

最終報告書

塩素化パラフィンのラットを用いる
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

2007年2月15日

試験委託者： 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関1丁目2番2号 (〒100-8916)

試験施設： 株式会社パナファーム・ラボラトリーズ
熊本県宇土市栗崎町1285番地 (〒869-0425)

1. 目次

1.	目次	1
4.	要約	11
5.	試験材料及び方法.....	13
5.1.	被験物質及び媒体.....	13
5.1.1.	被験物質	13
5.1.2.	媒体	14
5.2.	試験系	15
5.2.1.	種及び系統	15
5.2.2.	試験系選択の理由.....	15
5.2.3.	購入動物数及び性別.....	15
5.2.4.	供給源	15
5.2.5.	生産場	15
5.2.6.	週齢	16
5.2.7.	入荷時体重	16
5.2.8.	検疫, 馴化	16

5.2.9. 検疫馴化期間中の識別方法.....	16
5.2.10. 群分け	16
5.2.11. 群分け後の識別方法.....	16
5.3. 試験系の環境条件.....	17
5.3.1. 飼育環境	17
5.3.2. 飼料	18
5.3.3. 飲水	18
5.3.4. 床敷	19
5.3.5. 飼育器材の交換頻度.....	19
5.3.6. 洗浄および消毒	19
5.4. 被験物質と媒体との混合物の調製法及び調製頻度.....	19
5.4.1. 調製法	19
5.4.2. 調製頻度	20
5.4.3. 混合物中での被験物質の安定性及び均一性.....	20
5.4.4. 投与液の保存条件及び保存場所.....	20
5.4.5. 投与液の識別法	20
5.5. 混合物中の被験物質濃度測定.....	20
5.5.1. 標準物質	20
5.5.2. 試薬	21
5.5.3. 10 w/v%塩化ナトリウム水溶液の調製	22
5.5.4. 標準試料溶液の調製.....	22
5.5.5. 測定実測試料の調製.....	22
5.5.6. ガスクロマトグラフィー(GC)条件	23
5.5.7. 濃度の算出法	24
5.5.8. データの取扱い	24
5.6. 再測定	24
5.6.1. 再測定事例	24
5.6.2. 再測定及び再測定値の取り扱い.....	25
5.7. 投与方法, 投与量及び群構成.....	25
5.7.1. 投与経路	25
5.7.2. 投与経路の選択理由.....	25

5.7.3. 投与方法	25
5.7.4. 投与方法の選択理由	25
5.7.5. 投与時刻	25
5.7.6. 投与回数, 投与及び回復期間, 並びにその設定理由	25
5.7.7. 投与量	26
5.7.8. 投与量設定の根拠	26
5.7.9. 群構成	27
5.8. 観察, 検査及び測定の頻度並びに方法	27
5.8.1. 親動物及び回復用雌動物	27
5.8.2. 出産児	34
5.9. 統計学的処理	34
5.9.1. 多重比較検定	34
5.9.2. Wilcoxon rank-sum test	35
5.9.3. χ^2 検定	35
5.9.4. Steelの多重比較検定	35
5.9.5. Fisherの正確確率検定法	35
5.9.6. Mann-WhitneyのU検定法	35
5.9.7. Wilcoxonの順位和検定法 (両側検定)	35
5.10. 動物の適正使用	36
6. 試験結果	36
6.1. 反復投与毒性試験に関する結果	36
6.1.1. 死亡動物	36
6.1.2. 一般状態観察	36
6.1.3. 機能観察総合検査	36
6.1.4. 体重	37
6.1.5. 摂餌量	37
6.1.6. 尿検査	37
6.1.7. 血液学的検査	38
6.1.8. 血液生化学的検査	38
6.1.9. 剖検	38
6.1.10. 器官重量	39

6.1.11. 病理組織学的検査.....	39
6.2. 生殖発生毒性試験に関する結果.....	40
6.2.1. 親動物に及ぼす影響.....	40
6.2.2. 児動物に及ぼす影響.....	40
7. 考察	41
8. 参考文献	42

群別データ

4. 要約

塩素化パラフィンの安全性に関する毒性試験の一環として、塩素化パラフィンを 20, 80 及び 300 mg/kg の用量で、1 群雌雄各 12 匹の Crl:CD(SD)系ラットに、雄は交配前 14 日間及び交配期間を経て 42 日間、雌は交配前 14 日間、交配、妊娠及び分娩を経て哺育 4 日まで (未分娩動物は妊娠 23 日まで) それぞれ反復経口投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性に及ぼす影響について検討した。さらに、対照群及び高用量群は 14 日間の回復期間を設け、雄は交配に使用した動物から各 5 例について、雌は新たに回復に用いた雌各 5 例 (未交配) を追加して雄と同様の 42 日間反復投与を行った動物について、その回復性を検討した。なお、対照群には同容量の媒体を投与した。

1. 反復投与毒性

投与期間を通して、一般状態に何ら異常は認められず、被験物質投与に起因した死亡の発生もなかった。また、機能観察総合検査、体重、摂餌量及び尿検査では、被験物質投与に起因した変化は何ら認められなかった。

被験物質投与に起因した変化が肝臓に認められた。肝臓では、300 mg/kg 群の雌雄で肉眼的に肥大、80 mg/kg 群の雄及び 300 mg/kg 群の雌雄で組織学的に小葉中心性の肝細胞の軽度の肥大が認められ、肥大した肝細胞の細胞質は比較的均質な好酸性を呈していた。また、80 mg/kg 群の雌及び 300 mg/kg 群の雌雄で肝臓重量の高値及び γ -GTP の高値がみられ、さらに 80 及び 300 mg/kg 群の雄でトリグリセライドの低値、300 mg/kg 群の雄で PT 及び APTT の延長が認められた。これらの変化は、肝臓に組織学的な障害性変化が認められなかったものの、被験物質投与の肝臓への影響を示唆するものと考えられた。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時の検査に引き続き、300 mg/kg 群の雌で γ -GTP の高値及び 300 mg/kg 群の雌雄で肝臓重量の高値が認められたが、肝臓の肉眼的または組織学的変化が認められなかったことから、これらの変化は回復傾向にあるものと考えられた。その他の変化についてはいずれも消失していた。

以上の結果から、本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雌雄ともに 20 mg/kg/day と推察され、回復性は良好であった。

2. 生殖発生毒性

親動物では、性周期検査、発情周期、発情回数、交尾率、受(授)胎率、交尾所要口数、黄体数、

着床痕数，着床率，妊娠期間及び出産率のいずれでも被験物質投与に起因した変化は認められなかった。また，分娩状態及び哺育状態に異常は認められなかった。

児動物では，出産児数，出生率，出生児数，死産率，性比，外表異常出現率，新生児の4日生存率，生後0及び4日の雌雄出生児体重のいずれでも被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

以上の結果から，本試験条件下における親動物の生殖能力及び次世代児に関する無影響量は，親動物及び児動物ともに 300 mg/kg/day と推察された。

5. 試験材料及び方法

5.1. 被験物質及び媒体

5.1.1. 被験物質

5.1.1.1. 名称

塩素化パラフィン (C11, 塩素数 7~12) 【英名 ; Alkanes, chlorinated (C11, Cl 7-12)】

5.1.1.2. ロット番号

5.1.1.3. CAS 番号

塩素化パラフィン総称 ; 61788-76-9

alkanes, C10-13, chloro ; 85535-84-8

5.1.1.4. 組成

$C_{11.0}H_{16.77}Cl_{7.23}$ (供給源からの情報による)

5.1.1.5. 分子量

405 (平均分子量)

5.1.1.6. 供給源

5.1.1.7. 性状

淡黄色の低粘性液体

5.1.1.8. 純度

98%以上 (安定剤としてエポキシ化脂肪酸グリセライドを 2%以下含有する),

塩素含有量; 63.3% (供給源からの情報による)

5.1.1.9. 比重

1.408 (供給源からの情報による)

5.1.1.10. 融点

-25~25℃ (製品安全性データシートによる)

5.1.1.11. 分解温度

約 260℃ (製品安全性データシートによる)

5.1.1.12. 保存条件及び保存場所

被験物質室(61)の保管庫内に室温で保存した (実測温度：17~24℃).

5.1.1.13. 安定性

投与期間終了後に、残余の被験物質を供給源に返却して分析を行い、当該分析結果及び受領前の分析結果より安定性を確認した (添付資料 1).

5.1.1.14. 取扱い注意事項

保護メガネ、マスク及びゴム手袋を着用し、皮膚に付着しないよう注意した.

5.1.1.15. 保存用被験物質

使用ロットから 5 g 採取して保存した.

5.1.1.16. 残余の被験物質

2005 年 12 月 19 日に供給源に返却した.

5.1.2. 媒体**5.1.2.1. 名称**

0.1%Tween 80 添加 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC-Na)溶液

5.1.2.2. 使用試薬

下記の試薬は、被験物質室(61)の保管庫内に室温で保存した。

試薬名	メーカー	性状	ロット番号
CMC-Na	ナカライテスク株式会社	白色粉末	M2T3585
Tween 80	ナカライテスク株式会社	無色～橙黄色の粘稠性のある液体	M4M0793

5.1.2.3. 媒体の調製方法及び調製頻度

週 1～2 回の頻度（被験物質混合物の調製頻度と同じ頻度）で、各使用試薬を滅菌した精製水に溶解し、0.1% Tween80 添加 0.5% CMC-Na 溶液を調製した。

5.1.2.4. 取扱い注意事項

特になし。

5.2. 試験系

5.2.1. 種及び系統

ラット, Cri:CD(SD)

5.2.2. 試験系選択の理由

「OECD ガイドライン」で、げっ歯類を用いた試験データが要求されていること、及び本系統は毒性試験に汎用されており、バックグラウンドデータが豊富である。

5.2.3. 購入動物数及び性別

雄：55 匹, 雌：67 匹

5.2.4. 供給源

日本チャールス・リバー株式会社

神奈川県横浜市港北区新横浜 3-17-6 (〒222-0033)

5.2.5. 生産場

厚木飼育センター

神奈川県厚木市下古沢 795 番地 (〒243-0314)

5.2.6. 週齢

入荷時 : 雌雄共 6 週齢

投与開始時 : 雌雄共 8 週齢

5.2.7. 入荷時体重

雄 165.4~192.3 g, 雌 130.9~160.4 g

5.2.8. 検疫, 馴化

入荷時に種, 系統, 週齢, 動物数及び性別を確認し, 一般状態及び外観を観察するとともに体重を測定した. 検疫馴化期間は雌雄とも 14 日とし, この間に一般状態の観察及び体重測定を行い, 健康であることを確認した. さらに, 雌全例について, 性周期検査 (10 日間) を行った.

5.2.9. 検疫馴化期間中の識別方法

入荷時に, 動物には飼育ケージ内での識別を行うために, 油性フェルトペンにて尾に識別番号を記入するとともに, 試験番号, 検疫動物番号及び性別を表示したラベルを各ケージの前面に付けた.

5.2.10. 群分け

投与開始前日に, その日の体重を基に層別連続無作為化法で群分けを行った. なお, 性周期が正常に回帰していない雌は, 群分けから除外した. 使用動物の体重は雄が 295.6~333.5 g, 雌が 176.7~238.4 g であり, 平均体重の±20%以内であった. 残余の動物は, 投与開始日の翌日にエーテル麻酔下における放血致死により, 安楽死処分した.

5.2.11. 群分け後の識別方法

動物番号を刻印した耳標を取付けるとともに, 試験番号, 動物番号, 投与量及び性別を表示したラベルを各ケージの前面に付けた.

5.3. 試験系の環境条件

5.3.1. 飼育環境

5.3.1.1. 飼育室番号

バリアーシステム C 区域内の飼育室 86 番

5.3.1.2. 飼育ケージ

ステンレススチール製 (W260 × H200 × D380 mm)

ポリメチルペンテン製 (W265 × H185 × D425 mm)

5.3.1.3. ケージ架台

ステンレススチール製ケージ用 (W1300 × H1550 × D450 mm)

ポリメチルペンテン製ケージ用 (W1500×H1550×D450 mm)

5.3.1.4. 収容動物数

検疫馴化期間中 : 2~3 匹 / ステンレススチール製ケージ

交配前投与期間中 : 1 匹 / ステンレススチール製ケージ

交配期間中 : 雌雄各 1 匹 / ステンレススチール製ケージ

妊娠及び哺育期間中 : 1 匹 (哺育児を含む) / ポリメチルペンテンケージ

5.3.1.5. 温度 (実測温度)

22~26 °C (許容範囲 21~27°C)

5.3.1.6. 湿度 (実測湿度)

51~59 % (許容範囲 35~75%)

5.3.1.7. 照明

午前 7 時点灯, 午後 7 時消灯の 12 時間

5.3.1.8. 換気回数

10~20 回 / 時

5.3.2. 飼料

5.3.2.1. 種類

固型飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)

5.3.2.2. 滅菌方法

高圧蒸気滅菌

5.3.2.3. 給餌方法

自由摂取

5.3.2.4. 分析

オリエンタル酵母工業株式会社が財団法人 日本食品分析センターに委託して実施したロットごとの分析結果を入手し、飼料中の夾雑物が㈱パナファーム・ラボラトリーズの許容基準値を満たしていることを確認した。

5.3.3. 飲水

5.3.3.1. 種類

井戸水

5.3.3.2. 消毒方法

次亜塩素酸ナトリウムを添加 (約 2 ppm)

5.3.3.3. 給水方法

自由摂取 (自動給水装置及び給水瓶)

5.3.3.4. 分析

水質検査を 6 ヶ月ごとに株式会社鶴城に依頼し、その分析結果が水道法水質基準に適合していることを確認した。

5.3.4. 床敷

5.3.4.1. 種類

ホワイトフレーク (日本チャールス・リバー株式会社)

5.3.4.2. 滅菌方法

高圧蒸気滅菌

5.3.5. 飼育器材の交換頻度

ケージ架台 : 4週間に1回交換

ステンレススチール製ケージ : 2週間に1回交換

受皿 : 1週間に2回交換

ポリメチルペンテン製ケージ及び給水瓶

: 1週間に2回交換 (ただし、妊娠21日以降はケージ交換を実施しなかった)

ポリメチルペンテン製ケージ用蓋 : 4週間に1回交換としたが、ポリメチルペンテン製ケージで4週間以上の飼育を行わなかったため、交換は実施しなかった。

5.3.6. 洗浄および消毒

飼育器材は水洗後オートクレーブ滅菌する。飼育室は毎日清掃し、消毒薬を浸したモップで清拭した。消毒薬には次亜塩素酸ナトリウム及び逆性石けんを用い、1週間ごとに交換した。

5.4. 被験物質と媒体との混合物の調製法及び調製頻度

5.4.1. 調製法

調製は濃度ごとに実施した。

- 1) 必要量の被験物質を調製濃度ごとに正確に秤量した。
- 2) ビーカーに被験物質を秤量し、終調製量の6~7割の媒体を加え、ポルトロンタイプのホモジナイザー (ヒスコトロン[®]) を用いて、混和した。
- 3) 乳化後、メスシリンダーに移した。
- 4) ビーカー及びホモジナイザーの刃を媒体で数回共洗した。
- 5) 2, 8及び30 mg/mLとなるように媒体でそれぞれメスアップした。
- 6) 転倒混和し、必要量をバイアルに分注した。

5.4.2. 調製頻度

1週間に1~2回の頻度で調製した。

5.4.3. 混合物中での被験物質の安定性及び均一性

0.1 w/v%Tween80 含有 0.5 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液中塩素化パラフィンの均一性及び安定性試験（試験番号：P050085，株式会社パナファーム・ラボラトリーズ，GLP適用）において，調製直後の2及び100 mg/mL液は均一であり，かつ室温，褐色ガラス容器中で8日間安定であった。

5.4.4. 投与液の保存条件及び保存場所

飼育区域に設置した保管庫内に遮光下，室温で保存した。なお，調製直後には，一時的に被験物質室(61)に遮光下，室温で保存した（実測温度：21~26℃）。

5.4.5. 投与液の識別法

投与液を入れた褐色ガラス容器に，試験番号，被験物質名，投与量，被験物質濃度，調製日，保存条件，使用期限及び調製者名を記入したラベルを貼付した。

5.5. 混合物中の被験物質濃度測定

初回調製時にすべての濃度の被験物質混合液について，調製した各濃度の投与液総量の任意の1カ所から（攪拌しながら）約15 mLを採取し，下記に示す方法に従って株式会社パナファーム・ラボラトリーズで測定した。なお，定量値は規定された濃度の100±15%以内とし，いずれの濃度も規定値の範囲内であることを確認した（添付資料2）。

0.1 w/v%Tween80 含有 0.5 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液中塩素化パラフィンの濃度測定法バリデーション試験（試験番号：P041530，株式会社パナファーム・ラボラトリーズ）で確立された方法に基づき実施した。

5.5.1. 標準物質

被験物質を標準物質として用いた。

5.5.1.1. 名称

塩素化パラフィン

5.5.1.2. ロット番号

51290U

5.5.1.3. 供給源

東ソー株式会社

5.5.1.4. 性状

淡黄色の低粘性液体

5.5.1.5. 保存条件及び保存場所

被験物質室(61)の保管庫内に室温で保存した (実測温度：18~24℃).

