

最 終 報 告 書

N, N'-ジフェニル-p-フェニレンジアミンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験

(試験番号 : 05-230)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

本文

要 約 1 頁

目 的 2

材料および方法

1. 被験物質 2

2. 動物および飼育条件 2

3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法 3

4. 観察および検査

1) 一般状態観察 4

2) 詳細な臨床観察 4

3) 感覚機能検査 5

4) 握力および自発運動量測定 5

5) 体重および摂餌量測定 5

6) 尿検査 5

7) 血液学検査 6

8) 血液生化学検査 6

9) 割検および器官重量測定 7

10) 病理組織学検査 7

5. 統計解析 8

結 果

1. 一般状態 9

2. 詳細な臨床観察 9

3. 感覚反射機能検査 9

4. 握力および自発運動量 9

5. 体重 9

6. 摂餌量 9

7. 尿検査 9

8. 血液学検査	10
9. 血液生化学検査	10
10. 剖検	10
11. 器官重量	10
12. 病理組織学検査	11
考 察	12
文 献	14

添付資料

A. 図・群別平均値表

Figure 1, 2 体重	1
Tables 1, 2 一般状態	3
Tables 3~6 詳細な臨床観察	5
Tables 7~10 感覚機能検査	19
Tables 11~14 握力・自発運動量	23
Tables 15, 16 体重	27
Tables 17, 18 摂餌量	29
Tables 19~22 尿検査	31
Tables 23~26 血液学検査	35
Tables 27~30 血液生化学検査	39
Tables 31, 32 剖検	43
Tables 33~36 器官重量	45
Tables 37, 38 病理組織学検査	49

要 約

N,N'-ジフェニル-p-フェニレンジアミンの 28 日間反復投与毒性試験（溶媒はメチルセルロースの 1w/v%水溶液）を、ラットを用い、0, 100, 300 および 1000 mg/kg/day の経口投与により実施した。動物数は各群雌雄それぞれ 5 匹とし、6 群を設け、4 群は投与期間終了時に屠殺した。2 群は 0 および 1000 mg/kg 群のサテライト群で、投与期終了後 14 日間の回復期間終了時に屠殺した。

一般状態、詳細な臨床観察、感覚機能検査、握力、自発運動量、体重、摂餌量、尿検査、血液学検査、血液生化学検査、剖検、器官重量および病理組織学検査において、被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果から、最高用量の 1000 mg/kg 群においても毒性影響は認められなかつた。したがって、N,N'-ジフェニル-p-フェニレンジアミンのラットへの 28 日間反復経口投与における無影響量は、雌雄とも 1000 mg/kg/day と結論された。

目的

N,N'-ジフェニル-p-フェニレンジアミンをラットに 28 日間経口投与し、本物質の反復投与毒性について検討する。

材料および方法

1. 被験物質

N,N'-ジフェニル-p-フェニレンジアミン (N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine, 略号 DPPD, CAS No.74-31-7) は、主にゴム用老化防止剤として用いられている、分子量 260.34 の化学物質で、常温での性状は弱芳香臭のある淡灰褐色ないし白色の粉末である。試験には 提供

された (純度 99.87%) を、冷暗所 (2~6 °C) で密栓して保管し、使用した。被験物質は試験終了後に分析し、保管条件下の安定性を確認した。N,N'-ジフェニル-p-フェニレンジアミンの特性は、Appendix 1 に示す。本被験物質は水に難溶であるので、投与液はメチルセルロース (100cp, 和光純薬工業株式会社、ロット番号 KLP3708) の 1w/v% 水溶液 (局方精製水、共栄製薬株式会社、ロット番号 181527) を媒体として、所定の投与用量となる濃度の懸濁液に調製した。被験物質調製液の安定性について、0.2 および 20w/v% 液を冷所 (2~6 °C)、遮光下で 7 日間保管し、さらに投与時の動物室条件下での安定性を考慮して室温に 1 日放置した後、ガスクロマトグラフを用いて分析した結果、安定であることが確認された (Appendix 2)。したがって、投与液の使用期間は調製後 7 日間とし、調製した投与液は 1 日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷所 (2~6 °C)、遮光下で保管した。また、初回に調製した投与液について分析し、所定の濃度で調製されていることを確認した (Appendix 3)。

2. 動物および飼育条件 (Appendices 4~6)

4 週齢の SD 系 [Crl:CD(SD)] SPF ラットを、日本チャールス・リバー株式会社 厚木飼育センター (神奈川県厚木市下古沢 795) から搬入 (雌雄各 35 匹注文したが実際の搬入数は雌雄各 36 匹であった) し、雄は 7 日間、雌は 8 日間試験環境に馴化させた。検疫期間は搬入の翌日から雄で 6 日間、雌で 7 日間とし、その間の一般状態と体重増加量から全例が健常であることが確認されたので、これらを群分けに

供した。

ラットは、温度 22 ± 3°C、湿度 55 ± 10%、換気回数 10 回以上／時（オールフレッシュエア方式）、照明 12 時間／日（午前 7 時～午後 7 時）に設定したバリアーシステム動物室（第 6 室）で、個体別にステンレス製金網ケージ（260W × 380D × 180H mm）に収容し、これをステンレス製 5 段のラックに配置して飼育した。飼料（日本農産工業株式会社、固型飼料ラボ MR ストック、ロット番号 060659, 060873）および飲料水（孔径 1 μm のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は、それぞれバスケット型固型飼料用給餌器および自動給水装置により自由に摂取させた。動物の個体識別は耳パンチ法により行い、ケージには試験番号、用量、動物番号およびケージ番号を表示したラベルを付けた。

