

R-1051

最 終 報 告 書

試験表題：4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)のラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

試験番号：R-1051

試験期間：2010年5月26日～2011年5月31日

試験施設

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

試験委託者

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

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

1. 目次

1. 目次	3
4. 要約	13
4.1 反復投与毒性	13
4.2 生殖発生毒性	13
5. 緒言	14
6. 試験材料及び方法	15
6.1 被験物質及び媒体	15
6.1.1 被験物質	15
6.1.2 媒体	16
6.2 投与液の調製及び保存方法	16
6.2.1 対照群投与液の採取	16
6.2.2 被験液の調製及び保存	16
6.2.3 被験液の安定性	16
6.2.4 被験液の濃度確認	17
6.3 試験動物種及び系統の選択理由	19
6.4 試験動物	19
6.5 飼育条件	20
6.6 動物の識別	21

6.7	投与経路、投与期間及び投与回数並びに休薬期間とそれらの選択理由	21
6.8	投与方法	21
6.9	投与量及び群構成	21
6.10	投与量の設定根拠	22
6.11	観察及び検査の方法	22
6.11.1	一般状態の観察	22
6.11.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定	23
6.11.3	体重測定	24
6.11.4	摂餌量測定	24
6.11.5	膣垢検査	24
6.11.6	交配方法	24
6.11.7	分娩及び哺育観察	25
6.11.8	尿検査（摂水量測定を含む）	26
6.11.9	血液学検査	27
6.11.10	血液化学検査	28
6.11.11	血中ホルモン（TSH、T3 及び T4）測定	29
6.11.12	病理学検査	29
6.12	統計解析	31
6.12.1	パラメータの算出	31
6.12.2	検定	31
7.	試験結果	33
7.1	一般状態（Table 1-1~1-7、Appendix 1-1~1-22）	33
7.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定及び自発運動量の測定 (Fig. 1~5、Table 2-1~2-84、Appendix 2-1~2-258)	33
7.3	体重（Fig. 6~8、Table 3-1~3-7、Appendix 3-1~3-22）	34
7.4	摂餌量（Fig. 9~11、Table 4-1~4-7、Appendix 4-1~4-22）	34
7.5	尿検査（摂水量測定を含む）（Table 5-1~5-16、Appendix 5-1~5-30）	35
7.6	血液学検査（Table 6-1~6-10、Appendix 6-1~6-10）	35
7.7	血液化学検査（Table 7-1~7-10、Appendix 7-1~7-10）	35
7.8	血中ホルモン（TSH、T3 及び T4）測定（Table 8-1~8-5、Appendix 8-1~8-5）	36
7.9	器官重量（Table 9-1~9-11、Appendix 9-1~9-42）	36
7.10	剖検所見（Table 10-1~10-5、Appendix 10-1~10-116）	37
7.11	病理組織学検査（Table 11-1~11-13、Appendix 10-1~10-116）	37
7.12	性周期（Table 12、Appendix 11-1~11-4）	38
7.13	交配成績（Table 13、Appendix 12-1~12-4）	38
7.14	分娩成績（Table 14、Appendix 13-1~13-4）	38

7.15	出生児の観察 (Table 15、Appendix 14-1~14-4)	38
7.16	出生児の生存率 (Table 16、Appendix 15-1~15-4)	38
7.17	出生児の体重 (Table 17、Appendix 16-1~16-4)	38
7.18	出生児の生後 4 日剖検所見 (Table 18、Appendix 17-1~17-4)	38
8.	考察	39
8.1	反復投与毒性	39
8.2	生殖発生毒性	39
9.	文献	41

図

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

表

Table 1-1~1-7	一般状態
Table 2-1~2-23	ホームケージ内観察
Table 2-24~2-46	手に持つての観察
Table 2-47~2-69	オープンフィールド内観察
Table 2-70~2-74	機能検査
Table 2-75~2-79	握力測定
Table 2-80~2-84	自発運動量の測定
Table 3-1~3-7	体重

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

4. 要約

4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)の 0 (対照群: コーン油)、30、100 及び 300 mg/kg を、Sprague-Dawley 系 SPF ラットの、雄には交配前 14 日間に加え交配期間を通して剖検前日まで (42 日間)、雌には交配前 14 日間に加え交配期間及び妊娠期間を通して授乳 4 日まで (41~46 日間) 強制経口投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性を検討した。更に、0 及び 300 mg/kg 投与群の一部の動物については、雌雄ともに 42 日間投与した後、14 日間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

4.1 反復投与毒性

一般状態、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定、自発運動量の測定、体重、摂餌量、尿検査、血液化学検査、血中ホルモン (TSH、T3 及び T4) 測定及び剖検では、被験物質投与の影響は認められなかった。

血液学検査では、投与期間終了時検査に雄の 300 mg/kg 投与群で白血球数、リンパ球数、好中球数及び大型非染色球数の低値が認められた。

器官重量では、投与期間終了時検査に雌雄の 300 mg/kg 投与群で肝臓に、雄で腎臓に高値が認められた。

病理学検査では、組織学的に軽微な小葉中心性肝細胞肥大が 300 mg/kg 投与群の雄、100 及び 300 mg/kg 投与群の雌にみられた。

血液学検査、器官重量及び病理組織学検査でみられた変化は、いずれも休薬により回復あるいは軽減したことから、いずれも可逆性の変化と考えられた。

4.2 生殖発生毒性

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

出生児では、出生時の外表観察、出生時及び生後 4 日の雌雄体重並びに性比、生後 4 日生存率及び剖検所見に被験物質投与による影響は認められなかった。

これらの結果から、本試験条件下において、本被験物質の雌雄動物における反復投与毒性に対する無影響量及び無毒性量は、雄ではともに 100 mg/kg、雌ではともに 30 mg/kg、雌雄親動物と児動物における生殖発生毒性に対する無影響量及び無毒性量はいずれも 300 mg/kg 以上と判断した。

5. 緒言

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室の委託により、4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)のラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を実施したので、その成績を報告する。

6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)は

以下の情報とともに購入した。また、試験開始前に赤外吸収スペクトルの測定により特性が確認された（試験番号：A-2294、添付資料1）。

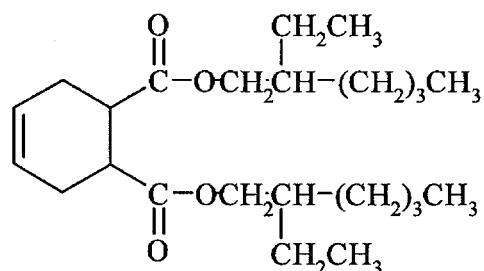
名称 : 4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)

英語名称 : Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

CAS番号 : 2915-49-3

官報公示整理番号 : 3-2437

構造式又は示性式 :



分子式 : C₂₄H₄₂O₄

分子量 : 394.59

常温における性状 : ほとんど無色透明液体

引火点 : 202°C

純度 (GC) : 99.0%

不純物 : 不明

比重 (20/20) : 0.9673

屈折率 n_{20/D} : 1.4652

入手量 : 1500 g (500 g ; 3本)

保存方法 : 冷暗所 [冷暗所として冷蔵庫内 (許容値: 1~10°C、実測値: 3~7°C) に保存した]

保存場所 : 御殿場研究所被験物質保存室及び第2研究棟4階被験物質調製室

取扱い上の注意 : 作業場の換気を十分に行い、マスク、保護眼鏡、保護手袋等の適切な保護具を着用し、直接の接触を防ぐ。周辺での火気、スパーク、高温物の使用を禁止する。取り扱い後は、手、顔等を良く洗い、うがいをする。

- 安定性 : 投与期間終了後に株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所において、残余被験物質の赤外吸収スペクトルを確認した結果、実験実施前に確認した参照スペクトルとほぼ同様であり安定性に問題はなかった。（添付資料2）。
- 残量の処理 : 被験物質5gを保存試料として御殿場研究所の資料保存施設に保存した。動物試験及び分析終了後の残量はすべて焼却処分した。

6.1.2 媒体

- 名称 : コーン油
製造者 : 和光純薬工業株式会社
ロット番号 : CDE2386
保存方法 : 室温
保存場所 : 御殿場研究所第2研究棟4階被験物質調製室

なお、媒体については、本試験に先立って実施した被験液中濃度測定法バリデーション及び安定性試験（試験番号：A-2259）において、コーン油中での被験物質の安定性に良好な結果が得られていることから、コーン油を選択した。

6.2 投与液の調製及び保存方法

6.2.1 対照群投与液の採取

被験液調製当日の被験物質を取り扱う前に対照群投与液として、必要量の媒体を褐色ガラス瓶に、貼付したラベルを確認しながら分注し、投与に使用するまで被験液と同様に保存した。

6.2.2 被験液の調製及び保存

ビーカーに規定量の約5割の媒体を採取した後、そこに濃度ごとに必要量の被験物質をガラスシリンジで採り、正確に秤量した。攪拌して混合し、完全に溶解したことを確認後、メスシリンダーに移すとともに、ビーカーを少量の媒体で数回洗い、その液もメスシリンダーに加えた。更に媒体をメスシリンダーに加えて規定量にメスアップし、所定の濃度液を調製した。調製は最大7日分を一括して行い、調製した被験液は褐色ガラス瓶に入れて冷所（冷蔵庫内、許容値：1~10°C、実測値：4~10°C）に保存し、安定性の確認された範囲内で投与に使用した。残液はポリ瓶に回収又はペーパータオル等に吸着させて焼却処分した。

6.2.3 被験液の安定性

本被験物質の1.00及び200mg/mL溶液（媒体：コーン油）は、褐色ガラス瓶に入れ冷所（冷蔵庫内、許容値：1~10°C）で8日間、その後室温で24時間安定であること

が株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（試験番号:A-2259、添付資料3）。

6.2.4 被験液の濃度確認

投与1週と投与6週の2回、投与に用いる各濃度の被験液（各濃度10mL×1本）について、投与に使用する前に株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所でHPLC法により濃度確認を実施した。その結果、各濃度液における表示値に対する被験物質の割合は102.2~106.0%であり、いずれも許容範囲内（濃度：表示値に対する割合； $100.0\pm10.0\%$ ）であった（添付資料4、5）。分析法の概略を以下に示す。

[測定対象標準物質]

被験物質の一部を標準物質として使用した。

名称	:	4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)
ロット番号	:	AX01
保存方法	:	冷暗所〔冷暗所として冷蔵庫内（許容値：1~10°C、実測値：2~8°C）に保存〕
保存場所	:	御殿場研究所被験物質保存室及び生化学部標準物質保存場所

[試薬]

試薬名	等級	メーカー
エタノール(99.5)（以下、エタノールと略）	試薬特級	和光純薬工業株式会社
メタノール	HPLC用	Thermo Fisher Scientific, Inc.
アセトニトリル	HPLC用	Thermo Fisher Scientific, Inc.
精製水	Milli-Q 水製造システム	

[使用機器]

1) HPLC システム

機器名及び型式	メーカー
HPLC 2690 セパレーションモジュール	Waters Corporation
検出器 2487 デュアルλ UV/VIS 検出器	
データ処理装置 ミレニアム ³² クロマトグラフィーマネジャー	

2) 天秤

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

3) その他の機器

機器名及び型式	メーカー
Milli-Q 水製造システム Milli-Q Advantage A10	Millipore Corporation

[HPLC 移動相 [アセトニトリル／精製水 (85/15、v/v)] の調製]

アセトニトリルの2550mLと精製水の450mLを混合した。本溶液は調製日より8

日以内に使用した。

[標準溶液類の調製]

標準物質の 0.5000 g を秤量し、エタノールを加えて全量 25 mL として標準原液を用時調製した（調製濃度：20.0 mg/mL）。この標準原液の 0.5 mL を正確に採取し、エタノールを加えて全量 10 mL として標準原液希釈液を用時調製した（調製濃度：1000 µg/mL）。更にこの標準原液希釈液の 0.5 mL を正確に採取し、エタノールを加えて全量 50 mL として標準溶液を用時調製した（調製濃度：10.0 µg/mL）。

[測定実測試料の調製]

各測定試料を n=1 で正確に採取し、以下の表に従って測定実測試料を用時調製した。

測定試料 (mg/mL)	1 次希釈		2 次希釈		希釈率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)	1 次希釈液 採取量 (mL)	定容量 (mL)	
6	0.5	50	5	30	600
20	0.5	50	0.5	10	2000
60	0.5	50	0.5	30	6000

希釈溶媒：エタノール

[HPLC 測定条件]

カラム : L-column ODS (5 µm、2.1 mm i.d. × 150 mm、一般財団法人化学物質評価研究機構)

カラム恒温槽設定温度

: 40°C

移動相 : A ; アセトニトリル／精製水 (85/15、v/v)
B ; メタノール

グラジェント条件 :

時間 (min)	A (%)	B (%)	曲線
0	100	0	-
10	0	100	11
55	100	0	11
85	100	0	11

流速 : 0.6 mL/min

検出 : UV (測定波長 190 nm)

オートサンプラー設定温度

: 4°C

試料注入量 : 10 µL

注入順序 :

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液（システム適合性用）
2	3	標準溶液（定量用）
3	1	測定実測試料（6 mg/mL）
4	1	測定実測試料（20 mg/mL）
5	1	測定実測試料（60 mg/mL）

なお、標準溶液及び測定実測試料の測定は48時間以内に実施した（バリデーション試験で、オートサンプラー内における48時間保存後までの安定性が確認されている）。

[システム適合性]

測定開始時に標準溶液を3回連續注入し、4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)の保持時間及びピーク面積の再現性を確認した。判定基準は保持時間及びピーク面積の相対標準偏差が5%以下とした。その結果、保持時間及びピーク面積の相対標準偏差は1.9%以下であり、判定基準を満たす結果であったことから、本測定の妥当性が確認された。

[測定試料中 4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)濃度の算出]

標準溶液を3回注入して4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)のピーク面積の平均値(Qs)を求めた。次に測定実測試料を1回測定して4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)のピーク面積(Qt)を求め、以下の式により測定試料中の4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)濃度を求め、表示値に対する割合(%)を算出した。

$$\text{測定試料中 4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)濃度 (mg/mL)} = \frac{Qt}{Qs} \times A \times F \times \frac{1}{1000}$$

Qt : 測定実測試料の4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)のピーク面積

Qs : 標準溶液の4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)の平均ピーク面積

A : 標準溶液の4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)濃度 (μg/mL)

F : 希釈率

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

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

6.4 試験動物

Sprague-Dawley系SPFラット [Crl:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚

木飼育センター] の雄 62 匹及び雌 83 匹をそれぞれ 8 週齢で入手^{注)}し、入荷日を馴化 1 日と起算して、3 日間の検疫期間を含む 19 日間の馴化飼育を行った。その間、一般状態の観察（1 回/日）、体重測定（馴化 1、3、8、13 及び 19 日の 5 回）、詳細な一般状態の観察（馴化 14 日に 1 回）及び膣垢検査（馴化 4 から 17 日の 14 日間）を実施し、それらの結果を基に、性周期異常の雌 2 例（耳標番号：709 及び 755）を除き、一般状態、詳細な一般状態及び性周期にそれぞれ異常がなく、体重増加が良好な雄 48 匹及び雌 68 匹をそれぞれ選択し、10 週齢で投与に使用した。なお、性周期については、膣垢像を発情前期、発情期、発情後期及び発情休止期に分類し、それらの周期が 4~5 日ごとに繰り返されない場合を性周期異常とした。動物は検疫・馴化期間中の体重増加量（検疫初回の体重～群分け時の体重）により選別後、群分け当日（投与開始の前日）の体重により非交配群も含め各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群に割付けた。個体の割付けはコンピュータを用いたブロック配置法及び無作為抽出法の組み合わせ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割当てた）で行った。投与開始時の体重範囲は雄で 356~419 g（平均体重：382 g）、雌は 219~268 g（平均体重：235 g）であった。群分けから除外された動物のうち、雄 14 匹と性周期異常の雌 2 匹は投与開始日に試験から除外し、動物管理責任者に移管した。残りの雌 13 匹は無処置動物として継続飼育した。なお、継続飼育した無処置動物の雌は、試験群で死亡などにより交配すべき相手がいない動物は認められず、交配に用いなかつたため、交配終了後に試験から除外し、動物管理責任者に移管した。

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

6.5 飼育条件

動物は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ （実測値：22~25°C）、相対湿度 $50 \pm 20\%$ （実測値：38~68%）、換気回数 10~15 回/h、照明 12 時間/日（07:00~19:00）の動物飼育室（飼育室番号：904 号室）でブラケット式金属製網ケージ（W254×D350×H170 mm：リードエンジニアリング株式会社）に個別に、交配中は雌雄各 1 匹の計 2 匹を収容した。なお、妊娠 17 日から授乳 4 日までは、床敷（ホワイトフレーク：日本チャールス・リバー株式会社）を入れたプラスチック製エコンケージ（W340×D400×H185 mm：日本クリア株式会社）に 1 腹単位で収容した。飼料は NMF 固形（放射線滅菌、オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：100210、100309、100415、100518、100611）をステンレス製給餌器により自由に摂取させた。飲料水は水道水（御殿場市営水道水：自動給水装置使用）を自由に摂取させた。ただし、プラスチック製エコンケージに収容している間は給水瓶を使用した。飼料及び床敷中の混入物質等に関しては、供試飼料のうち一ロット（ロット番号：100415）については日本食品分析センターで、他全ロットについては、Eurofins Scientific Analytice で実施した分析結果をそれぞれ入手し、床敷については、Eurofins Scientific Analytice で定期的（年 6 回）に実施した分析結果を入手した。飲料水については、水道法に準拠した水質の分析を芝浦セムテック株式会社（旧社名：東

芝機械環境センター株式会社)に定期的(年4回)に依頼し、結果を入手した。これらのデータにより飼料、飲料水及び床敷中の混入物質が試験成績に影響を与える可能性のないことを確認し、分析報告書の写しを保存した。

6.6 動物の識別

動物の個体識別は入荷時に小動物用耳標(雄:1~62、雌:678~760)をつけて行った。群分け後は、性別及び投与量ごと(対照群、低、中及び高用量の順)に4桁の番号をつけた。なお、1000の位は群、100の位は性(0番を雄、1番を雌)、10と1の位は個体番号とした。飼育ケージに投与量(群)ごとに色分けしたケージラベルを付け、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号、剖検予定日(雄及び非交配群の雌)、交尾成立日(交配群の雌雄)及び分娩日(交配群の雌)を明記した。

6.7 投与経路、投与期間及び投与回数並びに休薬期間とそれらの選択理由

投与経路は、OECD Guideline for Testing of Chemicals 422に準じ、経口投与を選択した。投与期間は、雄では42日間(交配前14日間、交配期間14日間、その後14日間)、交配群の雌では41~46日間(交配前14日間、交配期間及び妊娠期間を通して授乳4日まで)、不妊であった動物(動物番号:1109)については45日間、非交配群の雌では42日間とした。休薬期間は投与終了後14日間とし、その間休薬した。投与回数は反復投与試験で一般的に行われている1回/日(7回/週)とした。

6.8 投与方法

投与方法は、げっ歯類の経口投与に際して一般的な強制経口投与とした。投与容量は5mL/kg体重とし、フレキシブル胃ゾンデを用いて投与液を1日1回、08:01~11:31の間に強制経口投与した。ただし、投与時に分娩中であった動物は分娩終了を待って、13:45~14:33の間に投与した。対照群には媒体(コーン油)のみを同様に投与した。個体ごとの投与液量(表示単位:0.1mL、小数第二位を四捨五入)は、最近時の体重を基準に算出した。

6.9 投与量及び群構成

投与量は30、100及び300mg/kgの3用量とし、媒体を投与する対照群を加え4群構成とした。1群当たりの動物数は交配を行う交配群として各群で雌雄各12匹、交配しない非交配群として対照群及び高用量群で雌各10匹とした。なお、対照群及び高用量群における雄の群内番号8番以降、雌の群内番号18番以降の各5匹は、最終投与終了日以降、休薬動物とした。群構成をText table 1-1.及び1-2.に示した。