5.5.1.6. 取扱い注意事項

保護メガネ、マスク及びゴム手袋を着用し、皮膚に付着しないよう注意した。

5.5.1.7. 残余の標準物質

供給者に返却した。発送は被験物質に準じた。

5.5.2. 試薬

メタノール 5000 (残留農薬・PCB 試験用) (以降、メタノールと称する)

: 和光純薬工業株式会社

ジクロロメタン 5000 (残留農薬・PCB 試験用) (以降、ジクロロメタンと称する)

: 和光純薬工業株式会社

n-ヘプタン (HPLC 用) (以降、ヘプタンと称する)

: 和光純薬工業株式会社

塩化ナトリウム (試薬特級) : 和光純薬工業株式会社

純水

: 株式会社パナファーム・ラボラトリーズにおいて、超純水製造装置システム (型式 ELIX. ASM. MILLI-Q, 日本ミリポア株式会社) により精製した。

5.5.3. 10 w/v%塩化ナトリウム水溶液の調製

塩化ナトリウム 50 g を純水に溶かし，純水で 500 mL とした。

5.5.4. 標準試料溶液の調製

標準物質 200 mg を正確に量り，ヘプタンを加えて正確に 20 mL とした。この液，1mL を正確に量り，ヘプタンを加えて正確に 10 mL とした (1 mg/mL)。

5.5.5. 測定実測試料の調製

(1) 2 mg/mL 投与液

採取した投与液 (2 mg/mL) を攪拌しながら，任意の 2 ヶ所よりそれぞれ 1 mL を正確に量り，メタノール約 10 mL 及びジクロロメタン約 15 mL を加えて良く振り混ぜ，懸濁した被験物質を溶かした。この液に 10 w/v%塩化ナトリウム約 20 mL を加えて，振とうした (約 120 回/分，5 分)。静置後，有機層を採取し，無水硫酸ナトリウムミニカラム (BOND ELUT JR-SOD.SULF, VARIAN) で脱水した。水層にジクロロメタン約 5 mL を加えてよく振り混ぜ，有機層を先に用いた無水硫酸ナトリウムミニカラムで脱水した。この操作をさらに 1 回繰り返した。有機層を合わせて，約 40°C の水浴中で減圧濃縮した。残留物に少量のヘプタンを加え，約 20 秒間超音波照射して溶解し，2 mL メスフラスコに移した。さらにヘプタンで洗い込み，メスフラスコに加え正確に 2 mL とした。

(2) 8 mg/mL 投与液

採取した投与液 (8 mg/mL) を攪拌しながら，任意の 2 ヶ所よりそれぞれ 1 mL を正確に量り，メタノール約 10 mL 及びジクロロメタン約 15 mL を加えて良く振り混ぜ，懸濁した被験物質を溶かした。この液に 10 w/v%塩化ナトリウム約 20 mL を加えて，振とうした (約 120 回/分，5 分)。静置後，有機層を採取し，無水硫酸ナトリウムミニカラム (BOND ELUT JR-SOD.SULF, VARIAN) で脱水した。水層にジクロロメタン約 5 mL を加えてよく振り混ぜ，有機層を先に用いた無水硫酸ナトリウムミニカラムで脱水した。この操作をさらに 1 回繰り返した。有機層を合わせて，約 40°C の水浴中で減圧濃縮した。残留物に少量のヘプタンを加え，約 20 秒間超音波照射して溶解し，4 mL メスフラスコに移した。さらにヘプタンで洗い込み，メスフラスコに加え正確に 4 mL とした。この液 2.5 mL を 5 mL メスフラスコに移し，ヘプタンを加えて正確に 5 mL とした。

(3) 30 mg/mL 投与液

採取した投与液 (30 mg/mL) を攪拌しながら、任意の 2 ヶ所よりそれぞれ 1 mL を正確に量り、メタノール約 10 mL 及びジクロロメタン約 15 mL を加えて良く振り混ぜ、懸濁した被験物質を溶かした。この液に 10 w/v%塩化ナトリウム約 20 mL を加えて振とうした (約 120 回/分, 5 分)。静置後、有機層を採取し、無水硫酸ナトリウムミニカラム (BOND ELUT JR-SOD.SULF, VARIAN) で脱水した。水層にジクロロメタン約 5 mL を加えてよく振り混ぜ、有機層を先に用いた無水硫酸ナトリウムミニカラムで脱水した。この操作をさらに 1 回繰り返した。有機層を合わせて、約 40°C の水浴中で減圧濃縮した。残留物に少量のヘプタンを加え、約 20 秒間超音波照射して溶解し、30 mL メスフラスコに移した。さらにヘプタンで洗い込み、メスフラスコに加え正確に 30 mL とした。

5.5.6. ガスクロマトグラフィー(GC)条件

ガスクロマトグラフ	: HP6890 (Agilent Technologies, Inc.)
検出器	: 水素炎イオン化検出器
カラム	: DB-1 (0.25 mm I.D. × 15 m, 膜厚 0.1 μm, J&W Scientific)
カラム温度	: 100°C (2 分保持) - 30°C/分昇温 - 320°C (3 分保持)
注入口温度	: 250°C
検出器温度	: 320°C
キャリアーガス	: ヘリウム
キャリアーガス流量	: 1 mL/min
メイクアップガス	: ヘリウム
メイクアップガス流量	: 40 mL/min
空気流量	: 450 mL/min
水素流量	: 40 mL/min
注入法	: パルスドスプリットレス注入(パルス圧 15psi, 1.5 分)
ページ時間	: 1.5 分
注入量	: 2.0 μL
サイレントエアコンプレッサー	: SC820 (日立工機株式会社)

5.5.7. 濃度の算出法

自動積分により得られた被験物質(標準物質)のピーク面積より、下記の計算式を用いて各投与液中の被験物質濃度を算出した。

$$\text{投与液中被験物質濃度(mg/mL)} = \text{標準試料溶液濃度(mg/mL)} \times (A_T/A_S) \times D$$

A_T : 測定実測試料における被験物質のピーク面積

A_S : 標準試料溶液における標準物質のピーク面積

D : 希釈係数; 2 (2 mg/mL), 8 (8 mg/mL), 30 (30 mg/mL)

各濃度の投与液につき、それぞれ任意の 2 ヶ所の被験物質濃度を求め、その平均値を各濃度の投与液の被験物質濃度とした。

5.5.8. データの取扱い

秤量値及びピーク面積は表示値を使用した。被験物質濃度及びその平均値は有効数字 4 桁目を四捨五入して有効数字 3 桁とした。パーセントで表す結果はいずれも小数点以下 2 桁目を四捨五入し、小数点以下 1 桁とした。

5.6. 再測定

再測定を必要とする場合は、以下の通りとしたが、該当事項は発生しなかった。

5.6.1. 再測定事例

再測定を必要とする場合は、以下の通りとする。

- (1) 使用装置にトラブルが生じた場合
- (2) 当該クロマトグラムに異常が認められた場合
- (3) 明らかな操作(調製及び測定等)ミスが生じた場合
- (4) 何らかの理由 (オートサンプラーの不具合及び瞬間停電等) により測定が中断した場合、中断時点での実測試料の測定から再開することができる。このとき、最後に 1 回測定した標準試料溶液中測定対象物質のピーク面積が最初に 3 回測定した標準試料溶液から得られた測定対象物質のピーク面積の平均値に対して $100 \pm 2.5\%$ 以内であるときは、最初に 3 回測定した標準試料溶液から得られた測定対象物質の Response の相対標準偏差 (RSD) を算出する。RSD が 3% 以内であれば、装置は正常に復帰し、測定は正常に実施されたと判断して測定の妥当性を評価する。

5.6.2. 再測定及び再測定値の取り扱い

- (1) 再測定を実施した場合は、生データに理由（再測定の妥当性）とともに日付を付した署名等を記載し、再測定状況を記載した記録を作成する。
- (2) 2.6.1. (4) 項以外の事例等による理由で適切な測定が行われなかった場合は、濃度に関する生データとして fix せず、機器の調整等の測定条件等を変更して再測定する。
- (3) 正常に行われた測定により得られたデータ（Fix された濃度）が判定基準を満たさなかった場合等、得られたデータの再確認のために再測定する場合は、最終報告書に再測定の事実を記載するとともに、試験結果にマークを付すなどして再測定を実施したことを明らかにする。

5.7. 投与方法、投与量及び群構成

5.7.1. 投与経路

経口投与

5.7.2. 投与経路の選択理由

OECD 毒性試験ガイドライン」で指定されている投与経路であり、予想されるヒトへの暴露経路の一つである。

5.7.3. 投与方法

胃管（RZ-1，テフロン製，日本クレア株式会社）を用いて強制経口投与した。投与中は投与液をスターラーで攪拌した。

5.7.4. 投与方法の選択理由

ラットの経口投与で通常用いられる方法である。

5.7.5. 投与時刻

午前中に投与した。ただし、分娩中の動物は分娩が終了した後（午後）に投与した。

5.7.6. 投与回数、投与及び回復期間、並びにその設定理由

投与回数及び投与期間は、「OECD 毒性試験ガイドライン」に準じた。

投与期間は、雄では交配前 14 日間及び交配期間を経て 42 日間とし、交配に用いた雌では交配前 14 日間、交配期間（交尾成立まで）及び妊娠期間を経て哺育 4 日までとし、回復に用いた雌

(対照群及び高用量群の各 5 例) では雄と同様の 42 日間とした。なお、交尾成立後分娩しない動物は妊娠 23 日までとした。また、対照群及び高用量群の雄及び回復に用いた雌各 5 例については、投与期間終了後に 14 日間の回復期間を設けた。

投与回数は 1 日 1 回投与とし、投与開始日を投与 1 日 (day 1)、投与開始週を投与 1 週 (week 1)、回復開始日を回復 1 日 (recovery day 1)、回復開始週を回復 1 週 (recovery week 1) と起算した。また、交尾が成立した日を妊娠 0 日、分娩が確認された日を分娩 0 日又は哺育 0 日とした。

5.7.7. 投与量

20, 80 及び 300 mg/kg とした。投与容量は 10 mL/kg とし、対照群には同容量の媒体を投与した。投与液量は最新体重を基に算出した、ただし、交配した雌は交尾が確認成立後は妊娠 0 日、分娩後は分娩 0 日の体重を基に算出した。

5.7.8. 投与量設定の根拠

本試験に先立って実施した予備試験 (14 日間反復経口投与、投与量; 100, 300 及び 1000 mg/kg, 雌雄各 5 匹/群, 株式会社パナファーム・ラボラトリーズ, GLP 非適用) では、主な変化として、1000 mg/kg 群の雌雄で自発運動の低下が観察され、さらに 300 mg/kg 以上の群の雌雄でヘモグロビン及びヘマトクリットの低値、総蛋白質及びアルブミンの高値が認められた。また、1000 mg/kg 群の雌雄で肝臓肥大がみられ、さらに 100 mg/kg 以上の群の雌雄で肝臓重量の高値、1000 mg/kg 群の雌雄で腎臓重量の高値が認められた。したがって、本試験では、明らかな毒性が発現すると予想される 300 mg/kg を高用量とし、以下公比約 4 で除した 80 mg/kg 及び 20 mg/kg を中用量及び低用量に設定した。なお、低用量である 20 mg/kg の投与液濃度 (2 mg/mL) は分析可能な最低濃度である。

5.7.9. 群構成

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性別	使用 動物数	動物番号
対照 ^a	0	0	10	雄	12	701~707, 708 ¹⁾ ~712 ¹⁾
				雌	17	801~812, 813 ²⁾ ~817 ²⁾
低用量	20	2	10	雄	12	713~724
				雌	12	818~829
中用量	80	8	10	雄	12	725~736
				雌	12	830~841
高用量	300	30	10	雄	12	737~743, 744 ¹⁾ ~748 ¹⁾
				雌	17	842~853, 854 ²⁾ ~858 ²⁾

a : 媒体を投与, 1) : 回復に使用, 2) : 回復に使用 (未交配).

5.8. 観察, 検査及び測定の頻度並びに方法

5.8.1. 親動物及び回復用雌動物

5.8.1.1. 一般状態

その時点で生存する雌雄全例について, 投与期間中は毎日投与前及び投与後 (投与後約 4~6 時間) の 2 回, 回復期間中は 1 日 1 回, 症状及び死亡の有無を観察した.

5.8.1.2. 機能観察総合検査

以下の項目について, 動物をランダム化した検査順に並び替えたブラインド検査とした. ただし, 投与開始前 (群分け日) の機能観察総合検査はランダム化を行わず, 動物番号順に検査を実施した. 投与期間中の観察及び測定はいずれも投与後約 4~6 時間に行った.

(1) 機能観察 (詳細観察)

投与開始前日に 1 回, 投与期間中は週に 1 回の頻度で雌雄全例について実施した. 交尾が確認された雌は, 妊娠 7 及び 14 日, 並びに哺育 4 日に検査を行った. なお, 投与期間中の検査で被験物質投与に起因した変化が認められなかったことから, 回復期間の検査は実施しなかった.

ホームケージ外での観察は動物を手にとった時に, その後にオープンフィールド内で 2~5 分間程度の観察を行った. 評価は別紙 1 に示す基準にてスコア化した.

- ① ケージ内観察 : 姿勢, 痙攣, 異常・常同行動, 振戦
- ② ケージ外観察 : 取り扱い易さ, 異常発声, 振戦, 筋攣縮, 痙攣, 呼吸, 流涎, 流涙, 瞳

孔径, 眼球突出, 目・鼻の分泌物, 皮膚, 立毛, 毛並み, 可視粘膜, 尿失禁, 筋緊張, 体温

③ フィールド観察 : 覚醒状態, 歩行異常, 異常・常同行動, 眼瞼下垂, 下痢, 糞, 尿

(2) 感覚機能検査

雄は投与 6 週に, 雌は哺育 4 日に, 各群の動物番号の小さい方から雌雄各 5 例について検査を実施した。なお, 雄の投与 6 週及び雌の哺育 4 日の検査で被験物質投与に起因した変化が認められなかったことから, 回復期間の検査は実施しなかった。

フィールドまたは作業台上で聴覚, 視覚, 触覚, 痛覚, 正向反射及び瞳孔反射について検査した。評価は別紙 1 に示す基準にてスコア化した。

(3) 握力測定

雄は投与 6 週に, 雌は哺育 4 日に, 各群の動物番号の小さい方から雌雄各 5 例について測定を実施した。なお, 雄の投与 6 週及び雌の哺育 4 日の測定で被験物質投与に起因した変化が認められなかったことから, 回復期間の検査は実施しなかった。

握力計 (CPU ゲージ: Model 9502A, アイコーエンジニアリング株式会社) を用いて, 前肢及び後肢の握力をそれぞれ 2 回測定し, その平均値を算出した。2 回目の測定が 1 回目の測定値の 1/2 以下及び 2 倍以上の場合は, 3 回目の測定を実施し, 計 3 回の測定値のうち高い方から 2 点を採用し, 平均値を算出した。

(4) 自発運動量測定

雄は投与 6 週に, 雌は哺育 4 日に, 各群の動物番号の小さい方から雌雄各 5 例について測定を実施した。なお, 雄の投与 6 週及び雌の哺育 4 日の測定で被験物質投与に起因した変化が認められなかったことから, 回復期間の検査は実施しなかった。

運動解析装置 (SCANET SV-10, 東洋産業株式会社) を用いて, ポリメチルペンテンケージ内での自発運動量を個別に測定した。データの収集間隔は 10 分間とし, 測定時間は 1 時間とした。

5.8.1.3. 体重

雌雄について, 投与 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39 及び 42 日に測定した。交尾が確認された雌は, 妊娠 0, 7, 14 及び 20 日, 並びに哺育 0 及び 4 日に測定した。また, 回

復動物は、回復 1, 4, 8, 11 及び 14 日にも測定した。なお、剖検日の解剖対象動物及び途中死亡動物は最終体重を測定した。

5.8.1.4. 摂餌量

雌雄全例について、投与 1, 4, 8, 11, 15, 29, 32, 36, 39 及び 42 日に測定した。回復に使用した雌各 5 例は、投与 18, 22 及び 25 日にも測定した。交尾が確認された雌は、妊娠 1, 7, 14 及び 20 日、並びに哺育 1 及び 4 日に測定した。また、回復動物は、回復 1, 4, 8, 11 及び 14 日にも測定した。

午前中に、飼料を入れた給餌器を秤量してケージにセットし、翌日の約 24 時間後に給餌器をケージから取り出して残量を秤量した。この差し引きを 1 日当たりの摂餌量とした。なお、摂餌量の表示日は、残量の測定日とした。

5.8.1.5. 性周期検査

交配に使用した雌について、投与開始日から交尾確認日まで、毎日午前の一定時間に綿棒にて膣垢を採取し、性周期の観察を行った。性周期は休止期(D)、発情前期(P)、発情期(E)及び発情後期(M)に分類し、検査期間中における発情期(E)から次の発情期(E)までの発情周期及び発情回数を算出した。なお、交配期間中の成績は参考データとした。

5.8.1.6. 生殖能力検査

雌雄とも 10 週齢で交配を行った (回復に使用した雌各 5 例を除く)。同一用量群内の雌雄を 1:1 の割合で一晩同居させ、翌朝、膣垢中の精子又は膣栓が確認されたものを交尾成立とした。これらの結果を基に、交尾所要日数、交尾率及び受(授)胎率を算出した。

5.8.1.7. 分娩及び哺育状態の観察

交配に使用した雌について、分娩徴候を含めた分娩状態を観察し、母動物の授乳、営巣などの哺育状態を哺育期間中毎日観察するとともに、妊娠期間及び出産率を算出した。分娩の確認は午前中とし、午前中に分娩終了が確認された日を分娩日とした。なお、交尾確認後、24 日経ても分娩しない動物は未分娩動物とした。

5.8.1.8. 尿検査

投与 6 週に、各群の雄の動物番号の小さい方から 5 例について検査を実施した。その結果、被験物質投与に起因した変化が認められなかったことから、回復期間の検査は実施しなかった。

代謝ケージを用いて、絶食・給水下で午前 (9~10 時の時間帯、投与前) の新鮮尿を採取した。新鮮尿採取後、給餌・給水下で 24 時間蓄積尿を採取した。

検査項目及び検査方法

項目	方法	単位又は表示
尿量	メスシリンダー測定	mL
色調	肉眼的観察	
浸透圧	氷点降下法 OSMOMETER OM801, VOGEL 社	Osm/kg
ナトリウム	電極法 PVA- α III, 株式会社アナリティカル・インスツルメンツ	mEq/24hr
カリウム	電極法 PVA- α III, 株式会社アナリティカル・インスツルメンツ	mEq/24hr
クロール	電量滴定法 PVA- α III, 株式会社アナリティカル・インスツルメンツ	mEq/24hr

以上の 6 項目は、24 時間蓄積尿を用いて検査を行った。

PH	試験紙法	5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9
蛋白質	試験紙法	-, \pm , +, ++, +++, +++++
ブドウ糖	試験紙法	-, +, ++, +++, +++++
ケトン体	試験紙法	-, +, ++, +++, +++++
ビリルビン	試験紙法	-, +, ++, +++, +++++
潜血	試験紙法	-, +, ++, +++, +++++
ウロビリノーゲン	試験紙法	<1, 1, 4, 8, 12 mg/dL

以上の 7 項目は、新鮮尿を用いてプレテスト 8aII (和光純薬工業株式会社) により検査を行った。

尿沈渣：

採取した新鮮尿を 470×g で 5 分間遠心分離 (約 4°C) し、得られた沈渣を鏡検した。鏡検は、弱拡大(100 倍)で全視野を観察し、標本内の有形成分が均等に分布していることを確認した。次いで、強拡大(400 倍)で数視野を観察し、有形成分の判別と数量の算定を行い、以下の基準で判定した。

	-	+	++	+++
上皮細胞	1 視野に 3 個未満	1 視野に 3 個以上 10 個未満	1 視野に 10 個以上 20 個未満	1 視野に 20 個以上
赤血球	1 視野に 10 個未満	1 視野に 10 個以上 30 個未満	1 視野に 30 個以上 100 個未満	1 視野に赤血球が重なり合ったり、過密状態で数の確認が不可能な場合
白血球	1 視野に 3 個未満	1 視野に 3 個以上 20 個未満	1 視野に 20 個以上 40 個未満	1 視野に 40 個以上
円柱	すべての視野に皆無	すべての視野で 1 個以上	-	-
非細胞沈渣*	1 視野に 10 個未満	1 視野に 10 個以上 20 個未満	1 視野に 20 個以上 30 個未満	1 視野に結晶が重なり合ったり過密状態で数の確認が不可能な場合

*：主に磷酸塩，尿酸塩結晶。

5.8.1.9. 血液学的検査

投与期間終了時 (雄は投与 43 日, 雌は哺育 5 日) の検査では, 各群の動物番号の小さい方から雌雄各 5 例について実施した. 回復期間終了時 (回復 15 日) の検査では, 回復動物全例について実施した.

