		Week 5	Week 7
CVL	Mean	0.835	1.078
	0 S. D.	0.068	0.052
	n	6	6
CVL	Mean	0.803	
	8 S. D.	0.058	
	n	6	
CVL	Mean	0.787	
	30 S. D.	0.074	
	n	5	
CVL	Mean	0.797	1.198
	120 S. D.	0.032	0.134
	n	6	6
CVL	Mean	0.793	1.078
	500 S. D.	0.071	0.060
	n	6	6

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 8 Organ Weight - Summary Female

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)		Final Body Weight		Brain		Thymus		Heart		Liver		Spleen		Kidneys		Adrenals		Ovaries	
		g		g		mg		g		g		g		g		mg		mg	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL	Mean	234.3	254.7	1.940	1.948	540.0	469.0	0.905	0.902	7.122	7.210	0.580	0.603	1.883	1.963	78.18	79.18	108.65	94.65
	S.D.	8.8	23.7	0.040	0.076	127.3	79.4	0.036	0.096	0.262	0.922	0.082	0.087	0.135	0.234	14.33	8.36	12.07	11.49
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	240.7		1.960		512.7		0.890		7.312		0.557		1.858		76.92		99.40	
	S.D.	16.5		0.086		45.1		0.099		0.511		0.068		0.171		9.19		8.82	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	229.2		1.987		528.0		0.865		7.023		0.545		1.922		79.98		101.40	
	S.D.	11.7		0.097		130.3		0.090		0.428		0.084		0.165		12.30		9.95	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL	Mean	240.7	253.2	1.932	1.938	601.7	430.7	0.890	0.890	7.758	7.172	0.560	0.603	1.998	1.933	74.38	76.28	112.70	119.53
	S.D.	26.0	20.2	0.084	0.068	183.6	60.1	0.104	0.078	0.898	0.564	0.096	0.081	0.232	0.174	9.08	19.26	18.45	21.78
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL	Mean	230.7	270.5	1.900	1.988	517.7	440.2	0.868	0.993	7.628	7.682	0.547	0.530	1.873	2.015	79.57	78.47	106.30	111.47
	S.D.	9.2	30.3	0.090	0.095	44.6	65.5	0.096	0.098	0.727	1.317	0.061	0.058	0.077	0.402	5.82	15.14	6.08	21.36
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 9 Relative Organ Weight - Summary Male

Study No. B010049

Test Substance Dose (mg/kg)		Final Body Weight g		Brain %		Thymus x10 ⁻³ %		Heart %		Liver %		Spleen %		Kidneys %		Adrenals x10 ⁻³ %		Testes %	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	350.5	408.0	0.583	0.510	152.13	104.78	0.353	0.337	2.913	2.797	0.202	0.183	0.762	0.680	14.67	15.00	0.893	0.787
	S.D.	24.4	25.8	0.038	0.041	18.47	27.50	0.041	0.034	0.132	0.235	0.021	0.012	0.043	0.044	1.89	1.10	0.071	0.073
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	364.8		0.553		163.93		0.332		2.960		0.205		0.747		15.57		0.830	
	S.D.	21.1		0.034		20.84		0.012		0.111		0.015		0.041		1.28		0.061	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 30	Mean	359.7		0.562		178.63		0.350		3.057		0.213		0.743		15.52		0.843	
	S.D.	21.4		0.044		45.11		0.024		0.232		0.023		0.026		1.68		0.078	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 120	Mean	366.3	437.8	0.578	0.478	164.08	130.90	0.360	0.330	3.127	2.882	0.187	0.205	0.718	0.692	15.83	14.88	0.855	0.753
	S.D.	31.8	31.2	0.047	0.026	28.83	30.98	0.028	0.040	0.250	0.189	0.019	0.019	0.065	0.034	2.07	1.69	0.103	0.071
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	365.0	437.0	0.565	0.480	152.87	115.75	0.335	0.343	3.198	2.872	0.202	0.190	0.737	0.713	15.95	15.07	0.797	0.737
	S.D.	20.7	34.1	0.029	0.049	17.77	17.36	0.016	0.038	0.247	0.186	0.049	0.024	0.024	0.022	0.62	1.29	0.085	0.063
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 9 Relative Organ Weight - Summary Male