なお、動物の飼育期間を通じて、動物室の温度は 21.9～23.0°C、湿度は 55～61% の範囲で推移した（温度・湿度の測定結果：Appendix 4）。また、飼料中の汚染物質の分析結果（Appendix 5）は、米国環境保護庁有害物質規制法の「飼料および媒体の汚染物質限度(1979)」を参考にして当研究所が設定した基準の許容範囲内の値であり、飲料水は水道法に基づく水質検査（Appendix 6）で基準に適合することを確認した。したがって、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと考えられる環境要因の変化は、なかったものと判断された。

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

3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法

投与量設定試験として、1 群雌雄各 4 匹のラットに、0, 60, 200, 600 あるいは 1000 mg/kg/day 用量を 14 日間経口投与し、投与期間中の一般状態の観察、体重および摂餌量の測定並びに投与終了時の尿検査、血液学検査、血液生化学検査、剖検および器官重量の測定により、反復投与毒性を予備的に検討した。その結果、毒性と考えられる明らかな変化は認められなかった。したがって、本試験における投与量については、1000 mg/kg/day を最高用量とし、以下 300 および 100 mg/kg/day の計 3 用量を設定した。

試験群の構成は、①媒体投与群（以下、対照群）、②被験物質の 100 mg/kg/day 投

与群 (100 mg/kg 群), ③同 300 mg/kg/day 投与群 (300 mg/kg 群), ④同 1000 mg/kg/day 投与群 (1000 mg/kg 群) の 4 群とし, 1 群につき雌雄各 5 匹の動物を供した。また, 現れる変化の可逆性, 持続性, 遅発性毒性等について観察するため, 対照群および 1000 mg/kg 群については別に 1 群雌雄各 5 匹からなるサテライト群を設けた。動物の群分けは投与開始前日に行い, 雌雄それぞれ当該日の測定体重の平均値に近いものから各 30 匹を選別し, 体重により層別化した後, 動物を無作為に各群に振り分け, 各群の体重分布が均一化するようにした。投与開始時 (5 週齢) の平均体重 (体重範囲) は, 雄 162 (152~172) g, 雌 138 (130~147) g であり, 各個体の体重は平均体重の±20%以内にあることを確認した。群分け後の余剰動物は, 試験から除外した。

投与方法は, 投与液量を体重 1 kg 当たり 5 mL とし, テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて, 被験物質の 2.0 w/v% (100 mg/kg 群), 6.0 w/v% (300 mg/kg 群), あるいは 20 w/v% (1000 mg/kg 群) 液を, 1 日 1 回 (午前中), 28 日間にわたり経口投与した。各個体の投与液量は, 至近日の測定体重に基づいて算出した。対照群には, 媒体として用いたメチルセルロースの 1 w/v% 水溶液を同様に投与した。サテライト群の 28 日間投与終了後における回復期間は 14 日間とし, その間は投与を行わなかった。

4. 観察および検査

1) 一般状態観察

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

2) 詳細な臨床観察

全例について, 投与開始の前日およびその後は週 1 回 (投与 6, 13, 20 および 27 日並びにサテライト群ではさらに回復 6 および 13 日) は, ケージサイドでの観察に加えて, 動物をケージから取り出す時およびケージ外の標準的な観察の場 (アルミ製オープンフィールド, 370W×560D×40H mm) で, 詳細な臨床観察を行い, 認められた変化を評点で記録した。観察項目および評点は, Appendix 7 に示す。観察に当たっては, 完全無作為化法で動物に観察番号を付

け、観察者以外の者が群や動物番号を表示したケージのラベルを観察番号のみ表示した標識札に取り替え、観察者は観察番号順に観察を行うことにより、投与内容が不明な状態で観察した。

3) 感覚機能検査

投与期間終了時屠殺動物は投与 4 週（投与 27 日）およびサテライト群は回復 2 週（回復 13 日）に、詳細な臨床観察に加えて、視覚反応（顔面に棒を近づけた場合の反応）、聴覚反応（ピンセットで軽くケージを叩く音に対する反応）、触覚反応（腰部に触れた場合の反応）、痛覚反応（尾根部をピンセットで挟んだ場合の逃避、発声等の反応）、瞳孔反射（光に対する瞳孔の反応）および正向反射（面上で背臥位にした場合の正常姿勢にもどる反応）について、投与内容が不明な状態で検査し、認められた反応を評点（Appendix 8）で記録した。

4) 握力および自発運動量測定

投与期間終了時屠殺動物は投与 4 週（投与 27 日）およびサテライ群は回復 2 週（回復 13 日）において、握力（ラット・マウス用握力測定装置、MK-380R/FR、室町機械株式会社）および自発運動量（自発運動量測定装置、SUPERMEX、室町機械株式会社）を測定した。握力は、投与の内容が不明な状態で前肢、後肢とも 3 回測定し、その平均値から最も外れる値を除く 2 回の平均値を当該個体の握力とした。また、自発運動量は、測定装置内区画の間の 60 分間における移動回数（10 分間隔で 6 回、動物が発する遠赤外線をセンサーが感知）を測定した。

5) 体重および摂餌量測定

全例について、投与 1 日（投与初日の投与直前）、7, 14, 21 および 28 日、回復 7 および 14 日並びに屠殺日に体重を測定し、投与期間中および回復期間中の体重増加量を算出した。摂餌量は、毎週 1 回、雄は投与 5, 12, 19 および 26 日並びに回復 5 および 12 日、雌は投与 4, 11, 18 および 25 日並びに回復 4 および 11 日に、それぞれ翌日までの 24 時間飼料消費量を測定した。