ペントバルビタール・ナトリウム 30 mg/kg を腹腔内に投与して麻酔した後, 後大静脈腹部より血液 2.0~2.5 mL を採取した. 血液凝固系検査には, 3.8 w/v %クエン酸ナトリウム 0.1 mL を入れた試験管に血液 0.9 mL を分注し, 1870 × g で 15 分間遠心分離 (約 4°C) して得られる血漿を用いた. 他の検査には, 残りの血液を EDTA-2K 2 mg 加採血ビン (SB-41, シスメックス株式会社) に分注したものをを用いた. 動物は, 採血前に 18~24 時間絶食した.

検査項目及び検査方法		
項目	方法	単位
白血球数	レーザー光学法	×10 ³ /μL
赤血球数 (RBC)	レーザー光学法	×10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量 (Hgb)	シアンメトヘモグロビン法	g/dL
ヘマトクリット値	$\frac{RBC \times MCV}{10^3}$	%
平均赤血球容積 (MCV)	レーザー光学法	fL
平均赤血球血色素量 (MCH)	$\frac{Hgb}{RBC} \times 10^3$	pg
平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	$\frac{Hgb}{RBC \times MCV} \times 10^5$	g/dL
網状赤血球率	RNA 染色レーザー光学法	%
血小板数	レーザー光学法	×10 ⁴ /μL
白血球百分率	レーザー光学法・酵素染色吸光度散乱光量分類法	%
以上の 10 項目は総合血液学検査装置 (ADVIA 120, Bayer Diagnostics Manufacturing Ltd.) を用いて測定した.		
プロトロンビン時間 (PT)	散乱光検出方式	秒
活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT)	散乱光検出方式	秒
以上の 2 項目は全自動血液凝固測定装置 (Sysmex CA-5000, シスメックス株式会社) を用いて測定した.		

5.8.1.10. 血液生化学的検査

投与期間終了時 (雄は投与 43 日, 雌は哺育 5 日) の検査では, 各群の動物番号の小さい方から雌雄各 5 例について実施した. 回復期間終了時 (回復 15 日) の検査では, 回復動物全例について実施した.

血液学的検査用の採血に引き続き, 麻酔下に後大静脈腹部より採取した血液 3~4 mL を室温で約 60 分間放置後, 1870 × g で 10 分間遠心分離 (約 4°C) して得られる血清を用いた. 動物は, 採血前に 18~24 時間絶食した.

項目	検査項目及び検査方法 方法	単位
総蛋白質 (T.Protein)	Biuret 法	g/dL
総ビリルビン (T.Bilirubin)	Vanadate oxidation 法	mg/dL
GOT	UV-rate 法	IU/L
GPT	UV-rate 法	IU/L
γ-グルタミルトランスペプチダーゼ	L-γ-Glutamyl-3-hydroxymethyl-4-nitroanilide 基質法	IU/L
アルカリ性フォスファターゼ (ALP)	p-Nitrophenylphosphate 基質法	IU/L
総コレステロール (T.Cholesterol)	COD-HDAOS 法	mg/dL
トリグリセライド	GPO-HDAOS 法, glycerol blanking 法	mg/dL
リン脂質	Choline oxidase-DAOS 法	mg/dL
グルコース	Hexokinase-G-6-PDH 法	mg/dL
尿素窒素 (BUN)	Urease-GLDH 法	mg/dL
クレアチニン	Jaffé 法	mg/dL
無機リン (IP)	PNP-XOD 法	mg/dL
カルシウム (Ca)	MXB 法	mg/dL
以上の 14 項目は自動分析装置 (7170, 株式会社日立製作所) を用いて測定した.		
血清蛋白質分画	Cellulose acetate 膜電気泳動法	%
アルブミン	総蛋白質及び血清蛋白質分画のアルブミン画分より算出	g/dL
A/G 比	血清蛋白質分画より算出	
以上の 3 項目は全自動電気泳動分析装置 (FED-III, コスモ株式会社) を用いて測定した.		
ナトリウム (Na)	電極法	mEq/L
カリウム (K)	電極法	mEq/L
クロール (Cl)	電量滴定法	mEq/L
以上の 3 項目は電解質分析装置 (PVA-αIII, 株式会社アナリティカル・インスツルメンツ) を用いて測定した.		

5.8.1.11. 剖検

投与期間終了時及び回復期間終了時に、雌雄全例について実施した。なお、未分娩動物は妊娠24日に、死亡動物は死亡発見後速やかに剖検した。

全例を18~24時間絶食させた後(5.8.1.9.及び5.8.1.10.項の検査対象動物は採血終了後)、動物を放血致死し、速やかに解剖してすべての器官及び組織について異常の有無を検査した。なお、交配に用いた雌は、子宮を摘出し、黄体数及び着床痕数を算定した。

5.8.1.12. 器官重量

剖検後、5.8.9.及び5.8.10.項の検査対象動物については、下記の器官重量(絶対重量)を測定し、剖検日の体重を基に体重比器官重量(相対重量)を算出した。なお、精巣及び精巣上体は雄全例について測定した。また、死亡動物についても同様に測定を実施した。

脳	肝臓	精巣 [#]
心臓	脾臓	精巣上体 [#]
胸腺	腎臓	
甲状腺	副腎	

#：雄全例について実施した。

5.8.1.13. 病理組織学的検査

全例について、次頁の各器官・組織を10vol %中性緩衝ホルマリン溶液(ただし、眼球、視神経及びハーダー腺は2.5 w/v%グルタルアルデヒド溶液で、精巣及び精巣上体はブアン液でそれぞれ前固定)で固定して保存した。投与期間終了時の5.8.9.及び5.8.10.項の検査対象動物の対照群及び高用量群については、次頁のアスタリスクを付けた器官・組織をパラフィン切片としたのち、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検し、被験物質投与の影響が認められた肝臓については、投与期間終了時の中間用量群及び低用量群の5.8.9.及び5.8.10.項の検査対象動物、並びに回復期間終了時の対照群及び高用量群についても同様に検査を実施した。また、死亡動物についても同様に検査を実施した。

大脳*	気管*	腸間膜リンパ節*
小脳*	舌	膀胱*
延髄*	胸腺*	精囊*
下垂体	肝臓*	前立腺*
脊髄 (胸部) *	膵臓	精巣上体*
眼球	脾臓*	精巣*
視神経	腎臓*	卵巣*
ハーダー腺	副腎*	子宮*
下顎部リンパ節*	食道	膣*
顎下腺	胃*	大腿骨 (骨髄を含む)*
舌下腺	十二指腸*	胸骨 (骨髄を含む)*
耳下腺	空腸*	乳腺
甲状腺*	回腸*	皮膚 (下腹部)
上皮小体*	盲腸*	大動脈 (胸部)
心臓*	結腸*	坐骨神経*
肺 (気管支を含む) *	直腸*	大腿二頭筋

5.8.2. 出産児

5.8.2.1. 分娩時検査及び哺育期検査

哺育 0 日に分娩状況を観察し、分娩後すべての出産児について、出産児数、出生児数及び死産児数を算定し、出生児の性別判定、体重測定及び外表検査を行った。また、出生児数及び着床痕数により出生率を、外表検査の結果より外表異常出現率を算出した。出生児は哺育 4 日まで毎日生死の確認を行い、新生児の 4 日生存率を算出するとともに、哺育 4 日に体重を測定した。

5.8.2.2. 剖検

哺育 4 日にエーテル麻酔下で放血致死させ、器官・組織の肉眼的観察を行った。また、死産児及び母動物が死亡した胎児についても剖検し、カーカスを純エタノールに固定保存した。

5.9. 統計学的処理

下記に従い、統計学的処理を行った。いずれの場合も有意水準を 1 及び 5%とした。なお、不妊動物の体重及び摂餌量は交配前投与期間を除き、評価の対象から除外した。妊娠動物の途中死亡例は、生存時の体重及び摂餌量のみについて統計学的処理を行った。

5.9.1. 多重比較検定

体重、摂餌量、機能観察のうち糞及び尿、前肢握力、後肢握力、自発運動量、尿検査 (試験紙

法による結果，尿色調及び尿沈渣を除く) 血液学検査，血液生化学検査，器官重量及び体重比器官重量，交尾所要日数，妊娠期間，発情周期，発情回数，黄体数，着床痕数，雌雄出生児の体重(母動物ごとの平均値を代表値とした)，出産児数及び出生児数

上記の項目について，分散の均一性を Bartlett 法により検定した．分散が均一な場合は，Dunnnett の多重比較検定を用いて対照群との比較を行い，分散が均一でない場合は，Steel の多重比較検定を用いて対照群との比較を行った．

5.9.2. Wilcoxon rank-sum test

機能観察 (糞及び尿を除く)，感覚機能検査

5.9.3. χ^2 検定

交尾率 【(交尾動物数/交配動物数)×100】

受胎率 【(妊娠動物数/雌交尾動物数)×100】

授胎率 【(妊娠動物数/雄交尾動物数)×100】

出産率 【(生児出産雌数/妊娠雌数)×100】

性比 【雄出生児数/雌出生児数】

5.9.4. Steel の多重比較検定

尿検査のうち，試験紙法による結果，尿色調及び尿沈渣

上記項目については，グレードを数値に変換したのち行った．

5.9.5. Fisher の正確確率検定法

剖検

5.9.6. Mann-Whitney の U 検定法

病理組織学的検査

5.9.7. Wilcoxon の順位和検定法 (両側検定)

着床率 【(着床数/黄体数)×100】

死産率 【(死産児数/出産児数)×100】

出生率 【(出生児数/着床痕数)×100】

外表異常出現率【(異常児数/検査児数)×100

新生児の4日生存率【(新生児の4日の生児数/新生児数)×100】

5.10. 動物の適正使用

動物は、株式会社パナファーム・ラボラトリーズの動物実験に関する指針に従い適切に使用した。

6. 試験結果

6.1. 反復投与毒性試験に関する結果

6.1.1. 死亡動物

300 mg/kg 群の雌1例(動物番号 847)が妊娠22日の分娩中に死亡した。当該例の死亡は、病理組織学的検査の結果(6.1.11.項参照)から、被験物質投与との関連はないと判断した。

6.1.2. 一般状態観察

観察結果を Table 1 及び 2 並びに Appendix 1~3 に示す。

投与期間(妊娠及び哺育期間を含む)及び回復期間を通して、全例で何ら異常は認められなかった。

6.1.3. 機能観察総合検査

6.1.3.1. 機能観察(詳細観察)

観察結果を Table 3~12 並びに Appendix 4~20 に示す。

投与期間(妊娠及び哺育期間を含む)のいずれの観察時においても、ケージ内観察、ケージ外観察及びフィールド観察ともに、全例で何ら異常は認められなかった。なお、20 mg/kg 群の雄では、投与3週の検査のフィールド観察で排尿回数の増加が認められたが、80 mg/kg 以上の群で見られていない変化であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

6.1.3.2. 感覚機能検査

検査結果を Table 13 及び 14 並びに Appendix 21 及び 22 に示す。

雄の投与6週及び雌の哺育4日の検査では、検査対象動物全例で何ら異常は認められなかった。

6.1.3.3. 握力測定

測定結果を Table 15 及び 16 並びに Appendix 23 及び 24 に示す。

雄の投与 6 週及び雌の哺育 4 日の検査では、前肢及び後肢の握力ともに、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

6.1.3.4. 自発運動量測定

測定結果を Table 17 及び 18 並びに Appendix 25 及び 26 に示す。

雄の投与 6 週及び雌の哺育 4 日の検査では、いずれの測定時区分の自発運動量のカウント数に、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

6.1.4. 体重

体重の推移を Figure 1～3, Table 19 及び 20 並びに Appendix 27～29 に示す。

投与期間 (妊娠及び哺育期間を含む) 及び回復期間を通して、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

6.1.5. 摂餌量

摂餌量の推移を Figure 4～6, Table 21 及び 22 並びに Appendix 30～32 に示す。

投与期間 (妊娠及び哺育期間を含む) 及び回復期間を通して、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。なお、300 mg/kg 群の雌では、投与 4 日に低値、投与 25 日 (回復に使用した動物のみ) に高値が認められたが、一過性の変化であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

6.1.6. 尿検査

検査結果を Table 23 及び Appendix 33 に示す。

雄の投与 6 週の検査では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。なお、各被験物質群で尿色調の濃色化 (淡黄～黄色) が認められたが、その他の検査項目で何ら変化がみられていないことから、尿量が対照群と比較してやや低値を示したことに伴った変化と考えられ、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。また、20 及び 80 mg/kg 群で尿 pH のアルカリ性側への移行がみられたが、300 mg/kg 群で認められていない変化であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

6.1.7. 血液学的検査

検査結果を Table 24～26 並びに Appendix 34～37 に示す。

投与期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雄で PT 及び APTT の延長が認められた。

回復期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雄で好酸球率の低値、同群の雌でヘモグロビン及び MCH の低値が認められたが、投与期間終了時の検査で同様の変化がみられていないことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

6.1.8. 血液生化学的検査

検査結果を Table 27～29 並びに Appendix 38～41 に示す。

投与期間終了時の検査では、80 mg/kg 群の雌及び 300 mg/kg 群の雌雄で γ -GTP の高値がみられ、80 及び 300 mg/kg 群の雄でトリグリセライドの低値が認められた。また、300 mg/kg 群の雄で GOT の低値が認められたが、毒性学的意義のない変化であると判断した。20 及び 300 mg/kg 群の雌で認められた無機リンの低値は、投与量に依存した変化ではないことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。このほか、80 mg/kg 群の雄で γ -グロブリン比の低値、20 及び 80 mg/kg 群でクロールの高値、20 mg/kg 群の雄で無機リン及びナトリウムの高値、20 mg/kg 群の雌で γ -GTP 及びカルシウムの低値が認められたが、300 mg/kg 群でみられていない変化であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

回復期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雌で γ -GTP の高値が認められた。このほか、300 mg/kg 群の雌で GOT 及びナトリウムの高値が認められたが、投与期間終了時の検査でみられていない変化であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

6.1.9. 剖検

検査結果を Table 30～32 並びに Appendix 42～47 に示す。

投与期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雄 5 例及び雌 7 例で肝臓の肥大が認められた。このほか、20 mg/kg 群の雄 1 例で片側性の腎盂拡張がみられ、20 及び 80 mg/kg 群の雄各 1 例で片側性の精巣上体の黄白色結節が認められたが、300 mg/kg 群でみられていない変化であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

回復期間終了時の検査では、全例で何ら異常は認められなかった。

死亡した 300 mg/kg 群の雌 1 例では、肺の暗赤色化、気管内への泡沫状液体の貯留及び赤褐色の胸水の貯留が認められた。

6.1.10. 器官重量

測定結果を Table 33～35 並びに Appendix 48～58 に示す。

投与期間終了時の測定では、80 mg/kg 群の雌、300 mg/kg 群の雌雄で肝臓の絶対及び相対重量の高値が認められた。また、300 mg/kg 群の雌で脳の相対重量の高値が認められたが、絶対重量に差がないことから、最終体重がやや低値を示したことに伴った変動と考えられ、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。このほか、20 及び 80 mg/kg 群の雄で胸腺の相対重量の高値、80 mg/kg 群の雌で胸腺の絶対及び相対重量の低値が認められたが、同様の変動が 300 mg/kg 群でみられていないことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

回復期間終了時の検査では、300 mg/kg 群の雌雄で肝臓の絶対及び相対重量の高値が認められた。このほか、300 mg/kg 群の雄で胸腺の絶対重量の高値、同群の雌で副腎並びに甲状腺の絶対及び相対重量の高値、腎臓の相対重量の高値が認められたが、いずれの変化も投与期間終了時にみられていない変動であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

6.1.11. 病理組織学的検査

検査結果を Table 36～38 並びに Appendix 59～63 に示す。

投与期間終了時の検査では、80 mg/kg群の雄 1 例、300 mg/kg群の雄 2 例及び雌 4 例で小葉中心性の肝細胞の軽度の肥大がみられ、肥大した肝細胞の細胞質は比較的均一な好酸性の細胞質を呈していた。このほか、300 mg/kg群の雄 1 例で甲状腺の異所性の胸腺組織が認められたが、先天性の変化¹⁾であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。また、対照群の雄 1 例及び 300 mg/kg群の雌 1 例で肝細胞の軽度の巣状壊死、対照群の雄 1 例、20 mg/kg群の雄 2 例及び 300 mg/kg群の雌雄各 1 例で肝臓の軽度の単核細胞浸潤、対照群及び 300 mg/kg群の雌各 1 例で脾臓の軽度の赤芽球性髓外造血、対照群の雄 2 例及び 300 mg/kg群の雄 3 例で前立腺の軽度のリンパ球浸潤、対照群の雄 1 例及び雌 2 例、300 mg/kg群の雌雄各 1 例で甲状腺の軽度の鰓後体遺残が認められた。これらの変化は、その発生頻度及び程度で群間に差がみられないことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。対照群では、雌 1 例で肺の軽度の骨化生が認められた。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時に認められた小葉中心性の肝細胞の肥大は認められなかった。また、300 mg/kg 群の雌 1 例で肝臓の軽度の出血が認められたが、1 例のみの変化であること、かつ投与期間終了時に認められていない変化であることから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。

妊娠 22 日の分娩中に死亡した 300 mg/kg群の雌 1 例では、肺に中等度の血栓及び血管周囲性の

軽度の水腫，腎臓に糸球体の毛細血管に中等度の血栓，胸腺皮質の軽度の萎縮及び腺胃粘膜の軽度のびらんが認められ，本例の死因は血栓形成に伴う循環障害と考えられた．血栓形成は生存例で認められていないこと，妊娠中毒などの産褥性疾患による死亡動物で時折認められる変化であり²⁾，本例は妊娠 22 日の分娩中に死亡していることから，被験物質投与とは関連のない偶発的変化と判断した．

6.2. 生殖発生毒性試験に関する結果

6.2.1. 親動物に及ぼす影響

6.2.1.1. 性周期検査及び生殖能力検査

検査結果を Table 39 並びに Appendix 64～65 に示す．

性周期検査では，交配前投与期間を通して，発情周期及び発情回数ともに，被験物質投与に起因した変化は認められなかった．

生殖能力検査では，交配した動物全例で交尾は成立し，交尾率はいずれの群も 100%であった．また，未分娩動物が各被験物質群に 1 例ずつ認められ，受(授)胎率は対照群，20，80 及び 300 mg/kg 群でそれぞれ 100，91.67，91.67 及び 91.67%であったが，各被験物質投与群で対照群と比較して有意な差は認められず，交尾所要日数でも被験物質投与に起因した変化は認められなかった．

