



2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナン
のラットにおける
28日間反復経口投与毒性試験
(回復14日間)

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦 野 研 究 所

【目 次】

	頁
要 約	1
試験目的	4
試験方法	5
1. 被験物質および投与検体の調製	5
2. 動物および飼育方法	5
3. 群および群分け	6
4. 投与方法	7
5. 検査項目	7
6. 統計処理法	10
試験結果	12
1. 試験の経過	12
2. 一般状態	12
3. 体重	12
4. 摂餌量	12
5. 尿検査	13
6. 血液学的検査	13
7. 血液生化学的検査	14
8. 病理学的検査	14
考 察	17
Figs. 1, 2	
Tables 1 ~ 9	

【要 約】

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの28日間反復経口投与毒性試験（回復14日間）を、雌雄の Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットを用いて実施した。投与量は、雌雄とも 0（溶媒対照群）、100、300 および 1000 mg/kg とした。雌雄とも溶媒対照群および 1000 mg/kg 投与群では1群10匹、100 および 300 mg/kg 投与群では1群5匹を使用し、このうち溶媒対照群および 1000 mg/kg 投与群の雌雄各5匹については、14日間の回復試験を行った。その結果、以下の成績を得た。

1. 投与期間および回復試験期間中に、溶媒対照群を含む各群に死亡例は認められなかった。

2. 一般状態の変化としては、雌雄とも 1000 mg/kg 投与群の全例と溶媒対照群を含む他の投与群の1ないし3例に、投与直後の一過性の流涎がみられ、まれに、投与の保定時から観察されることもあり、その多くは、投与第2週以降に認められた。その他には、被験物質投与に起因したと考えられる一般状態の変化は観察されなかった。

3. 各群の体重および摂餌量に関しては、投与期間、回復試験期間を通して、溶媒対照群と被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

4. 投与期間終了週の尿検査では、被験物質投与群で散発的にビリルビンの陽性例が認められたが、その出現頻度および程度に用量依存性は認められなかった。また、回復試験期間終了週の尿検査では、1000 mg/kg 投与群の雄で潜血反応の

陽性例があり、このうち1例では、糖も陽性であった。

5. 投与期間終了時および回復試験期間終了時の血液学的検査では、1000 mg/kg 投与群の雄において、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の延長がみられたが、回復試験期間終了時の検査では、その程度がやや軽減される傾向にあった。その他の検査項目には、用量に依存した変化は認められなかった。

6. 投与期間終了時の血液生化学的検査では、300 および 1000 mg/kg 投与群の雄において、トリグリセライド濃度が有意に低下した。また、1000 mg/kg 投与群の雌では、GPT活性が有意に上昇し、雄では、カリウムおよび塩素濃度が、いずれも有意に低下した。その他、溶媒対照群と比較して、散発的に有意な差のある検査項目が認められたが、いずれも用量依存性は認められなかった。一方、回復試験期間終了時の検査では、1000 mg/kg 投与群の雌のA/G比が有意に低下し、雄のLDH活性が有意に上昇したが、その他の項目では、溶媒対照群と1000 mg/kg 投与群との間に有意差は認められなかった。

7. 投与期間終了時の器官重量では、雌雄とも 300 mg/kg 以上の投与群で肝臓の絶対重量あるいは相対重量が増加し、回復試験期間終了時の器官重量でも、1000 mg/kg 投与群の雄において、肝臓の相対重量の増加が認められた。その他の器官については、被験物質投与に起因したと考えられる変化は認められなかった。

8. 投与期間終了時屠殺例の組織所見のうち、肝臓では、1000 mg/kg 投与群の雌雄と 300 mg/kg 投与群の雄に、小葉中心部肝細胞の腫脹がみられる例があり、1000 mg/kg 投与群の雄の1例では、壊死巣も認められた。一方、回復試験期間

終了時屠殺例の肝臓の組織所見では、1000 mg/kg 投与群の雄の1例に色素沈着を伴う瘢痕の形成がみられたが、投与期間終了時屠殺例にみられた肝細胞の腫脹は認められなかった。その他の器官の変化は、いずれも用量依存性はなく、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

以上のように、血液学的検査では、1000 mg/kg 投与群の雄において、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の延長がみられ、また、血液生化学的検査では、300 mg/kg 以上の投与群の雄において、トリグリセライド濃度の減少が認められた。さらに、病理学的検査では、雌雄とも 300 mg/kg 以上の投与群において、肝臓の絶対重量あるいは相対重量が増加し、1000 mg/kg 投与群の雌雄と 300 mg/kg 投与群の雄に、小葉中心部肝細胞の腫脹がみられる例があった。

これらの結果から、本試験条件下における 2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの無影響量は、雌雄とも 100 mg/kg と考えられた。

【試 験 目 的】

「OECD既存化学物質安全性点検に係る毒性調査」事業の一環として、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンのラットにおける28日間反復投与毒性試験（回復14日間）を実施した。

なお、本試験は、昭和61年12月5日付、環保業第700号、薬発第1039号、61基局第1014号通達「ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験」（化審法ガイドライン）および化学物質GLP（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229、59基局第85号、改訂昭和63年11月18日、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に従って実施した。

【試 験 方 法】

1. 被験物質および投与検体の調製

本試験の被験物質として、から提供された2,2,4,4,6,8,8-
ヘプタメチルノナン [CAS No: 4390-04-09、ロット番号:

1)、無色透明の液体、比重: 0.78、純度: 99.9%] を用いた。

被験物質を 25.6%(v/v) の 濃度になるようコーンオイル (ロット番号: VOK 5232、ナカライテスク(株)製) に混和し、さらに、この 25.6%溶液を 7.68 および 2.56%(v/v) となるよう段階希釈して投与検体を調製し、投与時まで室温遮光の条件下で保管した。投与検体の調製は、1 週間に 1 回の頻度で行った。

なお、秦野研究所で実施した被験物質の安定性試験の結果、2.56 および 25.6 %(v/v) コーンオイル溶液中の被験物質は、室温遮光の条件下で 7 日間は安定であることが確認されている (Appendix 10-1)。また、今回の試験で使用した投与検体について、含量試験を秦野研究所で実施した結果、投与検体中の被験物質の平均含量は、所定濃度の 96.8 ~ 98.0%であった (Appendix 10-2)。

2. 動物および飼育方法

生後 4 週で購入した雌雄の Sprague-Dawley 系ラット (Crj:CD;SPF、日本チャールス・リバー(株)、厚木飼育センター生産) (注 1) を 8 日間にわたり予備飼育した後、一般状態に異常の認められなかった雌雄各 30 匹を試験に供した (注 2)。

(注 1) 動物購入日	: 1991年10月 7 日 (雌・雄)
入 荷 匹 数	: 雌; 36匹、雄; 36匹
入 荷 時 体 重	: 雌; 63.5~71.2 g (平均 67.1g)
	: 雄; 72.6~85.5 g (平均 79.6g)
(注 2) 投 与 開 始 日	: 1991年10月15日 (雌・雄)
投与開始時体重	: 雌; 115.9~131.6 g (平均 123.6 g)
	: 雄; 143.1~160.0 g (平均 151.1 g)

全飼育期間を通じて、動物を金属製金網床ケージ（220 W×270 D×190 H mm、日本ケージ（株）製）に1匹ずつ収容し、温度 24 ± 1 ℃、湿度 55 ± 5 ％、換気回数約15回／時間、照明時間12時間（7～19時点灯）に設定された飼育室内（バリアーシステム）で飼育した。動物には、剖検前約18～24時間の絶食期間を除き、固型飼料（CE-2、日本クレア（株）製）を自由に摂取させ、また、飲料水として、全飼育期間を通じて水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取させて維持管理した。なお、各動物の耳介に耳パンチを用いて一連の個体番号を標識し、併せて、各群ごとに色の異なるラベルに試験計画番号、性、群および動物番号を記入し、飼育ケージに掛け、個体識別の補助とした。

3. 群および群分け

本試験における投与量は、先に秦野研究所で実施した本被験物質 2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンのラットにおける急性経口投与毒性試験（食薬セ研第3-754号）を参考にして決定した。即ち、雌雄の Sprague-Dawley 系ラットに本被験物質を 2000 mg/kg 投与した結果、死亡例はみられず、また、被験物質投与に起因すると思われる一般状態および剖検所見の異常は認められなかった。従って、本試験では、化審法ガイドライン「ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験」を参考にして、雌雄とも最高投与用量を 1000 mg/kg とし、以下公比約3で除して 300 および 100 mg/kg の各投与用量を設定した。なお、1群は、溶媒対照群としてコーンオイル投与群を設けた。

群分けは、投与開始前日の体重に基づいて、体重別層化無作為抽出法により行った。各群の匹数および動物番号を以下に示す。

群 (投与液の濃度)	匹数 (動物番号)	
	雌	雄
溶媒対照群 (コーンオイル)	1 0 (1~10)	1 0 (31~40)
被験物質 100 mg/kg 投与群 (2.56% v/v)	5 (11~15)	5 (41~45)
被験物質 300 mg/kg 投与群 (7.68% v/v)	5 (16~20)	5 (46~50)
被験物質 1000 mg/kg 投与群 (25.6% v/v)	1 0 (21~30)	1 0 (51~60)

4. 投与方法

本試験の投与経路は、化審法ガイドライン「ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験」に従い経口投与とした。

投与は、1日1回、28日間、ラット用胃管を用いて強制的に行い、投与液量は、雌雄とも5 ml/kg として、各投与時に最も近い体重値を基準にして算出した。なお、雌雄とも溶媒対照群および最高投与用量群の各5匹については、投与期間終了後、14日間の回復試験期間を設けた。