6) 尿検査

投与期間終了時屠殺動物は投与 4 週（投与 22 日）およびサテライト群は回復 2 週（回復 8 日）に、腰部を刺激して新鮮尿を採取し、外観の観察並びに pH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビンおよびウロビリノーゲンの定性的

検査（試験紙法：マルティスティックス、バイエル メディカル株式会社）を行った。

7) 血液学検査

採血は、投与期間終了時屠殺動物については投与期間終了時、回復期間終了時屠殺動物については回復期間終了時にそれぞれ 1 晚絶食（16～20 時間、給水のみ）の後、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈から行った。採取した血液は 3 分割し、その一部は EDTA・2K で凝固防止処理し、多項目自動血球分析装置（XT-2000iV、シスメックス株式会社）により、赤血球数（RBC、電気抵抗検出法）、血色素濃度（Hb、ラウリル硫酸ナトリウム-ヘモグロビン法）、ヘマトクリット値（Ht、赤血球パルス波高値検出法）、平均赤血球容積（MCV、計算値）、平均赤血球血色素量（MCH、計算値）、平均赤血球血色素濃度（MCHC、計算値）、網状赤血球数（Ret.、フローサイトメトリー法）、白血球数（WBC、フローサイトメトリー法）および白血球百分率〔好塩基球（Baso.）、好酸球（Eosin.）、好中球（Neutro.）、リンパ球（Lymph.）、単球（Mono.）、フローサイトメトリー法〕並びに血小板数（Plat.、電気抵抗検出法）を検査した。さらに、一部は 3.8% クエン酸ナトリウム液で処理して血漿を分離し、血液凝固自動測定装置（KC-10A、米国アメルング社）により、プロトロンビン時間（PT、Quick 一段法）および活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT、エラジン酸活性化法）を検査した。

8) 血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、生化学自動分析装置（JCA-BM8 型クリナライザー、日本電子株式会社）により、総タンパク（T.P.、ビューレット法）、アルブミン（Alb.、BCG 法）、A/G 比（A/G、計算値）、血糖（Glu.、GluK¹⁾-G-6-PDH²⁾ 法）、総コレステロール [T-Chol.、酵素法（CES³⁾-CO⁴⁾-POD⁵⁾ 系]、トリグリセライド [T.G.、酵素法（LPL⁶⁾-GK⁷⁾-GPO⁸⁾-POD⁵⁾ 系]、尿素窒素（BUN、ウレアーゼ・UV 法）、クレアチニン（Crea.、Jaffe 法）、AST（GOT、JSCC 法⁹⁾）、ALT（GPT、JSCC 法⁹⁾）、γ-GTP（SSCC 法¹⁰⁾）、ALP（JSCC 法⁹⁾）、LDH（SFBC 法¹¹⁾）、カルシウム（Ca、OCPC 法）および無機リン〔P、酵素法（PNP¹²⁾-XOD¹³⁾-POD⁵⁾ 系〕を、また電解質自動分析装置（NAKL-132、東亜電波工業株式会社）により、ナトリウム（Na、イオン電

極法), カリウム (K, イオン電極法) および塩素 (Cl, イオン電極法) を検査した。なお、血清は分離後検査に供するまで、-75°C以下で凍結保管した。

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

9) 剖検および器官重量測定

所定の投与期間或いは回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し、体表、開口部粘膜および内部諸器官を肉眼的に観察した。また、脳、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、甲状腺、下垂体、さらに雄では精巣、精巣上体、雌では卵巣を秤量（絶対重量）し、また屠殺日の体重に基づいて対体重比（相対重量）を算出した。腎臓、副腎、精巣、精巣上体および卵巣は左右を一括して、甲状腺および下垂体は固定後に秤量した。

10) 病理組織学検査

次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液（精巣、精巣上体はブアン液で前固定）で固定し、保存した。

脳、下垂体、眼球、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、脊髄（頸部、胸部、腰部）、心臓、気管および肺（固定液を注入後浸漬）、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、胃、腸（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、パイエル板を含む）、生殖器（精巣または卵巣）、副生殖器（精巣上体、前立腺、精嚢または子宮、陰嚢）、膀胱、坐骨神経、リンパ節（頸部リンパ節、腸間膜リンパ節）および骨髄（大腿骨）

病理組織学検査は、投与期間終了時屠殺動物の対照群および1000 mg/kg群の上記保存器官について行い、常法に従ってパラフィン切片を作製し、H-E 染色を施して鏡検した。100 および 300 mg/kg 群並びに回復期間終了時屠殺動物については、1000 mg/kg 群の検査で被験物質の投与に起因する変化が認められなかったため、肉眼的異常部位のみ検査した。

5. 統計解析

パラメトリックデータ（握力・自発運動量・体重・体重増加量・摂餌量・血液学検査データ・血液生化学検査データ・器官重量）については、群ごとに平均値および標準偏差を求めた。また、試験群が3群以上の場合は Bartlett の分散検定を行い、その結果分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行った。分散が一様でない場合並びにノンパラメトリックデータ（白血球百分率、尿検査データ）は Kruskal-Wallis の順位検定を行った。それらの結果有意差を認めた場合は、Dunnett ないし Dunnett 型の検定法で対照群に対する有意差を調べた。試験群が2群の場合は、パラメトリックデータについて F 検定を行い、その結果分散が一様な場合は Student の t 検定を、一様でない場合は Aspin-Welch の t 検定を行った。また、ノンパラメトリックデータは、Mann-Whitney の U 検定を行った。