Text table 1-1.群構成表（雄）

試験群	投与量 (mg/kg)	被験液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	交配群	
				動物数	動物番号
対照群	0	0	5	12	1001~1012 ^{注1}
低用量群	30	6	5	12	2001~2012
中用量群	100	20	5	12	3001~3012
高用量群	300	60	5	12	4001~4012 ^{注1}

注 1： 群内番号 8 番以降の 5 匹は、最終投与終了日以降、休薬動物とした。

Text table 1-2.群構成表（雌）

試験群	投与量 (mg/kg)	被験液濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	交配群		非交配群	
				動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	5	12	1101~1112	10	1113~1122 ^{注2}
低用量群	30	6	5	12	2101~2112	—	—
中用量群	100	20	5	12	3101~3112	—	—
高用量群	300	60	5	12	4101~4112	10	4113~4122 ^{注2}

注 2： 群内番号 18 番以降の 5 匹は、最終投与終了日以降、休薬動物とした。

6.10 投与量の設定根拠

本試験の投与量は、先に実施した「4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)のラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験（投与量設定試験）」¹⁾の結果（添付資料 6）を参考に設定した。すなわち、投与量設定試験では、高用量の 1000 mg/kg 投与群においても死亡例はみられず、いずれの動物にも一般状態に異常はみられなかった。また、各被験物質投与群において、体重及び摂餌量は対照群と同等の推移を示し、血液学検査、血液化学検査及び剖検所見に被験物質投与の影響は認められなかった。一方、300 及び 1000 mg/kg 投与群の雌雄で肝臓重量の高値が認められた。本被験物質はフタル酸の類似化合物であるため、投与期間の延長に伴い肝臓重量の高値が増悪する可能性が考えられた。したがって、本試験では、300 mg/kg を高用量とし、以下公比約 3 で除して 100 及び 30 mg/kg をそれぞれ中及び低用量に設定した。

6.11 観察及び検査の方法

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

6.11.1 一般状態の観察

全個体について、馴化期間中は毎日 1 回、投与期間中は毎日 3 回（投与前、投与直後及び投与約 2 時間後）、休薬期間中は毎日 1 回（午前中）、それぞれ体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態における異常の有無を観察した。なお、投与 2 週以降の動物を手に持ての定期的な観察は、詳細な一般状態の観察と兼ねて

行った。

6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

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

機能検査、握力測定及び自発運動量の測定は、雄では群内番号8~12番、交配群雌では分娩順で動物番号が若い順^{注1}、非交配群では群内番号18~22番のそれぞれ5匹について行った。投与期間中は交配群の雌で授乳4日（投与41~44日）に、その他は投与期間終了週（投与6週、雌雄ともに投与40日）に、休薬期間中は対照群及び高用量群の雌雄で休薬期間終了週（休薬2週、雌雄ともに休薬12日）に行った。

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

注1：交配群雌の検査対象動物を以下に示した。

試験群	動物番号
対照群	1101、1102、1105、1106、1107
低用量群	2101、2105、2108、2110、2111
中用量群	3101、3103、3104、3111、3112
高用量群	4102、4104、4107、4109、4111

1) 詳細な一般状態の観察

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

2) 機能検査

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

3) 握力測定

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

4) 自発運動量の測定

握力測定に引き続き、実験動物用自発運動センサーNS-AS01（株式会社ニューロサ

イエンス)を用いて自発運動量を測定した。測定時間は1時間とし、10分間隔及び0~60分の測定値を集計した。

6.11.3 体重測定

全個体について、馴化1、3、8、13及び19日に体重を測定した。交配群の雄及び非交配群の雌は投与1、4、8、11、15、18、22、25、29、32、36、39、42日及び剖検日に、休薬動物は更に休薬1、4、8、11、14日及び剖検日に、交配群の雌は投与1、4、8、11、15日(未交尾動物は交配期間中の投与18日)、妊娠0、4、7、11、14、17及び20日、授乳0及び4日並びに剖検日に体重を測定した。なお、午後の分娩観察時に分娩の終了が確認された個体の授乳0日の体重測定(13:19~17:02)を除き、08:05~11:29の間に体重測定を行った。剖検日には、前日から約16時間絶食させた後、相対器官重量算出に備えて体重を07:43~08:57の間に測定した。

6.11.4 摂餌量測定

全個体について、交配群の雄及び非交配群の雌は投与1、4、8、11、15、32、36、39及び42日に、休薬動物は更に休薬1、4、8、11及び14日に、交配群の雌は投与1、4、8、11及び15日、妊娠1、4、7、11、14、17及び20日並びに授乳2及び4日に残餌量を測定し、前日の給餌量との差から1匹当たりの1日摂餌量を算出した。給餌量及び残餌量の測定は08:06~11:38の間に行った。

6.11.5 膀胱検査

馴化期間中は雌全個体について、膀胱を採取し鏡検した。投与期間中は交配群の雌の全個体について、投与開始翌日から交尾が認められるまで毎日(午前中)膀胱を採取し、鏡検した。膀胱像を発情前期、発情期、発情後期及び発情休止期に分類し、馴化期間中は性周期異常の有無を、交配前投与期間中は発情期像発現回数及び発情期から次の発情期までの日数(性周期)を調べ、交配期間中は膀胱内の精子の有無を調べた。

6.11.6 交配方法

交配前投与期間終了後、交配群の同じ投与群の雌雄を1:1で終夜同居させ、翌朝、膀胱形成あるいは膀胱中に精子を確認したものを交尾成立とみなした。交配開始日を0日と起算して交尾までに要した日数を調べた。同一雌雄による同居期間は最長6日間であった。

6.11.7 分娩及び哺育観察

1) 母動物の観察

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

分娩した母動物は授乳 5 日の時点で、対象動物は採血後に、それぞれ病理学検査に供した。なお、対照群の 1 例（動物番号：1109）は、妊娠 25 日の午前 10 時までに分娩が終了しなかったため、エーテル麻酔下で採血後、腹大動脈切断により放血致死させ、病理学検査に供した。妊娠の有無を確認した結果、着床が認められなかつたため不妊とみなし、妊娠期間中のデータを統計解析より除外した。

2) 出生児の観察

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

生後 4 日に体重を測定した後、全例をエーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈切断により放血致死させ剖検を行い、体外表、胸部・腹部を含む器官・組織の異常の有無を調べた。なお、出生児の体重は個体別に測定し、各腹単位で雌雄別に平均値を算出した。

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

6.11.8 尿検査（摂水量測定を含む）

投与期間終了週（投与 6 週、投与 37~38 日）及び休薬期間終了週（休薬 2 週、休薬 9~10 日）に検査を実施した。投与期間中は検査当日の投与後に、雄では群内番号 8~12 番、非交配群では群内番号 18~22 番の各群それぞれ 5 匹を、休薬期間中は休薬動物の全個体を、それぞれ採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で 4 時間尿を、次いで自由摂食・自由摂水下でその後の 20 時間尿を採取した。検査項目を Text table 2. に示した。採取した最初の 4 時間尿について pH 以下沈渣までの検査と尿量を、その後に得られた 20 時間尿を用いて浸透圧及び尿量の測定を行った。尿量は 4 時間の尿量と 20 時間の尿量を合計して 1 日量を算出した。摂水量は、採尿器をセットしたケージに収容した状態で前日からの 1 日の摂取量を、給水瓶を用いて測定した。

Text table 2. 尿検査の項目、測定法及び使用機器など

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

6.11.9 血液学検査

全例（動物番号：1109を除く）を最終投与翌日あるいは休薬期間終了日の前日から一夜（16~20時間）絶食させ、そのうち対照群及び高用量群は全例、低及び中用量群は雌雄各5匹（動物番号が若い順、但し、交配群雌は分娩順の5匹）^{注1}について、エーテル麻酔下に開腹し、腹大動脈からEDTA-2K加採血瓶（SB-41：シスメックス株式会社）に血液約1mLを採取した。得られた血液について、次のText table 3.-1)に記載した項目及び方法により検査した。また、3.8%クエン酸ナトリウム溶液加試験管（血液9容に対し1容の割合）に採取した血液を遠心分離（3,000 rpm、1,600×g、10分間）し、得られた血漿についてText table 3.-2)に記載の項目及び方法により検査した。なお、採血した全例について、May-Grünwald-Giemsa染色法による血液塗抹標本を作製した。妊娠25日未分娩動物についても検査したが、その成績は統計解析から除外した。

注1：交配群雌の検査対象動物を以下に示した。

試験群	動物番号
対照群	1101~1112
低用量群	2101、2105、2108、2110、2111
中用量群	3101、3103、3104、3111、3112
高用量群	4101~4112

Text table 3.血液学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) EDTA-2K加血液についての検査		
検査項目	測定方法	単位
赤血球数(RBC)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{c)}	10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量(Hb)	シアノメトヘモグロビン変法 ^{d)}	g/dL
ヘマトクリット値(Ht)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出 ^{e)}	%
平均赤血球容積(MCV)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{e)}	fL
平均赤血球血色素量(MCH)	赤血球数及びヘモグロビン量から算出 ^{e)}	pg
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出 ^{e)}	g/dL
網赤血球率(Reticulocyte)	RNA染色によるレーザーフローサイトメトリー法 ^{e)}	%
血小板数(Platelet)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{e)}	10 ⁴ /μL
白血球数(WBC)	2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{e)}	10 ² /μL
白血球百分率 ^{注)}	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法 +2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{e)}	%
白血球各細胞の絶対数 ^{注)}	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法 +2角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{e)}	10 ² /μL
2) クエン酸ナトリウム加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
プロトロンビン時間(PT)	クロット法 ^{d)}	s
活性化部分トロンボ		
プラスチン時間(APTT)	クロット法 ^{d)}	s
フィブリノーゲン量(Fibrinogen)	トロンボプラスチン法 ^{d)}	mg/dL
使用測定機器		
c) : 総合血液学検査装置 アドヴィア 120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)		
d) : 血液凝固自動測定装置 ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory, MA, USA)		
注) : 好中球(Neut.)、好酸球(Eosino.)、好塩基球(Baso.)、リンパ球(Lymph.)、單球(Mono.) 及び大型非染色球(LUC)		

PT 及び FIB を測定時に、サンプリングニードル位置のずれにより、試料採取が正常に行われず、正常な測定が行なわれなかつたため、調整後、再測定を実施した結果、問題なく測定が行なわれ再測定値が得られた。また、直前に測定した APTT についても確認のため再測定を実施した結果、初回測定値と同様の値が得られた。したがって PT 及び FIB は再測定値を採用し、APTT は初回測定値を採用した。データの採用の判断は標準操作手順書に従つたものであり、対処法及びその記録は適切であることから、試験結果への影響はなかつた。

6.11.10 血液化学検査

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

Text table 4.血液化学検査の項目、測定法及び使用機器など

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

臨床検査用測定前試料が一時保存されていた超低温フリーザ（設定：-80°C、許容範囲：-70°C 以下、機器登録番号：502）の自記記録計の温度記録において、チャート紙セット時に、ペン先位置の設定が不良であったため、記録されていない時間（2010年8月11日、08:40~10:00）が発生した。この間、庫内温度の上昇を知らせる警報は鳴らず温度の逸脱がなかったことから、測定前試料の保存状態に問題はなかった。

6.11.11 血中ホルモン（TSH、T3 及び T4）測定

6.11.10 で得られた血清について、Text table 5.に記載の項目及び方法により検査した。血清は約 0.5 mL×3 本をサンプルチューブに分注し、測定まで -80°C の冷凍庫（許容範囲：-70°C 以下、実測値：-83~-72°C）に保存した。妊娠 25 日未分婬動物については、測定は実施しなかった。血液化学検査後の残余の血清/血漿は血中ホルモン測定用の予備として保存した。

Text table 5. 血中ホルモン測定の項目、測定法及び使用機器など

検査項目	測定方法	単位
T3	CLEIA 法 ^{f)}	ng/dL
T4	CLEIA 法 ^{f)}	μg/dL
TSH	CLEIA 法 ^{f)}	ng/mL
使用測定機器		
f) : 全自動免疫化学発光測定システム IMMULYZE (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)		

6.11.12 病理学検査

1) 剖検及び器官重量測定

最終投与翌日及び休薬期間終了日にすべての生存動物について、血液学検査、血液化学検査及び血中ホルモン測定のために採血した動物は採血後に、その他の動物はエーテル麻酔下で、腹大動脈切断により放血致死させ、それぞれ体外表・頭部・胸部・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。なお、母動物については剖検時に黄体数及び着床痕数を数えた。次いで、全例の精巣及び精巣上体と、血液学検査、血液化学検査及び血中ホルモン測定の採血を行った動物について、以下に示す器官の重量を測定した。それら器官重量（絶対重量）と剖検時の体重から体重 100 g 当たりの相対重量を算出した。なお、精巣及び精巣上体と*印をつけた両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。また、妊娠 25 日未分婬動物については、器官重量測定は行わなかった。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）*、副腎*、胸腺、脾臓、心臓、肝臓、腎臓*、卵巣*、子宮

2) 病理組織学検査

すべての個体について、以下に示す全検査対象器官/組織をリン酸緩衝 10 vol% ホルマリン液で固定し、保存した。固定時に肺にはリン酸緩衝 10 vol% ホルマリン液を注入した。ただし、眼球、視神経はリン酸緩衝液で調製した 3 vol% グルタルアルデヒド・2.5 vol% ホルマリン液で固定後、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、リン酸緩衝 10 vol% ホルマリン液に置換し保存した。次いで、パラフィン包埋した後、切片とし（下線を施した器官・組織は固定・保存のみとした）、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色を行った。鏡検は、まず投与終了時剖検群における対照群及び高用量群の全個体の全検査対象器官/組織並びに全動物の肉眼的異常部位について行った。両側性の器官については両側を摘出し、坐骨神経、眼球、甲状腺、上皮小体、副腎、腎臓、乳腺（鼠径部）及び大腿骨（骨髄を含む）は左側、精巣、卵巣、精巣上体及び精嚢は両側並びに子宮は両角部を鏡検した。なお、視神経及び皮膚（鼠径部）は H・E 染色標本作製までとし、病理組織学検査は実施しなかった。その結果、高用量群で被験物質投与による変化が疑われた肝臓及び精巣上体に関し、中及び低用量群並びに休薬終了時剖検群を含め全例について鏡検した。なお、精巣については H・E 染色標本で被験物質投与の影響が認められなかつたため、PAS 染色標本による観察は行わなかつた。また、腎臓所見で「好酸性小体」は観察されなかつたため、 α 2u グロブリンの免疫組織化学的染色による観察は行なわなかつた。動物番号 2103 の上皮小体が標本上欠落したが、上皮小体に被験物質投与による影響はなく、当該動物は検査対象でなかつたため、試験成績へ及ぼす影響はなかつた。

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

6.12 統計解析

6.12.1 パラメータの算出

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

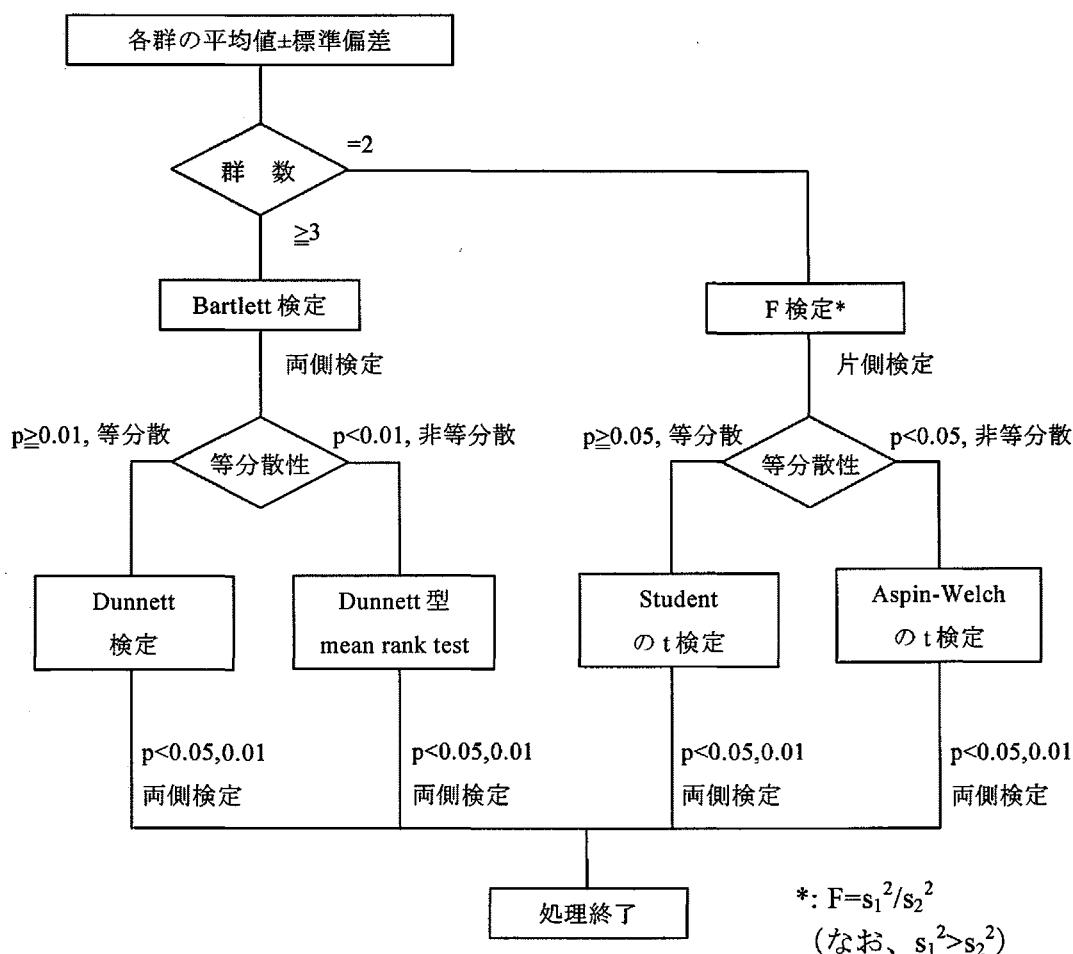
$$\text{生後0日の性比} = \text{雄出生児数}/\text{出生児数}$$

$$\text{生後4日の性比} = \text{生後4日の雄生存児数}/\text{生後4日の生存児数}$$

6.12.2 検定

データは対照群と各用量群との差について統計学的有意性の検定を行った。

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



着床率、死産児率、外表異常率、出生率及び生後4日生存率については、群ごとに平均値及び標準偏差を求め、Dunnett型 mean rank testにより平均順位の差の検定（有意水準0.05及び0.01、両側）を行った⁴⁾。

交尾率、授精率、受胎率、出産率、聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射は、各群の交尾動物数、雌を妊娠させた雄動物数、妊娠雌動物数、出生児出産雌動物数、正常反射のみられた動物数より算出し、期待度数が5以下のセルがみられたためFisherの直接確率計算法により検定（有意水準0.05及び0.01、両側）を行った⁴⁾。

7. 試験結果

7.1 一般状態 (Table 1-1~1-7、Appendix 1-1~1-22)

交配群及び非交配群のいずれの動物にも投与期間及び休薬期間を通じて異常はみられなかった。

7.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力測定及び自発運動量の測定

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

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

交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間中及び休薬動物雌雄の休薬期間中は、いずれの動物にも異常はみられなかった。

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

ハンドリング時にやわらかく発声する動物あるいはケージから取り出す際にいかで抵抗するか逃避する動物が 30 mg/kg 投与群の雄の投与 5 週及び 300 mg/kg 投与群の非交配群雌の投与 3 週の観察で各 1 例みられたが、いずれも単発性で 1 例のみの発現であることから、偶発性と判断した。

その他、交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間中及び休薬動物雌雄の休薬期間中は、いずれの動物にも異常はみられなかった。

