

# 最 終 報 告 書

2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールのラットを用いる  
28日間反復経口投与毒性試験  
(試験番号: 06-107)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

## 目 次

要約	1 頁
目的	2
材料および方法	2
1. 被験物質	2
2. 動物および飼育条件	2
3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法	3
4. 観察および検査	4
1) 一般状態の観察	4
2) 機能観察総合検査	4
3) 体重および摂餌量	5
4) 尿検査	5
5) 血液学検査	6
6) 血液生化学検査	6
7) 剖検および器官重量	6
8) 病理組織学検査	7
5. 統計解析	7
結果	9
1. 一般状態および死亡	9
2. 機能観察総合検査	9
3. 体重	10
4. 摂餌量	10
5. 尿検査	10
6. 血液学検査	10
9. 血液生化学検査	11
8. 剖検	11
9. 器官重量	11
10. 病理組織学検査	11
考察	13

文献	.....	15
----	-------	----

## 添付資料

### A 図・群別平均値表

Figures 1, 2	体重	.....	1
Tables 1, 2	一般状態および死亡率	.....	3
Tables 3, 4	詳細な臨床観察	.....	5
Tables 5, 6	感覚機能検査	.....	19
Tables 7, 8	握力および自発運動量	.....	23
Tables 9, 10	体重	.....	27
Tables 11, 12	摂餌量	.....	29
Tables 13, 14	尿検査	.....	31
Tables 15, 16	血液学検査	.....	35
Tables 17, 18	血液生化学検査	.....	39
Tables 19, 20	剖検	.....	43
Tables 21, 22	器官重量	.....	45
Tables 23, 24	病理組織学検査	.....	49

## 要 約

2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールを 1 群雌雄各 6 匹の SD 系ラットに、0 (溶媒として用いた局方精製水を投与), 10, 30, 90 および 150 mg/kg/day の用量で 28 日間経口投与し、その反復投与毒性について検討した。現れる変化の可逆性を調べるため、0 および 150 mg/kg/day では、投与終了後 14 日間の回復期間を設けたサテライト群を別に設けた。

投与期間中の雄で、150 mg/kg 群の 12 匹中 4 匹が死亡発見もしくは瀕死状態のため安楽死となった。雌で、10 mg/kg 群および 30 mg/kg 群の各 6 匹中 1 匹が死亡または切迫殺、90 mg/kg 群の 6 匹中 2 匹、150 mg/kg 群の 12 匹中 8 匹が死亡発見もしくは瀕死状態のため安楽死となった。動物は死亡する前に自発運動の低下、異常呼吸音、深大呼吸、蒼白、皮温低下、眼瞼下垂、流涎および粗毛の一般状態の変化が認められた。生存例でも自発運動の低下、異常呼吸音、深大呼吸の一般状態の変化が認められ、150 mg/kg 群の雄で投与 2 日目に体重減少が認められた。

血液学的検査において、被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

血液生化学的検査において、90 mg/kg 群以上の雌雄で塩素の値が高値を示し、個体別にはナトリウムまたはカリウムの異常値が認められ、さらに死亡例も発現していることからも、電解質バランスが異常を示していると考えられた。

病理学的検査において、中間用量から多数の例に肺の炎症や気管の炎症が認められることから、死亡の原因は肺の変化と考えられた。しかし、10 mg/kg 群で死亡した動物番号 516 には、肺以外に目立った所見は認められず、また、肺にカタール性気管支炎と高度な泡沫細胞の浸潤が認められ、カタール性気管支炎の原因は誤嚥の可能性が高く、死因は投与過誤が考えられた。

以上の結果から、2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールのラットへの 28 日間反復経口投与において、雄で肺の炎症が 90 mg/kg 以上の群に、前胃の扁平上皮過形成、腺胃の上皮過形成および腎臓の集合管上皮過形成が 150 mg/kg 群に認められ、雌で 30 mg/kg 群に死亡が認められたため、無毒性量 (NOAEL) は、雄で 30 mg/kg/day、雌で 10 mg/kg/day と結論された。

## 目的

2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールをラットに 28 日間経口投与し、本物質の反復投与毒性について検討した。

## 材料および方法

### 1. 被験物質

被験物質の 2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオール (CAS 番号 52-51-7) は、抗菌剤として化粧品、生活用品などに使用されているが、その性質は水に可溶で、常温では白色結晶である。試験には、

から試薬として (純度 98.6 %) を入手して、冷暗所 (2~6°C)，密封下で保管し、使用した。保管した被験物質は投与終了後に、

分析した結果、純度は 99.4 %、かつ、安定であったことを確認した。本物質の特性は、Appendix 1 に示す。

被験物質は、局方精製水 (共栄製薬株式会社、ロット番号 081583) を用いて、所定の投与用量になる濃度に溶解し、投与液とした。被験物質調製液の安定性を調べた結果、冷暗所 (2~6°C) で 7 日間、続いて室温暗所で 1 日間の保管条件で安定であることが確認された (Appendix 2) ので、投与液は、週 1 回調製して 1 日の使用量に小分けし、使用時まで冷所 (2~6°C)・遮光下で保管した。さらに、投与液の濃度確認として、初回に調製したそれぞれ 1.2, 0.06 および 4 w/v% 液について分析し、所定の濃度で調製されていることを確認した (Appendix 3)。

### 2. 動物および飼育条件

動物は、SD 系 [Crl : CD(SD)] ラットを用いた。ラットは、日本チャールス・リバーワークス株式会社 厚木飼育センター (神奈川県厚木市下古沢 795) から 4 週齢のものを搬入 (雄 48 匹、雌 48 匹) し、雄は 7 日間、雌は 8 日間試験環境に馴化させた。馴化期間中に検疫を行い、発育および一般健康状態が良好なものについて、投与開始前日に体重を測定し、雌雄それぞれ全動物の体重の平均値に近いものから各 42 匹を選び、体重により層別化した後、動物を無作為に各群に振り分け、各群の体重分布が均一となるようにした。試験は 5 週齢で開始した。投与開始時の体重 (体重範囲) は、雄 158(146~167) g、雌

140(127～149) g であった。

ラットは、温度  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10 回以上／時（オールフレッシュエア方式）、照明 12 時間／日（午前 7 時点灯、午後 7 時消灯）に設定したバリアーシステム動物室（第 7 室）で、個体別にステンレス製金網ケージ [260W × 380D × 180 H(mm)] に収容し、これをステンレス製 5 段のラックに配置して飼育した。飼料（固型飼料ラボ MR ストック、日本農産工業株式会社、ロット番号 061272, 20070470）および飲料水（孔径  $1 \mu\text{m}$  のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は、それぞれ給餌器および自動給水装置により、自由に摂取させた。動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札の貼付並びに耳パンチ法により行った。

飼育期間中、動物室の温度は  $21.7 \sim 24.8^{\circ}\text{C}$ 、湿度は 49～60 % の範囲で推移（Appendix 4）した。また、飼料の分析結果（Appendix 5）は、米国環境保護庁毒性物質規制法の「飼料および媒体の汚染物質限度（1979）」等を参考にして当研究所が設定した許容範囲内にあり、飲料水は水道法に基づく水質基準に適合する（Appendix 6）ことが確認された。したがって、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された。

本試験は、動物実験を科学的観点および倫理的な配慮の下に実施するために遵守すべき事項等を定めた、「財団法人 畜産生物科学安全研究所の動物実験実施規定」に従い、本施設の動物実験委員会の承認を得て行った。

### 3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

投与量設定試験として、1 群雌雄各 4 匹の SD 系 [Crl : CD(SD)] ラットに、2-プロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールを 0（溶媒対照）、3, 10, 30 および  $100 \text{ mg/kg/day}$ 、並びに追加試験として、0, 150 および  $200 \text{ mg/kg/day}$  の用量で 14 日間経口投与した。その結果、 $150 \text{ mg/kg}$  以上の群で雌雄に自発運動の低下、腹臥位、眼瞼下垂、流涎などの症状並びに  $150 \text{ mg/kg}$  群の雌 1 匹、 $200 \text{ mg/kg}$  群の雄 2 匹および雌 1 匹の死亡が認められた。 $100 \text{ mg/kg}$  以下の群で一般状態の観察、体重および摂餌量の測定、尿検査、血液学検査、血液生化学検査、剖検並びに器官重量の測定で、被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、28 日間反復投与する本試験での投与量は、確実に反復投与毒性が

発現すると予測される 150 mg/kg/day を最高用量、毒性影響が発現しないと予測される 10 mg/kg/day を最低用量とし、これらの用量の間に 30 および 90 mg/kg/day の計 4 用量を設定した。

試験群の構成は、①溶媒投与群（以下、対照群）、②被験物質の 10 mg/kg/day 投与群（10 mg/kg 群）、③同 30 mg/kg/day 投与群（30 mg/kg 群）、④同 90 mg/kg/day 投与群（90 mg/kg 群）、および⑤同 150 mg/kg/day 投与群（150 mg/kg 群）の 5 群で、各群の動物数は雌雄各 6 匹とした。さらに対照群と最高用量群については、現れる変化の回復性を調べるためのサテライト群として、別に雌雄各 6 匹からなる回復群を設けた。

投与方法は、投与液量を体重 1kg 当たり 5mL とし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、投与液を胃内に、1 日 1 回（午前中 8：19～10：51）、28 日間にわたり経口投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重を基に算出した。対照群には、媒体として用いた局方精製水を同様に投与した。

#### 4. 観察および検査

観察期間は、投与開始前日から投与期間の 28 日間およびサテライト群ではそれに続く回復期間の 14 日間とし、次の観察および検査を実施した。

##### 1) 一般状態の観察

全例について、毎日、投与期間においては投与前、投与直後、投与後概ね 30 分～1 時間および 4 時間以降の 4 回、回復期間においては少なくとも 1 回、動物の生死、外観、行動などについて観察した。

##### 2) 機能観察総合検査

###### (1) 詳細な臨床観察

全例について、投与開始前日およびその後は週 1 回、ケージサイドでの観察に加えて、ケージから出す時およびケージ外のアルミ製オープンフィールド（370W×560D×40Hmm）で、ケージからの出し易さ、ケージから出す時の扱い易さ、発声、体躯緊張（弛緩～強直）、皮膚（色）、毛並み、下腹部被毛の尿による汚れ、肛門周囲の便による汚れ、眼瞼閉鎖状態、眼球突出、眼・鼻の分泌物、流涙、流涎、立毛、呼吸、歩行（よろめき）、姿勢、探索行動（覚醒度）、振戦、痙攣、異常行動（自咬、後ろ向き歩行等）、常同行動（過度の毛繕い、反復旋回運動等）、排尿（回数）および排糞（個数）について

て観察し、認められた変化を評点（Appendix 7）で記録した。動物には無作為化法で観察番号を付け、観察者以外の者が群や動物番号を表示したケージの標識札を観察番号のみ表示した標識札に替え、観察者は観察番号順に観察を行うことにより、投与内容が不明な状態で観察した。

#### （2）感覚機能検査

投与期間終了時屠殺動物は投与 4 週（雌雄とも投与 27 日）に、回復期間終了時屠殺動物は回復 2 週（雌雄とも回復 13 日）に、聴覚反応（ピンセットで軽くケージを叩く音に対する反応）、視覚反応（顔面に棒を近づけた場合の接近反応）、触覚反応（腰部に触れた場合の反応）、痛覚反応（尾根部をピンセットで摘んだ場合の逃避、発声などの反応）、瞳孔反射（光に対する瞳孔の反応）および正向反射（面上で動物を背臥位にした場合の正常姿勢にもどる反応）を調べ、認められた反応を評点（Appendix 8）で記録した。

#### （3）握力および自発運動量

投与期間終了時屠殺動物は、投与 4 週（雌雄とも投与 27 日）に、回復期間終了時屠殺動物は回復 2 週（雌雄とも回復 13 日）に前肢および後肢の握力（ラット・マウス用握力測定装置、MK-380R/FR、室町機械株式会社）並びに自発運動量（自発運動量測定装置、SUPERMEX、室町機械株式会社、動物が発する遠赤外線をセンサーが感知することで測定装置内の区画間の 60 分間における移動回数を測定）の測定を行った。

#### 3) 体重および摂餌量

体重は、投与 1（投与開始直前）、2、7、14、21 および 28 日並びに回復 7 日および 14 日に測定し、投与期間中および回復期間中の体重増加量を算出した。また器官の相対重量算出のため、屠殺日にも体重を測定した。摂餌量は、毎週 1 回、雄は投与 5、12、19 および 26 日並びに回復 5 および 12 日、雌は投与 4、11、18 および 25 日並びに回復 4 および 11 日に、翌日までの 24 時間の飼料消費量を測定した。体重および摂餌量測定の測定には、電子天秤（FY-3000/GX-2000、エー・アンド・ディ株式会社）を用いた。

#### 4) 尿検査

投与 4 週（雌雄とも投与 22 日）に、回復群は回復 2 週（雌雄とも回復 8 日）に、腰部を刺激して採取した新鮮尿について、色調および濁度の観察、試験紙法（マルティスティックス、バイエルメディカル株式会社）による pH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、