6.2.1.2. 分娩及び哺育状態

検査結果を Table 40 及び Appendix 66 に示す．

各群とも，分娩及び哺育状態は良好であり，妊娠期間，出産率，黄体数，着床痕数及び着床率に被験物質投与に起因した変化は認められなかった．また，分娩及び哺育状態に何ら異常は認められなかった．

6.2.2. 児動物に及ぼす影響

検査結果を Table 40 及び Appendix 66 に示す．

分娩時検査では，出産児数，出生率，出生児数，雌雄出生児体重，死産率，出生児の性比及び外表異常出現率のいずれにおいても被験物質投与に起因した変化は認められなかった．

哺育期の検査では，新生児の 4 日の生存率，体重及び剖検のいずれでも，被験物質投与に起因した変化は認められなかった．

7. 考察

塩素化パラフィンの安全性に関する毒性試験の一環として、塩素化パラフィンを 20, 80 及び 300 mg/kg の用量で、雄は交配前 14 日間及び交配期間を経て 42 日間、雌は交配前 14 日間、交配、妊娠及び分娩を経て哺育 4 日まで (未分娩動物では妊娠 23 日まで) それぞれ反復経口投与し、反復投与毒性及び生殖発生毒性に及ぼす影響について検討した。また、対照群及び高用量群については 14 日間の回復期間を設け、雄は交配に使用した動物から各 5 例について、雌は新たに回復に用いた動物 (未交配) を各 5 例追加して雄と同様の 42 日間反復投与を行った動物について、その回復性を検討した。

1. 反復投与毒性

投与期間を通して、被験物質投与に起因した死亡の発生はなく、一般状態にも何ら異常は認められなかった。また、機能観察総合検査、体重、摂餌量及び尿検査では、被験物質投与に起因した変化は何ら認められなかった。

被験物質投与に起因した変化が肝臓に認められた。肝臓では、300 mg/kg 群の雌雄で肉眼的に肥大がみられ、80 mg/kg 群の雄及び 300 mg/kg 群の雌雄で組織学的に小葉中心性の肝細胞の軽度の肥大が認められた。肝細胞肥大は小葉中心性に生じていること、肥大した肝細胞の細胞質は比較的均質な好酸性を呈していたことから、多くの化学物質で報告されている薬物代謝酵素の誘導、すなわち滑面小胞体の増加によるものと考えられた²⁾。また、肝臓重量の高値、PT及びAPTTの延長、 γ -GTPの高値及びトリグリセライドの低値が認められた。これらの変化は、肝臓に組織学的な障害性変化が認められなかったものの、被験物質投与の肝臓への影響を示唆するものと考えられた。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時の検査に引き続き、300 mg/kg 群の雌で γ -GTPの高値がみられ、300 mg/kg 群の雌雄で肝臓の絶対及び相対重量の高値が認められたが、肝臓の肉眼的または組織学的変化が認められなかったことから、これらの変化は回復傾向にあるものと考えられた。その他の変化についてはいずれも消失していた。

以上の結果から、本試験条件下における反復投与毒性に関する無影響量は雌雄ともに 20 mg/kg/day と推察され、回復性は良好であった。

2. 生殖発生毒性

親動物では、性周期検査、発情周期、発情回数、交尾率、受(授)胎率、交尾所要口数、黄体数、

着床痕数，着床率，妊娠期間及び出産率のいずれでも被験物質投与に起因した変化は認められなかった。また，分娩状態及び哺育状態に異常は認められなかった。

児動物では，出産児数，出生率，出生児数，死産率，性比，外表異常出現率，新生児の4日生存率，生後0及び4日の雌雄出生児体重のいずれでも被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

以上の結果から，本試験条件下における親動物の生殖能力及び次世代児に関する無影響量は，親動物及び児動物ともに300 mg/kg/dayと推察された。

8. 参考文献

- 1) 今井 清, 広瀬 雅雄 (2000): 各論 15 章 甲状腺/上皮小体, 毒性病理組織学, 日本毒性病理学会編, 日本毒性病理学会, 名古屋, pp.435-446.
- 2) 奈良間 功 (1991): 1 循環器系, 1.1 非腫瘍性病変, 毒性試験講座 5. 毒性病理学, 前川 昭彦, 林 裕造 編, 地人書館, 東京, pp.58-76
- 3) Greaves P. Digestive system 2. Liver: Hepatocellular hypertrophy and hyperplasia. In "Greaves P. editor. Histopathology of preclinical toxicity studies. 2nd. Ed", Amsterdam: Elsevier (2000) pp.445-452.

塩素化パラフィンのラットを用いる
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

図及び群別データ

目次

	頁
Figure 1	Body weight changes in male rats 1
Figure 2	Body weight changes in female rats 2
Figure 3	Body weight changes in F ₀ dams - gestation and lactation period - 3
Figure 4	Food consumption in male rats 4
Figure 5	Food consumption in female rats 5
Figure 6	Food consumption in F ₀ dams - gestation and lactation period - 6
Table 1	Clinical signs in male and female rats 7
Table 2	Clinical signs in F ₀ dams - gestation and lactation period - 10
Table 3	Detailed clinical observation in male and female rats - before administration - 12
Table 4	Detailed clinical observation in male and female rats - week 1 - 18
Table 5	Detailed clinical observation in male and female rats - week 2 - 24
Table 6	Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 - 30
Table 7	Detailed clinical observation in male and female rats - week 4 - 36
Table 8	Detailed clinical observation in male and female rats - week 5 - 42
Table 9	Detailed clinical observation in male and female rats - week 6 - 48
Table 10	Detailed clinical observation in F ₀ dams - day 7 of gestation - 54
Table 11	Detailed clinical observation in F ₀ dams - day 14 of gestation - 60
Table 12	Detailed clinical observation in F ₀ dams - day 4 of lactation - 66
Table 13	Sensory reactivity to stimuli in male rats – week 6 - 72
Table 14	Sensory reactivity to stimuli in F ₀ dams - day 4 of lactation - 73
Table 15	Grip strength in male rats - week 6 - 74
Table 16	Grip strength in F ₀ dams - day 4 of lactation - 75
Table 17	Mortor activity in male rats - week 6 - 76
Table 18	Mortor activity in F ₀ dams - day 4 of lactation - 77
Table 19	Body weights in male and female rats 78
Table 20	Body weights in F ₀ dams - gestation and lactation period - 80

Table 21	Food consumption in male and female rats	81
Table 22	Food consumption in F ₀ dams - gestation and lactation period -	83
Table 23	Urinary findings in male rats - week 6 -	84
Table 24	Hematological findings in male rats - day 43 -	88
Table 25	Hematological findings in F ₀ dams - day 5 of lactation -	91
Table 26	Hematological findings in male and female rats - recovery day 15 -	94
Table 27	Biochemical findings in male rats - day 43 -	97
Table 28	Biochemical findings in F ₀ dams - day 5 of lactation -	100
Table 29	Biochemical findings in male and female rats - recovery day 15 -	103
Table 30	Necropsy findings in male rats - day 43 -	106
Table 31	Necropsy findings in F ₀ dams - day 5 of lactation -	107
Table 32	Necropsy findings in male and female rats - recovery day 15 -	108
Table 33	Absolute and relative organ weights in male rats - day 43 -	109
Table 34	Absolute and relative organ weights in F ₀ dams - day 5 of lactation -	111
Table 35	Absolute and relative organ weights in male and female rats - recovery day 15 -	112
Table 36	Histopathological findings in male rats - day 43 -	113
Table 37	Histopathological findings in F ₀ dams - day 5 of lactation -	115
Table 38	Histopathological findings in male and female rats - recovery day 15 -	117
Table 39	Reproductive performance of rats.....	118
Table 40	Terminal delivery of F ₀ dams.....	119