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

交配群雌の 30 mg/kg 投与群で妊娠 14 日の立ち上がり回数に対照群と比べ有意な高値が認められたが、用量に関連しない変化であった。

ほとんど動かず歩行の評価ができない、あるいは少量又は中等度の量を排尿した動物が対照群を含む各群でみられたが、被験物質投与群に偏った発現ではなかった。その他の検査項目では、交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間中及び休薬動物雌雄の休薬期間中は、いずれの動物にも異常はみられなかった。また、排糞の個数には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

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

非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で、投与 6 週及び休薬 2 週に対照群と比べ着地開脚幅の有意な低値が認められたが、低値であり、交配群雌の同用量群では異常はみられないことから偶発性と判断した。

交配群雌雄及び非交配群雌の投与期間終了週並びに休薬動物雌雄の休薬期間終了週には、いずれの動物にも聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射に異常はみられなかった。また、交配群雌雄の着地開脚幅には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

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

交配群雌で授乳 4 日に、対照群と比べ 100 及び 300 mg/kg 投与群で前肢の握力に有意な高値、300 mg/kg 投与群で後肢の握力に有意な低値が認められたが、いずれも測定値と用量に明確な相関性はみられないことから、偶発性の変化と判断した。

雄及び非交配群雌の投与期間終了週並びに休薬動物雌雄の休薬期間終了週には、対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

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

非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で、投与 6 週の 40-50 分及び 50-60 分の間の運動量に对照群と比べ有意な低値が認められたが、0-60 分間の総運動量に有意差はないことから、偶発性の変化と判断した。

雄の 300 mg/kg 投与群で、休薬 2 週の 40-50 分の間の運動量に对照群と比べ有意な高値が認められたが、投与期間終了週には異常は認められていないことから、偶発性の変化と判断した。

交配群雌雄の投与期間終了週並びに休薬動物雌の休薬期間終了週には、対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

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

1) 投与期間

交配群雌雄及び非交配群雌では、被験物質投与群の各測定時点の体重及び投与期間中の体重増加量に对照群と比べ有意な差は認められなかった。

2) 休薬期間

雄及び非交配群雌では、被験物質投与群の各測定時点の体重及び休薬期間中の体重増加量に对照群と比べ有意な差は認められなかった。

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

1) 投与期間

雄では、各被験物質投与群の摂餌量に对照群と比べ有意な差は認められなかった。

交配群雌では、300 mg/kg 投与群で対照群と比べ妊娠 7 日に有意な低値が認められたが、一過性の対照群の高値に対する相対的な低値であり、授乳 2 日に有意な高値が認められたが、授乳 4 日に对照群と差はないことから、いずれも偶発性と判断した。

非交配群雌では、300 mg/kg 投与群で投与 39 及び 42 日に对照群と比べ有意な高値が認められたが、一過性の対照群の低値に対する相対的な高値であるため、偶発性と判断した。

2) 休薬期間

雄では、休薬期間中の各測定時点の摂餌量に对照群と比べ有意な差は認められなか

った。

非交配群雌では、休薬 14 日に対照群と比べ有意な低値が認められた。

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

1) 投与期間終了週検査

定性項目については、雄及び非交配群雌のいずれの動物にも異常はみられなかった。

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

2) 休薬期間終了週検査

定性項目については、雄及び非交配群雌のいずれの動物にも異常はみられなかった。

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

7.6 血液学検査（Table 6-1~6-10、Appendix 6-1~6-10）

1) 投与期間終了時検査

雄では、300 mg/kg 投与群で対照群と比べ白血球数、リンパ球数、好中球数及び大型非染色球数の有意な低値が認められた。

その他、対照群と比べ 30 mg/kg 投与群で好酸球数及びその比率の有意な高値、100 mg/kg 投与群で好塩基球数の有意な高値が認められたが、いずれも用量に関連しない変化であった。

交配群雌では、30 mg/kg 投与群で対照群と比べリンパ球比率の有意な高値及び好中球比率の有意な低値が認められたが、いずれも用量に関連しない変化であった。

非交配群雌では、各検査項目に対照群と比べ有意な差は認められなかった。

2) 休薬期間終了時検査

雄では、対照群と比べ好中球数に有意な高値が認められ、非交配群雌では、単球数及びその比率に对照群と比べ有意な高値が認められたが、いずれも投与期間終了時検査にみられない軽微な変化であり、他の白血球百分率に異常はみられないことから、生理学的変動範囲内の変化と判断した。

7.7 血液化学検査（Table 7-1~7-10、Appendix 7-1~7-10）

1) 投与期間終了時検査

雄では、300 mg/kg 投与群で対照群と比べ総ビリルビンの有意な低値が認められたが、ごく軽度であり、血液学検査でも貧血を示唆する変化はみられないことから、生理学的変動範囲内の変化と判断した。

交配群雌では、300 mg/kg 投与群で対照群と比べ塩素の有意な低値が認められたが、ごく軽度であり、他の電解質の変動はみられないことから、生理学的変動範囲内の変

化と判断した。

その他に 30 mg/kg 投与群で対照群と比べクレアチニンの有意な低値が認められたが、用量に関連しない変化であった。

非交配群雌では、300 mg/kg 投与群で対照群と比べグルコースの有意な高値が認められたが、軽微な変化であり、雄及び交配群雌では同様の変化はみられないことから、偶発性の変化と判断した。

2) 休薬期間終了時検査

雄及び非交配群雌のいずれの検査項目においても対照群と被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

7.8 血中ホルモン (TSH、T3 及び T4) 測定 (Table 8-1~8-5、Appendix 8-1~8-5)

1) 投与期間終了時検査

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

2) 休薬期間終了時検査

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

7.9 器官重量 (Table 9-1~9-11、Appendix 9-1~9-42)

1) 投与期間終了時検査

雄では、300 mg/kg 投与群で肝臓の相対重量、腎臓の絶対及び相対重量に対照群と比べ有意な高値が認められた。

交配群雌では、300 mg/kg 投与群で肝臓の絶対及び相対重量に対照群と比べ有意な高値が認められた。

非交配群雌では、300 mg/kg 投与群で対照群と比べ肝臓の絶対及び相対重量に有意な高値が認められた。

他に交配群雌の 100 及び 300 mg/kg 投与群と非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で腎臓の絶対重量に有意な高値が認められたが、軽微な絶対重量のみの変化であることから、偶発性の変化と判断した。非交配群雌の 300 mg/kg 投与群で脾臓の相対重量に有意な低値が認められたが、軽微な相対重量のみの変化であり、雄及び交配群雌では同様の変化はみられないことから、偶発性の変化と判断した。

2) 休薬期間終了時検査

雄では、肝臓の絶対及び相対重量に対照群と比べ有意な高値が認められた。

非交配群雌では、いずれの器官重量にも対照群と比べ有意な差は認められなかった。

7.10 剖検所見 (Table 10-1~10-5、Appendix 10-1~10-116)

1) 投与期間終了時検査

いずれの投与群にも被験物質投与の影響と考えられる変化はみられなかった。

精巣上体に白色巣が 100 mg/kg 投与群の 1/12 例、300 mg/kg 投与群の 2/7 例に、胃に結節が対照群の雄 1/7 例に、胃の腺胃部に暗赤色巣が雄の 30 mg/kg 投与群の 1/12 例と交配群雌の対照群の 2/11 例、30、100 及び 300 mg/kg 投与群の各 1/12、3/12 及び 3/12 例にみられたが、出現頻度及びその病理学的性状から偶発的変化と考えられた。

2) 休薬期間終了時検査

回腸に憩室が対照群の雄 1/5 例に、胃の腺胃部に暗赤色巣が非交配群雌の 300 mg/kg 投与群の 1/5 例にみられたが、出現頻度及びその病理学的性状から偶発的変化と考えられた。

7.11 病理組織学検査 (Table 11-1~11-13、Appendix 10-1~10-116)

1) 投与期間終了時検査

被験物質投与の影響と考えられる変化が肝臓にみられた。

肝臓 : 軽微な小葉中心性肝細胞肥大が雄の 300 mg/kg 投与群と雌の 100 及び 300 mg/kg 投与群にみられた。

Text table 6-1. 病理組織学検査 (D42) の総括 (肝臓)

Tissue Observation	Number examined:	Sex:	Male			Female
		Group:	D42			D42
		mg/kg:	0	30	100	300
Liver			7	12	12	7
Hypertrophy, hepatocytic, central			0	0	0	1
Minimal			0	0	0	1

D42 : 投与終了 (投与 42 日)

Text table 6-2. 病理組織学検査 (L4) の総括 (肝臓)

Tissue Observation	Number examined:	Sex:	Female		
		Group:	L4		
		mg/kg:	0	30	100
Liver			11	12	12
Hypertrophy, hepatocytic, central			0	0	1
Minimal			0	0	1

L4 : 投与終了 (授乳 4 日)

以上その他に精巣上体の精子肉芽腫が、肉眼的にみられた白色巣に一致して 100 及び 300 mg/kg 投与群のそれぞれ 1/12 及び 2/7 例にみられた。しかし、変化は少数例における単発性のものであり、同群の他の動物に関連病変がみられないこと及び同様な変化がこの系統の動物に時折、背景的に発生することから、偶発性変化と判断した。

その他、いくつかの器官・組織に種々の変化がみられたが、この系統の動物に背景

的にみられる変化と質的及び頻度的な差はなく、その病理組織学的性状及び発現状況から、偶発的変化と判断した。

2) 休薬期間終了時検査

投与終了時にみられた肝臓の変化は、休薬期間終了時検査では消失し、可逆性変化であった。

Table 及び Appendix に示すその他の所見は、出現状況及び病理組織学的性状から偶発的変化と考えられた。

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

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

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

100 mg/kg 投与群で交尾までに要した日数に対照群と比べ有意な低値が認められたが、用量に関連しない変化であった。その他、交尾率、授精率及び受胎率には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

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

妊娠動物の分娩状態では、妊娠 21~23 日に全例が正常に分娩し、出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数及び出生率には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

7.15 出生児の観察 (Table 15、Appendix 14-1~14-4)

生後 0 及び 4 日の性比には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差はなく、いずれの投与群においても外表異常を有する出生児はみられなかった。

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

授乳期間中の死亡児は対照群で 3 例、30、100 及び 300 mg/kg 投与群で 2、1 及び 2 例であった。生後 4 日生存率には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

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

出生時及び生後 4 日の雌雄体重並びに生後 0~4 日の間の体重増加量には対照群と各被験物質投与群との間に有意な差は認められなかった。

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

いずれの投与群の出生児にも異常はみられなかった。

8. 考察

4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)の0(対照群:コーン油)、30、100及び300 mg/kgを、Sprague-Dawley系SPFラットの、雄には交配前14日間に加え交配期間を通して剖検前日まで(42日間)、雌には交配前14日間に加え交配期間及び妊娠期間を通して授乳4日まで(41~46日間)強制経口投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性を検討した。更に、0及び300 mg/kg投与群の一部の動物については雌雄ともに42日間投与した後、14日間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

8.1 反復投与毒性

一般状態、詳細な一般状態の観察、握力測定、機能検査、自発運動量の測定、体重、尿検査、血液化学検査、血中ホルモン(TSH、T3及びT4)測定及び剖検では、被験物質投与の影響は認められなかった。

摂餌量では、非交配群雌の休薬14日に低値が認められたが、それに伴う体重の変化はみられないため、毒性学的意義はないと判断した。

血液学検査では、投与期間終了時検査に雄の300 mg/kg投与群で白血球数、リンパ球数、好中球数及び大型非染色球数の低値が認められた。

器官重量では、投与期間終了時検査に雄の300 mg/kg投与群で肝臓及び腎臓重量に高値が、交配及び非交配群雌の300 mg/kg投与群で肝臓重量に高値が認められた。休薬期間終了検査時に雄の300 mg/kg投与群で肝臓重量に高値が認められたが、投与期間終了時の対照群と同程度の重量であるため、対照群の休薬動物の体重が相対的に低値であることに伴う偶発性変化と判断した。

病理学検査では、組織学的に軽微な小葉中心性肝細胞肥大が300 mg/kg投与群の雄、100及び300 mg/kg投与群の雌にみられた。本変化は、肝細胞障害を示唆する血液化学検査での肝逸脱酵素の上昇がないこと、肝細胞変性を示唆する所見がないこと並びに休薬により回復したことから薬物代謝酵素の誘導である可能性が考えられたが、特定するには至らなかった。

血液学検査、器官重量及び病理組織学検査でみられた変化は、いずれも14日間の休薬により回復あるいは軽減したことから、可逆性の変化と考えられた。

8.2 生殖発生毒性

性周期、交尾までに要した日数、交尾率、授精率及び受胎率には被験物質投与の影響は認められなかった。更に、出産率、妊娠期間、黄体数、着床痕数、着床率、死産児率、出生児数及び出生率に被験物質投与の影響は認められず、授乳期間中の哺育状態にも異常が認められないことから、300 mg/kg投与群においても雌雄動物の交尾能、授精能及び受胎能、母動物の妊娠維持、分娩及び哺育行動などの生殖機能への影響はないとした。

出生児では、出生時の外表観察、出生時及び生後4日の雌雄体重並びに性比、生後4日の生存率及び剖検所見に被験物質投与による影響は認められなかった。

これらの結果から、本試験条件下で4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)を反復経口投与することにより、300 mg/kg 投与群の雌雄の肝臓に重量の高値及び小葉中心性肝細胞肥大並びに腎臓重量の高値、100 mg/kg 投与群の雌に小葉中心性肝細胞肥大が惹起された。したがって、本被験物質の雌雄動物における反復投与毒性に対する無影響量及び無毒性量は、雄とともに100 mg/kg、雌とともに30 mg/kgと判断した。また、雌雄親動物と児動物における生殖発生毒性に対する無影響量及び無毒性量はいずれも300 mg/kg以上と判断した。

9. 文献

- 1) 4-シクロヘキセン-1,2-ジカルボン酸ビス(2-エチルヘキシル)のラットを用いた14日間反復経口投与毒性試験（投与量設定試験）（株式会社ボゾリサーチセンター、試験番号：C-R137、2010年）
- 2) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods, 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1989.
- 3) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50: 1096-121.
- 4) 佐久間昭（1981）：薬効評価—計画と分析-II, pp.23-27, 387-389, 東京大学出版会, 東京.

R-1051

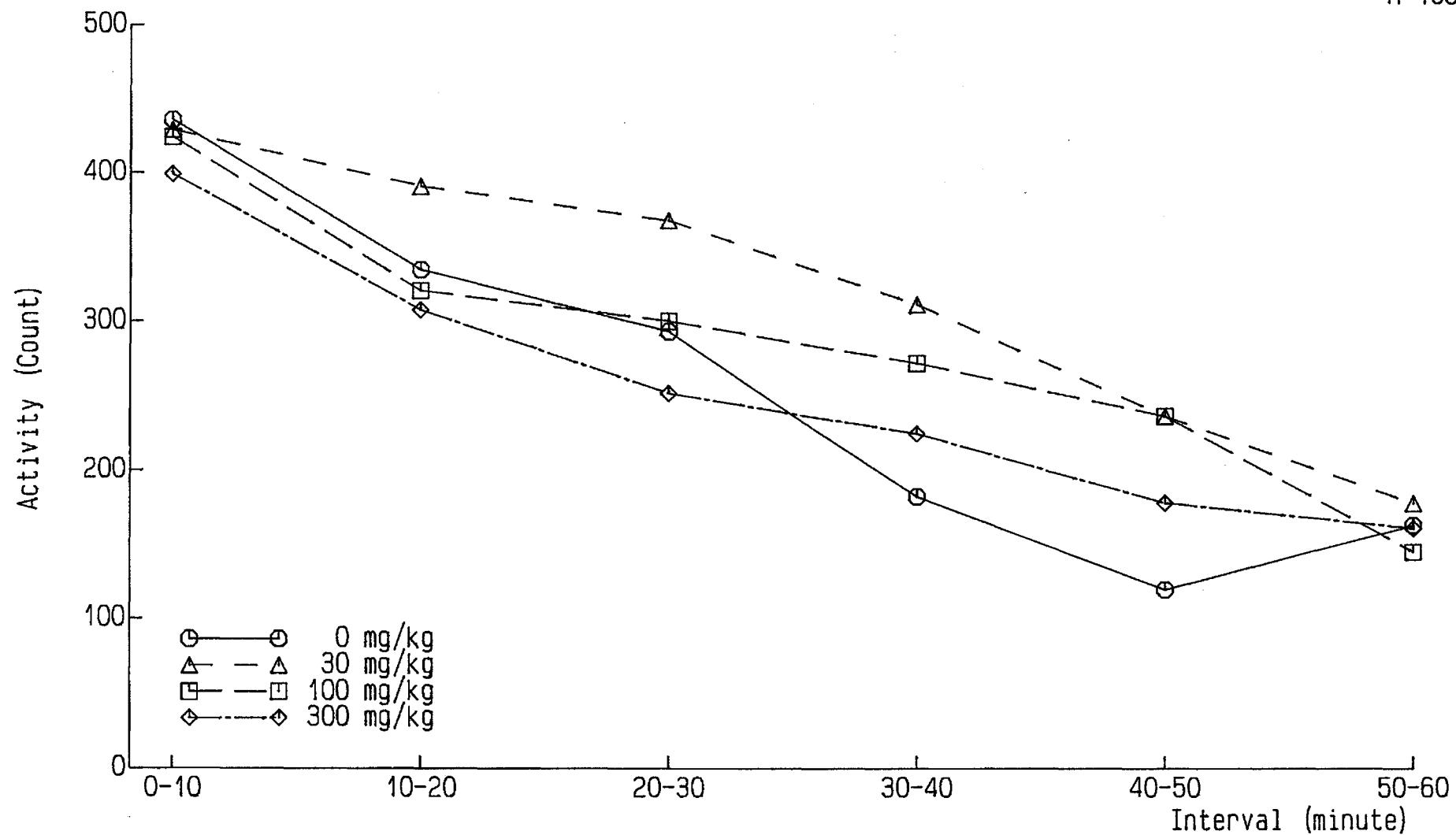


Fig.1 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Motor activity of male rats (Week 6 of administration)

R-1051

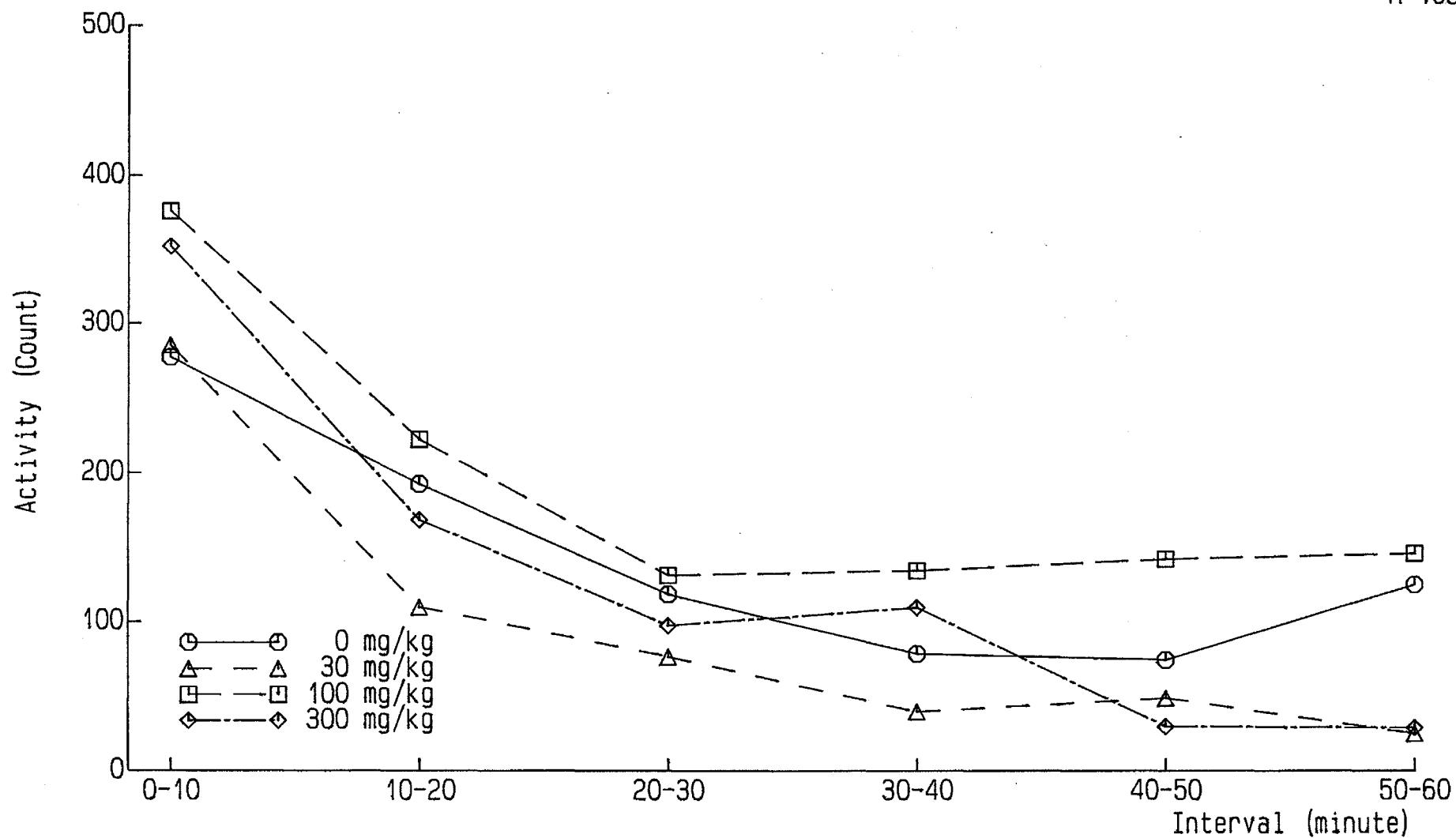


Fig.2 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl) 4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Motor activity of female rats (Main group, Lactation day 4)

