

最終報告書

表題：3,4,5,6-テトラクロロタルイミドのラットにおける 28 日間反復経口投与毒性試験

試験番号：S R 0 8 2 0 6

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
表紙 -----	1
目次 -----	5
要約 -----	12
緒言 -----	13
材料および方法 -----	13
成績 -----	24
考察 -----	27
参考資料 -----	28

Figures

1 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	30
2 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	31
3 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	32
4 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	33

Tables

1 General appearance of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	34
2 General appearance of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	35
3 Detailed clinical observation, in the cage, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	36

4	Detailed clinical observation, on the hand, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	37
5	Detailed clinical observation, in the open-field, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	38
6	Detailed clinical observation, in the cage, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	39
7	Detailed clinical observation, on the hand, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	40
8	Detailed clinical observation, in the open-field, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	41
9	Functional observation of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	42
10	Functional observation of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)	43
11	Grip strength and motor activity measurements of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	44
12	Grip strength and motor activity measurements of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	45
13	Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	46
14	Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	47
15	Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	48
16	Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	49
17	Urinary findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	50
18	Urinary findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	51
19	Urinary findings of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	52
20	Urinary findings of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	53
21	Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	54

22	Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	56
23	Hematological findings of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	58
24	Hematological findings of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	59
25	Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	60
26	Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	62
27	Biochemical findings of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	64
28	Biochemical findings of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	65
29	Gross findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	66
30	Gross findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	67
31	Absolute and relative organ weights of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	68
32	Absolute and relative organ weights of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	69
33	Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	70
34	Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	71
35	Histopathological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	72
36	Histopathological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) -----	73

要 約

3, 4, 5, 6-テトラクロロフタルイミドの 0[対照、1(w/v)%メチルセルロース水溶液]、100、300 および 1000 mg/kg/day を 1 群雄雌各 6 匹の Crl:CD (SD) ラットに、28 日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0 および 1000 mg/kg/day について 1 群雄雌各 6 匹の回復群を設け、投与終了の翌日から 14 日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討し、以下の成績を得た。

1. 機能検査において、投与 4 週および回復 2 週に 1000 mg/kg 群の雄雌で自発運動量の測定開始後に継続的な低値が認められ、被験物質投与に関連した自発運動量の低下が認められた。
2. 一方、一般状態、詳細な状態観察、機能検査の感覚運動反応を検査する各機能検査および握力、体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検所見、器官重量、病理組織学的検査のいずれにおいても被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のことから、本試験条件下における 3, 4, 5, 6-テトラクロロフタルイミドの無影響量 (NOEL) は雄雌とともに 300 mg/kg/day と推察された。

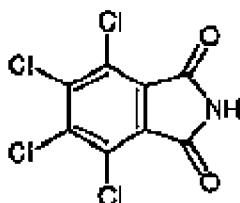
緒 言

3, 4, 5, 6-テトラクロロフタルイミドの 0[対照、1(w/v)%メチルセルロース水溶液]、100、300 および 1000 mg/kg/day を 1 群雄雌各 6 匹の Cr1:CD(SD) ラットに、28 日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0 および 1000 mg/kg/day について 1 群雄雌各 6 匹の回復群を設け、投与終了の翌日から 14 日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討した。

材料および方法

1. 被験物質

名称	: 3, 4, 5, 6-テトラクロロフタルイミド ; 3, 4, 5, 6-Tetrachlorophthalimide
別名	: Tetrachlorophthalimide 4, 5, 6, 7-Tetrachloro-1H-isoindole-1, 3(2H)-dione 4, 5, 6, 7-Tetrachloroisooindole-1, 3-dione
CAS No.	: 1571-13-7
化審法官報公示整理番号	: (5)-3355
示性式(構造式) ¹⁾	: C ₆ C ₁ ₄ (CO) ₂ NH



分子式¹⁾ : C₈H₄Cl₄NO₂

分子量¹⁾ : 284.91

物理化学的性質¹⁾ : 外觀 ; 白色粉末

融点 ; 300°C

熱ジメチルホルムアミド溶状 ; 澄明 (Appendix 1-1)

純度 : 99.8% (GC, Appendix 1-1)

試験終了後に、使用した被験物質の純度に関する分析成績を入手し、被験物質の安定性について確認した (Appendix 1-2)。

不純物の名称およびその濃度 : 記載なし

入手量	250 g(関連試験と共に)
安定性 ¹⁾	: 通常の取扱い条件においては安定。酸化剤との接触に注意した。
保存条件 ¹⁾	: 密栓した後、冷暗所に保管した。長期間の保管を避けた。 被験物質は受入後、被験物質保存室の冷蔵庫(実測範囲 2~9°C)に保存した
保存期間	: 2009年6月25日(受入)~2010年4月8日(最終回調製日)
取扱上の注意 ¹⁾	: 取扱いは、換気のよい場所で行い、粉塵が飛散しないよう注意した。適切な保護具を着用し、吸い込んだり、眼、皮膚および衣類に触れないようにした。取扱い後は、手、顔などを良く洗った。
サンプリング	: 被験物質サンプルとして、約5 gを採取し、試験施設の試料保存室に保存した。
残余被験物質の処置	: 関連試験も含めすべての試験操作終了後、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。
有害性情報、他 ¹⁾	: 皮膚、目、粘膜に対して刺激性がある。

2. 媒体

名称	: 1(w/v)%メチルセルロース水溶液(1%MC)
調製方法	: メチルセルロース(メトローズ、SM-15、ロット番号 8025083、信越化学工業株式会社)を精秤し、精製水(日本薬局方精製水、ロット番号 912080、ヤクハン製薬株式会社)で1(w/v)%となるように溶解させた。
保存条件	: 室温(実測範囲 23~25°C)、気密
保存場所	: 被験物質保存室
保存期間	: 2010年3月15日~2010年4月15日(調製後10日以内に使用した)

3. 投与液の調製および化学分析

調製方法	: 被験物質を精秤し、所定の濃度となるように媒体を添加後、スターラーを用いて分散させた。
調製頻度	: 9日間に1回以上の頻度で調製した。
保存条件	: 冷蔵(実測範囲 2~6°C)
保存場所	: 被験物質保存室の冷蔵庫
保存期間	: 2010年3月15日~2010年4月15日(調製後10日以内に使用した)
調製上の注意	: 被験物質はドラフト内で取扱い、調製の際にはマスク、手袋等を着用し、吸入、眼、皮膚および衣類等との接触を避けた。

投与液の安定性および均一性：0.1 および 100 mg/mL の調製液について、均一性が確認された (Appendix 2-1)。また、調製後、冷蔵保存 11 日間に続く室温保存 5.5 時間の安定性が確認された (Appendix 2-2)。

投与液の濃度確認：被験物質の全濃度に関する投与液中の濃度を、初回および雄の投与期間終了時に使用する投与液について計 2 回確認した (Appendix 2-3 および 2-4)。

濃度分析方法：Appendix 2-5 に示す。

残余投与液の処置：残余の投与液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

4. 試験方法

(1) 試験系

種・系統：ラット、Crl:CD (SD)

微生物統御：SPF

生産業者：日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター

微生物モニタリング：動物生産業者よりデータを入手した。

動物選定理由：ラットは毒性試験等で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

発注動物数：雄雌各 38 匹

受入動物数：雄雌各 40 匹

発注動物週齢：雄雌とも 4 週齢

出荷体重基準：雄雌とも 50～110 g

受入時体重範囲：雄 81～100 g、雌 76～90 g

投与開始時週齢：雄雌とも 5 週齢

群数：雄雌各 6 群(毒性試験群；雄雌各 4 群、回復性試験群；雄雌各 2 群)

各群動物数：雄雌各 6 匹

(2) 検疫および馴化

検疫方法：一般状態を 1 日 1 回観察し、体重を受入時および群分け時(投与開始前々日)に測定した。

期間：馴化 1 日(受入日)から、雄は馴化 7 日までの 6 日間、雌は馴化 8 日までの 7 日間。

検疫および馴化期間中に異常は認められなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、異常の認められない健康な動物を雄雌各 36 匹選抜して、5 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間最終日(投与開始前々日)の体重に基づいて、層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行った。群分け時の動物の体重範囲

は、雄で 140～168 g、雌で 131～155 g であり、平均体重(雄 155.5 g、雌 141.0 g)の±20%以内であった。選抜から外れた雄雌各 4 匹は試験から除外し、標準操作手順書に従って取り扱った。なお、選抜された動物について投与開始前日に一般状態に異常がないことを確認した。

なお、投与開始時の体重範囲は、雄で 156～189 g、雌で 136～171 g であり、平均体重(雄 174.2 g、雌 153.7 g)であった。

(4) 動物およびケージの識別

動物 : 群分け前は受入時に油性フェルトペンで尾部に印を付け、個体識別を行った。

群分け後は耳介に動物番号を入れ墨し、個体識別を行った。

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

群分け後は性別毎に色分けしたラベルに試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

飼育室番号 : 310 号室

温度・湿度 : 22±3°C (実測範囲 22～25°C)、50±20% (実測範囲 31～60%)

換気回数 : 10～15 回／時間

照明時間 : 人工照明 12 時間 (8：00～20：00)

2) 飼育器材および飼育方法

ケージの種類 : プラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H, mm)

1 ケージあたりの収容動物数 : 検疫および馴化期間中は 2 あるいは 3 匹、群分け後は 1 匹とした。

ケージ交換 : 群分け時に 1 回実施し、その後は 2 週に 1 回以上の頻度で実施した。

受皿交換 : 週 2 回実施した。

給餌器交換 : 群分け時に 1 回実施し、その後は 2 週に 1 回以上の頻度で実施した。

自動給水装置の水抜き : 週 1 回実施した。

給水器交換 : 尿検査時にのみ使用した。

室内の清掃 : 1 日 1 回実施した。

室内の消毒 : 塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用する清拭消毒を 1 日 1 回実施した。

3) 飼料

種類・名称 : 固型飼料、CRF-1

製造業者 : オリエンタル酵母工業株式会社

給餌方法 : 金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

汚染物質および微生物検査：試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット(091203、100203)の飼料について分析した。

汚染物質の分析は Eurofins Analytics 社(分析報告書：

AR-09-JP-001534-02、AR-10-JP-000477-01)が、微生物検査は飼料製造業者(分析試験報告書：No. 09G03-070、10G03-027)がそれぞれ行った。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

4) 飲料水

種類	: 札幌市水道水
給水方法	: 自動給水装置あるいは給水器を用いて自由に摂取させた。
汚染物質検査	: 試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2010年1月4日、2010年4月1日および2010年7月1日に当該飼育室と同系統配管の最末端(306号室)から試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社(水質検査結果表；No. A214127、A220003、A220983)が行い、分析データを入手した。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