カテゴリカルデータ（一般状態の観察・詳細な臨床観察・感覚機能検査・剖検・病理組織学検査における異常例の発現率）には Fisher の直接確率法を用いた。有意水準は、いずれの検定法も 5%とした。

結 果

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

投与期間および回復期間を通じて、一般状態の変化および死亡は認められなかつた。

2. 詳細な臨床観察 (Tables 3~6, Appendices 11~14)

投与期間中および回復期間中の観察において、各観察項目に有意な変化は認められなかつた。

3. 感覚機能検査 (Tables 7~10, Appendices 15~18)

投与期間中および回復期間中の検査において、各検査項目に有意な変化は認められなかつた。

4. 握力および自発運動量 (Tables 11~14, Appendices 19~22)

投与期間中の測定において、100 および 1000 mg/kg 群の雌の前肢握力に、有意な高値が認められた。この変化に用量相関性は認められなかつた。回復期間中の測定では、雌で後肢握力に有意な低値が認められた。自発運動量は、投与期間中および回復期間中の測定とも、有意な変化は認められなかつた。

5. 体重 (Figures 1, 2, Tables 15, 16, Appendices 23, 24)

各測定時点での体重並びに投与期間中および回復期間中の体重増加量に有意な変化は認められなかつた。

6. 摂餌量 (Tables 17, 18, Appendices 25, 26)

投与期間において、雄で 300 mg/kg 群の投与 4 週並びに 1000 mg/kg 群の投与 3 および 4 週の摂餌量に有意な低値が認められた。雌では変化は認められなかつた。回復期間においては、雌雄とも変化は認められなかつた。

7. 尿検査 (Tables 19~22, Appendices 27~30)

投与期間中の検査において、雄の尿タンパクは、対照群の 5 匹中 4 匹が 1+ (30

mg/dL), 1匹が 2+ (100 mg/dL)であったのに対して、被験物質投与各群は 1000 mg/kg の 1匹の 2+を除き全ての例が± (15~30 mg/dL) で、有意差が認められた。しかしながら、変化に用量相関性は認められなかった。雌では変化は認められなかつた。

回復期間の検査においては、雌雄とも変化は認められなかった。

8. 血液学検査 (Tables 23~26, Appendices 31~34, 背景データ : Appendices 51, 52)

投与期間終了時屠殺動物において、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

回復期間終了時屠殺動物においては、雌で血色素濃度およびヘマトクリット値の有意な高値が認められた。

9. 血液生化学検査 (Tables 27~30, Appendices 35~38, 背景データ : Appendices 51, 52)

投与期間終了時屠殺動物において、被験物質投与の全ての群で雄に総ビリルビン濃度の有意な高値が認められた。また、1000 mg/kg 群で雌にγ-GTP 活性の有意な低値が認められた。

回復期間終了時屠殺動物において、雄の総ビリルビン濃度および雌のγ-GTP 活性に有意な変化は認められなかった。なお、投与期間終了時屠殺動物に認められなかつた変化として、雄にγ-GTP 活性の有意な低値および総タンパクの有意な高値が認められた。

10. 剖検 (Tables 31, 32, Appendices 39~42)

被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。被験物質の投与とは無関係と考えられた変化として、投与期間終了時屠殺動物の 300 mg/kg 群の雌の 1匹に子宮の子宮腔水腫、回復期間終了時屠殺動物の 1000 mg/kg 群の雄の 1匹に胸腺の赤色域が認められた。

11. 器官重量 (Tables 33~36, Appendices 43~50)

投与期間終了時屠殺動物において、100 mg/kg 群で雄に甲状腺の絶対重量および

相対重量並びに雌に腎臓の絶対重量に、いずれも有意な高値が認められた。しかしながら、これらの変化には用量相関性は認められなかった。

回復期間終了時屠殺動物において、雌で心臓の相対重量に有意な低値が認められた。

12. 病理組織学検査 (Tables 37, 38, Appendices 39~42)

被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。被験物質の投与とは無関係と考えられた変化としては、対照群にのみ、あるいは対照群と 1000 mg/kg 群に散発的に、肺の泡沫細胞集簇（雄）、動脈壁鉱質沈着（雌）および骨化成（雌）、肝臓の微小肉芽腫（雌雄）および髄外造血（雄）、腎臓の好塩基性尿細管（雌雄）および孤立性囊胞（雌）、胸腺の出血（雌雄）並びに前立腺の間質リンパ球浸潤（雄）が認められた。

また、雌雄の脾臓に髄外造血および褐色色素沈着、雄の腎臓に近位尿細管上皮の硝子滴が高い頻度で認められたが、いずれも対照群と 1000 mg/kg 群における発現率や変化の程度に差は認められなかった。1000 mg/kg 群にのみ認められた変化としては、雄で肺の動脈の鉱質沈着および心臓的心筋変性・線維化、雌で胸腺の出血および下垂体のラトケ囊遺残が、いずれも 1 匹にのみ認められた。これらの変化は、ラットに背景病変としてしばしば認められる変化であり、被験物質の投与とは無関係な自然発生病変と判断された。