R-1051

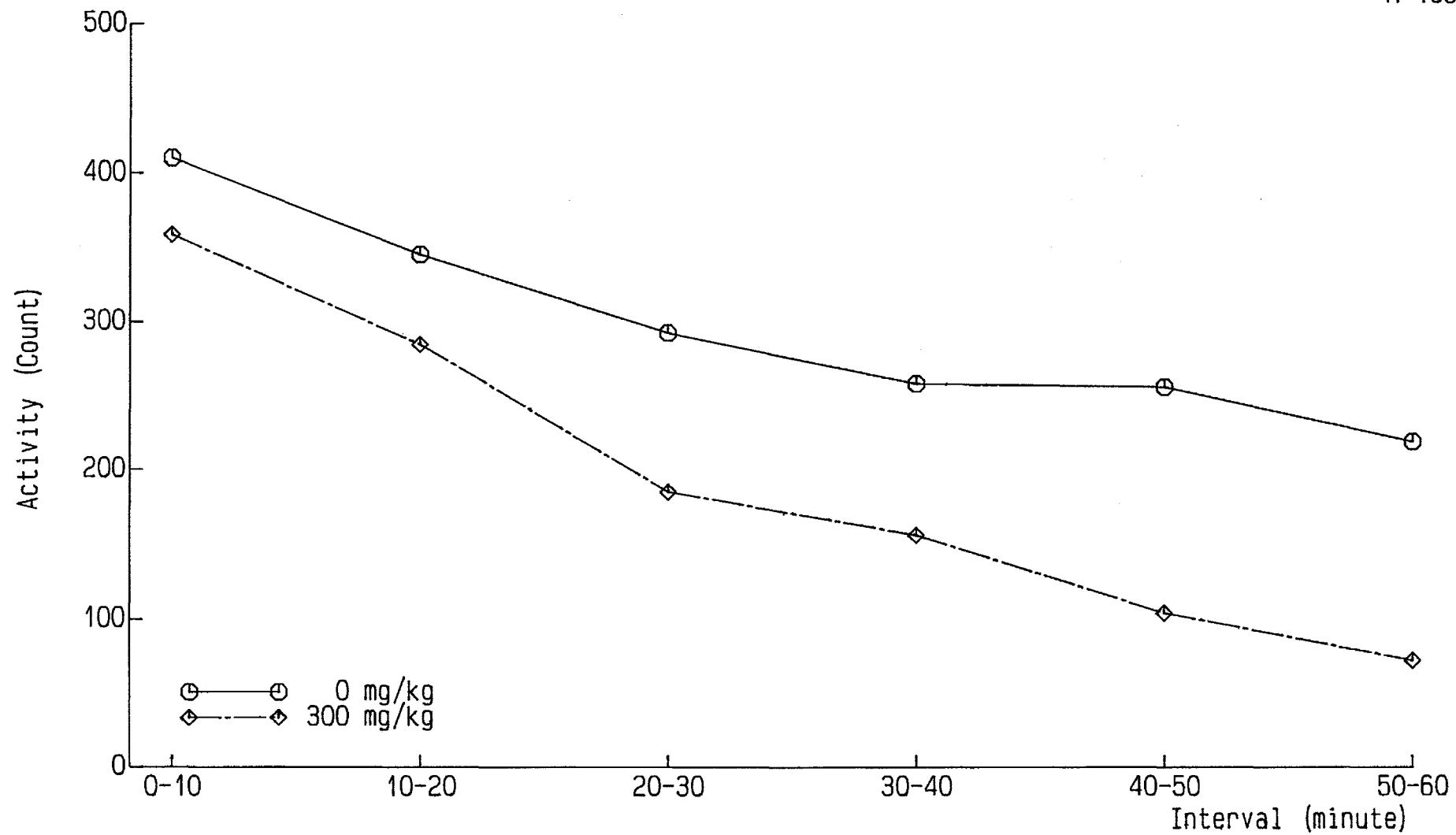


Fig.3 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Motor activity of female rats (Satellite group, Week 6 of administration)

R-1051

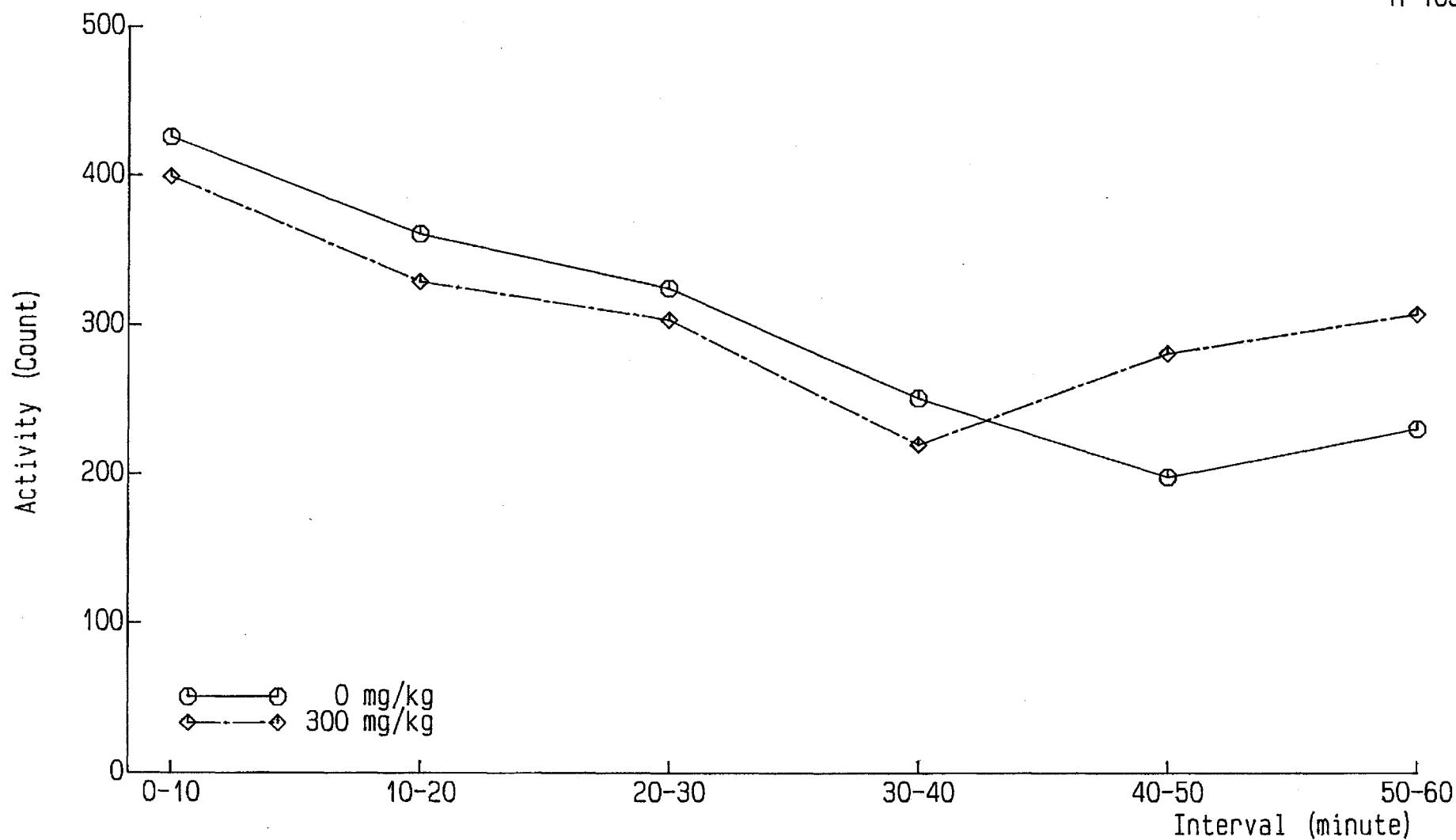


Fig.4 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl) 4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Motor activity of male rats (Week 2 of recovery)

R-1051

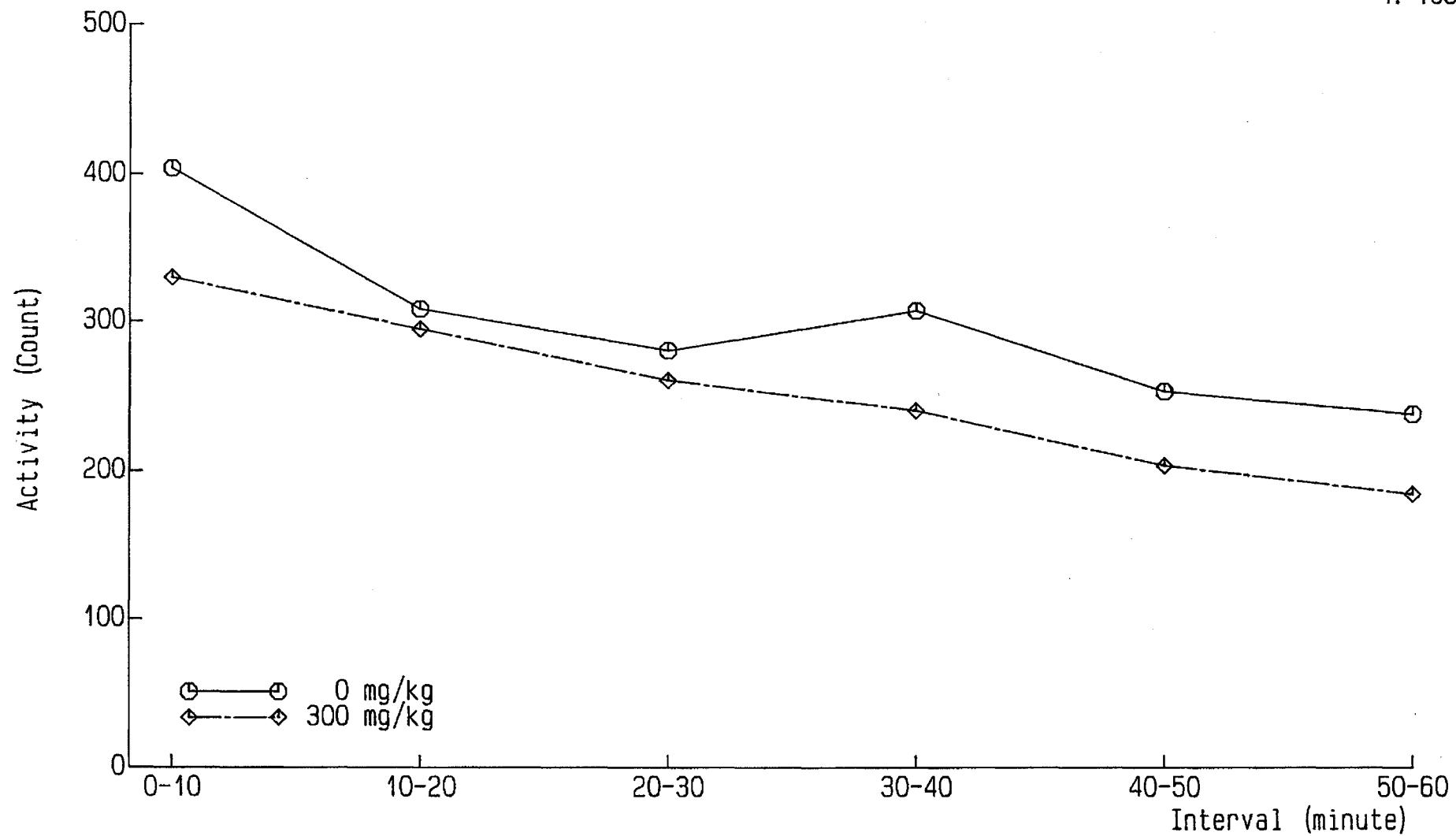


Fig.5 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Motor activity of female rats (Week 2 of recovery)

R-1051

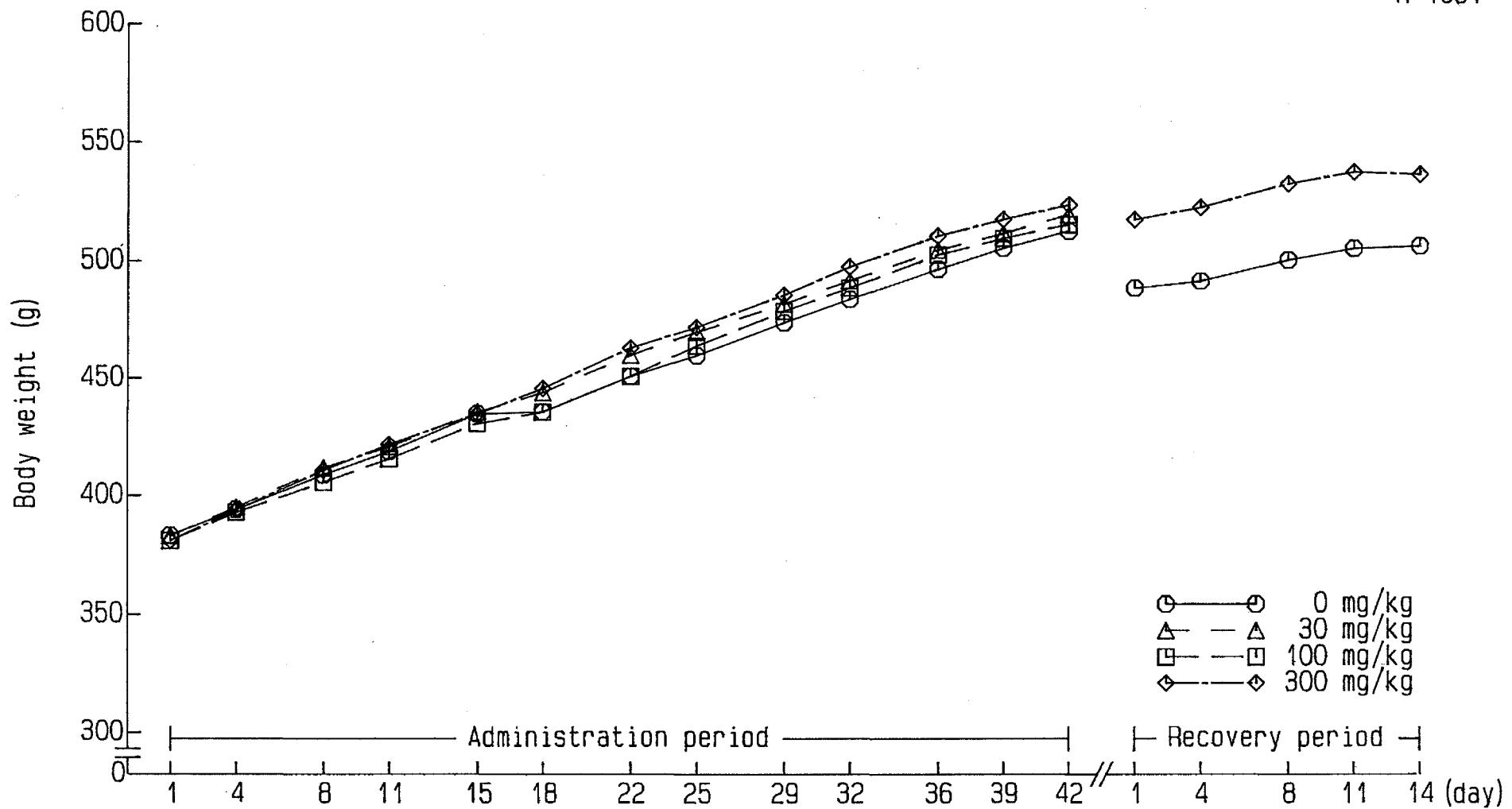


Fig.6 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Body weight of male rats

R-1051

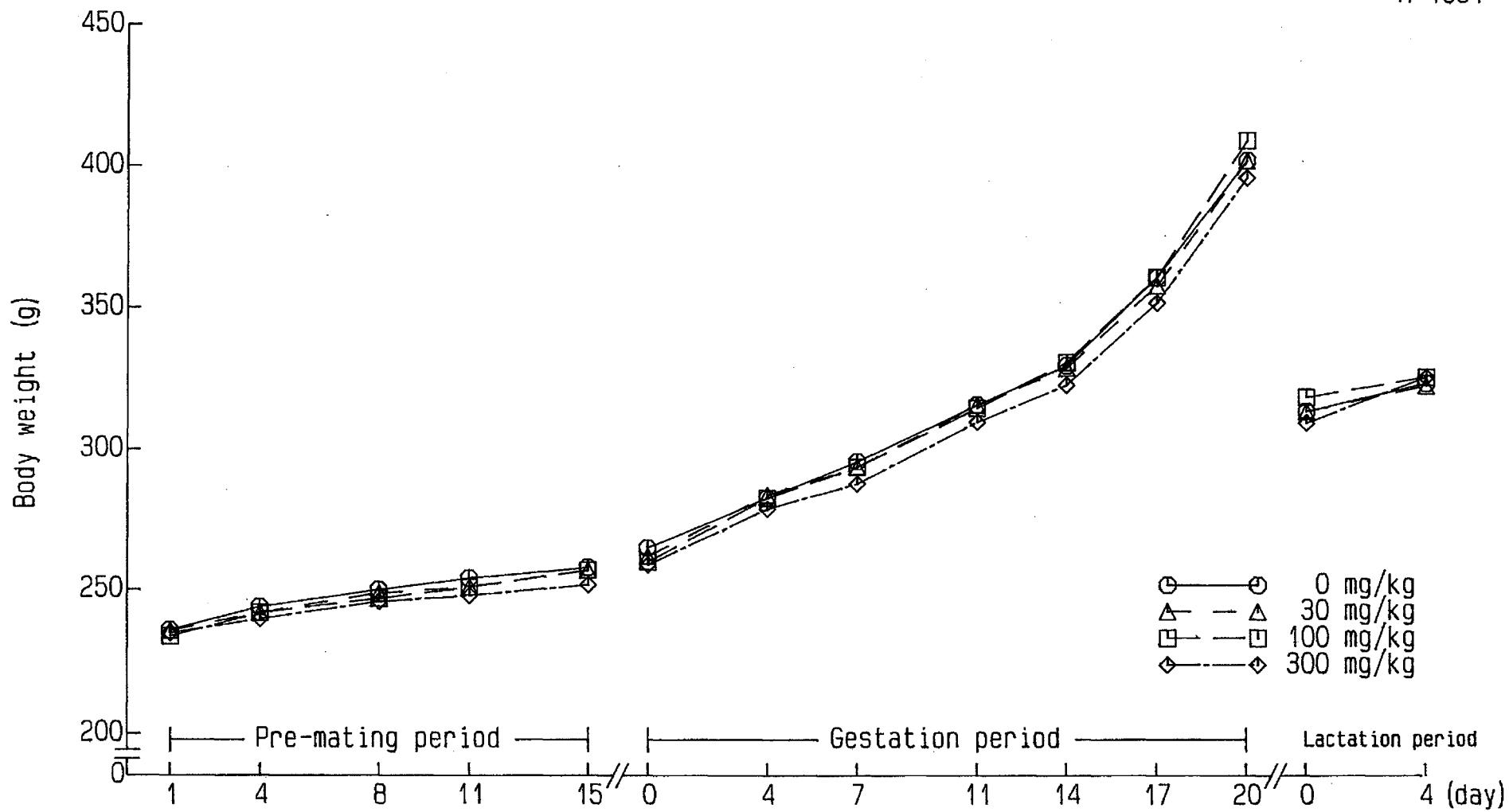


Fig.7 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Body weight of female rats (Main group)