5. 検査項目

1) 一般状態の観察

投与期間および回復試験期間を通じて、死亡例の有無を調べたほか、全例について、一般状態を毎日1回（投与期間中は投与後）観察した。

2) 体重および摂餌量の測定

全例について、投与開始週では、投与開始直前と投与第4日、第2週以降の投与期間および回復試験期間中は、1週に2回の頻度で体重を測定し、投与期間あるいは回復試験期間終了日および剖検日にも体重の測定を行った。また、全例について、投与開始週では投与開始日に、第2週以降の投与期間および回復試験期間中は、1週に1回の頻度で1日当たりの摂餌量の測定を行った。

3) 尿検査

各群とも動物番号の若い方から5匹を選択し、投与期間終了週（投与第23日～24日）および回復試験期間終了週（回復第9日～10日）に、動物を約24時間代謝ケージ（MtCR, 夏目製作所製）に収容して採尿し、以下の項目について検査した。なお、pH、潜血、総蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲンおよび沈渣の検査には、代謝ケージに収容して約4時間以内に採取された新鮮尿を用いた。

項	目	測定法および使用器具・製品
尿量	計量	天秤（尿重量を比重で除す）
色調, 混濁	視診	—
比重	糖度計	N-1（アタゴ）
pH, 潜血, 総蛋白, 糖,	試験紙法	マルティスティックスSG/エー
ケトン体, ビリルビン,		ムス・クリニテックシステム
ウロビリノーゲン		（マイルス三共）
沈渣	光学顕微鏡	

4) 血液学的検査

投与期間終了時および回復試験期間終了時の剖検に先立ち、全例について、約18ないし24時間絶食させたのち、ペントバルビタール麻酔下で腹部後大静脈よりEDTAを抗凝固剤として採血し、以下の項目について検査した。なお、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の測定には、上記の採血とは別に、クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として採血した血液を用いた。

項	目	測定法	使用機器
赤血球数(RBC)		自動（電気抵抗法）	Coulter Counter Model S-PLUS IV（エレクトロニクス社）
白血球数(WBC)		“（ ” ）	“
血色素濃度(Hb)		“（吸光度法）	“
平均赤血球容積(MCV)		“（電気抵抗法）	“
ヘマトクリット値(Ht)		“（ $0.001 \times \text{RBC} \times \text{MCV}$ ）	“

項	目	測 定 法	使 用 機 器
平均赤血球血色素量(MCH)	自動	(1000×Hb/RBC)	Coulter Counter Model S-PLUS IV (エレクトロニクス社)
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	"	(100×Hb/Ht)	"
血小板数	"	(電気抵抗法)	"
白血球分類	視算	(静脈血塗抹標本, Wright-Giemsa 染色)	光学顕微鏡
網状赤血球比率	Brecher 法		"
プロトロンビン時間(PT)	自動	(シンプラスチンオート試薬)	CA-3000 (東亜医用電子)
活性部分トロンボプラスチン時間(APTT)	自動	(プラテリン A オート 試薬)	"

5) 血液生化学的検査

全例について、血液学的検査のための採血に引き続き、ヘパリンを抗凝固剤として採血し、血漿を分離して以下の項目について検査を行った。

項	目	測 定 法	使 用 機 器
総蛋白濃度		ビウレット法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
アルブミン濃度		BCG法	"
総コレステロール濃度		COD・DAOS法	"
ブドウ糖濃度		グルコキナーゼ・G6PDH 法	"
尿素窒素濃度(BUN)		ウレアーゼ・G1.DH 法	"
クレアチニン濃度		Jaffe 法	"
アルカリフォスファターゼ活性(ALP)		p-ニトロフェニル酸基質法	"
GOT活性		SSCC法	"
GPT活性		"	"
LDH活性		Wroblewski-La Due 法	"
カルシウム濃度		OCP法	"
ナトリウム濃度		イオン電極法	Na-K-Cl アナライザーIT-3型 (常光)
カリウム濃度		"	"
塩素濃度		電量滴定法	"
無機リン濃度		モリブデン酸直接法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
トリグリセライド濃度		GPO・DAOS法	"
γ-GTP活性		γ-グルタミル-p-ニトロ アニリド基質法	"
A/G比		計算	——

6) 病理学的検査

全例について、上記の採血に引き続き、必要に応じて腋窩動脈を切断して放血屠殺したのち、器官および組織の肉眼的観察を行った。また、各動物の脳、肝臓、腎臓、副腎、卵巣または精巣の重量測定を行い、各器官重量を剖検日の体重で除して、それぞれの相対重量を算出した。さらに、各動物より摘出した脳、下垂体、眼球、甲状腺、上皮小体、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、卵巣または精巣、膀胱、大腿骨骨髓および肉眼的変化のみられた器官については、0.1 M リン酸緩衝 10%ホルマリン (pH 7.2) で固定し、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および剖検時に肉眼的変化の認められた器官について、パラフィン包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製した。組織学的検査は、雌雄とも投与期間終了時の溶媒対照群および 1000 mg/kg 投与群の心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎について行い、さらに、被験物質投与に起因したと考えられる病理組織学的変化の認められた肝臓については、100、300 mg/kg 投与群および回復試験期間終了時の溶媒対照群および 1000 mg/kg 投与群についても実施した。その他、投与期間終了時の剖検時に肉眼的変化の認められた一部の例の顎下リンパ節、皮膚、胸腺、肺、胃、子宮および精巣について、また、回復試験期間終了時の剖検時に肉眼的変化の認められた一部の例の胃、肺、腎臓および胸腺について組織学的検査を実施した。

6. 統計処理法

体重、摂餌量、半定量検査を除く尿検査および定期解剖例の血液学的検査、血液生化学的検査ならびに器官重量の値について、各群ごとに平均値および標準偏差を求めた。また、試験群の構成が溶媒対照群を含め3群以上ある場合は、Bartlettの方法による分散の一様性の検定（有意水準：5%）を行い、ついで、分散が一様な場合は、一元配置型の分散分析を行い、有意（有意水準：5%）の時

は Dunnett あるいは Scheffé の方法で多重比較を行った。一方、分散が一様でない場合は Kruskal-Wallis の順位検定を行い、有意（有意水準：5%）ならば Dunnett 型あるいは Scheffé 型の方法で多重比較を行った。また、試験群が溶媒対照群を含め 2 群となる場合には、溶媒対照群と被験物質投与群の各平均値の差の検定は、等分散であれば Student の t 検定、不等分散であれば Aspin-Welch 検定を行った。

【試験結果】

1. 試験の経過

この試験の全過程を通して、試験の信頼性に影響を及ぼすと考えられる予期出来なかった事態の発生および試験計画書からの逸脱は認められなかった。

2. 一般状態 (Table 1, Appendixes 1-1, 1-2)

投与期間および回復試験期間中に、溶媒対照群を含む各群に死亡例は認められなかった。一般状態の変化としては、溶媒対照群を含む一部の例で、投与直後に一過性の流涎がみられ、その多くは投与第2週以降に認められた。特に雌雄とも1000 mg/kg 投与群では、投与を重ねるに従って発生例数が増加する傾向があり、まれに、投与時に保定するだけで観察されることもあった。なお、各群の投与期間中に流涎のみられた例数は、溶媒対照群の雌の2例と雄の1例、100 mg/kg 投与群の雌の1例と雄の3例、300 mg/kg 投与群の雌雄各3例および1000 mg/kg 投与群の雌雄全例であった。その他、呼吸音の異常および頸部周囲皮膚の痂皮、潰瘍あるいは脱毛などが散発的にみられたが、いずれも用量依存性はなく、偶発的变化と考えられた。

3. 体重 (Fig. 1, Tables 2-1, 2-2, Appendixes 2-1, 2-2)

各群の平均体重は、投与期間および回復試験期間中を通して、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

4. 摂餌量 (Fig. 2, Tables 3-1, 3-2, Appendixes 3-1, 3-2)

各群の平均摂餌量は、投与期間および回復試験期間中を通して、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

5. 尿検査 (Tables 4-1 ~ 4-4, Appendixes 4-1 ~ 4-4)

投与期間終了週の検査では、100 mg/kg 投与群の雌および 300 mg/kg 投与群の雄の各 1 例でビリルビンが陽性であり、また、300 mg/kg 投与群の雌および 1000 mg/kg 投与群の雄の各 1 例では尿沈査中に上皮細胞がみられた。その他、一部の例で蛋白、ケトン体、ウロビリノーゲンが陽性であり、尿沈査中に結晶の認められる例もあったが、いずれも、その出現例数あるいは程度に溶媒対照群と被験物質投与群の間で用量に依存した差はみられなかった。なお、尿量、比重、混濁度、色調、pH には溶媒対照群と被験物質投与群の間に著しい差はなく、いずれの個体においても、糖、潜血、赤血球、円柱および白血球は検出されなかった。

回復試験期間終了週の検査では、1000 mg/kg 投与群の雄の 1 例で糖および潜血反応が陽性であったほか、雄の他の 1 例で潜血反応が陽性となった。一方、溶媒対照群と 1000 mg/kg 投与群の間で、尿量、比重、混濁度、色調、pH に著しい差はなく、また、蛋白、ケトン体、ウロビリノーゲン、結晶および上皮細胞の出現頻度あるいは程度にも両群間で差は認められなかった。なお、いずれの個体においても、赤血球、円柱および白血球は観察されなかった。

6. 血液学的検査 (Tables 5-1 ~ 5-4, Appendixes 5-1 ~ 5-4)