剖検で被験物質の投与とは無関係に認められた子宮の子宮腔水腫例には子宮腔の単純な拡張が、胸腺の赤色域には出血が認められた。

考 察

N,N'-フェニル-p-フェニレンジアミンの毒性プロフィールについて、BIBRA (British Industrial Biological Research Association) の作業グループによる資料¹⁾があり、ヒトに対して皮膚感作性を有する。ラットおよびマウスにおける経口 LD₅₀はそれぞれ 2.4g および 18.5g で急性毒性は弱い。飼料中濃度 0.5% (0.20-0.26g/kg bw/day) および 1% (0.85-1.03g/kg bw/day) でのラットへの 104 週間の投与により、用量相関的な体重増加抑制、血液学的および血液生化学的影響、肝臓重量の減少、さらに雄で腎臓のカルシウム沈着の発現率の増加が認められる。生殖試験では、6.25mg/kg/day 以上で胎児数の減少および新生児の生存率の低下、さらに 15.5mg/kg/day 以上で妊娠期間の延長および母動物の死亡が認められる。哺乳類培養細胞による染色体異常試験およびエームス試験で変異原性が認められている。げっ歯類への長期投与試験で、発がん性は認められていない。」と記述されているが、詳細は不明である。

今回、N,N'-フェニル-p-フェニレンジアミンの反復投与毒性を検討するため、本物質の 100, 300 あるいは 1000 mg/kg 用量を、ラットに 28 日間経口投与した。

投与期間中のラットの一般状態、詳細な臨床観察、感覚機能検査および自発運動量に変化は認められなかった。

100 および 1000 mg/kg 群の雌に認められた握力の高値は前肢のみの変化で、用量相関性や関連する変化も認められなかった。また、これらの値は背景データにおける基準値 (308~777g) の範囲の変化であったことから、被験物質の投与とは無関係な偶発的所見と判断された。

雄で 300 mg/kg 群の投与 4 週並びに 1000 mg/kg 群の投与 3 および 4 週の摂餌量の低値が認められたが、体重増加量に変化は認められず、むしろ対照群の投 4 週の摂餌量は他の週と比べて高値であったことから、これらの摂餌量の低値は被験物質投与の影響を示すものではないと考えられる。

尿検査で、雄の尿タンパクは、対照群の多くが 1+ (30 mg/dL) であったのに対し、被験物質投与群の殆どの例は土 (15~30 mg/dL) で、全般的に低値傾向を示した。しかしながら、土はラットの検査で通常認められる所見であり、用量相関的に変化が増強する傾向はなく、腎臓にも関連する変化が認められないことから、被験物質の毒性影響を示す変化ではないものと判断された。

被験物質投与群の雄の血液総ビリルビン濃度は全般的に高値で、その値は当研究所

の背景データにおける基準値（0.29～0.46 mg/dL）を超える値であった。しかしながら、溶血によるビリルビンの過剰産生や肝細胞の障害、胆汁のうつ滯など、総ビリルビン濃度の増加をもたらすと考えられる変化は認められなかった。

被験物質をラット血清に添加し、ビリルビン測定系で測定すると、0.01 mg/mL 以上の添加で濃度相関的な測定値上昇がみられ、0.1 mg/mL の測定値は無添加対照に比べて3倍以上の高値となった。被験物質を S9mix で代謝活性化しても同様の高値が認められ、被験物質およびその代謝物はビリルビン測定系に干渉作用を有することが確認された（Appendix 53）。

したがって、本試験で認められた総ビリルビン濃度の高値は、被験物質の毒性による変化ではなく、血清中に存在する被験物質およびその代謝物によるビリルビン測定系に対する干渉作用によるものと考えられた。

また、血液生化学検査で 1000 mg/kg 群の雌に認められた γ -GTP 活性の低値（0.63 IU/L）についても、背景データにおける基準値（0.31～2.06 IU/L）内での変動で、毒性影響を示す変化ではないと判断された。

100 mg/kg 群で認められた雄の甲状腺の絶対重量および相対重量並びに雌の腎臓の絶対重量の高値についても用量相関性や病理組織学的変化は認められなかつたことから、被験物質の毒性影響を示すものではないと考えられた。

このように、投与期間中および投与期間終了時の検査で、被験物質の投与による毒性影響は認められなかつた。

回復期間終了時屠殺動物の検査で、雄に γ -GTP 活性の有意な低値および総タンパクの有意な高値、雌で血色素濃度およびヘマトクリット値の有意な高値並びに心臓相対重量の有意な低値が認められたが、これらはいずれも投与期間終了時屠殺動物の検査では認められなかつた変化であり、また、相互の関連性も認められないごく軽度な変化であることから、遅発的な毒性影響とは考え難く、被験物質の投与とは無関係な偶発的所見と判断された。

以上の結果から、N,N'-フェニル-p-フェニレンジアミンのラットへの 28 日間反復経口投与により、最高用量の 1000 mg/kg 群においても毒性影響は認められなかつた。したがって、無影響量は雌雄ともに 1000 mg/kg/day と結論された。

文 献

- 1) BIBRA working group (1989): N,N'-Diphenyl-para-phenylenediamine. Toxicity profile. The British Industrial Biological Research Association. 5p.

