

2,2,6,6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンのラットを用いる急性経口毒性試験

試験番号：3230（115-078）

財 団 法 人
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

目 次

1. 要 約	6頁
2. 試 験 題 目	7
3. 試 験 目 的	7
4. 試 験 番 号	7
9. 被 験 物 質	9
10. 試 験 材 料 お よ び 方 法	11
11. 試 験 結 果	14
12. 考 察 お よ び 結 論	16
Tables and Reference data	18
Table 1 Mortality	19
Table 2 Clinical observation	20
Table 3 Body weight	32
Table 4 Gross finding	38

1. 要 約 :

1 群につき雌雄各 5 匹のCrj:CD(SD)ラットを用いて2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの急性経口毒性試験を実施した。

2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンは注射用蒸留水に溶解し、雌雄ともに 592, 769, 1000, 1300, 1690 および 2197 mg/kgを単回強制経口投与した。

観察期間は14日間とし、生死、中毒症状およびその発現時期、体重推移について観察し、病理学的検査を実施した。その結果は次の通り要約される。

1) 死亡率およびLD₅₀値

死亡動物は、雌雄とも 1300 mg/kg以上の用量群で投与後 3 時間以降13日までみられ、その多くが投与翌日に認められた。LD₅₀値 (95%信頼限界) は雄で 1482 (1239~1774) mg/kg, 雌で 1564 (1326~1842) mg/kgであった。

2) 一般状態

雌雄とも全ての用量群で自発運動低下、散瞳および眼瞼下垂がみられ、1300 mg/kg以上の用量群で腹臥位、体温低下、振戦が認められた。さらに雄の 1300 mg/kg群で削瘦、腹部膨満および耳介等の蒼白、1690 mg/kg群で立毛、雌の 1690 mg/kg群で腹部膨満、耳介等の蒼白および脱毛が観察された。

全ての用量群でみられた自発運動低下、散瞳および眼瞼下垂の多くは投与日にみられ投与翌日には回復していた。また、2197 mg/kg群の雌雄でみられた散瞳の程度は重度で他の用量群に比較して強いものであった。

3) 体 重

投与後 7 日の測定で 1690 mg/kg群の生存動物は雌雄とも前回の測定値に比較して減少したが、その他の用量群においては雌雄とも投与後 7 および14日の測定で前回の測定値に比較して増加していた。

4) 病理学的検査

剖検では雌雄の死亡動物において腺胃のび慢性出血、十二指腸の赤色斑点が多数認められた。死亡動物の雌雄各 1 例および計画解剖動物の雌 1 例について組織学的検査を行った結果、腺胃に出血、壊死および空胞変性、十二指腸に浮腫、出血、壊死および空胞変性が観察されたことから消化管出血が死因と考えられた。

2. 試験題目 : 2,2,6,6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンのラットを用いる急性経口毒性試験
3. 試験目的 : 2,2,6,6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの安全性を評価するため、OECDテストガイドライン401（1987年2月24日）に従って、ラットを用いる急性毒性試験を実施した。
なお、試験の実施は環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号（昭和63年11月18日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」およびOECDのGLP（1982年）の基準を満たすものとした。
4. 試験番号 : 3 2 3 0 (115-078)

9. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジン
- 2) CAS No. 2 4 0 3 - 8 8 - 5
- 3) ロット番号
- 4) 純 度 99.8 wt% 不純物 TAA 0.1 % 以下
4AP 0.02%
TTPH 0.04%
- 5) 提 供 先
- 6) 保 管 条 件 室温, 遮光下で密栓して保管した.
- 7) 保 管 場 所 安評センター被験物質保管庫
- 8) 別 名 T A A M
- 9) 化学構造
-
- 10) 分 子 式 $C_9H_{19}NO$
- 11) 分 子 量 157.25
- 12) 物質の状態 顆粒
- 13) 色 白色
- 14) 融 点 $129^{\circ}C$
- 15) 溶 解 性 水に15~16%可溶, アセトンに易溶.

