

B041802

## 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  
経口投与による簡易生殖毒性試験

(試験番号 : B041802)

2007年1月23日

株式会社三菱化学安全科学研究所

## 2. 目次

2. 目次 .....	3
5. 要約 .....	11
6. 緒言 .....	12
7. 材料および方法 .....	13
7.1 被験物質 .....	13
7.1.1 名称 .....	13
7.1.2 CAS 番号 .....	13
7.1.3 物理化学的性状 .....	13
7.1.4 入手先 .....	13
7.1.5 入手日 .....	13
7.1.6 ロット番号 .....	13
7.1.7 純度 .....	13
7.1.8 保存条件 .....	13
7.1.9 保管場所 .....	13
7.1.10 安定性の確認 .....	13
7.1.11 取扱上の注意 .....	14
7.1.12 実験終了後の被験物質の取扱い .....	14
7.2 媒体 .....	14

7.2.1 名称.....	14
7.2.2 調製方法.....	14
7.2.3 保存条件.....	14
7.2.4 保管場所.....	14
7.2.5 保存期間.....	14
7.3 試験動物 .....	15
7.3.1 動物種.....	15
7.3.2 系統.....	15
7.3.3 系統選択理由.....	15
7.3.4 微生物レベル.....	15
7.3.5 購入先.....	15
7.3.6 購入動物数.....	15
7.3.7 検疫・馴化.....	15
7.3.8 投与開始時週齢.....	15
7.3.9 投与開始時体重.....	15
7.3.10 群分け .....	15
7.3.11 動物の識別.....	16
7.3.12 余剰動物の措置 .....	16
7.4 動物飼育 .....	16
7.4.1 飼育室.....	16
7.4.2 飼育環境.....	16
7.4.2.1 溫度 .....	16
7.4.2.2 相対湿度 .....	16
7.4.2.3 換気 .....	16
7.4.2.4 照明時間 .....	16
7.4.3 飼育器材.....	16
7.4.3.1 ケージ .....	16
7.4.3.2 トレー .....	17
7.4.3.3 給餌器 .....	17
7.4.3.4 給水器 .....	17
7.4.3.5 架台 .....	17
7.4.4 床敷 .....	17
7.4.4.1 種類 .....	17
7.4.4.2 汚染物質の確認 .....	18
7.4.5 飼料 .....	18
7.4.5.1 種類 .....	18
7.4.5.2 給餌法 .....	18
7.4.5.3 汚染物質の確認 .....	18

7.4.6 飲用水.....	18
7.4.6.1 種類 .....	18
7.4.6.2 紿水法 .....	18
7.4.6.3 分析 .....	18
7.4.7 収容動物数.....	18
7.5 投与 .....	18
7.5.1 経路・方法.....	18
7.5.2 投与方法の選択理由.....	19
7.5.3 回数.....	19
7.5.4 期間.....	19
7.5.5 用量および用量設定理由.....	19
7.5.6 投与液量.....	20
7.6 投与液の調製.....	20
7.6.1 方法・頻度.....	20
7.6.2 安定性および均一性の確認.....	20
7.6.3 濃度および均一性の確認.....	20
7.7 投与液の分析方法.....	20
7.7.1 高速液体クロマトグラフ（HPLC）操作条件 .....	21
7.7.2 標準溶液の調製.....	21
7.7.3 試料溶液の調製.....	21
7.7.4 各溶液の HPLC 測定 .....	22
7.8 群構成 .....	22
7.9 反復投与毒性に関する観察・測定項目 .....	22
7.9.1 一般状態の観察.....	22
7.9.2 体重.....	22
7.9.3 摂餌量.....	23
7.9.4 病理学的検査.....	23
7.9.4.1 器官重量 .....	23
7.9.4.2 病理解剖検査 .....	23
7.9.4.3 病理組織学的検査 .....	23
7.10 生殖発生毒性に関する観察・検査項目 .....	24
7.10.1 生殖機能検査 .....	24
7.10.1.1 性周期 .....	24
7.10.1.2 交配 .....	24
7.10.2 分娩および哺育の観察 .....	24
7.10.3 哺育終了後の検査 .....	24
7.10.4 新生児の観察・検査 .....	25
7.10.4.1 新生児の観察 .....	25

7.10.4.2 体重.....	25
7.10.4.3 剖検.....	25
7.11 統計学的解析.....	25
7.12 コンピュータシステムの使用.....	26
8. 結果 .....	27
8.1 反復投与毒性 .....	27
8.1.1 一般状態.....	27
8.1.2 体重.....	27
8.1.3 摂餌量.....	27
8.1.4 器官重量.....	27
8.1.5 剖検所見.....	27
8.1.6 病理組織所見.....	27
8.2 生殖発生毒性 .....	28
8.2.1 生殖機能.....	28
8.2.2 分娩および哺育状態.....	28
8.2.3 新生児への影響.....	28
8.2.3.1 新生児の観察 .....	28
8.2.3.2 体重 .....	29
8.2.3.3 剖検 .....	29
9. 考察および結論 .....	30
10. 参考文献 .....	32

図および群別表（ページ1-54）

## 5. 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 100, 300 および 1000 mg/kg の用量で SD 系ラット [Crj:CD(SD)IGS] の雄に交配前 14 日から交配を経て計 42 日間, 雌は交配前 14 日から交配, 妊娠, 分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し, 生殖発生毒性について検討した. 1 群の動物数は雌雄各 12 匹とし, 対照群には媒体 (0.1%Tween 80 添加 0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液) のみを投与した.

一般毒性に関しては, 投与期間を通じ死亡例はなく, 一般状態, 体重, 摂餌量, 器官重量, 剖検および病理組織学検査のいずれにも被験物質に起因すると考えられる毒性変化は認められなかった.

親動物の生殖機能への影響としては, 平均性周期日数, 異常性周期動物の発現率, 交尾率, 交尾所要日数, 交尾成立までに逸した発情期の回数, 受胎率, 分娩率, 妊娠期間, 黄体数, 着床数, 着床率および出産率のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった. また, 分娩および哺育異常は認められなかった.

新生児に及ぼす影響としては, 出産児数, 出產生児数, 性比, 出生率および新生児の 4 日生存率, 外表検査, 一般状態, 体重および剖検のいずれにも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, 本試験条件下における雌雄の一般毒性学的無影響量, 雌雄親動物の生殖機能に対する無影響量ならびに新生児に対する無影響量はいずれも 1000 mg/kg/day と考えられる.

## 6. 緒言

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は感圧複写紙、感熱記録紙および通信記録紙用発色剤として用いられ、さらに光化学的に生成する酸により発色させる非銀塩感光材料、酸発色性の無色指紋インキ、タイプリボン、クレヨンおよびマジックペンなどにも使用されている[1]。毒性情報として、単回経口投与毒性試験[2]では2000mg/kgの用量でも死亡例は認められなかった。また、28日間反復経口投与毒性試験[3]では、500mg/kgの用量で雌雄の甲状腺濾胞上皮細胞のび漫性肥大、および雄の上皮小体主細胞の肥大が認められており、無影響量(NOEL)は120mg/kg/dayと報告されている。しかし、生殖発生毒性についての知見はない。今回、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、ラットを用いて簡易生殖発生毒性試験を実施し、生殖発生に及ぼす影響について検討したので報告する。

## 7. 材料および方法

### 7.1 被験物質

#### 7.1.1 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）  
(英名；1(3H)-Isobenzofuranone, 6-(dimethylamino)-3, 3-bis[4-dimethylamino)phenyl]-)

#### 7.1.2 CAS 番号

1552-42-7

#### 7.1.3 物理化学的性状

融点 179～184℃, 振発性なし, 淡黄褐色粉末, 臭気なし, 通常の取扱いでは安定,  
水に不溶で安定, DMSO, アセトンに溶解, 酸と接触して発色するが, 反応による危険性はない.

#### 7.1.4 入手先

#### 7.1.5 入手日

2005年1月26日

#### 7.1.6 ロット番号

#### 7.1.7 純度

98.8 wt%

#### 7.1.8 保存条件

室温（温度実測値 16.3～25.1℃, 許容範囲 10～30℃）, 密閉

#### 7.1.9 保管場所

被験物質保管場所（41）

#### 7.1.10 安定性の確認

当研究所において, 投与開始前と投与終了後に赤外吸収スペクトル法（IR 法）で  
赤外吸収スペクトルを測定し, 試験に使用した被験物質の特性に変化がないことを  
確認した（添付資料 12.1, 12.2）。

測定機器：島津フーリエ変換赤外分光光度計（FTIR-8300, 株式会社島津製作所）

**方法：**

- (1) KBr 粒状結晶をメノウ乳鉢で粉末にした.
- (2) KBr 粉末をミニハンドプレスにて加圧し, 錠剤を作製した.
- (3) KBr 粉末約 1 g と被験物質 約 5 mg を秤量した.
- (4) (3) で秤量した KBr 粉末と被験物質をメノウ乳鉢にて混合させた.
- (5) (4) の混合物をミニハンドプレスにて加圧し, 錠剤を作製した.
- (6) 分光光度計にセットし, IR スペクトルを測定した.

**7.1.11 取扱上の注意**

保護具（ゴム手袋, マスク, 眼鏡）を着用した.

**7.1.12 実験終了後の被験物質の取扱い**

被験物質は投与終了後の安定性の確認後, 保存用サンプルを分取し, 試験終了までに廃棄した.

**7.2 媒体****7.2.1 名称**

0.1 %Tween 80 添加 0.5 %カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液  
(カルボキシメチルセルロース・ナトリウム; CMC-Na と略す)

**7.2.2 調製方法**

所定量の Tween 80 (関東化学株式会社, ロット番号 512F1210) および CMC-Na (和光純薬工業株式会社, ロット番号 CEM1080) を秤量し, 各試薬別々に調製量より少ない精製水 (超純水製造装置 MILLIPORE: Elix-5 を用いて精製した水道水) にスターラーを用いて攪拌し, 溶解させた. 溶解後それぞれの調製液を合わせ, さらに精製水を加えて Tween 80 および CMC-Na が所定の濃度になるように, メスシリンダーを用いてメスアップした.

**7.2.3 保存条件**

冷蔵 (温度実測値 2.8~8.4°C, 許容範囲 1~10°C)

**7.2.4 保管場所**

被験物質保管場所 (42)

**7.2.5 保存期間**

投与液と同様の保存期間とした.