R-1051

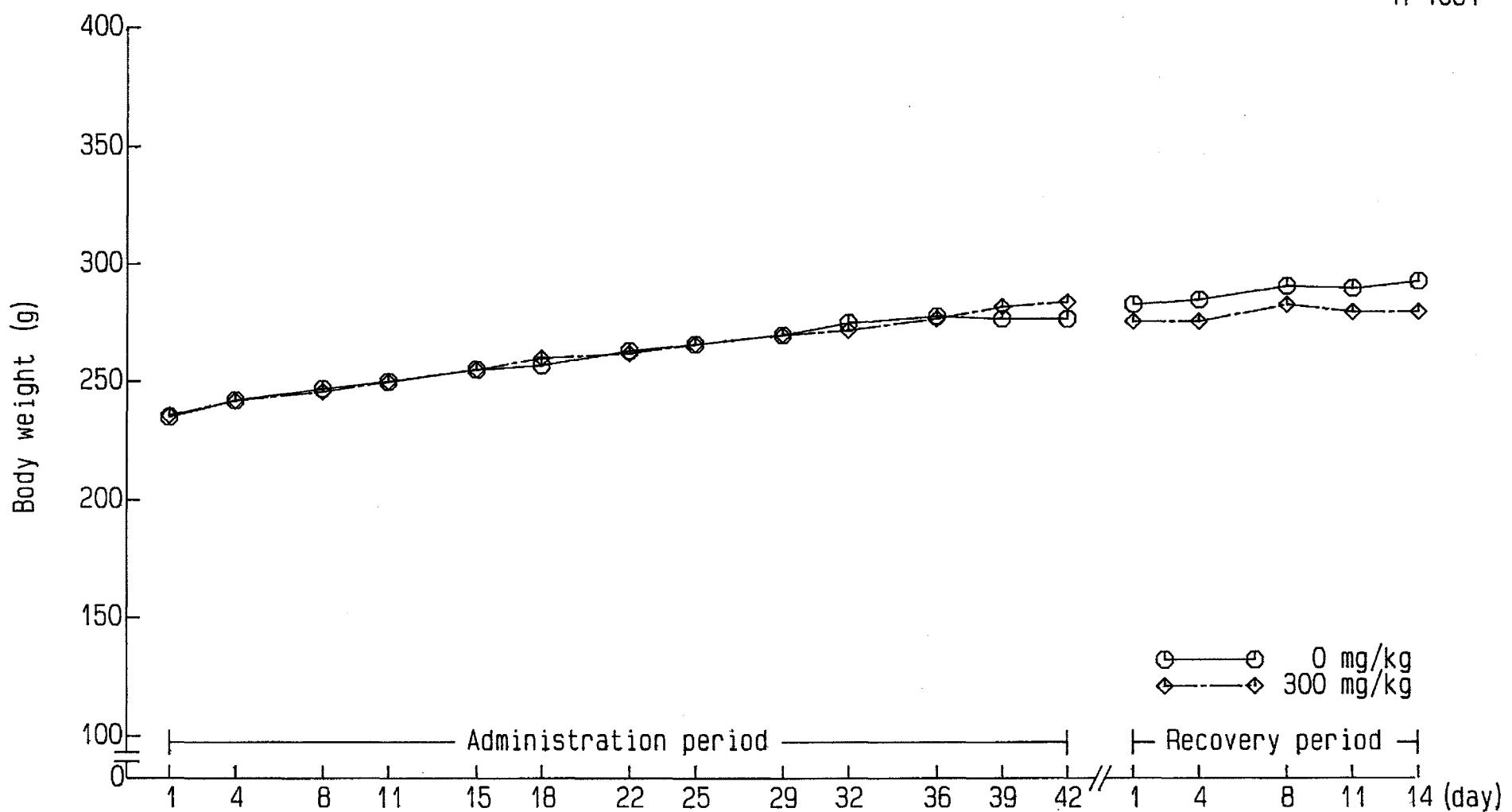


Fig.8 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl) 4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Body weight of female rats (Satellite group)

R-1051

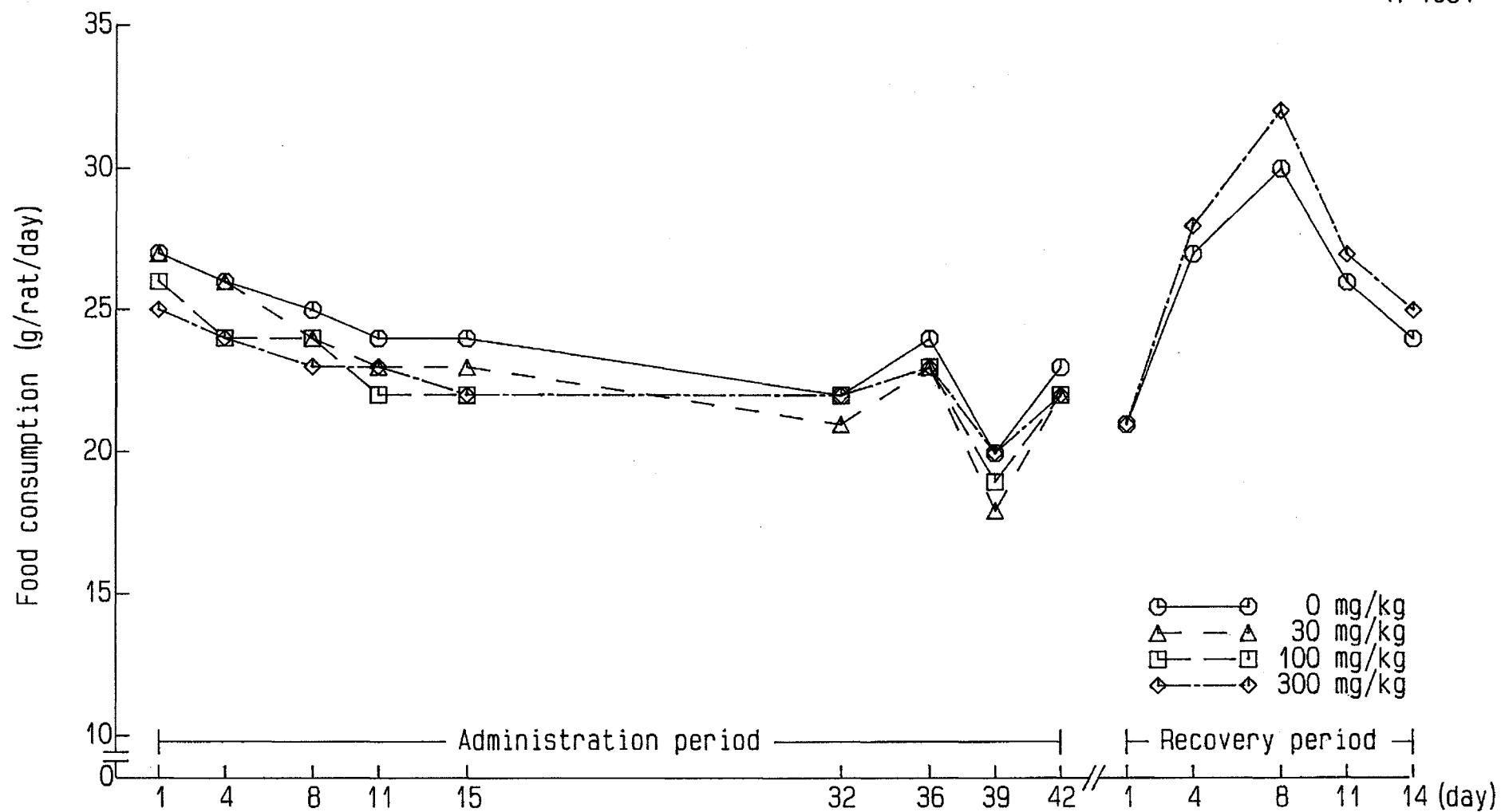


Fig.9 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl) 4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Food consumption of male rats

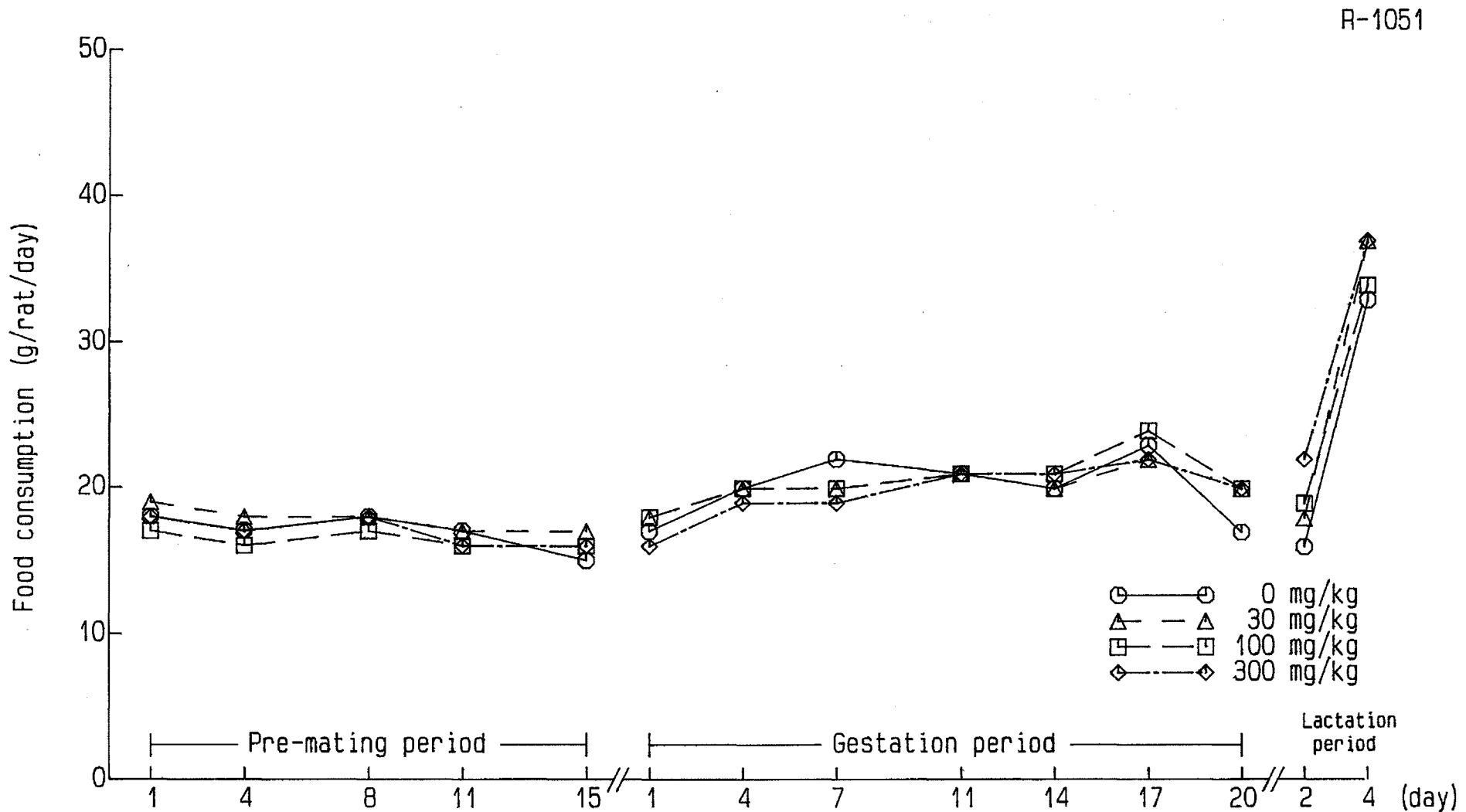


Fig.10 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Food consumption of female rats (Main group)

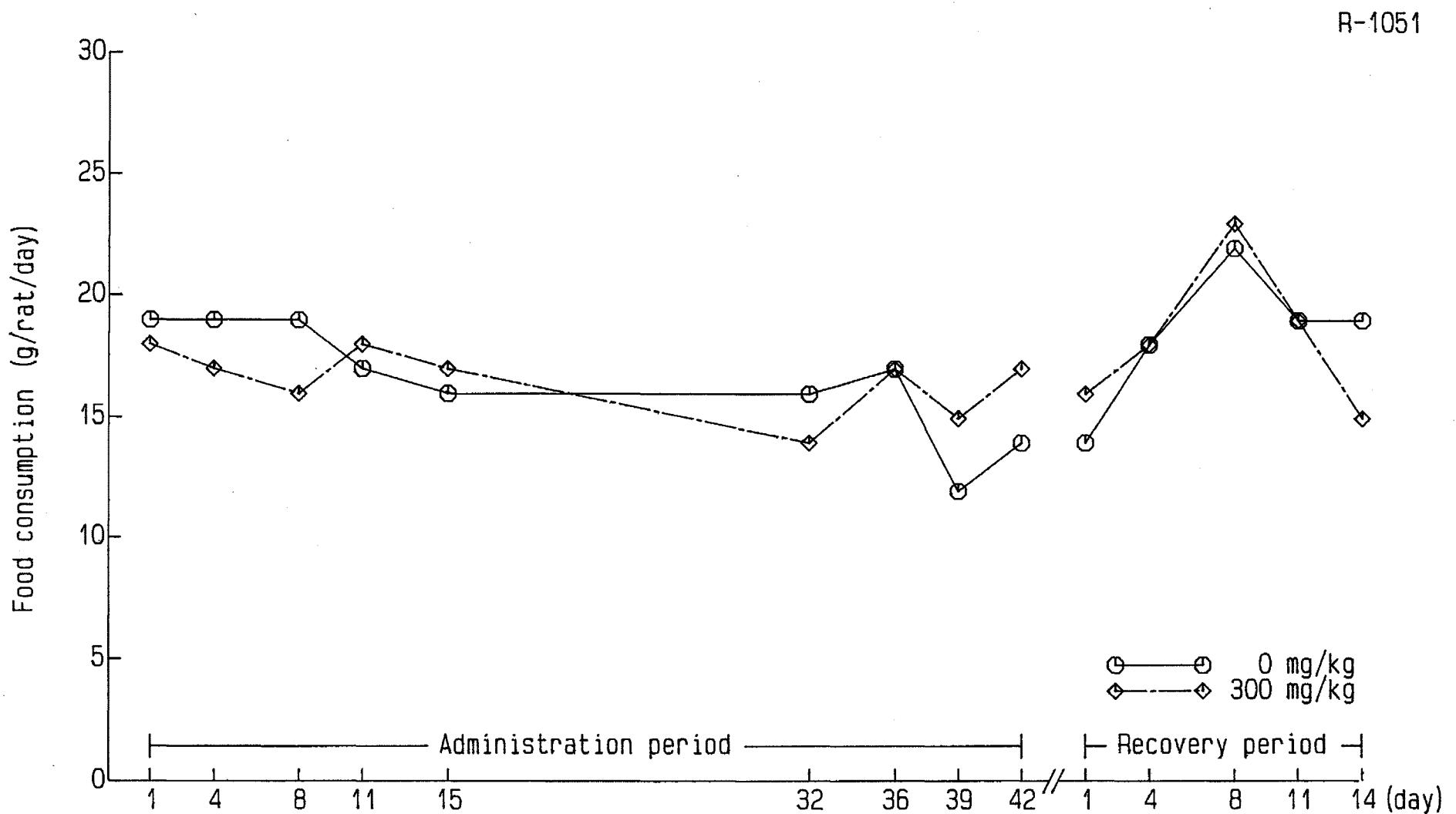


Fig.11 A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate
Food consumption of female rats (Satellite group)

Table 1-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Clinical signs in male rats (Administration period)

Dose mg/kg	Signs	Day of administration					
		1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42
0	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
30	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
100	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
300	No. of animals	12	12	12	12	12	12
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0

Table 1-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Table 1-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Signs	Administration																							
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23a)
0	No. of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	4	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	7	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	1	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
300	No. of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5	0
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a): Gestation day

Table 1-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Signs	Administration				
		0	1	2	3	4a)
0	No. of dams	11	11	11	11	11
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
30	No. of dams	12	12	12	12	12
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
100	No. of dams	12	12	12	12	12
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0
300	No. of dams	12	12	12	12	12
	No. of dams with abnormal findings	0	0	0	0	0

a): Lactation day

Table 1-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Signs	Day of administration					
		1-7	8-14	15-21	22-28	29-35	36-42
0	No. of animals	10	10	10	10	10	10
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0
300	No. of animals	10	10	10	10	10	10
	No. of animals with abnormal findings	0	0	0	0	0	0

Table 1-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Clinical signs in male rats (Recovery period)

Table 1-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Clinical signs in female rats (Recovery period)

Table 2-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture Normal		12	12	12	12
Convulsion None		12	12	12	12
Abnormal behavior None		12	12	12	12

Table 2-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture Normal		12	12	12	12
Convulsion None		12	12	12	12
Abnormal behavior None		12	12	12	12

Table 2-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12

Table 2-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal	12	12	12	12	12
Convulsion					
None	12	12	12	12	12
Abnormal behavior					
None	12	12	12	12	12

Table 2-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Posture					
Normal	12	12	12	12	12
Convulsion					
None	12	12	12	12	12
Abnormal behavior					
None	12	12	12	12	12

Table 2-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12

Table 2-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12

Table 2-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12

Table 2-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12

Table 2-13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12

Table 2-14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-17

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-18

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-19

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-20

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-21

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-22

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-23

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-24

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacration					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-25

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacration					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-26

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-27

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-28

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	11	12	12	12
Soft	0	1	0	0	0
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-29

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-30

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-31

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy	12	12	12	12	12
Fur condition					
Normal	12	12	12	12	12
Skin					
Normal	12	12	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent	12	12	12	12	12
Exophthalmos					
Absent	12	12	12	12	12
Palpebral closure					
Normal	12	12	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal	12	12	12	12	12
Lacrimation					
Normal	12	12	12	12	12
Piloerection					
Absent	12	12	12	12	12
Pupil size					
Normal	12	12	12	12	12
Salivation					
None	12	12	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent	12	12	12	12	12
Vocalization					
None	12	12	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy	12	12	12	12	12

Table 2-32

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		11	12	12	12
Fur condition					
Normal		11	12	12	12
Skin					
Normal		11	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		11	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		11	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		11	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		11	12	12	12
Lacrimation					
Normal		11	12	12	12
Piloerection					
Absent		11	12	12	12
Pupil size					
Normal		11	12	12	12
Salivation					
None		11	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		11	12	12	12
Vocalization					
None		11	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		11	12	12	12

Table 2-33

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		11	12	12	12
Fur condition					
Normal		11	12	12	12
Skin					
Normal		11	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		11	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		11	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		11	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		11	12	12	12
Lacrimation					
Normal		11	12	12	12
Piloerection					
Absent		11	12	12	12
Pupil size					
Normal		11	12	12	12
Salivation					
None		11	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		11	12	12	12
Vocalization					
None		11	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		11	12	12	12