ビリルビンおよびウロビリノーゲンの定性的検査を行った。

### 5)血液学検査

投与期間および回復期間終了の翌日に、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より採血した。動物は前日の午後 5 時より除餌し、水のみを給与した。採取した血液は 3 分割し、その一部は EDTA-2K で凝固阻止処理し、多項目自動血球計数装置 (XT-2000iV, シスメックス株式会社) により、赤血球数（電気抵抗検出法）、血色素量（ラウリル硫酸ナトリウム・ヘモグロビン法）、ヘマトクリット値（赤血球パルス高値検出法）、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度（以上、計算値）、血小板数（電気抵抗検出法）、白血球数、網状赤血球数および白血球百分率（以上、フローサイトメトリー法）を測定した。また、血液の一部を 3.8 %クエン酸ナトリウム液で凝固阻止処理して血漿を遠心分離し、血液凝固自動測定装置 (KC-10A, 米国アーベント社) により、プロトロンビン時間 (Quick 一段法) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (エラジン酸活性化法) を測定した。

### 6)血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を遠心分離し、生化学自動分析装置 (JCA-BM8 型クリナライザー、日本電子株式会社) により、総タンパク（ビューレット法）、アルブミン (BCG 法)、A/G 比（計算値）、血糖[酵素法 (GluK<sup>1)</sup> -G-6-PDH<sup>2)</sup> -UV 系]、総コレステロール[（酵素法 (CES<sup>3)</sup> -CO<sup>4)</sup> -POD<sup>5)</sup> 系]、トリグリセライド[酵素法 (LPL<sup>6)</sup> -GK<sup>7)</sup> -GPO<sup>8)</sup> -POD<sup>5)</sup> 系]、総ビリルビン（ジアゾ法）、尿素窒素（ウレアーゼ・UV 法）、クレアチニン (Jaffe 法)、AST、ALT、ALP（以上、JSCC<sup>9)</sup> 法）、 $\gamma$ -GTP (SSCC 法<sup>10)</sup>、LDH (SFBC<sup>11)</sup> 法)、カルシウム (OCPC 法) および無機リン[酵素法 (PNP<sup>12)</sup> -XOD<sup>13)</sup> -POD<sup>5)</sup> 系]を、また電解質自動分析装置 (NAKL-132, 東亜電波工業株式会社) により、ナトリウム、カリウムおよび塩素（以上、イオン電極法）を測定した。

測定法の注釈； ①：グルコキナーゼ、②：グルコース-6-リン酸脱水素酵素、③：コレステロールエステラーゼ、④：コレステロールオキシダーゼ、⑤：ペルオキシダーゼ、⑥：リポプロテインリバーゼ、⑦：グリセロールキナーゼ、⑧：L- $\alpha$ -グリセロリン酸オキシダーゼ、⑨：日本臨床化学会、⑩：スカンジナビア臨床化学会、⑪：フランス臨床生物学会、⑫：プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ、⑬：キサンチンオキシダーゼ

### 7)剖検および器官重量

所定の投与期間および回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し、体表、開口部粘膜および内部諸器官を肉眼的に観察した。また、脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、副腎、脾臓さらに雄では精巣、精巣上体、雌では卵巣（絶対重量）し、屠殺日の体重に基づいて対体重比（相対重量）を算出した。なお、対器官は左右を一括して秤量した。

### 8)病理組織学検査

全例について下記器官・組織を採取し、10 %中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定（精巣、精巣上体はブアン液で前固定、肺は固定液を注入した後浸漬）して保存した。

脳（大脳、小脳、橋を含む）、下垂体、眼球、甲状腺（上皮小体を含む）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、心臓、気管、肺、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、胃（前胃、腺胃）、腸（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、パイエル板を含む）、生殖器（精巣又は卵巣）、副生殖器（子宮、臍又は前立腺、精嚢、精巣上体）、膀胱、坐骨神経、リンパ節（下顎リンパ節、腸間膜リンパ節）、骨髓（大腿骨）

病理組織学検査は、対照群および150 mg/kg群の雌雄各6匹並びに死亡動物の上記器官・組織について実施した。その結果、雌雄の肺、胃、膀胱、腎臓および胸腺、雄の十二指腸、精巣および精巣上体並びに雌の気管および肝臓に被験物質の投与との関連性が疑われる変化が認められたため、10, 30 および90 mg/kg群並びに回復群の生存動物については、これらの器官について検査した。検査は、常法に従ってパラフィン切片を作製し、H-E 染色を施して鏡検した。

## 5. 統計解析

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との有意差（危険率5%以下）を次の方法で検定した。

### (1) パラメトリックデータ

多群間の比較については、Bartlett の分散検定を行った。分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行い、その結果有意差を認めた場合、Dunnett の検定法により対照群に対する各群の比較検定を行った。分散が一様でない場合は、ノンパラメトリックデータに用いる検定法に従った。2群間の比較については、F 検定を行い、その結果分散が一様な場合は Student の t 検定を、分散が一様でない場合は Aspin-Welch の t 検定を行った。（体重、体重増加量、摂餌量、握力、自発運動量、血液学検査データ、血液生化

学検査データ， 器官重量)

(2) ノンパラメトリックデータ

多群間の比較については， Kruskal-Wallis の順位検定を行い， その結果有意差を認めた場合， Dunnett 型の検定法により対照群と各群を比較した。2 群間の比較については， Mann-Whitney の U 検定を行った。(尿検査における定性的データ， 白血球百分率)

(3) カテゴリカルデータ

Fisher の直接確率法を用いた (一般状態の観察， 詳細な臨床観察， 感覚機能検査， 割検および病理組織学検査における異常例の発現率)。なお， 病理組織学検査所見のうち， グレード分けしたデータについては， Mann-Whitney の U 検定を行った。

## 結 果

### 1. 一般状態および死亡 (Tables 1, 2, Appendices 9, 10)

投与期間中の雄で、150 mg/kg 群の 12 匹中 1 匹（動物番号 033）が死亡し、3 匹（動物番号 032, 035, 042）が瀕死状態のため安楽死となつた。雌で、10 mg/kg 群の 6 匹中 1 匹（動物番号 516）が死亡し、30 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 523）が安楽死となつた。90 mg/kg 群の 1 匹（動物番号 528）の死亡が発見された。150 mg/kg 群の 12 匹中 3 匹（動物番号 531, 534, 541）が安楽死および 5 匹（動物番号 532, 537, 538, 539, 542）の死亡が発見された。死亡時期について、動物番号 516 および 542 は投与 29 日並びに 523 は投与 21 日だったが、他の例は投与 2 日から投与 8 日に死亡もしくは安楽死となつた。

回復期間中において、死亡は認められなかつた。

死亡例または瀕死例の一般状態の変化について、30 mg/kg 群の雌で自発運動の低下、異常呼吸音、深大呼吸および皮温低下が認められた。90 mg/kg 群の雌で自発運動の低下、深大呼吸および流涎が認められた。150 mg/kg 群の雌雄で自発運動の低下、異常呼吸音、深大呼吸、蒼白、皮温低下、眼瞼下垂、流涎および粗毛が認められた。

なお、10 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 516）は投与 27 日および 28 日に自発運動の低下、異常呼吸音および深大呼吸の一般状態の変化が認められ、投与 29 日に死亡発見されたが、それ以前には他の死亡例と同様な変化は認められなかつた。従つて、一般状態の発現状況からみて投与過誤による変化と判断された。

生存例では、90 mg/kg 群の雄で異常呼吸音、雌で自発運動の低下が認められた。150 mg/kg 群では、雄で自発運動の低下および流涎、雌で自発運動の低下および眼瞼下垂が認められた。

回復期間中において、一般状態の変化は認められなかつた。

### 2. 機能観察総合検査

#### 1) 詳細な臨床観察 (Tables 3, 4, Appendices 11, 12)

投与期間中および回復期間中の検査で、各項目に有意な差は認められなかつた。

投与期間中、呼吸の異常、皮膚の異常、立毛、眼・鼻の分泌物、眼瞼閉鎖状態が雌に極少数認められたが、瀕死状態による非特異的な症状で、被験物質による毒性徵候では

ないと考えられた。

## 2) 感覚機能検査 (Tables 5, 6, Appendices 13, 14)

投与 4 週（投与 27 日）の検査において、150 mg/kg 群の雌の 1 匹（動物番号 542）に正向反射の軽度な低下が認められた。その後この動物は投与 29 日に死亡が発見された。

回復期間中の検査で、各項目に変化は認められなかった。

## 3) 握力および自発運動量 (Tables 7, 8, Appendices 15, 16)

投与期間中の検査で、前肢および後肢の握力並びに自発運動量の測定に有意な変化は認められなかつたが、150 mg/kg 群の雌の 1 匹（動物番号 542）の後肢の握力および自発運動量は、低値を示した。

回復期間中の検査で、各項目に変化は認められなかつた。

## 3. 体重 (Figures 1, 2, Tables 9, 10, Appendices 17, 18)

投与 2 日の測定で、150mg/kg 群の雄に体重の有意な低値が認められたが、それ以降は、各測定日の体重並びに投与期間中および回復期間中の体重増加量に有意な変化は認められなかつた。

## 4. 摂餌量 (Tables 11, 12, Appendices 19, 20)

投与期間および回復期間を通じて、摂餌量に有意な変化は認められなかつた。

## 5. 尿検査 (Tables 13, 14, Appendices 21, 22)

投与期間中および回復期間中の検査において、各検査項目に有意な変化は認められなかつた。なお、投与期間中の検査で、150mg/kg 群の雄の 1 匹で重度の潜血が認められた。

## 8. 血液学検査 (Tables 15, 16, Appendices 23, 24, 背景データ Appendices 31, 32)

投与期間終了時の検査において、被験物質投与の全ての群の雌のプロトロンビン時間

および 10mg/kg 群の雌の血小板数に有意な低値が認められた。しかしながら、これらプロトロンビン時間およびの血小板数の変化に、用量相関性は認められなかつた。

回復期間終了時の検査においては、雄で平均赤血球血色素量の低値が認められたが、投与期間終了時に認められない変化であった。

#### 9. 血液生化学検査 (Tables 17, 18, Appendices 25, 26, 背景データ Appendices 31, 32)

投与期間終了時の検査において、30 mg/kg 以上群の雌雄で塩素が増加した。同じ電解質であるナトリウムおよびカリウムについて、群ごとの比較では有意な差は認められなかつたが、個体ごとの値をみると、異常値が散見された。また、10 mg/kg 群の雌で血糖が有意に低下が認められたが、用量相関性のない変化であった。

回復期間終了時において、雌雄とも各検査において有意な変化は認められなかつた。

#### 10. 剖検 (Tables 19, 20, Appendices 27, 28)

死亡または瀕死状態のため安楽死を施した動物において、10 mg/kg 群の雌 1 匹（動物番号 516）および 30 mg/kg 群の雌 1 匹で肺の赤色域が認められた。90 mg/kg 群の雌 2 匹では、肺の赤色域が 1 匹ずつ認められた。150 mg/kg 群の雄では、腎臓の灰白色化が 4 匹中 1 匹に認められた。8 匹の死亡または瀕死状態に至った 150 mg/kg 群の雌では、肺の赤色域が 2 匹並びに前胃粘膜の赤色域が 3 匹に認められた。

生存例において、90 mg/kg 群の雄 1 匹に肺の赤色域が認められた。

回復期間終了時において、雌雄とも異常所見は認められなかつた。

#### 11. 器官重量 (Tables 21, 22, Appendices 29, 30)

投与期間終了時において、30 mg/kg および 90 mg/kg 群の雄で下垂体の絶対重量の有意な低値が認められたが、用量相関性は認められなかつた。

回復期間終了時において、150 mg/kg 群の雄が、投与期間終了時には認められなかつた精巣の絶対重量、精巣上体の絶対重量および肝臓の相対重量の低値を示した。

雌の臓器重量には、変化は認められなかつた。

## 12.病理組織学検査 (Tables 23, 24, Appendices 27, 28)

被験物質の投与に起因する変化は、雌雄の肺、前胃、腺胃、腎臓、膀胱および胸腺、雄の十二指腸、精巣および精巣上体並びに雌の気管および肝臓に認められた。

150 mg/kg 群において、雌雄に肺の炎症、前胃の扁平上皮過形成、腺胃の上皮過形成、腎臓の集合管上皮過形成、膀胱の単純性移行上皮過形成、胸腺の萎縮、雄に十二指腸の糜爛、精巣の精子低形成および間質細胞の過形成、精巣上体の精子減少、雌に気管の炎症並びに肝臓の高度な巣状壊死および鬱血が認められた。30 mg/kg 群および 90 mg/kg 群の死亡例においても、雌雄に肺の炎症が認められ、肺の所見が死亡の原因と関連すると考えられた。90 mg/kg 群の生存例の雄では肺の炎症が認められたが、90 mg/kg 以下の雌並びに 30 mg/kg 群以下の雄の生存例には被験物質に起因する所見は認められなかった。