**7.3 試験動物**

**7.3.1 動物種**

ラット

**7.3.2 系統**

Crj:CD(SD)IGS

**7.3.3 系統選択理由**

げっ歯類を用いた毒性試験に広く使用され、背景データが豊富であり、多数の個体の入手が可能である。

**7.3.4 微生物レベル**

SPF

**7.3.5 購入先**

日本チャールス・リバー株式会社（厚木生産所）

**7.3.6 購入動物数**

雌雄各 55 匹

**7.3.7 検疫・馴化**

検疫期間には一般状態を 5 日間 1 日 1 回観察し、健康状態が良好であることを確認した。また、動物入荷日および検疫終了日に体重を測定し、体重増加が認められることを確認した。検疫終了後も馴化を継続し、投与開始日まで一般状態を毎日観察した。さらに雌については、検疫終了日から性周期を 8 日間毎日観察した。その結果、雌雄全例に体重増加および一般状態に異常は認められなかった。なお、雌の性周期検査において、ほとんどの動物が 4 日周期を示したが、2 例（検疫馴化動物番号 59027, 59028）は 5 日周期を示した。

**7.3.8 投与開始時週齢**

9 週齢

**7.3.9 投与開始時体重**

動物の体重範囲は平均体重±20%であることを確認した。

雄；330～386 g, 雌；198～253 g

**7.3.10 群分け**

投与開始前日に体重層別無作為抽出法により、各群の平均体重がほぼ均一になる

ように群分けし、雌雄各48匹を使用した。なお、雌の性周期検査において、5日周期で回帰している動物2例を群分けから除外した。

### 7.3.11 動物の識別

群分け前は尾に油性ペンで標識して個体識別し、ケージには試験番号、性別、検疫・馴化中の動物番号、動物種、系統およびケージ番号を記載したラベルを付けた。群分け後は耳パンチ法により個体識別し、ケージには試験番号、動物番号、性別、群名（用量）、動物種、系統、交配番号、分娩番号およびケージ番号を記載したラベルを付けた。新生児については、生後0日は個体識別を行わず、生後4日は体重測定を行った順に通し番号（1腹当たり1番から全新生児数）を油性ペンで標識し個体識別した。

### 7.3.12 余剰動物の措置

群分け後の余剰動物は雌雄とも投与開始日に試験系から除外した。

## 7.4 動物飼育

### 7.4.1 飼育室

ラット・マウス飼育室（2115室）

### 7.4.2 飼育環境

#### 7.4.2.1 溫度

21.1～23.5°C（許容範囲19.0～25.0°C）

#### 7.4.2.2 相対湿度

47.3～64.8%（許容範囲35.0～75.0%）

#### 7.4.2.3 換気

6～12回／時、オールフレッシュエアー供給

#### 7.4.2.4 照明時間

12時間／日（7:00～19:00）

### 7.4.3 飼育器材

#### 7.4.3.1 ケージ

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したステンレス製つり下げ型金網製ケージ(195W×325D×180H mm, トキワ科学器械株式会社)を使用し、2週間に1回以上の頻度で交換した。

(2) 妊娠・哺育期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製ケージ(265W × 426D × 200H mm, トキワ科学器械株式会社)を使用し、1週間に1回以上の頻度で交換した。

**7.4.3.2 トレー**

交配期間はオートクレーブ滅菌したアルミニウム製トレー（トキワ科学器械株式会社）のみを使用し、毎日交換した。その他のステンレス製つり下げ型金網製ケージの使用期間は、オートクレーブ滅菌した実験動物用床敷（ベータチップ、日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたトレーを使用し、1週間に1回以上の頻度で交換した。

**7.4.3.3 給餌器**

オートクレーブ滅菌した固型用ステンレス製給餌器（トキワ科学器械株式会社）を使用し、1週間に1回以上の頻度で交換した。

**7.4.3.4 給水器**

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶（200 mL, トキワ科学器械株式会社）を使用し、1週間に1回以上の頻度で交換した。

(2) 妊娠・哺育期間

オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶（700 mL, トキワ科学器械株式会社）を使用し、1週間に1回以上の頻度で交換した。

**7.4.3.5 架台**

(1) 雄の全期間と雌の妊娠・哺育期間を除く期間

オートクレーブ滅菌したステンレス製架台（トキワ科学器械株式会社）を使用し、2週間に1回以上の頻度で交換した。

(2) 妊娠・哺育期間

ベンザルコニウム系特殊洗浄剤（マイクロカット、エコラボ株式会社）の希釈液で消毒したスチール製架台（トキワ科学器械株式会社）を使用した。

**7.4.4 床敷**

**7.4.4.1 種類**

妊娠・哺育期間のケージにはオートクレーブ滅菌した実験動物用床敷（ベータチップ、日本チャールス・リバー株式会社）を使用し、1週間に1回以上の頻度で交換した。

#### 7.4.4.2 汚染物質の確認

財団法人日本食品分析センターで実施した分析結果を供給者から定期的に入手し、残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

#### 7.4.5 飼料

##### 7.4.5.1 種類

放射線滅菌した実験動物用固型飼料（CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社）

##### 7.4.5.2 給餌法

自由摂取とした。飼料は給餌器交換時に交換した。

##### 7.4.5.3 汚染物質の確認

財団法人日本食品分析センターで実施した分析結果を供給者から入手し、使用したロット（ロット番号、050112）の残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所の標準操作手順書の基準に適合していることを確認した。

#### 7.4.6 飲用水

##### 7.4.6.1 種類

5 μm フィルター濾過後、紫外線照射した水道水

##### 7.4.6.2 給水法

自由摂取とした。

##### 7.4.6.3 分析

株式会社ダイヤ分析センターで水質検査を定期的に実施し、得られた分析値が当研究所の標準操作手順書の基準に適合することを確認した。

#### 7.4.7 収容動物数

1ケージあたり交配期間は雌雄各1匹、哺育期間は1腹、検疫・馴化期間を含むその他の期間は1匹とした。

#### 7.5 投与

##### 7.5.1 経路・方法

経口（強制経口投与）

ラット用胃ゾンデを装着したディスポーザブル注射筒を用いて投与した。

### 7.5.2 投与方法の選択理由

OECD ガイドラインで規定されている。

### 7.5.3 回数

1 日 1 回、8:02～11:27 の間に投与した。

### 7.5.4 期間

#### (1) 雄

交配前 14 日間および交配期間を経て剖検前日までの計 42 日間とした。

#### (2) 妊娠・哺育動物

交配前 14 日間、交配期間、妊娠期間および分娩を経て哺育 3 日（分娩日を哺育 0 日とした）までとした。ただし、交尾しなかった雌および分娩しなかった雌は剖検前日までとした。

### 7.5.5 用量および用量設定理由

100, 300 および 1000 mg/kg の 3 用量を設定した。

既存化学物質点検事業として、すでに 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 28 日間反復投与毒性試験[3]（用量：0, 8, 30, 120 および 500 mg/kg、試験番号：B010049）が実施されている。その結果（化学物質毒性試験報告（Vol. 10）に掲載）と、上記試験に先立ち、用量設定のために実施した 14 日間の反復投与予備試験（用量：0, 100, 500 および 1000 mg/kg）の結果を参考に用量を設定した。上記試験はいずれも株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所（当研究所）で実施されたものである。

28 日間反復投与毒性試験では、病理組織学検査において甲状腺および上皮小体の変化が 500 mg/kg 群で認められ、NOEL は 120 mg/kg と判断された。しかし、500 mg/kg の用量でも一般状態、体重、摂餌量、血液学検査、血液生化学検査、尿検査、器官重量および剖検所見には、被験物質に起因する変化は認められなかった。また、14 日間の反復投与予備試験では、肝臓重量の高値が 1000 mg/kg でみられたが、同用量で雌雄とも死亡例はなく、一般状態、体重、血液学検査および剖検所見に被験物質に起因する変化は認められなかった。

本試験（簡易生殖毒性試験）は生殖発生毒性に関する初期の知見を収集することを目的とすることから、本試験の高用量は死亡が発生しないと予想され、かつ OECD ガイドラインの上限用量である 1000 mg/kg とした。以下公比約 3 で減じ中用量は 300 mg/kg、低用量は 100 mg/kg の 3 用量を設定した。また、媒体（0.1 % Tween 80 添加 0.5 % CMC-Na 水溶液）のみを投与する対照群を設けた。

### 7.5.6 投与液量

10 mL/kg とし、至近日に測定した体重に基づいて算出した。

## 7.6 投与液の調製

### 7.6.1 方法・頻度

被験物質を用量毎に所定量秤量し、各用量とも媒体（0.1 % Tween 80 添加 0.5 % CMC-Na 水溶液）を少量加えながら乳鉢と乳棒で十分に懸濁させた。乳鉢と乳棒を媒体で共洗いしながら全量をメートルグラスに移した後メスアップし、10, 30 および 100 mg/mL の濃度に調製した。投与液は十分に攪拌した後、投与瓶（褐色）に分注し、投与に供するまで 8 日間を限度に冷蔵（実測値：2.8～8.4°C, 許容範囲：1～10°C）・暗所で保存した。調製頻度は 3～7 日間に 1 回とし、イエローランプ照明下の調剤室にて実施した。

### 7.6.2 安定性および均一性の確認

投与液中の安定性および均一性は、当研究所で実施した試験（試験番号：B010048, 表題：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ライド\*のラットを用いた経口投与による急性毒性試験）において、冷蔵保存条件下で 8 日間の安定性および均一性が、0.4 および 200 mg/mL の濃度で HPLC 法により確認されている（添付資料 12.3）。

\*: 「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ライド」と「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」は同じ物質である。

### 7.6.3 濃度および均一性の確認

初回調製および最終調製時の投与液を用量毎に HPLC 法により分析し、各濃度の平均値が設定濃度±10%以内であることを確認した。また、初回調製時には投与液の上層、中層および下層の 3 点からサンプリング後に分析し、C.V. 値が 10% 以内であることを確認した。その結果、各投与液の対設定濃度は 99.9～103.0%，C.V. 値は 0.1～0.7% で、いずれも基準を満たす値であった（添付資料 12.4, 12.5）。

## 7.7 投与液の分析方法

被験物質溶液の分析は、当研究所で実施した試験（試験番号：B010048, 表題：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ライド\*のラットを用いた経口投与による急性毒性試験）内の分析法バリデーションの方法に従って実施した。分析方法を以下に示す。

\*: 7.6.2 項参照

### 7.7.1 高速液体クロマトグラフ（HPLC）操作条件

HPLC システム : LC-6 シリーズ, 株式会社島津製作所 (カムオーブン, CTO-10Asvp)

カラム : CAPCELL PAK UG120, 5 µm, 4.6 mm I.D. × 250 mm,  
Shiseido Co. Ltd.