(6) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

投与量	: 0、100、300 および 1000 mg/kg/day
設定理由	: 1群につき雄雌各3匹のSD系ラット[Cr1:CD(SD)]に、1(w/v)%メチルセルロース水溶液(1%MC)に分散させた被験物質の0(対照)、15、60、250 および 1000 mg/kg を14日間反復経口投与した予備試験(SR08206P) ²⁾ の結果、一般状態、体重推移、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検所見および器官重量のいずれにも、各投与群の雄雌ともに被験物質投与に関連した変化は認められなかった。このことから、本試験では、予備試験と同様に 1000 mg/kg/day を最高用量に設定し、以下公比約3で除した 300 および 100 mg/kg/day を中用量および低用量に設定した。なお、対照群および 1000 mg/kg/day の2用量については 28 日間投与後 14 日間休薬による回復性を検討する回復群を設定した。

試験群の構成

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

対照群には、他の群と同様の方法で媒体のみを投与した。

2) 投与

投与方法および投与経路：ディスポーザブル胃ゾンデおよびディスポーザブルシリジングを用いて強制的に胃内に経口投与した。

投与回数 : 1日1回、28日間。

投与方法、投与経路および投与回数の選定理由：試験法ガイドラインに準拠して選定した。

投与時刻 : 9:00~11:30。ただし、尿検査時は11:30~12:00。

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

(7) 観察、測定および検査項目

1) 一般状態観察

例数 : 全例

期間 : 投与開始日を投与1日、投与28日の翌日を回復1日として起算し、投与1日から剖検日(投与28日あるいは回復14日の翌日)まで。

頻度 : 午前(投与期間中は投与前)および午後の1日2回。ただし、剖検日は午前中に1回。

観察方法 : 個々の生死、外観、行動等について観察した。

2) 詳細な一般状態観察

例数 : 全例

時期 : 投与開始前ならびに投与7、14、21および28日、回復7および14日

観察方法 : あらかじめ定めたスコアリング基準を用いてスコア化した観察結果を記録した。

観察項目およびその方法 :

①体位・姿勢、呼吸状態、振戦・痙攣、常同行動(回転・旋回)、異常行動(自咬)をケージ外から観察した。

②取り出し易さ、取扱い易さ、筋収縮性、立毛、被毛の状態、

皮膚、眼・眼球および粘膜の外観、瞳孔径、流涙、流涎、その他分泌物の有無について、ケージから取り出す時に観察した。
 ③歩行、運動協調性、環境刺激に対する反応、探索行動(臭嗅ぎ・立上り)、排泄状態(排尿・排糞)、常同行動(身づくろい・くびぶり)、異常行動(後ずさり・異常発声)、攻撃性について、オープンフィールド内で観察した。

3) 機能検査

例数	: 全例
時期	: 投与 4 週および回復 2 週
観察／測定方法	: あらかじめ定めたスコアリング基準を用いてスコア化した観察結果あるいは測定機器による測定値を記録した。
	観察項目およびその方法 :
	①刺激に対する感覚運動反応 : 検査台上で以下を観察した。 視覚刺激、触覚刺激、聴覚刺激、痛覚刺激、固有受容器刺激、空中正向反射
	②握力 : CPU ゲージ(アイコーベンジニアリング株式会社)を用いて前肢および後肢について各 3 回測定し、1 g 単位で記録した。
	③自発運動量 : 自発運動量測定装置(スーパー・メックスおよび CompAct、室町機械株式会社)を用いて、上記に引き続き、10 分間隔で 1 時間測定した。

4) 体重測定

例数	: 全例
測定日	: 投与 1、4、7、14、21 および 28 日の投与前、回復 7 および 14 日ならびに剖検日に測定した。
測定方法	: 電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて測定し、1 g 単位で記録した。

体重増加量および体重増加率 : 以下の式により算出した。

投与期間
 体重増加量(g) = 投与 28 日体重(g) - 投与 1 日体重(g)

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

回復期間

体重増加量(g) = 回復 14 日体重(g) - 投与 28 日体重(g)

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

5) 摂餌量測定

例数 : 全例
 測定日 : 投与 1、4、7、14、21 および 28 日の投与前、回復 7 および 14 日。
 測定方法 : 電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社 エー・アンド・ディ)を用いて、
 1 g 単位で記録した。投与開始前日に適当量を測定後ケージ毎に給
 与し、その後は測定日に残量および給与量を測定した。ただし、剖
 検前日は残量のみ測定した。以下の式により、摂餌量を算出した。

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

6) 尿検査

例数 : 全例
 時期 : 投与 4 週(投与 25～26 日)および回復 2 週(回復 11～12 日)
 採尿方法 : 非絶食下でラット用代謝ケージ(KN-646、B-1 型、夏目製作所)を用
 いて採尿し、投与直後から約 3 時間の蓄尿で①～⑧を、また約 21
 時間の蓄尿で⑨、⑩を実施した。採取した尿は検査終了後廃棄した。

検査項目および検査方法 :

①pH	試験紙法
②蛋白(Protein)	試験紙法
③糖 (Glucose)	試験紙法
④ケトン体(Ketone body)	試験紙法
⑤ウロビリノーゲン(Urobilinogen)	試験紙法
⑥ビリルビン(Bilirubin)	試験紙法
⑦潜血反応(Occult blood)	試験紙法
⑧色調(Color)	肉眼観察
⑨尿量(Urine Volume)	容量測定
⑩比重(Specific gravity)	屈折計法
①～⑦	マルティスティックス、シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス
⑩	尿比重屈折計ユリコン-S、アタゴ

7) 血液学的検査

例数 : 全例
 時期 : 剖検時に採血
 検査方法 : 一晩の絶食下(17～19 時間)でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採
 血した。検査項目のうち①～⑩について EDTA・2K(ベノジェクト II 真空採血
 管、テルモ株式会社)で処理した血液約 1 mL を用い、⑪および⑫について
 は 3.8%クエン酸ナトリウムで処理した血液約 1～2 mL を 3500 回転/分で
 10 分間遠心分離して得られた血漿を用いた。得られた血液および血漿は検
 査終了後廃棄した。
 なお、白血球塗抹標本(May-Grünwald-Giemsa 染色)を作製し、保存した。

白血球の分布に異常はみられなかったため、鏡検は行わなかった。

検査項目および検査方法：

①赤血球数(RBC)	電気抵抗検出法
②ヘマトクリット値(HCT)	電気抵抗検出法
③ヘモグロビン濃度(HGB)	SLS ヘモグロビン法
④平均赤血球容積(MCV)	RBC, HCT 値より算出
⑤平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)	RBC, HGB 値より算出
⑥平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)	HCT, HGB 値より算出
⑦網赤血球数(Reticulocyte)	フローサイトメトリー法
⑧血小板数(Platelet)	電気抵抗検出法
⑨白血球数(WBC)	フローサイトメトリー法
⑩白血球分画 (Differential count of WBC)	フローサイトメトリー法
⑪プロトロンビン時間(PT)	トロンボプラスチン法
⑫活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	エラジン酸法

①～⑩ 自動血球分析装置 XT-2000 iV、シスメックス

⑪⑫ 血液凝固自動測定装置 KC4 デルタ、トリニティ・バイオテック

8) 血液化学的検査

例数 : 全例

時期 : 剖検時に採血

検査方法 : 一晩の絶食下(17～19 時間)でラットをエーテル麻酔し、腹部大動脈より採血した。検査項目のうち①および⑤については血液 1 mLあたりヘパリンナトリウム(ヘパリンナトリウム注N「味の素」、1000 単位/mL、味の素株式会社)約 20 単位で処理後、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血漿を用いて検査した。他の項目については分離剤入り試験管(セパクリーン A、栄研器材株式会社)に血液を採取し、3500 回転/分で 10 分間の遠心分離で得られた血清を用いて検査した。得られた血漿および血清は検査終了後、-20°C以下で凍結保存し、試験終了日に廃棄した。

検査項目および検査方法：

①AST	JSCC 法
②ALT	JSCC 法
③アルカリホスファターゼ(ALP)	JSCC 法
④γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法
⑤グルコース(Glucose)	ヘキソキナーゼ法
⑥総コレステロール(T-Chol)	酵素法
⑦トリグリセリド(TG)	遊離グリセロール消去法
⑧総ビリルビン(T-Bil)	アゾビリルビン法
⑨尿素窒素(UN)	ウレアーゼ・GLDH 法
⑩クレアチニン(Crea)	Jaffé 法
⑪ナトリウム(Na)	イオン選択電極(ISE)法
⑫カリウム(K)	イオン選択電極(ISE)法
⑬クロール(Cl)	イオン選択電極(ISE)法
⑭カルシウム(Ca)	OCPC 法
⑮無機リン (IP)	Fiske-Subba Row 法

⑯総蛋白(TP)	ビウレット法
⑰蛋白分画(Protein fraction)	セルロースアセテート膜電気泳動法
⑱A/G 比(A/G ratio)	蛋白分画より算出
⑲アルブミン(Albumin)	総蛋白と蛋白分画より算出
(1)～(16) 自動分析装置 7080 形、日立ハイテクノロジーズ	
(17)～(19) 自動電気泳動装置 AES320、三島オリンパス	

9) 剖検

例数	: 全例
時期	: 投与 28 日の翌日あるいは回復 14 日の翌日に実施した。
検査方法	: 体外表を観察し、エーテル麻酔下で採血後、放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。また、以下の器官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。なお、眼球およびハーダー腺はデビッドソン液で固定・保存し、精巣および精巣上体はブアン液で固定、70%エタノールに保存した。肺については固定液を注入後浸漬固定した。左右のある器官については、原則として左右とも固定・保存した。
器官・組織名	: 脳(大脳、小脳および延髄)、下垂体、脊髄、胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓、心臓、舌、食道、胃、肝臓、胰臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル板を含む)、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、頸下リンパ節、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢(凝固腺含む)、卵巣、子宮、睪丸、眼球、ハーダー腺、大腿骨(骨髓含む、右)、坐骨神経および肉眼的異常部位(正常組織との境界部含む、中用量(300 mg/kg)の雄 1 例の回腸および雌 1 例の子宮)。

10) 器官重量測定

例数	: 全例
時期	: 剖検時
測定方法	: 電子式上皿天秤(ER-180A、株式会社 エー・アンド・ディ)を用いて以下の器官の重量を測定した。左右のある器官については、左右合わせて測定した。
相対重量の算出	: 以下の式から相対重量を算出した。
	$\text{相対重量(%)} = \frac{\text{絶対重量(g)}}{\text{剖検日体重(g)}} \times 100$
器官名	: 脳、下垂体、甲状腺、副腎、脾臓、心臓、肝臓、腎臓、胸腺、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢(凝固腺含む)、卵巣、子宮