投与期間終了時の検査では、300 mg/kg 投与群の雄の網状赤血球比率が有意に減少し、1000 mg/kg 投与群の雄では、プロトロンビン時間および活性部分 тромбоプラスチン時間に有意な延長が認められた。その他の検査項目では、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意な差は認められなかった。

回復試験期間終了時の検査では、1000 mg/kg 投与群の雄のプロトロンビン時間および活性部分 тромбоプラスチン時間に有意な延長がみられたが、投与期間終了時に比較すると、その程度は軽減される傾向にあった。さらに、血小板数が有意に増加したが、その他の検査項目では、溶媒対照群と 1000 mg/kg 投与群の

間に有意な差は認められなかった。

7. 血液生化学的検査 (Tables 6-1 ~ 6-4, Appendixes 6-1 ~ 6-4)

投与期間終了時の検査では、溶媒対照群と比較すると、トリグリセライド濃度が 100 mg/kg 投与群の雌で有意に増加し、300 および 1000 mg/kg 投与群の雄では有意に低下した。また、無機リン濃度は、300 mg/kg 投与群の雌で有意に増加し、100 および 300 mg/kg 投与群の雄では有意に低下した。さらに、GPT 活性は、1000 mg/kg 投与群の雌で有意に上昇し、カリウム濃度および塩素濃度は、1000 mg/kg 投与群の雄でいずれも有意に低下した。その他の項目では、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。

回復試験期間終了時の検査では、1000 mg/kg 投与群の雌で A/G 比が有意に低下し、1000 mg/kg 投与群の雄で LDH 活性が有意に上昇したが、その他の項目では、溶媒対照群と 1000 mg/kg 投与群の間に有意差は認められなかった。

8. 病理学的検査

1) 器官重量 (Tables 7-1 ~ 7-8, Appendixes 7-1 ~ 7-8)

投与期間終了時の剖検例では、100 および 300 mg/kg 投与群の雌で脳の絶対重量が有意に増加した。また、300 mg/kg 投与群の雌では、肝臓の絶対重量が、300 mg/kg 投与群の雄では、肝臓の相対重量がそれぞれ増加し、1000 mg/kg 投与群の雌雄とも、肝臓の絶対重量および相対重量が有意に増加した。その他の器官については、溶媒対照群と被験物質投与群の間に絶対重量および相対重量とも有意差は認められなかった。

回復試験期間終了時の剖検例では、1000 mg/kg 投与群の雄で脳の絶対重量と肝臓の相対重量が有意に増加した。その他の器官については、溶媒対照群と 1000 mg/kg 投与群の間に絶対重量および相対重量とも有意差は認められなかった。

2) 剖検所見(Tables 8-1 ~ 8-3, Appendixes 8-1 ~ 8-3)

投与期間終了時および回復試験期間終了時剖検例ともに、被験物質投与に起因すると思われる肉眼的変化は認められなかった。

3) 組織学的所見(Tables 9-1 ~ 9-3, Appendixes 9-1 ~ 9-6)

投与期間終了時屠殺例では、1000 mg/kg 投与群の雌雄各4例と 300 mg/kg 投与群の雄の1例の肝臓に、小葉中心部肝細胞の腫脹がみられ (Photo 1)、1000 mg/kg 投与群の雄の1例では、切片上に3か所、肝細胞の壊死巣が認められた (Photo 2)。また、溶媒対照群を含む各群で主に小葉周辺部肝細胞の脂肪変性、小肉芽巣の形成がみられたが、その発生頻度あるいは変化の程度に用量依存性は認められなかった。その他、肝臓の変化として、300 mg/kg 投与群の雄の1例に限局性の肝細胞の脂肪変性があり、100 mg/kg 投与群の雄の1例に出血が認められた。心臓では、1000 mg/kg 投与群の雄の1例に心筋細胞の変性が認められた。腎臓では、溶媒対照群の雌雄および 1000 mg/kg 投与群の雌の1ないし3例に再生尿細管が、溶媒対照群の雌の1例に腎盂の拡張が、1000 mg/kg 投与群の雌の3例に結石の形成が、溶媒対照群および 1000 mg/kg 投与群の雄の1ないし2例に eosinophilic body がそれぞれ認められた。脾臓では、溶媒対照群および 1000 mg/kg 投与群の雌雄全例に髄外造血がみられ、両群とも雌の全例には褐色色素の沈着が認められたが、両群間に程度の差はみられなかった。副腎では、溶媒対照群および 1000 mg/kg 投与群とも異常はみられなかった。

その他、投与期間終了時屠殺例のうち剖検時に肉眼的変化がみられた数例について、各器官の組織所見を以下に示す。皮膚から皮下にかけては、潰瘍あるいは痂皮形成に伴う細胞浸潤のほか、毛根の変性がみられ、顎下リンパ節では胚中心のリンパ球の増加があり、胸腺では、出血あるいは嚢胞形成が認められた。また、胃では、前胃粘膜の異所形成あるいは腺胃の毛細血管の拡張がみられ、子宮では

管腔の拡張があり、精巣では間質の出血が認められた。さらに、肺では、出血あるいは出血および水腫に伴う細胞浸潤、泡沫状細胞の集簇、異物周囲の線維化と色素沈着、炎症巣、肺泡領域の血管内の細胞数の増加が認められた。

回復試験期間終了時屠殺例では、1000 mg/kg 投与群の雄の1例の肝臓に色素沈着を伴う瘢痕の形成がみられたが、投与期間終了時屠殺例にみられた肝細胞の腫脹は認められなかった。

その他、回復試験期間終了時屠殺例のうち剖検時に肉眼的変化がみられた例について組織学的検査を行った結果、胃における前胃粘膜の異所形成、肺の出血あるいは出血を伴う炎症巣、腎臓の再生尿細管と管腔内の出血および胸腺における出血が認められた。

【考 察】

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの 100、300 および 1000 mg/kg を、雌雄の Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットに 1 日 1 回、28 日間にわたって反復経口投与した。

その結果、一般状態の変化として、雌雄とも 1000 mg/kg 投与群の全例と溶媒対照群を含む他の投与群の 1 ないし 3 例に、投与直後の一過性の流涎がみられ、被験物質投与群では、まれに投与時に保定するだけで認められる例もあった。溶媒対照群の流涎は、連続的にみられることはなく、28 日間の投与期間中、1 ないし 4 回であったのに対し、被験物質投与群の特に 1000 mg/kg 投与群では、その多くが投与第 2 週以降に連続的にみられる傾向にあり、投与時に保定するだけで認められる例もあったことから、溶媒対照群の流涎の成因とは異なり、被験物質の何らかの刺激によって成立した条件反射によるものと考えられる。

尿検査では、投与期間終了週において、被験物質投与群で散発的にビリルビンの陽性例が認められたが、その出現頻度および程度に用量依存性はなく、偶発的な所見と判断した。また、回復試験期間終了週の尿検査では、1000 mg/kg 投与群の雄の 1 例が糖と潜血反応が陽性であり、他の 1 例でも潜血反応が陽性であったが、いずれも投与期間終了週の検査では認められなかったことから、これらの所見も偶発的なものと判断した。

投与期間終了時の血液学的あるいは血液生化学的検査では、1000 mg/kg 投与群の雄において、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。また、300 および 1000 mg/kg 投与群の雄では、トリグリセライド濃度が低下し、1000 mg/kg 投与群の雌では、GPT 活性が上昇したほか、雄では、カリウムおよび塩素濃度が、いずれも低下した。さらに、回復試験期間終了時の検査でも、1000 mg/kg 投与群の雄において、プロトロンビン時間およ

び活性部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。しかし、これらの血液学的あるいは血液生化学的検査所見と関連があると考えられる病理学的変化は認められず、今回の試験においては、これらの変化の発生機序を明らかにすることは出来なかった。その他、投与期間終了時および回復試験期間終了時の検査で、溶媒対照群と被験物質投与群の間に有意差が認められる項目があったが、いずれも生理的変動範囲を著しく越えるものではなく、また、用量相関も認められなかったため、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

投与期間終了時の病理学的検査では、雌雄とも、300 mg/kg 以上の投与群の肝臓の絶対重量あるいは相対重量が増加し、組織学的には、1000 mg/kg 投与群の雌雄と 300 mg/kg 投与群の雄に、小葉中心部肝細胞の腫脹がみられる例があり、1000 mg/kg 投与群の雄の 1 例では、肝細胞の壊死巣も認められた。また、回復試験期間終了時の病理学的検査では、1000 mg/kg 投与群の雄において、肝臓の相対重量が増加し、組織所見では、1000 mg/kg 投与群の雄の 1 例に色素沈着を伴う瘢痕の形成がみられたが、投与期間終了時屠殺例にみられた肝細胞の腫脹は認められなかった。これらの肝臓の変化は、溶媒対照群および 100 mg/kg 投与群で認められなかったことから、被験物質投与に起因したものと考えられるが、今回の試験では、その成因を明らかにすることは出来なかった。なお、その他の器官の変化については、いずれも用量依存性はなく、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

以上のことから、本試験条件下における 2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの無影響量は、雌雄とも 100 mg/kg と考えられる。