カラム温度 : 35°C

移動相 : アセトニトリル/水 (70:30, v/v)

流速 : 1.0 mL/min

検出波長 : UV 254 nm

注入量 : 20 µL

### 7.7.2 標準溶液の調製

下表に従い標準溶液 (ST-1～ST-3) を調製した。

溶液略号		調製方法	濃度 (µg/mL)
SS-1	CVL, ca. 50 mg	→ 100 mL/ アセトニトリル*	500
SS-2	SS-1, 1 mL	→ 10 mL/ アセトニトリル	50
ST-1	SS-2, 1 mL	→ 50 mL/ 希釀液	1
ST-2	SS-2, 2 mL	→ 50 mL/ 希釀液	2
ST-3	SS-2, 3 mL	→ 50 mL/ 希釀液	3

\* 超音波処理により溶解させた。 希釀液 : アセトニトリル/水 (70:30, v/v)

### 7.7.3 試料溶液の調製

下表に従い試料溶液を調製した。

投与液濃度 (mg/mL)		調製方法	濃度 (µg/mL)
10	投与液, 1 mL → 100 mL/ アセトニトリル* (A 液) A 液, 1 mL → 50 mL/ 希釀液		2
30	投与液, 1 mL → 50 mL/ アセトニトリル* (B 液) B 液, 1 mL → 10 mL/ アセトニトリル (C 液) C 液, 1 mL → 25 mL/ 希釀液		2.4
100	投与液, 1 mL → 100 mL/ アセトニトリル* (D 液) D 液, 1 mL → 20 mL/ アセトニトリル (E 液) E 液, 1 mL → 25 mL/ 希釀液		2

\* 超音波処理により溶解させた。 希釀液 : アセトニトリル/水 (70:30, v/v)

#### 7.7.4 各溶液の HPLC 測定

標準溶液 (ST-1～ST-3) およびフィルター (0.45 µm, Millipore Corporation) ろ過した試料溶液を条件設定した HPLC に注入して、クロマトグラム上の 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 (CVL) のピーク面積を測定した。測定した標準溶液の濃度およびそのピーク面積から検量線の一次式を求めた。検量線の一次式および試料溶液測定から得られた CVL のピーク面積から試料溶液中の CVL の濃度を求め、試料溶液の希釈倍率から投与液中の CVL の濃度を算出した。

#### 7.8 群構成

群名	濃度 (mg/mL)	動物数および動物番号	
		雄	雌
		12 <sup>1)</sup>	12
対照	0	(00101-00112) 2)	(50101-50112)
		12	12
100 mg/kg	10	(00201-00212)	(50201-50212)
		12	12
300 mg/kg	30	(00301-00312)	(50301-50312)
		12	12
1000 mg/kg	100	(00401-00412)	(50401-50412)

1), 動物数 ; 2), 動物番号

#### 7.9 反復投与毒性に関する観察・測定項目

以下に示す項目を観察・測定した。なお、日と週の表記は投与開始日を第 0 日、第 0 日～6 日を第 1 週とした。雌の交尾確認日を妊娠 0 日、分娩完了日を哺育 0 日とした。

##### 7.9.1 一般状態の観察

投与期間は 1 日 2 回（投与前、投与後）、その他の期間は 1 日 1 回午前中に観察した。

##### 7.9.2 体重

雄は第 0, 7, 14, 21, 28, 35 および 42 日に測定した。雌は第 0, 7 および 14 日、交尾した雌は妊娠 0, 7, 14 および 20 日、分娩した雌は哺育 0 および 4 日に測定した。交尾しなかった雌は雄と同頻度で測定した。測定には動物用天秤 (BX3200H, UX4200H: 株式会社島津製作所) を用いた。体重増加量を雄では交配前は第 0 日、

交配後は第 21 日の体重を基準に、雌は交配前、妊娠および哺育期間をそれぞれ第 0 日、妊娠 0 日および哺育 0 日の体重を基準に算出した。  
全出産児が死亡した母動物は発見時に測定したが、帳票には反映しなかった。

### 7.9.3 摂餌量

雄は第 0~7, 7~14, 21~28, 28~35 および 35~42 日に測定した。雌は第 0~7 および 7~14 日、交尾した雌は妊娠 0~7, 7~14 および 14~20 日、分娩した雌は哺育 0~4 日に測定した。ただし、交配期間中で同居している間は測定しなかった。交尾しなかった雌は測定しなかった。測定には体重測定と同じ動物用天秤を用いた。いずれもケージ毎の風袋込み重量を測定し、各測定日間の 1 匹あたりの 1 日平均摂餌量を算出した。

### 7.9.4 病理学的検査

#### 7.9.4.1 器官重量

計画解剖動物の下記の器官重量を測定（両側をまとめて測定）した。測定には天秤（AG204：株式会社島津製作所）を用いた。また、最終体重に基づいて相対重量（対体重比）を算出した。

精巣、精巣上体

#### 7.9.4.2 病理解剖検査

雄および交尾しなかった雌は第 42 日、分娩しなかった雌は交尾確認後 26 日、分娩した雌は哺育 4 日にペントバルビタールナトリウム（ネンブタール注射液、大日本製薬株式会社）の腹腔内投与で麻酔し、腹大動脈から放血、安楽死させた後に剖検した。全出産児が死亡した母動物は速やかに剖検した。

#### 7.9.4.3 病理組織学的検査

全動物の下記の器官・組織および全出産児が死亡した母動物の乳腺を採取し、10v/v%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。精巣および精巣上体はブアン液で固定後、10v/v%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。

精巣、精巣上体、前立腺腹葉、精囊（凝固腺含む）、卵巣、肉眼的異常部位

対照群と 1000 mg/kg 群の全例について精巣、精巣上体および卵巣、全動物の肉眼的異常部位について常法に従ってヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。

## 7.10 生殖発生毒性に関する観察・検査項目

### 7.10.1 生殖機能検査

#### 7.10.1.1 性周期

各群の雌について投与開始日から交配開始日までの午前中に膣垢を採取して性周期を検査し、平均性周期日数および異常性周期動物（性周期が4～6日周期でない動物）の発現率を算出した。

#### 7.10.1.2 交配

各群について雄1雌1の交配対を設け、第14日（交配開始日）の夕方から最長14日間昼夜同居させた。交配開始日の翌日から雌の膣垢を毎日午前中に採取し、膣栓あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠0日とした。これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 交尾所要日数：交配開始後、交尾成立までに要した日数
- (2) 交尾成立までに逸した発情期の回数
- (3) 交尾率（%）：(交尾動物数／同居動物数) × 100
- (4) 受胎率（%）：(受胎動物数／交尾動物数) × 100

### 7.10.2 分娩および哺育の観察

交尾した雌は全例を自然分娩させた。分娩の観察は妊娠21日から25日まで1日2回（午前9時、午後4時）行った。午前9時の時点で分娩が完了している動物を当該日分娩とし、その日を哺育0日とした（午後4時分娩完了の動物は翌日を哺育0日とした）。交尾確認後25日を経ても分娩しない場合は、非分娩雌とした。分娩した動物（母動物）は新生児を生後4日（哺育4日）まで哺育させ、授乳、営巣、食殺の有無の哺育状態を毎日観察した。

### 7.10.3 哺育終了後の検査

母動物は剖検時に卵巣および子宮を摘出して黄体数および着床数を検査した。また、非分娩雌も同様に検査し、肉眼的に着床が認められない場合は、子宮を10v/v%硫化アンモニウム水溶液に浸漬し、着床の有無を確認した。非分娩雌で着床の認められない動物は非妊娠雌とした。

これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 妊娠期間：妊娠0日から分娩完了日までの期間
- (2) 出産率（%）：(生児出産雌数／受胎雌数) × 100
- (3) 着床率（%）：(着床数／黄体数) × 100
- (4) 分娩率（%）：(総出産児数／着床数) × 100

#### 7.10.4 新生児の観察・検査

##### 7.10.4.1 新生児の観察

哺育 0 日に出産児数（出産生児数、死産児数）、性別および外表異常の有無を検査した。その後は一般状態、死亡の有無を毎日観察した。  
これらの結果から次の項目を算出した。

- (1) 出生率 (%) : (出産生児数／総出産児数) × 100
- (2) 新生児の 4 日生存率 (%) : (哺育 4 日生児数／出産生児数) × 100

##### 7.10.4.2 体重

生後 0 および 4 日に全生存児を個体毎に測定した。測定には動物用天秤(BX3200H, UX4200H: 株式会社島津製作所)を用いた。また、生後 0 日および 4 日の体重より同腹児単位で腹平均を算出し、増加量を求めた。

##### 7.10.4.3 剖検

生後 4 日に全生存児の口腔を含む外表を検査し、親動物と同様に安楽死させた後、剖検した。死亡児については、10v/v%中性リン酸緩衝ホルマリン液に浸漬、固定した後、実体顕微鏡下で剖検した。

#### 7.11 統計学的解析

新生児に関するデータは、母動物毎に算出した数値を標本単位とした。なお、非妊娠雌の交尾確認後の体重および摂餌量、交尾しなかった雌の体重は評価の対象から除外した。

計量データは、多重比較検定法で統計学的有意性を解析した。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。群間に有意差が認められた場合は Dunnett 法または Dunnett 型の多重比較を行った。一部の項目は Kruskal-Wallis の検定から行い、群間に有意差が認められた場合は Dunnett 型の多重比較を行った。病理組織学検査における計数データは Wilcoxon の順位和検定で対照群との 2 群間比較を行った。その他の計数データは Fisher の直接確率法により検定した。各検定の有意水準は 5%とした。

検定は安全性試験システム (MiTOX, 三井造船システム技研株式会社) を用いて実施した。統計学的解析の対象項目は下記の通りである。一般状態および病理解剖検査については、統計学的解析を実施しなかった。

##### 多重比較検定：

体重、体重増加量、摂餌量、器官重量、黄体数、着床数、出産児数（出産生児数、死産児数）

Kruskal-Wallis と Dunnett 型の多重比較：

交尾所要日数, 交尾成立までに逸した発情期の回数, 平均性周期日数, 妊娠期間, 着床率, 分娩率, 出生率, 外表異常の発現率, 新生児の4日生存率

Wilcoxon の順位和検定：

病理組織学検査

Fisher の直接確率法：

異常性周期動物の発現率, 交尾率, 受胎率, 出産率, 性比(雄/雌), 外表異常児を有する母動物の発現率

### 7.12 コンピュータシステムの使用

以下に示すデータの収集, 算出および集計には安全性試験システム(MITOX, 三井造船システム技研株式会社)を使用した。当該システムのコンピュータプロトコールにはデータ収集範囲, データ収集の日程等を登録した。コンピュータシステムのプロトコール番号として B041802\_ (アンダーバーは空白) を用いた。

データ収集および算出：

体重, 摂餌量, 群分け, 投与液量算出, 器官重量, 病理組織学検査, 性周期, 交配成績, 分娩成績

データ集計：

一般状態, 病理解剖検査

## 8. 結果

### 8.1 反復投与毒性

#### 8.1.1 一般状態 (Tables 1-5, Appendices 1-5)

投与期間を通じ各被験物質投与群の雌雄とも死亡はなく、被験物質に起因する変化は認められなかった。

全出産児死亡が 100 mg/kg 群の 1 腹（動物番号 50202）で認められた。歯の欠損（右上切歯）が 300 mg/kg 群の雌 1 例（動物番号 50307）で妊娠 6 日からみられたが、妊娠 13 日に回復した。これらの変化は 1000 mg/kg 群では観察されず、被験物質と関連のない変化と判断した。