- 16) 取り扱い上の注意 取り扱い中は必要に応じて適切な保護眼鏡，保護手袋，有機ガス用マスクを着用した。取り扱い後は手洗いおよびうがいを充分行った。火気厳禁（粉塵爆発下限 20 mg/l）
- 17) 被験物質保管および
残余被験物質の処理 投与終了後，約 2 gを安評センターに保管し，残りは製造元に返却した。

なお，実測した結果は『Reference data 1』に示した。

10. 試験材料および方法：

1) 供試動物

供試した Crj:CD(SD)ラット[SPF]は日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市）から5週齢で雌雄各35匹購入した。

動物は検収後、試験環境に馴化し、7週齢で投与した。

動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした。

動物の識別は、ピクリン酸エチルアルコール飽和溶液によるマーキング法を用いて行った。

投与時の体重は、雄で177～195 g、雌で139～153 gであった。

2) 試験系の選択理由

感染症疾患に対する抵抗性、遺伝的安定性等を考慮して選んだ。

3) 飼 育

動物は飼育室（W 3.6×D 10.0×H 2.5 m, 90 m³）で飼育し、環境調節の目標値は温度23±2℃、相対湿度55±10%、換気回数1時間20回、照明12時間（150～300 lux、午前7時点灯、午後7時消灯）とした。なお、動物飼育期間中の温室度の実測値は22.4～23.2℃および51～61%であり、動物の馴化期間を含め観察期間中データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

株式会社 東京技研サービス（東京都府中市）製の水洗式飼育機（W 745.0×D 50.0×H 182.0 cm）を使用し、ステンレス製網目飼育ケージ（W 21.5×D 27.5×H 19.5 cm、飼育ケージ・スペース 11529 cm³）に動物を5匹ずつ収容した。

飼育ケージおよび給餌器は週1回取り換えた。

飼料はオリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区）製造の固型飼料MF（ロット番号：961105および961205）を使用し、飼育期間中、自由に摂取させた。使用した飼料の夾雑物の分析を、オリエンタル酵母工業株式会社が、財団法人 日本食品分析センター（東京都渋谷区）に依頼し実施した。その結果を『Reference data 2』に示した。

また、動物には水道水を自動給水ノズルから自由に摂取させた。水道法に基づく水道水の分析を株式会社 エコプロ・リサーチ（静岡県清水市）に依頼し、実施した。その分析結果を『Reference data 3』に示した。

4) 試験群の構成

試験群の構成は、次表に示した。

性	試験群	用 量 (mg/kg)	動物数	動物番号
雄	1	592	5	1101~1105
	2	769	5	1201~1205
	3	1000	5	1301~1305
	4	1300	5	1401~1405
	5	1690	5	1501~1505
	6	2197	5	1601~1605
雌	7	592	5	2101~2105
	8	769	5	2201~2205
	9	1000	5	2301~2305
	10	1300	5	2401~2405
	11	1690	5	2501~2505
	12	2197	5	2601~2605

[用量設定理由]

雌雄各3匹のラットに500, 1000 および 2000 mg/kgの被験物質を投与した予備試験の結果、2000 mg/kg群で雌雄全例、1000 mg/kg群の雌で3例中1例に死亡が認められた。1000 mg/kg群の雄および500 mg/kg群の雌雄には死亡例が認められなかった。また、中毒症状として自発運動低下、眼瞼下垂、散瞳、体温低下が雌雄とも全投与群で観察された。

以上の結果を参考として、本試験では雌雄とも1000 mg/kgを中心に公比約1.3で592, 769, 1000, 1300 および 1690 mg/kgの5用量を設定したが、1690 mg/kgの雌雄で生存動物が認められたため、雌雄とも2197 mg/kgを追加投与し6用量とした。

5) 投与方法

投与経路はOECDガイドライン「急性経口」で指示されている強制経口投与経路とした。投与容量は体重100 gあたり2 mlとし、個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出した。

投与回数は1回とし、投与前16時間絶食させた動物に金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。

給餌は、被験物質投与後3時間に行った。

6) 投与液の調製

被験物質を注射用蒸留水（株式会社 大塚製薬工場，徳島県鳴門市，ロット番号 6B77N）に溶解した。

7) 投与液の分析

すべての投与液について適切に混合と処方がされていることを確認するため，投与液の一部（5 ml）を分取し，冷蔵下にて株式会社 帝人バイオ・ラボラトリーズに送付し，投与液中の被験物質濃度を測定した。