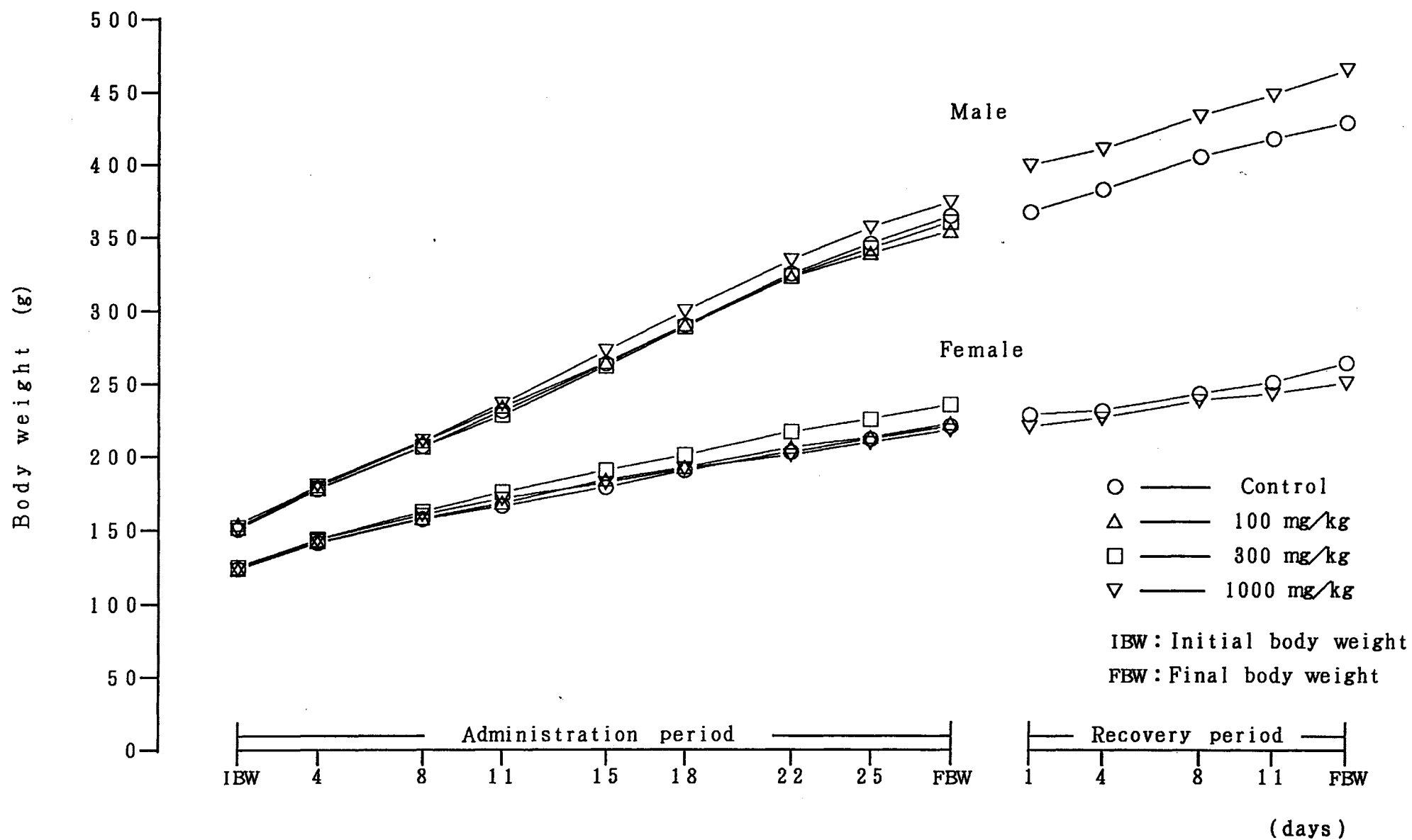


Fig 1 Body weight changes in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

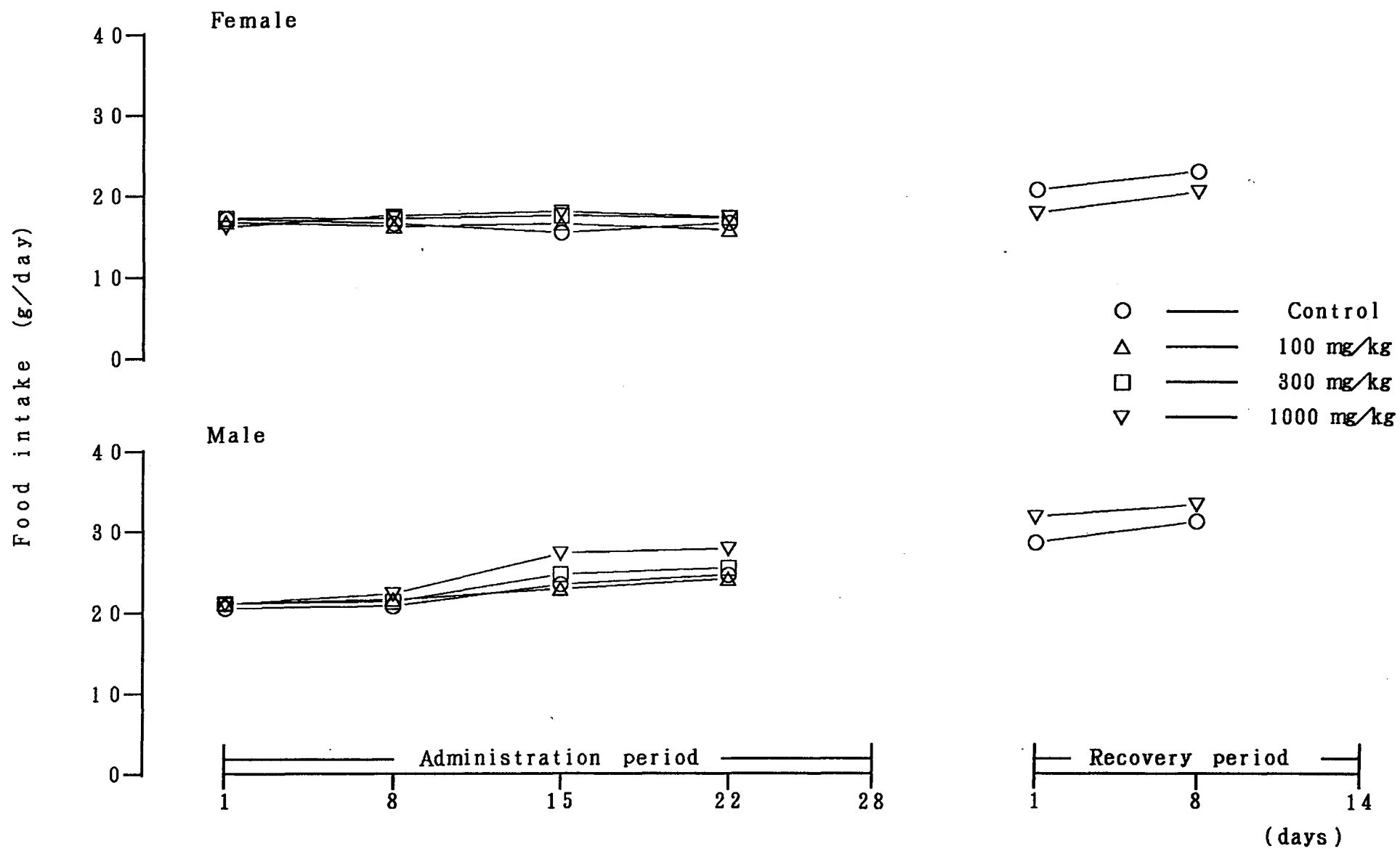


Fig 2 Food intake in rats administerd with 2, 2, 4, 4, 6, 8, 8—heptamethylnonane for 28 days

Table 1 Incidence of salivation in rats administered with
2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Number of rats	Number of rats with salivation Study days observed				Incidence
			1 ~ 7	8 ~ 14	15 ~ 21	22 ~ 28	
Female	Control	10	1	0	2	2	2/10
	100 mg/kg	5	0	1	1	0	1/5
	300 mg/kg	5	0	3	3	2	3/5
	1000 mg/kg	10	0	6	9	8	10/10
Male	Control	10	0	0	0	1	1/10
	100 mg/kg	5	0	2	2	1	3/5
	300 mg/kg	5	0	2	1	3	3/5
	1000 mg/kg	10	1	7	7	10	10/10

Table 2-1 Body weight changes in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Administration period (day)									Recovery period (day)				
	1st	4th	8th	11th	15th	18th	22nd	25th	28th	1st	4th	8th	11th	14th
Control	(10) 123.6 ±3.9	(10) 140.9 ±4.9	(10) 156.9 ±4.3	(10) 165.8 ±5.9	(10) 178.2 ±5.5	(10) 190.1 ±6.3	(10) 202.6 ±9.1	(10) 211.3 ±8.3	(10) 220.3 ±8.6	(5) 228.0 ±6.5	(5) 230.6 ±12.4	(5) 242.4 ±12.5	(5) 250.3 ±8.0	(5) 263.4 ±10.5
100 mg/kg	(5) 123.0 ±4.8	(5) 141.4 ±6.4	(5) 157.2 ±5.5	(5) 167.9 ±9.5	(5) 183.2 ±10.0	(5) 191.8 ±13.7	(5) 205.5 ±11.7	(5) 212.6 ±19.6	(5) 221.8 ±21.2	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
300 mg/kg	(5) 124.7 ±4.8	(5) 143.4 ±9.2	(5) 161.9 ±10.8	(5) 175.4 ±16.5	(5) 190.0 ±17.8	(5) 200.4 ±18.0	(5) 216.4 ±20.7	(5) 225.1 ±18.4	(5) 235.0 ±20.8	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
1000 mg/kg	(10) 123.4 ±4.5	(10) 142.9 ±6.8	(10) 160.2 ±8.2	(10) 170.8 ±6.9	(10) 181.3 ±6.6	(10) 191.1 ±7.2	(10) 200.3 ±8.9	(10) 209.0 ±10.4	(10) 217.4 ±10.8	(5) 219.9 ±11.7	(5) 225.9 ±12.6	(5) 237.8 ±15.7	(5) 242.4 ±17.7	(5) 249.7 ±16.8