11) 病理組織学的検査

- 例数 : 剖検時に固定・保存した全例の全器官・組織について標本作製を実施し、対照群および高用量群の全例について鏡検した。
- 剖検時にみられた肉眼的異常部位についても鏡検した。
- なお、鏡検の結果、被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかつたため、他の投与群については鏡検しなかつた。
- 検査方法 : パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して鏡検した。また、雌1例の肝臓の脂肪化について oil red O 染色(中性脂肪の確認)を施し確認を行つた。

5. 統計学的方法

投与期間中は回復群の動物を合わせて集計した。

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

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

対照群との比較検定については、有意水準を 5%とした。

なお、統計学的方法に関する表示方法を INDIVIDUAL DATA の冒頭に示す。

成 績

1. 一般状態

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

[投与期間]

対照(0 mg/kg)群および各投与群(100、300 および 1000 mg/kg)群の雄雌ともに異常は認められなかった。

[回復期間]

対照群および 1000 mg/kg 群の雄雌ともに異常は認められなかった。

2. 詳細な一般状態観察

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

[投与期間]

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

[回復期間]

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

3. 機能検査

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

[投与 4 週]

各機能検査および握力では、各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な差は認められなかった。

自発運動量では、100 および 300 mg/kg には雌雄ともに有意な変化は認められなかつたが、1000 mg/kg 群では、雌雄ともに測定開始後に継続的な低値が認められ、雄で測定開始後 40'～50'、雌で 0'～10' および 10'～20' の各時点に統計学的な有意差が認められた。

[回復 2 週]

各機能検査では、1000 mg/kg 群の雄雌ともに有意な変化は認められなかつた。

握力では、1000 mg/kg 群の雄で有意な低値が認められたが、投与終了時には認められない変化であり、偶発的な有意差と判断した。1000 mg/kg 群の雌では有意な差は認められなかつた。

自発運動量では、1000 mg/kg 群の雄で投与終了時と同様に測定開始後に継続的な低値が認められ、測定開始後 20'～30' に統計学的な有意差が認められた。また、雌でも各測定時点に有意差は認められなかつたものの、継続的な低値が認められた。

4. 体重

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

[投与期間]

各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

[回復期間]

1000 mg/kg の雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

5. 摂餌量

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

[投与期間]

100 mg/kg 群では、雌で投与 14 日に対照群と比較して有意な高値が認められたが、用量依存性がないこと、高値であり毒性学的な意義は乏しいこと、また、この群では投与開始前にも有意な高値が認められていることから、偶発的な有意差と判断した。

300 および 1000 mg/kg 群では、雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

[回復期間]

1000 mg/kg 群の雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

6. 尿検査

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

[投与 4 週]

各投与群の雄雌ともに対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

[回復 2 週]

1000 mg/kg 群の雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

7. 血液学的検査

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

[投与期間終了時]

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

1000 mg/kg 群では、雄でヘモグロビン濃度(HGB)の有意な高値、雌で活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の有意な短縮が認められたが、いずれも背景データの範囲内(HGB : 14.7～17.6 g/dL、APTT : 16.4～23.3 sec)の値であること、関連項目に変化がないことから偶発的な有意差と判断した。

[回復期間終了時]

1000 mg/kg 群の雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

8. 血液化学的検査

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

[投与期間終了時]

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

1000 mg/kg 群では、雌で β -グロブリン分画比 (β -Globulin) の有意な高値が認められたが、総タンパクや A/G 比に変化がないこと、背景データの範囲内 (β -Globulin : 9.9～18.1%) の値であること、関連項目に変化がないことから偶発的な有意差と判断した。雄には有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

1000 mg/kg 群の雄でグルコース (Glucose) の有意な低値が認められたが、投与終了時には認められない変化であること、背景データの範囲内 (Glucose : 127～199 mg/dL) の値であることから偶発的な有意差と判断した。雌には有意な変化は認められなかった。

9. 剖検

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

[投与期間終了時]

対照群および 100 mg/kg 群では、雄雌ともに異常所見は認められなかった。

300 mg/kg 群の雄 1 例で回腸の憩室、雌 1 例で左子宮角部の囊胞が認められたが、いずれも自然発生性の変化と判断した。

1000 mg/kg 群では、雄雌ともに異常所見は認められなかった。

[回復期間終了時]

対照群の雄 1 例で右側の精巣および精巣上体に萎縮が認められたが、自然発生性の変化と判断した。雌には異常所見は認められなかった。

1000 mg/kg 群では、雄雌ともに異常所見は認められなかった。

10. 器官重量

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

[投与期間終了時]

100 mg/kg 群の雄で肝臓の相対重量に対照群と比較して有意な低値、精巣上体の絶対および相対重量に有意な高値が認められたが、いずれも用量依存性のない変化であった。雌には有意な変化は認められなかった。

300 および 1000 mg/kg 群では、雄雌ともに有意な変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

1000 mg/kg 群の雄で胸腺の相対重量に有意な高値、副腎の相対重量に有意な低値が認められ

たが、いずれも投与終了時には認められない変化であること、背景データの範囲内(胸腺：83.774～179.981、副腎：10.543～18.734 10⁻³%)の値であることから偶発的な有意差と判断した。雌には有意な変化は認められなかった。

11. 病理組織学的検査

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

[投与期間終了時]

対照群および高用量群の雄雌とともに、発現例数やグレードが正常範囲を逸脱する変化は認められなかった。

[回復期間終了時]

対照群および高用量群の雄雌とともに、発現例数やグレードが正常範囲を逸脱する変化は認められなかった。

考 察

3,4,5,6-テトラクロロフタルイミドの 0[対照、1(w/v)%メチルセルロース水溶液]、100、300 および 1000 mg/kg/day を 1 群雄雌各 6 匹の Cr1:CD (SD) ラットに、28 日間反復経口投与して毒性発現の有無およびその概要を検討した。さらに、0 および 1000 mg/kg/day について 1 群雄雌各 6 匹の回復群を設け、投与終了の翌日から 14 日間観察を継続し休薬による毒性の回復性を併せて検討した。

機能検査において、1000 mg/kg 群の雄雌で自発運動量の測定開始後に継続的な低値が認められ、雄で測定開始後 40'～50'、雌で 0'～10'および 10'～20'の各時点に統計学的な有意差も認められた。一般状態の観察や詳細な一般状態観察、刺激に対する感覚運動反応を検査する各機能検査および握力には異常および統計学的な有意差は認められなかつたが、自発運動量の各測定値および総運動量のいずれにおいても他の投与群と比較して低値であることから、被験物質投与に関連した自発運動量の低下と推察された。

一方、体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、剖検所見、器官重量、病理組織学的検査のいずれにおいても被験物質投与に関連した変化が認められないことから、この自発運動量の低下傾向に関する発現機序は明らかでなく、また、回復 2 週の検査時にも投与 4 週と同様に自発運動量の低下傾向が認められたことから、回復性についても明らかでなかつた。

以上のように、被験物質投与に関連した変化として、1000 mg/kg 群の雄雌で投与 4 週および回復 2 週に自発運動量の低下傾向が認められたが、他には被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

これらのことから、本試験条件下における 3, 4, 5, 6-テトラクロロフタルイミドの無影響量(NOEL) は雄雌とともに 300 mg/kg/day と推察された。

参考資料

- 1) 化学物質等安全データシート. 東京化成工業株式会社. 2000 年 8 月 10 日.
- 2) 3, 4, 5, 6-テトラクロロフタルイミドのラットにおける 14 日間反復経口投与
毒性予備試験(SR08206P) 最終報告書. 株式会社 化合物安全性研究所. (2010)