#### 8.1.2 体重 (Fig.1, 2, Tables 6-13, Appendices 6-15)

交配前期間の雌の体重増加量において、300 および 1000 mg/kg 群の第 7 日、100 および 300 mg/kg 群の第 14 日が対照群と比べ有意な低値を示した。雄では各被験物質投与群とも変化は認められなかった。

#### 8.1.3 摂餌量 (Fig.3, 4, Tables 14-17, Appendices 16-19)

投与期間を通じ各被験物質投与群の雌雄とも、対照群との間に有意な差は認められなかった。

#### 8.1.4 器官重量 (Tables 18, 19, Appendices 20, 21)

各被験物質投与群とも精巣および精巣上体重量に変化は認められなかった。

#### 8.1.5 剖検所見 (Table 20, Appendices 22, 23)

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。

精巣および精巣上体の小型化（両側）が 100 mg/kg 群の雄 1 例（動物番号 00205）、精巣上体の黄色化（両側）が 300 mg/kg 群の雄 1 例（動物番号 00304）、腎臓の陥凹巣（片側）および肝臓の赤色斑が 1000 mg/kg 群の雌および雄の各 1 例（動物番号 50408, 00408）に認められた。しかし、用量群に関係なく散発的な発現であることから被験物質と関連のない変化と判断した。

全出産児死亡を示した母動物（動物番号 50202）の剖検では、胎児 1 例が娩出されずに子宮内に遺残していた。

#### 8.1.6 病理組織所見 (Table 21, Appendices 22, 23)

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。

100 mg/kg 群の雄 1 例でみられた精巣および精巣上体の小型化は、組織学的には両側性の精巣のび漫性精上皮変性、精巣上体の精子減少として認められた。本動物と相手雌とは交尾したもののは受胎しなかった。その他、生殖器への変化として、

精巣のび漫性あるいは限局性の精上皮変性が対照群の2例, 1000 mg/kg群の1例, 精巣あるいは精巣上体の限局性の間質へのリンパ球浸潤が対照群および1000 mg/kg群の各2例に認められた。また、300 mg/kg群の雄1例でみられた精巣上体の黄色化は、組織学的には両側性の精子肉芽腫であった。これら雄動物の交尾能および相手雌の受胎に影響は認められなかった。

その他、剖検において1000 mg/kg群の雌でみられた腎臓の陥凹巣（片側）は、組織学的には限局性の好塩基性近位尿細管および間質への単核球浸潤、ならびに囊胞であった。しかし、1例のみの発現であることから被験物質とは関連のない変化と判断した。なお、剖検でみられた肝臓の赤色斑では組織学的に変化は認められなかった。

## 8.2 生殖発生毒性

### 8.2.1 生殖機能 (Table 22, Appendices 24, 25)

性周期検査では、すべての動物が4日周期で回帰し、異常性周期を示す動物は認められなかった。100 mg/kg群の2例では14日以内の交尾が認められなかつたが、1例は14日目に発情前期を示したこと、交配前期では2例とも性周期が正常に回帰していたことから、同居により偽妊娠を起こした可能性が考えられる。それ以外の動物では全例が交尾し、交尾率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、ならびに受胎率のいずれにも被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかつた。

なお、非妊娠雌は100および1000 mg/kg群のそれぞれ1例だけであった。非妊娠の原因として、100 mg/kg群では相手雄の精巣および精巣上体が小型化をしたことによるものと考えられるが、1000 mg/kg群では不明であった。

### 8.2.2 分娩および哺育状態 (Tables 5, 23, Appendices 5, 26)

全出産児死亡が100 mg/kg群の1腹（動物番号50202）で哺育1日に認められた。

分娩観察時には出生児1例のみを認めたが、翌日には食殺された。

妊娠期間、黄体数、着床数、着床率、出産率および分娩率のいずれにも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つた。また、分娩および哺育の異常は認められなかつた。

### 8.2.3 新生児への影響

#### 8.2.3.1 新生児の観察 (Tables 24, 25, 30 Appendices 27, 28, 31)

出産児数、出産生児数、性比、出生率および新生児の4日生存率のいずれにも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つた。

一般状態の観察では、各群とも数例の死亡児がみられたが、ほとんどが生後1日までの死亡であった。しかし、1000 mg/kg群の1腹（動物番号50408）では生後3日から未授乳児と死亡児が観察され、生後0日では新生児の匹数が雄6雌10匹

であったのに対し、生後3日では雄3雌7匹、生後4日では雄1雌2匹に減少した。死亡した新生児は、そのほとんどが食殺され剖検可能な新生児は雄1雌3匹だけであった。

新生児の外表検査では各群いずれにも異常は認められなかった。

#### 8.2.3.2 体重 (Tables 26-29, Appendices 29, 30, 33)

300 mg/kg 群の雄で生後0日および4日、雌で生後4日の体重、100 および300 mg/kg 群の雌で生後0日から4日までの体重増加量が対照群と比べ有意な高値を示した。しかし、1000 mg/kg 群では対照群と同様に推移しており変化がないことから、偶発的な変化と考えられる。

#### 8.2.3.3 剖検 (Table 31, Appendix 32)

生後4日の生存児の剖検および死亡児の剖検では、被験物質に起因する異常所見は認められなかった。なお、生存児の剖検で腎臓、卵巣および子宮の形成不全が対照群の雌1例、腎孟拡張が1000 mg/kg 群の雄1例で認められたが、その発現状況から偶発的な変化と判断した。死亡児の剖検では異常は認められなかった。

## 9. 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 100, 300 および 1000 mg/kg の用量で SD 系ラット [Crj:CD(SD)IGS] の雄に交配前 14 日から交配を経て計 42 日間、雌は交配前 14 日から交配、妊娠、分娩を経て哺育 3 日まで経口投与し、生殖発生毒性について検討した。

一般毒性学的变化としては、投与期間を通じ死亡はなく、被験物質に起因すると考えられる毒性变化は認められなかった。なお、交配前期間の雌の体重増加量が 300 および 1000 mg/kg 群の第 7 日、100 および 300 mg/kg 群の第 14 日で対照群と比べ有意な低値を示した。しかし、同期間の体重ならびに妊娠以降の体重および体重増加量には変化がないこと、用量との関連が明らかでないこと、さらに、同被験物質の 28 日間反復経口投与毒性試験[3]では、雌の体重に何ら変化が認められていないことから、毒性学的意義に乏しい変化と考えられる。病理学検査では、雄の生殖器にいくつかの変化が対照群を含む各群で観察されたが、発現状況に差がないことから、被験物質とは関連のない変化と判断した。

親動物の生殖機能への影響としては、平均性周期日数、異常性周期動物の発現率、交尾率、交尾所要日数、交尾成立までに逸した発情期の回数、受胎率、分娩率、妊娠期間、黄体数、着床数、着床率および出産率のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。全出産児死亡が 100 mg/kg 群の 1 腹で哺育 1 日に認められたが、300 および 1000 mg/kg 群ではみられず、背景データでも稀に観察されることから、偶発的な変化と考えられる。

新生児に及ぼす影響としては、出産児数、出産生児数、性比、出生率および新生児の 4 日生存率、外表検査、体重および剖検のいずれにも被験物質に起因する変化は認められなかった。一般状態では、1000 mg/kg 群の 1 腹（動物番号 50408）で生後 3 日から死亡児と未授乳児が観察され、生存児の匹数が生後 0 日の雄 6 雌 10 匹から暫時減少し、生後 4 日では雄 1 雌 2 匹となった。なお、死亡児のほとんどが食殺されていたことから、本母動物の哺育 0-4 日の摂餌量が同群平均摂餌量の約半量であった（対照群の平均値 35.8g、1000 mg/kg 群の平均値 33.7g、本母動物摂餌量 17g）。同群の他の母動物ならびに新生児では同様な変化は認められず、1 腹のみであることから、被験物質に起因する変化とは考え難く、偶発的な発現の可能性が高いと考えられる。

以上のように、一般毒性に関しては、一般状態、体重、摂餌量、剖検および生殖器の病理組織検査でも被験物質に起因する変化は認められなかった。生殖発生毒性に関しては、雌雄の親動物とも生殖機能への影響はみられず、新生児に対して

も被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。したがって、本試験条件下における雌雄の一般毒性学的無影響量、雌雄親動物の生殖機能に対する無影響量ならびに新生児に対する無影響量はいずれも 1000 mg/kg/day と考えられる。

## 10. 参考文献

- [1] 有機化合物辞典, 社団法人 有機合成化学協会, 1985, p.252.
- [2] 岩井淳ら, 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る単回経口投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告 Vol.10, 化学物質点検推進連絡協議会, 2003, p.187-188.
- [3] 須藤雅人ら, 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る28日間反復経口投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告 Vol.10, 化学物質点検推進連絡協議会, 2003, p.189-202.

図および群別表

## 目 次

Fig. 1	体重(雄) .....	1
Fig. 2	体重(雌) .....	2
Fig. 3	摂餌量(雄) .....	3
Fig. 4	摂餌量(雌) .....	4
Table 1	一般状態(雄) .....	5
Table 2	一般状態(雌 交配前期間).....	11
Table 3	一般状態(雌 交配期間) .....	13
Table 4	一般状態(妊娠期間) .....	17
Table 5	一般状態(哺育期間) .....	21
Table 6	体重(雄) .....	23
Table 7	体重(雌 交配前期間) .....	25
Table 8	体重(妊娠期間) .....	26
Table 9	体重(哺育期間) .....	27
Table 10	体重増加量(雄) .....	28
Table 11	体重増加量(雌 交配前期間) .....	30
Table 12	体重増加量(妊娠期間) .....	31
Table 13	体重増加量(哺育期間) .....	32
Table 14	摂餌量(雄) .....	33
Table 15	摂餌量(雌 交配前期間) .....	35
Table 16	摂餌量(妊娠期間) .....	36
Table 17	摂餌量(哺育期間) .....	37
Table 18	器官重量(雄 絶対重量) .....	38
Table 19	器官重量(雄 相対重量) .....	39
Table 20	剖検所見 .....	40
Table 21	病理組織所見 .....	42
Table 22	生殖機能検査 .....	45
Table 23	分娩成績 .....	46
Table 24	生存率(F1児動物) .....	47
Table 25	一般状態(F1児動物) .....	48
Table 26	体重(雄 F1児動物) .....	49
Table 27	体重(雌 F1児動物) .....	50
Table 28	体重増加量(雄 F1児動物) .....	51
Table 29	体重増加量(雌 F1児動物) .....	52