濃度分析の方法および結果を『Reference data 4』に示した。

8) 観 察

中毒症状および生死の観察は，投与後6時間までは1時間間隔，その後14日までは1日2回午前と午後（土，日曜日は午前のみ）実施した。観察された中毒症状は，観察所見記録用紙に記録した。

9) 体 重

体重は投与直前，投与後7および14日に測定した。

また，死亡動物については死亡発見時に測定した。

10) 病理学的検査

観察期間中の死亡例は死亡発見時に，生存個体は観察終了時にエーテル麻酔後放血安楽死させ解剖し，肉眼的病理所見を病理解剖所見記録用紙に記録した。

なお，異常の認められた器官，組織については，10%中性緩衝ホルマリン液に保存し，さらに被験物質によると思われる異常病変については代表例の病理組織学的検査を実施し，病変の種類および程度について記録した。

11) 統計解析

LD₅₀値は，投与後14日の死亡率からプロビット法で算出した。

12) 余剰動物の処分

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

11. 試験結果：

試験結果は、Table 1 に観察期間中の経日死亡状況およびLD₅₀値を、Table 2 に中毒症状およびその発現時期を示した。また、Table 3 に体重推移を、Table 4 に剖検所見を示した。

1群につき雌雄各5匹のCrj:CD(SD)ラットを用いて2,2,6,6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンの急性経口毒性試験を実施した。
その結果は次の通りである。

1) 死亡率およびLD₅₀値 (Table 1)

死亡動物は、雌雄とも1300 mg/kg以上の用量群で投与後3時間以降13日までみられ、その多くが投与翌日に認められた。592, 769, 1000, 1300, 1690 および2197 mg/kg群の死亡率は雄でそれぞれ0, 0, 0, 20, 80および100%, 雌でそれぞれ0, 0, 0, 20, 60および100%であった。LD₅₀値(95%信頼限界)は雄で1482(1239~1774) mg/kg, 雌で1564(1326~1842) mg/kgであった。

2) 一般状態 (Table 2)

雌雄とも全ての用量群で自発運動低下および散瞳が投与後1時間から、眼瞼下垂が投与後1~3時間からみられた。また、1300 mg/kg群の雄では投与後13日に死亡した1例(動物番号1404)で消瘦と耳介等の蒼白が投与後8日から、体温低下および腹部膨満が投与後10日から死亡するまで観察された。雌の1300 mg/kg群では腹臥位および振戦が観察された。1690 mg/kg群の雌雄では、腹臥位、振戦および体温低下、さらに雄では立毛が投与後7日のみに1例、雌では腹部膨満、耳介等の蒼白および脱毛が投与後7日から観察終了日まで2例(動物番号2503および2505)にみられた。2197 mg/kg群の雌雄では体温低下が投与後2~6時間に認められた。

全ての用量群でみられた自発運動低下、散瞳および眼瞼下垂の多くは投与日にみられ投与翌日には回復していた。また、2197 mg/kg群の雌雄でみられた散瞳の程度は重度で他の試験群に比較して強いものであった。

3) 体重 (Table 3)

投与後7日の測定で1690 mg/kg群の生存動物は雌雄とも前回の測定値に比較して減少したが、投与後14日の測定ではすべての動物が前回の測定値と比較して増加していた。

その他の用量群においては雌雄とも投与後7および14日の測定で前回の測定値に比較して増加していた。

4) 病理学的検査 (Table 4)

雌雄とも 592, 769 および 1000 mg/kg群の剖検所見には異常所見が認められなかった。

1300 mg/kg群では雌雄とも生存動物に異常所見はなかったが、死亡動物の雌雄各1例 (動物番号1404および2403) には胃の内腔拡大がみられた。

1690 mg/kg群の死亡動物では雌雄とも腺胃のび慢性出血、十二指腸の赤色斑点が多数みられ、さらに雌の1例 (動物番号2501) には十二指腸の局所的な出血が認められた。また、雄の生存動物および投与後7日の死亡例には胃と肝臓の局所的な癒着、胃の内腔拡大がみられ、雌の生存動物には胃と脾臓の局所的な癒着、胃の内腔拡大および腺胃の赤色斑点がみられた。