N, N'－ジフェニル－p－フェニレンジアミンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験

(試験番号：05-230)

最終報告書 添付資料A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

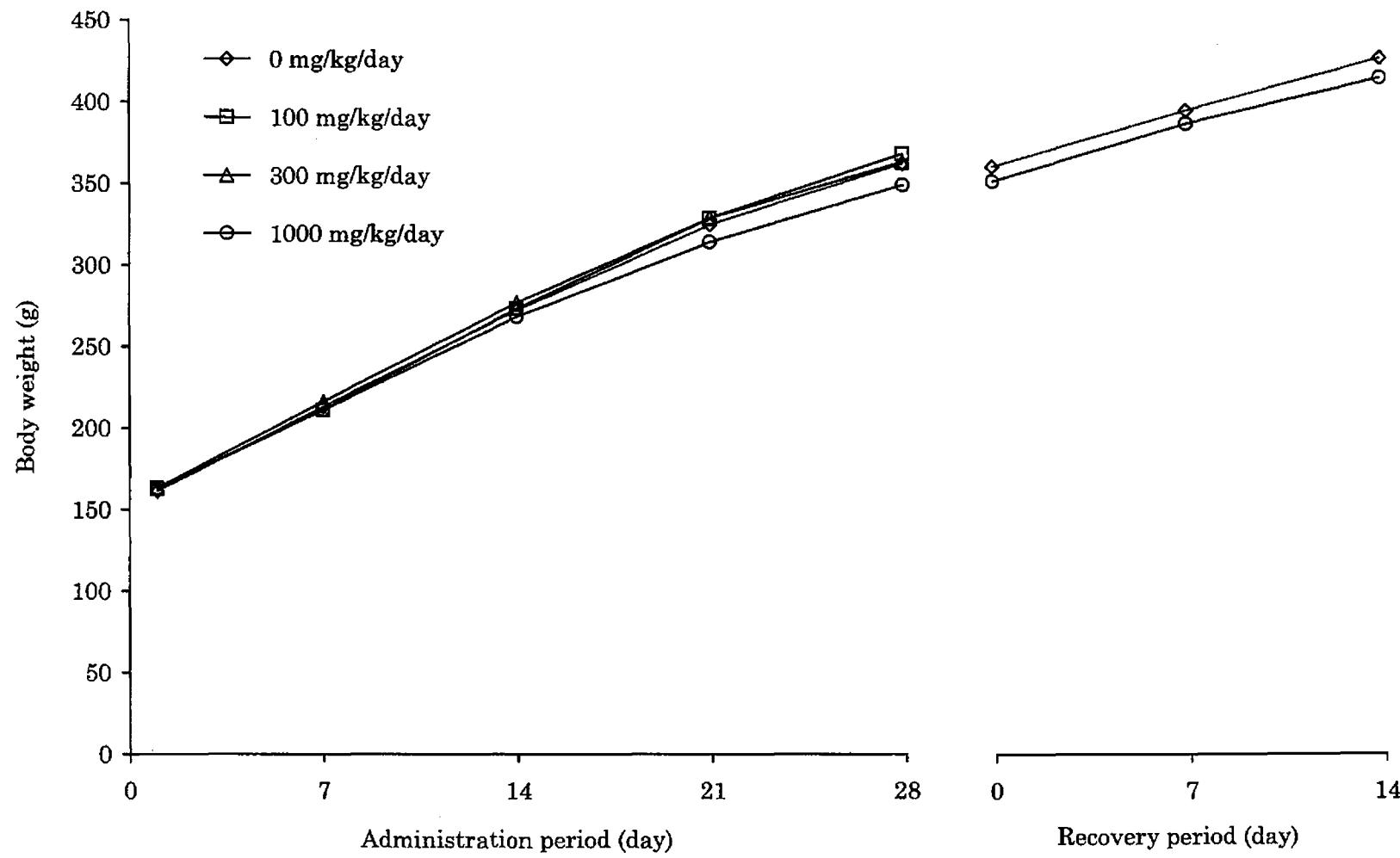


Fig.1 Body weight change of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

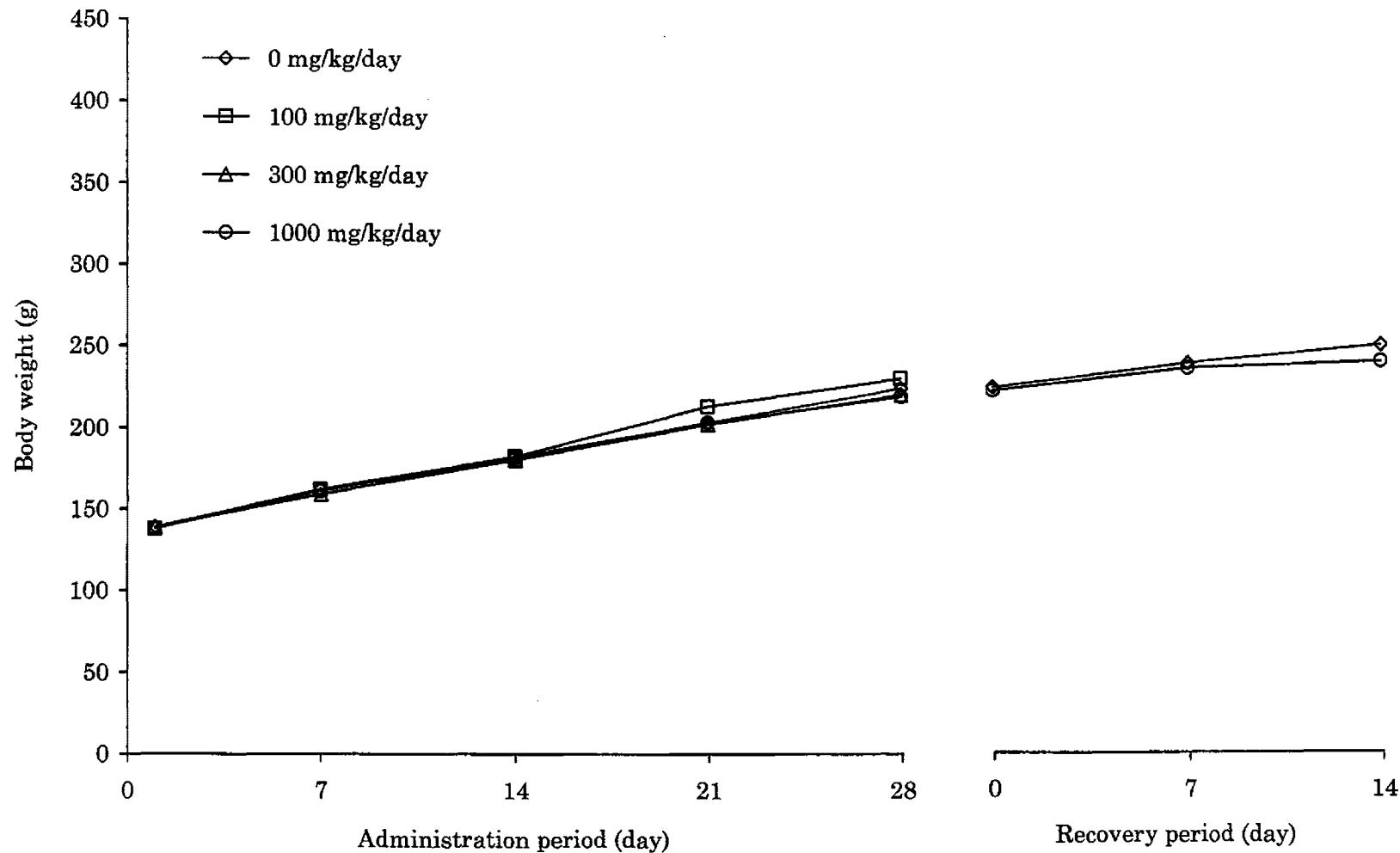


Fig.2 Body weight change of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Table 1 General conditions and mortality of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

General conditions	Dose (mg/kg/day)	Administration period								Recovery period	
		0			100		300		1000		
		KA	KR	Total	KA	KA	KA	KR	Total	KR	KR
Fate	No. of animals	5	5	10	5	5	5	5	10	5	5
Abnormalities		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mortality (%)		0			0	0		0		0	0

KA : Killed by design at the end of administration period

KR : Killed by design at the end of recovery period

Table 2 General conditions and mortality of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

General conditions	Dose (mg/kg/day)	Administration period								Recovery period	
		0			100		300		1000		
		KA	KR	Total	KA	KA	KA	KR	Total	KR	KR
Fate	No. of animals	5	5	10	5	5	5	5	10	5	5
	Abnormalities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mortality (%)		0		0	0		0		0	0	0

KA : Killed by design at the end of administration period

KR : Killed by design at the end of recovery period

Table 3-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

〈 Before administration period 〉

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	100	300	1000
		10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal	10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal	10	5	5	10
Muscle tone	Normal	10	5	5	10
Skin	Normal	10	5	5	10
Fur	Normal	10	5	5	10
Piloerection	Not detected	10	5	5	10
Eye discharge	Not detected	10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected	10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected	10	5	5	10
Lacration	Not detected	10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected	10	5	5	10