Table 30	外表異常(F1児動物)	53
Table 31	剖検所見(F1児動物)	54
	Final page	54

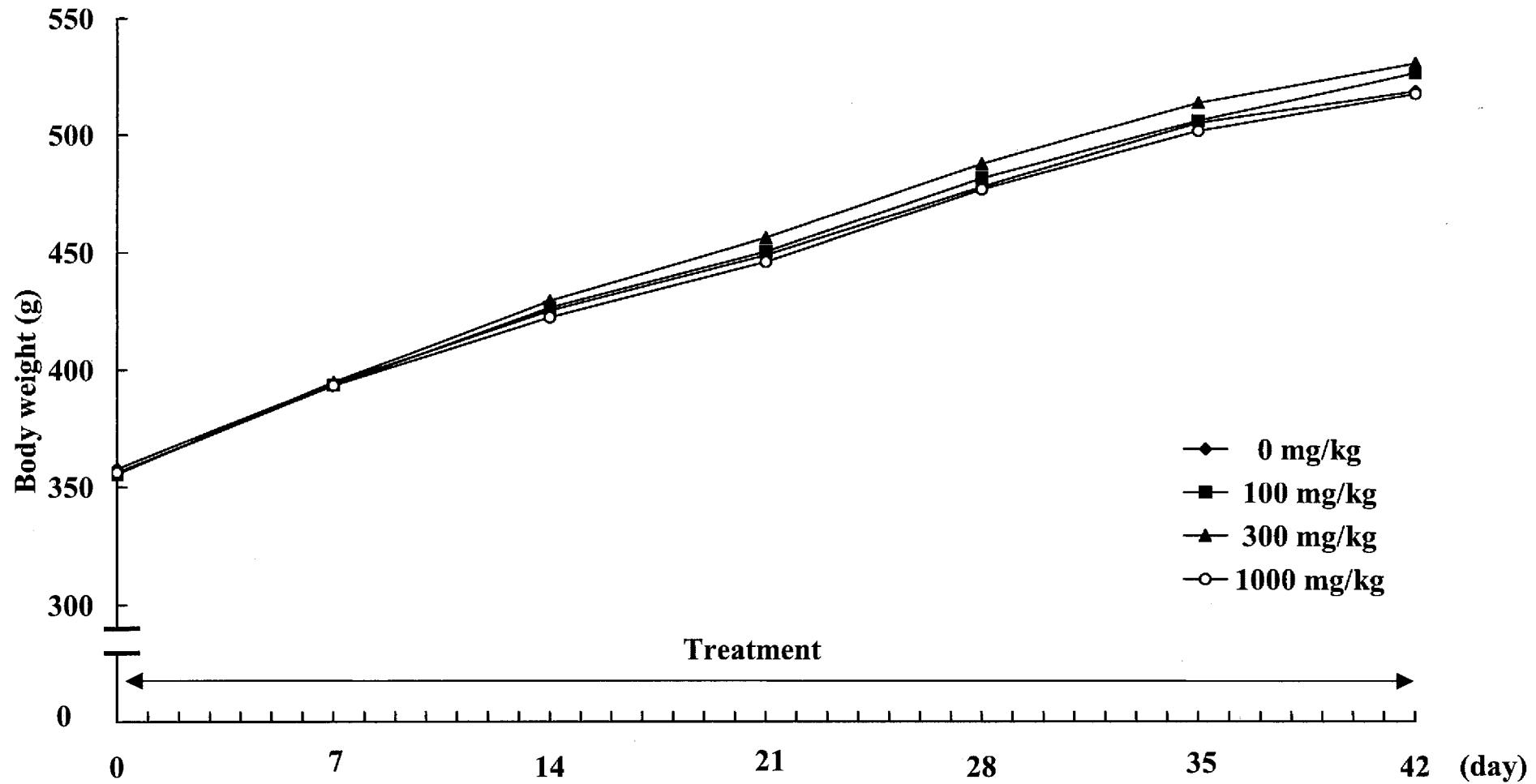


Fig. 1 Body weight changes of male rats treated orally with 1(3H)-Isobenzofuranone, 6-(dimethylamino)-3,3-bis[4-(dimethylamino)phenyl]- in the preliminary toxicity screening test.

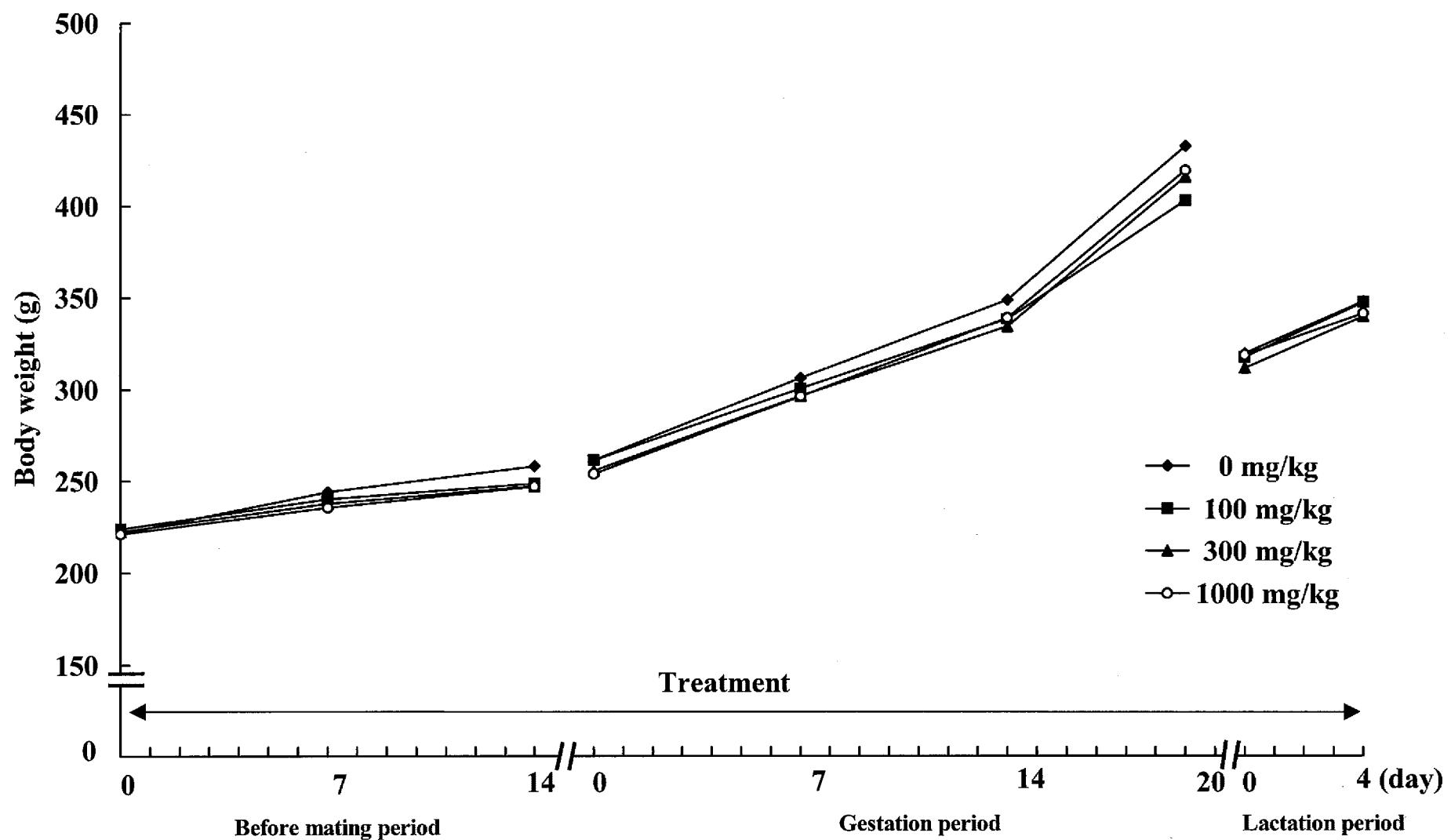


Fig. 2 Body weight changes of female rats treated orally with 1(3H)-Isobenzofuranone, 6-(dimethylamino)-3, 3-bis[4-(dimethylamino)phenyl]- in the preliminary toxicity screening test.

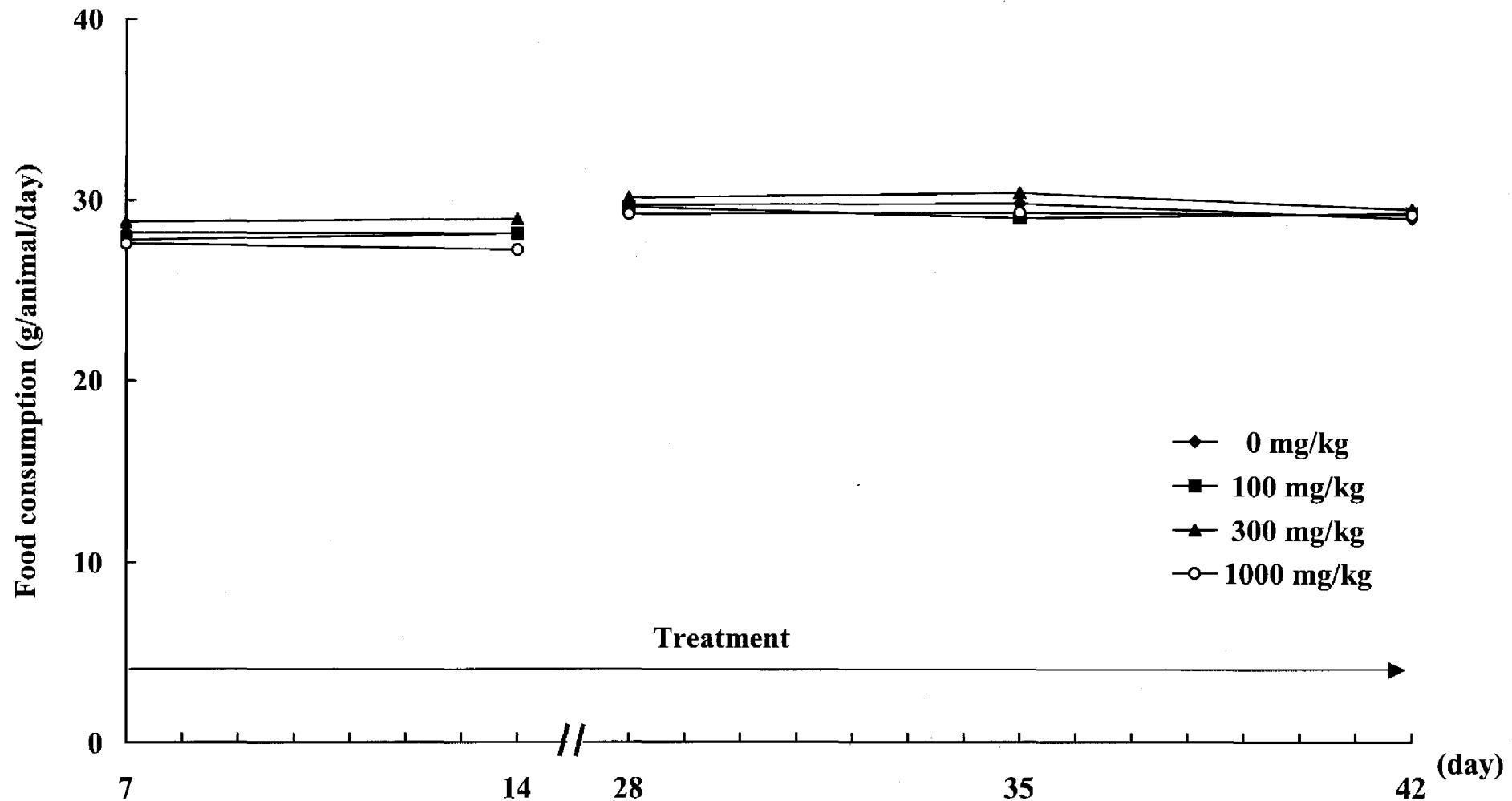


Fig. 3 Food consumption of male rats treated orally with 1(3H)-Isobenzofuranone, 6-(dimethylamino)-3, 3-bis[4-(dimethylamino)phenyl]- in the preliminary toxicity screening test.