Parameter:Mean
 ±S.D. ():N

Table 2-2 Body weight changes in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Administration period (day)									Recovery period (day)				
	1st	4th	8th	11th	15th	18th	22nd	25th	28th	1st	4th	8th	11th	14th
Control	(10) 150.5 ±4.0	(10) 177.0 ±6.3	(10) 206.8 ±8.9	(10) 230.9 ±11.9	(10) 263.0 ±15.3	(10) 289.6 ±17.9	(10) 324.3 ±22.0	(10) 345.0 ±26.8	(10) 364.0 ±28.0	(5) 366.8 ±29.7	(5) 382.1 ±34.3	(5) 404.8 ±38.7	(5) 417.1 ±43.6	(5) 428.2 ±56.3
100 mg/kg	(5) 153.3 ±2.3	(5) 179.1 ±7.5	(5) 209.6 ±11.4	(5) 233.6 ±15.3	(5) 263.7 ±24.7	(5) 289.4 ±26.4	(5) 322.2 ±30.7	(5) 338.5 ±34.7	(5) 353.4 ±36.9	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
300 mg/kg	(5) 151.4 ±4.7	(5) 178.0 ±8.3	(5) 206.1 ±13.4	(5) 228.0 ±14.3	(5) 261.5 ±17.3	(5) 288.3 ±18.5	(5) 322.9 ±19.3	(5) 341.8 ±18.9	(5) 359.7 ±23.5	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
1000 mg/kg	(10) 150.3 ±4.9	(10) 180.2 ±8.0	(10) 210.4 ±14.1	(10) 235.9 ±19.6	(10) 272.1 ±27.6	(10) 299.3 ±28.1	(10) 333.8 ±28.8	(10) 356.4 ±28.2	(10) 373.7 ±26.3	(5) 399.0 ±15.0	(5) 410.4 ±17.4	(5) 432.7 ±20.0	(5) 447.6 ±23.5	(5) 464.8 ±30.0

Parameter:Mean
 ±S.D. ():N

Table 3-1 Food intake in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Administration period (day)				Recovery period (day)	
	1st	8th	15th	22nd	1st	8th
Control	(10) 17.1 ±1.0	(10) 16.5 ±1.6	(10) 15.3 ±2.3	(10) 16.5 ±2.2	(5) 20.6 ±2.9	(5) 22.8 ±0.6
100 mg/kg	(5) 16.7 ±0.7	(5) 16.1 ±1.9	(5) 16.4 ±2.5	(5) 15.6 ±3.9	(0)	(0)
300 mg/kg	(5) 17.2 ±2.0	(5) 17.1 ±2.5	(5) 17.4 ±2.8	(5) 17.1 ±2.5	(0)	(0)
1000 mg/kg	(10) 16.1 ±2.5	(10) 17.5 ±1.8	(10) 17.9 ±1.6	(10) 17.2 ±1.8	(5) 17.7 ±3.9	(5) 20.3 ±2.1

Parameter: Mean
 ±S.D. ():N

Table 3-2 Food intake in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Administration period (day)				Recovery period (day)	
	1st	8th	15th	22nd	1st	8th
Control	(10) 20.5 ±1.4	(10) 20.7 ±1.7	(10) 23.4 ±2.4	(10) 24.5 ±2.6	(5) 28.5 ±3.1	(5) 31.1 ±3.6
100 mg/kg	(5) 21.1 ±1.6	(5) 21.5 ±2.5	(5) 22.8 ±3.5	(5) 24.0 ±2.7	(0)	(0)
300 mg/kg	(5) 21.1 ±1.0	(5) 21.3 ±2.8	(5) 24.6 ±3.0	(5) 25.4 ±2.6	(0)	(0)
1000 mg/kg	(10) 21.0 ±1.7	(10) 22.2 ±3.6	(10) 27.2 ±3.5	(10) 27.8 ±2.3	(5) 31.7 ±3.0	(5) 33.2 ±5.1

Parameter: Mean (): N
 ±S.D.

Table 4-1 Urinalysis at the 23rd day of dosage period in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane

Sex	Group	Number of rats	Volume (ml/24hr)	Specific gravity	Color ^{b)}			Turbidity ^{c)}		pH				Protein ^{d)}			Glucose ^{e)}		Ketone ^{f)}			Bilirubin ^{e)}		Occult blood ^{e)}			Urobilinogen ^{g)}	
					ly	y	yb	-	+	6	7	8	9	-	±	+	-	+	-	±	+	-	+	-	±	+	±	+
Female	Control	5	8.6 ± 2.5 ^{a)}	1.047 ± 0.012 ^{a)}	4	1	0	4	1	2	0	2	1	2	3	0	5	0	3	2	0	5	0	5	0	0	5	0
	100 mg/kg	5	6.3 ± 3.1	1.046 ± 0.014	3	2	0	5	0	1	3	0	1	2	2	1	5	0	2	3	0	4	1	5	0	0	5	0
	300 mg/kg	5	8.6 ± 2.1	1.045 ± 0.013	5	0	0	4	1	3	1	0	1	1	2	2	5	0	2	3	0	5	0	5	0	0	5	0
	1000 mg/kg	5	8.2 ± 1.8	1.052 ± 0.006	3	2	0	5	0	2	2	0	1	1	3	1	5	0	4	1	0	5	0	5	0	0	5	0
Male	Control	5	20.6 ± 3.4	1.031 ± 0.008	5	0	0	1	4	0	2	2	1	1	4	0	5	0	4	1	0	5	0	5	0	0	5	0
	100 mg/kg	5	15.2 ± 4.0	1.037 ± 0.010	5	0	0	4	1	0	1	2	2	0	1	4	5	0	1	4	0	5	0	5	0	0	5	0
	300 mg/kg	5	14.7 ± 4.9	1.041 ± 0.011	4	0	1	2	3	0	0	2	3	0	2	3	5	0	2	3	0	4	1	5	0	0	4	1
	1000 mg/kg	5	16.6 ± 1.5	1.044 ± 0.002	4	0	1	4	1	0	2	1	2	0	1	4	5	0	1	4	0	5	0	5	0	0	3	2

a) Mean ± S.D.

b) ly : light yellow, y : yellow, yb : yellow brown

c) - : Negative, ± : Trace, + : Slight

d) - : Negative, ± : Trace, + : 30 mg/kg

e) - : Negative, + : 0.25 g/dl

f) - : Negative, ± : 5 mg/dl, + : 15 mg/dl

g) ± : ≤ 0.1 EU/dl, + : 1.0 EU/dl

Table 4-2 Urinalysis (sediment) at the 23rd day of dosage period in rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane

Sex	Group	Number of rats	Red blood cell*			Crystal**			Cast*			White blood cell*			Epithelial cell**		
			-	±	+	-	±	+	-	±	+	-	±	+	-	±	+
Female	Control	5	5	0	0	0	5	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	100 mg/kg	5	5	0	0	1	4	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	300 mg/kg	5	5	0	0	2	3	0	5	0	0	5	0	0	4	1	0
	1000 mg/kg	5	5	0	0	0	4	1	5	0	0	5	0	0	5	0	0
Male	Control	5	5	0	0	2	3	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	100 mg/kg	5	5	0	0	0	2	3	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	300 mg/kg	5	5	0	0	0	3	2	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	1000 mg/kg	5	5	0	0	1	3	1	5	0	0	5	0	0	4	1	0

* - : Not observed

± : < 9/3 visual field

+ : 10/3-99/3 visual field

** - : Not observed

± : A few

+ : Abundant

Table 4-3 Urinalysis of rats at the 9th day of withdrawal period following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Number of rats	Volume (ml/24hr)	Specific gravity	Color ^{b)}			Turbidity ^{c)}		pH				Protein ^{d)}			Glucose ^{e)}		Ketone ^{f)}			Bilirubin ^{g)}		Occult blood ^{g)}			Urobilinogen ^{g)}	
					ly	y	yb	-	+	6	7	8	9	-	±	+	-	+	-	±	+	-	+	-	±	+	±	+
Female	Control	5	15.4 ± 3.1 ^{a)}	1.039 ± 0.005 ^{a)}	5	0	0	4	1	0	1	4	0	4	1	0	5	0	4	1	0	5	0	5	0	0	5	0
	1000 mg/kg	5	12.6 ± 1.3	1.043 ± 0.006	5	0	0	4	1	1	2	1	1	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0
Male	Control	5	23.8 ± 4.1	1.039 ± 0.004	5	0	0	2	3	0	1	4	0	0	4	1	5	0	1	3	1	5	0	5	0	0	5	0
	1000 mg/kg	5	21.6 ± 5.8	1.041 ± 0.008	4	1	0	4	1	0	1	4	0	0	1	4	4	1	1	2	2	5	0	3	1	1	4	1

a) Mean ± S.D.

b) ly : light yellow, y : yellow, yb : yellow brown

c) - : Negative, ± : Trace, + : Slight

d) - : Negative, ± : Trace, + : 30 mg/kg

e) - : Negative, + : 0.25 g/dl

f) - : Negative, ± : 5 mg/dl, + : 15 mg/dl

g) ± : ≤ 0.1 EU/dl, + : 1.0 EU/dl

Table 4-4 Urinalysis (sediment) of rats at the 9th day of withdrawal period following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex	Group	Number of rats	Red blood cell*			Crystal**			Cast*			White blood cell*			Epithelial cell**		
			-	±	+	-	±	+	-	±	+	-	±	+	-	±	+
Female	Control	5	5	0	0	0	5	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
	1000 mg/kg	5	5	0	0	3	2	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0
Male	Control	5	5	0	0	0	5	0	5	0	0	5	0	0	2	3	0
	1000 mg/kg	5	5	0	0	0	5	0	5	0	0	5	0	0	0	4	1