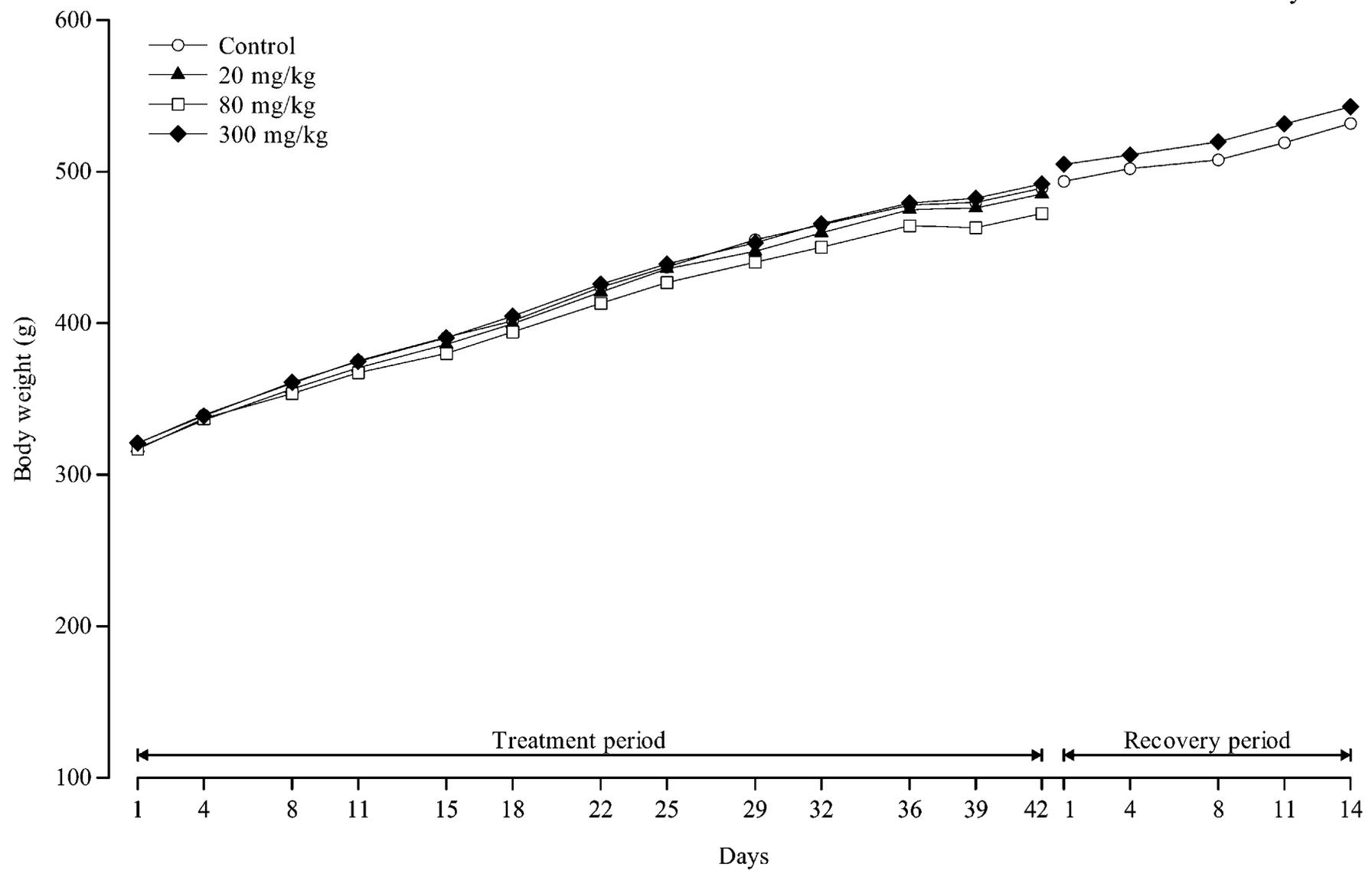


Figure 1 Body weight changes in male rats

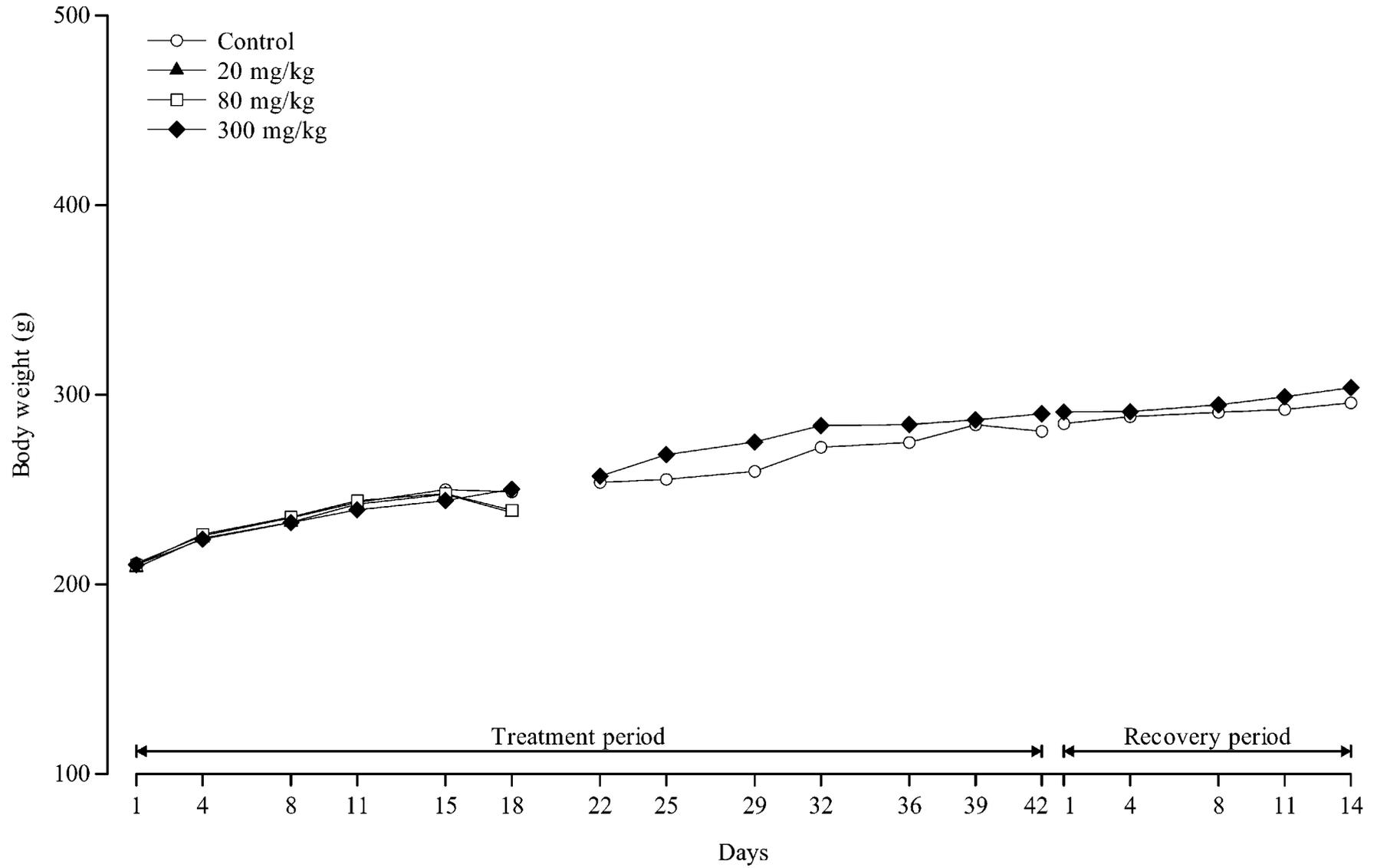


Figure 2 Body weight changes in female rats

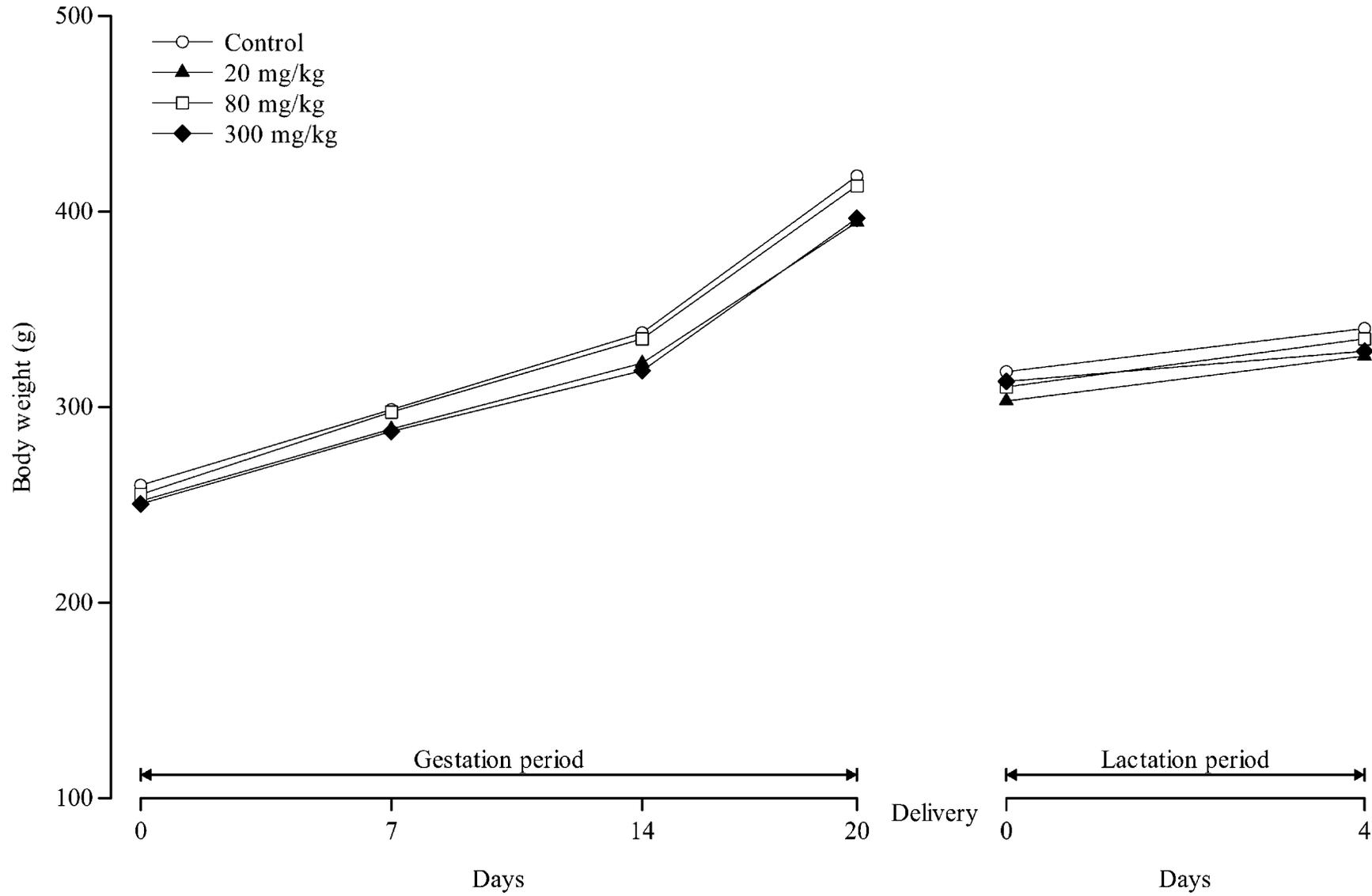


Figure 3 Body weight changes in F₀ dams - gestation and lactation period -

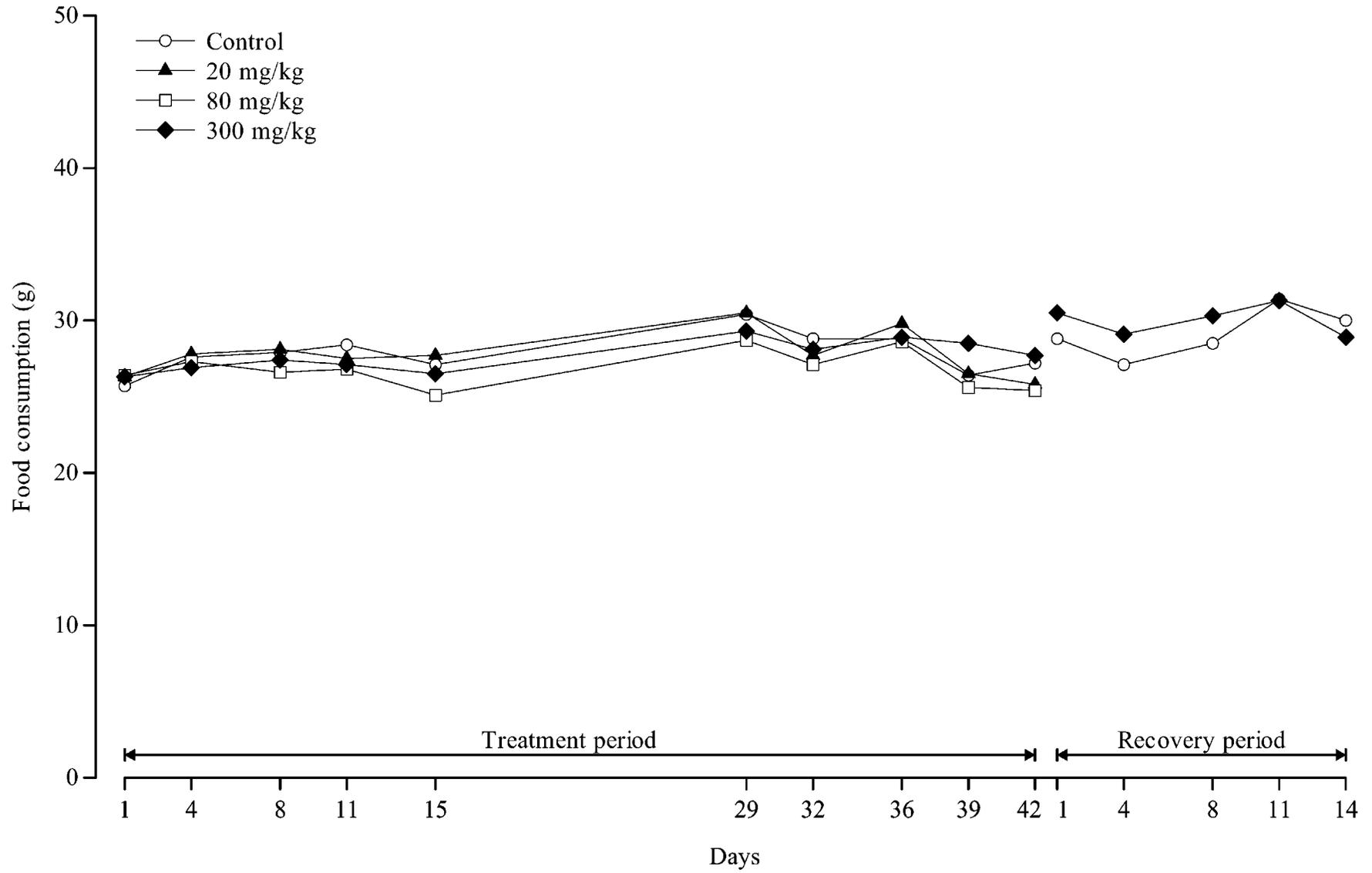


Figure 4 Food consumption in male rats

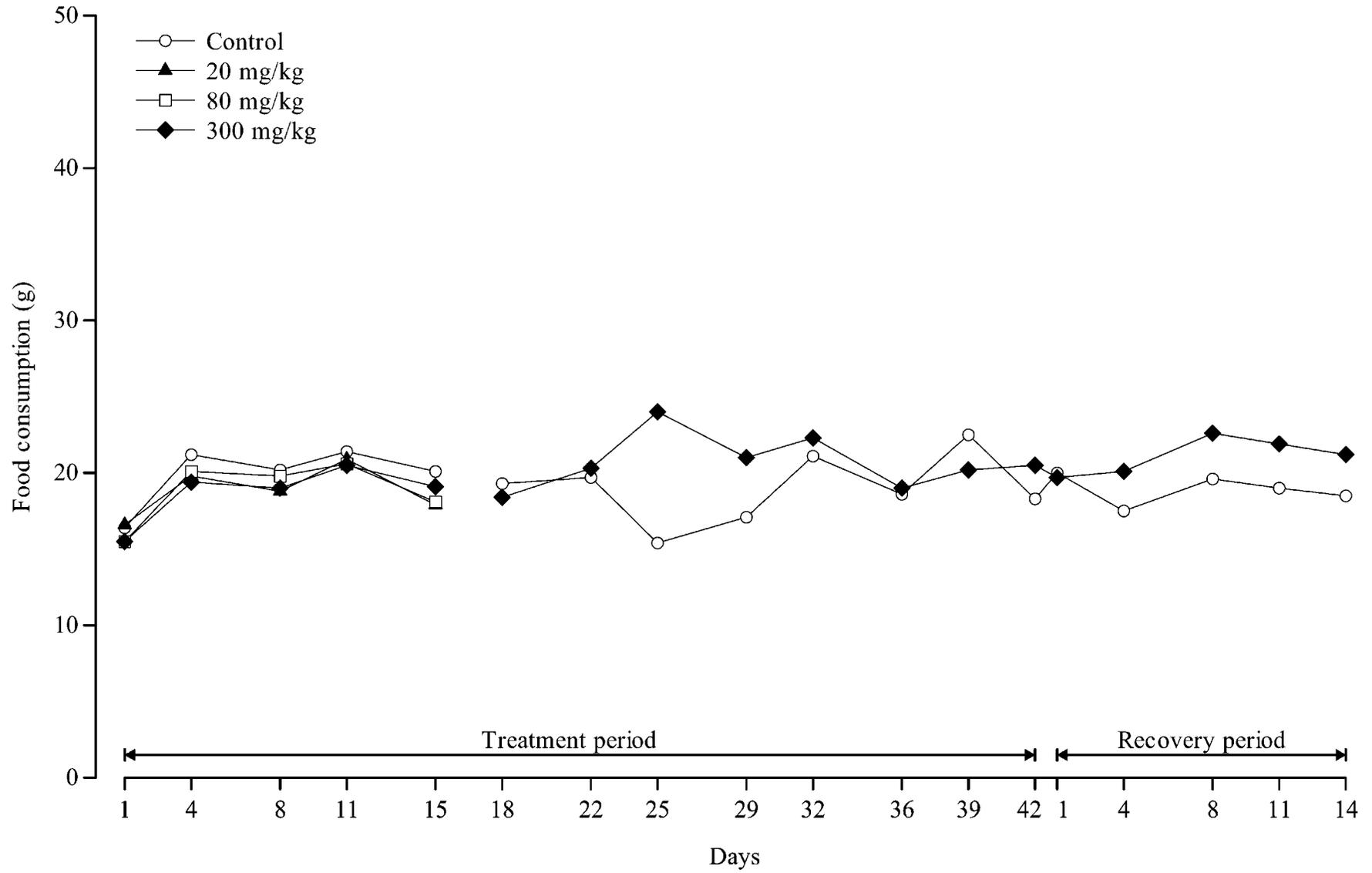


Figure 5 Food consumption in female rats

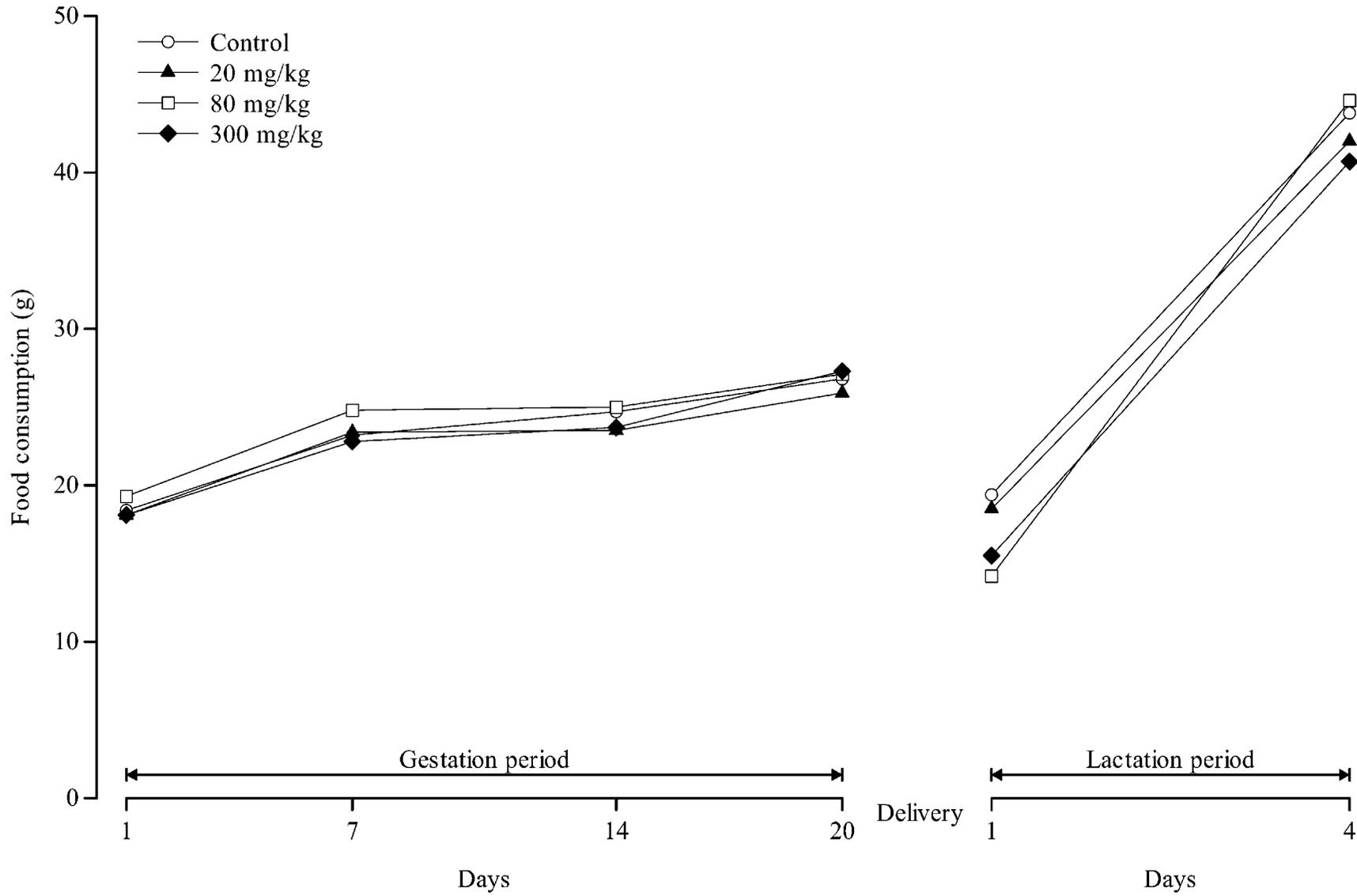


Figure 6 Food consumption in F₀ dams - gestation and lactation period -

Table 1 Clinical signs in male and female rats

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of treatment																					
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Male	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
80 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
300 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Female	Control	Number of examined	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	16	12	6	5	5	
		No abnormality	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	16	12	6	5	5	
	20 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	2	1	0	0	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	2	1	0	0	
80 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	3	3	1	0		
	No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10	3	3	1	0		
300 mg/kg	Number of examined	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	15	10	7	5	5		
	No abnormality	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	17	15	10	7	5	5		

Table 1 - continued Clinical signs in male and female rats

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of treatment																					
			22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	
Male	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	Number of examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	Number of examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 1 - continued Clinical signs in male and female rats

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of recovery													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	Control	Number of examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	Number of examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Female	Control	Number of examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	Number of examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 2 Clinical signs in Fo dams - gestation and lactation period -

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of gestation																
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Female	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2 - continued Clinical signs in Fo dams - gestation and lactation period -

Sex	Group and dose	Clinical sign	Days of gestation								Days of lactation				
			17	18	19	20	21	22	23	24	0	1	2	3	4
Female	Control	Number of examined	12	12	12	12	12	12	1	0	12	12	12	12	12
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	1	0	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	2	1	11	11	11	11	11
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	2	1	11	11	11	11	11
	80 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	5	1	11	11	11	11	11
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	5	1	11	11	11	11	11
	300 mg/kg	Number of examined	12	12	12	12	12	12	4	1	10	10	10	10	10
		No abnormality	12	12	12	12	12	11	4	1	10	10	10	10	10
		Dead	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Table 3 Detailed clinical observation in male and female rats - before administration -

Sex	Group and dose	Number of animals	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 3 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - before administration -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 3 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - before administration -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 3 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - before administration -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 3 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - before administration -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity(inanimation, stupor, coma); 2, Normal(exploration); 3, High activity(excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None(eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 3 - continued Detailed clinical observation in male and female - before administration -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Male	Control	12	2 ±1	0 ±0
	20 mg/kg	12	1 ±2	0 ±0
	80 mg/kg	12	1 ±2	0 ±0
	300 mg/kg	12	2 ±2	0 ±0
Female	Control	17	1 ±1	0 ±0
	20 mg/kg	12	1 ±2	0 ±1
	80 mg/kg	12	1 ±1	0 ±0
	300 mg/kg	17	1 ±1	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 4 Detailed clinical observation in male and female rats - week 1 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 4 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 1 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 4 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 1 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 4 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 1 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 4 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 1 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 4 - continued Detailed clinical observation in male and female - week 1 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Male	Control	12	2 ±3	0 ±0
	20 mg/kg	12	1 ±2	0 ±0
	80 mg/kg	12	3 ±2	0 ±1
	300 mg/kg	12	2 ±2	0 ±1
Female	Control	17	1 ±2	0 ±0
	20 mg/kg	12	0 ±0	0 ±0
	80 mg/kg	12	1 ±3	0 ±1
	300 mg/kg	17	0 ±1	0 ±1

Not significantly different from control.

Table 5 Detailed clinical observation in male and female rats - week 2 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 5 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 2 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 5 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 2 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 5 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 2 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 5 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 2 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12
Female	Control	17	17	17	17	17	17
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	17	17	17	17	17	17

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 5 - continued Detailed clinical observation in male and female - week 2 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Male	Control	12	1 ±2	0 ±0
	20 mg/kg	12	1 ±1	0 ±1
	80 mg/kg	12	2 ±2	0 ±0
	300 mg/kg	12	2 ±2	0 ±0
Female	Control	17	0 ±1	0 ±0
	20 mg/kg	12	0 ±0	0 ±0
	80 mg/kg	12	1 ±1	0 ±0
	300 mg/kg	17	0 ±0	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 6 Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 6 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 6 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 6 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 6 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 6 - continued Detailed clinical observation in male and female - week 3 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Male	Control	12	3 ±3	0 ±0
	20 mg/kg	12	1 ±1	0* ±1
	80 mg/kg	12	3 ±3	0 ±0
	300 mg/kg	12	2 ±2	0 ±0
Female	Control	5	0 ±0	0 ±0
	300 mg/kg	5	0 ±0	0 ±0

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 7 Detailed clinical observation in male and female rats - week 4 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 7 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 4 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 7 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 4 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 7 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 4 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 7 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 4 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 7 - continued Detailed clinical observation in male and female - week 4 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Male	Control	12	1 ±2	0 ±0
	20 mg/kg	12	0 ±0	0 ±0
	80 mg/kg	12	1 ±2	0 ±0
	300 mg/kg	12	0 ±1	0 ±0
Female	Control	5	0 ±0	0 ±0
	300 mg/kg	5	0 ±0	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 8 Detailed clinical observation in male and female rats - week 5 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 8 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 5 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 8 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 5 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 8 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 5 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 8 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 5 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 8 - continued Detailed clinical observation in male and female - week 5 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Male	Control	12	0 ±1	0 ±1
	20 mg/kg	12	0 ±1	0 ±0
	80 mg/kg	12	1 ±2	0 ±0
	300 mg/kg	12	1 ±1	0 ±0
Female	Control	5	0 ±0	0 ±0
	300 mg/kg	5	0 ±0	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 9 Detailed clinical observation in male and female rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 9 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 9 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 9 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Male	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 9 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Male	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12
Female	Control	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 9 - continued Detailed clinical observation in male and female - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Male	Control	12	1 ±1	0 ±0
	20 mg/kg	12	1 ±2	0 ±1
	80 mg/kg	12	1 ±1	0 ±0
	300 mg/kg	12	1 ±1	0 ±0
Female	Control	5	0 ±1	0 ±0
	300 mg/kg	5	1 ±1	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 10 Detailed clinical observation in F0 dams - day 7 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 10 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 7 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 10 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 7 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 10 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 7 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 10 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 7 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 10 - continued Detailed clinical observation in F₀ dams - day 7 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Female	Control	12	0 ±0	0 ±0
	20 mg/kg	12	0 ±1	0 ±0
	80 mg/kg	12	0 ±1	0 ±0
	300 mg/kg	12	0 ±1	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 11 Detailed clinical observation in F0 dams - day 14 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 11 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 14 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 11 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 14 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 11 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 14 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 11 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 14 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	80 mg/kg	12	12	12	12	12	12
	300 mg/kg	12	12	12	12	12	12

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 11 - continued Detailed clinical observation in F₀ dams - day 14 of gestation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Female	Control	12	0 ±1	0 ±0
	20 mg/kg	12	0 ±1	0 ±0
	80 mg/kg	12	0 ±0	0 ±0
	300 mg/kg	12	0 ±1	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 12 Detailed clinical observation in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Cage side observation			
			Posture	Convulsions	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Tremors
			2	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	11	11	11	11	11
	80 mg/kg	11	11	11	11	11
	300 mg/kg	10	10	10	10	10

Not significantly different from control.