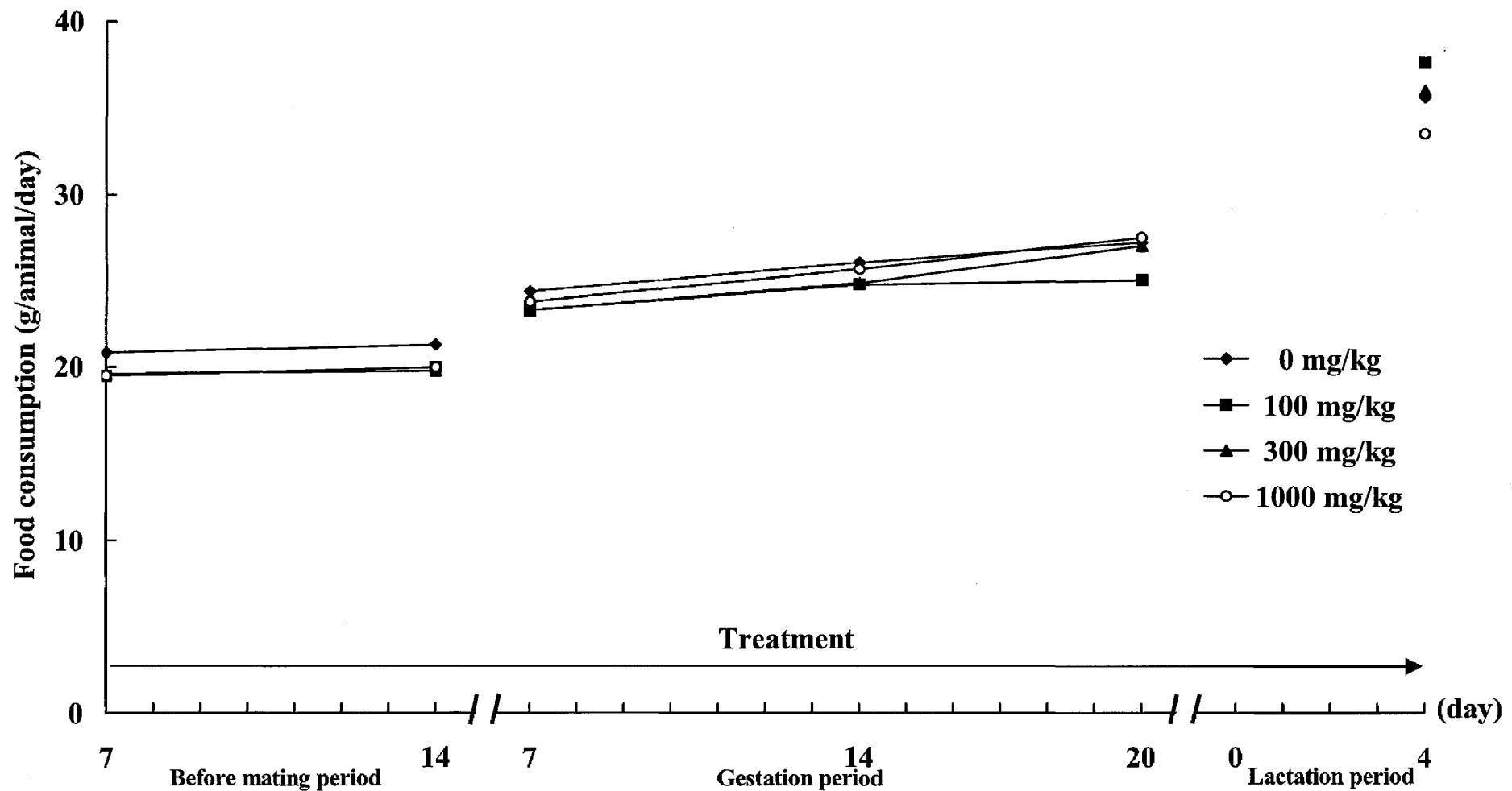


Fig. 4 Food consumption changes of female rats treated orally with 1(3H)-Isobenzofuranone, 6-(dimethylamino)-3, 3-bis[4-(dimethylamino)phenyl]- in the preliminary toxicity screening test.

Table 1

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary  
 Sex : Male      Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CVL 0	Number of animals	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
CVL 100	Number of animals	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
CVL 300	Number of animals	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
CVL 1000	Number of animals	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

Table 1  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary  
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CVL 0	Number of animals No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CVL 100	Number of animals No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CVL 300	Number of animals No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CVL 1000	Number of animals No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12

Table 1

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
 Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day																							
		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
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
	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
CVL 100	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
	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
CVL 300	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
	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
CVL 1000	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
	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

Table 1  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
Sex : Male Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day		
		40	41	42
CVL 0	Number of animals	12	12	12
	No abnormality	12	12	12
CVL 100	Number of animals	12	12	12
	No abnormality	12	12	12
CVL 300	Number of animals	12	12	12
	No abnormality	12	12	12
CVL 1000	Number of animals	12	12	12
	No abnormality	12	12	12

Table 1  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day																							
		15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
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
	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
CVL 100	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
	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
CVL 300	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
	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
CVL 1000	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
	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

Table 1  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
Sex : Male Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	
		40	41
CVL 0	Number of animals No abnormality	12 12	12 12
CVL 100	Number of animals No abnormality	12 12	12 12
CVL 300	Number of animals No abnormality	12 12	12 12
CVL 1000	Number of animals No abnormality	12 12	12 12

Table 2

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary  
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
		0	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
CVL 0	Number of animals	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
CVL 100	Number of animals	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
CVL 300	Number of animals	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
CVL 1000	Number of animals	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

Table 2  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 before Mating) - Summary  
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CVL 0	Number of animals	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
CVL 100	Number of animals	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
CVL 300	Number of animals	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
CVL 1000	Number of animals	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

Table 3

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
		CVL 0	Number of animals No abnormality	10 10	4 4	2 2																					
CVL 100	Number of animals	10	7	6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	No abnormality	10	7	6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
CVL 300	Number of animals	9	7	2																							
	No abnormality	9	7	2																							
CVL 1000	Number of animals	10	7																								
	No abnormality	10	7																								

Table 3  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day		
		40	41	42
CVL 100	Number of animals No abnormality	2	2	2

Table 3  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
			CVL 0	Number of animals No abnormality	10	4	2																				
CVL 100	Number of animals	10	7	6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	No abnormality	10	7	6	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
CVL 300	Number of animals	9	7	2																							
	No abnormality	9	7	2																							
CVL 1000	Number of animals	10	7																								
	No abnormality	10	7																								

Table 3  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Mating) - Summary  
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	
		40	41
CVL 100	Number of animals No abnormality	2 2	2 2

Table 4

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary  
Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day																								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
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	4	
	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	4	
CVL 100	Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	1
	No abnormality	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	1
CVL 300	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	7	
	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	7	
	Loss of teeth					1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
CVL 1000	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	7	1
	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	7	1

Table 4  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary  
Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	
		25	26
CVL 100	Number of animals No abnormality	1	1
CVL 1000	Number of animals No abnormality	1	1

Table 4  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary  
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24			
			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 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	4			
	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	4			
CVL 100	Number of animals		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	1	1	
	No abnormality		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	1	1	
CVL 300	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	7		
	No abnormality		12	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	11	11	11	11	12	12	12	12	12	12	12	12	7			
CVL 1000	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	7	1	1	
	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	7	1	1	

Table 4  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Gestation) - Summary  
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day 25
CVL 100	Number of animals No abnormality	1
CVL 1000	Number of animals No abnormality	1

Table 5

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary  
 Sex : Female Time 10 : Before dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day				
		0	1	2	3	4
CVL 0	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
CVL 100	Number of animals	9	9	8	8	8
	No abnormality	9	8	8	8	8
	Total litter loss	1				
CVL 300	Number of animals	12	12	12	12	12
	No abnormality	12	12	12	12	12
CVL 1000	Number of animals	11	11	11	11	11
	No abnormality	11	11	11	11	11

Table 5  
Table Continued

Study No. B041802

Clinical Sign (F0 Lactation) - Summary  
Sex : Female Time 20 : After dosing

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	/Day			
		0	1	2	3
CVL 0	Number of animals No abnormality	12 12	12 12	12 12	12 12
CVL 100	Number of animals No abnormality	9 9	8 8	8 8	8 8
CVL 300	Number of animals No abnormality	12 12	12 12	12 12	12 12
CVL 1000	Number of animals No abnormality	11 11	11 11	11 11	11 11

Table 6

Study No. B041802

Body Weight (F0 before Mating) - Summary  
Sex : Male

Unit : g

Test Substance	Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14
CVL	0	Mean	357.7	394.4	425.7
		S. D.	14.4	19.6	20.8
		n	12	12	12
CVL	100	Mean	355.8	393.5	426.9
		S. D.	13.0	19.9	22.2
		n	12	12	12
CVL	300	Mean	355.5	394.8	429.8
		S. D.	13.0	16.4	18.7
		n	12	12	12
CVL	1000	Mean	356.2	393.4	422.8
		S. D.	16.5	20.1	24.3
		n	12	12	12

Significantly different from control : \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 6