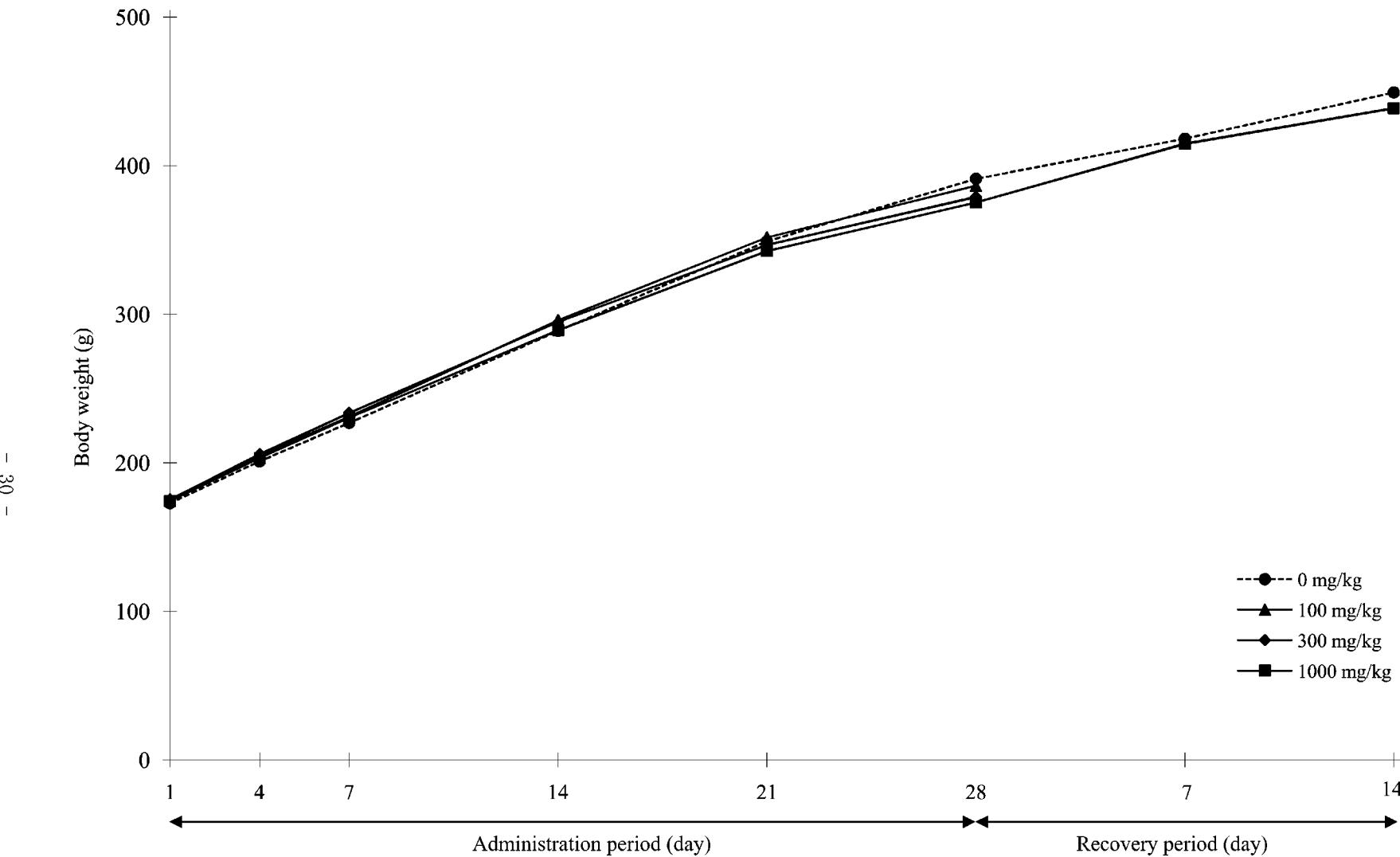


Figure 1 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

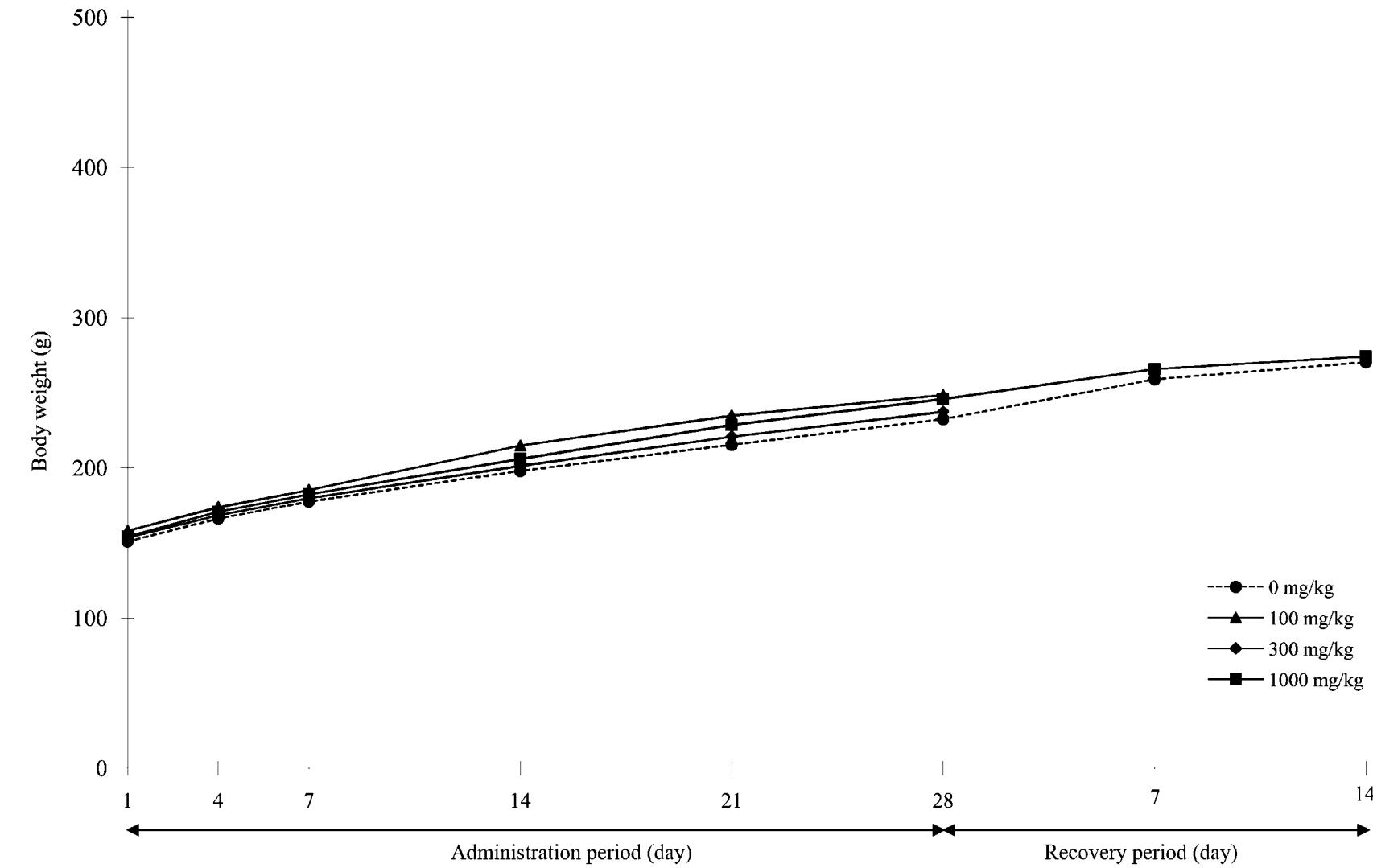


Figure 2 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

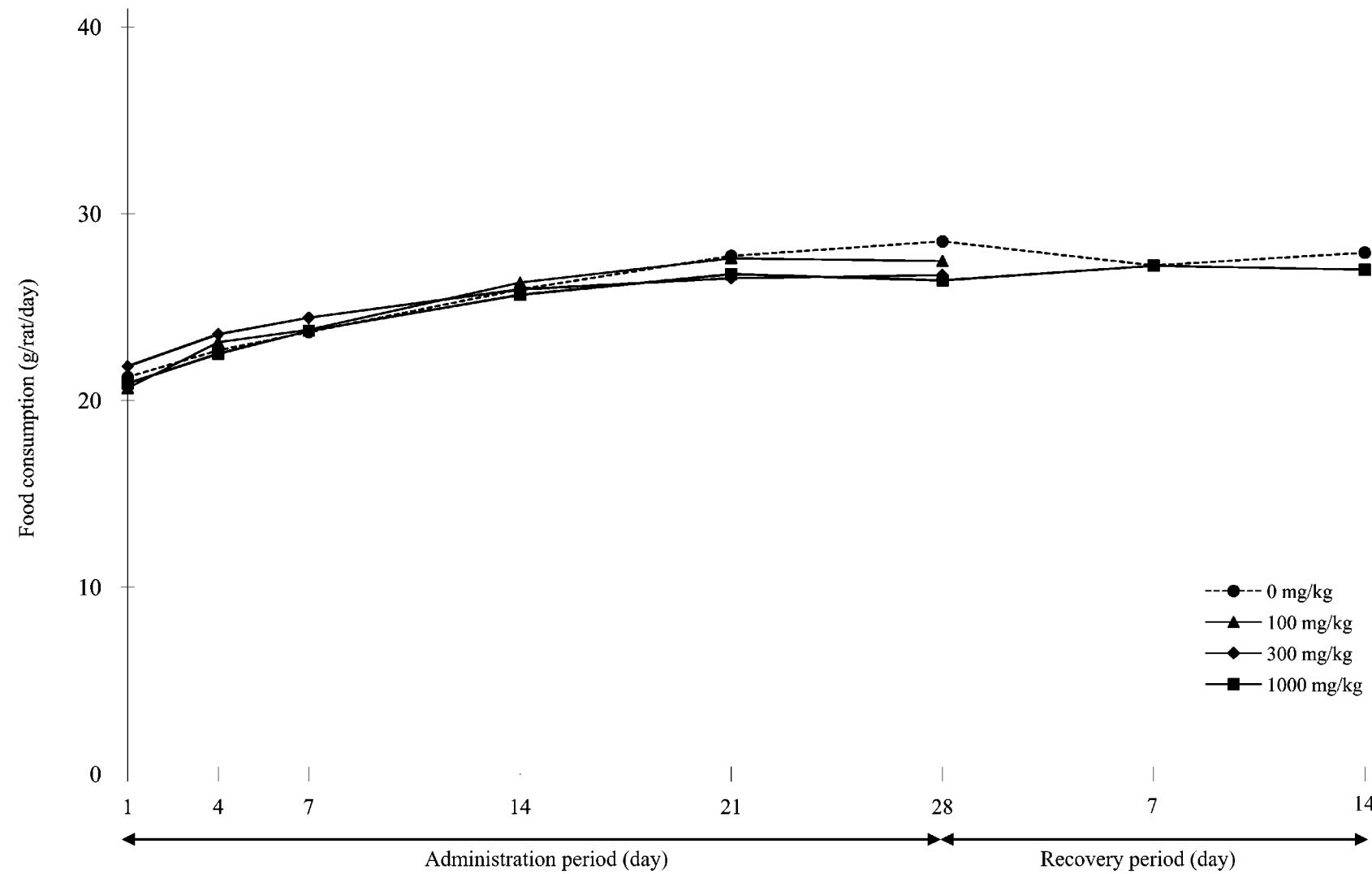


Figure 3 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

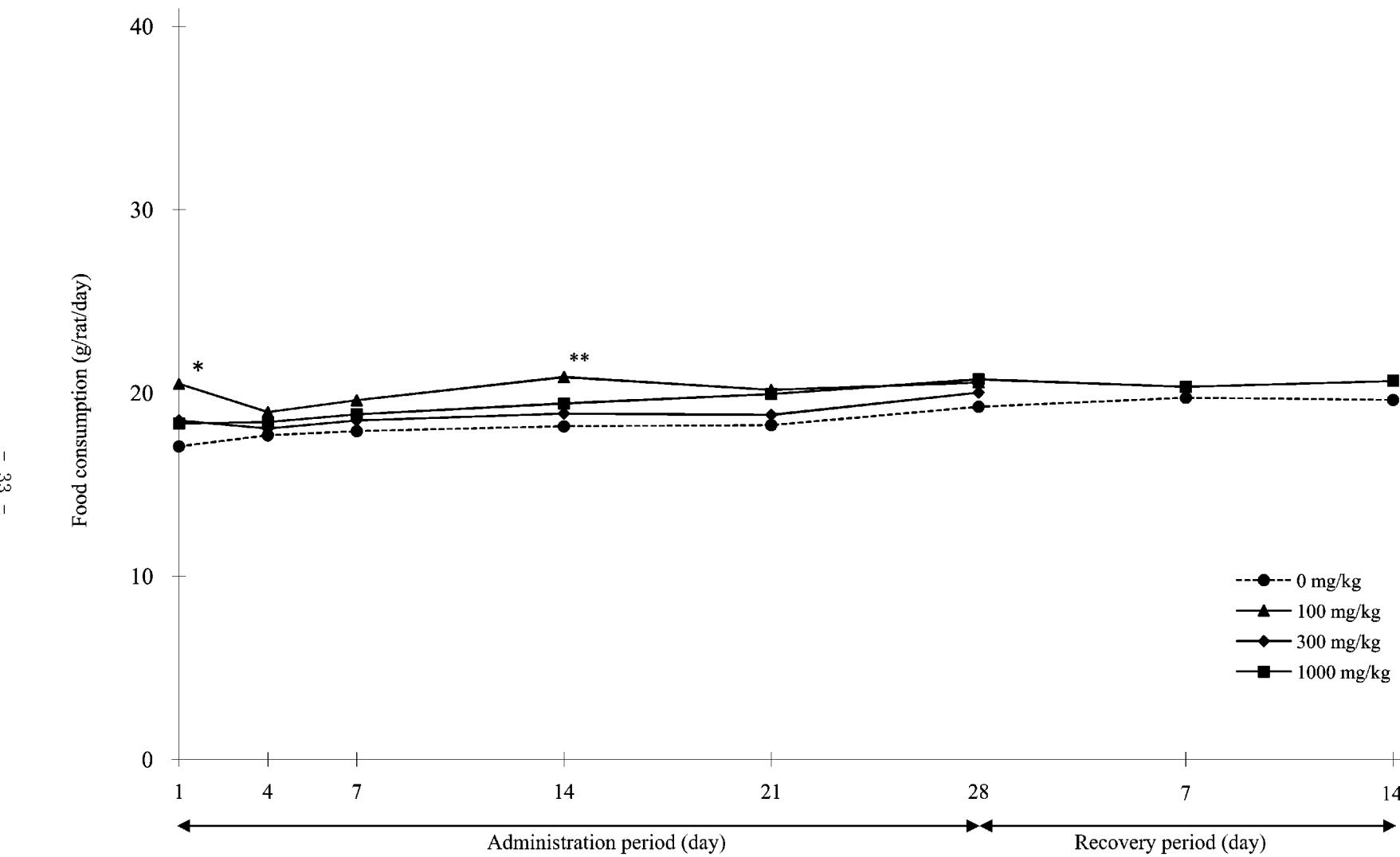


Figure 4 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

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

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

Table 1 General appearance of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

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

Values are number of animals with findings.

- : Blank.

Table 2 General appearance of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

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

Values are number of animals with findings.

- : Blank.

Table 3 Detailed clinical observation, in the cage, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Category	Body position/ Posture		Respiratory pattern	Tremor/ Convulsion	Stereotype		Bizarre behavior	
				1	1			1	0	0	1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

Table 4 Detailed clinical observation, on the hand, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Category	Ease of												Secretions/ Excretions
				Removal	Handling	Muscle tone	Piloerection	Fur	Eyes	Mucous membranes	Skin	Pupil size	Lacration	Salivation		
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 5 Detailed clinical observation, in the open-field, of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Category	Gait 1	Co-ordination of movement 1	Reactivity to environmental stimuli			Searching 1		Urination 0 1		Defecation 0 1		Stereotype		Bizarre behavior		
						1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	Walking backward 1	Vocalization 1	Aggression 1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	10	2	9	3	12	0	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	5	1	5	1	6	0	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	9	3	12	0	12	0	12	12	12	12	12	
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	5	1	6	0	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	10	2	11	1	12	0	12	12	12	12	12	
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	5	1	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	5	1	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	10	2	10	2	12	0	12	12	12	12	12	
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	5	1	5	1	6	0	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	5	1	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12	12	
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	0	12	0	12	0	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	5	1	5	1	5	1	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	10	2	11	1	12	0	12	12	12	12	12	
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	0	6	0	6	0	6	6	6	6	6	

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Table 6 Detailed clinical observation, in the cage, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Category	Body position/ Posture		Respiratory pattern	Tremor/ Convulsion	Stereotype		Bizarre behavior	
				1	1			1	0	0	1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

Table 7 Detailed clinical observation, on the hand, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Category	Ease of												Secretions/ Excretions
				Removal	Handling	Muscle tone	Piloerection	Fur	Eyes	Mucous membranes	Skin	Pupil size	Lacrimation	Salivation	0	
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

Table 8 Detailed clinical observation, in the open-field, of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Category	Gait 1	Co-ordination of movement 1	Reactivity to environmental stimuli				Stereotype		Bizarre behavior		
						Searching 1	Urination 0	Urination 1	Defecation 0	Excessive grooming 0	Unusual head movement 0	Walking backward 1	Vocalization 1	Aggression 1
Pre	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
Day 7	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12
Day 14	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
Day 21	0 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	0	12	0	12	12	12	12
Day 28	0 mg/kg	12		12	12	12	11	1	12	0	12	12	12	12
	100 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6
	300 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6
	1000 mg/kg	12		12	12	12	12	1	12	0	12	12	12	12
R-Day 7	0 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
R-Day 14	0 mg/kg	6		6	6	6	6	0	6	0	6	6	6	6
	1000 mg/kg	6		6	6	6	5	1	6	0	6	6	6	6

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Pre : Pre-administration.

Day 14 : Day 14 of administration.