10 mg/kg 群で死亡した動物番号 516 の病理組織学検査においては、肺以外に目立った所見は認められず、また、肺に急性的な病変と考えられるカタール性気管支炎と高度な泡沫細胞の浸潤が認められ、投与過誤による誤嚥に基づく死亡と判断された。

被験物質の投与とは無関係な自然発生病変と判断された所見として、肺の泡沫細胞集簇巣（対照群）および動脈壁鉱質沈着、心臓的心筋変性・線維化、肝臓の巣状壊死、微小肉芽腫および彌慢性肝細胞脂肪変性、腺胃の胃底腺拡張、腎臓の好塩基性尿細管、リンパ球皮質浸潤、孤立性囊胞、限局性皮質線維化、尿細管拡張および腎孟拡張、甲状腺の鰓囊遺残、精巣の精細管萎縮、前立腺のリンパ球間質浸潤および子宮の子宮腔拡張がいずれも低い発現率で認められた。

また、雄の腎臓の近位尿細管上皮硝子滴並びに雌雄の脾臓の髓外造血および褐色色素沈着がいずれも高い発現率で認められたが、150 mg/kg 群における発現率や変化の程度に対照群と差は認められなかった。

回復期間終了時において、0 および 150 mg/kg 群の雌雄の肺、前胃、腺胃、腎臓、膀胱および胸腺、雄の十二指腸、精巣および精巣上体並びに雌の気管および肝臓の病理組織学検査の結果、被験物質に起因する所見は認められなかった。

## 考 察

2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールの反復投与毒性を検討するために、本物質をラットに 0, 10, 30, 90 および 150 mg/kg/day の用量で 28 日間経口投与した。現れる変化の可逆性を調べるため、0 および 150 mg/kg/day では投与終了後 14 日間の回復期間を設けたサテライト群を別に設定した。

投与期間中の雄で、150 mg/kg 群の 12 匹中 4 匹が死亡発見もしくは瀕死状態のため安楽死となった。雌で、10 mg/kg 群および 30 mg/kg 群の各 6 匹中 1 匹が死亡または切迫殺、90 mg/kg 群の 6 匹中 2 匹、150 mg/kg 群の 12 匹中 8 匹が死亡発見もしくは瀕死状態のため安楽死となった。動物は死亡する前に自発運動の低下、異常呼吸音、深大呼吸、蒼白、皮温低下、眼瞼下垂、流涎および粗毛の一般状態の変化が認められた。生存例でも自発運動の低下、異常呼吸音、眼瞼下垂および流涎の一般状態の変化は認められている。病理学的検査において、中間用量から多数の例に肺の炎症や気管の炎症が認められたことから、死亡の原因は肺の変化と考えられた。なお、雌の 10 mg/kg 群の 1 匹は、解剖日の投与 29 日に死亡したが、自発運動の低下、異常呼吸音、深大呼吸といった症状が認められたのは前々日からで、それまでは異常所見は認められなかった。剖検時には、肺の赤色域が認められ、病理組織学検査においては、肺以外に目立った所見は認められず、また、肺に急性的な病変と考えられるカタール性気管支炎および異物を吸入した時に認められる高度な泡沫細胞の浸潤が認められた。以上の結果から、この動物の死因は誤嚥によるものと判断された。

体重に対する影響として、150 mg/kg 群の雄で、投与 2 日のみ体重減少が認められた。

血液生化学的検査において、30 mg/kg 群以上の雄および 90 mg/kg 群以上の雌で塩素の値が高値を示した。本被験物質は臭素を含み、臭素は同じハロゲンである塩素の測定値に影響を及ぼすことが知られており、本試験の塩素の高値も、臭素による影響の可能性は否定できない。しかし、通常、電解質の増減が単独で生じることはなく、他の電解質の変動を伴うもので、本試験のナトリウムおよびカリウムの対照群と投与群の比較では有意な差は認められなかったものの、90 mg/kg 以上の群の個体値をみると、塩素の高値例ではナトリウムまたはカリウムの高値を伴う例が認められた。死亡例も認められていることから、電解質バランスの異常が示唆された。

血液学的検査において、被験物質投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールの毒性について、ラット経口 LD<sub>50</sub> 値は 180 mg/kg<sup>1)</sup>或いは雄 307 mg/kg、雌 342 mg/kg と報告<sup>2)</sup>されている。ラットによる 90 日間の反復経口投与試験において、80 および 160 mg/kg 用量で、消化管障害、呼吸障害および死亡が認められている<sup>2)</sup>。今回の試験においても、呼吸障害および消化管障害が認められた。

回復期間終了時において、これらの毒性徴候は消失し、本被験物質の可逆性が認められた。回復期間終了時において、150 mg/kg 群の雄で、精巣および精巣上体の絶対重量並びに肝臓相対重量の低値を示した。これらの変化は、投与期間終了時には認められず、肝臓の変化は雌には認められなかつたこと、回復期間終了時でも 150 mg/kg の体重は対照群より低値を示していたことから、これらの器官重量の変化は体重の低値に関連した非特異的なもので、毒性学的意義は少ないものと考えられた。

以上の結果から、2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールのラットへの 28 日間反復経口投与において、雄で肺の炎症が 90 mg/kg 以上の群に、前胃の過形成、腺胃の上皮過形成および腎臓の集合管上皮過形成が 150 mg/kg 群に認められ、雌で 30 mg/kg 群に死亡が認められたため、無毒性量 (NOAEL) は、雄で 30 mg/kg/day、雌で 10 mg/kg/day と結論された。

## 文 献

- 1) Frear E.H., et al, "Pesticide index" State College, PA, College Science Pub. Vol 5, pp.30, 1976
- 2) Bryce D.M., et al, The activity and safety of the antimicrobial agent Bronopol (2-bromo-2-nitropropan-1, 3-diol), J. Soc. Cosmet. Chem. 29, 3-24 (1978)

2-プロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオールのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験

(試験番号 : 06-107)

**最終報告書 添付資料A**  
(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

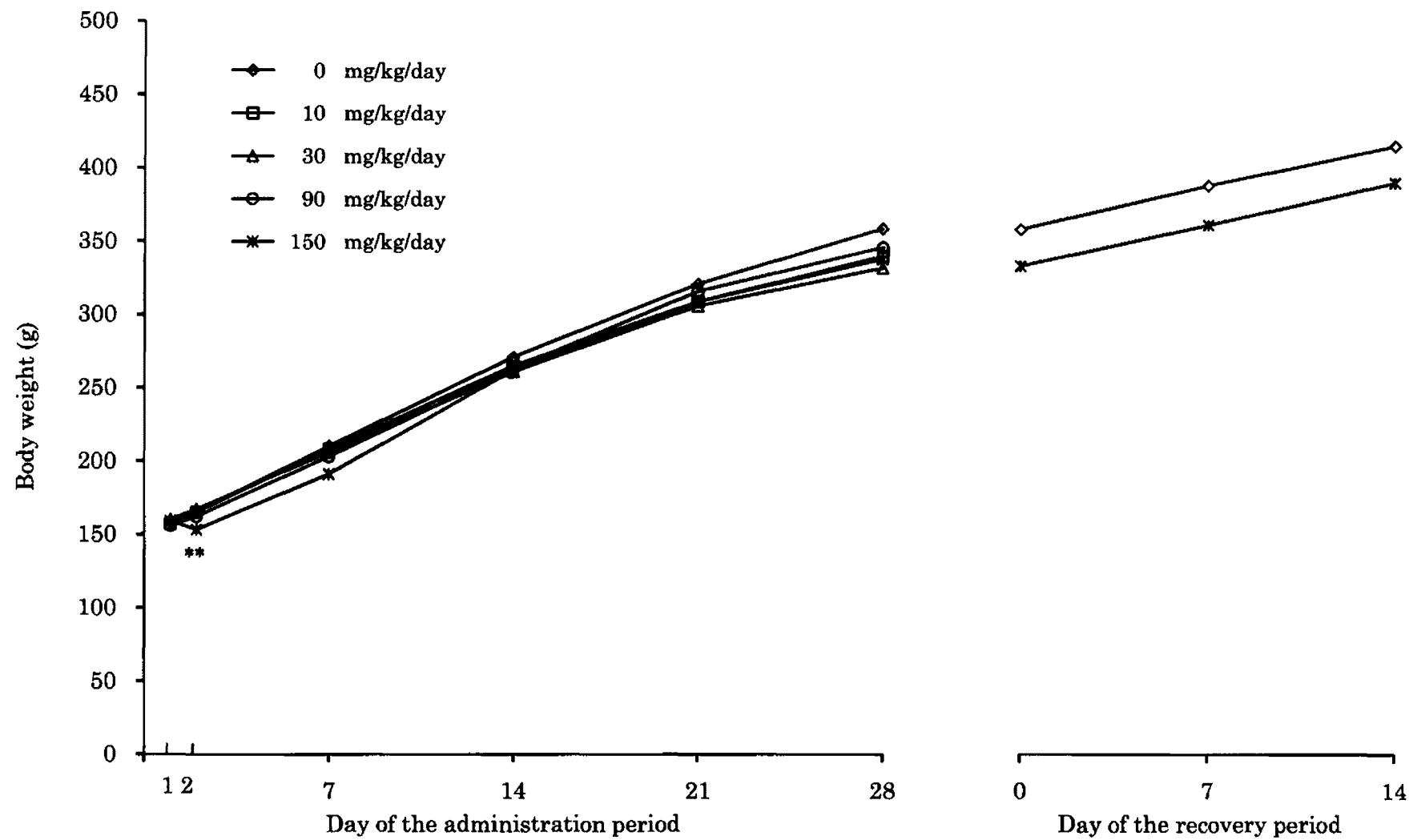


Fig.1 Body weight change of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study  
\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

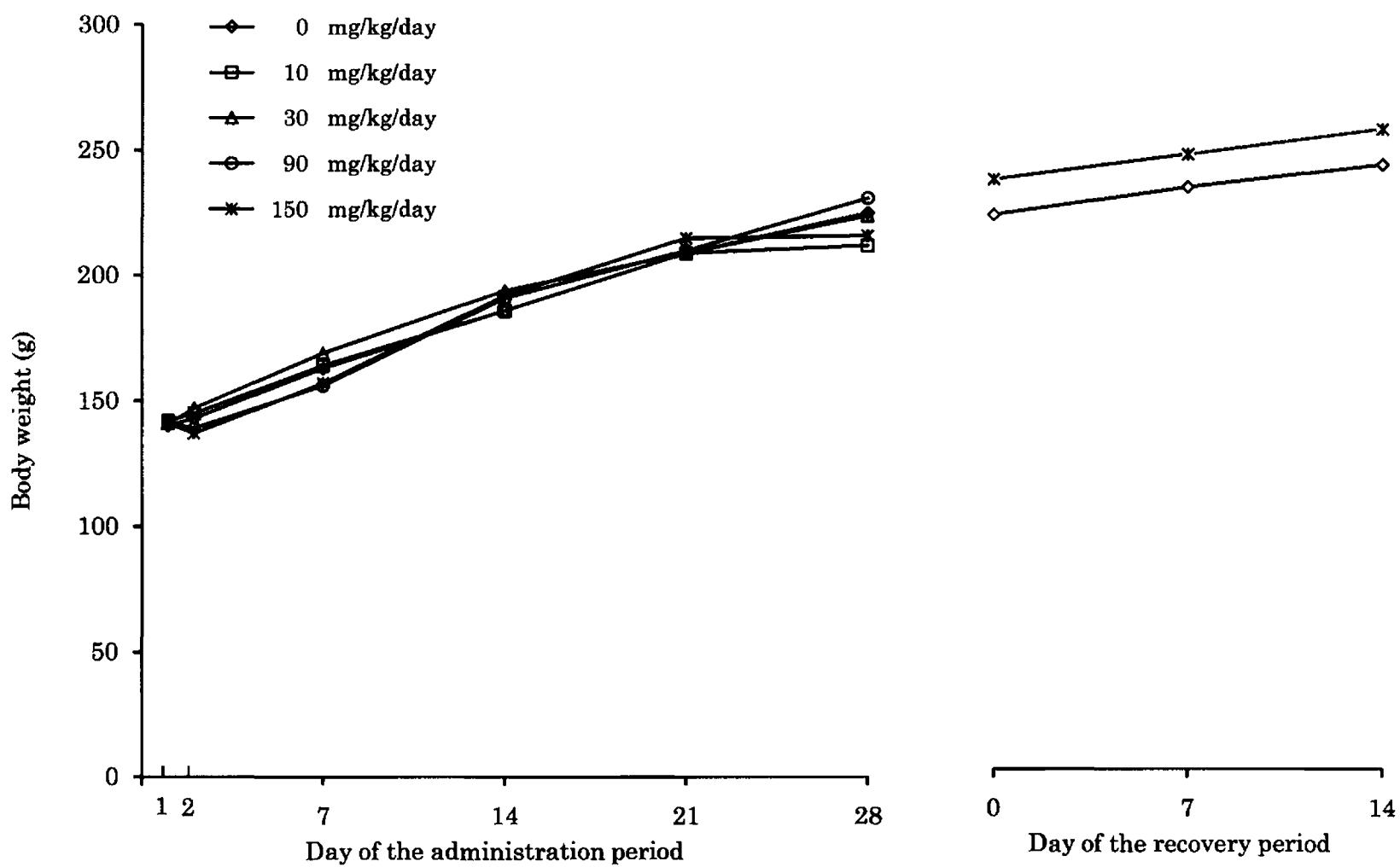


Fig.2 Body weight change of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Table 1 General conditions and mortality of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

General conditions (Clinical signs)	Grade	Dose (mg/kg/day) Fate No. of animals	Administration period										Recovery period	
			0			10		30		90		150		
			KA	KR	Total	KA	KA	KA	KE/FD	KA	KR	Total	KR	KR
Decrease in locomotor activity	-		6	6	12	6	6	6	0	2	1	3	6	5
	+		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
	++		0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	0	0
	+++		0	0	0	0	0	0	4	0	0	4	0	0
Abnormal respiratory sound	-		6	6	12	6	6	5	4	3	5	12	6	5
	+		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Deep respiration	-		6	6	12	6	6	6	2	3	5	10	6	5
	+		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	++		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hypothermia	-		6	6	12	6	6	6	0	3	5	8	6	5
	+		0	0	0	0	0	0	4	0	0	4	0	0
Salivation	-		6	6	12	6	6	6	4	0	4	8	6	5
	+		0	0	0	0	0	0	0	3	1	4	0	0
Mortality (%)			0	0	0	0	0	0	30			0	0	

KA : Killed by design at the end of administration period.