2197 mg/kg群の死亡動物には雌雄とも腺胃のび慢性出血および小腸の赤色化が認められた。

1690 mg/kg群の死亡動物で比較的死後変化の進んでいない雄1例 (動物番号1502) および雌1例 (動物番号2501) および計画解剖動物の雌1例 (動物番号2503) について胃および十二指腸の組織学的検査を行った。その結果、動物番号1502では腺胃に出血、壊死および空胞変性、前胃に空胞変性、十二指腸に浮腫、出血および空胞変性が、動物番号2501では腺胃に壊死、十二指腸に出血、壊死および空胞変性が観察された。動物番号2503では腺胃に局所的なびらんが観察され出血および再生像を伴っていた。また、前胃は角化亢進が顕著であったが、十二指腸には異常病変はなかった。

12. 考察および結論：

2, 2, 6, 6-テトラメチル-4-ヒドロキシピペリジンについてラットを用いる急性経口毒性試験を実施した。

その結果、死亡動物は投与後3時間以降13日までみられ、その多くが投与翌日に認められた。中毒症状として、雌雄とも自発運動低下、散瞳、眼瞼下垂、腹臥位、体温低下、振戦、腹部膨満および耳介等の蒼白、さらに雄で立毛および削瘦、雌で脱毛がみられた。これらのうち、自発運動低下、散瞳、眼瞼下垂および振戦は被験物質の直接的な作用、腹臥位および体温低下は死に至る過程でみられた所見と考えられた。

剖検では雌雄の1690 mg/kg以上の用量群の死亡動物において腺胃のび慢性出血、十二指腸の赤色斑点が多数認められた。1690 mg/kg群の死亡動物の雌雄各1例について組織学的検査を行った結果、腺胃に出血、壊死および空胞変性、前胃に空胞変性および十二指腸に浮腫、出血、壊死および空胞変性が観察されたことからいずれの動物も消化管出血が死因と考えられた。また、消化管出血を引き起こした原因は本被験物質が強アルカリ性物質（原液；pH 約14、投与液；pH 11.8）であることによるものと考えられた。

LD₅₀値（95%信頼限界）は雄で1482（1239～1774）mg/kg、雌で1564（1326～1842）mg/kgであった。

Tables

Table 1. Mortality

Sex	Group	Dose level (mg/kg)	Number of animals	Number of deaths on the day														Mortality (%)
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	1	592	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	769	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	1300	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	20
	5	1690	5	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	80
	6	2197	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
Female	7	592	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	769	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	1300	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
	11	1690	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60
	12	2197	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

LD₅₀ (95% probability limit)

Male: 1482 mg/kg (1239 - 1774)

Female: 1564 mg/kg (1326 - 1842)

Table 2. Clinical observation

Sex:	Male	Dose level :	592	mg/kg	Number of animals : 5																			
Signs	Hours										Days													
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
Normal	Grade ^{a)}										5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
Movement											0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	
hypoactivity											5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
General condition											SI													
mydriasis											SI	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ptosis											5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
Dead																								
Number of affected animals :		5										Number of recovered animals : 5										Mortality : 0 / 5		

a) SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex :	Male	Dose level :	769	mg/kg	Number of animals :					5													
					Hours		Days																
Signs		Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Normal			0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
Movement																							
hypoactivity		SI	5	5	5	5	5	5	5														
General condition																							
mydriasis		SI	2	2	3	3	3	3	3														
ptosis			5	5	5	5	5	5	5														
Dead																							
Number of affected animals :			5			Number of recovered animals :			5			Mortality :			0			/			5		

a) SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex :	Male	Dose level :	1000 mg/kg						Number of animals :																						
			Hours						Days																						
Signs	Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14										
Normal		0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5										
Movement																															
hypoactivity	SI	5	5	5	5	5	5																								
General condition																															
mydriasis	SI	1	1	2	2	2	2																								
ptosis		5	5	5	5	5	5																								
Dead																															
Number of affected animals :		5						Number of recovered animals :						5						Mortality :						0 / 5					

a) SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex: Male	Dose level: 1300 mg/kg	Number of animals: 5	Hours						Days												
			1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Signs																					
Grade ^{b)}																					
Normal																					
Movement																					
hypoactivity																					
SI																					
5 5 5 5 5 5																					
General condition																					
subnormal temperature																					
abdominal distention																					
mydriasis																					
SI																					
4 4 3 3 3 3																					
wasting																					
ptosis																					
pallor / auricles etc.																					
Dead																					
Number of affected animals: 5																					
Number of recovered animals: 4																					
Mortality: 1 / 5																					

a) SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex: Male	Dose level: 1690	mg/kg	Number of animals: 5																		
			Hours							Days											
Signs	Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
Movement																					
hypoactivity	SI	5	5	5	5	5	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
Posture																					
prone position					1	1	1	1													
General condition																					
subnormal temperature						5	5	5	4	2				1	1						
mydriasis	SI	4	4	5	5	5	5	4													
ptosis					5	5	5	4													
piloerection																					1
tremor	M	1	1	1	1	2															
Dead									1	2											
Number of affected animals:	5	Number of recovered animals: 1																			Mortality: 4 / 5

^{a)} SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex: Male	Dose level: 2197 mg/kg	Number of animals: 5	Days																										
			Hours						Days																				
Signs	Grade ^{a)}		1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14							
Normal			0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
Movement																													
hypoactivity	Sl		5	5	4	1	1	1	1																				
	M				1	2	2	2	2																				
	Sv					1	1	1	1																				
General condition																													
subnormal temperature					1	5	4	4	4																				
mydriasis	Sl		4	4	4	2	2	2	2																				
	M		1	1	1																								
	Sv					2	2	2	2																				
ptosis			5	5	4	4	4	4	4																				
Dead					1				4																				
Number of affected animals:			5										Number of recovered animals:										0	Mortality:					5 / 5

^{a)} Sl : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Female	Dose level :	592 mg/kg						Number of animals : 5																	
		Hours						Days																	
Signs	Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
Normal		0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5				
Movement																									
hypoactivity	SI	5	5	5	5	5	5	5																	
General condition																									
mydriasis	SI	1	1	1	1	1	1	1																	
ptosis		5	5	5	5	5	5	5																	
Dead																									
Number of affected animals :		5						Number of recovered animals :						5						Mortality : 0 / 5					

^{a)} SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex: Female	Dose level:	769 mg/kg						Number of animals: 5													
		Hours						Days													
Signs	Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal		0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Movement																					
hypoactivity	Sl	5	5	5	5	5	5	5													
General condition																					
mydriasis	Sl	1	2	4	4	4	4	4													
ptosis		4	4	4	4	4	4	4													
Dead																					
Number of affected animals:	5	Number of recovered animals: 5																Mortality: 0 / 5			

^{a)} Sl : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex :	Female	Dose level :	1000 mg/kg						Number of animals :						5							
			Hours						Days													
Signs		Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal			0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Movement																						
hypoactivity		SI	5	5	5	5	5	5	5													
General condition																						
mydriasis		SI	2	2	2	2	3	3	3													
ptosis			5	5	5	5	5	5	5													
Dead																						
Number of affected animals :			5						Number of recovered animals :						5	Mortality :						0 / 5

a) SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex :	Female	Dose level :	1300 mg/kg	Number of animals : 5																					
				Signs					Hours					Days											
				Grade ^{a)}					1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	Normal			0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
	Movement																								
	hypoactivity	SI	5	5	5	5	5	5	5	1	1	1	1	1											
	Posture																								
	prone position									1															
	General condition																								
	mydriasis	SI	2	2	3	3	3	3	3	3															
	ptosis											5	5	5	5	1									
	tremor	SI															1								
	Dead																								
	Number of affected animals :	5																							
	Number of recovered animals :	4																							
	Mortality :	1 / 5																							

a) SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Female	Dose level :	1690 mg/kg						Number of animals : 5																							
		Hours						Days																							
Signs	Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14										
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0										
Movement																															
hypoactivity	SI	5	5	5	5	5	5	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1										
M	M															1	1	1	1	1	1										
Sv	Sv							1																							
Posture																															
prone position								1	1																						
General condition																															
subnormal temperature								5	5	5	5	5	3																		
abdominal distention																															
mydriasis	SI	3	3	3	3	3	3	3																							
M	M							2	1																						
ptosis								5	5	5	5	5																			
pallor / auricles etc.																															
tremor	SI							2																							
loss of fur																															
Dead									1	2																					
Number of affected animals :		5						Number of recovered animals :						0						Mortality :						3 / 5					