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)		Epididymides	
		%	
		Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	0.238	0.267
	S. D.	0.017	0.023
	n	6	6
CVL 8	Mean	0.222	
	S. D.	0.028	
	n	5	
CVL 30	Mean	0.222	
	S. D.	0.024	
	n	5	
CVL 120	Mean	0.222	0.275
	S. D.	0.026	0.034
	n	6	6
CVL 500	Mean	0.218	0.250
	S. D.	0.029	0.020
	n	6	6

Significantly different from control : *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 9 Relative Organ Weight - Summary

Study No. B010049

Test Substance Dose(mg/kg)		Final Body Weight g		Brain %		Thymus x10 ⁻³ %		Heart %		Liver %		Spleen %		Kidneys %		Adrenals x10 ⁻³ %		Ovaries x10 ⁻³ %	
		Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7	Week 5	Week 7
CVL 0	Mean	234.3	254.7	0.830	0.768	230.25	185.60	0.385	0.353	3.040	2.830	0.248	0.237	0.802	0.772	33.42	31.23	46.33	37.17
	S.D.	8.8	23.7	0.026	0.056	52.10	36.78	0.014	0.020	0.138	0.228	0.028	0.030	0.034	0.053	6.32	3.34	4.51	2.91
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 8	Mean	240.7		0.817		213.43		0.368		3.042		0.232		0.773		32.05		41.32	
	S.D.	16.5		0.036		18.24		0.024		0.123		0.018		0.060		4.19		2.44	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 30	Mean	229.2		0.868		228.97		0.375		3.065		0.238		0.838		34.77		44.48	
	S.D.	11.7		0.059		47.39		0.024		0.115		0.039		0.062		3.76		6.05	
	n	6		6		6		6		6		6		6		6		6	
CVL 120	Mean	240.7	253.2	0.808	0.768	246.25	169.83	0.372	0.352	3.225	2.837	0.232	0.237	0.832	0.763	30.98	29.90	47.02	47.15
	S.D.	26.0	20.2	0.066	0.058	55.67	16.21	0.013	0.008	0.143	0.149	0.026	0.029	0.073	0.040	2.78	6.00	6.84	7.83
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CVL 500	Mean	230.7	270.5	0.823	0.742	224.27	165.35	0.375	0.367	3.307*	2.832	0.237	0.197*	0.812	0.740	34.53	28.97	46.15	41.30
	S.D.	9.2	30.3	0.029	0.090	14.92	34.83	0.030	0.021	0.271	0.290	0.028	0.020	0.044	0.089	2.71	4.23	3.20	7.39
	n	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 10 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 5)

Study No. B010049

Organ	Sex			Male		
	Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
	Dose (mg/kg)	0	8	30	120	500
Findings	Number of Animals	6	6	6	6	6
	Number of Animals Examined	<6>	<6>	<6>	<6>	<6>
Lung						
Brown patch		0	0	0	0	1
Liver						
Hepatodiaphragmatic nodule		0	1	0	0	0
Kidney						
Cyst		0	1	0	0	0
Dilatation, pelvis		0	0	2	0	0
Significantly different from control		: *, P<0.05; **, P<0.01.				

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 10 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 5)

Study No. B010049

Organ	Sex			Female		
	Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
Findings	Dose (mg/kg)	0	8	30	120	500
	Number of Animals	6	6	6	6	6
	Number of Animals Examined	<6>	<6>	<6>	<6>	<6>
Thyroid						
Defect, right		0	0	1	0	0

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
 Table 11 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 7)

Study No. B010049

Organ	Sex	Test Substance	Male			Female		
			CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
Findings		Dose (mg/kg)	0	120	500	0	120	500
		Number of Animals	6	6	6	6	6	6
		Number of Animals Examined	<6>	<6>	<6>	<6>	<6>	<6>
Lung								
Brown patch			1	1	0	0	0	0