KR : Killed by design at the end of recovery period.

FD : Found dead.

KE : Killed in extreme.

+ : Slight ; ++ : Moderate ; +++ : Severe.

Table 2 General conditions and mortality of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

General conditions (Clinical signs)	Grade	Dose (mg/kg/day)	Administration period												Recovery period					
			0			10			30			90			150					
			KA	KR	Total	FD	KA	Total	KE	KA	Total	KE/FD	KA	Total	KE/FD	KA	KR			
			6	6	12	1	5	6	1	5	6	2	4	6	8	3	12			
			No. of animals													6	1			
Decrease in locomotor activity	-		6	6	12	0	5	5	0	5	5	0	3	3	1	1	0	2	6	1
	+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	1	2	0	3	0	0
	++		0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	1	3	0	0
	+++		0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	4	0	0	4	0	0
Abnormal respiratory sound	-		6	6	12	0	5	5	0	5	5	2	4	6	7	1	1	9	6	1
	+		0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	2	0	0
	++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Deep respiration	-		6	6	12	0	5	5	0	5	5	2	4	6	2	3	1	6	6	1
	+		0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	4	0	0	4	0	0
	++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0
Pale skin	-		6	6	12	1	5	6	1	5	6	2	4	6	7	3	1	11	6	1
	++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
Hypothermia	-		6	6	12	1	5	6	0	5	5	0	4	4	4	3	1	8	6	1
	+		0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0	2	4	0	0	4	0	0
Ptosis	-		6	6	12	1	5	6	1	5	6	2	4	6	3	2	1	6	6	1
	+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	1	0	6	0	0
Salivation	-		6	6	12	1	5	6	1	5	6	1	4	5	5	3	1	9	6	1
	+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3	0	0	3	0	0
Rough fur	-		6	6	12	1	5	6	1	5	6	2	4	6	7	3	1	11	6	1
	+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
Mortality (%)			0			17			17			33			67			0 0		

KA : Killed by design at the end of administration period.

KR : Killed by design at the end of recovery period.

FD : Found dead.

KE : Killed in extreme.

+ : Slight ; ++ : Moderate ; +++ : Severe.

Table 3-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ Before the administration period ⟩

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	6	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	6	12
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	6	12
Muscle tone	Normal		12	6	6	6	12
Skin	Normal		12	6	6	6	12
Fur	Normal		12	6	6	6	12
Piloerection	Not detected		12	6	6	6	12
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	6	12
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	6	12
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	6	12
Lacrimation	Not detected		12	6	6	6	12
Salivation	Not detected		12	6	6	6	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	6	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	6	12
Vocalization	Not detected		12	6	6	6	12
Breathing	Normal		12	6	6	6	12
Body position	Normal		12	6	6	6	12
Convulsion	Not detected		12	6	6	6	12
Tremor	Not detected		12	6	6	6	12
Exploration	Normal		12	6	6	6	12
Walk	Normal		12	6	6	6	12
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	6	12
Stereotypy	Not detected		12	6	6	6	12
Urination	Not detected or 1		12	6	6	5	12
	2 or more		0	0	0	1	0
Defecation	Color: Pale yellow	1/1	2/2	1/1	3/3	2/2	
	Not detected or 1	12	6	6	6	12	
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Appearance:Normal	-	-	-	1/1	3/3	

Table 3-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

( On week 1 of the administration period )

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	6	9
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	6	9
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	6	9
Muscle tone	Normal		12	6	6	6	9
Skin	Normal		12	6	6	6	9
Fur	Normal		12	6	6	6	8
	Poor(slight)		0	0	0	0	1
Piloerection	Not detected		12	6	6	6	9
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	6	9
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	6	9
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	6	9
Lacration	Not detected		12	6	6	6	9
Salivation	Not detected		12	6	6	6	9
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	6	9
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	6	9
Vocalization	Not detected		12	6	6	6	9
Breathing	Normal		12	6	6	6	9
Body position	Normal		12	6	6	6	9
Convulsion	Not detected		12	6	6	6	9
Tremor	Not detected		12	6	6	6	9
Exploration	Normal		12	6	6	6	9
Walk	Normal		12	6	6	6	9
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	6	9
Stereotypy	Not detected		12	6	6	6	9
Urination	Not detected or 1		11	6	6	6	9
	2 or more		1	0	0	0	0
	Color: Pale yellow		2/2	-	-	-	-
Defecation	Not detected or 1		11	6	6	6	9
	2 or more		1	0	0	0	0
	Appearance:Normal		1/1	-	-	-	-

**Table 3-3 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study**

**( On week 2 of the administration period )**

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	6	8
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	6	8
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	6	8
Muscle tone	Normal		12	6	6	6	8
Skin	Normal		12	6	6	6	8
Fur	Normal		12	6	6	6	8
Piloerection	Not detected		12	6	6	6	8
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	6	8
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	6	8
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	6	8
Lacrimation	Not detected		12	6	6	6	8
Salivation	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	6	8
Vocalization	Not detected		12	6	6	6	8
Breathing	Normal		12	6	6	6	8
Body position	Normal		12	6	6	6	8
Convulsion	Not detected		12	6	6	6	8
Tremor	Not detected		12	6	6	6	8
Exploration	Normal		12	6	6	6	8
Walk	Normal		12	6	6	6	8
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	6	8
Stereotypy	Not detected		12	6	6	6	8
Urination	Not detected or 1		11	6	6	6	7
	2 or more		1	0	0	0	1
	Color: Pale yellow		3/3	-	1/1	1/1	3/3
Defecation	Not detected or 1		10	6	6	5	7
	2 or more		2	0	0	1	1
	Appearance:Normal		2/2	-	-	1/1	1/1

Table 3-4 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 3 of the administration period ⟩

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	6	8
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	6	8
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	6	8
Muscle tone	Normal		12	6	6	6	8
Skin	Normal		12	6	6	6	8
Fur	Normal		12	6	6	6	8
Piloerection	Not detected		12	6	6	6	8
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	6	8
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	6	8
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	6	8
Lacrimation	Not detected		12	6	6	6	8
Salivation	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	6	8
Vocalization	Not detected		12	6	6	6	8
Breathing	Normal		12	6	6	6	8
Body position	Normal		12	6	6	6	8
Convulsion	Not detected		12	6	6	6	8
Tremor	Not detected		12	6	6	6	8
Exploration	Normal		12	6	6	6	8
Walk	Normal		12	6	6	6	8
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	6	8
Stereotypy	Not detected		12	6	6	6	8
Urination	Not detected or 1		10	6	6	6	8
	2 or more		2	0	0	0	0
	Color: Pale yellow		3/3	-	2/2	-	-
Defecation	Not detected or 1		12	6	6	6	8
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	-	-	-

Table 3-5 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 4 of the administration period ⟩

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	6	8
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	6	8
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	6	8
Muscle tone	Normal		12	6	6	6	8
Skin	Normal		12	6	6	6	8
Fur	Normal		12	6	6	6	8
Piloerection	Not detected		12	6	6	6	8
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	6	8
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	6	8
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	6	8
Lacrimation	Not detected		12	6	6	6	8
Salivation	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	6	8
Vocalization	Not detected		12	6	6	6	8
Breathing	Normal		12	6	6	6	8
Body position	Normal		12	6	6	6	8
Convulsion	Not detected		12	6	6	6	8
Tremor	Not detected		12	6	6	6	8
Locomotor activity	Normal		12	6	6	6	8
Walk	Normal		12	6	6	6	8
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	6	8
Stereotypy	Not detected		12	6	6	6	8
Urination	Not detected or 1		12	6	6	6	8
	2 or more		0	0	0	0	0
	Color:Pale yellow		5/5	-	2/2	1/1	2/2
Defecation	Not detected or 1		12	6	6	6	8
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		1/1	-	-	-	-

Table 3-6 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

( On week 1 of the recovery period )

Items		Dose (mg/kg/day)	0	150
		No. of animals	6	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		6	5
Reactivity on handling	Normal		6	5
Muscle tone	Normal		6	5
Skin	Normal		6	5
Fur	Normal		6	5
Piloerection	Not detected		6	5
Eye-nose discharge	Not detected		6	5
Palpebral closure	Not detected		6	5
Exophthalmos	Not detected		6	5
Lacrimation	Not detected		6	5
Salivation	Not detected		6	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		6	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		6	5
Vocalization	Not detected		6	5
Breathing	Normal		6	5
Body position	Normal		6	5
Convulsion	Not detected		6	5
Tremor	Not detected		6	5
Exploration	Normal		6	5
Walk	Normal		6	5
Abnormal behavior	Not detected		6	5
Stereotypy	Not detected		6	5
Urination	Not detected or 1		4	5
	2 or more		2	0
	Color: Pale yellow		2/2	1/1
Defecation	Not detected or 1		6	5
	2 or more		0	0
	Appearance: Normal		-	-

**Table 3-7 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study**

( On week 2 of the recovery period )

Items		Dose (mg/kg/day)	0	150
		No. of animals	6	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		6	5
Reactivity on handling	Normal		6	5
Muscle tone	Normal		6	5
Skin	Normal		6	5
Fur	Normal		6	5
Piloerection	Not detected		6	5
Eye-nose discharge	Not detected		6	5
Palpebral closure	Not detected		6	5
Exophthalmos	Not detected		6	5
Lacrimation	Not detected		6	5
Salivation	Not detected		6	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		6	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		6	5
Vocalization	Not detected		6	5
Breathing	Normal		6	5
Body position	Normal		6	5
Convulsion	Not detected		6	5
Tremor	Not detected		6	5
Exploration	Normal		6	5
Walk	Normal		6	5
Abnormal behavior	Not detected		6	5
Stereotypy	Not detected		6	5
Urination	Not detected or 1		4	5
	2 or more		2	0
	Color: Pale yellow		3/3	-
Defecation	Not detected or 1		6	5
	2 or more		0	0
	Appearance:Normal		-	-

**Table 4-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study**

⟨ Before the administration period ⟩

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	6	12
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	6	12
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	6	12
Muscle tone	Normal		12	6	6	6	12
Skin	Normal		12	6	6	6	12
Fur	Normal		12	6	6	6	12
Piloerection	Not detected		12	6	6	6	12
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	6	12
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	6	12
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	6	12
Lacration	Not detected		12	6	6	6	12
Salivation	Not detected		12	6	6	6	12
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	6	12
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	6	12
Vocalization	Not detected		12	6	6	6	12
Breathing	Normal		12	6	6	6	12
Body position	Normal		12	6	6	6	12
Convulsion	Not detected		12	6	6	6	12
Tremor	Not detected		12	6	6	6	12
Exploration	Normal		12	6	6	6	12
Walk	Normal		12	6	6	6	12
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	6	12
Stereotypy	Not detected		12	6	6	6	12
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow		12	6	6	6	12
			0	0	0	0	0
			1/1	-	-	1/1	1/1
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal		11	6	6	6	12
			1	0	0	0	0
			1/1	-	-	-	1/1

Table 4-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

( On week 1 of the administration period )

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	6	8
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	6	8
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	6	8
Muscle tone	Normal		12	6	6	6	8
Skin	Normal		12	6	6	6	8
Fur	Normal		12	6	6	6	8
Piloerection	Not detected		12	6	6	6	8
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	6	8
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	6	8
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	6	8
Lacration	Not detected		12	6	6	6	8
Salivation	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	6	8
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	6	8
Vocalization	Not detected		12	6	6	6	8
Breathing	Normal		12	6	6	5	7
	Severe panting with opened mouth	0	0	0	1	0	
	Slight panting	0	0	0	0	1	
Body position	Normal		12	6	6	6	8
Convulsion	Not detected		12	6	6	6	8
Tremor	Not detected		12	6	6	6	8
Exploration	Normal		12	6	6	6	8
Walk	Normal		12	6	6	6	8
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	6	8
Stereotypy	Not detected		12	6	6	6	8
Urination	Not detected or 1		12	6	6	6	8
	2 or more	0	0	0	0	0	
	Color: Pale yellow	2/2	-	-	1/1	-	
Defecation	Not detected or 1		12	6	6	6	7
	2 or more	0	0	0	0	1	
	Appearance:Normal	-	-	-	-	-	1/1