Table 2-34

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		11	12	12	12
Fur condition					
Normal		11	12	12	12
Skin					
Normal		11	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		11	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		11	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		11	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		11	12	12	12
Lacration					
Normal		11	12	12	12
Piloerection					
Absent		11	12	12	12
Pupil size					
Normal		11	12	12	12
Salivation					
None		11	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		11	12	12	12
Vocalization					
None		11	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		11	12	12	12

Table 2-35

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		11	12	12	12
Fur condition					
Normal		11	12	12	12
Skin					
Normal		11	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		11	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		11	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		11	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		11	12	12	12
Lacrimation					
Normal		11	12	12	12
Piloerection					
Absent		11	12	12	12
Pupil size					
Normal		11	12	12	12
Salivation					
None		11	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		11	12	12	12
Vocalization					
None		11	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		11	12	12	12

Table 2-36

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Ease of removal from cage					
Easy		11	12	12	12
Fur condition					
Normal		11	12	12	12
Skin					
Normal		11	12	12	12
Secretions-Eye, Nose					
Absent		11	12	12	12
Exophthalmos					
Absent		11	12	12	12
Palpebral closure					
Normal		11	12	12	12
Mucosal membranes					
Normal		11	12	12	12
Lacrimation					
Normal		11	12	12	12
Piloerection					
Absent		11	12	12	12
Pupil size					
Normal		11	12	12	12
Salivation					
None		11	12	12	12
Abnormal respiration					
Absent		11	12	12	12
Vocalization					
None		11	12	12	12
Reactivity to handling					
Easy		11	12	12	12

Table 2-37

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-38

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-39

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-40

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-41

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-42

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-43

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-44

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-45

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-46

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 2-47

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
No/minimal location	0	0	0		1
Normal	12	12	12	11	
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean+S.D.)	5± 2	5± 2	5± 2	5± 2	
Defecation count (Mean+S.D.)	0± 0	0± 0	0± 0	1± 1	
Urination					
None	9	8	10	10	
Small amount	2	4	2	2	
Moderate amount	1	0	0	0	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-48

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
No/minimal location	0	1	0	0	
Normal	12	11	12	12	
Posture					
Normal	12	12	12	12	
Grooming					
None	12	12	12	12	
Rearing (Mean \pm S.D.)	4 \pm 2	4 \pm 3	4 \pm 2	4 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 1	0 \pm 1	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None	10	10	8	10	
Small amount	2	2	4	2	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-49

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		6 \pm 2	5 \pm 2	6 \pm 2	5 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		11	10	10	12
Small amount		1	2	2	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-50

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		5 \pm 1	5 \pm 2	5 \pm 2	5 \pm 1
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		11	8	10	12
Small amount		1	4	2	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-51

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		5 \pm 1	5 \pm 2	5 \pm 2	4 \pm 1
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 1	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		11	9	11	12
Small amount		1	3	1	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-52

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)	5 \pm 2	5 \pm 2	5 \pm 2	4 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None	10	7	8	12	
Small amount	2	5	4	0	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-53

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		7 \pm 2	8 \pm 2	9 \pm 2	8 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		12	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-54

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	12	12	12	12
Arousal					
Normal		12	12	12	12
Convulsion					
None		12	12	12	12
Abnormal behavior					
None		12	12	12	12
Stereotypy					
None		12	12	12	12
Gait					
Normal		12	12	12	12
Posture					
Normal		12	12	12	12
Grooming					
None		12	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)	8 \pm 2	9 \pm 2	8 \pm 2	8 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None	12	11	12	12	
Small amount	0	1	0	0	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-55

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Arousal					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12
Stereotypy					
None		11	12	12	12
Gait					
Normal		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Grooming					
None		11	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)		7 \pm 2	8 \pm 2	8 \pm 3	8 \pm 2
Defecation count (Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Urination					
None		10	12	12	12
Small amount		1	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-56

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0		30		100		300	
		No. of animals	11	12	12	12	12	12	12
Arousal									
Normal			11		12		12		12
Convulsion									
None			11		12		12		12
Abnormal behavior									
None			11		12		12		12
Stereotypy									
None			11		12		12		12
Gait									
Normal			11		12		12		12
Posture									
Normal			11		12		12		12
Grooming									
None			11		12		12		12
Rearing (Mean+S.D.)			7± 2		7± 2		7± 2		6± 2
Defecation count (Mean+S.D.)			0± 0		0± 0		0± 0		0± 0
Urination									
None			11		12		10		12
Small amount			0		0		2		0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-57

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Arousal					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12
Stereotypy					
None		11	12	12	12
Gait					
Normal		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Grooming					
None		11	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)	6 \pm 2	8 \pm 1*D	6 \pm 2	6 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None		11	12	12	11
Small amount		0	0	0	1

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

D : Dunnett's test

Table 2-58

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	11	12	12	12
Arousal					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12
Stereotypy					
None		11	12	12	12
Gait					
Normal		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Grooming					
None		11	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)	6 \pm 1	6 \pm 2	6 \pm 1	6 \pm 1	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None		11	11	12	12
Small amount		0	1	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-59

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
		11	12	12	12
Arousal					
Normal		11	12	12	12
Convulsion					
None		11	12	12	12
Abnormal behavior					
None		11	12	12	12
Stereotypy					
None		11	12	12	12
Gait					
Normal		11	12	12	12
Posture					
Normal		11	12	12	12
Grooming					
None		11	12	12	12
Rearing (Mean \pm S.D.)	6 \pm 2	7 \pm 1	6 \pm 2	7 \pm 2	
Defecation count (Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Urination					
None		11	12	12	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-60

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-61

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-62

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-63

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-64

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-65

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-66

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-67

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-68

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-69

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-70

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Manipulative test of male rats (Week 6 of administration)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	5	5	5	5
Auditory response					
Normal		5	5	5	5
Approach response					
Normal		5	5	5	5
Touch response					
Normal		5	5	5	5
Tail pinch response					
Normal		5	5	5	5
Pupillary reflex					
Pass, both		5	5	5	5
Aerial righting reflex (Total score: Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Landing foot splay (mm: Mean \pm S.D.)	62 \pm 19	68 \pm 13	77 \pm 26	90 \pm 13	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-71

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
	No. of animals	5	5	5	5
Auditory response					
Normal		5	5	5	5
Approach response					
Normal		5	5	5	5
Touch response					
Normal		5	5	5	5
Tail pinch response					
Normal		5	5	5	5
Pupillary reflex					
Pass, both		5	5	5	5
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean \pm S.D.)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	
Landing foot splay (mm: Mean \pm S.D.)	66 \pm 17	66 \pm 11	70 \pm 18	67 \pm 17	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-72

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal		5	5
Approach response			
Normal		5	5
Touch response			
Normal		5	5
Tail pinch response			
Normal		5	5
Pupillary reflex			
Pass, both		5	5
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Landing foot splay (mm: Mean \pm S.D.)		66 \pm 25	36 \pm 11*T

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

T : Student's t-test

Table 2-73

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Manipulative test of male rats (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal		5	5
Approach response			
Normal		5	5
Touch response			
Normal		5	5
Tail pinch response			
Normal		5	5
Pupillary reflex			
Pass, both		5	5
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean \pm S.D.)		0 \pm 0	0 \pm 0
Landing foot splay (mm: Mean \pm S.D.)		62 \pm 21	88 \pm 17

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-74

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Manipulative test of female rats (Week 2 of recovery)

Parameter	Dose (mg/kg)	0	300
	No. of animals	5	5
Auditory response			
Normal		5	5
Approach response			
Normal		5	5
Touch response			
Normal		5	5
Tail pinch response			
Normal		5	5
Pupillary reflex			
Pass, both		5	5
Aerial righting reflex			
(Total score: Mean+S.D.)		0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean+S.D.)		74±15	52±15*T

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

T : Student's t-test

Table 2-75

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Grip strength of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1395	807
	S.D.	141	106
30	No.	5	5
	Mean	1366	794
	S.D.	360	198
100	No.	5	5
	Mean	1535	920
	S.D.	274	162
300	No.	5	5
	Mean	1666	995
	S.D.	79	152

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-76

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1063	853
	S.D.	155	126
30	No.	5	5
	Mean	1239	769
	S.D.	132	85
100	No.	5	5
	Mean	1323*	800
	S.D.	96D	111
300	No.	5	5
	Mean	1279*	677*
	S.D.	106D	86D

No.: No. of animals

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

D: Dunnett's test

Table 2-77

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1042	713
	S.D.	103	153
300	No.	5	5
	Mean	1011	657
	S.D.	104	87

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-78

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Grip strength of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1812	892
	S.D.	205	91
300	No.	5	5
	Mean	1914	963
	S.D.	161	49

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-79

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Grip strength of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
0	No.	5	5
	Mean	1393	800
	S.D.	148	118
300	No.	5	5
	Mean	1303	698
	S.D.	151	100

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-80

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Motor activity of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	Interval (minutes)							
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)	
0	No. Mean S.D.	5 436 29	5 335 87	5 294 71	5 183 138	5 120 86	5 164 114	5 1531 306
30	No. Mean S.D.	5 429 31	5 391 42	5 368 91	5 312 102	5 238 52	5 179 110	5 1917 317
100	No. Mean S.D.	5 424 18	5 321 83	5 301 101	5 273 147	5 238 125	5 146 165	5 1704 507
300	No. Mean S.D.	5 399 29	5 308 33	5 253 53	5 226 71	5 179 128	5 162 109	5 1528 170

Unit : Count

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-81

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 277 105	5 193 131	5 119 110	5 79 78	5 75 102	5 126 79
30	No. Mean S.D.	5 285 69	5 110 120	5 77 85	5 40 48	5 49 74	5 25 37
100	No. Mean S.D.	5 376 50	5 223 79	5 132 78	5 135 101	5 143 99	5 147 145
300	No. Mean S.D.	5 352 20	5 169 88	5 98 63	5 110 58	5 30 42	5 29 47
							Total(0-60)

Unit : Count

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-82

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Interval (minutes)							
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)	
0	No. Mean S.D.	5 410 79	5 346 110	5 293 107	5 259 128	5 257 101	5 220 67	5 1785 523
300	No. Mean S.D.	5 359 32	5 285 43	5 186 58	5 157 79	5 105* 90T	5 73** 65T	5 1165 174

Unit : Count

No.: No. of animals

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

T: Student's t-test

Table 2-83

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Motor activity of male rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 426 33	5 361 54	5 325 43	5 252 58	5 199 62	5 232 84
300	No. Mean S.D.	5 399 34	5 329 44	5 304 49	5 221 111	5 282* 39T	5 308 43
							1795 1842 75 210

Unit : Count

No.: No. of animals

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

T: Student's t-test

Table 2-84

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Motor activity of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	Interval (minutes)						
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
0	No. Mean S.D.	5 404 52	5 309 71	5 281 38	5 308 98	5 254 64	5 239 103
300	No. Mean S.D.	5 330 55	5 295 41	5 261 49	5 241 33	5 205 89	5 186 141
							1794 286
							1518 271

Unit : Count

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Body weight of male rats (Administration period)

Dose mg/kg	Day of administration													Gain 1-42
	1	4	8	11	15	18	22	25	29	32	36	39	42	
0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	383	394	409	419	435	436	451	460	474	484	497	506	513
	S.D.	17	20	21	22	23	23	25	26	27	26	26	28	30
30	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	383	395	412	421	436	444	460	470	482	492	505	512	520
	S.D.	15	19	21	23	25	27	29	29	31	33	36	36	37
100	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	381	393	406	416	431	436	451	464	479	489	503	510	516
	S.D.	17	18	18	21	23	25	25	26	28	28	32	31	31
300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	381	394	411	422	435	446	463	472	486	498	511	518	524
	S.D.	18	19	22	22	24	26	29	29	32	35	39	40	42

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Day of administration					Gain 1-15
	1	4	8	11	15	
0	No.	12	12	12	12	12
	Mean	236	244	250	254	258
	S.D.	10	9	10	13	12
30	No.	12	12	12	12	12
	Mean	236	242	249	251	257
	S.D.	14	14	17	16	18
100	No.	12	12	12	12	12
	Mean	234	242	247	251	257
	S.D.	11	10	8	6	7
300	No.	12	12	12	12	12
	Mean	235	240	246	248	252
	S.D.	12	10	12	12	13

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Administration							Gain 0-20
	0	4	7	11	14	17	20a)	
0	No.	11	11	11	11	11	11	11
	Mean	265	283	296	316	330	361	402
	S.D.	12	14	15	15	18	23	14
30	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	262	284	294	316	329	358	402
	S.D.	18	19	18	20	23	26	14
100	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	260	283	294	315	331	361	409
	S.D.	8	8	10	12	12	13	16
300	No.	12	12	12	12	12	12	12
	Mean	259	279	288	310	323	352	396
	S.D.	14	12	10	11	11	12	18

Unit: g

No.: No. of dams

a): Gestation day

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Administration		
	0	4a)	Gain 0-4
0	No.	11	11
	Mean	314	324
	S.D.	23	17
30	No.	12	12
	Mean	314	323
	S.D.	19	24
100	No.	12	12
	Mean	319	326
	S.D.	19	15
300	No.	12	12
	Mean	310	326
	S.D.	18	14

Unit: g

No.: No. of dams

a): Lactation day

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Day of administration													Gain 1-42
	1	4	8	11	15	18	22	25	29	32	36	39	42	
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
0	Mean	235	242	247	250	255	257	263	266	270	275	278	277	277
0	S.D.	8	9	8	8	8	10	11	10	11	11	12	13	11
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
300	Mean	236	242	246	250	255	260	262	266	270	272	277	282	284
300	S.D.	9	10	14	15	19	21	22	22	24	26	30	30	28

Unit: g

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Body weight of male rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery					Gain 1-14	
	1	4	8	11	14		
0	No. Mean S.D.	5 489 16	5 492 14	5 501 21	5 506 17	5 507 22	5 19 12
300	No. Mean S.D.	5 518 36	5 523 38	5 533 41	5 538 41	5 537 45	5 18 11

Unit: g

No.: No. of animals

a): Day of administration

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Body weight of female rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery					Gain 1-14
	1	4	8	11	14	
0	No.	5	5	5	5	5
	Mean	283	285	291	290	293
	S.D.	14	13	15	9	11
300	No.	5	5	5	5	5
	Mean	276	276	283	280	280
	S.D.	13	15	18	15	14

Unit: g

No.: No. of animals

a): Day of administration

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Food consumption of male rats (Administration period)

Dose mg/kg	Day of administration								
	1	4	8	11	15	32	36	39	42
0	No. Mean S.D.	12 27 1	12 26 3	12 25 2	12 24 2	12 22 2	12 24 3	12 20 2	12 23 3
30	No. Mean S.D.	12 27 3	12 26 3	12 24 3	12 23 2	12 21 3	12 23 3	12 18 2	12 22 3
100	No. Mean S.D.	12 26 3	12 24 2	12 24 3	12 22 2	12 22 2	12 23 3	12 19 2	12 22 2
300	No. Mean S.D.	12 25 4	12 24 2	12 23 2	12 22 3	12 22 4	12 23 3	12 20 4	12 22 3

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Day of administration				
	1	4	8	11	15
0	No.	12	12	12	12
	Mean	18	17	18	17
	S.D.	2	2	3	3
30	No.	12	12	12	12
	Mean	19	18	18	17
	S.D.	2	3	3	3
100	No.	12	12	12	12
	Mean	17	16	17	16
	S.D.	3	2	3	2
300	No.	12	12	12	12
	Mean	18	17	18	16
	S.D.	3	2	2	2

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Administration						
	1	4	7	11	14	17	20a)
0	No. Mean S.D.	11 17 2	11 20 2	11 22 3	11 21 2	11 20 3	11 23 4
30	No. Mean S.D.	12 18 4	12 20 2	12 20 1	12 21 2	12 20 3	12 22 2
100	No. Mean S.D.	12 18 2	12 20 2	12 20 3	12 21 2	12 24 3	12 20 4
300	No. Mean S.D.	12 16 2	12 19 1	12 19* 2D	12 21 2	12 22 2	12 20 3

Unit: g/rat/day

No.: No. of dams

a): Gestation day

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

D: Dunnett's test

Table 4-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Administration		
	2	4a)	
0	No. Mean S.D.	11 16 6	11 33 7
30	No. Mean S.D.	12 18 4	12 37 5
100	No. Mean S.D.	12 19 3	12 34 5
300	No. Mean S.D.	12 22** 3D	12 37 6

Unit: g/rat/day

No.: No. of dams

a): Lactation day

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

D: Dunnett's test

Table 4-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	Day of administration								
	1	4	8	11	15	32	36	39	42
0	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	19	19	19	17	16	16	17	12
	S.D.	2	2	2	2	3	2	3	3
300	No.	10	10	10	10	10	10	10	10
	Mean	18	17	16	18	17	14	17	15*
	S.D.	3	4	4	3	3	4	3T	3T

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

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

T: Student's t-test

Table 4-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Food consumption of male rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery				
	1	4	8	11	14
0	No. Mean S.D.	5 21 2	5 27 2	5 30 3	5 26 2
300	No. Mean S.D.	5 21 1	5 28 2	5 32 3	5 27 3

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Food consumption of female rats (Recovery period)

Dose mg/kg	Day of recovery				
	1	4	8	11	14
0	No.	5	5	5	5
	Mean	14	18	22	19
	S.D.	2	2	3	1
300	No.	5	5	5	5
	Mean	16	18	23	19
	S.D.	3	3	6	2

Unit: g/rat/day

No.: No. of animals

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

AT: Aspin-Welch t-test

Table 5-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein					2) Ketone body					3) Glucose								
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	
0	5	0	0	0	0	1	0	0	4		0	0	4	1	0	0	2	2	1	0	0	0	4	1	0	0	0	0	
30	5	0	0	0	0	0	1	2	2		0	3	1	1	0	0	1	2	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0	
100	5	0	0	0	0	0	0	2	2	1		0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0	0	0
300	5	0	0	0	0	0	0	2	2	1		0	0	4	1	0	0	1	3	1	0	0	0	5	0	0	0	0	0

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

Table 5-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0
30	5	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0
100	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0
300	5	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0

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

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

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

7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of male rats (Week 6 of administration)

Dose mg/kg	No.	URINE SEDIMENT												CRYSTALLIZATION						
		RBC			WBC			SEC			SREC			Cast			PS			
		-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+-	++	+++	-	+-	++
0	5	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0
30	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0
100	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0

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

Table 5-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Water intake and urinalysis (Week 6 of administration)

Male

Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	40	9.0	2124
		S.D.	10	3.3	673
30	5	Mean	40	11.0	1764
		S.D.	4	2.9	352
100	5	Mean	42	11.7	1992
		S.D.	8	5.4	565
300	5	Mean	43	11.8	2006
		S.D.	8	6.2	352

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 5-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

Table 5-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0

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

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

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

7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

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

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

Table 5-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Female

Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	33	7.5	1901
		S.D.	8	5.4	915
300	5	Mean	39	7.5	1936
		S.D.	6	2.8	395

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

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

Table 5-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

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

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

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

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

7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of male rats (Week 2 of recovery)

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

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

Table 5-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	42	14.3	2038
		S.D.	12	4.2	356
300	5	Mean	49	19.3	1939
		S.D.	13	5.6	254

No significant difference between treated group and control group.