Study No. B041802

Body Weight (F0 Mating) - Summary  
Sex : Male

Unit : g

Test Substance	Dose (mg/kg)	/Day	21	28	35	42
CVL	0	Mean	449.4	478.3	506.0	519.9
		S. D.	19.4	25.1	27.5	32.0
		n	12	12	12	12
CVL	100	Mean	450.8	482.0	506.9	527.7
		S. D.	23.1	26.7	27.8	33.6
		n	12	12	12	12
CVL	300	Mean	456.7	488.2	514.7	531.8
		S. D.	17.2	20.0	22.8	24.9
		n	12	12	12	12
CVL	1000	Mean	446.5	477.3	502.5	518.7
		S. D.	28.2	33.4	35.6	36.5
		n	12	12	12	12

Significantly different from control : \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 7

Study No. B041802

Body Weight (F0 before Mating) - Summary  
Sex : Female

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14
CVL 0	Mean S. D. n	221.5 13.6 12	244.1 15.5 12	258.3 21.4 12
CVL 100	Mean S. D. n	223.8 8.9 12	240.3 13.2 12	248.8 16.9 12
CVL 300	Mean S. D. n	222.6 8.8 12	237.9 10.2 12	247.5 14.2 12
CVL 1000	Mean S. D. n	221.3 10.1 12	235.8 10.4 12	247.3 11.8 12

Significantly different from control : \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 8

Study No. B041802

## Body Weight (F0 Gestation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14	20
CVL 0	Mean S. D. n	261.4 18.8 12	306.8 24.3 12	349.5 28.0 12	434.0 39.6 12
CVL 100	Mean S. D. n	261.1 17.8 9	299.4 22.9 9	339.7 27.1 9	414.1 42.1 9
CVL 300	Mean S. D. n	255.8 13.8 12	296.8 18.7 12	334.9 19.9 12	416.8 21.2 12
CVL 1000	Mean S. D. n	254.7 18.9 11	297.0 24.1 11	342.0 26.6 11	431.7 33.8 11

Significantly different from control : \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 9

Study No. B041802

## Body Weight (F0 Lactation) - Summary

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	4
CVL 0	Mean	320.3	348.9
	S. D.	32.3	27.7
	n	12	12
CVL 100	Mean	318.6	348.3
	S. D.	31.1	32.1
	n	9	8
CVL 300	Mean	312.4	340.6
	S. D.	30.6	20.4
	n	12	12
CVL 1000	Mean	319.6	342.3
	S. D.	29.7	33.0
	n	11	11

Significantly different from control : \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 10

Study No. B041802

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary  
 Sex : Male      Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14
CVL 0	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	36.8 7.4 12	68.0 12.3 12
CVL 100	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	37.8 9.0 12	71.2 12.2 12
CVL 300	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	39.3 6.9 12	74.3 12.1 12
CVL 1000	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	37.3 8.2 12	66.7 14.5 12

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

Table 10

Study No. B041802

Body Weight Gain (F0 Mating) - Summary  
 Sex : Male      Base : Day 21 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	21	28	35	42
CVL 0	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	28.9 7.6 12	56.6 10.3 12	70.5 16.1 12
CVL 100	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	31.3 9.1 12	56.2 12.9 12	76.9 17.6 12
CVL 300	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	31.5 4.9 12	58.0 8.9 12	75.1 12.3 12
CVL 1000	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	30.8 7.9 12	56.0 12.7 12	72.2 13.1 12

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

Table 11

Study No. B041802

Body Weight Gain (F0 before Mating) - Summary  
 Sex : Female Base : Day 0 of Treatment

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14
CVL 0	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	22.6 7.6 12	36.8 13.9 12
CVL 100	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	16.5 5.6 12	25.0* 11.4 12
CVL 300	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	15.3* 6.8 12	24.9* 11.3 12
CVL 1000	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	14.5** 4.3 12	25.9 7.3 12

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

Table 12

Study No. B041802

Body Weight Gain (F0 Gestation) - Summary  
Base : Day 0 of Gestation

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	7	14	20
CVL 0	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	45.3 9.3 12	88.1 14.4 12	172.6 25.9 12
CVL 100	Mean S. D. n	0.0 0.0 9	38.3 7.3 9	78.6 12.1 9	153.0 29.4 9
CVL 300	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	41.0 7.3 12	79.1 9.3 12	161.0 16.7 12
CVL 1000	Mean S. D. n	0.0 0.0 11	42.3 10.5 11	87.3 12.2 11	177.0 18.3 11

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

Table 13

Study No. B041802

Body Weight Gain (F0 Lactation) - Summary  
Base : Day 0 of Lactation

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	0	4
CVL 0	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	28.7 10.9 12
CVL 100	Mean S. D. n	0.0 0.0 9	32.4 13.9 8
CVL 300	Mean S. D. n	0.0 0.0 12	28.2 16.2 12
CVL 1000	Mean S. D. n	0.0 0.0 11	22.6 9.1 11

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

Table 14

Study No. B041802

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary  
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	7	14
CVL 0	Mean S. D. n	28.2 2.3 12	28.2 2.0 12
CVL 100	Mean S. D. n	27.8 2.1 12	28.2 2.2 12
CVL 300	Mean S. D. n	28.8 2.6 12	29.0 2.2 12
CVL 1000	Mean S. D. n	27.6 2.5 12	27.3 2.5 12

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

Table 14

Study No. B041802

Food Consumption (F0 Mating) - Summary  
Sex : Male

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	28	35	42
CVL 0	Mean S. D. n	29.8 2.1 12	29.9 2.3 12	29.1 2.3 12
CVL 100	Mean S. D. n	29.7 2.7 10	29.1 3.0 12	29.4 3.2 12
CVL 300	Mean S. D. n	30.2 1.9 12	30.5 2.0 12	29.6 2.0 12
CVL 1000	Mean S. D. n	29.3 2.5 12	29.4 2.6 12	29.3 2.3 12

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

Table 15

Study No. B041802

Food Consumption (F0 before Mating) - Summary  
Sex : Female

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	7	14
CVL 0	Mean S. D. n	20.8 2.7 12	21.3 3.1 12
CVL 100	Mean S. D. n	19.5 2.0 12	20.0 2.2 12
CVL 300	Mean S. D. n	19.6 1.2 12	19.8 1.4 12
CVL 1000	Mean S. D. n	19.5 1.4 12	20.0 1.9 12

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

Table 16

Study No. B041802

## Food Consumption (F0 Gestation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	7	14	20
CVL 0	Mean S. D. n	24.4 3.1 12	26.1 3.2 12	27.3 3.3 12
CVL 100	Mean S. D. n	23.0 2.2 9	24.7 2.8 9	26.0 2.7 9
CVL 300	Mean S. D. n	23.3 2.1 12	24.9 2.1 12	27.1 2.2 12
CVL 1000	Mean S. D. n	23.8 3.0 11	25.8 3.0 11	28.5 2.8 11

Significantly different from control : \* , P&lt;0.05; \*\* , P&lt;0.01.

Table 17

Study No. B041802

## Food Consumption (F0 Lactation) - Summary

Unit : g/animal/day

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	4
CVL 0	Mean S. D. n	35.8 3.7 12
CVL 100	Mean S. D. n	37.8 5.5 8
CVL 300	Mean S. D. n	36.2 5.8 12
CVL 1000	Mean S. D. n	33.7 8.3 11

Significantly different from control : \* , P&lt;0.05; \*\* , P&lt;0.01.

Table 18

Study No. B041802

Organ Weight - Summary (F0)  
Sex : Male

Test Substance		F. B. W. (g)	Testes (g)	Epididy. (g)	
CVL	0	Mean S. D. n	519.9 32.0 12	3.424 0.246 12	1.261 0.080 12
CVL	100	Mean S. D. n	527.7 33.6 12	3.298 0.467 12	1.198 0.235 12
CVL	300	Mean S. D. n	531.8 24.9 12	3.448 0.249 12	1.245 0.150 12
CVL	1000	Mean S. D. n	518.7 36.5 12	3.581 0.301 12	1.338 0.083 12

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

Table 19

Study No. B041802

Relative Organ Weight - Summary (F0)  
Sex : Male

Unit : g/100gBW

Test Substance	E. B. W. (g)	Testes	Epididy.	
Test Dose (mg/kg)				
CVL 0	Mean S. D. n	519.9 32.0 12	0.658 0.052 12	0.245 0.022 12
CVL 100	Mean S. D. n	527.7 33.6 12	0.630 0.105 12	0.228 0.049 12
CVL 300	Mean S. D. n	531.8 24.9 12	0.648 0.051 12	0.233 0.027 12
CVL 1000	Mean S. D. n	518.7 36.5 12	0.693 0.056 12	0.260 0.014 12

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

Table 20 Necropsy Findings - Summary

Organ Findings		Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals Number of Animals Examined	Scheduled sacrifice							
			Male				Female			
			CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
			0	100	300	1000	0	100	300	1000
			mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Liver			12	12	12	12	12	8	12	11
Reddish patch, right lateral lobe			0	0	0	1	0	0	0	0
Kidney										
Depressed patch			0	0	0	0	0	0	0	1
Testis										
Small			0	1	0	0				
Epididymis										
Small			0	1	0	0				
Yellowish change			0	0	1	0				

Table 20 Necropsy Findings - Summary

Non-copulation &amp; Non-delivery &amp; Total litter loss

Organ Findings	Sex fate	Female Non-copulation	Non-delivery	Total litter loss	Non-delivery
	Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL
	Dose	100	100	100	1000
	Dose Unit	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
	Number of Animals	2	1	1	1
	Number of Animals Examined	<2>	<1>	<1>	<1>
Uterus					
Fetal rest		0	0	1	0

Table 21 Histological Findings - Summary

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Scheduled sacrifice							
		Male				Female			
		CVL 0	CVL 100	CVL 300	CVL 1000	CVL 0	CVL 100	CVL 300	CVL 1000
		mg/kg 12	mg/kg 12	mg/kg 12	mg/kg 12	mg/kg 12	mg/kg 8	mg/kg 12	mg/kg 11
	Grade								
Liver		<0>	<0>	<0>	<1>	<0>	<0>	<0>	<0>
Kidney		<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<0>	<1>
Basophilic tubule, proximal tubule, focal	1								1
	2								0
	3								0
	4								0
Cell infiltration, mononuclear cell, interstitium, focal	1								1
	2								0
	3								0
	4								0
Cyst	1								1
	2								0
	3								0
	4								0
Testis		<12>	<1>	<0>	<12>				
Cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal	1	1	0		1				
	2	0	0		0				
	3	0	0		0				
	4	0	0		0				
Degeneration, seminiferous tubular epithelium, diffuse	1	1	0		0				
	2	0	0		0				
	3	0	1		0				
	4	0	0		0				