* - : Not observed

± : < 9/3 visual field

+ : 10/3-99/3 visual field

** - : Not observed

± : A few

+ : Abundant

Table 5-1 Hematological findings in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulocyte (%)
Control	(5) 638 ± 34	(5) 13.4 ± 0.7	(5) 37.7 ± 1.9	(5) 59.2 ± 1.3	(5) 21.0 ± 0.5	(5) 35.4 ± 0.6	(5) 2.1 ± 0.7
100 mg/kg	(4) 657 ± 54	(4) 13.8 ± 1.0	(4) 38.4 ± 2.7	(4) 58.5 ± 1.5	(4) 21.0 ± 0.5	(4) 35.9 ± 0.1	(5) 1.9 ± 0.7
300 mg/kg	(5) 608 ± 29	(5) 13.0 ± 0.7	(5) 36.0 ± 1.7	(5) 59.2 ± 1.0	(5) 21.4 ± 0.5	(5) 36.1 ± 0.6	(5) 2.2 ± 0.9
1000 mg/kg	(5) 638 ± 59	(5) 13.6 ± 1.1	(5) 37.7 ± 3.4	(5) 59.1 ± 1.2	(5) 21.3 ± 0.6	(5) 36.0 ± 0.4	(5) 1.7 ± 0.6

Group	WBC ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	PT (sec)	APTT (sec)
Control	(5) 50 ± 20	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 10	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 87 ± 11	(5) 114.9 ± 14.7	(5) 15.4 ± 1.1	(5) 21.8 ± 1.9
100 mg/kg	(4) 45 ± 13	(5) 0 ± 0	(5) 8 ± 6	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 0	(5) 90 ± 5	(4) 106.9 ± 21.5	(5) 15.2 ± 0.8	(5) 21.3 ± 0.7
300 mg/kg	(5) 47 ± 12	(5) 0 ± 0	(5) 6 ± 1	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 92 ± 3	(5) 106.6 ± 4.7	(5) 15.8 ± 1.7	(5) 22.1 ± 2.0
1000 mg/kg	(5) 44 ± 17	(5) 0 ± 0	(5) 11 ± 6	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 87 ± 7	(5) 105.9 ± 10.1	(5) 17.0 ± 2.5	(5) 23.4 ± 1.3

Parameter: Mean
 $\pm$ S.D.

(): N

Table 5-2 Hematological findings in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Reticulocyte (%)
Control	(5) 683 ± 41	(5) 14.3 ± 1.2	(5) 41.4 ± 2.8	(5) 60.6 ± 0.6	(5) 20.9 ± 0.5	(5) 34.4 ± 0.7	(5) 3.1 ± 0.3
100 mg/kg	(5) 662 ± 40	(5) 14.1 ± 0.9	(5) 40.1 ± 1.8	(5) 60.6 ± 1.6	(5) 21.3 ± 0.7	(5) 35.2 ± 0.9	(5) 2.4 ± 0.3
300 mg/kg	(5) 635 ± 24	(5) 13.5 ± 0.6	(5) 38.9 ± 1.2	(5) 61.3 ± 0.5	(5) 21.3 ± 0.3	(5) 34.8 ± 0.7	(5) 2.2* ± 0.2
1000 mg/kg	(5) 630 ± 12	(5) 13.4 ± 0.6	(5) 38.4 ± 0.7	(5) 61.0 ± 1.4	(5) 21.3 ± 0.8	(5) 34.9 ± 0.8	(5) 2.8 ± 0.9

Group	WBC ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	PT (sec)	APTT (sec)
Control	(5) 69 ± 10	(5) 0 ± 0	(5) 8 ± 5	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 2	(5) 90 ± 5	(5) 110.5 ± 15.3	(5) 22.0 ± 1.7	(5) 27.8 ± 1.5
100 mg/kg	(5) 64 ± 27	(5) 0 ± 0	(5) 10 ± 6	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 88 ± 7	(5) 106.7 ± 12.5	(5) 26.3 ± 3.2	(5) 29.7 ± 1.6
300 mg/kg	(5) 79 ± 27	(5) 0 ± 0	(5) 6 ± 2	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 93 ± 2	(5) 125.5 ± 16.7	(5) 25.9 ± 3.8	(5) 30.2 ± 2.2
1000 mg/kg	(5) 84 ± 23	(5) 0 ± 0	(5) 20 ± 28	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 79 ± 27	(5) 121.0 ± 6.6	(5) 37.3** ± 6.6	(5) 34.5** ± 4.1

*:Significantly different from control $p < 0.05$
 **:Significantly different from control $p < 0.01$

Parameter: Mean
 $\pm$ S.D.

(): N

Table 5-3 Hematological findings in female rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

	RBC	Hemoglobin	Hematocrit	MCV	MCH	MCHC	Reticulocyte
Group	(x10 ⁴ /mm ³)	(g/dl)	(%)	(μ ³)	(pg)	(%)	(%)
Control	(5) 746 ±48	(5) 15.0 ±1.0	(5) 43.5 ±3.1	(5) 58.3 ±2.0	(5) 20.2 ±0.6	(5) 34.6 ±0.7	(5) 1.9 ±0.4
1000 mg/kg	(5) 720 ±15	(5) 14.7 ±0.4	(5) 42.7 ±1.4	(5) 59.2 ±1.2	(5) 20.5 ±0.5	(5) 34.6 ±0.7	(5) 1.6 ±0.4

	WBC	Band neutrophil	Segmented neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lymphocyte	Platelet	PT	APTT
Group	(x100/mm ³)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(x10 ⁴ /mm ³)	(sec)	(sec)
Control	(5) 81 ±33	(5) 0 ±0	(5) 7 ±2	(5) 0 ±0	(5) 0 ±0	(5) 1 ±1	(5) 92 ±2	(5) 108.7 ±11.0	(5) 16.0 ±0.9	(5) 23.0 ±1.5
1000 mg/kg	(5) 68 ±24	(5) 0 ±0	(5) 7 ±5	(5) 0 ±1	(5) 0 ±0	(5) 1 ±1	(5) 91 ±6	(5) 108.4 ±8.0	(5) 15.1 ±0.5	(5) 22.1 ±1.2

Parameter: Mean
±S.D.

():N

Table 5-4 Hematological findings in male rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

	RBC	Hemoglobin	Hematocrit	MCV	MCH	MCHC	Reticulocyte
Group	($\times 10^4/\text{mm}^3$)	(g/dl)	(%)	(μ^3)	(pg)	(%)	(%)
Control	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	739 ± 40	15.1 ± 0.7	43.6 ± 2.0	59.0 ± 1.8	20.4 ± 0.8	34.6 ± 0.4	1.7 ± 0.4
1000 mg/kg	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	731 ± 44	14.9 ± 0.5	43.6 ± 1.4	59.8 ± 2.0	20.4 ± 0.5	34.1 ± 0.4	1.9 ± 0.7

	WBC	Band neutrophil	Segmented neutrophil	Eosinophil	Basophil	Monocyte	Lymphocyte	Platelet	PT	APTT
Group	($\times 100/\text{mm}^3$)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	($\times 10^4/\text{mm}^3$)	(sec)	(sec)
Control	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	77 ± 29	0 ± 0	7 ± 3	1 ± 1	0 ± 0	2 ± 1	90 ± 4	102.7 ± 9.3	22.5 ± 1.7	28.4 ± 1.2
1000 mg/kg	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
	85 ± 19	0 ± 0	9 ± 5	1 ± 1	0 ± 0	2 ± 2	89 ± 6	118.3* ± 5.0	26.4** ± 1.5	31.7* ± 2.9

*:Significantly different from control $p < 0.05$
 **:Significantly different from control $p < 0.01$

Parameter:Mean ():N
 $\pm$ S.D.

Table 6-1 Biochemical findings in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Total Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	Inorg. Phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.3 ±0.3	(5) 3.1 ±0.2	(5) 1.38 ±0.23	(5) 20 ±3	(5) 0.7 ±0.0	(5) 112 ±17	(5) 48 ±9	(5) 29 ±4	(5) 6.3 ±0.5	(5) 8.8 ±0.4
100 mg/kg	(5) 5.4 ±0.2	(5) 3.2 ±0.1	(5) 1.52 ±0.16	(5) 19 ±2	(5) 0.7 ±0.1	(5) 115 ±21	(5) 61 ±5	(5) 41* ±9	(5) 7.4 ±0.6	(5) 8.9 ±0.1
300 mg/kg	(5) 5.3 ±0.3	(5) 3.0 ±0.2	(5) 1.34 ±0.08	(5) 17 ±2	(5) 0.6 ±0.0	(5) 110 ±12	(5) 58 ±5	(5) 34 ±10	(5) 7.8* ±0.6	(5) 9.0 ±0.2
1000 mg/kg	(5) 5.1 ±0.3	(5) 3.1 ±0.2	(5) 1.49 ±0.23	(5) 18 ±3	(5) 0.7 ±0.1	(5) 100 ±11	(5) 54 ±16	(5) 26 ±6	(5) 6.9 ±1.1	(5) 8.8 ±0.5