Observation and score.

Posture: 1, Completely flattened. Lying on side or upright; 2, Normal; 3, Hunchback position.

Convulsions: 1, None; 2, Extension convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Table 12 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Handling reactivity	Vocalizations	Tremors	Twitches	Convulsions	Respiration
			2	1	1	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	11	11	11	11	11	11	11
	80 mg/kg	11	11	11	11	11	11	11
	300 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10

Not significantly different from control.

Observation and score.

Handling reactivity: 1, Easy; 2, Normal; 3, Distress.

Vocalizations: 1, None; 2, Abnormal vocalization.

Tremors: 1, None; 2, Head tremor; 3, Repetitive symmetrical jerks or tremors of the limb or body; 4, Body palindromic tremor.

Twitches: 1, None; 2, Head twitch; 3, Repetitive symmetrical jerks or twitches of the limb or body; 4, Body strong twitch.

Convulsions: 1, None; 2, Distensible convulsion of limb or/and head shivering; 3, Clonic convulsion; 4, Tonic flexion or tonic extension convulsion.

Respiration: 1, Normal; 2, Slight respiration failure; 3, Moderate respiration failure; 4, Extreme respiration failure.

Table 12 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Salivation	Lacrimation	Pupil size	Exophthalmos	Ocular or nasal secretions	Skin
			1	1	2	1	1	2
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	11	11	11	11	11	11	11
	80 mg/kg	11	11	11	11	11	11	11
	300 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10

Not significantly different from control.

Observation and score.

Salivation: 1, None; 2, Wet margin submaxillary area; 3, Slight(wet entire submaxillary area); 4, Severe(wet thoracic area).

Lacrimation: 1, None; 2, Wet lid margin; 3, Wet eye lid; 4, Wet over eye lid.

Pupil size; 1, Clear miosis; 2, Normal; 3, Clear mydriasis.

Exophthalmos: 1, Normal; 2, Slight exophthalmos; 3, Clear exophthalmos.

Ocular or nasal secretions: 1, None; 2, Clear secretion.

Skin: 1, None tension; 2, Normal; 3, Tension.

Table 12 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Hand held observation					
			Piloerection	Fur	Mucous membranes	Incontinence of urine	Muscle tone	Body temperature
			1	1	2	1	2	2
Female	Control	12	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	11	11	11	11	11	11	11
	80 mg/kg	11	11	11	11	11	11	11
	300 mg/kg	10	10	10	10	10	10	10

Not significantly different from control.

Observation and score.

Piloerection: 1, Normal; 2, Slight piloerection; 3, Clear piloerection.

Fur: 1, Normal; 2, Slightly soiled fur; 3, Extreme soiled fur.

Mucous membranes: 1, Blanching; 2, None (pink tone); 3, Deep dusky rose.

Incontinence of urine: 1, None; 2, Incontinentia urinae.

Muscle tone: 1, Complete flaccid or slight flaccid; 2, Normal; 3, Extreme resistance.

Body temperature: 1, Hypothermia; 2, Normal; 3, Hyperthermia.

Table 12 - continued Detailed clinical observation in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Observation on the open field				
			Arousal	Gait	Stereotypies and/or bizarre behaviors	Ptosis	Diarrhea
			2	2	1	1	1
Female	Control	12	12	12	12	12	12
	20 mg/kg	11	11	11	11	11	11
	80 mg/kg	11	11	11	11	11	11
	300 mg/kg	10	10	10	10	10	10

Not significantly different from control.

Observation and score.

Arousal: 1, Low activity (inanimation, stupor, coma); 2, Normal (exploration); 3, High activity (excitement hypersensitivity).

Gait: 1, Abasia; 2, Normal; 3, Abnormal gait; 4, Extreme abnormal gait.

Stereotypies and/or bizarre behaviors: 1, None; 2, Occurrence.

Ptosis: 1, None (eyes wide open); 2, Ptosis; 3, All closed.

Diarrhea: 1, None; 2, Present.

Table 12 - continued Detailed clinical observation in F₀ dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Observation on the open field	
			Defecation(number)	Urination(number)
Female	Control	12	0 ±1	0 ±0
	20 mg/kg	11	0 ±0	0 ±0
	80 mg/kg	11	1 ±1	0 ±0
	300 mg/kg	10	1 ±2	0 ±0

Not significantly different from control.

Table 13 Sensory reactivity to stimuli in male rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Sensory reaction					
			Visual	Auditory	Touch response	Pain response	Righting reflex	Pupil response
			2	2	2	2	1	1
Male	Control	5	5	5	5	5	5	5
	20 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5
	80 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Visual: 1, Low reactivity or disappearance of reactivity; 2, Approaching or sniffing ; 3, Jumping biting or attacking.

Auditory: 1, Low reactivity or disappearance of reactivity; 2, Pulling back or showing auricle reflex; 3, Jumping, moving rapidly or violently.

Touch response: 1, Low response or disappearance of response; 2, Turning around or evasion; 3, Jumping, biting or attacking.

Pain response: 1, Low response or disappearance of response; 2, Evasion, turning around or biting;

3, Abnormal vocalization, turning around rapidly or attacking excessively.

Righting reflex: 1, Return to normal posture at once; 2, Taking over 2 seconds to return to normal posture; 3, Hold present posture.

Pupil response: 1, Appearance of response; 2, Disappearance of response.

Table 14 Sensory reactivity to stimuli in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Number of dams	Sensory reaction					
			Visual	Auditory	Touch response	Pain response	Righting reflex	Pupil response
			2	2	2	2	1	1
Female	Control	5	5	5	5	5	5	5
	20 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5
	80 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	5	5

Not significantly different from control.

Observation and score.

Visual: 1, Low reactivity or disappearance of reactivity; 2, Approaching or sniffing ; 3, Jumping biting or attacking.

Auditory: 1, Low reactivity or disappearance of reactivity; 2, Pulling back or showing auricle reflex; 3, Jumping, moving rapidly or violently.

Touch response: 1, Low response or disappearance of response; 2, Turning around or evasion; 3, Jumping, biting or attacking.

Pain response: 1, Low response or disappearance of response; 2, Evasion, turning around or biting;

3, Abnormal vocalization, turning around rapidly or attacking excessively.

Righting reflex: 1, Return to normal posture at once; 2, Taking over 2 seconds to return to normal posture; 3, Hold present posture.

Pupil response: 1, Appearance of response; 2, Disappearance of response.

Table 15 Grip strength in male rats - week 6 -

Sex	Group and dose		Forelimb grip strength (g)	Hindlimb grip strength (g)
Male	Control	N	5	5
		Mean	2390	738
		S. D.	±568	±99
	20 mg/kg	N	5	5
		Mean	2753	818
		S. D.	±498	±95
	80 mg/kg	N	5	5
		Mean	2533	744
		S. D.	±690	±141
	300 mg/kg	N	5	5
		Mean	1846	741
		S. D.	±396	±53

Not significantly different from control.

Table 16 Grip strength in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose		Forelimb grip strength (g)	Hindlimb grip strength (g)
Female	Control	N	5	5
		Mean	779	497
		S. D.	±211	±174
	20 mg/kg	N	5	5
		Mean	821	595
		S. D.	±324	±134
	80 mg/kg	N	5	5
		Mean	719	545
		S. D.	±291	±53
	300 mg/kg	N	5	5
		Mean	681	506
		S. D.	±231	±119

Not significantly different from control.

Table 17 Mortor activity in male rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Mortor activity							
		Time in minutes							
		0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total	
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	3172	1737	1272	707	791	625	8303
		S. D.	±200	±691	±439	±387	±645	±669	±1863
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	2414	1215	721	437	533	760	6079
		S. D.	±1155	±593	±557	±384	±413	±571	±1786
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	1992	1405	1152	740	516	938	6743
		S. D.	±1303	±1075	±397	±618	±540	±879	±2674
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	3238	1866	1603	653	779	1309	9448
		S. D.	±874	±531	±406	±464	±462	±810	±1612

Not significantly different from control.

Table 18 Mortor activity in F0 dams - day 4 of lactation -

Sex	Group and dose	Mortor activity							
		Time in weeks							
		0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total	
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	2221	951	253	297	436	120	4277
		S. D.	±574	±793	±322	±271	±667	±89	±1738
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	3282	964	102	277	94	368	5086
		S. D.	±1153	±782	±135	±487	±79	±509	±1209
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	2373	1690	488	274	41	94	4961
		S. D.	±805	±912	±643	±464	±37	±91	±1994
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	1845	247	32	321	243	800	3489
		S. D.	±691	±129	±34	±542	±527	±855	±1636

Not significantly different from control.

Table 19 Body weights in male and female rats

Group and dose		Male											
		Control			20 mg/kg			80 mg/kg			300 mg/kg		
		Body weight (g)											
Days of treatment	1	320.8±	9.8	(12)	317.6±	11.2	(12)	316.9±	10.7	(12)	320.9±	11.0	(12)
	4	339.4±	13.2	(12)	335.9±	11.6	(12)	337.1±	13.3	(12)	338.8±	11.8	(12)
	8	360.3±	17.8	(12)	356.5±	14.8	(12)	353.5±	16.1	(12)	360.9±	14.1	(12)
	11	375.2±	19.6	(12)	370.5±	16.3	(12)	367.3±	20.3	(12)	374.7±	15.5	(12)
	15	390.7±	23.5	(12)	386.0±	20.3	(12)	380.0±	22.3	(12)	390.3±	18.1	(12)
	18	401.5±	24.0	(12)	399.6±	20.7	(12)	394.2±	24.0	(12)	404.6±	19.7	(12)
	22	423.7±	26.6	(12)	420.5±	22.6	(12)	413.1±	27.5	(12)	425.7±	21.5	(12)
	25	437.0±	26.0	(12)	435.8±	24.2	(12)	426.8±	30.8	(12)	439.1±	22.7	(12)
	29	455.0±	27.1	(12)	447.4±	25.7	(12)	440.2±	33.2	(12)	453.0±	23.8	(12)
	32	464.9±	29.6	(12)	459.6±	26.3	(12)	450.1±	35.3	(12)	465.6±	24.8	(12)
	36	477.9±	31.5	(12)	474.9±	27.4	(12)	464.3±	36.0	(12)	479.3±	27.7	(12)
	39	479.7±	30.7	(12)	476.0±	34.3	(12)	463.0±	35.7	(12)	482.5±	29.1	(12)
42	489.1±	32.9	(12)	485.2±	37.1	(12)	472.4±	35.9	(12)	491.9±	28.5	(12)	
Days of recovery	1	493.6±	24.9	(5)							504.8±	29.5	(5)
	4	502.0±	23.8	(5)							511.0±	29.4	(5)
	8	507.8±	27.6	(5)							519.7±	29.7	(5)
	11	519.1±	28.2	(5)							531.5±	25.5	(5)
	14	531.8±	28.6	(5)							542.9±	25.5	(5)

Not significantly different from control.

Values are mean±S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 19 - continued Body weights in male and female rats

Group and dose		Female											
		Control			20 mg/kg			80 mg/kg			300 mg/kg		
		Body weight (g)											
Days of treatment	1	211.1±	15.6	(17)	208.8±	13.8	(12)	210.2±	11.9	(12)	210.3±	9.8	(17)
	4	225.6±	14.6	(17)	224.3±	13.1	(12)	226.4±	14.6	(12)	223.8±	9.3	(17)
	8	235.1±	16.0	(17)	232.7±	14.4	(12)	235.5±	17.1	(12)	232.6±	10.6	(17)
	11	243.2±	18.1	(17)	242.3±	16.8	(12)	244.1±	19.8	(12)	239.3±	10.6	(17)
	15	250.0±	20.7	(17)	247.5±	17.9	(12)	247.9±	21.8	(12)	244.2±	10.4	(17)
	18	248.8±	26.9	(6)	237.9±	-	(1)	239.1±	12.7	(3)	250.2±	15.2	(7)
	22	253.8±	34.8	(5)							257.1±	20.8	(5)
	25	255.4±	34.1	(5)							268.4±	26.5	(5)
	29	259.6±	37.3	(5)							275.1±	32.1	(5)
	32	272.3±	37.9	(5)							283.7±	38.1	(5)
	36	274.9±	37.4	(5)							284.3±	32.9	(5)
	39	284.2±	38.4	(5)							286.7±	23.0	(5)
	42	280.7±	38.4	(5)							289.9±	26.9	(5)
Days of recovery	1	284.8±	38.1	(5)						290.8±	24.9	(5)	
	4	288.4±	40.2	(5)						291.1±	26.3	(5)	
	8	290.7±	39.4	(5)						294.7±	26.8	(5)	
	11	292.2±	37.9	(5)						298.9±	27.8	(5)	
	14	295.7±	39.6	(5)						303.7±	30.1	(5)	

Not significantly different from control.

Values are mean±S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 20 Body weights in F₀ dams - gestation and lactation period -

Group and dose		Female											
		Control			20 mg/kg			80 mg/kg			300 mg/kg		
		Body weight (g)											
Days of gestation	0	260.1±	15.9	(12)	250.5±	17.2	(11)	256.6±	19.9	(11)	248.9±	13.1	(11)
	7	298.7±	16.6	(12)	287.3±	19.5	(11)	298.2±	21.5	(11)	286.0±	15.0	(11)
	14	338.0±	17.9	(12)	323.8±	24.0	(11)	337.4±	23.8	(11)	319.0±	16.5	(11)
	20	418.2±	19.0	(12)	401.6±	32.1	(11)	423.1±	33.1	(11)	402.3±	17.4	(11)
Days of lactation	0	318.1±	21.9	(12)	303.1±	30.3	(11)	310.3±	25.8	(11)	313.1±	21.9	(10)
	4	340.2±	18.7	(12)	326.1±	21.8	(11)	334.9±	23.7	(11)	328.6±	23.8	(10)

Not significantly different from control.

Values are mean±S.D. and the values in parentheses represent the number of dams.

Table 21 Food consumption in male and female rats

Group and dose		Male											
		Control			20 mg/kg			80 mg/kg			300 mg/kg		
		Food consumption (g)											
Days of treatment	1	25.7±	1.7	(12)	26.3±	2.7	(12)	26.4±	2.0	(12)	26.3±	3.5	(12)
	4	27.6±	2.8	(12)	27.8±	2.3	(12)	27.3±	1.3	(12)	26.9±	2.6	(12)
	8	27.9±	3.0	(12)	28.1±	2.4	(12)	26.6±	1.9	(12)	27.4±	2.5	(12)
	11	28.4±	2.9	(12)	27.5±	2.2	(12)	26.8±	2.6	(12)	27.1±	2.4	(12)
	15	27.1±	3.7	(12)	27.7±	3.1	(12)	25.1±	2.1	(12)	26.5±	2.6	(12)
	29	30.4±	2.9	(12)	30.5±	2.9	(12)	28.7±	3.0	(12)	29.3±	2.8	(12)
	32	28.8±	3.5	(12)	27.7±	3.0	(12)	27.1±	2.7	(12)	28.1±	1.8	(12)
	36	28.8±	3.1	(12)	29.8±	3.2	(12)	28.6±	3.2	(12)	28.9±	2.3	(12)
	39	26.4±	2.2	(12)	26.5±	3.6	(12)	25.6±	2.9	(12)	28.5±	3.8	(12)
	42	27.2±	2.8	(12)	25.8±	3.6	(12)	25.4±	2.0	(12)	27.7±	1.9	(12)
Days of recovery	1	28.8±	2.0	(5)							30.5±	3.7	(5)
	4	27.1±	0.8	(5)							29.1±	1.9	(5)
	8	28.5±	3.1	(5)							30.3±	2.0	(5)
	11	31.4±	1.8	(5)							31.3±	3.6	(5)
	14	30.0±	3.4	(5)							28.9±	2.7	(5)

Not significantly different from control.

Values are mean±S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 21 - continued Food consumption in male and female rats

Group and dose		Female											
		Control			20 mg/kg			80 mg/kg			300 mg/kg		
		Food consumption (g)											
Days of treatment	1	16.4±	2.9	(17)	16.6±	2.5	(12)	15.5±	1.8	(12)	15.5±	2.8	(17)
	4	21.2±	1.6	(17)	19.8±	2.1	(12)	20.1±	2.0	(12)	19.4±	2.4*	(17)
	8	20.2±	1.9	(17)	18.8±	2.3	(12)	19.8±	1.7	(12)	19.0±	2.8	(17)
	11	21.4±	2.9	(17)	20.9±	2.2	(12)	20.6±	2.7	(12)	20.5±	2.2	(17)
	15	20.1±	2.8	(17)	17.9±	1.8	(12)	18.1±	3.2	(12)	19.1±	1.9	(17)
	18	19.3±	3.3	(5)							18.4±	4.0	(5)
	22	19.7±	4.2	(5)							20.3±	5.0	(5)
	25	15.4±	3.6	(5)							24.0±	4.4**	(5)
	29	17.1±	5.4	(5)							21.0±	5.0	(5)
	32	21.1±	3.4	(5)							22.3±	6.0	(5)
	36	18.6±	3.4	(5)							19.0±	3.6	(5)
	39	22.5±	3.5	(5)							20.2±	4.6	(5)
	42	18.3±	1.5	(5)							20.5±	3.2	(5)
	Days of recovery	1	20.0±	2.9	(5)						19.7±	2.8	(5)
4		17.5±	3.5	(5)						20.1±	3.0	(5)	
8		19.6±	3.5	(5)						22.6±	4.9	(5)	
11		19.0±	2.9	(5)						21.9±	3.8	(5)	
14		18.5±	4.9	(5)						21.2±	5.1	(5)	

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Values are mean±S.D. and the values in parentheses represent the number of animals.

Table 22 Food consumption in Female dams - gestation and lactation period -

Group and dose		Female											
		Control			20 mg/kg			80 mg/kg			300 mg/kg		
		Food consumption (g)											
Days of gestation	1	18.4±	1.9	(12)	17.8±	3.2	(11)	19.7±	2.7	(11)	17.9±	2.1	(11)
	7	23.2±	1.9	(12)	23.3±	1.8	(11)	24.8±	1.6	(11)	22.8±	2.3	(11)
	14	24.7±	1.9	(12)	24.4±	2.2	(11)	25.4±	2.7	(11)	23.9±	3.7	(11)
	20	26.8±	1.9	(12)	26.4±	2.5	(11)	28.2±	4.2	(11)	27.5±	2.5	(11)
Days of lactation	1	19.4±	5.8	(12)	18.5±	9.4	(11)	14.2±	7.8	(11)	15.5±	10.9	(10)
	4	43.8±	5.8	(12)	42.0±	5.3	(11)	44.6±	5.8	(11)	40.7±	4.8	(10)

Not significantly different from control.