Salivation	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected	10	5	5	10
Vocalization	Not detected	10	5	5	10
Breathing	Normal	10	5	5	10
Body position	Normal	10	5	5	10
Convulsion	Not detected	10	5	5	10
Tremor	Not detected	10	5	5	10
Exploration	Normal	10	5	5	10
Alertness	Normal	10	5	5	10
Locomotor activity	Normal	10	5	5	10
Walk	Normal	10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected	10	5	5	10
Stereotypy	Not detected	10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected	10	5	5	10
Limb tone	Normal	10	5	5	10
Urination	Not detected or 1	10	5	5	10
	2 or more	0	0	0	0
Defecation	Color: Pale yellow	4/4	1/1	1/1	2/2
	Not detected or 1	10	4	4	8
	2 or more	0	1	1	2
	Appearance:Normal	-	1/1	1/1	2/2

Table 3-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 1 of administration period ⟩

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	100	300	1000
		10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal	10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal	10	5	5	10
Muscle tone	Normal	10	5	5	10
Skin	Normal	10	5	5	10
Fur	Normal	10	5	5	10
Piloerection	Not detected	10	5	5	10
Eye discharge	Not detected	10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected	10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected	10	5	5	10
Lacrimation	Not detected	10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected	10	5	5	10
Salivation	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected	10	5	5	10
Vocalization	Not detected Temporally in handling	10 0	5 0	5 0	8 2
Breathing	Normal	10	5	5	10
Body position	Normal	10	5	5	10
Convulsion	Not detected	10	5	5	10
Tremor	Not detected	10	5	5	10
Exploration	Normal	10	5	5	10
Alertness	Normal	10	5	5	10
Locomotor activity	Normal	10	5	5	10
Walk	Normal	10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected	10	5	5	10
Stereotypy	Not detected	10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected	10	5	5	10
Limb tone	Normal	10	5	5	10
Urination	Not detected or 1 2 or more	9 1	4 1	5 0	8 2
Defecation	Color: Pale yellow Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	3/3 9 1 3/3	2/2 4 1 2/2	2/2 4 1 2/2	3/3 7 3 4/4