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 12 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 5)

Study No. B010049

Organ	Sex					
	Test Substance		CVL	CVL	CVL	CVL
Findings	Dose (mg/kg)		0	8	30	120
	Number of Animals		6	6	6	6
Heart			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Myocardial degeneration/fibrosis, focal	1	0				2
	2	0				0
	3	0				0
Mandibular lymph node			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Mesenteric lymph node			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Thymus			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Spleen			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Extramedullary hematopoiesis, erythrocytic	1	2				2
	2	0				0
	3	0				0
Bone marrow (femur)			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Trachea			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Lung			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Accumulation, foam cell	1	1				1
	2	0				0
	3	0				0
Inflammatory cell infiltration, focal	1	1				1
	2	0				0
	3	0				0
Stomach			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Duodenum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Jejunum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Ileum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 12 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 5)

Study No. B010049

Organ Findings	Sex Test Substance Dose (mg/kg) Number of Animals	:	Male			
			CVL	CVL	CVL	CVL
			0	8	30	120
			6	6	6	6
Cecum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Colon			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Rectum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Liver			< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	1	0	0	0	0	1
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, focal	1	4	4	4	1	5
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Microgranuloma	1	2	4	3	1	2
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Necrosis, focal	1	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Kidney			< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
Basophilic tubule, proximal	1	2	4	2	2	3
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Cyst	1	0	1	0	1	1
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Dilatation, pelvis	1	0	0	3*	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 12 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 5)

Study No. B010049

Organ	Sex			Male		
	Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL	
Findings	Dose (mg/kg)	0	8	30	120	500
	Number of Animals	6	6	6	6	6
Kidney		< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
Hyaline droplet, tubular epithelium, proximal	1	0	4*	5**	4*	2
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal	1	2	2	2	2	1
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Urinary bladder		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Testis		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Epididymis		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Inflammatory cell infiltration, lymphocyte, focal	1	6				4
	2	0				0
	3	0				0
Prostate		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Inflammatory cell infiltration, lymphocyte, focal	1	2				0
	2	0				0
	3	0				0
Pituitary		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Cystic dilatation, Rathke's pouch	1	0				1
	2	0				0
	3	0				0
Thyroid		< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
Ectopic thymic tissue	1	2	0	4	1	0
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Hypertrophy, follicular cell, diffuse	1	0	0	0	0	3*
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Organ	Findings	Sex		Male			
		Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
		Dose (mg/kg)	0	8	30	120	500
		Number of Animals	6	6	6	6	6
Parathyroid			< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
	Hypertrophy, chief cell	1	0	0	0	0	4*
		2	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0
Adrenal			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Brain			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Spinal cord			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Sciatic nerve			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Eyeball			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Harderian gland			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 12 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 5)

Study No. 8010049

Organ	Sex					
	Test Substance		CVL	CVL	Female CVL	CVL
Findings	Dose (mg/kg)		0	8	30	120
	Number of Animals		6	6	6	6
Heart			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Mandibular lymph node			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Mesenteric lymph node			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Thymus			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Spleen			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Bone marrow (femur)			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Trachea			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Dilatation, tracheal gland		1	1			1
		2	0			0
		3	0			0
Lung			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Accumulation, foam cell		1	1			0
		2	0			0
		3	0			0
Stomach			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Ectopic glandular stomach tissue, forestomach		1	1			0
		2	0			0
		3	0			0
Duodenum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Jejunum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Ileum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Cecum			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Colon			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>