Values are mean±S.D. and the values in parentheses represent the number of dams.

Table 23 Urinary findings in male rats - week 6 -

Sex	Group and dose		Urine volume	Osmotic pressure	Na	K	Cl
			(mL/24hr)	(Osm/kg)	(mEq/24hr)	(mEq/24hr)	(mEq/24hr)
Male	Control	N	5	5	5	5	5
		Mean	29.3	0.857	1.666	3.328	2.168
		S.D.	±3.6	±0.084	±0.414	±0.282	±0.342
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	20.1	1.226	1.448	3.056	2.083
		S.D.	±9.4	±0.366	±0.435	±0.575	±0.511
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	19.3	1.304	1.625	3.042	2.351
		S.D.	±9.1	±0.361	±0.315	±0.424	±0.453
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	20.4	1.472	1.550	3.337	2.694
		S.D.	±12.6	±0.670	±0.325	±0.234	±0.241

Not significantly different from control.

Table 23 - continued Urinary findings in male rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Color		pH			Protein			Glucose	Ketone body	Bilirubin
			PY	Y	7.5	8.0	8.5	-	±	+	-	-	-
Male	Control	5	5	0	3	2	0	3	2	0	5	5	5
	20 mg/kg	5	2	3*	0	5	0*	1	3	1	5	5	5
	80 mg/kg	5	1	4**	0	5	0*	3	2	0	5	5	5
	300 mg/kg	5	1	4**	1	3	1	1	3	1	5	5	5

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Abbreviation: PY, pale yellow; Y, yellow.

Grade sign: -, none; ±, trace; +, slight; ++, moderate; +++, severe; +++++, very severe.

Table 23 - continued Urinary findings in male rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Occult blood		Urobilinogen (mg/dl.)
			-	+++	<1
Male	Control	5	5	0	5
	20 mg/kg	5	4	1	5
	80 mg/kg	5	5	0	5
	300 mg/kg	5	5	0	5

Not significantly different from control.

Grade sign: -, none; +, slight; ++, moderate; +++, severe.

Table 23 - continued Urinary findings in male rats - week 6 -

Sex	Group and dose	Number of animals	Urinary sediment					
			Epithelial cells	Erythrocytes	Leukocytes	Casts	Crystals	
			-	-	-	-	-	+
Male	Control	5	5	5	5	5	5	0
	20 mg/kg	5	5	5	5	5	5	0
	80 mg/kg	5	5	5	5	5	5	0
	300 mg/kg	5	5	5	5	5	3	2

Not significantly different from control.

Grade signs are as follows.

Epithelial cells: -, < 3/field; +, 3/field \leq and < 10/field; ++, 10/field \leq and < 20/field; +++, \geq 20/field.
 Erythrocytes : -, < 10/field; +, 10/field \leq and < 30/field; ++, 30/field \leq and < 100/field; +++, countless.
 Leukocytes : -, < 3/field; +, 3/field \leq and < 20/field; ++, 20/field \leq and < 40/field; +++, \geq 40/field.
 Casts : -, none; +, \geq 1/all field.
 Crystals : -, < 10/field; +, 10/field \leq and < 20/field; ++, 20/field \leq and < 30/field; +++, countless.

Table 24 Hematological findings in male rats - 43 day -

Sex	Group and dose		Leukocytes	Erythrocytes	Hemoglobin	Hematocrit	MCV	MCH	MCHC	Reticulocyte	Platelets
			($10^3 / \mu\text{L}$)	($10^4 / \mu\text{L}$)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	(%)	($10^4 / \mu\text{L}$)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	8.82	822	15.1	42.9	52.2	18.4	35.3	1.7	105.1
		S.D.	± 1.22	± 36	± 0.7	± 2.0	± 1.2	± 0.5	± 0.2	± 0.5	± 10.0
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	9.30	791	15.0	42.5	53.7	19.0	35.4	1.5	110.7
		S.D.	± 1.63	± 31	± 0.6	± 2.1	± 0.9	± 0.3	± 0.4	± 0.1	± 8.6
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	7.91	786	14.4	41.0	52.1	18.4	35.2	1.7	111.8
		S.D.	± 1.46	± 23	± 0.4	± 1.0	± 1.5	± 0.6	± 0.3	± 0.3	± 15.1
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	7.81	780	14.6	41.4	53.1	18.7	35.2	1.9	120.0
		S.D.	± 1.75	± 22	± 0.4	± 0.9	± 0.5	± 0.1	± 0.4	± 0.4	± 8.3

Not significantly different from control.

Table 24 - continued Hematological findings in male rats - 43 day -

Sex	Group and dose		PT (sec)	APTT (sec)
Male	Control	N	5	5
		Mean	15.4	28.6
		S.D.	±0.7	±1.5
	20 mg/kg	N	5	5
		Mean	19.2	27.6
		S.D.	±5.0	±3.6
	80 mg/kg	N	5	5
		Mean	21.1	30.2
		S.D.	±7.1	±5.5
	300 mg/kg	N	5	5
		Mean	26.1*	37.0*
		S.D.	±5.2	±4.1

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 24 - continued Hematological findings in male rats - 43 day -

Sex	Group and dose		Differential leukocyte count					
			Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Basophil	Monocyte	Large unstained cell
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.9	21.5	73.8	0.2	2.1	0.6
		S.D.	±0.8	±4.7	±4.9	±0.1	±0.5	±0.2
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.8	17.8	77.8	0.1	1.6	0.9
		S.D.	±1.1	±5.2	±6.0	±0.1	±0.6	±0.3
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.4	17.4	78.8	0.1	1.6	0.7
		S.D.	±0.6	±2.2	±3.2	±0.0	±0.9	±0.2
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.6	18.3	77.9	0.1	1.3	0.8
		S.D.	±0.4	±4.1	±4.4	±0.1	±0.4	±0.4

Not significantly different from control.

Table 25 Hematological findings in Fo dams - day 5 of lactation -

Sex	Group and dose		Leukocytes	Erythrocytes	Hemoglobin	Hematocrit	MCV	MCH	MCHC	Reticulocyte	Platelets
			($10^3 / \mu\text{L}$)	($10^4 / \mu\text{L}$)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	(%)	($10^4 / \mu\text{L}$)
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	10.38	674	13.5	37.4	55.5	20.1	36.1	4.8	127.5
		S.D.	± 2.70	± 42	± 0.7	± 2.1	± 2.2	± 0.9	± 0.4	± 1.3	± 23.1
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	11.12	679	13.4	37.7	55.7	19.8	35.6	4.8	119.5
		S.D.	± 1.83	± 42	± 0.6	± 1.4	± 3.7	± 1.3	± 0.5	± 2.2	± 16.7
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	11.70	622	12.5	34.7	56.0	20.1	36.0	6.5	137.4
		S.D.	± 3.20	± 43	± 0.4	± 1.0	± 2.6	± 1.0	± 0.9	± 1.2	± 26.2
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	8.69	646	13.0	36.2	56.2	20.2	35.9	4.9	150.6
		S.D.	± 3.34	± 65	± 0.8	± 2.2	± 2.7	± 0.8	± 0.4	± 3.1	± 38.0

Not significantly different from control.

Table 25 - continued Hematological findings in F₀ dams - day 5 of lactation -

Sex	Group and dose		PT (sec)	APTT (sec)
Female	Control	N	5	5
		Mean	14.0	20.0
		S.D.	±0.9	±2.0
	20 mg/kg	N	5	5
		Mean	13.4	20.0
		S.D.	±0.8	±1.4
	80 mg/kg	N	5	5
		Mean	13.5	19.9
		S.D.	±0.5	±1.8
	300 mg/kg	N	5	5
		Mean	13.3	19.5
		S.D.	±0.2	±1.5

Not significantly different from control.

Table 25 - continued Hematological findings in F0 dams - day 5 of lactation -

Sex	Group and dose		Differential leukocyte count					
			Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Basophil	Monocyte	Large unstained cell
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	0.9	32.5	63.0	0.1	2.4	1.1
		S. D.	±0.2	±7.8	±8.1	±0.0	±0.7	±0.5
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.0	33.2	61.6	0.1	3.0	1.2
		S. D.	±0.3	±8.9	±9.4	±0.0	±0.5	±0.3
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.1	36.9	58.0	0.1	2.8	1.2
		S. D.	±0.7	±9.5	±8.5	±0.0	±0.9	±0.3
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.3	27.0	67.7	0.1	2.9	1.0
		S. D.	±0.7	±7.7	±7.2	±0.1	±1.0	±0.3

Not significantly different from control.

Table 26 Hematological findings in male and female rats - recovery day 15 -

Sex	Group and dose		Leukocytes	Erythrocytes	Hemoglobin	Hematocrit	MCV	MCH	MCHC	Reticulocyte	Platelets
			($10^3 / \mu\text{L}$)	($10^4 / \mu\text{L}$)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	(%)	($10^4 / \mu\text{L}$)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	8.14	821	15.7	43.1	52.4	19.1	36.3	2.4	97.6
		S.D.	± 1.37	± 22	± 0.6	± 1.8	± 1.0	± 0.4	± 0.2	± 0.5	± 6.7
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	9.77	809	15.1	41.5	51.2	18.6	36.3	2.3	105.2
		S.D.	± 1.98	± 35	± 0.7	± 2.0	± 1.5	± 0.6	± 0.2	± 0.6	± 12.5
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.99	775	15.3	41.2	53.1	19.7	37.1	2.0	101.0
		S.D.	± 1.07	± 34	± 0.7	± 2.6	± 1.4	± 0.3	± 0.8	± 0.4	± 8.0
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.79	749	14.3*	38.9	51.9	19.1*	36.8	2.4	117.3
		S.D.	± 1.72	± 21	± 0.5	± 1.3	± 1.6	± 0.5	± 0.3	± 1.3	± 18.2

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 26 - continued Hematological findings in male and female rats - recovery day 15 -

Sex	Group and dose		PT (sec)	APTT (sec)
Male	Control	N	5	5
		Mean	15.7	23.5
		S.D.	±1.7	±1.8
	300 mg/kg	N	5	5
		Mean	16.9	24.5
		S.D.	±1.3	±0.8
Female	Control	N	5	5
		Mean	12.4	19.8
		S.D.	±0.7	±2.1
	300 mg/kg	N	5	5
		Mean	12.6	19.8
		S.D.	±0.7	±1.8

Not significantly different from control.

Table 26 - continued Hematological findings in male and female rats - recovery day 15 -

Sex	Group and dose		Differential leukocyte count					
			Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Basophil	Monocyte	Large unstained cell
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.7	16.4	79.0	0.1	2.2	0.7
		S.D.	±0.5	±7.2	±7.8	±0.0	±0.5	±0.4
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.0*	14.2	82.0	0.1	1.5	1.0
		S.D.	±0.2	±1.5	±1.3	±0.0	±0.5	±0.5
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	1.9	22.2	72.7	0.1	2.3	0.8
		S.D.	±0.9	±5.2	±4.1	±0.1	±0.4	±0.5
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5
		Mean	2.2	24.1	70.8	0.1	2.1	0.8
		S.D.	±0.7	±6.7	±7.6	±0.1	±1.1	±0.4

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 27 Biochemical findings in male rats - day 43 -

Sex	Group and dose		T. Protein (g/dL)	A/G ratio	α_1 -Globulin (%)	α_2 -Globulin (%)	β -Globulin (%)	γ -Globulin (%)	Albumin (g/dL)	T. Bilirubin (mg/dL)	GOT (IU/L)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.5	1.07	19.8	7.2	16.2	5.1	2.85	0.0	80
		S.D.	±0.1	±0.06	±1.2	±0.9	±0.9	±0.9	±0.05	±0.0	±8
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.4	1.16	18.5	7.1	15.8	4.9	2.90	0.0	81
		S.D.	±0.3	±0.11	±2.1	±0.7	±1.3	±0.5	±0.27	±0.0	±21
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.5	1.18	19.6	6.7	15.9	3.6*	2.95	0.0	73
		S.D.	±0.3	±0.12	±2.3	±0.5	±1.4	±1.2	±0.25	±0.0	±4
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.8	1.09	19.0	7.3	16.6	4.9	3.03	0.0	65*
		S.D.	±0.4	±0.08	±1.6	±0.7	±1.2	±0.4	±0.23	±0.0	±6

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 27 - continued Biochemical findings in male rats - day 43 -

Sex	Group and dose		GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	T.Cholesterol (mg/dL)	Triglycerides (mg/dL)	Phospholipids (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Mean	22	0.2	228	69	49	117	113	14.8	0.4	
		S.D.	± 1	± 0.2	± 56	± 5	± 23	± 13	± 8	± 1.4	± 0.1	
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	28	0.1	255	62	29	102	113	17.3	0.3	
		S.D.	± 13	± 0.1	± 17	± 7	± 14	± 12	± 4	± 0.6	± 0.1	
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	24	0.7	236	68	24*	109	116	17.1	0.3	
		S.D.	± 3	± 0.4	± 29	± 8	± 8	± 9	± 4	± 2.2	± 0.1	
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	24	1.6**	214	76	18*	122	106	16.2	0.3	
		S.D.	± 3	± 0.5	± 51	± 14	± 6	± 22	± 9	± 1.3	± 0.0	

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 27 - continued Biochemical findings in male rats - day 43 -

Sex	Group and dose		IP	Ca	Na	K	Cl
			(mg/dL)	(mg/dL)	(mEq/L)	(mEq/L)	(mEq/L)
Male	Control	N	5	5	5	5	5
		Mean	7.1	10.0	146.6	4.28	108.5
		S.D.	±0.4	±0.2	±1.3	±0.17	±1.8
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	8.2**	10.1	148.6*	4.39	110.4*
		S.D.	±0.3	±0.1	±0.8	±0.11	±0.3
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	7.6	10.1	148.3	4.27	111.1**
		S.D.	±0.7	±0.3	±1.0	±0.25	±1.0
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	7.5	10.2	148.3	4.34	110.1
		S.D.	±0.3	±0.3	±1.6	±0.23	±1.2

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 28 Biochemical findings in F₀ dams - day 5 of lactation -

Sex	Group and dose		T. Protein (g/dL)	A/G ratio	α_1 -Globulin (%)	α_2 -Globulin (%)	β -Globulin (%)	γ -Globulin (%)	Albumin (g/dL)	T. Bilirubin (mg/dL)	GOT (IU/L)
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	6.0	1.14	18.2	8.1	15.9	4.7	3.21	0.0	80
		S.D.	±0.3	±0.12	±1.8	±1.1	±0.7	±1.1	±0.29	±0.0	±6
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.5	1.19	18.5	8.2	15.0	4.1	3.00	0.0	80
		S.D.	±0.4	±0.05	±1.7	±1.0	±0.3	±0.6	±0.24	±0.0	±16
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.9	1.19	19.1	7.9	15.0	3.6	3.18	0.0	96
		S.D.	±0.3	±0.10	±1.6	±0.6	±0.6	±0.7	±0.22	±0.0	±11
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.9	1.21	19.3	7.1	15.2	3.6	3.23	0.0	83
		S.D.	±0.3	±0.06	±1.2	±0.5	±0.6	±0.7	±0.17	±0.0	±9

Not significantly different from control.

Table 28 - continued Biochemical findings in F0 dams - day 5 of lactation -

Sex	Group and dose		GPT (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	ALP (IU/L)	T.Cholesterol (mg/dL)	Triglycerides (mg/dL)	Phospholipids (mg/dL)	Glucose (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Mean	40	0.6	141	81	93	167	110	30.7	0.5	
		S.D.	± 6	± 0.1	± 13	± 18	± 36	± 30	± 8	± 3.5	± 0.1	
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	44	0.2*	160	79	125	163	108	26.5	0.4	
		S.D.	± 14	± 0.1	± 69	± 15	± 71	± 25	± 9	± 3.0	± 0.0	
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	49	1.0*	191	84	92	166	120	28.1	0.5	
		S.D.	± 7	± 0.2	± 76	± 16	± 25	± 20	± 10	± 3.4	± 0.1	
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	46	1.3*	106	84	73	162	111	30.0	0.4	
		S.D.	± 8	± 0.6	± 30	± 14	± 31	± 26	± 10	± 7.4	± 0.0	

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 28 - continued Biochemical findings in Fo dams - day 5 of lactation -

Sex	Group and dose		IP	Ca	Na	K	Cl
			(mg/dL)	(mg/dL)	(mEq/L)	(mEq/L)	(mEq/L)
Female	Control	N	5	5	5	5	5
		Mean	9.6	11.2	145.9	4.23	105.7
		S.D.	±0.6	±0.4	±2.9	±0.27	±4.4
	20 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	7.9**	10.5*	146.3	4.13	108.6
		S.D.	±0.6	±0.4	±1.1	±0.20	±1.0
	80 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	9.1	11.2	146.7	4.09	105.6
		S.D.	±0.6	±0.3	±1.4	±0.20	±1.5
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	8.3*	10.7	145.6	4.52	107.6
		S.D.	±0.9	±0.4	±1.7	±0.19	±2.4

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Table 29 Biochemical findings in male and female rats - recovery day 15 -

Sex	Group and dose		T. Protein (g/dL)	A/G ratio	α_1 -Globulin (%)	α_2 -Globulin (%)	β -Globulin (%)	γ -Globulin (%)	Albumin (g/dL)	T. Bilirubin (mg/dL)	GOT (IU/L)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.6	1.09	21.3	6.2	16.2	4.2	2.91	0.0	83
		S.D.	± 0.3	± 0.07	± 1.7	± 0.4	± 1.4	± 1.3	± 0.16	± 0.0	± 5
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	5.6	1.03	22.6	6.5	15.9	4.3	2.85	0.0	79
		S.D.	± 0.1	± 0.09	± 1.7	± 0.5	± 1.4	± 0.6	± 0.15	± 0.0	± 11
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	6.3	1.36	16.4	6.0	14.4	5.8	3.59	0.1	66
		S.D.	± 0.3	± 0.15	± 2.7	± 0.6	± 0.4	± 0.8	± 0.19	± 0.0	± 5
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	6.6	1.22	18.1	6.0	15.0	6.0	3.62	0.1	133**
		S.D.	± 0.5	± 0.09	± 0.6	± 0.3	± 1.0	± 1.1	± 0.39	± 0.1	± 111

** : P<0.01 (significantly different from control).

Table 29 - continued Biochemical findings in male and female rats - recovery day 15 -

Sex	Group and dose		GPT	γ -GTP	ALP	T.Cholesterol	Triglycerides	Phospholipids	Glucose	BUN	Creatinine
			(IU/L)	(IU/L)	(IU/L)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
Male	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	23	0.0	203	74	58	122	134	17.2	0.5
		S. D.	± 2	± 0.0	± 36	± 18	± 9	± 16	± 10	± 1.2	± 0.1
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	24	0.0	175	80	66	133	127	17.9	0.5
		S. D.	± 3	± 0.0	± 24	± 13	± 34	± 19	± 14	± 1.6	± 0.1
Female	Control	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	21	0.0	116	87	25	170	121	17.4	0.5
		S. D.	± 4	± 0.0	± 42	± 17	± 10	± 24	± 22	± 1.1	± 0.1
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Mean	59	0.5*	87	111	31	195	119	18.8	0.5
		S. D.	± 92	± 0.5	± 19	± 23	± 15	± 52	± 13	± 1.7	± 0.0

*: P<0.05 (significantly different from control).