Table 5-13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of female rats (Week 2 of recovery)

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

Table 5-14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of female rats (Week 2 of recovery)

Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color		
		-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
0	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0
300	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	5	0

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

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

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

7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow

Table 5-15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Urinalysis of female rats (Week 2 of recovery)

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

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

Table 5-16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery)

Female

Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
0	5	Mean	37	9.1	2432
		S.D.	13	8.0	1314
300	5	Mean	31	10.3	2026
		S.D.	7	4.6	543

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.	RBC X10 ⁶ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	7	Mean 864	15.2	44.4	51.5	17.6	34.2	2.2	112.7	13.3	21.7	278
		S.D. 37	0.6	1.4	2.3	0.9	0.3	0.4	9.7	0.7	2.5	17
30	5	Mean 869	15.0	43.8	50.5	17.2	34.1	2.1	110.1	13.3	20.9	274
		S.D. 35	0.3	0.7	1.4	0.6	0.6	0.2	11.9	0.8	1.9	23
100	5	Mean 897	15.4	44.9	50.1	17.1	34.2	1.9	101.8	14.2	23.1	270
		S.D. 38	0.6	1.6	1.2	0.1	0.7	0.3	13.3	1.3	3.5	20
300	7	Mean 873	15.1	44.2	50.7	17.3	34.2	2.1	118.5	14.8	25.3	304
		S.D. 41	0.4	1.1	1.4	0.5	0.3	0.4	14.2	2.5	4.0	30

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.	WBC X10 ³ /μL	Differential leukocyte counts (%)						Differential leukocyte counts (X10 ² /μL)						
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	7	Mean	92.0	71.5	24.4	1.0	0.3	2.2	0.6	65.9	22.4	0.9	0.2	2.0	0.5
		S.D.	13.5	3.2	3.5	0.2	0.1	0.6	0.2	10.8	4.3	0.2	0.1	0.6	0.2
30	5	Mean	83.3	73.4	21.4	1.7*	0.2	2.8	0.5	60.8	18.0	1.4*	0.2	2.4	0.4
		S.D.	10.8	5.8	5.2	0.4D	0.1	1.0	0.2	5.3	6.3	0.4D	0.1	1.1	0.2
100	5	Mean	103.4	77.2	19.1	1.2	0.4	1.7	0.4	79.7	19.9	1.2	0.4**	1.8	0.4
		S.D.	16.3	2.9	2.8	0.3	0.1	0.2	0.1	12.0	5.0	0.2	0.1D	0.3	0.1
300	7	Mean	66.3*	72.7	23.3	1.3	0.3	2.1	0.4	48.7*	15.0*	0.9	0.2	1.4	0.3*
		S.D.	19.5D	7.3	7.5	0.5	0.1	0.7	0.2	16.6D	5.5D	0.3	0.1	0.6	0.1D

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

Table 6-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (Lactation day 5)

Female

Dose mg/kg	No.	RBC X10 ⁶ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL	
0	11	Mean S.D.	720 33	12.9 0.7	38.5 2.1	53.5 1.8	18.0 0.6	33.7 0.2	6.2 1.0	145.5 17.8	12.4 0.8	17.6 3.5	320 69
30	5	Mean S.D.	730 18	13.6 0.3	40.1 1.4	54.9 2.2	18.6 0.5	33.8 0.5	6.6 2.5	146.0 18.0	12.4 0.5	18.4 1.4	304 53
100	5	Mean S.D.	729 15	13.4 0.5	40.0 1.6	54.9 1.5	18.4 0.4	33.5 0.5	6.9 0.7	160.6 17.4	12.5 0.7	17.5 2.3	299 71
300	12	Mean S.D.	711 50	13.0 0.8	38.8 2.2	54.8 3.0	18.4 0.9	33.6 0.4	7.3 3.1	156.8 16.8	12.3 0.7	18.2 2.8	312 74

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (Lactation day 5)

Female

Dose mg/kg	No.	WBC X10 ³ /μL	Differential leukocyte counts (%)						Differential leukocyte counts (X10 ² /μL)						
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	11	Mean	120.9	55.0	40.9	0.7	0.2	2.6	0.6	64.2	52.0	0.8	0.2	3.0	0.7
		S.D.	42.6	13.5	14.6	0.3	0.1	0.9	0.4	22.2	28.8	0.2	0.2	1.5	0.4
30	5	Mean	107.8	70.3*	25.0*	0.6	0.3	3.2	0.6	75.7	27.2	0.7	0.3	3.4	0.7
		S.D.	15.6	3.3D	4.1D	0.2	0.1	0.8	0.4	10.5	7.1	0.2	0.1	0.8	0.5
100	5	Mean	113.9	63.5	33.0	0.6	0.2	2.2	0.5	72.1	37.8	0.7	0.2	2.5	0.6
		S.D.	6.0	7.7	8.4	0.2	0.0	0.6	0.3	7.8	11.1	0.2	0.1	0.6	0.3
300	12	Mean	122.1	61.9	33.8	0.7	0.2	2.8	0.7	75.4	41.4	0.8	0.3	3.4	0.8
		S.D.	26.3	11.8	11.5	0.2	0.1	1.1	0.3	22.2	17.9	0.2	0.1	1.6	0.5

LUC : Large unstained cells

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

D : Dunnett's test

Table 6-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.	RBC X10 ⁶ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 ³ /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	5	Mean 12	854 0.3	15.3 0.5	44.0 1.1	51.6 0.5	17.9 0.4	34.7 0.3	1.4 13.8	124.7 0.4	11.5 2.0	17.9 31
300	5	Mean S.D.	814 48	14.7 0.6	42.0 1.8	51.6 2.1	18.1 0.7	35.0 0.3	1.8 0.7	124.6 7.5	11.3 0.3	16.9 0.6

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.	WBC X10 ³ /μL	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts (X10 ³ /μL)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	80.3	82.5	13.8	1.2	0.2	1.7	0.6	65.2	11.9	1.0	0.2	1.5	0.5
		S.D.	25.6	6.4	5.7	0.2	0.1	0.6	0.1	17.0	8.1	0.4	0.1	1.0	0.2
300	5	Mean	69.0	75.8	20.2	1.7	0.2	1.6	0.5	51.1	15.0	1.2	0.1	1.1	0.3
		S.D.	15.9	12.7	11.9	0.8	0.1	0.4	0.1	9.3	12.2	0.8	0.0	0.5	0.0

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (End of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁶ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 ³ /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	5	Mean	923	15.7	46.0	49.9	17.0	34.0	1.9	107.2	14.5	23.6	272
		S.D.	22	0.4	1.4	1.4	0.4	0.2	0.5	10.0	1.2	3.5	23
300	5	Mean	918	15.6	46.1	50.2	17.0	33.9	1.7	98.6	14.4	22.7	289
		S.D.	21	0.6	1.8	1.3	0.4	0.5	0.4	5.3	2.1	3.8	21

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (End of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.	WBC ×10 ³ /μL	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts (×10 ³ /μL)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	84.7	80.8	15.5	1.2	0.3	1.8	0.3	69.3	12.3	0.9	0.2	1.6	0.3
		S.D.	24.1	5.9	5.9	0.6	0.1	0.7	0.2	23.1	3.2	0.2	0.1	1.0	0.2
300	5	Mean	90.8	74.1	21.5	1.3	0.2	2.5	0.4	68.0	18.7*	1.2	0.2	2.2	0.4
		S.D.	31.6	4.6	4.9	0.6	0.1	0.8	0.3	27.1	4.6T	0.6	0.1	0.9	0.4

LUC : Large unstained cells

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

T : Student's t-test

Table 6-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (End of recovery)

Female

Dose mg/kg	No.	RBC X10 ⁶ /μL	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Reticu- locyte %	Plate- let X10 ³ /μL	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
0	5	Mean 856	15.4	43.9	51.3	18.0	35.1	1.7	120.3	11.5	16.3	196
		S.D. 32	0.6	1.4	2.5	0.9	0.3	0.4	16.3	0.4	2.2	24
300	5	Mean 835	15.3	43.2	51.7	18.3	35.4	1.8	118.9	11.3	18.8	204
		S.D. 22	0.5	1.3	1.8	0.6	0.3	0.4	7.0	0.6	2.6	35

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hematology (End of recovery)

Female

Dose mg/kg	No.	WBC $\times 10^3/\mu\text{L}$	Differential leukocyte counts (%)					Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)							
			Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	Lymph.	Neut.	Eosino.	Baso.	Mono.	LUC	
0	5	Mean	57.1	72.9	23.2	1.5	0.2	1.8	0.4	41.4	13.6	0.9	0.1	1.0	0.2
		S.D.	9.3	8.0	7.9	0.4	0.1	0.2	0.2	6.5	6.0	0.3	0.0	0.3	0.1
300	5	Mean	69.9	72.5	22.8	1.4	0.2	2.5*	0.6	50.7	16.0	1.0	0.1	1.7*	0.4
		S.D.	10.9	5.3	6.1	0.3	0.0	0.6T	0.4	8.7	5.1	0.2	0.1	0.5T	0.3

LUC : Large unstained cells

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

T : Student's t-test

Table 7-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	7	Mean	67	32	64	1	427	51	45	83	0.1	146
		S.D.	10	4	20	0	90	6	9	8	0.0	10
30	5	Mean	64	27	55	1	386	47	39	80	0.1	146
		S.D.	11	6	14	0	60	10	19	12	0.0	6
100	5	Mean	59	28	51	1	360	53	34	79	0.0	142
		S.D.	7	1	11	0	28	12	8	11	0.1	12
300	7	Mean	59	27	59	1	380	50	37	79	0.0**	141
		S.D.	11	5	14	0	106	7	13	10	0.0DT	13

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

DT : Dunnett-type rank test

Table 7-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	7	Mean	14	0.30	144	4.7	108	9.8	6.3	6.1	3.2	1.11
		S.D.	2	0.04	1	0.1	1	0.3	0.5	0.2	0.1	0.08
30	5	Mean	12	0.29	143	4.7	107	9.7	6.4	6.0	3.2	1.14
		S.D.	1	0.02	1	0.3	2	0.1	0.2	0.2	0.1	0.00
100	5	Mean	12	0.32	144	4.7	107	9.8	6.3	6.0	3.2	1.17
		S.D.	1	0.02	1	0.4	0	0.3	0.3	0.3	0.1	0.08
300	7	Mean	12	0.27	144	4.8	107	10.1	6.6	6.3	3.3	1.06
		S.D.	2	0.04	1	0.4	1	0.3	0.5	0.2	0.2	0.07

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (Lactation day 5)

Female

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	11	Mean	74	43	44	1	211	49	40	100	0.0	125
		S.D.	10	11	10	0	37	9	10	13	0.1	14
30	5	Mean	67	38	45	1	217	47	38	91	0.1	118
		S.D.	3	7	8	1	63	8	18	16	0.0	12
100	5	Mean	73	41	51	1	306	42	39	84	0.1	135
		S.D.	5	8	11	0	78	6	14	13	0.1	16
300	12	Mean	75	44	45	1	232	56	47	104	0.0	126
		S.D.	15	11	10	0	92	8	19	12	0.0	12

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (Lactation day 5)

Female

Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	11	Mean	15	0.33	143	4.4	110	10.0	6.5	6.2	3.3	1.19
		S.D.	2	0.04	1	0.3	2	0.1	0.7	0.3	0.1	0.07
30	5	Mean	14	0.27*	141	4.7	109	10.1	7.1	6.2	3.3	1.16
		S.D.	1	0.03D	2	0.3	1	0.2	0.6	0.4	0.2	0.07
100	5	Mean	13	0.28	141	4.7	109	9.9	6.6	6.1	3.4	1.24
		S.D.	1	0.02	3	0.2	2	0.1	0.8	0.4	0.2	0.09
300	12	Mean	17	0.31	142	4.5	108*	10.2	6.8	6.4	3.5	1.18
		S.D.	2	0.05	1	0.2	2D	0.2	0.7	0.3	0.2	0.09

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

Table 7-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	71	28	61	1	283	55	12	104	0.1	111
		S.D.	18	11	27	0	98	14	2	23	0.0	4
300	5	Mean	52	22	51	1	173	61	13	108	0.0	130*
		S.D.	7	3	10	1	43	11	5	20	0.1	15AT

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

AT : Aspin-Welch t-test

Table 7-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean 3	18 0.02	143 1	4.2 0.3	110 1	10.1 0.2	6.2 0.6	6.6 0.2	3.7 0.2	1.30 0.08
300	5	Mean S.D.	19 2	0.39 0.05	144 1	3.9 0.3	111 1	10.2 0.2	6.0 0.5	6.8 0.2	3.8 0.2
											1.23 0.06

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (End of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.		AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	62	29	41	1	391	48	32	78	0.1	142
		S.D.	8	4	9	0	42	10	13	12	0.0	14
300	5	Mean	64	28	49	1	319	50	39	82	0.1	155
		S.D.	5	5	9	0	126	4	14	5	0.0	15

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (End of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean S.D.	16 3	0.33 0.06	143 1	4.5 0.2	107 2	8.9 0.1	5.8 0.5	6.1 0.1	3.2 0.1
300	5	Mean S.D.	18 2	0.32 0.03	143 2	4.6 0.2	107 1	9.2 0.2	5.9 0.2	6.1 0.2	3.2 0.1

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (End of recovery)

Female

Dose mg/kg	No.	AST (GOT) IU/L	ALT (GPT) IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL
0	5	Mean	72	34	47	1	172	62	24	120	0.1
		S.D.	21	12	19	0	50	8	15	20	0.0
300	5	Mean	127	62	87	1	134	70	25	130	0.1
		S.D.	132	70	104	1	25	12	12	21	0.0
											128
											17
											118
											24

No significant difference between treated group and control group.

Table 7-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Blood chemistry (End of recovery)

Female

Dose mg/kg	No.	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G
0	5	Mean 1	0.36 0.05	142 1	4.3 0.2	109 2	9.5 0.2	4.7 0.4	6.7 0.2	3.7 0.3	1.26 0.16
300	5	Mean 3	0.36 0.03	142 1	4.3 0.5	110 2	9.5 0.3	4.8 0.8	6.7 0.4	3.7 0.4	1.24 0.17

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hormones (End of administration)

Male

Dose mg/kg	No.		T ₃ ng/dL	T ₄ μg/dL	TSH ng/mL
0	7	Mean	64.3	5.7	4.53
		S.D.	16.8	1.7	2.31
30	5	Mean	65.8	7.0	1.98
		S.D.	12.3	2.2	0.84
100	5	Mean	63.7	5.4	9.03
		S.D.	11.3	0.5	4.35
300	7	Mean	67.8	5.5	7.64
		S.D.	18.0	1.9	3.96

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hormones (Lactation day 5)

Female

Dose mg/kg	No.		T ₃ ng/dL	T ₄ μg/dL	TSH ng/mL
0	11	Mean	67.6	4.1	4.84
		S.D.	15.7	0.6	2.54
30	5	Mean	83.0	5.4	8.23
		S.D.	13.2	1.6	9.75
100	5	Mean	69.5	4.4	4.89
		S.D.	17.4	0.9	2.88
300	12	Mean	72.2	4.6	5.59
		S.D.	15.5	1.3	3.08

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hormones (Satellite group, End of administration)

Female

Dose mg/kg	No.		T ₃ ng/dL	T ₄ μg/dL	TSH ng/mL
0	5	Mean	82.6	4.6	2.66
		S.D.	18.8	1.4	2.02
300	5	Mean	91.8	5.0	4.98
		S.D.	11.5	1.3	1.36

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hormones (End of recovery)

Male

Dose mg/kg	No.		T _s ng/dL	T ₄ μg/dL	TSH ng/mL
0	5	Mean	60.2	5.4	2.16
		S.D.	9.5	1.1	2.25
300	5	Mean	66.5	5.9	2.05
		S.D.	7.7	0.8	0.87

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Hormones (End of recovery)

Female

Dose mg/kg	No.		T ₃ ng/dL	T ₄ μg/dL	TSH ng/mL
0	5	Mean	76.2	3.0	2.83
		S.D.	15.3	0.2	1.31
300	5	Mean	76.5	4.4	1.69
		S.D.	26.0	1.4	1.11

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Organ weight of male rats (End of administration period)

	Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	7 507 18	7 2.07 0.04	7 13.3 2.4	7 21.8 4.9	7 277 43
Absolute	30	No. Mean S.D.	5 503 39	5 2.13 0.06	5 12.3 0.6	5 25.0 4.5	5 252 49
	100	No. Mean S.D.	5 487 16	5 2.08 0.07	5 12.7 1.4	5 22.2 2.1	5 299 86
	300	No. Mean S.D.	7 506 45	7 2.13 0.08	7 14.3 0.9	7 23.6 4.7	7 294 64
	0	No. Mean S.D.	7 0.41 0.01	7 2.6 0.4	7 4.3 1.0	7 54 7	7 0.28 0.04
Relative	30	No. Mean S.D.	5 0.42 0.03	5 2.4 0.1	5 5.0 0.9	5 50 7	5 0.27 0.01
	100	No. Mean S.D.	5 0.43 0.02	5 2.6 0.3	5 4.6 0.5	5 61 16	5 0.27 0.01
	300	No. Mean S.D.	7 0.42 0.04	7 2.8 0.2	7 4.7 1.0	7 58 8	7 0.29 0.04

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Organ weight of male rats (End of administration period)

Dose mg/kg		Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	
		g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	
Absolute	0	No. Mean S.D.	7 13.30 0.91	7 0.78 0.09	7 2.94 0.25	7 59 9
	30	No. Mean S.D.	5 13.65 1.88	5 0.73 0.08	5 2.97 0.30	5 58 9
	100	No. Mean S.D.	5 13.28 0.90	5 0.77 0.19	5 2.86 0.10	5 61 12
Relative	300	No. Mean S.D.	7 15.01 1.72	7 0.73 0.11	7 3.36** 0.21D	7 69 7
	0	No. Mean S.D.	7 2.62 0.13	7 0.16 0.02	7 0.58 0.04	7 12 2
	30	No. Mean S.D.	5 2.71 0.29	5 0.15 0.02	5 0.59 0.03	5 11 1
	100	No. Mean S.D.	5 2.73 0.13	5 0.16 0.04	5 0.59 0.03	5 12 3
	300	No. Mean S.D.	7 2.96** 0.11D	7 0.14 0.01	7 0.67** 0.04D	7 14 2

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

D: Dunnett's test

Table 9-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Organ weight of male rats (End of administration period)

	Dose mg/kg		Body weight g	Testis (R+L) g(g/100g BW)	Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)
	0	No.	7	7	7
	0	Mean	507	3.17	1274
	0	S.D.	18	0.34	99
Absolute	30	No.	12	12	12
Absolute	30	Mean	501	3.21	1338
Absolute	30	S.D.	34	0.32	95
	100	No.	12	12	12
	100	Mean	493	3.28	1327
	100	S.D.	30	0.37	107
	300	No.	7	7	7
	300	Mean	506	3.42	1348
	300	S.D.	45	0.15	151
	0	No.	7	7	7
	0	Mean	0.63	251	251
	0	S.D.	0.06	21	21
Relative	30	No.	12	12	12
Relative	30	Mean	0.64	268	268
Relative	30	S.D.	0.07	23	23
	100	No.	12	12	12
	100	Mean	0.67	270	270
	100	S.D.	0.09	27	27
	300	No.	7	7	7
	300	Mean	0.68	268	268
	300	S.D.	0.07	34	34

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

	Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	11 296 15	11 1.99 0.09	11 17.7 2.1	11 17.2 2.2	11 186 45
Absolute	30	No. Mean S.D.	5 288 18	5 1.93 0.12	5 16.9 2.5	5 18.3 3.1	5 199 36
	100	No. Mean S.D.	5 305 14	5 1.96 0.13	5 16.7 1.5	5 18.4 2.3	5 210 47
	300	No. Mean S.D.	12 297 17	12 1.97 0.07	12 16.0 1.3	12 19.4 2.6	12 215 38
	0	No. Mean S.D.	11 0.67 0.04	11 6.0 0.9	11 5.8 0.8	11 63 14	11 0.31 0.02
Relative	30	No. Mean S.D.	5 0.67 0.07	5 5.9 0.9	5 6.4 0.9	5 70 14	5 0.33 0.01
	100	No. Mean S.D.	5 0.64 0.05	5 5.5 0.6	5 6.1 1.0	5 68 13	5 0.32 0.03
	300	No. Mean S.D.	12 0.67 0.03	12 5.4 0.5	12 6.6 0.9	12 72 12	12 0.33 0.02