**Table 4-3 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study**

( On week 2 of the administration period )

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	4	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	4	5
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	4	5
Muscle tone	Normal		12	6	6	4	5
Skin	Normal		12	6	6	4	5
Fur	Normal		12	6	6	4	5
Piloerection	Not detected		12	6	6	4	5
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	4	5
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	4	5
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	4	5
Lacrimation	Not detected		12	6	6	4	5
Salivation	Not detected		12	6	6	4	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	4	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	4	5
Vocalization	Not detected		12	6	6	4	5
Breathing	Normal		12	6	6	4	5
Body position	Normal		12	6	6	4	5
Convulsion	Not detected		12	6	6	4	5
Tremor	Not detected		12	6	6	4	5
Exploration	Normal		12	6	6	4	5
Walk	Normal		12	6	6	4	5
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	4	5
Stereotypy	Not detected		12	6	6	4	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow		11 1 1/1	6 0 -	5 1 1/1	4 0 -	5 0 -
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal		12 0 -	6 0 -	6 0 -	4 0 -	5 0 -

**Table 4-4 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study**

⟨ On week 3 of the administration period ⟩

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	6	4	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	6	4	5
Reactivity on handling	Normal		12	6	6	4	5
Muscle tone	Normal		12	6	6	4	5
Skin	Normal		12	6	6	4	5
Fur	Normal		12	6	6	4	5
Piloerection	Not detected		12	6	6	4	5
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	6	4	5
Palpebral closure	Not detected		12	6	6	4	5
Exophthalmos	Not detected		12	6	6	4	5
Lacration	Not detected		12	6	6	4	5
Salivation	Not detected		12	6	6	4	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	6	4	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	6	4	5
Vocalization	Not detected		12	6	6	4	5
Breathing	Normal		12	6	6	4	5
Body position	Normal		12	6	6	4	5
Convulsion	Not detected		12	6	6	4	5
Tremor	Not detected		12	6	6	4	5
Exploration	Normal		12	6	6	4	5
Walk	Normal		12	6	6	4	5
Abnormal behavior	Not detected		12	6	6	4	5
Stereotypy	Not detected		12	6	6	4	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow		12	6	5	4	5
			0	0	1	0	0
			-	-	2/2	-	-
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal		12	6	6	4	5
			0	0	0	0	0
			-	-	-	-	-

**Table 4-5 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study**

⟨ On week 4 of the administration period ⟩

Items		Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
		No. of animals	12	6	5	4	5
Reactivity on removal from the cage	Normal		12	6	5	4	5
Reactivity on handling	Normal		12	6	5	4	5
Muscle tone	Normal		12	6	5	4	5
Skin	Normal		12	6	5	4	4
	Discoloration		0	0	0	0	1
Fur	Normal		12	6	5	4	4
	Poor(slight)		0	0	0	0	1
Piloerection	Not detected		12	6	5	4	4
	Almost whole body		0	0	0	0	1
Eye-nose discharge	Not detected		12	6	5	4	4
	Moderate		0	0	0	0	1
Palpebral closure	Not detected		12	6	5	4	4
	1/2		0	0	0	0	1
Exophthalmos	Not detected		12	6	5	4	5
Lacrimation	Not detected		12	6	5	4	5
Salivation	Not detected		12	6	5	4	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		12	6	5	4	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected		12	6	5	4	5
Vocalization	Not detected		12	6	5	4	5
Breathing	Normal		12	5	5	4	4
	Moderate panting		0	1	0	0	0
	Severe panting with opened mouth		0	0	0	0	1
Body position	Normal		12	6	5	4	5
Convulsion	Not detected		12	6	5	4	5
Tremor	Not detected		12	6	5	4	5
Exploration	Normal		12	6	5	4	5
Walk	Normal		12	6	5	4	5
Abnormal behavior	Not detected		12	6	5	4	5
Stereotypy	Not detected		12	6	5	4	5
Urination	Not detected or 1		12	6	5	4	5
	2 or more		0	0	0	0	0
	Color:Pale yellow		1/1	1/1	-	-	1/1
Defecation	Not detected or 1		12	6	5	4	5
	2 or more		0	0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	-	-	-

Table 4-6 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

( On week 1 of the recovery period )

Items		Dose (mg/kg/day)	0	150
		No. of animals	6	1
Reactivity on removal from the cage	Normal		6	1
Reactivity on handling	Normal		6	1
Muscle tone	Normal		6	1
Skin	Normal		6	1
Fur	Normal		6	1
Piloerection	Not detected		6	1
Eye-nose discharge	Not detected		6	1
Palpebral closure	Not detected		6	1
Exophthalmos	Not detected		6	1
Lacrimation	Not detected		6	1
Salivation	Not detected		6	1
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		6	1
Blotted fur around anus with feces	Not detected		6	1
Vocalization	Not detected		6	1
Breathing	Normal		6	1
Body position	Normal		6	1
Convulsion	Not detected		6	1
Tremor	Not detected		6	1
Exploration	Normal		6	1
Walk	Normal		6	1
Abnormal behavior	Not detected		6	1
Stereotypy	Not detected		6	1
Urination	Not detected or 1		6	1
	2 or more		0	0
	Color: Pale yellow		1/1	-
Defecation	Not detected or 1		6	1
	2 or more		0	0
	Appearance: Normal		-	-

Table 4-7 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

( On week 2 of the recovery period )

Items		Dose (mg/kg/day)	0	150
		No. of animals	6	1
Reactivity on removal from the cage	Normal		6	1
Reactivity on handling	Normal		6	1
Muscle tone	Normal		6	1
Skin	Normal		6	1
Fur	Normal		6	1
Piloerection	Not detected		6	1
Eye-nose discharge	Not detected		6	1
Palpebral closure	Not detected		6	1
Exophthalmos	Not detected		6	1
Lacrimation	Not detected		6	1
Salivation	Not detected		6	1
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		6	1
Blotted fur around anus with feces	Not detected		6	1
Vocalization	Not detected		6	1
Breathing	Normal		6	1
Body position	Normal		6	1
Convulsion	Not detected		6	1
Tremor	Not detected		6	1
Exploration	Normal		6	1
Walk	Normal		6	1
Abnormal behavior	Not detected		6	1
Stereotypy	Not detected		6	1
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow		6 0 -	1 0 -
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal		6 0 -	1 0 -

Table 5-1 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 4 of the administration period >

Items	Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
	No. of animals examined	6	6	6	6	6
Eye sight reaction	Normal	6	6	6	6	6
Hearing reaction	Normal	6	6	6	6	6
Sense of touch reaction	Normal	6	6	6	6	6
Pain reaction	Normal	6	6	6	6	6
Pupil reflex	Normal	6	6	6	6	6
Righting reflex	Normal	6	6	6	6	6

Table 5-2 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of male rats treated with  
2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 2 of the recovery period >

Items	Dose (mg/kg/day)	0	150
	No. of animals examined	6	5
Hearing reaction	Normal	6	5
Eye sight reaction	Normal	6	5
Sense of touch reaction	Normal	6	5
Pain reaction	Normal	6	5
Pupil reflex	Normal	6	5
Righting reflex	Normal	6	5

Table 6-1 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 4 of the administration period >

Items	Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	150
	No. of animals examined	6	6	5	4	5
Eye sight reaction	Normal	6	6	5	4	5
Hearing reaction	Normal	6	6	5	4	5
Sense of touch reaction	Normal	6	6	5	4	5
Pain reaction	Normal	6	6	5	4	5
Pupil reflex	Normal	6	6	5	4	5
Righting reflex	Normal	6	6	5	4	4
	Slightly late reflex	0	0	0	0	1

Table 6-2 Incidence of responses in the sensory/reflex function test of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 2 of the recovery period >

Items	Dose (mg/kg/day)	0	150
	No. of animals examined	6	1
Eye sight reaction	Normal	6	1
Hearing reaction	Normal	6	1
Sense of touch reaction	Normal	6	1
Pain reaction	Normal	6	1
Pupil reflex	Normal	6	1
Righting reflex	Normal	6	1

Table 7-1 Grip strength and motor activity of male rats treated with  
2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

( On week 4 of the administration period )

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	6	607 ± 64	375 ± 81	12887 ± 3934
10	6	620 ± 103	399 ± 66	14467 ± 2026
30	6	656 ± 111	358 ± 61	9973 ± 3813
90	6	600 ± 184	361 ± 79	12816 ± 4672
150	6	488 ± 89	394 ± 84	13383 ± 4105

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 7-2 Grip strength and motor activity of male rats treated with  
2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 2 of the recovery period ⟩

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	6	748 ± 292	377 ± 58	12920 ± 3137
150	5	528 ± 85	403 ± 63	14258 ± 2348

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 8-1 Grip strength and motor activity of female rats treated with  
2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

( On week 4 of the administration period )

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	6	558 ± 108	319 ± 43	13673 ± 2211
10	6	541 ± 50	297 ± 55	13553 ± 2472
30	5	511 ± 42	261 ± 26	13528 ± 1304
90	4	573 ± 70	278 ± 28	14841 ± 2356
150	5	590 ± 92	306 ± 115	13272 ± 6301

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 8-2 Grip strength and motor activity of female rats treated with  
2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 2 of the recovery period ⟩

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength (g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	6	660 ± 107	316 ± 57	16343 ± 1423
150	1	747 ±	385 ±	19054 ±

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 9 Body weight of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

(g)

Dose (mg/kg/day)	Day of the administration period							Day of the recovery period			
	1	2	7	14	21	28	Gain 1~28	0	7	14	Gain 0~14
0	158 ± 6 (12)	165 ± 7 (12)	210 ± 13 (12)	271 ± 24 (12)	321 ± 34 (12)	359 ± 39 (12)	202 ± 34 (12)	358 ± 46 (6)	388 ± 49 (6)	415 ± 51 (6)	58 ± 13 (6)
10	157 ± 3 (6)	165 ± 4 (6)	208 ± 7 (6)	265 ± 21 (6)	309 ± 30 (6)	340 ± 37 (6)	183 ± 36 (6)				
30	160 ± 5 (6)	167 ± 6 (6)	206 ± 8 (6)	261 ± 15 (6)	306 ± 20 (6)	332 ± 25 (6)	172 ± 26 (6)				
90	156 ± 7 (6)	162 ± 8 (6)	203 ± 10 (6)	263 ± 11 (6)	316 ± 17 (6)	346 ± 26 (6)	190 ± 23 (6)				
150	159 ± 5 (12)	153 ** ± 12 (12)	191 ± 34 (9)	262 ± 14 (8)	309 ± 17 (8)	338 ± 15 (8)	180 ± 13 (8)	333 ± 13 (5)	361 ± 17 (5)	390 ± 21 (5)	57 ± 10 (5)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 10 Body weight of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

(g)

Dose (mg/kg/day)	Day of the administration period							Day of the recovery period			
					Gain 1~28						Gain 0~14
	1	2	7	14	21	28	0	7	14		
0	140 ± 6 (12)	143 ± 5 (12)	163 ± 9 (12)	186 ± 12 (12)	209 ± 15 (12)	225 ± 16 (12)	85 ± 11 (12)	221 ± 15 (6)	232 ± 18 (6)	241 ± 18 (6)	20 ± 7 (6)
10	142 ± 4 (6)	145 ± 6 (6)	164 ± 11 (6)	186 ± 16 (6)	209 ± 21 (6)	212 ± 22 (6)	70 ± 19 (6)				
30	141 ± 5 (6)	147 ± 6 (6)	169 ± 8 (6)	194 ± 15 (6)	209 ± 15 (6)	224 ± 20 (5)	84 ± 16 (5)				
90	141 ± 5 (6)	139 ± 9 (6)	156 ± 19 (5)	191 ± 9 (4)	210 ± 7 (4)	231 ± 13 (4)	90 ± 12 (4)				
150	141 ± 4 (12)	137 ± 11 (12)	157 ± 18 (8)	192 ± 12 (5)	215 ± 15 (5)	216 ± 34 (5)	73 ± 35 (5)	235 (1)	245 (1)	255 (1)	20 (1)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals.

Table 11 Food consumption of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Dose (mg/kg/day)	( g/rat/day )						
	Week of the administration period				Week of the recovery period		
	1	2	3	4	1	2	
0	28 ± 4 (12)	31 ± 3 (12)	33 ± 5 (12)	34 ± 4 (12)	35 ± 2 (6)	33 ± 2 (6)	
10	28 ± 2 (6)	31 ± 3 (6)	32 ± 4 (6)	34 ± 4 (6)			
30	27 ± 2 (6)	30 ± 4 (6)	30 ± 3 (6)	31 ± 3 (6)			
90	28 ± 3 (6)	31 ± 2 (6)	33 ± 2 (6)	32 ± 4 (6)			
150	27 ± 8 (9)	32 ± 3 (8)	32 ± 2 (8)	33 ± 3 (8)	33 ± 2 (5)	34 ± 2 (5)	

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals.