^{a)} SI : slight M : moderate Sv : severe

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Female	Dose level :	2197 mg/kg																								Number of animals :	5		
		Hours												Days															
Signs	Grade ^{a)}	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14								
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
Movement																													
hypoactivity	Sl	5																											
	M		5	5	1																								
	Sv				3	4	2																						
General condition																													
subnormal temperature						3	4	4	2																				
mydriasis	Sl	4	2	2																									
	M	1	1	1																									
	Sv		2	2	4	4	2																						
ptosis		5			4	4	2																						
Dead					1	2	2																						
Number of affected animals :		5																				Number of recovered animals :		0		Mortality :		5 / 5	

^{a)} Sl : slight M : moderate Sv : severe

Table 3. Body weight

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			(unit: g)
			0	7	14	
1	592	1101	180	256	339	
		1102	182	260	318	
		1103	179	246	312	
		1104	189	266	324	
		1105	187	265	331	
Mean ± S.D.			183 ± 4	259 ± 8	325 ± 11	
2	769	1201	185	255	324	
		1202	182	260	338	
		1203	188	264	345	
		1204	179	245	311	
		1205	189	262	326	
Mean ± S.D.			185 ± 4	257 ± 8	329 ± 13	

Table 3. -continued Body weight

Sex : Male	Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			(unit : g)
				0	7	14	
3	1000		1301	181	242	303	
			1302	185	234	312	
			1303	183	265	335	
			1304	177	236	310	
			1305	188	256	335	
			Mean ± S.D.	183 ± 4	247 ± 13	319 ± 15	
4	1300		1401	180	242	301	
			1402	184	250	329	
			1403	180	243	300	
			1404	192	265	(135)	
			1405	183	232	316	
			Mean ± S.D.	184 ± 5	246 ± 12	312 ± 14	

(): Body weight at death; Not included in calculation of mean body weight.

Table 3. -continued Body weight

Sex : Male	Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration		(unit : g)
				0	7	
5	1690		1501	183	(183)	-
			1502	182	(181)	-
			1503	184	(186)	-
			1504	183	(128)	-
			1505	190	161 L	249
Mean ± S.D.				184 ± 3	161	249
6	2197		1601	182	(172)	-
			1602	178	(179)	-
			1603	184	(177)	-
			1604	184	(184)	-
			1605	195	(194)	-
Mean ± S.D.				185 ± 6	-	-

(): Body weight at death; Not included in calculation of mean body weight.

L : Body weight decreased animal

Table 3. -continued Body weight

Sex : Female		(unit : g)			
Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration		
			0	7	14
7	592	2101	145	182	212
		2102	150	193	233
		2103	143	182	216
		2104	147	187	214
		2105	140	180	220
		Mean ± S.D.	145 ± 4	185 ± 5	219 ± 8
8	769	2201	142	186	218
		2202	146	193	230
		2203	147	194	230
		2204	148	195	234
		2205	141	177	219
		Mean ± S.D.	145 ± 3	189 ± 8	226 ± 7

Table 3. -continued Body weight

Group	Sex : Female	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration		(unit : g)
				0	7	
9		1000	2301	148	195	229
			2302	149	186	226
			2303	140	182	210
			2304	145	181	209
			2305	141	176	198
			Mean ± S.D.	145 ± 4	184 ± 7	214 ± 13
10		1300	2401	153	195	237
			2402	146	180	224
			2403	143	(140)	-
			2404	143	172	200
			2405	140	184	213
			Mean ± S.D.	145 ± 5	183 ± 10	219 ± 16

(-): Body weight at death; Not included in calculation of mean body weight.