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 139.7 ±1.5	(5) 4.11 ±0.27	(5) 104.7 ±2.3	(5) 239 ±42	(5) 136 ±14	(5) 20 ±4	(5) 69 ±22	(5) 0 ±1
100 mg/kg	(5) 138.2 ±2.4	(5) 4.99 ±1.55	(5) 102.6 ±0.7	(5) 210 ±51	(5) 178 ±58	(5) 21 ±3	(5) 61 ±9	(5) 0 ±1
300 mg/kg	(5) 140.4 ±1.1	(5) 4.01 ±0.28	(5) 103.8 ±0.9	(5) 196 ±22	(5) 100 ±16	(5) 16 ±3	(5) 53 ±7	(5) 1 ±1
1000 mg/kg	(5) 139.8 ±1.8	(5) 3.88 ±0.60	(5) 102.9 ±1.7	(5) 215 ±43	(5) 158 ±32	(5) 30** ±4	(5) 67 ±5	(5) 1 ±1

*:Significantly different from control p<0.05
 **:Significantly different from control p<0.01

Parameter:Mean
 ±S.D. ():N

Table 6-2 Biochemical findings in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	Inorg. Phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.2 ±0.2	(5) 2.9 ±0.2	(5) 1.21 ±0.09	(5) 14 ±2	(5) 0.6 ±0.0	(5) 128 ±8	(5) 49 ±11	(5) 64 ±18	(5) 8.2 ±0.6	(5) 8.8 ±0.1
100 mg/kg	(5) 4.8 ±0.8	(5) 2.8 ±0.7	(5) 1.33 ±0.31	(5) 13 ±4	(5) 0.5 ±0.1	(5) 119 ±26	(5) 41 ±6	(5) 44 ±5	(5) 6.9* ±0.9	(5) 8.4 ±1.5
300 mg/kg	(5) 5.1 ±0.1	(5) 2.9 ±0.1	(5) 1.33 ±0.07	(5) 15 ±2	(5) 0.6 ±0.0	(5) 128 ±20	(5) 45 ±11	(5) 39* ±5	(5) 6.8** ±0.6	(5) 8.9 ±0.2
1000 mg/kg	(5) 5.2 ±0.3	(5) 2.9 ±0.2	(5) 1.25 ±0.08	(5) 11 ±4	(5) 0.6 ±0.0	(5) 113 ±21	(5) 38 ±6	(5) 37** ±5	(5) 7.1 ±0.3	(5) 9.0 ±0.3

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 141.3 ±0.9	(5) 3.93 ±0.49	(5) 103.3 ±1.0	(5) 371 ±82	(5) 128 ±23	(5) 26 ±7	(5) 59 ±6	(5) 0 ±0
100 mg/kg	(5) 138.4 ±7.0	(5) 3.83 ±0.27	(5) 100.5 ±4.3	(5) 357 ±77	(5) 136 ±76	(5) 22 ±4	(5) 55 ±5	(5) 0 ±0
300 mg/kg	(5) 140.6 ±0.9	(5) 3.67 ±0.07	(5) 102.4 ±0.5	(5) 357 ±67	(5) 127 ±16	(5) 25 ±4	(5) 60 ±4	(5) 0 ±0
1000 mg/kg	(5) 141.1 ±0.6	(5) 3.51** ±0.09	(5) 100.8* ±0.6	(5) 347 ±53	(5) 193 ±83	(5) 30 ±1	(5) 59 ±2	(5) 0 ±0

*:Significantly different from control $p < 0.05$
 **:Significantly different from control $p < 0.01$

Parameter: Mean () : N
 ±S.D.

Table 6-3 Biochemical findings in female rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	Inorg. phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.6 ±0.2	(5) 3.2 ±0.1	(5) 1.35 ±0.05	(5) 17 ±2	(5) 0.7 ±0.1	(5) 125 ±18	(5) 59 ±7	(5) 59 ±33	(5) 5.7 ±0.6	(5) 8.7 ±0.2
1000 mg/kg	(5) 5.4 ±0.4	(5) 3.0 ±0.2	(5) 1.25* ±0.05	(5) 19 ±2	(5) 0.6 ±0.1	(5) 119 ±23	(5) 57 ±11	(5) 40 ±21	(5) 6.0 ±0.7	(5) 8.8 ±0.3

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 139.2 ±0.9	(5) 3.99 ±0.22	(5) 103.7 ±0.7	(5) 132 ±20	(5) 114 ±13	(5) 18 ±1	(5) 51 ±5	(5) 0 ±0
1000 mg/kg	(5) 139.7 ±1.0	(5) 3.86 ±0.39	(5) 104.1 ±1.4	(5) 165 ±31	(5) 112 ±14	(5) 21 ±5	(5) 55 ±6	(5) 0 ±1

*:Significantly different from control p<0.05

Parameter:Mean
±S.D.

():N

Table 6-4 Biochemical findings in male rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	Inorg. phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.4 ±0.2	(5) 2.8 ±0.2	(5) 1.04 ±0.14	(5) 18 ±2	(5) 0.6 ±0.1	(5) 130 ±14	(5) 48 ±10	(5) 64 ±21	(5) 7.1 ±0.8	(5) 8.9 ±0.2
1000 mg/kg	(5) 5.5 ±0.3	(5) 2.7 ±0.1	(5) 0.97 ±0.04	(5) 19 ±2	(5) 0.7 ±0.0	(5) 146 ±12	(5) 60 ±20	(5) 59 ±17	(5) 7.3 ±0.8	(5) 9.0 ±0.2

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 141.8 ±0.6	(5) 3.88 ±0.17	(5) 104.7 ±1.8	(5) 260 ±29	(5) 132 ±36	(5) 32 ±6	(5) 64 ±9	(5) 1 ±1
1000 mg/kg	(5) 141.7 ±0.8	(5) 3.83 ±0.17	(5) 104.2 ±1.0	(5) 258 ±41	(5) 313* ±134	(5) 49 ±39	(5) 83 ±24	(5) 0 ±1

*:Significantly different from control p<0.05

Parameter:Mean
±S.D.

():N

Table 7-1 Absolute organ weights in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight	Brain	Liver	Kidneys	Adrenal glands	Ovaries
	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
Control	(5) 203.9 ±8.9	(5) 1722.4 ±74.5	(5) 6381.4 ±478.2	(5) 1654.0 ±78.9	(5) 60.8 ±2.5	(5) 83.7 ±16.2
100 mg/kg	(5) 205.2 ±19.7	(5) 1816.4* ±68.8	(5) 6915.8 ±735.0	(5) 1696.1 ±174.5	(5) 67.7 ±0.9	(5) 89.6 ±9.6
300 mg/kg	(5) 218.2 ±19.0	(5) 1825.7* ±24.8	(5) 7760.5* ±1191.4	(5) 1845.5 ±258.9	(5) 67.9 ±5.7	(5) 93.9 ±10.5
1000 mg/kg	(5) 204.1 ±9.9	(5) 1783.2 ±28.4	(5) 7790.5* ±395.0	(5) 1793.8 ±91.4	(5) 65.4 ±6.6	(5) 81.5 ±13.1

*:Significantly different from control p<0.05

Parameter:Mean
±S.D.

():N

Table 7-2 Absolute organ weights in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight (g)	Brain (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Adrenal glands (mg)	Testes (mg)
Control	(5) 344.0 ±27.7	(5) 1914.9 ±26.0	(5) 11535.0 ±830.6	(5) 2605.2 ±147.1	(5) 50.7 ±7.0	(5) 2868.7 ±260.4
100 mg/kg	(5) 328.5 ±36.8	(5) 1934.6 ±61.9	(5) 11983.9 ±2312.7	(5) 2622.3 ±255.6	(5) 47.5 ±5.0	(5) 3002.8 ±25.2
300 mg/kg	(5) 337.0 ±20.9	(5) 1950.8 ±108.9	(5) 13437.5 ±1144.4	(5) 2688.1 ±222.0	(5) 46.6 ±6.2	(5) 2789.0 ±148.5
1000 mg/kg	(5) 337.8 ±28.6	(5) 1903.3 ±73.1	(5) 15083.3* ±2148.3	(5) 2790.6 ±155.6	(5) 49.0 ±4.3	(5) 2847.6 ±182.1

*:Significantly different from control $p < 0.05$

Parameter: Mean
±S.D.

():N

Table 7-3 Relative organ weights in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight	Brain	Liver	Kidneys	Adrenal glands	Ovaries
	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
Control	(5) 203.9 ±8.9	(5) 8.450 ±0.264	(5) 31.312 ±2.250	(5) 8.115 ±0.299	(5) 0.299 ±0.017	(5) 0.413 ±0.088
100 mg/kg	(5) 205.2 ±19.7	(5) 8.897 ±0.654	(5) 33.764 ±2.842	(5) 8.269 ±0.438	(5) 0.332 ±0.031	(5) 0.439 ±0.050
300 mg/kg	(5) 218.2 ±19.0	(5) 8.413 ±0.642	(5) 35.469 ±3.547	(5) 8.427 ±0.484	(5) 0.312 ±0.018	(5) 0.432 ±0.049
1000 mg/kg	(5) 204.1 ±9.9	(5) 8.753 ±0.484	(5) 38.192** ±1.784	(5) 8.804 ±0.620	(5) 0.321 ±0.026	(5) 0.399 ±0.054

** : Significantly different from control p<0.01

Parameter: Mean (): N
 ±S.D.