Table 12 Food consumption of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Dose (mg/kg/day)	( g/rat/day )							
	Week of the administration period				Week of the recovery period			
	1	2	3	4	1	2		
0	20	22	23	22	24	23		
	± 3	± 3	± 2	± 2	± 2	± 3		
	(12)	(12)	(12)	(12)	(6)	(6)		
10	21	21	23	23				
	± 3	± 4	± 4	± 4				
	(6)	(6)	(6)	(6)				
30	23	21	25	24				
	± 1	± 2	± 3	± 2				
	(6)	(6)	(6)	(5)				
90	22	23	25	25				
	± 3	± 2	± 3	± 1				
	(6)	(4)	(4)	(4)				
150	21	25	24	20	24	27		
	± 3	± 2	± 4	± 9				
	(8)	(5)	(5)	(5)	(1)	(1)		

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals.

Table 13-1 Urinary findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 4 of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH					Protein									
		PY	C	-	1+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+				
0	6	6		6						3	3			3	3					
10	6	6		6						6			1	5						
30	6	6		6						1	4	1		1	5					
90	6	6		6						3	1	2		3	3					
150	6	6		6		1				3	1	1		2	4					
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glucose				Ketone body				Occult blood				Urobilinogen		Bilirubin				
		-	±	1+	2+	-	±	1+	2+	-	±	1+	2+	3+	0.1	1	2	-	1+	2+
0	6	6				1	5			6				6			6			
10	6	6				3	3			6				6			6			
30	6	6				3	3			6				6			6			
90	6	6				6				6				6			6			
150	6	6				2	4			5				1	6		6			

Color : PY(pale yellow), C(colorless)

Cloudy : -(negligible), 1+(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dL), 1+(30mg/dL), 2+(100mg/dL), 3+(300mg/dL)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dL), 1+(0.25g/dL), 2+(0.5g/dL)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(severe)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : -(negligible), 1+(slight), 2+(moderate)

Table 13-2 Urinary findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 2 of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH					Protein						
		PY	C	-	1+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+	
0	6	6		6						4	2			4	2		
150	5	5		5						3	2			2	3		
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glucose				Ketone body				Occult blood				Urobilinogen		Bilirubin	
0	6	6				6		6			6			0.1	1	2	
150	5	5				5		5			5					5	

Color : PY(pale yellow), C(colorless)

Cloudy : - (negligible), 1+ (cloudy)

Protein : - (negligible), ±(15~30mg/dL), 1+(30mg/dL), 2+(100mg/dL), 3+(300mg/dL)

Glucose : - (negligible), ±(0.1g/dL), 1+(0.25g/dL), 2+(0.5g/dL)

Ketone body : - (negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL)

Occult blood : - (negligible), ±(trace), 1+(slight), 2+(moderate)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : - (negligible), 1+(slight), 2+(moderate)

Table 14-1 Urinary findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 4 of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH					Protein					
		PY	C	-	1+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+
0	6	6		6						2	4			2	4	
10	6	6		6						1	1	4		2	3	1
30	5	5		5						2	1	2		1	4	
90	4	4		4						2	2			4		
150	5	5		5		1				3	1			4	1	

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glucose				Ketone body				Occult blood				Urobilinogen			Bilirubin		
		-	±	1+	2+	-	±	1+	2+	-	±	1+	2+	0.1	1	2	-	1+	2+
0	6	6				5	1			6				6			6		
10	6	6				4	2			6				6			6		
30	5	5				3	2			5				5			5		
90	4	4				3	1			4				4			4		
150	5	5				2	3			5				5			5		

Color : PY(pale yellow), C(colorless)

Cloudy : -(negligible), 1+(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dL), 1+(30mg/dL), 2+(100mg/dL), 3+(300mg/dL)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dL), 1+(0.25g/dL), 2+(0.5g/dL)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), 1+(slight), 2+(moderate)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : -(negligible), 1+(slight), 2+(moderate)

Table 14-2 Urinary findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 2 of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH					Protein						
		PY	C	-	1+	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+	
0	6	6		6					1	5			3	3			
150	1	1		1					1				1				
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glucose				Ketone body				Occult blood				Urobilinogen		Bilirubin	
0	6	6			6				6				6			6	
150	1	1			1				1				1			1	

Color : PY(pale yellow), C(colorless)

Cloudy : - (negligible), 1+ (cloudy)

Protein : - (negligible), ±(15~30mg/dL), 1+(30mg/dL), 2+(100mg/dL), 3+(300mg/dL)

Glucose : - (negligible), ±(0.1g/dL), 1+(0.25g/dL), 2+(0.5g/dL)

Ketone body : - (negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL)

Occult blood : - (negligible), ±(trace), 1+(slight), 2+(moderate)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : - (negligible), 1+ (slight), 2+ (moderate)

Table 15-1

Hematological findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	6	764 ± 45	15.1 ± 0.9	45.9 ± 2.3	60 ± 1	19.8 ± 0.4	33.0 ± 0.5	28.8 ± 7.8	12.8 ± 0.4
10	6	773 ± 31	15.3 ± 0.6	46.7 ± 2.0	61 ± 2	19.9 ± 0.4	32.8 ± 0.6	24.0 ± 5.1	12.9 ± 0.4
30	6	794 ± 36	15.6 ± 0.6	47.2 ± 1.2	60 ± 1	19.6 ± 0.3	33.0 ± 0.5	21.0 ± 4.6	13.0 ± 0.3
90	6	800 ± 33	15.3 ± 0.5	46.6 ± 1.2	59 ± 2	19.1 ± 0.7	32.7 ± 0.3	24.0 ± 6.8	12.9 ± 0.3
150	3	791 ± 19	14.9 ± 0.7	45.2 ± 1.8	57 ± 3	18.8 ± 1.2	32.9 ± 0.6	28.9 ± 11.3	12.7 ± 0.3

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10 <sup>3</sup> /μL)	WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	Differential leukocyte counts (%)				
					Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	6	20.2 ± 1.4	124 ± 10	70 ± 16	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.2	13.7 ± 3.1	84.0 ± 3.3	1.7 ± 0.6
10	6	20.3 ± 2.8	117 ± 17	60 ± 11	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.4	18.1 ± 6.8	79.4 ± 6.7	1.6 ± 0.2
30	6	20.5 ± 1.1	126 ± 15	60 ± 16	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.3	17.4 ± 5.6	80.4 ± 5.6	1.5 ± 0.5
90	6	18.5 ± 1.2	142 ± 14	58 ± 21	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.4	18.8 ± 3.9	78.7 ± 3.7	1.7 ± 0.5
150	3	19.0 ± 0.6	135 ± 8	55 ± 17	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.6	16.6 ± 1.4	80.8 ± 0.2	1.9 ± 0.6

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 15-2  
Hematological findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC ( $10^4/\mu\text{L}$ )	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	6	851 ± 47	16.0 ± 0.4	47.8 ± 0.7	56 ± 2	18.8 ± 0.7	33.4 ± 0.5	21.5 ± 2.9	12.5 ± 0.2
150	5	872 ± 23	15.6 ± 0.3	46.8 ± 1.3	54 ± 2	17.8 * ± 0.5	33.3 ± 0.5	19.8 ± 3.6	12.5 ± 0.2
<hr/>									
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. ( $10^4/\mu\text{L}$ )	WBC ( $10^2/\mu\text{L}$ )	Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	6	20.1 ± 2.4	124 ± 21	78 ± 14	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.5	17.4 ± 3.9	79.1 ± 3.7	2.2 ± 0.5
150	5	19.5 ± 0.7	125 ± 8	74 ± 20	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.4	15.8 ± 2.7	80.2 ± 2.6	2.6 ± 1.0

Each value is expressed as mean±S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 16-1

Hematological findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10 <sup>4</sup> /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	6	757 ± 63	14.8 ± 0.9	44.0 ± 2.8	58 ± 2	19.6 ± 0.5	33.7 ± 0.2	18.5 ± 4.9	13.5 ± 0.3
10	5	778 ± 58	15.3 ± 0.6	45.5 ± 1.8	59 ± 3	19.7 ± 0.9	33.7 ± 0.3	12.8 ± 4.5	12.7 * ± 0.2
30	5	736 ± 36	14.7 ± 0.9	43.9 ± 2.9	60 ± 3	20.0 ± 0.7	33.6 ± 0.5	16.2 ± 2.0	12.1 ** ± 0.3
90	4	738 ± 53	14.3 ± 0.6	42.7 ± 1.4	58 ± 3	19.3 ± 0.7	33.3 ± 0.5	17.2 ± 6.4	12.4 ** ± 0.2
150	3	711 ± 28	14.2 ± 0.3	42.1 ± 0.7	59 ± 3	19.9 ± 0.8	33.7 ± 0.3	16.4 ± 3.7	12.6 * ± 0.8

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10 <sup>4</sup> /μL)	WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	Differential leukocyte counts (%)				
					Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	6	17.8 ± 1.7	128 ± 17	50 ± 15	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.4	14.5 ± 2.6	82.7 ± 2.5	1.8 ± 0.3
10	5	17.1 ± 0.4	105 * ± 6	40 ± 11	0.0 ± 0.0	1.0 ± 0.2	13.9 ± 5.2	83.7 ± 5.6	1.3 ± 0.4
30	5	18.0 ± 2.3	117 ± 12	52 ± 13	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.6	15.1 ± 5.9	81.7 ± 6.4	1.6 ± 0.4
90	4	18.4 ± 1.1	124 ± 7	58 ± 28	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.4	15.4 ± 4.8	81.3 ± 4.6	1.9 ± 0.2
150	3	16.6 ± 0.7	126 ± 4	47 ± 16	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2	11.0 ± 0.6	86.6 ± 0.6	1.6 ± 0.8

Each value is expressed as mean±S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 16-2 Hematological findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10 <sup>4</sup> /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	6	800 ± 27	15.2 ± 0.4	44.8 ± 1.1	56 ± 2	19.0 ± 0.6	34.0 ± 0.3	24.3 ± 4.9	12.7 ± 0.2
150	1	762	14.8	43.9	58	19.4	33.7	18.1	13.5

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10 <sup>4</sup> /μL)	WBC (10 <sup>3</sup> /μL)	Differential leukocyte counts (%)				
					Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	6	15.6 ± 1.2	124 ± 18	47 ± 12	0.0 ± 0.0	2.2 ± 1.2	18.9 ± 5.4	77.2 ± 6.8	1.7 ± 1.3
150	1	16.1	127	52	0.0	1.4	17.9	79.9	0.8

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 17-1

Blood biochemical findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

&lt; At end of the administration period &gt;

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Ch. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	6	321 $\pm$ 109	74 $\pm$ 5	38 $\pm$ 3	739 $\pm$ 126	0.44 $\pm$ 0.22	5.41 $\pm$ 0.28	2.50 $\pm$ 0.15	0.86 $\pm$ 0.03	63 $\pm$ 17	45 $\pm$ 20
10	6	370 $\pm$ 150	84 $\pm$ 23	42 $\pm$ 16	766 $\pm$ 108	0.47 $\pm$ 0.43	5.58 $\pm$ 0.27	2.68 $\pm$ 0.29	0.93 $\pm$ 0.14	66 $\pm$ 11	48 $\pm$ 22
30	6	536 $\pm$ 226	86 $\pm$ 18	38 $\pm$ 8	783 $\pm$ 189	0.40 $\pm$ 0.21	5.59 $\pm$ 0.16	2.79 $\pm$ 0.11	1.00 $\pm$ 0.06	64 $\pm$ 12	46 $\pm$ 19
90	6	449 $\pm$ 121	84 $\pm$ 16	32 $\pm$ 5	688 $\pm$ 86	0.59 $\pm$ 0.25	5.33 $\pm$ 0.34	2.58 $\pm$ 0.37	0.94 $\pm$ 0.15	71 $\pm$ 8	52 $\pm$ 11
150	3	465 $\pm$ 108	82 $\pm$ 6	29 $\pm$ 2	720 $\pm$ 86	0.38 $\pm$ 0.26	5.35 $\pm$ 0.23	2.54 $\pm$ 0.28	0.91 $\pm$ 0.11	72 $\pm$ 26	65 $\pm$ 5
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	6	157 $\pm$ 24	16.4 $\pm$ 3.4	0.39 $\pm$ 0.04	0.36 $\pm$ 0.05	10.1 $\pm$ 0.6	8.4 $\pm$ 0.4	145 $\pm$ 3	4.42 $\pm$ 0.31	102 $\pm$ 2	
10	6	135 $\pm$ 13	15.7 $\pm$ 2.2	0.36 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.02	10.4 $\pm$ 0.3	8.9 $\pm$ 0.5	147 $\pm$ 3	4.56 $\pm$ 0.61	105 $\pm$ 3	
30	6	142 $\pm$ 14	11.5 $\pm$ 3.0	0.36 $\pm$ 0.02	0.39 $\pm$ 0.06	10.3 $\pm$ 0.3	8.4 $\pm$ 0.4	144 $\pm$ 1	4.82 $\pm$ 0.33	112 $\pm$ 2	
90	6	136 $\pm$ 12	13.7 $\pm$ 4.5	0.37 $\pm$ 0.02	0.37 $\pm$ 0.05	9.9 $\pm$ 0.5	8.9 $\pm$ 0.9	145 $\pm$ 1	4.89 $\pm$ 0.29	138 ** $\pm$ 3	
150	3	144 $\pm$ 14	14.0 $\pm$ 3.3	0.41 $\pm$ 0.03	0.34 $\pm$ 0.07	9.8 $\pm$ 0.3	9.1 $\pm$ 1.1	145 $\pm$ 1	4.77 $\pm$ 0.42	165 ** $\pm$ 9	