Table 29 - continued Biochemical findings in male and female rats - recovery day 15 -

Sex	Group and dose		IP	Ca	Na	K	Cl
			(mg/dL)	(mg/dL)	(mEq/L)	(mEq/L)	(mEq/L)
Male	Control	N	5	5	5	5	5
		Mean	6.2	10.1	146.5	4.20	112.2
		S.D.	±0.5	±0.3	±0.9	±0.15	±1.9
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	6.7	10.1	146.4	4.42	111.7
		S.D.	±0.3	±0.2	±1.5	±0.16	±1.9
Female	Control	N	5	5	5	5	5
		Mean	4.8	10.4	145.8	4.19	115.8
		S.D.	±1.0	±0.2	±0.6	±0.24	±1.2
	300 mg/kg	N	5	5	5	5	5
		Mean	4.1	10.5	147.2**	4.20	115.0
		S.D.	±0.3	±0.6	±0.7	±0.19	±1.5

** : P<0.01 (significantly different from control).

Table 30 Necropsy findings in male rats - day 43 -

Organs and findings	Sex	Male			
	Group and dose Number of animals	Control	20 mg/kg	80 mg/kg	300 mg/kg
<hr/>					
Digestive system					
Liver					
Enlargement		0	0	0	5*
Urinary system					
Kidney					
Dilatation, pelvic cavity, unilateral		0	1	0	0
Genital system					
Epididymis					
Nodule, unilateral, light yellow		0	1	1	0

*: P<0.05 (significantly different from control).
No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 31 Necropsy findings in F₀ dams - day 5 of lactation -

Organs and findings	Sex	Female			
	Group and dose	Control	20 mg/kg	80 mg/kg	300 mg/kg
	Number of dams	12	11	11	10
Digestive system					
Liver					
Enlargement		0	0	0	7**

** : P<0.01 (significantly different from control).

No appreciable changes in all other organs and tissues.

Table 32 Necropsy findings in rats in male and female rats - recovery day 15 -

Organs and findings	Sex	Male		Female	
	Group and dose	Control	300 mg/kg	Control	300 mg/kg
	Number of animals	5	5	5	5
All organs and tissues		NR	NR	NR	NR

NR: no remarkable changes.

Table 33 Absolute and relative organ weights in male rats - day 43 -

Sex	Male			
	Control	20 mg/kg	80 mg/kg	300 mg/kg
Group and dose				
No. of animals	5	5	5	5
Absolute organ weights				
Final body weight (g)	457.3±44.1	428.3±27.2	437.6±40.6	449.4±30.8
Brain (g)	2.21±0.03	2.27±0.05	2.24±0.04	2.20±0.08
Thyroids (mg)	20.0±2.9	18.8±2.7	21.6±2.7	23.6±6.2
Heart (g)	1.47±0.21	1.41±0.13	1.37±0.18	1.49±0.23
Thymus (g)	0.31±0.10	0.38±0.05	0.39±0.03	0.38±0.07
Liver (g)	12.45±1.63	11.95±1.21	13.38±1.29	17.92±2.93**
Spleen (g)	0.78±0.10	0.84±0.17	0.79±0.11	0.83±0.15
Kidneys (g)	3.11±0.17	3.07±0.24	3.30±0.41	3.52±0.26
Adrenals (mg)	65.2±3.9	57.3±7.2	56.7±8.7	63.4±8.8
Relative organ weights				
Brain (g/100 gB.W.)	0.48±0.04	0.53±0.03	0.51±0.05	0.49±0.04
Thyroids (mg/100 gB.W.)	4.4±0.7	4.4±0.5	4.9±0.4	5.2±1.2
Heart (g/100 gB.W.)	0.32±0.03	0.33±0.03	0.31±0.03	0.33±0.04
Thymus (g/100 gB.W.)	0.07±0.02	0.09±0.01*	0.09±0.01*	0.08±0.01
Liver (g/100 gB.W.)	2.72±0.12	2.79±0.22	3.06±0.14	3.97±0.39**
Spleen (g/100 gB.W.)	0.17±0.02	0.20±0.04	0.18±0.02	0.18±0.04
Kidneys (g/100 gB.W.)	0.68±0.06	0.72±0.07	0.75±0.07	0.78±0.06
Adrenals (mg/100 gB.W.)	14.4±1.6	13.4±1.1	13.1±2.5	14.1±2.2

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Values are mean±S.D.

Table 33 - continued Absolute and relative organ weights in male rats - day 43 -

Sex	Male			
	Control	20 mg/kg	80 mg/kg	300 mg/kg
Group and dose				
No. of animals	7	12	12	7
Absolute organ weights				
Final body weight (g)	460.7±36.5	455.6±34.8	443.1±33.6	457.5±30.2
Epididymides (g)	1.21±0.06	1.22±0.12	1.24±0.11	1.21±0.19
Testes (g)	3.42±0.32	3.25±0.26	3.35±0.25	3.32±0.42
Relative organ weights				
Epididymides (g/100 gB.W.)	0.26±0.02	0.27±0.03	0.28±0.03	0.26±0.04
Testes (g/100 gB.W.)	0.75±0.09	0.72±0.09	0.76±0.06	0.73±0.10

Not significantly different from control.
Values are mean±S.D.

Table 34 Absolute and relative organ weights in F0 dams - day 5 of lactation -

Sex	Female			
	Control	20 mg/kg	80 mg/kg	300 mg/kg
Group and dose				
No. of dams	5	5	5	5
Absolute organ weights				
Final body weight (g)	298.9±8.2	292.7±23.7	289.4±9.5	282.5±11.2
Brain (g)	2.06±0.08	2.09±0.05	2.13±0.04	2.12±0.06
Thyroids (mg)	17.0±2.5	18.2±3.8	16.6±2.8	20.2±2.8
Heart (g)	1.02±0.04	1.05±0.06	1.02±0.09	0.95±0.04
Thymus (g)	0.29±0.06	0.27±0.07	0.18±0.05*	0.21±0.04
Liver (g)	10.50±0.59	10.96±1.30	12.67±0.66**	14.66±1.19**
Spleen (g)	0.69±0.05	0.70±0.12	0.65±0.05	0.65±0.10
Kidneys (g)	2.08±0.18	2.03±0.17	2.11±0.13	2.14±0.19
Adrenals (mg)	71.7±11.4	69.0±6.8	77.0±3.6	74.1±6.5
Relative organ weights				
Brain (g/100 gB.W.)	0.69±0.01	0.72±0.05	0.74±0.02	0.75±0.03*
Thyroids (mg/100 gB.W.)	5.7±0.7	6.3±1.4	5.7±0.9	7.2±0.9
Heart (g/100 gB.W.)	0.34±0.02	0.36±0.01	0.36±0.03	0.34±0.01
Thymus (g/100 gB.W.)	0.09±0.02	0.09±0.02	0.06±0.02*	0.07±0.02
Liver (g/100 gB.W.)	3.51±0.18	3.75±0.41	4.38±0.20**	5.19±0.42**
Spleen (g/100 gB.W.)	0.23±0.03	0.24±0.03	0.23±0.02	0.23±0.04
Kidneys (g/100 gB.W.)	0.69±0.06	0.70±0.06	0.73±0.04	0.75±0.05
Adrenals (mg/100 gB.W.)	24.0±3.9	23.7±2.9	26.6±1.0	26.3±2.3

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Values are mean±S.D.

Table 35 Absolute and relative organ weights in male and female rats - recovery day 15 -

Sex	Male		Female	
	Control	300 mg/kg	Control	300 mg/kg
Group and dose				
No. of animals	5	5	5	5
Absolute organ weights				
Final body weight (g)	493.1±28.1	507.3±28.2	275.7±36.0	280.3±25.1
Brain (g)	2.28±0.06	2.28±0.09	2.08±0.08	2.07±0.10
Thyroids (mg)	20.8±5.0	24.0±3.6	15.0±3.2	21.2±2.4**
Heart (g)	1.48±0.11	1.50±0.09	0.93±0.12	1.11±0.18
Thymus (g)	0.34±0.06	0.42±0.04*	0.30±0.11	0.30±0.02
Liver (g)	13.73±0.83	15.58±0.73**	7.43±1.07	9.33±1.27*
Spleen (g)	0.79±0.13	0.90±0.05	0.55±0.10	0.68±0.08
Kidneys (g)	3.30±0.32	3.41±0.20	1.83±0.26	2.08±0.20
Adrenals (mg)	66.2±10.2	59.6±3.8	66.9±9.7	85.0±8.1*
Epididymides (g)	1.23±0.10	1.30±0.11		
Testes (g)	3.51±0.19	3.53±0.41		
Relative organ weights				
Brain (g/100 gB.W.)	0.46±0.02	0.45±0.01	0.76±0.09	0.74±0.06
Thyroids (mg/100 gB.W.)	4.2±1.0	4.8±0.8	5.4±0.8	7.6±0.8**
Heart (g/100 gB.W.)	0.30±0.02	0.30±0.02	0.34±0.03	0.40±0.06
Thymus (g/100 gB.W.)	0.07±0.02	0.08±0.01	0.11±0.03	0.11±0.02
Liver (g/100 gB.W.)	2.78±0.04	3.08±0.16**	2.70±0.19	3.32±0.28**
Spleen (g/100 gB.W.)	0.16±0.02	0.18±0.01	0.20±0.02	0.24±0.05
Kidneys (g/100 gB.W.)	0.67±0.07	0.67±0.03	0.66±0.03	0.74±0.05*
Adrenals (mg/100 gB.W.)	13.4±2.2	11.8±1.0	24.4±2.9	30.4±2.0**
Epididymides (g/100 gB.W.)	0.25±0.03	0.26±0.04		
Testes (g/100 gB.W.)	0.71±0.02	0.70±0.10		

*: P<0.05, **: P<0.01 (significantly different from control).

Values are mean±S.D.

Table 36 Histopathological findings in male rats - day 43 -

Organs and findings	Sex	Male																				
		Group and dose	Control					20 mg/kg					80 mg/kg					300 mg/kg				
			Number of animals																			
			-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total
Digestive system																						
Stomach					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Duodenum					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Jejunum					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Ileum					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Cecum					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Colon					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Rectum					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Liver					(5)					(5)					(5)					(5)		
Necrosis, hepatocyte, focal		4	1	0	0	1	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	1	3	2	0	0	2	
Cellular infiltration, mononuclear cell		4	1	0	0	1	3	2	0	0	2	5	0	0	0	0	4	1	0	0	1	
Respiratory system																						
Trachea					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Lung					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Hematopoietic system																						
Thymus					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Submaxillary lymph node					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Mesenteric lymph node					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Spleen					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Bone marrow (sternum)					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Bone marrow (femur)					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Cardiovascular system																						
Heart					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Urinary system																						
Kidney					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Urinary bladder					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Genital system																						
Testis					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Epididymis					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		
Prostate					(5)					(0)					(0)					(5)		
Cellular infiltration, lymphocyte		3	2	0	0	2										2	3	0	0	3		
Seminal vesicle					NR (5)					(0)					(0)					NR (5)		

Not significantly different from control.

Grade sign: -, none; +, slight; ++, moderate; +++, severe.

NR: no remarkable changes.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 36 - continued Histopathological findings in male rats - day 43 -

Organs and findings	Sex	Male																					
		Group and dose		Control					20 mg/kg					80 mg/kg					300 mg/kg				
		Number of animals		5					5					5					5				
		-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total		
Endocrine system																							
Thyroid				(5)					(0)					(0)					(5)				
Ectopic tissue, thymic		5	0	0	0	0											4	1	0	0	1		
Remnant, ultimobranchial body		4	1	0	0	1										4	1	0	0	1			
Parathyroid				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Adrenal				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Nervous system																							
Cerebrum				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Cerebellum				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Medulla oblongata				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Spinal cord				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Sciatic nerve				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Musculoskeletal system																							
Sternum				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				
Femur				NR (5)					(0)					(0)					NR (5)				

Not significantly different from control.

Grade sign: -, none; +, slight; ++, moderate; +++, severe.

NR: no remarkable changes.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 37 Histopathological findings in Fo dams - day 5 of lactation -

Organs and findings	Sex	Group and dose	Female																			
			Control					20 mg/kg					80 mg/kg					300 mg/kg				
			Number of dams					5					5					5				
			-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total
Digestive system																						
Stomach																						
Duodenum																						
Jejunum																						
Ileum																						
Cecum																						
Colon																						
Rectum																						
Liver																						
Necrosis, hepatocyte, focal																						
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular																						
Cellular infiltration, mononuclear cell																						
Respiratory system																						
Trachea																						
Lung																						
Metaplasia, osseous																						
Hematopoietic system																						
Thymus																						
Submaxillary lymph node																						
Mesenteric lymph node																						
Spleen																						
Hematopoiesis, erythroblastic, extramedullary																						
Bone marrow (sternum)																						
Bone marrow (femur)																						
Cardiovascular system																						
Heart																						
Urinary system																						
Kidney																						
Urinary bladder																						
Genital system																						
Ovary																						
Uterus																						
Vagina																						

*: P<0.05 (significantly different from control).

Grade sign: -, none; +, slight; ++, moderate; +++, severe.

NR: no remarkable changes.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 37 - continued Histopathological findings in F0 dams - day 5 of lactation -

Organs and findings	Sex	Group and dose	Number of dams	Female																			
				Control					20 mg/kg					80 mg/kg					300 mg/kg				
				5					5					5					5				
				-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total
Endocrine system																							
Thyroid			(5)			(0)				(0)						(5)							
Remnant, ultimobranchial body	3	2	0	0	2											4	1	0	0	1			
Parathyroid			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Adrenal			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Nervous system																							
Cerebrum			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Cerebellum			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Medulla oblongata			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Spinal cord			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Sciatic nerve			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Musculoskeletal system																							
Sternum			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							
Femur			NR (5)			(0)				(0)						NR (5)							

Not significantly different from control.

Grade sign: -, none; +, slight; ++, moderate; +++, severe.

NR: no remarkable changes.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 38 Histopathological findings in male and female rats - recovery day 15 -

Organs and findings	Sex	Male										Female										
		Control					300 mg/kg					Control					300 mg/kg					
		5					5					5					5					
		-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	-	+	++	+++	Total	
Digestive system																						
Liver				(5)					(5)				(5)					(5)				
Hemorrhage, focal		5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	4	1	0	0	1	

Not significantly different from control.

Grade sign: -, none; +, slight; ++, moderate; +++, severe.

Figures in parentheses are number of animals with tissues examined histopathologically.

Table 39 Reproductive performance of rats

Dose (mg/kg)	Control	20	80	300
Number of females examined	12	12	12	12
Count of estrus ^{a)}	4.00 ± 0.00	3.83 ± 0.39	3.92 ± 0.51	3.92 ± 0.29
Estrous cycle ^{b)}	4.03 ± 0.10	4.00 ± 0.00	4.21 ± 0.33	4.00 ± 0.00
Number of mated				
Male	12	12	12	12
Female	12	12	12	12
Number of copulated ^{c)}				
Male	12(100)	12(100)	12(100)	12(100)
Female	12(100)	12(100)	12(100)	12(100)
Number of impregnated ^{d)}	12(100)	11(91.67)	11(91.67)	11(91.67)
Number of pregnant ^{c)}	12(100)	11(91.67)	11(91.67)	11(91.67)
Duration of mating ^{b)}	2.58 ± 0.79	2.08 ± 0.79	2.42 ± 1.24	2.42 ± 1.00

Not significantly different from control.

a) Values are mean ± S.D.

b) Values are mean ± S.D. (day)

c) Values in parentheses represent percentages to the number of mated.

d) Values in parentheses represent percentages to the number of copulated.

Table 40 Terminal delivery of F₀ dams

Dose (mg/kg)	Control	20	80	300
Number of dams	12	11	11	10
Number of corpora lutea ^{a)}	17.50 ± 1.62	16.64 ± 1.43	16.91 ± 1.76	15.90 ± 2.13
Number of implantations ^{a)}	15.50 ± 1.38	14.91 ± 1.70	15.91 ± 2.12	15.10 ± 1.91
Implantation index ^{b)}	88.57	89.62	94.09	94.97
Gestation index ^{c)}	100	100	100	100
Number of dams with live newborns	12	11	11	10
Gestational days ^{a)}	22.08 ± 0.29	22.09 ± 0.30	22.36 ± 0.50	22.30 ± 0.48
Number of newborns ^{a)}	14.42 ± 1.38	13.55 ± 1.81	14.82 ± 1.83	13.00 ± 3.16
Number of stillborns ^{d)}				
Male	0	1	2	0
Female	0	2	4	2
Total	0	3(2.01)	6(3.68)	2(1.54)
Number of live newborns ^{a)}	14.42 ± 1.38	13.27 ± 1.74	14.27 ± 1.74	12.80 ± 3.08
Birth index ^{c)}	93.01	89.02	89.71	84.77
Sex ratio of live newborns ^{f)}	1.14(92/ 81)	0.68(59/ 87)	1.09(82/ 75)	1.06(66/ 62)
Body weight of live newborns (g) ^{a)}				
Male				
on day 0	6.6 ± 0.4	6.6 ± 0.6	6.7 ± 0.4	7.1 ± 0.8
on day 4	10.6 ± 0.6	10.9 ± 1.2	10.4 ± 0.7	10.4 ± 1.7
Female				
on day 0	6.2 ± 0.4	6.3 ± 0.5	6.4 ± 0.5	6.8 ± 0.8
on day 4	9.9 ± 0.7	10.1 ± 1.0	9.9 ± 0.9	10.1 ± 2.1
Viability index ^{g)}	100	98.63	99.36	99.22
Number of external anomalies	0	0	0	0

Not significantly different from control.

a) Values are mean ± S.D.

b) Implantation index = (Number of implantations / Number of corpora lutea) × 100.

c) Gestation index = (Number of dams with live newborns / Number of pregnant females) × 100.

d) Values in parentheses represent percentages to the number of litter.

e) Birth index = (Number of live newborns / Number of implantations) × 100.

f) Values in parentheses represent the number of male/female live newborns.

g) Viability index = (Number of live newborns on day 4 after berth / Number of live newborns) × 100.