Day 28 : Day 28 of administration.

R-Day 14 : Day 14 of recovery.

Day 7 : Day 7 of administration.

Day 21 : Day 21 of administration.

R-Day 7 : Day 7 of recovery.

Table 9 Functional observation of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

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

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Week 4 : Week 4 of administration.

R-Week 2 : Week 2 of recovery.

Visual reactivity: approach response.

Touch reactivity: touch response.

Auditory reactivity: response to Galton's whistle.

Pain reactivity: tail pinch response.

Proprioceptive reactivity: returning from enforced posture.

Righting reflex: landing performance from 30 cm above.

Table 10 Functional observation of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

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

Values are expressed as the number of animals.

Category : The category number observed in each item.

Week 4 : Week 4 of administration.

R-Week 2 : Week 2 of recovery.

Visual reactivity: approach response.

Touch reactivity: touch response.

Auditory reactivity: response to Galton's whistle.

Pain reactivity: tail pinch response.

Proprioceptive reactivity: returning from enforced posture.

Righting reflex: landing performance from 30 cm above.

Table 11 Grip strength and motor activity measurements of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Grip strength		Motor activity measurements (count)						Total	
			Forelimb (g)	Hindlimb (g)	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'		
Week 4	0 mg/kg	12	Mean	1185.86	501.14	420.3	322.8	207.2	144.2	149.8	110.8	1354.9
			S.D.	117.87	77.72	204.8	145.8	81.3	70.1	125.1	124.4	535.0
	100 mg/kg	6	Mean	1185.23	567.10	448.3	305.8	207.8	91.7	82.3	62.2	1198.2
			S.D.	101.77	87.63	142.6	115.0	86.9	50.0	60.6	71.6	357.7
	300 mg/kg	6	Mean	1102.48	521.45	548.7	419.3	320.0	212.0	114.0	77.8	1691.8
			S.D.	123.64	46.49	291.8	134.2	221.9	153.0	126.8	94.4	961.5
	1000 mg/kg	12	Mean	1104.05	511.27	361.0	295.3	171.2	83.6	46.2*	45.9	1003.1
			S.D.	108.19	62.59	179.2	190.1	137.4	64.8	61.0	62.8	562.6
R-week 2	0 mg/kg	6	Mean	1521.32	454.38	478.3	304.7	201.2	138.8	86.8	66.8	1276.7
			S.D.	108.74	68.12	201.8	168.5	85.1	95.9	62.5	69.7	547.7
	1000 mg/kg	6	Mean	1375.23*	508.95	280.3	205.3	76.7*	72.0	57.5	24.0	715.8
			S.D.	115.20	20.21	139.5	120.4	55.3	83.9	52.5	28.5	355.1

Week 4 : Week 4 of administration.

R-week 2 : Week 2 of recovery.

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

Table 12 Grip strength and motor activity measurements of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Period	Group	Number of animals	Grip strength		Motor activity measurements (count)						Total	
			Forelimb (g)	Hindlimb (g)	0'-10'	10'-20'	20'-30'	30'-40'	40'-50'	50'-60'		
Week 4	0 mg/kg	12	Mean	960.23	442.01	790.0	631.8	430.8	258.5	156.4	201.2	2468.6
			S.D.	106.19	43.21	206.7	254.8	236.0	198.6	156.6	181.6	1055.5
	100 mg/kg	6	Mean	922.73	419.95	602.7	414.8	303.0	207.2	181.8	147.0	1856.5
			S.D.	116.10	36.70	131.1	213.7	195.6	151.8	189.9	121.5	932.4
	300 mg/kg	6	Mean	929.18	420.67	798.0	550.2	585.8	357.0	198.7	152.7	2642.3
			S.D.	97.58	35.06	320.0	225.4	314.8	294.7	140.2	179.0	1190.4
	1000 mg/kg	12	Mean	954.51	410.55	551.8*	382.1*	258.6	189.5	131.5	141.3	1654.7
			S.D.	105.32	62.84	218.3	203.7	188.7	194.5	186.9	178.9	1083.9
R-week 2	0 mg/kg	6	Mean	1177.97	451.83	524.8	399.5	218.3	106.8	66.7	78.5	1394.7
			S.D.	173.21	69.81	133.4	112.1	142.7	98.7	45.8	61.0	424.7
	1000 mg/kg	6	Mean	1191.22	420.45	413.8	288.2	151.2	115.3	75.3	50.2	1094.0
			S.D.	209.07	65.89	139.8	88.9	96.1	81.9	75.7	49.1	457.8

Week 4 : Week 4 of administration.

R-week 2 : Week 2 of recovery.

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

Table 13 Body weight of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Body weight (g)						Body weight gain		Body weight (g)		Body weight gain		
		Administration period (day)						1-28		Recovery period (day)		0-14		
		1	4	7	14	21	28	g	%	7	14	g	%	
0 mg/kg	12	Mean	172.9	201.0	226.9	288.8	349.1	391.2	218.3	126.078	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	8.2	11.2	14.3	21.1	28.2	31.9	26.3	12.590	36.0	41.9	14.2	2.823
100 mg/kg	6	Mean	175.5	204.8	231.0	296.0	351.7	386.5	211.0	120.008	-	-	-	-
		S.D.	7.2	8.7	11.6	17.3	25.1	29.5	23.2	9.600	-	-	-	-
300 mg/kg	6	Mean	175.3	205.8	233.7	294.8	346.7	379.0	203.7	116.202	-	-	-	-
		S.D.	9.5	12.3	14.6	21.7	26.8	25.9	19.8	9.776	-	-	-	-
1000 mg/kg	12	Mean	174.3	203.1	230.4	289.3	342.6	375.3	201.1	115.419	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	7.7	8.0	9.8	17.2	24.1	29.9	26.5	14.893	45.0	50.6	15.0	2.768

Values in parentheses are number of animals.