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 17-2

Blood biochemical findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	6	329 $\pm$ 105	72 $\pm$ 16	37 $\pm$ 7	557 $\pm$ 149	0.26 $\pm$ 0.22	5.27 $\pm$ 1.02	2.57 $\pm$ 0.59	1.06 $\pm$ 0.56	61 $\pm$ 13	57 $\pm$ 27
150	5	489 $\pm$ 196	79 $\pm$ 9	35 $\pm$ 5	660 $\pm$ 136	0.20 $\pm$ 0.09	5.74 $\pm$ 0.11	2.74 $\pm$ 0.09	0.91 $\pm$ 0.03	55 $\pm$ 10	57 $\pm$ 23
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	6	144 $\pm$ 32	13.5 $\pm$ 2.3	0.41 $\pm$ 0.06	0.34 $\pm$ 0.08	9.7 $\pm$ 2.0	7.3 $\pm$ 1.3	143 $\pm$ 5	4.63 $\pm$ 0.21	106 $\pm$ 3	
150	5	150 $\pm$ 12	15.8 $\pm$ 2.0	0.44 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.08	10.8 $\pm$ 0.3	8.1 $\pm$ 0.3	141 $\pm$ 0.5	5.15 ** $\pm$ 0.30	107 $\pm$ 1	

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 18-1 Blood biochemical findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	6	495 $\pm$ 186	76 $\pm$ 10	29 $\pm$ 5	475 $\pm$ 97	0.83 $\pm$ 0.29	5.77 $\pm$ 0.24	2.98 $\pm$ 0.22	1.07 $\pm$ 0.10	70 $\pm$ 16	23 $\pm$ 7
10	5	370 $\pm$ 76	70 $\pm$ 16	27 $\pm$ 10	406 $\pm$ 78	1.12 $\pm$ 0.46	5.55 $\pm$ 0.32	2.49 $\pm$ 1.03	0.90 $\pm$ 0.43	55 $\pm$ 24	15 $\pm$ 2
30	5	497 $\pm$ 233	72 $\pm$ 11	28 $\pm$ 6	400 $\pm$ 96	0.97 $\pm$ 0.52	5.45 $\pm$ 0.89	2.70 $\pm$ 0.68	0.98 $\pm$ 0.20	81 $\pm$ 11	35 $\pm$ 17
90	4	503 $\pm$ 458	64 $\pm$ 11	25 $\pm$ 2	363 $\pm$ 137	1.14 $\pm$ 0.61	5.50 $\pm$ 0.46	2.85 $\pm$ 0.40	1.07 $\pm$ 0.15	78 $\pm$ 7	45 $\pm$ 11
150	3	330 $\pm$ 30	75 $\pm$ 16	31 $\pm$ 6	283 $\pm$ 39	0.89 $\pm$ 0.66	5.54 $\pm$ 0.29	2.94 $\pm$ 0.18	1.13 $\pm$ 0.02	82 $\pm$ 4	32 $\pm$ 7
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	6	136 $\pm$ 11	12.8 $\pm$ 1.9	0.41 $\pm$ 0.04	0.28 $\pm$ 0.01	10.3 $\pm$ 0.4	7.7 $\pm$ 0.6	146 $\pm$ 2	4.54 $\pm$ 0.30	105 $\pm$ 3	
10	5	101 ** $\pm$ 20	14.6 $\pm$ 4.1	0.68 $\pm$ 0.60	0.25 $\pm$ 0.04	9.3 $\pm$ 2.2	8.0 $\pm$ 1.8	148 $\pm$ 3	4.84 $\pm$ 0.33	108 $\pm$ 2	
30	5	125 $\pm$ 20	12.8 $\pm$ 3.9	0.39 $\pm$ 0.05	0.27 $\pm$ 0.05	9.9 $\pm$ 1.5	7.6 $\pm$ 1.3	148 $\pm$ 3	4.81 $\pm$ 0.33	115 ** $\pm$ 4	
90	4	132 $\pm$ 3	15.9 $\pm$ 2.2	1.73 $\pm$ 2.66	0.25 $\pm$ 0.01	10.2 $\pm$ 0.7	8.2 $\pm$ 0.7	145 $\pm$ 3	4.73 $\pm$ 0.86	139 ** $\pm$ 3	
150	3	121 $\pm$ 10	13.9 $\pm$ 1.8	0.37 $\pm$ 0.02	0.27 $\pm$ 0.02	10.1 $\pm$ 0.5	8.1 $\pm$ 0.5	144 $\pm$ 1	4.18 $\pm$ 0.37	160 ** $\pm$ 8	

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 18-2

Blood biochemical findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	$\gamma$ -GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Cho. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	6	434 $\pm$ 107	81 $\pm$ 22	45 $\pm$ 28	333 $\pm$ 57	0.89 $\pm$ 0.51	6.36 $\pm$ 0.36	3.25 $\pm$ 0.32	1.05 $\pm$ 0.10	76 $\pm$ 12	27 $\pm$ 9
150	1	496	69	26	381	1.03	6.08	3.06	1.01	68	18
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	6	124 $\pm$ 18	15.8 $\pm$ 3.1	0.54 $\pm$ 0.04	0.34 $\pm$ 0.09	10.8 $\pm$ 0.4	7.3 $\pm$ 0.6	142 $\pm$ 1	4.27 $\pm$ 0.20	107 $\pm$ 2	
150	1	118	8.9	0.67	0.44	10.2	6.3	139	4.25	109	

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 19 Incidence of necropsy findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade	At end of the administration period							At end of the recovery period	
			Dose(mg/kg/day)	0	10	30	90	150	KE/FD	KA	0
			Fate	KA	KA	KA	KA	4	KA	KR	150
Lung	: Reddish area		No.of animals	6	6	6	6	4	3	6	5
			-	6	6	6	5	4	3	6	5
			+	0	0	0	1	0	0	0	0
Kidney	: Grayish area		No.of animals	6	6	6	6	3	3	6	5
			-	6	6	6	6	3	3	6	5
			+	0	0	0	0	1	0	0	0

KA : Killed by design at the end of administration period.

KR : Killed by design at the end of recovery period.

KE : Killed in extreme.

FD : Found dead.

Table 20 Incidence of necropsy findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade	At end of the administration period									At end of the recovery period	
			Dose(mg/kg/day)	0	10	30	90	150	0	150	KR	KR	
			Fate	KA	FD	KA	KE	KA	KE/FD	KA	KE/FD	KA	
Lung	: Reddish area		No.of animals	6	1	5	1	5	2	4	8	3	6
			-	6	0	5	0	5	1	4	6	3	6
Glandular stomach	: Reddish, mucosa		+	0	1	0	1	0	1	0	2	0	0
			-	6	1	5	1	5	2	4	5	3	6
			+	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0

KA : Killed by design at the end of administration period.

KR : Killed by design at the end of recovery period.

KE : Killed in extreme.

FD : Found dead.

Table 21-1     Absolute and relative organ weights of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Testis (g)	Epididy- mis (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)	
Absolute	0	6	329 ±36	1.88 ±0.06	0.45 ±0.08	1.13 ±0.07	9.89 ±1.56	2.48 ±0.30	61.1 ±6.9	0.72 ±0.06	3.25 ±0.18	0.81 ±0.05	12.2 ±1.1	26.5 ±1.6
	10	6	325 ±21	1.89 ±0.04	0.44 ±0.07	1.04 ±0.14	8.80 ±1.32	2.57 ±0.25	54.7 ±5.4	0.68 ±0.11	3.10 ±0.17	0.75 ±0.07	11.0 ±0.8	25.1 ±5.0
	30	6	302 ±19	1.88 ±0.03	0.40 ±0.08	1.01 ±0.05	8.33 ±0.89	2.32 ±0.18	56.9 ±6.5	0.59 ±0.05	3.09 ±0.17	0.75 ±0.09	10.3 * ±0.8	24.0 ±4.8
	90	6	311 ±21	1.94 ±0.06	0.41 ±0.05	1.09 ±0.07	9.16 ±0.74	2.46 ±0.25	55.3 ±11.7	0.62 ±0.12	3.02 ±0.17	0.73 ±0.07	10.6 * ±1.4	24.8 ±2.1
	150	3	310 ±16	1.87 ±0.08	0.37 ±0.03	1.05 ±0.11	9.28 ±0.52	2.35 ±0.16	56.2 ±3.4	0.61 ±0.06	2.86 ±0.39	0.71 ±0.05	11.2 ±0.3	25.7 ±3.7
	Relative @	0	6	329 ±36	0.58 ±0.06	0.14 ±0.02	0.35 ±0.03	3.00 ±0.17	0.75 ±0.04	18.6 ±0.9	0.22 ±0.02	1.00 ±0.10	0.25 ±0.02	3.7 ±0.3
	10	6	325 ±21	0.58 ±0.05	0.13 ±0.02	0.32 ±0.05	2.73 ±0.46	0.80 ±0.11	17.0 ±2.2	0.21 ±0.03	0.96 ±0.03	0.23 ±0.01	3.4 ±0.4	7.8 ±1.9
	30	6	302 ±19	0.62 ±0.04	0.13 ±0.03	0.34 ±0.02	2.76 ±0.18	0.77 ±0.07	18.9 ±1.9	0.20 ±0.02	1.03 ±0.06	0.25 ±0.03	3.4 ±0.3	8.0 ±1.5
	90	6	311 ±21	0.62 ±0.03	0.13 ±0.02	0.35 ±0.03	2.94 ±0.11	0.79 ±0.03	17.7 ±3.3	0.20 ±0.03	0.97 ±0.08	0.23 ±0.02	3.4 ±0.3	8.0 ±1.0
	150	3	310 ±16	0.60 ±0.01	0.12 ±0.01	0.34 ±0.04	3.00 ±0.15	0.76 ±0.06	18.2 ±1.5	0.19 ±0.01	0.93 ±0.13	0.23 ±0.03	3.6 ±0.3	8.3 ±1.4

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 21-2 Absolute and relative organ weights of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Testis (g)	Epididy- mis (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)
Absolute	0	375	1.92	0.41	1.24	10.55	2.49	61.0	0.71	3.28	1.10	12.2	26.4
		±43	±0.08	±0.09	±0.13	±1.22	±0.28	±6.5	±0.11	±0.20	±0.09	±1.4	±5.3
	150	353	1.88	0.40	1.10	9.51	2.53	53.5	0.64	2.89 *	0.94 *	11.3	27.6
		±22	±0.11	±0.09	±0.09	±0.66	±0.36	±8.9	±0.12	±0.26	±0.11	±1.4	±2.1
Relative @	0	375	0.52	0.11	0.33	2.82	0.67	16.4	0.19	0.88	0.30	3.3	7.1
		±43	±0.05	±0.02	±0.02	±0.06	±0.04	±1.5	±0.02	±0.11	±0.02	±0.2	±1.3
	150	353	0.53	0.11	0.31	2.69 *	0.72	15.2	0.18	0.82	0.27	3.2	7.8
		±22	±0.02	±0.02	±0.03	±0.07	±0.09	±2.4	±0.03	±0.09	±0.04	±0.4	±0.3