<>, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Organ	Findings	Sex		CVL		Female		CVL	
		Test Substance	:	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
		Dose (mg/kg)	:	0	8	30	120	500	
		Number of Animals	:	6	6	6	6	6	
Rectum				< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>	
Liver				< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	
	Fatty change, hepatocyte, focal	1	0	0	1	0	1	0	
		2	0	0	0	0	0	0	
		3	0	0	0	0	0	0	
	Fatty change, hepatocyte, periportal	1	1	3	1	1	2		
		2	0	0	0	0	0		
		3	0	0	0	0	0		
	Inflammatory cell infiltration, focal	1	2	4	2	3	5		
		2	0	0	0	0	0		
		3	0	0	0	0	0		
	Microgranuloma	1	2	2	2	2	4		
		2	0	0	0	0	0		
		3	0	0	0	0	0		
Kidney				< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>	
	Basophilic tubule, proximal	1	1				2		
		2	0				0		
		3	0				0		
	Cyst	1	1				0		
		2	0				0		
		3	0				0		
	Inflammatory cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal	1	0				1		
		2	0				0		
		3	0				0		
	Mineralization, corticomedullary junction	1	2				0		
		2	0				0		
		3	0				0		

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 12 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 5)

Study No. B010049

Organ	Sex	CVL	CVL	Female	CVL	CVL
	Test Substance			CVL		
Findings	Dose (mg/kg)	0	8	30	120	500
	Number of Animals	6	6	6	6	6
Urinary bladder		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Ovary		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Uterus		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Vagina		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Pituitary		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Cystic dilatation, Rathke's pouch	1	1				0
	2	0				0
	3	0				0
Thyroid		< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
Ectopic thymic tissue	1	0	2	0	0	1
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Hypertrophy, follicular cell, diffuse	1	0	0	0	0	3*
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, lymphocyte, focal	1	0	0	0	0	1
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
Parathyroid		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Adrenal		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Brain		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Spinal cord		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Sciatic nerve		< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

Organ	Sex	:			Female		
	Test Substance	:	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
Findings	Dose (mg/kg)	:	0	8	30	120	500
	Number of Animals	:	6	6	6	6	6
Eyeball			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>
Harderian gland			< 6>	< 0>	< 0>	< 0>	< 6>

◇, Number of animals examined

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 13 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 7)

Study No. B010049

Organ	Sex	Male		Female	
	Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL
Findings	Dose (mg/kg)	0	120	0	120
	Number of Animals	6	6	6	6
Spleen		< 0>	< 0>	< 0>	< 0>
Lung		< 1>	< 1>	< 0>	< 0>
Inflammatory cell infiltration, focal	1	1	1		
	2	0	0		
	3	0	0		
Liver		< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
Fatty change, hepatocyte, focal	1	0	1	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
Fatty change, hepatocyte, periportal	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
Inflammatory cell infiltration, focal	1	2	4	4	3
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
Microgranuloma	1	1	3	3	1
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
Kidney		< 6>	< 6>	< 0>	< 0>
Basophilic tubule, proximal	1	2	2		
	2	0	0		
	3	0	0		
Cyst	1	0	2	0	
	2	0	0	0	
	3	0	0	0	
Hyaline droplet, tubular epithelium, proximal	1	5	4	5	
	2	0	0	0	
	3	0	0	0	

◇ . Number of animals examined

1 . Slight; 2 . Moderate; 3 . Severe

Significantly different from control : *, P<0. 05; **, P<0. 01.

Twenty-eight-day Repeat Dose Oral Toxicity Test of 3,3-bis(p-dimethylaminophenyl)-6-dimethylaminophthalide in Rats
Table 13 Histological Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 7)

Study No. B010049

Organ	Sex	:	Male			Female		
	Test Substance	:	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
Findings	Dose (mg/kg)	:	0	120	500	0	120	500
	Number of Animals	:	6	6	6	6	6	6
Kidney			< 6>	< 6>	< 6>	< 0>	< 0>	< 0>
Hyperplasia, tubular epithelium, collecting tubule	1	1	0	0				
	2	0	0	0				
	3	0	0	0				
Inflammatory cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal	1	2	1	0				
	2	0	0	0				
	3	0	0	0				
Thyroid			< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	< 6>	< 6>
Ectopic thymic tissue	1	0	1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0
Parathyroid			< 6>	< 6>	< 6>	< 0>	< 0>	< 0>

◇, Number of animals examined

1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.