Recovery day 0 is administration day 28.

- : Blank.

Table 14 Body weight of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Body weight (g)						Body weight gain		Body weight (g)		Body weight gain		
		Administration period (day)						1-28		Recovery period (day)		0-14		
		1	4	7	14	21	28	g	%	7	14	g	%	
0 mg/kg	12	Mean	151.0	166.3	177.6	197.9	215.3	232.4	81.4	54.173	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	8.5	8.4	8.7	11.8	14.1	16.7	15.9	11.793	19.5	20.3	5.5	1.895
100 mg/kg	6	Mean	158.2	173.7	185.2	214.8	234.7	248.5	90.3	56.907	-	-	-	-
		S.D.	8.1	10.9	12.4	19.1	21.7	23.7	17.1	8.636	-	-	-	-
300 mg/kg	6	Mean	153.5	168.5	179.8	201.3	220.7	237.3	83.8	54.117	-	-	-	-
		S.D.	12.8	15.6	20.9	25.6	32.5	31.9	20.1	9.640	-	-	-	-
1000 mg/kg	12	Mean	154.3	170.8	182.3	205.9	228.5	245.8	91.5	59.213	(6)	(6)	(6)	(6)
		S.D.	6.3	8.0	9.1	10.6	12.6	19.9	16.6	9.989	15.6	17.7	5.2	2.173

Values in parentheses are number of animals.

Recovery day 0 is administration day 28.

- : Blank.

Table 15 Food consumption of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Food consumption (g/rat/day)							
		Administration period (day)						Recovery period (day)	
		1	4	7	14	21	28	7	14
0 mg/kg	12	Mean	21.25	22.69	23.67	25.95	27.74	28.52	27.23 (6) (6)
		S.D.	1.36	1.60	2.02	2.18	2.66	2.61	2.57 2.37
100 mg/kg	6	Mean	20.67	23.12	23.78	26.32	27.62	27.47	- -
		S.D.	1.37	1.43	1.93	1.73	2.45	2.65	- -
300 mg/kg	6	Mean	21.83	23.55	24.43	25.95	26.55	26.72	- -
		S.D.	2.14	2.15	2.16	2.55	2.40	1.97	- -
1000 mg/kg	12	Mean	20.92	22.50	23.73	25.66	26.77	26.43	27.22 (6) (6)
		S.D.	1.56	1.08	1.58	1.77	1.89	2.38	2.95 2.85

Values in parentheses are number of animals.

- : Blank.

Table 16 Food consumption of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Food consumption (g/rat/day)							
		Administration period (day)						Recovery period (day)	
		1	4	7	14	21	28	7	14
0 mg/kg	12	Mean	17.08	17.69	17.92	18.18	18.24	19.24	(6) 19.73
		S.D.	2.19	1.16	1.08	1.22	1.49	1.54	(6) 19.62 1.60
100 mg/kg	6	Mean	20.50*	18.95	19.60	20.87**	20.17	20.57	-
		S.D.	2.17	1.55	1.44	2.09	1.77	1.93	-
300 mg/kg	6	Mean	18.50	18.05	18.50	18.87	18.80	20.02	-
		S.D.	3.27	2.13	2.88	2.75	2.85	2.84	-
1000 mg/kg	12	Mean	18.33	18.41	18.83	19.43	19.94	20.74	(6) 20.33
		S.D.	1.83	1.15	0.90	1.19	1.50	2.51	(6) 20.65 1.48
									2.20

Values in parentheses are number of animals.

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

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

- : Blank.

Table 17 Urinary findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	pH		Protein				Glucose	Ketone body	Urobili- nogen 0.1 EU/dL	Bili- rubin -	Occult blood	
		8.0	8.5	-	±	1+	2+					-	±
0 mg/kg	12	0	12	0	3	8	1	12	12	12	12	10	2
100 mg/kg	6	2	4	0	2	4	0	6	6	6	6	6	0
300 mg/kg	6	1	5	1	2	3	0	6	6	6	6	6	0
1000 mg/kg	12	2	10	1	4	7	0	12	12	12	12	11	1

Group	Number of animals	Color A	Specific gravity			Urine volume (mL/24hr, mean±S.D.)
			1.021- 1.030	1.031- 1.040	1.041- 1.050	
0 mg/kg	12	12	3	2	7	18.04 ± 7.34
100 mg/kg	6	6	0	4	2	16.17 ± 1.86
300 mg/kg	6	6	0	3	3	15.33 ± 3.92
1000 mg/kg	12	12	0	7	5	15.17 ± 3.90

Values are number of animals with findings.

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

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 18 Urinary findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	pH			Protein				Glucose	Ketone body	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bili-rubin -	Occult blood	
		7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+					-	-
0 mg/kg	12	1	2	9	5	6	1	0	12	12	12	12	10	2
100 mg/kg	6	0	2	4	3	2	0	1	6	6	6	6	6	0
300 mg/kg	6	0	2	4	0	3	3	0	6	6	6	6	5	1
1000 mg/kg	12	1	3	8	2	8	1	1	12	12	12	12	11	1

Group	Number of animals	Color A	Specific gravity					Urine volume (mL/24hr, mean±S.D.)		
			1.011-1.021-	1.031-1.041-	1.050<	1.020	1.030	1.040	1.050	
0 mg/kg	12	12	1	1	3	6	1			10.88 ± 4.73
100 mg/kg	6	6	0	1	4	0	1			14.25 ± 6.48
300 mg/kg	6	6	0	0	2	3	1			10.83 ± 3.64
1000 mg/kg	12	12	0	3	5	4	0			13.83 ± 4.38

Values are number of animals with findings.

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

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 19 Urinary findings of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	pH		Protein				Glucose	Ketone body	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bili-rubin -	Occult blood			
		8.0	8.5	-	±	1+	2+					-	±		
0 mg/kg	6	3	3	0	0	4	2	6	6	6	6	6	0		
1000 mg/kg	6	1	5	0	0	3	3	6	6	6	6	5	1		
Group	Number of animals	Color	Specific gravity				Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)								
			A	1.011-1.020	1.021-1.030	1.031-1.040	1.041-1.050	1.050<							
0 mg/kg	6	6	1	1	1	1	2		24.42 ± 16.52						
1000 mg/kg	6	6	0	0	1	4	1		13.50 ± 5.59						

Values are number of animals with findings.

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

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 20 Urinary findings of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	pH					Protein				Glucose	Ketone body	Urobilinogen 0.1 EU/dL	Bili-rubin	Occult blood
		6.0	6.5	7.0	8.0	8.5	-	±	1+	2+					
0 mg/kg	6	2	0	1	2	1	0	4	2	0	6	6	6	6	6
1000 mg/kg	6	0	1	0	1	4	1	2	2	1	6	6	6	6	6

Group	Number of animals	Color	Specific gravity			Urine volume (mL/21hr, mean±S.D.)
			1.021- 1.030	1.031- 1.040	1.041- 1.050< 1.050	
0 mg/kg	6	6	1	2	2	9.67 ± 4.68
1000 mg/kg	6	6	1	1	2	12.08 ± 6.59

Values are number of animals with findings.

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

Color : A; Pale yellow or yellow.

Table 21 Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	RBC $10^4/\mu\text{L}$	HCT %	HGB g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC $10^2/\mu\text{L}$	Platelet $10^4/\mu\text{L}$	
0 mg/kg	6	Mean	830.5	46.50	16.02	56.10	19.32	34.48	107.97	124.77
		S.D.	34.1	1.33	0.25	3.44	0.78	0.73	15.86	20.97
100 mg/kg	6	Mean	842.3	46.97	16.28	55.80	19.35	34.68	107.60	124.32
		S.D.	28.2	1.24	0.40	2.02	0.67	0.53	21.85	7.77
300 mg/kg	6	Mean	852.7	47.63	16.55	55.88	19.42	34.73	116.20	130.38
		S.D.	29.8	1.62	0.58	1.77	0.40	0.53	25.35	17.19
1000 mg/kg	6	Mean	848.8	47.52	16.73*	55.98	19.72	35.23	116.45	131.88
		S.D.	15.1	1.45	0.51	1.24	0.40	0.33	27.19	8.68

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

(to be continued)

Table 21 Hematological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) (continued)

Group	Number of animals	Reticulo- cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu\text{L}$)				
					Neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte
0 mg/kg	6	Mean	4.493	17.73	25.63	15.23	0.97	0.03	2.52
		S.D.	0.698	0.90	1.42	5.24	0.37	0.05	0.59
100 mg/kg	6	Mean	3.785	18.82	25.65	15.38	1.27	0.07	3.13
		S.D.	0.647	1.77	1.35	5.83	0.59	0.05	0.74
300 mg/kg	6	Mean	4.108	20.85	27.25	13.95	0.93	0.02	2.53
		S.D.	0.449	3.89	1.09	2.74	0.31	0.04	1.04
1000 mg/kg	6	Mean	3.758	19.78	26.53	14.85	1.12	0.05	2.22
		S.D.	0.583	1.37	1.85	8.70	0.46	0.05	0.78

Table 22 Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	RBC $10^4/\mu\text{L}$	HCT %	HGB g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC $10^2/\mu\text{L}$	Platelet $10^4/\mu\text{L}$
0 mg/kg	6	Mean 826.5	45.05	16.10	54.50	19.48	35.73	77.63	115.22
		S.D. 20.5	1.71	0.64	1.45	0.52	0.48	26.39	10.11
100 mg/kg	6	Mean 831.3	45.50	16.15	54.70	19.42	35.50	72.53	122.40
		S.D. 21.0	2.32	0.69	1.68	0.41	0.46	19.45	11.54
300 mg/kg	6	Mean 824.3	44.08	15.75	53.50	19.12	35.75	73.62	117.83
		S.D. 35.8	1.79	0.56	1.70	0.53	0.54	23.87	8.89
1000 mg/kg	6	Mean 830.5	44.82	15.97	54.00	19.23	35.62	80.00	116.55
		S.D. 35.7	1.18	0.56	1.38	0.31	0.44	26.97	20.42

(to be continued)

Table 22 Hematological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) (continued)