◇ , Number of animals examined

1 , Minimal; 2 , Mild; 3 , Moderate; 4 , Severe

Table 21 Histological Findings - Summary

Organ Findings	Sex Test Substance Dose Dose Unit Number of Animals	Scheduled sacrifice							
		Male				Female			
		CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL	CVL
		0	100	300	1000	0	100	300	1000
		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
		12	12	12	12	12	8	12	11
Grade									
Testis		<12>	<1>	<0>	<12>				
Degeneration, seminiferous tubular epithelium, focal	1	1	0		1				
	2	0	0		0				
	3	0	0		0				
	4	0	0		0				
Epididymis		<12>	<1>	<1>	<12>				
Cell infiltration, lymphocyte, interstitium, focal	1	1	0	0	1				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	0				
Decrease, sperm, duct	1	0	0	0	0				
	2	0	0	0	0				
	3	0	1	0	0				
	4	0	0	0	0				
Granuloma, spermatic	1	0	0	1	0				
	2	0	0	0	0				
	3	0	0	0	0				
	4	0	0	0	0				
Ovary						<12>	<0>	<0>	<11>

◇, Number of animals examined

1, Minimal; 2, Mild; 3, Moderate; 4, Severe

Table 21 Histological Findings - Summary

Non-copulation &amp; Non-delivery &amp; Total litter loss

Organ Findings	Sex fate	Female Non-copulation	Non-delivery	Total litter loss	Non-delivery
	Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL
	Dose	100	100	100	1000
	Dose Unit	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
	Number of Animals	2	1	1	1
	Grade	<0>	<0>	<0>	<1>
Ovary	◇ , Number of animals examined				

Table 22

Study No. B041802

Reproductive Performance (F0) - Summary  
Mating Stage : 1st

Test Substance Dose (mg/kg)		Number of Pairs	Mean Estrous Cycle	Incidence of Females with Irregular Estrous Cycle	Mating Period		Copulation Index (%)	Fertility Index (%)
					Number of Estrus	Day of Conceiving		
CVL M    0 F    0	Mean		4.00		0.0	2.3	100.0	100.0
	S. D.		0.00		0.0	1.0		
	n	12	12	0/12	12	12	a) (12/12)	b) (12/12)
CVL M    100 F    100	Mean		4.00		0.0	2.7	83.3	90.0
	S. D.		0.00		0.0	1.3		
	n	12	12	0/12	12	10	(10/12)	(9/10)
CVL M    300 F    300	Mean		4.00		0.0	2.5	100.0	100.0
	S. D.		0.00		0.0	1.1		
	n	12	12	0/12	12	12	(12/12)	(12/12)
CVL M    1000 F    1000	Mean		4.00		0.0	2.4	100.0	91.7
	S. D.		0.00		0.0	0.8		
	n	12	12	0/12	12	12	(12/12)	(11/12)

a) : Number of copulated females / Number of pairs

b) : Number of pregnant females / Number of copulated females

Significantly different from control : \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 23

Study No. B041802

## Delivery Data (F0) - Summary

Test Substance		Gestation (days)	Length	Number of Corpora Lutea	Number of Implantation Sites	Total Number of Offspring	Implantation Index (%)	Delivery Index (%)	Gestation Index (%)
Dose (mg/kg)									
CVL	0	Mean	22.3	16.6	16.1	15.1	96.84	93.92	100.0
		S. D.	0.5	1.5	1.9	1.9	5.17	6.45	
		n	12	12	12	12	12	12	(12/12)a
CVL	100	Mean	22.8	16.0	14.0	12.2	86.66	83.73	100.0
		S. D.	0.4	1.9	4.7	5.0	27.55	20.91	
		n	9	9	9	9	9	9	(9/9)
CVL	300	Mean	22.6	15.4	14.6	13.5	94.41	92.48	100.0
		S. D.	0.5	1.2	1.8	2.0	8.86	6.03	
		n	12	12	12	12	12	12	(12/12)
CVL	1000	Mean	22.5	17.3	15.4	14.9	89.83	96.51	100.0
		S. D.	0.5	2.9	2.2	2.8	10.88	7.62	
		n	11	11	11	11	11	11	(11/11)

a) Number of pregnant animals delivered live offspring / number of pregnant animals  
 Significantly different from control : \*, P<0.05; \*\*, P<0.01.

Table 24

Study No. B041802

## Litter Size and Viability Index (F1) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)		Total Number of Offspring at Birth			Number of Live Offspring at Birth			Number of Live Offspring on Day 4 before Culling			Number of Live Offspring on Day 4 after Culling			Number of Live Offspring on Day 4			Viability Index (%)					
					M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	Day 0	Day 4	Day 4
		Mean	S. D.	n				Mean	S. D.	n			Mean	S. D.	n		Mean	S. D.	n			
CVL 0	Mean	7.3	7.8	15.1				7.3	7.8	15.0	7.2	7.7	14.8							99.36	98.80	
	S. D.	1.9	2.7	1.9				1.9	2.7	2.0	1.9	2.6	2.2							2.22	2.81	
	n	12	12	12				12	12	12	12	12	12							12	12	
CVL 100	Mean	5.9	6.3	12.2				5.9	6.2	12.1	5.8	6.2	12.0							98.41	88.89	
	S. D.	3.1	2.6	5.0				3.1	2.6	5.2	3.3	2.6	5.5							4.77	33.33	
	n	9	9	9				9	9	9	9	9	9							9	9	
CVL 300	Mean	7.3	6.2	13.5				7.3	6.2	13.4	7.2	6.0	13.2							99.41	98.22	
	S. D.	2.3	2.2	2.0				2.3	2.2	2.0	2.2	2.3	2.1							2.05	6.18	
	n	12	12	12				12	12	12	12	12	12							12	12	
CVL 1000	Mean	6.9	8.0	14.9				6.8	8.0	14.8	6.4	7.2	13.5							99.25	92.11	
	S. D.	2.1	2.3	2.8				2.2	2.3	2.9	2.8	2.6	4.5							2.50	24.37	
	n	11	11	11				11	11	11	11	11	11							11	11	
(M/F)		( 88/93 )			( 87/93 )			( 86/92 )			( 53/57 )			( 53/56 )			( 52/56 )			( 88/74 )		
(M/F)		( 76/88 )			( 75/88 )			( 70/79 )														

Significantly different from control

: \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 25

Study No. B041802

Clinical Sign (F1 before Weaning) - Summary  
Stage : Before Culling

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings (M/F)	Day	0	1	2	3	4
CVL 0	Number of dams		12	12	12	12	12
	Number of offspring	88/93/0	87/93	86/92	86/92	86/92	86/92
	Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	0	0	0
	No Abnormality	87/93	86/92	86/92	86/92	86/92	86/92
	Death (M/F/U)	1/0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0
CVL 100	Number of dams		9	9	8	8	8
	Number of offspring	53/57/0	53/56	52/56	52/56	52/56	52/56
	Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	0	0	0
	No Abnormality	53/56	52/56	52/56	52/56	52/56	52/56
	Death (M/F/U)	0/1/0	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0
CVL 300	Number of dams		12	12	12	12	12
	Number of offspring	88/74/0	87/74	86/72	86/72	86/72	86/72
	Number of dams with abnormal offspring	1	0	0	0	0	0
	No Abnormality	86/72	86/72	86/72	86/72	86/72	86/72
	Death (M/F/U)	1/0/0	1/2	0/0	0/0	0/0	0/0
CVL 1000	Number of dams		11	11	11	11	11
	Number of offspring	76/88/0	75/88	75/88	75/88	72/85	72/85
	Number of dams with abnormal offspring	0	0	0	2	2	2
	No Abnormality	75/88	75/88	75/88	69/78	67/74	67/74
	Death (M/F/U)	1/0/0	0/0	0/0	3/3	2/6	3/5
Loss of suckling		1/2			3/7	3/5	

M:Male, F:Female, U:Unable to be sexed on day 0

Table 26

Study No. B041802

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary  
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling / after Culling	
		0	4
CVL 0	Mean	6.6	10.5
	S. D.	0.4	0.8
	n	12	12
CVL 100	Mean	7.1	11.8
	S. D.	0.3	1.0
	n	9	8
CVL 300	Mean	7.3*	12.1*
	S. D.	0.6	1.5
	n	12	12
CVL 1000	Mean	7.1	10.7
	S. D.	0.8	2.3
	n	11	11

Significantly different from control

: \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 27

Study No. B041802

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary  
Sex : Female

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling / after Culling		
		0	4	
CVL 0	Mean	6.3	10.1	
	S. D.	0.4	0.9	
	n	12	12	
CVL 100	Mean	6.9	11.8	
	S. D.	0.5	1.6	
	n	8	8	
CVL 300	Mean	6.8	11.6*	
	S. D.	0.7	1.5	
	n	12	12	
CVL 1000	Mean	6.7	10.3	
	S. D.	0.8	2.0	
	n	11	11	

Significantly different from control

: \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 28

Study No. B041802

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary  
 Sex : Male      Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling		after Culling
		0 - 4		
CVL 0	Mean	3.9		
	S. D.	0.5		
	n	12		
CVL 100	Mean	4.8		
	S. D.	0.9		
	n	8		
CVL 300	Mean	4.8		
	S. D.	1.0		
	n	12		
CVL 1000	Mean	3.6		
	S. D.	1.8		
	n	11		

Significantly different from control

: \*, P&lt;0.05; \*\*, P&lt;0.01.

Table 29

Study No. B041802

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary  
 Sex : Female Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling		after Culling
		0 - 4		
CVL 0	Mean S. D. n	3.8 0.6 12		
CVL 100	Mean S. D. n	4.9* 1.2 8		
CVL 300	Mean S. D. n	4.8* 1.0 12		
CVL 1000	Mean S. D. n	3.6 1.5 11		

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

Table 30

Study No. B041802

External Examination of Offspring (F1) - Summary  
 Day : 0 (Birth Day)

Test Substance	CVL	CVL	CVL	CVL
Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
Number of Dams	12	9	12	11
Number of Offspring	180	109	161	163
Number of Dams with Anomalous Offspring	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)
Number of Offspring with Any Anomalies	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)

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

Table 31

Study No. B041802

Necropsy Findings (F1 Offspring)  
Test Substance : CVL

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day:	Scheduled Sacrifice		Dead 0		Dead 1		Dead 2		Dead 3		Dead 4		
			M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
CVL 0	Number of offspring examined		86	92			1								
	No abnormality		86	91			1								
	Kidney aplasia, unilateral				1										
	Ovary aplasia, unilateral				1										
	Uterus aplasia, unilateral				1										
CVL 100	Number of offspring examined		52	56			1								
	No abnormality		52	56			1								
CVL 300	Number of offspring examined		86	72			1				1				
	No abnormality		86	72			1				1				
CVL 1000	Number of offspring examined		70	79			1				1	2		1	
	No abnormality		69	79			1				1	2		1	
	Kidney Dilatation, pelvis, bilateral			1											

M:Male, F:Female