Table 7-4 Relative organ weights in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Testes (mg/g)
Control	(5) 344.0 ±27.7	(5) 5.598 ±0.485	(5) 33.573 ±1.201	(5) 7.612 ±0.721	(5) 0.148 ±0.017	(5) 8.335 ±0.170
100 mg/kg	(5) 328.5 ±36.8	(5) 5.936 ±0.551	(5) 36.320 ±4.254	(5) 8.012 ±0.672	(5) 0.145 ±0.016	(5) 9.226 ±0.969
300 mg/kg	(5) 337.0 ±20.9	(5) 5.802 ±0.435	(5) 39.842* ±1.753	(5) 7.972 ±0.351	(5) 0.139 ±0.016	(5) 8.302 ±0.714
1000 mg/kg	(5) 337.8 ±28.6	(5) 5.653 ±0.277	(5) 44.540** ±3.701	(5) 8.293 ±0.622	(5) 0.146 ±0.024	(5) 8.458 ±0.616

*:Significantly different from control $p < 0.05$
 **:Significantly different from control $p < 0.01$

Parameter: Mean (): N
 ±S.D.

Table 7-5 Absolute organ weights in female rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight (g)	Brain (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Adrenal glands (mg)	Ovaries (mg)
Control	(5) 237.2 ±9.5	(5) 1775.5 ±81.6	(5) 6953.8 ±628.5	(5) 1723.6 ±110.0	(5) 70.9 ±12.3	(5) 86.7 ±11.6
1000 mg/kg	(5) 228.3 ±14.7	(5) 1843.4 ±22.3	(5) 6776.0 ±737.5	(5) 1809.5 ±52.3	(5) 66.1 ±5.9	(5) 88.1 ±4.7

Parameter: Mean (): N
±S.D.

Table 7-6 Absolute organ weights in male rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight (g)	Brain (mg)	Liver (mg)	Kidneys (mg)	Adrenal glands (mg)	Testes (mg)
Control	(5) 398.0 ±41.3	(5) 2006.9 ±70.3	(5) 12042.3 ±2074.7	(5) 2892.2 ±283.4	(5) 48.8 ±6.6	(5) 3314.8 ±238.5
1000 mg/kg	(5) 424.3 ±24.4	(5) 2138.1** ±43.8	(5) 14821.0 ±2153.3	(5) 3034.0 ±243.5	(5) 50.2 ±6.9	(5) 3114.0 ±177.3

** : Significantly different from control $p < 0.01$

Parameter: Mean
± S.D. (): N

Table 7-7 Relative organ weights in female rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Ovaries (mg/g)
Control	(5) 237.2 ±9.5	(5) 7.493 ±0.406	(5) 29.290 ±1.890	(5) 7.278 ±0.576	(5) 0.299 ±0.047	(5) 0.366 ±0.049
1000 mg/kg	(5) 228.3 ±14.7	(5) 8.099 ±0.470	(5) 29.635 ±1.665	(5) 7.951 ±0.521	(5) 0.290 ±0.029	(5) 0.386 ±0.009

Parameter: Mean
±S.D. ():N

Table 7-8 Relative organ weights in male rats after 14 days withdrawal following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group	Body weight	Brain	Liver	Kidneys	Adrenal glands	Testes
	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
Control	(5) 398.0 ±41.3	(5) 5.075 ±0.398	(5) 30.093 ±2.214	(5) 7.290 ±0.595	(5) 0.125 ±0.025	(5) 8.434 ±1.334
1000 mg/kg	(5) 424.3 ±24.4	(5) 5.052 ±0.297	(5) 34.852* ±3.918	(5) 7.148 ±0.360	(5) 0.118 ±0.010	(5) 7.356 ±0.542

*:Significantly different from control p<0.05

Parameter:Mean
±S.D.

():N

Table 8-1 Macroscopic findings in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group Grade	Control				100 mg/kg				300 mg/kg				1000 mg/kg			
	-	+	+	Total	-	+	+	Total	-	+	+	Total	-	+	+	Total
(Submaxillary lymph nodes)																
swelling	4	0	1	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Thymus)																
dark colored spots/ hemorrhage	4	0	1	5	3	0	2	5	5	0	0	5	4	0	1	5
black nodule	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
(Lungs)																
dark colored spots/ area	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5	4	0	1	5
pale colored spots	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dark color	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Liver)																
pale colored spots/ nodule	4	0	1	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dark color	5	0	0	5	5	0	0	5	4	1	0	5	5	0	0	5
pale color	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
enlarged	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
distinct lobular pattern	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
herniation	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Glandular stomach)																
white spot/focus	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5	4	0	1	5
dark colored spots	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
rough surface	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
whitish mucous membrane	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
hematin	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Uterus)																
dilatation	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
(Kidneys)																
granular surface	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dilated pelvis	4	0	1	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Ileum)																
black contents	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Spleen)																
cyst	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Skin)																
crust	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
alopecia	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5

-: Negative, +: Slight, ++: Positive

Table 8-2 Macroscopic findings in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group Grade	Control				100 mg/kg				300 mg/kg				1000 mg/kg			
	-	+	+	Total	-	+	+	Total	-	+	+	Total	-	+	+	Total
(Submaxillary lymph nodes)																
swelling	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Thymus)																
dark colored spots/ hemorrhage	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
black nodule	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Lungs)																
dark colored spots/ area	4	0	1	5	4	0	1	5	4	0	1	5	4	0	1	5
pale colored spots	4	0	1	5	5	0	0	5	4	0	1	5	5	0	0	5
dark color	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	1	0	5
(Liver)																
pale colored spots	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5	5	0	0	5
dark color	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	1	0	5
pale color	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
enlarged	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
distinct lobular pattern	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5	4	0	1	5
herniation	5	0	0	5	4	0	1	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Glandular stomach)																
white spot	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dark colored spots	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5	5	0	0	5
rough surface	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5	5	0	0	5
whitish mucous membrane	5	0	0	5	4	0	1	5	4	0	1	5	5	0	0	5
hematin	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Kidneys)																
granular surface	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dilated pelvis	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Ileum)																
black content	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Spleen)																
cyst	4	0	1	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Skin)																
crust	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
alopecia	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5

-: Negative, +: Slight, ++: Positive

Table 8-3 Macroscopic findings in rats after 14 days withdrawal
following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex Group Grade	Female								Male							
	Control				1000 mg/kg				Control				1000 mg/kg			
	-	+	+	Total	-	+	+	Total	-	+	+	Total	-	+	+	Total
(Submaxillary lymph nodes)																
swelling	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Thymus)																
dark colored spots/ hemorrhage	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
black nodule	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Lungs)																
dark colored spots/ area	5	0	0	5	4	0	1	5	4	0	1	5	2	0	3	5
pale colored spots	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dark color	5	0	0	5	4	1	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Liver)																
pale colored spots/ nodule	4	0	1	5	4	0	1	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dark color	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
pale color	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
enlarged	5	0	0	5	4	1	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
distinct lobular pattern	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	1	0	5
herniation	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Glandular stomach)																
white spot/focus	4	0	1	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
dark colored spots	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
rough surface	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
whitish mucous membrane	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
hematin	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
(Uterus)																
dilatation	5	0	0	5	5	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
(Kidneys)																
granular surface	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
dilated pelvis	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Ileum)																
black content	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	4	0	1	5
(Spleen)																
cyst	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
(Skin)																
crust	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5
alopecia	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5	5	0	0	5

Table 9-1 Histopathological findings in female rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group Grade	Control (n=5)					100 mg/kg (n=5)					300 mg/kg (n=5)					1000 mg/kg (n=5)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Heart)																				
myocardial degeneration	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Liver)																				
swelling of hepatocyte	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1	4	0	0	0
focus of necrosis	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
fatty change in peripheral zone	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	0	0	0	5	0	0	0
fatty change in central zone	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
nodular fatty change	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
microgranuloma	0	2	3	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0
hemorrhage	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
(Kidneys)																				
regenerated tubule	3	2	0	0	0											4	1	0	0	0
dilated pelvis	4	0	1	0	0											5	0	0	0	0
calculi	5	0	0	0	0											2	1	2	0	0
eosinophilic body	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Spleen)																				
brown pigment	0	5	0	0	0											0	5	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	0	3	2	0	0											0	4	1	0	0
(Adrenals)																				
abnormality	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0

-: Negative, ±: Slight, +: Moderate, ++: Marked, +++: Severe

Table 9-2 Histopathological findings in male rats administered with 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Group Grade	Control (n=5)					100 mg/kg (n=5)					300 mg/kg (n=5)					1000 mg/kg (n=5)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Heart)																				
myocardial degeneration	5	0	0	0	0											4	1	0	0	0
(Liver)																				
swelling of hepatocyte	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	1	3	0	0
focus of necrosis	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	0	1	0	0
fatty change in peripheral zone	0	0	5	0	0	1	4	0	0	0	1	4	0	0	0	1	4	0	0	0
fatty change in central zone	4	1	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
nodular fatty change	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0
microgranuloma	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	1	3	1	0	0	1	4	0	0	0
hemorrhage	5	0	0	0	0	4	0	1	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
(Kidneys)																				
regenerated tubule	2	3	0	0	0											5	0	0	0	0
dilated pelvis	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
calculi	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
eosinophilic body	4	0	0	1	0											3	0	2	0	0
(Spleen)																				
brown pigment	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	0	0	5	0	0											0	0	4	1	0
(Adrenals)																				
abnormality	5	0	0	0	0											5	0	0	0	0

-: Negative, ±: Slight, +: Moderate, ++: Marked, +++: Severe

Table 9-3 Histopathological findings in rats after 14 days withdrawal
following administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane for 28 days

Sex Group Grade	Female					Male				
	Control (n=5)					1000 mg/kg (n=5)				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Liver)										
swelling of hepatocyte	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
focus of necrosis	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
fatty change in peripheral zone	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0
fatty change in central zone	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
nodular fatty change	5	0	0	0	0	4	0	1	0	0
microgranuloma	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0
hemorrhage	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
scar and pigmentation	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0

-: Negative, ±: Slight, +: Moderate, ++: Marked, +++: Severe