Group	Number of animals	Reticulo- cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu\text{L}$)					
					Neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte	
0 mg/kg	6	Mean	3.070	17.33	20.52	9.37	1.08	0.00	1.62	65.57
		S.D.	0.772	0.56	0.98	1.28	0.41	0.00	0.63	26.36
100 mg/kg	6	Mean	2.895	17.62	20.02	8.45	1.15	0.03	1.50	61.40
		S.D.	0.557	0.44	0.65	2.37	0.54	0.05	0.65	18.87
300 mg/kg	6	Mean	3.327	16.87	20.15	11.48	1.30	0.00	1.42	59.42
		S.D.	0.366	0.55	0.81	5.68	0.64	0.00	0.66	22.08
1000 mg/kg	6	Mean	3.050	16.88	19.10*	12.62	1.53	0.00	1.65	64.20
		S.D.	0.819	0.58	0.94	7.47	0.61	0.00	0.90	19.27

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

Table 23 Hematological findings of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	RBC $10^4/\mu\text{L}$	HCT %	HGB g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC $10^2/\mu\text{L}$	Platelet $10^4/\mu\text{L}$
0 mg/kg	6	Mean	906.8	46.27	16.68	51.02	18.40	36.07	105.43
		S.D.	17.1	1.47	0.68	0.93	0.53	0.57	22.01
1000 mg/kg	6	Mean	910.8	45.88	16.48	50.42	18.10	35.90	134.00
		S.D.	33.3	0.52	0.32	1.73	0.42	0.55	45.10

Group	Number of animals	Reticulo- cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu\text{L}$)				
					Neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte
0 mg/kg	6	Mean	3.330	18.98	26.62	12.03	1.08	0.00	3.38
		S.D.	0.730	1.77	2.28	3.60	0.58	0.00	1.45
1000 mg/kg	6	Mean	3.345	19.75	26.92	13.30	1.78	0.07	4.12
		S.D.	0.464	2.06	1.82	3.40	0.65	0.05	0.95

Table 24 Hematological findings of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	RBC $10^4/\mu\text{L}$	HCT %	HGB g/dL	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	WBC $10^2/\mu\text{L}$	Platelet $10^4/\mu\text{L}$
0 mg/kg	6	Mean	856.3	44.12	15.82	51.58	18.50	35.82	91.07
		S.D.	41.6	1.24	0.68	2.05	0.41	0.83	119.03
1000 mg/kg	6	Mean	852.5	43.92	15.90	51.55	18.65	36.23	85.93
		S.D.	26.1	1.37	0.49	1.55	0.41	0.63	124.27
								35.60	19.87

Group	Number of animals	Reticulo- cyte %	PT sec	APTT sec	Differential count of WBC ($10^2/\mu\text{L}$)				
					Neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lympho- cyte
0 mg/kg	6	Mean	3.402	17.68	19.55	9.77	1.68	0.02	2.50
		S.D.	1.069	0.44	1.56	5.57	1.14	0.04	1.37
1000 mg/kg	6	Mean	3.022	17.60	18.92	10.62	0.97	0.02	2.37
		S.D.	0.593	0.74	1.39	4.48	0.23	0.04	0.67
								71.97	36.76

Table 25 Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Protein fraction (%)										AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL		
		TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Globulin				α_1	α_2	β	γ						
					Albumin	α_1	α_2	β										
0 mg/kg	6	Mean	5.45	2.878	1.125	52.83	20.25	7.52	15.65	3.75	66.3	26.0	631.3	0.38	0.052			
		S.D.	0.29	0.171	0.110	2.39	2.97	0.75	0.72	0.57	7.8	3.6	199.3	0.17	0.013			
100 mg/kg	6	Mean	5.47	2.910	1.142	53.32	21.43	6.93	14.67	3.65	76.8	27.0	647.8	0.50	0.050			
		S.D.	0.19	0.133	0.057	1.21	2.38	0.58	0.69	0.87	13.2	4.1	190.5	0.14	0.009			
300 mg/kg	6	Mean	5.52	2.918	1.127	52.98	21.10	7.15	15.53	3.23	64.7	22.2	704.3	0.50	0.050			
		S.D.	0.12	0.092	0.072	1.57	2.10	0.77	0.56	0.58	5.4	2.1	193.8	0.11	0.019			
1000 mg/kg	6	Mean	5.65	2.962	1.107	52.48	22.02	6.97	14.63	3.90	66.2	25.8	677.7	0.45	0.043			
		S.D.	0.16	0.094	0.036	0.74	1.05	0.29	0.90	0.92	6.9	3.9	121.3	0.14	0.014			

(to be continued)

Table 25 Biochemical findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) (continued)

Group	Number of animals											
		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL	
0 mg/kg	6	Mean	166.7	50.8	49.7	11.87	0.497	144.0	4.882	106.2	9.82	8.48
		S.D.	16.6	4.2	15.0	1.95	0.058	1.5	0.164	0.8	0.21	0.43
100 mg/kg	6	Mean	159.0	50.5	40.0	12.97	0.502	144.3	4.907	106.7	9.65	8.37
		S.D.	19.5	4.5	15.7	1.09	0.019	0.5	0.327	1.0	0.14	0.56
300 mg/kg	6	Mean	161.0	48.0	45.8	12.55	0.503	144.3	4.937	107.3	9.75	8.07
		S.D.	11.9	7.0	10.4	1.31	0.041	0.5	0.156	1.2	0.30	0.64
1000 mg/kg	6	Mean	161.3	56.0	48.0	13.57	0.503	144.2	4.950	106.7	9.83	8.25
		S.D.	13.8	11.0	12.1	2.03	0.047	1.2	0.417	1.0	0.26	0.73

Table 26 Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%)					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL					
					Albumin	Globulin													
						α_1	α_2	β	γ										
0 mg/kg	6	Mean	5.82	3.267	1.280	56.12	18.47	7.18	14.02	4.22	153.2	33.2	423.3	0.63	0.065				
		S.D.	0.18	0.136	0.068	1.32	1.66	0.53	0.86	0.80	78.2	8.2	129.5	0.23	0.021				
100 mg/kg	6	Mean	6.00	3.338	1.255	55.63	19.22	7.10	14.37	3.68	75.0	25.7	323.7	0.50	0.062				
		S.D.	0.25	0.199	0.064	1.26	1.48	0.72	0.94	0.40	12.1	2.8	75.1	0.21	0.019				
300 mg/kg	6	Mean	6.15	3.477	1.308	56.53	18.52	6.75	14.27	3.93	82.5	25.2	341.5	0.70	0.063				
		S.D.	0.35	0.238	0.105	2.06	2.03	0.39	0.74	0.58	41.3	6.4	117.9	0.21	0.010				
1000 mg/kg	6	Mean	5.77	3.238	1.287	56.15	16.87	7.40	15.52*	4.07	88.0	24.5	447.8	0.70	0.073				
		S.D.	0.21	0.177	0.114	2.21	2.77	0.88	1.02	0.63	54.1	6.2	110.7	0.24	0.018				

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

(to be continued)

Table 26 Biochemical findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206) (continued)

Group	Number of animals											
		Glucose mg/dL	T-Cho mg/dL	TG mg/dL	UN mg/dL	Crea mg/dL	Na mEq/L	K mEq/L	Cl mEq/L	Ca mg/dL	IP mg/dL	
0 mg/kg	6	Mean	127.3	59.8	10.3	14.50	0.562	141.3	4.462	106.3	9.58	6.23
		S.D.	10.2	5.4	1.6	1.91	0.038	1.4	0.247	1.5	0.15	0.39
100 mg/kg	6	Mean	131.2	59.2	14.2	14.52	0.530	140.2	4.697	105.2	9.77	6.60
		S.D.	11.3	14.4	8.8	2.91	0.024	1.2	0.234	1.7	0.28	0.67
300 mg/kg	6	Mean	134.0	65.8	9.2	15.17	0.570	140.7	4.348	105.3	9.65	6.63
		S.D.	14.8	10.4	2.2	0.82	0.058	1.2	0.201	1.5	0.30	0.56
1000 mg/kg	6	Mean	130.0	72.0	11.3	15.40	0.537	141.2	4.453	105.8	9.62	6.80
		S.D.	11.4	7.0	2.7	2.33	0.036	0.8	0.206	0.8	0.25	0.41

Table 27 Biochemical findings of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%)					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL					
					Albumin	Globulin													
						α_1	α_2	β	γ										
0 mg/kg	6	Mean	5.70	2.905	1.047	51.05	22.67	7.20	15.25	3.83	70.7	30.3	627.8	0.37	0.072				
		S.D.	0.21	0.121	0.081	1.91	1.92	0.33	0.67	0.73	7.2	4.1	99.9	0.19	0.008				
1000 mg/kg	6	Mean	5.72	2.955	1.080	51.75	22.80	7.20	15.00	3.25	63.8	27.0	571.8	0.32	0.087				
		S.D.	0.17	0.158	0.129	2.93	2.00	0.28	1.36	0.29	6.3	3.8	145.3	0.12	0.023				

Group	Number of animals	Glucose	T-Chol	TG	UN	Crea	Na	K	Cl	Ca	IP	
		mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mEq/L	mEq/L	mEq/L	mg/dL	mg/dL	
0 mg/kg	6	Mean	187.5	49.3	56.3	14.90	0.565	141.3	4.920	105.0	9.28	7.38
		S.D.	16.5	5.9	17.2	1.76	0.028	2.0	0.138	2.0	0.28	0.37
1000 mg/kg	6	Mean	166.7*	50.3	55.7	14.10	0.553	142.3	4.792	106.2	9.37	7.25
		S.D.	14.4	11.3	15.5	1.30	0.024	1.5	0.369	1.7	0.08	0.23

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

Table 28 Biochemical findings of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G ratio	Protein fraction (%)					AST IU/L	ALT IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	T-Bil mg/dL					
					Albumin	Globulin													
						α_1	α_2	β	γ										
0 mg/kg	6	Mean	6.15	3.467	1.290	56.25	18.00	6.25	14.60	4.90	64.0	26.3	276.8	0.80	0.117				
		S.D.	0.40	0.340	0.110	2.15	1.93	0.50	1.26	1.00	10.3	3.3	77.7	0.20	0.027				
1000 mg/kg	6	Mean	6.12	3.423	1.272	55.88	18.23	6.35	14.87	4.67	64.3	27.7	257.5	0.77	0.108				
		S.D.	0.44	0.379	0.156	2.99	1.16	0.63	1.71	0.61	5.6	4.6	44.0	0.24	0.034				

Group	Number of animals	Glucose	T-Chol	TG	UN	Crea	Na	K	Cl	Ca	IP	
		mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mEq/L	mEq/L	mEq/L	mg/dL	mg/dL	
0 mg/kg	6	Mean	153.7	62.3	17.7	15.90	0.620	142.5	4.467	107.3	9.47	5.37
		S.D.	21.8	18.0	11.4	1.57	0.041	1.0	0.194	1.6	0.43	0.63
1000 mg/kg	6	Mean	141.2	61.8	17.5	16.07	0.612	142.5	4.498	106.7	9.43	5.53
		S.D.	16.8	11.4	9.0	3.41	0.057	1.0	0.308	1.4	0.30	0.83

Table 29 Gross findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Dose (mg/kg)	Group	Control	End of administration			Control	End of recovery	
			0	100	300	1000	0	3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings		6	6	5	6	5	6	6
Organ : Findings								
Ileum : Diverticulum		0	0	1	0	0	0	0
Testis : Atrophy, unilateral		0	0	0	0	1	0	0
Epididymis : Atrophy, unilateral		0	0	0	0	1	0	0

Values are expressed as the number of animals.