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg		Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	Ovary (R+L)	Uterus
		g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	11	11	11	11	11
		Mean	9.20	0.61	1.79	75	104.9
		S.D.	0.71	0.06	0.12	10	14.5
	30	No.	5	5	5	5	5
		Mean	9.15	0.64	1.93	79	106.2
		S.D.	0.89	0.13	0.19	6	12.3
	100	No.	5	5	5	5	5
		Mean	9.91	0.68	1.97*	86	106.6
		S.D.	0.66	0.07	0.07D	12	10.0
	300	No.	12	12	12	12	12
		Mean	10.68**	0.65	1.94*	79	104.5
		S.D.	0.81D	0.10	0.12D	14	14.1
Relative	0	No.	11	11	11	11	11
		Mean	3.11	0.20	0.61	35.5	244
		S.D.	0.22	0.02	0.06	4	31
	30	No.	5	5	5	5	5
		Mean	3.17	0.22	0.67	28	36.9
		S.D.	0.13	0.04	0.06	1	3.8
	100	No.	5	5	5	5	5
		Mean	3.25	0.22	0.64	28	34.9
		S.D.	0.21	0.02	0.04	4	3.2
	300	No.	12	12	12	12	12
		Mean	3.60**	0.22	0.65	27	35.3
		S.D.	0.21D	0.03	0.05	4	5.1

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

D: Dunnett's test

Table 9-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

	Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	264	1.96	18.0	349	0.82
		S.D.	11	0.05	3.4	122	0.02
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	279	1.92	16.5	304	0.85
		S.D.	32	0.07	2.4	95	0.08
Relative	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.74	6.8	6.5	131	0.31
		S.D.	0.03	1.3	0.7	42	0.01
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.69	6.0	6.7	108	0.31
		S.D.	0.07	1.2	1.2	29	0.02

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Dose mg/kg		Liver		Spleen		Kidney (R+L)		Adrenal (R+L)		Ovary (R+L)		Uterus	
		g(g/100g BW)		g(g/100g BW)		g(g/100g BW)		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)	
Absolute	0	No.	5	5		5		5		5		5	
		Mean	6.50	0.52		1.69		68		81.8		462	
		S.D.	0.32	0.07		0.05		7		12.7		84	
	300	No.	5	5		5		5		5		5	
		Mean	8.37*	0.47		1.80*		76		87.0		599	
		S.D.	1.13AT	0.08		0.08T		5		20.6		188	
Relative	0	No.	5	5		5		5		5		5	
		Mean	2.46	0.20		0.64		26		31.1		174	
		S.D.	0.10	0.02		0.02		3		5.5		25	
	300	No.	5	5		5		5		5		5	
		Mean	3.01**	0.17*		0.65		27		31.1		218	
		S.D.	0.26AT	0.01T		0.07		2		5.5		77	

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

T: Student's t-test

AT: Aspin-Welch t-test

Table 9-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Organ weight of male rats (End of recovery period)

	Dose mg/kg	Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	481	2.17	13.7	245	1.39
		S.D.	22	0.07	1.4	73	0.16
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	510	2.17	12.9	264	1.40
		S.D.	41	0.10	1.5	36	0.12
Relative	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.45	2.9	4.5	51	0.29
		S.D.	0.02	0.3	0.5	18	0.03
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	0.43	2.5	4.4	52	0.27
		S.D.	0.05	0.4	1.0	8	0.02

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Organ weight of male rats (End of recovery period)

Dose mg/kg		Liver		Spleen		Kidney (R+L)		Adrenal (R+L)		Testis (R+L)		Epididymis (R+L)	
			g(g/100g BW)		g(g/100g BW)		g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)		g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	11.43		0.67		2.88		63		3.45		1375
		S.D.	0.86		0.08		0.24		8		0.14		38
	300	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	13.85*		0.73		3.06		64		3.30		1348
		S.D.	1.97T		0.15		0.22		8		0.08		120
Relative	0	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	2.38		0.14		0.60		13		0.72		287
		S.D.	0.15		0.01		0.05		1		0.05		16
	300	No.	5		5		5		5		5		5
		Mean	2.71*		0.14		0.60		13		0.65		265
		S.D.	0.22T		0.02		0.04		2		0.05		25

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

T: Student's t-test

Table 9-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Organ weight of female rats (End of recovery period)

	Dose mg/kg		Body weight g	Brain g(g/100g BW)	Pituitary mg(mg/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	277	1.95	16.2	16.9	232	0.87
		S.D.	10	0.04	1.2	2.1	60	0.04
	300	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	263	1.97	16.9	16.9	241	0.84
		S.D.	13	0.04	2.3	1.5	55	0.07
Relative	0	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.71	5.8	6.1	84	0.32	
		S.D.	0.03	0.3	0.9	22	0.01	
	300	No.	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.75	6.4	6.4	91	0.32	
		S.D.	0.04	0.9	0.6	21	0.02	

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Organ weight of female rats (End of recovery period)

	Dose mg/kg	Liver g(g/100g BW)	Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	Ovary (R+L) mg(mg/100g BW)	Uterus mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	6.63	0.54	1.74	79.6	678
		S.D.	0.36	0.07	0.15	11.0	157
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	7.03	0.51	1.74	85.7	619
		S.D.	0.84	0.08	0.06	12.4	42
Relative	0	No.	5	5	5	5	5
		Mean	2.40	0.19	0.63	28.8	245
		S.D.	0.08	0.03	0.06	4.1	56
	300	No.	5	5	5	5	5
		Mean	2.67	0.19	0.66	32.5	235
		S.D.	0.27	0.02	0.03	4.3	16

No significant difference between treated group and control group.

Table 10-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Organs Findings	Sex: Number:	M 0 7	M 30 12	M 100 12	M 300 7
Epididymis Focus,white		0	0	1	2
Stomach Nodule Focus,dark red,grandular stomach		1 0	0 1	0 0	0 0

M : Male

Table 10-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 5	F 300 5
All tissues			
Not remarkable		5	5

F : Female

Table 10-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

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

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 11	F 30 12	F 100 12	F 300 12
Stomach Focus,dark red.grandular stomach		2	1	8	3

F : Female

Table 10-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Gross pathological findings (End of recovery period)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 5	M 300 5	F 0 5	F 300 5
Intestine, ileum(Peyer's patch) Diverticulum		1	0	0	0
Stomach Focus,dark red,grandular stomach		0	0	0	1

M : Male, F : Female

Table 10-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Gross pathological findings (Undelivered)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg):	0
	Number:	1
All tissues		
Not remarkable		1

F : Female

Table 11-1

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 7	M 30 12	M 100 12	M 300 7
Adrenal					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Bone+Bone marrow,femoral					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Bone+Bone marrow,sternal					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Cerebellum(pons)					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Cerebrum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Epididymis					
Number examined		7	12	12	7
Not remarkable		5	8	9	3
Cell infiltration,interstitial		2	4	2	2
minimal		2	4	2	2
Granuloma,spermatic		0	0	1	2
mild		0	0	1	2
Eye					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Heart					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		5	0	0	6
Cell infiltration		2	0	0	1
minimal		2	0	0	1
Intestine,duodenum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,jejunum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,ileum(Peyer's patch)					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,cecum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,colon					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Intestine,rectum					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7

M : Male

Table 11-2

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 7	M 30 12	M 100 12	M 300 7
Kidney					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		2	0	0	1
Cyst		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Regeneration,tubular		5	0	0	6
minimal		5	0	0	6
Urinary cast,hyaline		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Liver					
Number examined		7	12	12	7
Not remarkable		1	2	1	3
Microgranuloma		6	10	11	4
minimal		6	10	11	4
Hypertrophy,hepatocytic,central		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Lung(bronchus)					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		4	0	0	5
Appearance,alveolar macrophage		2	0	0	0
minimal		2	0	0	0
Cell infiltration,alveolar		1	0	0	1
minimal		1	0	0	1
Metaplasia,osseous		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Lymph node,mesenteric					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Lymph node,submandibular					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Mammary gland,inguinal					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Parathyroid					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Pituitary					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		6	0	0	6
Cyst		1	0	0	1
minimal		1	0	0	1
Prostate					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		2	0	0	3
Cell infiltration,inflammatory		5	0	0	4
minimal		3	0	0	4
mild		2	0	0	0
Sciatic nerve					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7

M : Male

Table 11-3

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs	Sex:	M 0 Number: 7	M 30 12	M 100 12	M 300 7
Findings	Dose(mg/kg):				
Seminal vesicle					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Spinal cord, thoracic					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Spleen					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		1	0	0	1
Hematopoiesis, extramedullary		6	0	0	6
minimal		5	0	0	4
mild		1	0	0	2
Stomach					
Number examined		7	1	0	7
Not remarkable		6	0	0	7
Cyst, epidermal		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Erosion, glandular stomach		0	1	0	0
minimal		0	1	0	0
Testis					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Thymus					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Thyroid					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		3	0	0	5
Ectopic thymus		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Remnant, ultimobranchial body		4	0	0	1
minimal		4	0	0	1
Trachea					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		7	0	0	7
Urinary bladder					
Number examined		7	0	0	7
Not remarkable		6	0	0	7
Cell infiltration, mucosal		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0

M : Male

Table 11-4

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 5	F 300 5
Adrenal			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Bone+Bone marrow,femoral			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Bone+Bone marrow,sternal			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Cerebellum(pons)			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Cerebrum			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Eye			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Heart			
Number examined		5	5
Not remarkable		4	5
Cell infiltration		1	0
minimal		1	0
Intestine,duodenum			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Intestine,jejunum			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Intestine,ileum(Peyer's patch)			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Intestine,cecum			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Intestine,colon			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Intestine,rectum			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Kidney			
Number examined		5	5
Not remarkable		4	5
Regeneration,tubular		1	0
minimal		1	0

F : Female

Table 11-5

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 5	F 300 5
Liver			
Number examined		5	5
Microgranuloma		5	3
minimal		5	3
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	3
minimal		0	3
Lung(bronchus)			
Number examined		5	5
Not remarkable		4	4
Appearance,alveolar macrophage		1	1
minimal		0	1
mild		1	0
Lymph node,mesenteric			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Lymph node,submandibular			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Mammary gland,inguinal			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Ovary			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Parathyroid			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Pituitary			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Sciatic nerve			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Spinal cord,thoracic			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Spleen			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	4
Hematopoiesis,extramedullary		0	1
minimal		0	1
Stomach			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Thymus			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5

F : Female

Table 11-6

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (D42))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 5	F 300 5
Thyroid			
Number examined		5	5
Not remarkable		4	4
Remnant, ultimobranchial body		1	1
minimal		1	1
Trachea			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Urinary bladder			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Uterus			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5
Vagina			
Number examined		5	5
Not remarkable		5	5

F : Female

Table 11-7

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (L4))

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	F 0 11	F 30 12	F 100 12	F 300 12
Adrenal					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Bone+Bone marrow,femoral					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Bone+Bone marrow,sternal					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Cerebellum(pons)					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Cerebrum					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Eye					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Heart					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Intestine,duodenum					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Intestine,jejunum					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Intestine,ileum(Peyer's patch)					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Intestine,cecum					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Intestine,colon					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Intestine,rectum					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Kidney					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		10	0	0	11
Dilatation,tubular		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Regeneration,tubular		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Liver					
Number examined		11	12	12	12
Not remarkable		5	9	5	3

F : Female

Table 11-8

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (L4))

Organs	Sex:	F 0 Number: 11	F 30 12	F 100 12	F 300 12
Findings	Dose(mg/kg):				
Liver (continued)					
Hematopoiesis, extramedullary		1	1	2	2
minimal		1	1	2	2
Microgranuloma		6	2	5	6
minimal		6	2	5	6
Capsulitis		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	0	1	3
minimal		0	0	1	3
Lung(bronchus)					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		8	0	0	11
Appearance, alveolar macrophage		3	0	0	1
minimal		2	0	0	1
mild		1	0	0	0
Lymph node,mesenteric					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Lymph node,submandibular					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Mammary gland,inguinal					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Ovary					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Parathyroid					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Pituitary					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Sciatic nerve					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Spinal cord,thoracic					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Spleen					
Number examined		11	0	0	12
Hematopoiesis, extramedullary		11	0	0	12
minimal		5	0	0	5
mild		6	0	0	7
Stomach					
Number examined		11	1	3	12
Not remarkable		9	0	0	9
Erosion,glandular stomach		2	1	3	3
minimal		2	1	3	3

F : Female

Table 11-9

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of administration period (L4))

Organs	Sex:	F 0 Number: 11	F 30 12	F 100 12	F 300 12
Findings	Dose(mg/kg):				
Thymus					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		8	0	0	10
Atrophy		3	0	0	2
minimal		3	0	0	2
Thyroid					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		8	0	0	10
Remnant, ultimobranchial body		3	0	0	2
minimal		3	0	0	2
Trachea					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Urinary bladder					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Uterus					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12
Vagina					
Number examined		11	0	0	12
Not remarkable		11	0	0	12

F : Female

Table 11-10

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (End of recovery period)

Organs Findings	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 5	M 300 5	F 0 5	F 300 5
Epididymis					
Number examined		5	5	-	-
Not remarkable		4	0	-	-
Cell infiltration, interstitial		1	0	-	-
minimal		1	0	-	-
Intestine, ileum(Peyer's patch)					
Number examined		1	0	0	0
Diverticulum, Meckel's		1	0	0	0
mild		1	0	0	0
Liver					
Number examined		5	5	5	5
Not remarkable		1	3	0	1
Microgranuloma		4	2	5	4
minimal		4	2	5	4
Stomach					
Number examined		0	0	0	1
Erosion, glandular stomach		0	0	0	1
minimal		0	0	0	1

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 11-11

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (Undelivered)

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

F : Female

Table 11-12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (Undelivered)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg):	0
	Number:	1
Lung(bronchus)		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Lymph node,mesenteric		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Lymph node,submandibular		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Mammary gland,inguinal		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Ovary		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Parathyroid		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Pituitary		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Sciatic nerve		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Spinal cord,thoracic		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Spleen		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Stomach		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Thymus		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Thyroid		
Number examined	1	
Remnant,ultimobranchial body	1	
minimal	1	
Trachea		
Number examined	1	
Not remarkable	1	
Urinary bladder		
Number examined	1	
Not remarkable	1	

F : Female

Table 11-13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Histopathological findings (Undelivered)

Organs	Sex:	F
Findings	Dose(mg/kg):	0
	Number:	1
Uterus		
Number examined		1
Not remarkable		1
Vagina		
Number examined		1
Not remarkable		1

F : Female

Table 12

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Estrous cycle in female rats during the pre-mating period

Dose mg/kg	No. of animals	Count of estrus						Mean duration of cycles Mean±S.D.
		0	1	2	3	4	Mean±S.D.	
0	12	0	0	0	5	7	3.6±0.5	4.2±0.4
30	12	0	0	0	7	5	3.4±0.5	4.2±0.3
100	12	0	0	1	8	3	3.2±0.6	4.1±0.3
300	12	0	0	0	6	6	3.5±0.5	4.0±0.1

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 13

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Mating and fertility of animals

Dose mg/kg	No. of males	Male			Female			Fertility index (%) c)
		Days until copulation Mean+S.D.	Copulation index (%) a)	Insemination index (%) b)	No. of females	Days until copulation Mean+S.D.	Copulation index (%) a)	
0	12	3.3±1.3	12/12(100.0)	11/12(91.7)	12	3.3±1.3	12/12(100.0)	11/12(91.7)
30	12	2.5±1.4	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.5±1.4	12/12(100.0)	12/12(100.0)
100	12	2.0±1.1*D	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.0±1.1*D	12/12(100.0)	12/12(100.0)
300	12	2.4±1.1	12/12(100.0)	12/12(100.0)	12	2.4±1.1	12/12(100.0)	12/12(100.0)

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

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

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

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

D: Dunnett's test

Table 14

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Delivery data on dams

Dose mg/kg		No. of pregnant females	No. of females with liveborns	Delivery index % a)	Gestation length in days	No. of corpora lutea	No. of implan- tation sites	Implan- tation index % b)	No. of stillborns (%)c)	No. of liveborns	Live birth index % d)
0	Total	11	11	100.0	22.0 0.4	163	160	98.3 2.9	1 (0.6)	151	94.2 5.5
	Mean					14.8	14.5		(1.9)	13.7	
	S.D.					2.0	1.9			2.1	
30	Total	12	12	100.0	21.9 0.3	185	183	99.1 2.2	3 (1.8)	161	88.0 7.5
	Mean					15.4	15.3		(3.2)	13.4	
	S.D.					1.9	1.7			1.9	
100	Total	12	12	100.0	21.7 0.5	181	176	97.3 3.3	3 (1.8)	164	93.4 8.7
	Mean					15.1	14.7		(4.4)	13.7	
	S.D.					1.1	1.0			1.4	
300	Total	12	12	100.0	21.9 0.3	174	170	97.6 3.5	2 (1.3)	156	91.5 7.5
	Mean					14.5	14.2		(2.9)	13.0	
	S.D.					1.2	1.5			2.0	

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

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

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

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

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 15

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Sex ratio and external examination of pups

Dose mg/kg	No. of dams	Liveborns		Sex ratio of liveborns at birth a)	Day 4		Sex ratio of live pups on day 4 b)	External c) abnor- malities (%)d)
		No. of males	No. of females		No. of males	No. of females		
0	11	Total	72	79	70	78	0.48	0 (0.0)
		Mean	6.5	7.2	6.4	7.1	0.48	(0.0)
		S.D.	2.1	2.6	1.9	2.5	0.15	(0.0)
30	12	Total	91	70	89	70	0.56	0 (0.0)
		Mean	7.6	5.8	7.4	5.8	0.56	(0.0)
		S.D.	1.8	1.8	1.7	1.8	0.10	(0.0)
100	12	Total	89	75	89	74	0.54	0 (0.0)
		Mean	7.4	6.3	7.4	6.2	0.54	(0.0)
		S.D.	1.6	1.5	1.6	1.4	0.10	(0.0)
300	12	Total	71	85	69	85	0.44	0 (0.0)
		Mean	5.9	7.1	5.8	7.1	0.44	(0.0)
		S.D.	2.6	2.2	2.6	2.2	0.19	(0.0)

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

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

c): No. of liveborns with external abnormalities

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

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 16

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Viability index of pups

Dose mg/kg	No. of dams	No. of live pups		Viability index on postnatal day 4 % a)
		Day 0	Day 4	
0	Total	11	151	148
	Mean		13.7	13.5
	S.D.		2.1	2.1
30	Total	12	161	159
	Mean		13.4	13.3
	S.D.		1.9	2.0
100	Total	12	164	163
	Mean		13.7	13.6
	S.D.		1.4	1.2
300	Total	12	156	154
	Mean		13.0	12.8
	S.D.		2.0	1.9

a): $(\text{No. of live pups on day 4} / \text{No. of liveborns on day 0}) \times 100$
No significant difference in any treated groups from control group.

Table 17

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Body weight of pups

Dose mg/kg	Male			Female		
	0	4a)	Gain	0	4a)	Gain
0	No. Mean S.D.	11 6.6 0.5	11 9.7 1.1	11 3.1 0.7	11 6.2 0.4	11 3.1 0.7
30	No. Mean S.D.	12 6.6 0.4	12 9.9 0.7	12 3.2 0.5	12 6.2 0.4	12 3.1 0.4
100	No. Mean S.D.	12 6.4 0.5	12 9.6 1.0	12 3.2 0.8	12 6.1 0.3	12 3.1 0.7
300	No. Mean S.D.	12 6.7 0.5	12 10.3 1.1	12 3.6 0.8	12 6.3 0.5	12 3.4 1.0

Unit: g

No.: No. of dams

a): Postnatal day

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 18

A combined repeated-dose/reproductive-developmental toxicity study in rats treated orally
with Bis(2-ethylhexyl)4-Cyclohexene-1,2-dicarboxylate

Gross pathological findings in pups on postnatal day 4

	Dose (mg/kg)	0	30	100	300
Male					
No. of pups examined		70	89	89	69
No. of pups with abnormal findings		0	0	0	0
Female					
No. of pups examined		78	70	74	85
No. of pups with abnormal findings		0	0	0	0