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 22.1 Absolute and relative organ weights of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At end of the administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Ovary (mg)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)	
Absolute	0	6	210 ±18	1.81 ±0.06	0.45 ±0.12	0.79 ±0.09	6.28 ±0.61	1.68 ±0.23	68.0 ±12.8	0.45 ±0.05	83.7 ±11.9	13.0 ±2.0	19.0 ±3.3
	10	5	198 ±22	1.77 ±0.06	0.41 ±0.06	0.73 ±0.08	5.76 ±0.83	1.61 ±0.15	63.0 ±6.2	0.44 ±0.10	85.3 ±15.5	12.6 ±1.9	19.4 ±1.9
	30	5	206 ±13	1.84 ±0.10	0.45 ±0.07	0.76 ±0.08	6.58 ±0.64	1.71 ±0.09	74.2 ±5.3	0.50 ±0.04	89.9 ±16.8	13.9 ±1.4	19.5 ±3.3
	90	4	211 ±8	1.83 ±0.04	0.50 ±0.16	0.78 ±0.08	6.81 ±0.20	1.65 ±0.09	66.0 ±7.3	0.49 ±0.07	95.1 ±5.1	12.1 ±0.7	18.4 ±2.5
	150	3	213 ±24	1.85 ±0.04	0.49 ±0.12	0.76 ±0.09	6.79 ±0.83	1.80 ±0.13	82.4 ±9.4	0.56 ±0.08	92.7 ±7.1	13.6 ±1.8	16.7 ±1.9
	0	6	210 ±18	0.87 ±0.06	0.21 ±0.04	0.38 ±0.04	3.00 ±0.17	0.80 ±0.08	32.5 ±6.3	0.21 ±0.02	40.0 ±5.8	6.2 ±0.7	9.1 ±1.5
Relative @	10	5	198 ±22	0.90 ±0.10	0.21 ±0.03	0.37 ±0.03	2.91 ±0.12	0.82 ±0.04	32.0 ±2.5	0.22 ±0.03	43.1 ±5.4	6.3 ±0.4	9.9 ±1.6
	30	5	206 ±13	0.89 ±0.03	0.22 ±0.03	0.36 ±0.02	3.19 ±0.19	0.83 ±0.05	36.1 ±3.7	0.24 ±0.02	43.5 ±7.4	6.7 ±0.7	9.4 ±1.3
	90	4	211 ±8	0.87 ±0.05	0.23 ±0.07	0.37 ±0.03	3.22 ±0.08	0.78 ±0.03	31.2 ±2.5	0.23 ±0.03	45.1 ±3.1	5.8 ±0.4	8.7 ±0.9
	150	3	213 ±24	0.88 ±0.12	0.23 ±0.04	0.36 ±0.02	3.19 ±0.05	0.85 ±0.14	39.3 ±8.8	0.26 ±0.02	44.2 ±8.7	6.4 ±0.5	7.8 ±0.2

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

Table 22-2      Absolute and relative organ weights of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol  
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

〈 At end of the recovery period 〉

Dose (mg/kg/day)	No.of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Ovary (mg)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)	
Absolute	0	6 ±18	222 ±18	1.82 ±0.07	0.36 ±0.07	0.81 ±0.06	6.34 ±0.50	1.58 ±0.17	73.0 ±7.9	0.47 ±0.04	100.9 ±6.2	13.6 ±1.7	19.8 ±2.3
	150	1	238	1.91	0.27	0.85	6.33	1.63	80.9	0.54	81.1	15.3	21.5
Relative @	0	6 ±18	222 ±18	0.83 ±0.07	0.16 ±0.03	0.37 ±0.01	2.87 ±0.09	0.71 ±0.03	33.2 ±5.2	0.21 ±0.02	45.7 ±3.3	6.1 ±0.5	9.0 ±1.1
	150	1	238	0.80	0.11	0.36	2.66	0.68	34.0	0.23	34.1	6.4	9.0

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

Table 23·1 Incidence of histopathological findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade	At the end of administration period							At the end of recovery period				
			Dose(mg/kg/day)		0	10	30	90	150	No. of animals	Fate	KA	KE/FD	KA Total
Lung	: Bronchitis, catarrhal	-			6	6	6	5	4	3	7	6	5	
		+			0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	Inflammation	-			6	6	6	5	4	3	7	6	5	
		++			0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	Accumulation, foam cell	-			5	5	6	4	4	3	7	6	5	
		+			1	1	0	1	0	0	0	0	0	
		++			0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	Metaplasia, osseous	-			6	6	6	5	4	3	7	6	5	
		+			0	0	0	1	0	0	0	0	0	
Trachea	: Inflammation/necrosis, epithelium/lamina propria	-			6	6	6	5	4	3	7	6	5	
		+			0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	Inflammation	-			6	6	6	6	3	3	6	6	5	
		++			0	0	0	0	1	0	1	0	0	
Liver	: Microgranuloma	-			5	#	#	#	4	2	6	#	#	
		+			1	#	#	#	0	1	1	#	#	

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate.

No abnormalities were detected in the brain, pituitary, thyroid, parathyroid, heart, large intestine, adrenal, prostate, seminal vesicle, spinal cord, sciatic nerve, lymph nodes and eye ball from animals of control and 150 mg/kg group.

Table 23-2 Incidence of histopathological findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade	At the end of administration period							At the end of recovery period		
			Dose(mg/kg/day)	0	10	30	90	150		0	150	
			Fate	KA	KA	KA	KA	KE/FD	KA Total	KR	KR	
Forestomach	: Squamous hyperplasia		No.of animals	6	6	6	6	4	3	7	6	
			-	6	6	6	6	2	0	2	6	
Glandular stomach	: Hyperplasia, surface epithelium		+	0	0	0	0	2	3	5 *	0	
			-	6	6	6	6	0	1	1	6	
Duodenum	: Erosion		+	0	0	0	0	4	2	6 **	0	
			Necrosis, mucosa	-	6	6	6	6	0	3	3	6
			+	0	0	0	0	2	0	2	0	
			++	0	0	0	0	1	0	1	0	
			+++	0	0	0	0	1	0	1	0	
			-	6	6	6	6	1	3	4	6	
			+	0	0	0	0	3	0	3	0	

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 23-3 Incidence of histopathological findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	Findings	Grade	At the end of administration period							At the end of recovery period				
			Dose(mg/kg/day)		0	10	30	90	150	No. of animals	Fate	KA	KE/FD	KA Total
			No. of animals	Fate	KA	KA	KA	KA	KA					
Kidney	: Hyperplasia, collecting tubular epithelium	-			6	6	6	6	1	2	3	6	5	
		+			0	0	0	0	3	1	4	0	0	
	Dilatation, tubular	-			6	6	6	6	0	2	2	5	2	
		+			0	0	0	0	4	1	5*	1	2	
		++			0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	Basophilic tubule	-			5	4	5	2	0	1	1	3	2	
		+			1	2	1	3	2	1	3	2	2	
		++			0	0	0	1	0	0	0	1	1	
		+++			0	0	0	0	2	1	3	0	0	
	Cast, protenuos/cellular, collecting tubule	-			6	6	6	6	0	2	2	6	5	
		+			0	0	0	0	1	0	1	0	0	
		++			0	0	0	0	3	1	4	0	0	
Urinary bladder	Mineralization, collecting tubule	-			6	6	6	6	3	3	6	6	5	
		+			0	0	0	0	1	0	1	0	0	
	Fibrosis	-			6	6	6	6	4	3	7	6	4	
		+			0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex	-			5	6	5	6	4	3	7	6	5	
		+			1	0	1	0	0	0	0	0	0	
	Cyst, solitary	-			6	6	6	5	4	1	5	5	5	
		+			0	0	0	1	0	2	2	1	0	
	Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	-			3	4	5	5	4	3	7	4	4	
		+			3	2	1	1	0	0	0	2	1	

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 23-4 Incidence of histopathological findings of male rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	Findings	Grade	At the end of administration period							At the end of recovery period	
			Dose(mg/kg/day)		0	10	30	90	150	0	150
			Fate	KA	KA	KA	KA	KE/FD	KA Total		
Thymus	: Atrophy, cortical Hemorrhage	-	No.of animals	6	6	6	6	3	3	6	6
			++	0	0	0	0	1	0	1	0
Spleen	: Atrophy : Hematopoiesis, extramedullary	-	No.of animals	6	#	#	#	3	3	6	#
			++	0	#	#	#	1	0	1	#
Bone marrow	: Hypocellularity	-	No.of animals	6	#	#	#	0	0	0	#
			+	0	#	#	#	1	3	4	#
Testis	: Hypospermatogenesis Hyperplasia, interstitial cell, diffuse	-	No.of animals	6	6	6	6	0	1	1	6
			+	0	0	0	0	3	2	5	0
Epididymis	: Decrease, sperm Atrophy	-	No.of animals	6	6	6	6	0	1	1	6
			+	0	0	0	0	0	1	1	0
			+++	0	0	0	0	4	1	5	0
			+	0	0	0	0	4	0	4	0

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe.

\*\* : Significantly different from control at 1% level of probability.

Table 24-1 Incidence of histopathological findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	Findings	Grade	At the end of administration period												At the end of recovery period				
			Dose(mg/kg/day)			0			10			30			90			150	
			Fate	KA	FD	KA	Total	KE	KA	Total	KE/FD	KA	Total	KE/FD	KA	Total	6	150	
Lung	: Bronchitis, catarrhal	-	No.of animals	6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	8	3	11	6	1	
		+		0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	
		++		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
		Inflammation		6	0	5	5	0	5	5	1	4	5	7	3	10	6	1	
		++		0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	
		+++		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Accumulation, foam cell		6	0	5	5	0	5	5	2	4	6	6	1	7	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	0	0	
		++		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	
		+++		0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Trachea	: Inflammation/necrosis, epithelium/lamina propria	Cellular infiltration, neutrophile, perivascular		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	8	2	10	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
		Hemorrhage		6	1	5	6	1	5	6	1	4	5	7	3	10	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	
		Congestion		6	0	5	5	0	5	5	1	4	5	6	3	9	6	1	
		+		0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		++		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0	2	0	0	
		Trachea		6	1	5	5	0	5	5	2	4	6	7	3	10	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		++		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	
Heart	: Myocardial degeneration/fibrosis	-		5	1	#		1	#		2	#		8	3	11	#	#	
		+		1	0	#		0	#		0	#		0	0	0	#	#	

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; +++ : Severe.

No abnormalities were detected in the brain, pituitary, thyroid, parathyroid, small intestine, large intestine, adrenal, ovary, uterus, vagina, spinal cord, sciatic nerve, bone marrow and eye ball from animals of control and 150 mg/kg group.

Table 24-2 Incidence of histopathological findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	Findings	Grade	At the end of administration period												At the end of recovery period				
			Dose(mg/kg/day)			0			10			30			90			150	
			Fate	KA	FD	KA	Total	KE	KA	Total	KE/FD	KA	Total	KE/FD	KA	Total	0	150	
Liver	: Necrosis, focal	-	No.of animals	6	1	5	6	0	5	5	1	4	5	6	3	9	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	
		++		0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	
	Granuloma	-		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	8	3	11	5	0	
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	Microgranuloma	-		4	1	3	4	1	4	5	2	4	6	8	2	10	6	1	
		+		2	0	2	2	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	
	Degeneration, fatty, hepatocyte, peripheral	-		6	1	5	6	1	4	5	2	4	6	8	3	11	6	1	
		+		0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Congestion	-		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	5	3	8	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	0	
Forestomach	: Squamous hyperplasia	-		6	1	5	6	1	5	6	1	4	5	1	3	4	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	7	0	7*	0	0	
	Glandular stomach : Hyperplasia, surface epithelium	-		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	5	3	8	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	0	
	Necrosis, mucosa	-		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	3	3	6	6	1	
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4	0	0	
		++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 24·3 Incidence of histopathological findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	Findings	Grade	At the end of administration period												At the end of recovery period					
			Dose(mg/kg/day)			0			10			30			90			150		
			Fate	KA	FD	KA	Total	KE	KA	Total	KE/FD	KA	Total	KE/FD	KA	Total	0	150		
Kidney	: Hyperplasia, collecting tubular epithelium	-	No.of animals	6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	6	3	9	6	1		
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0		
	Dilatation, tubular	-		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	3	3	6	6	1		
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	0		
		++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0		
	Basophilic tubule	-		5	1	3	4	1	5	6	1	3	4	6	2	8	5	1		
		+		1	0	2	2	0	0	0	1	1	2	1	1	2	1	0		
		++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0		
	Cast, protenuos/cellular, collecting tubule	-		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	7	3	10	6	1		
		++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0		
	Mineralization, tubular	-		6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	7	3	10	6	1		

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate.

\* : Significantly different from control at 5% level of probability.

Table 24·4 Incidence of histopathological findings of female rats treated with 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	Findings	Grade	At the end of administration period												At the end of recovery period			
			Dose(mg/kg/day)		0			10			30			90			150	
			Fate	KA	FD	KA	Total	KE	KA	Total	KE/FD	KA	Total	KE/FD	KA	Total	0	150
Thymus	: Atrophy, cortical	-	No.of animals	6	1	5	6	1	5	6	2	4	6	5	3	8	6	1
		+		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0
		++		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
	Hemorrhage	-		6	0	5	5	1	5	5	1	4	5	6	3	9	6	1
		+		0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	2	0	2	0	0
Spleen	: Atrophy	-		6	1	#		1	#		1	#		7	3	10	#	#
		++		0	0	#		0	#		1	#		1	0	1	#	#
	Hematopoiesis, extramedullary	-		0	0	#		0	#		0	#		0	0	0	#	#
		+		6	1	#		1	#		2	#		8	2	10	#	#
		++		0	0	#		0	#		0	#		0	1	1	#	#
	Deposit, pigment, brown	-		0	0	#		0	#		0	#		0	0	0	#	#
		+		6	1	#		1	#		2	#		8	3	11	#	#
56.	Lymph nodes : Hypoplasia, lymphoid cell	-		6	1	#		1	#		2	#		6	3	9	#	#
		+		0	0	#		0	#		0	#		2	0	2	#	#

KA : Killed by design at the end of administration period; KR : Killed by design at the end of recovery period; KE : Killed in extreme; FD : Found dead; # : Not examined.

Grade, - : Negative; + : Slight; ++ : Moderate.