Table 30 Gross findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Dose (mg/kg)	Group	Control	End of administration			Control	End of recovery	
			0	100	300	1000	0	3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings		6	6	5	6	6	6	6
Organ : Findings								
Uterine horn : Cyst, unilateral		0	0	1	0	0	0	0

Values are expressed as the number of animals.

Table 31 Absolute and relative organ weights of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland			
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %		
0 mg/kg	6	Mean	374.2	11.618	3.107	2.792	0.747	0.810	0.215	1.273	0.342	2.118	0.568	11.17	2.980	
		S.D.	26.1	0.850	0.100	0.275	0.048	0.138	0.032	0.179	0.044	0.053	0.042	1.60	0.316	
100 mg/kg	6	Mean	356.7	10.242	2.875++	2.780	0.780	0.687	0.192	1.260	0.353	2.177	0.613	10.52	2.940	
		S.D.	26.5	0.599	0.078	0.259	0.046	0.111	0.024	0.128	0.027	0.084	0.048	1.74	0.327	
300 mg/kg	6	Mean	349.8	10.820	3.087	2.727	0.778	0.682	0.195	1.265	0.360	2.090	0.602	10.30	2.945	
		S.D.	25.6	1.289	0.182	0.349	0.069	0.129	0.034	0.165	0.030	0.087	0.041	1.15	0.246	
1000 mg/kg	6	Mean	346.0	10.363	2.987	2.575	0.743	0.685	0.195	1.153	0.333	2.122	0.617	9.65	2.793	
		S.D.	21.8	1.445	0.275	0.355	0.067	0.090	0.018	0.126	0.027	0.012	0.043	1.00	0.254	
Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Testis		Epididymis		Prostate		Seminal vesicle		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	g	%	
0 mg/kg	6	Mean	680.3	182.632	21.15	5.627	59.2	15.750	3.112	0.835	0.770	0.208	418.0	112.675	1.278	0.342
		S.D.	143.8	40.512	4.15	0.889	10.2	1.996	0.283	0.064	0.050	0.016	50.0	20.417	0.403	0.111
100 mg/kg	6	Mean	577.7	161.838	17.40	4.888	57.0	15.932	3.230	0.907	0.850*	0.240**	460.2	128.585	1.428	0.402
		S.D.	119.2	30.844	2.58	0.715	8.6	1.733	0.137	0.048	0.036	0.014	101.4	22.467	0.172	0.045
300 mg/kg	6	Mean	564.3	160.943	19.67	5.578	56.3	16.072	3.018	0.867	0.762	0.217	396.5	113.022	1.430	0.408
		S.D.	92.5	20.546	5.26	1.232	12.1	3.066	0.185	0.059	0.057	0.015	75.9	17.851	0.170	0.047
1000 mg/kg	6	Mean	552.0	159.175	17.63	5.125	58.5	16.868	3.122	0.907	0.750	0.218	384.3	109.950	1.153	0.332
		S.D.	81.7	17.835	2.72	0.916	12.9	3.321	0.164	0.098	0.068	0.015	99.2	23.646	0.153	0.031

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at p≤0.05 (Dunnett's test).

** : Significantly different from the 0 mg/kg group at p≤0.01 (Dunnett's test).

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

Table 32 Absolute and relative organ weights of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	6	Mean	210.3	6.107	2.905	1.617	0.772	0.470	0.225	0.765	0.363	1.947	0.930	12.00	5.738
		S.D.	14.0	0.427	0.090	0.107	0.056	0.044	0.027	0.047	0.037	0.034	0.064	1.66	0.948
100 mg/kg	6	Mean	232.7	7.040	3.023	1.825	0.785	0.470	0.203	0.850	0.365	1.908	0.827	12.60	5.452
		S.D.	20.8	0.732	0.117	0.164	0.054	0.054	0.023	0.129	0.033	0.050	0.082	1.49	0.830
300 mg/kg	6	Mean	222.5	6.813	3.053	1.715	0.775	0.432	0.193	0.857	0.388	1.857	0.847	12.22	5.577
		S.D.	31.3	1.297	0.215	0.217	0.057	0.106	0.033	0.108	0.016	0.054	0.126	2.36	1.306
1000 mg/kg	6	Mean	232.3	6.968	2.998	1.860	0.800	0.518	0.223	0.820	0.353	1.935	0.837	13.52	5.812
		S.D.	23.2	0.740	0.091	0.184	0.024	0.060	0.026	0.055	0.029	0.120	0.046	3.33	1.355

Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Ovary		Uterus		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	
0 mg/kg	6	Mean	414.5	197.355	15.13	7.258	68.8	32.777	99.8	47.417	0.540	0.258
		S.D.	89.7	40.924	3.20	1.916	5.2	2.291	12.1	4.061	0.204	0.097
100 mg/kg	6	Mean	484.2	207.175	12.87	5.598	71.2	30.395	108.5	47.100	0.383	0.168
		S.D.	86.5	20.780	1.39	0.982	15.9	4.844	8.0	6.818	0.052	0.024
300 mg/kg	6	Mean	456.7	204.827	14.65	6.632	73.2	32.518	91.5	41.155	0.475	0.218
		S.D.	97.4	29.811	3.07	1.331	19.2	4.906	15.3	3.467	0.131	0.070
1000 mg/kg	6	Mean	543.7	234.677	15.08	6.575	68.8	29.877	95.5	41.247	0.425	0.185
		S.D.	116.7	48.650	2.33	1.448	9.8	5.267	9.3	3.820	0.071	0.035

Table 33 Absolute and relative organ weights of male rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	6	Mean	415.7	11.752	2.817	2.853	0.685	0.640	0.155	1.333	0.320	2.100	0.507	11.30	2.717
		S.D.	38.9	1.667	0.170	0.422	0.054	0.093	0.023	0.157	0.022	0.109	0.054	1.60	0.272
1000 mg/kg	6	Mean	411.0	11.415	2.755	2.823	0.688	0.715	0.172	1.388	0.340	2.147	0.527	11.15	2.717
		S.D.	47.6	2.331	0.284	0.341	0.055	0.129	0.019	0.150	0.035	0.114	0.061	1.54	0.272

Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Testis		Epididymis		Prostate		Seminal vesicle		
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	g	%	
0 mg/kg	6	Mean	504.5	121.367	22.22	5.332	62.7	15.208	3.170	0.763	1.033	0.248	514.7	123.497	1.377	0.332
		S.D.	62.7	9.865	4.10	0.694	6.6	2.300	0.400	0.064	0.127	0.018	103.9	20.354	0.292	0.071
1000 mg/kg	6	Mean	631.0	151.785+	20.22	4.948	52.5	12.753*	3.177	0.782	1.087	0.265	463.2	113.597	1.548	0.385
		S.D.	194.4	34.056	3.39	0.813	9.3	1.346	0.197	0.090	0.123	0.030	79.9	23.153	0.215	0.090

* : Significantly different from the 0 mg/kg group at p≤0.05 (Dunnett's test).

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

Table 34 Absolute and relative organ weights of female rats in 14-day recovery study following 28-day repeated oral dose of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Group	Number of animals	Body weight g	Liver		Kidney		Spleen		Heart		Brain		Pituitary gland		
			g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	mg	10 ⁻³ %	
0 mg/kg	6	Mean	254.8	7.098	2.792	1.877	0.738	0.523	0.205	0.908	0.355	1.978	0.782	14.00	5.537
		S.D.	18.1	0.540	0.206	0.153	0.057	0.105	0.036	0.083	0.015	0.066	0.080	1.17	0.824
1000 mg/kg	6	Mean	258.7	7.088	2.735	1.892	0.732	0.512	0.197	0.908	0.352	1.970	0.765	13.00	5.052
		S.D.	17.9	0.936	0.244	0.256	0.082	0.049	0.021	0.076	0.031	0.073	0.054	1.47	0.760

Group	Number of animals	Thymus		Thyroid		Adrenal		Ovary		Uterus		mg	10 ⁻³ %
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%		
0 mg/kg	6	Mean	434.7	170.023	16.02	6.297	79.3	31.253	104.2	40.992	0.655	0.262	
		S.D.	74.1	21.343	1.29	0.440	7.1	3.378	10.6	4.644	0.217	0.099	
1000 mg/kg	6	Mean	402.5	156.068	15.98	6.217	79.0	30.517	96.8	37.478	0.575	0.228	
		S.D.	51.8	21.169	2.24	1.127	14.1	4.596	10.0	3.322	0.291	0.132	

Table 35 Histopathological findings of male rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Item	Group	End of administration				End of recovery	
		0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		6	0	1	6	6	6
Organ: Findings	Grade						
Ileum: Diverticulum	+	0	-	1	0	0	0
Liver: Microgranuloma	+	3	-	-	3	3	5
Kidney: Regeneration, tubular epithelium	+	1	-	-	3	2	2
Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	+	0	-	-	2	1	1
Testis: Atrophy, seminiferous tubule	+	0	-	-	0	1	0
Epididymis: Decrease, spermatozoa	+	0	-	-	0	1	0
Prostate: Cellular infiltration, inflammatory cell	+	1	-	-	0	2	1

Values are number of animals with findings.

-: Blank.

Grade; +: slight change.

Table 36 Histopathological findings of female rats in 28-day repeated dose oral toxicity study and 14-day recovery study of 3,4,5,6-Tetrachlorophthalimide (SR08206)

Item	Group	End of administration				End of recovery	
		0 mg/kg	100 mg/kg	300 mg/kg	1000 mg/kg	0 mg/kg	1000 mg/kg
Number of animals examined		6	0	1	6	6	6
Organ: Findings	Grade						
Lung: Metaplasia, osseous, alveoli	+	0	-	-	1	0	0
Liver: Microgranuloma	+	3	-	-	2	3	4
Fatty change, periportal	+	0	-	-	1	0	0
Kidney: Regeneration, tubular epithelium	+	1	-	-	0	0	0
Uterus: Cyst	+	0	-	1	0	0	0

Values are number of animals with findings.

-: Blank.

Grade; +: slight change.