Table 3. -continued Body weight

Sex : Female	Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration				(unit : g)
				0	7	14	14	
11	1690		2501	143	(144)	-	-	
			2502	148	(152)	-	-	
			2503	139	135	L	198	
			2504	150	(151)	-	-	
			2505	140	132	L	153	
			Mean ± S.D.	144 ± 5	134 ± 2		176 ± 32	
12	2197		2601	140	(142)	-	-	
			2602	142	(144)	-	-	
			2603	143	(143)	-	-	
			2604	153	(153)	-	-	
			2605	144	(145)	-	-	
			Mean ± S.D.	144 ± 5	-	-	-	

(): Body weight at death; Not included in calculation of mean body weight.

L : Body weight decreased animal

Table 4. Gross finding

Sex : Male		Dose level : 592 mg/kg			
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments	
1101	Sacrificed	14		Normal	
1102	Sacrificed	14		Normal	
1103	Sacrificed	14		Normal	
1104	Sacrificed	14		Normal	
1105	Sacrificed	14		Normal	

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male		Dose level : 769 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1201	Sacrificed	14		Normal
1202	Sacrificed	14		Normal
1203	Sacrificed	14		Normal
1204	Sacrificed	14		Normal
1205	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male		Dose level : 1000 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1301	Sacrificed	14		Normal
1302	Sacrificed	14		Normal
1303	Sacrificed	14		Normal
1304	Sacrificed	14		Normal
1305	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male		Dose level : 1300 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1401	Sacrificed	14		Normal
1402	Sacrificed	14		Normal
1403	Sacrificed	14		Normal
1404	Dead	13	Stomach	Dilated lumen Autolysis
1405	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male		Dose level : 1690 mg/kg			
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments	
1501	Dead	1	Glandular stomach Duodenum	Hemorrhage, diffuse Red patch/zone, multiple Autolysis	
1502	Dead	1	Glandular stomach Duodenum	Hemorrhage, diffuse Red patch/zone, multiple	
1503	Dead	1	Stomach	Hemorrhage, diffuse	
1504	Dead	7	Stomach	Adhesion with liver, focal Autolysis	
1505	Sacrificed	14	Stomach Stomach	Adhesion with liver, focal Dilated lumen	

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male		Dose level : 2197 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1601	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse Autolysis
1602	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse Autolysis
1603	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse Autolysis
1604	Dead	1	Glandular stomach Small intestine	Hemorrhage, diffuse Reddish
1605	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse Autolysis

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female		Dose level : 592 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2101	Sacrificed	14		Normal
2102	Sacrificed	14		Normal
2103	Sacrificed	14		Normal
2104	Sacrificed	14		Normal
2105	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female		Dose level : 769 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2201	Sacrificed	14		Normal
2202	Sacrificed	14		Normal
2203	Sacrificed	14		Normal
2204	Sacrificed	14		Normal
2205	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female		Dose level : 1000 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2301	Sacrificed	14		Normal
2302	Sacrificed	14		Normal
2303	Sacrificed	14		Normal
2304	Sacrificed	14		Normal
2305	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female		Dose level : 1300 mg/kg			
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments	
2401	Sacrificed	14		Normal	
2402	Sacrificed	14		Normal	
2403	Dead	1	Stomach	Dilated lumen	
2404	Sacrificed	14		Autolysis	
2405	Sacrificed	14		Normal	
				Normal	

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female		Dose level : 1690 mg/kg		Organ	Findings and comments
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ		
2501	Dead	1	Glandular stomach Duodenum	Hemorrhage, mucosa, diffuse Hemorrhage, focal Autolysis	
2502	Dead	1	Glandular stomach Duodenum	Hemorrhage, diffuse Red patch/zone, multiple	
2503	Sacrificed	14	Glandular stomach Stomach	Red patch/zone Dilated lumen	
2504	Dead	1	Glandular stomach Duodenum	Hemorrhage, diffuse Red patch/zone, multiple Autolysis	
2505	Sacrificed	14	Stomach Stomach	Adhesion with spleen, focal Dilated lumen	

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female		Dose level : 2197 mg/kg		
Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2601	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse
			Small intestine	Reddish
2602	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse
			Small intestine	Reddish
2603	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse
			Small intestine	Reddish
2604	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse
				Autolysis
2605	Dead	1	Glandular stomach	Hemorrhage, diffuse
				Autolysis