Table 3-3 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

(On week 2 of administration period)

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	100	300	1000
		10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal	10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal	10	5	5	10
Muscle tone	Normal	10	5	5	10
Skin	Normal	10	5	5	10
Fur	Normal	10	5	5	10
Piloerection	Not detected	10	5	5	10
Eye discharge	Not detected	10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected	10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected	10	5	5	10
Lacration	Not detected	10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected	10	5	5	10
Salivation	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected	10	5	5	10
Vocalization	Not detected Temporally in handling	10 0	5 0	5 0	9 1
Breathing	Normal	10	5	5	10
Body position	Normal	10	5	5	10
Convulsion	Not detected	10	5	5	10
Tremor	Not detected	10	5	5	10
Exploration	Normal	10	5	5	10
Alertness	Normal	10	5	5	10
Locomotor activity	Normal	10	5	5	10
Walk	Normal	10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected	10	5	5	10
Stereotypy	Not detected	10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected	10	5	5	10
Limb tone	Normal	10	5	5	10
Urination	Not detected or 1 2 or more	10 0	5 0	5 0	9 1
Defecation	Color:Pale yellow Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	3/3 7 3 4/4	1/1 5 0 1/1	- 5 0 1/1	2/2 8 2 3/3

Table 3-4 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 3 of administration period ⟩

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	100	300	1000
		10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal	10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal	10	5	5	10
Muscle tone	Normal	10	5	5	10
Skin	Normal	10	5	5	10
Fur	Normal	10	5	5	10
Piloerection	Not detected	10	5	5	10
Eye discharge	Not detected	10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected	10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected	10	5	5	10
Lacrimation	Not detected	10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected	10	5	5	10
Salivation	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected	10	5	5	10
Vocalization	Not detected	10	5	5	10
Breathing	Normal	10	5	5	10
Body position	Normal	10	5	5	10
Convulsion	Not detected	10	5	5	10
Tremor	Not detected	10	5	5	10
Exploration	Normal	10	5	5	10
Alertness	Normal	10	5	5	10
Locomotor activity	Normal	10	5	5	10
Walk	Normal	10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected	10	5	5	10
Stereotypy	Not detected	10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected	10	5	5	10
Limb tone	Normal	10	5	5	10
Urination	Not detected or 1	9	5	5	10
	2 or more	1	0	0	0
Defecation	Color: Pale yellow	2/2	1/1	1/1	2/2
	Not detected or 1	10	5	5	9
	2 or more	0	0	0	1
	Appearance:Normal	2/2	1/1	-	2/2

Table 3-5 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 4 of administration period ⟩

Items		Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
		No. of animals	10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal		10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal		10	5	5	10
Muscle tone	Normal		10	5	5	10
Skin	Normal		10	5	5	10
Fur	Normal		10	5	5	10
Piloerection	Not detected		10	5	5	10
Eye discharge	Not detected		10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected		10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected		10	5	5	10
Lacration	Not detected		10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected		10	5	5	10
Salivation	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected		10	5	5	10
Vocalization	Not detected		10	5	4	10
	Temporally in handling		0	0	1	0
Breathing	Normal		10	5	5	10
Body position	Normal		10	5	5	10
Convulsion	Not detected		10	5	5	10
Tremor	Not detected		10	5	5	10
Exploration	Normal		10	5	5	10
Alertness	Normal		10	5	5	10
Locomotor activity	Normal		10	5	5	10
Walk	Normal		10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected		10	5	5	10
Stereotypy	Not detected		10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected		10	5	5	10
Limb tone	Normal		10	5	5	10
Urination	Not detected or 1		9	5	4	9
	2 or more		1	0	1	1
	Color: Pale yellow		3/3	2/2	1/1	1/1
Defecation	Not detected or 1		8	4	5	10
	2 or more		2	1	0	0
	Appearance:Normal		3/3	1/1	-	-

Table 4-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ Before administration period ⟩

Items		Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
		No. of animals	10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal		10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal		10	5	5	10
Muscle tone	Normal		10	5	5	10
Skin	Normal		10	5	5	10
Fur	Normal		10	5	5	10
Piloerection	Not detected		10	5	5	10
Eye discharge	Not detected		10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected		10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected		10	5	5	10
Lacration	Not detected		10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected		10	5	5	10
Salivation	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected		10	5	5	10
Vocalization	Not detected Temporally in handling	9 1	5 0	5 0	5 0	10 0
Breathing	Normal		10	5	5	10
Body position	Normal		10	5	5	10
Convulsion	Not detected		10	5	5	10
Tremor	Not detected		10	5	5	10
Exploration	Normal		10	5	5	10
Alertness	Normal		10	5	5	10
Locomotor activity	Normal		10	5	5	10
Walk	Normal		10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected		10	5	5	10
Stereotypy	Not detected		10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected		10	5	5	10
Limb tone	Normal		10	5	5	10
Urination	Not detected or 1 2 or more	8 2	3 2	5 0	5 0	10 0
Defecation	Color:Pale yellow Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	6/6 10 0 2/2	3/3 4 1 1/1	5/5 5 0 -	5/5 8 2 3/3	5/5 8 2 3/3

Table 4-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 1 of administration period ⟩

Items		Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
		No. of animals	10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal		10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal		10	5	5	10
Muscle tone	Normal		10	5	5	10
Skin	Normal		10	5	5	10
Fur	Normal		10	5	5	10
Piloerection	Not detected		10	5	5	10
Eye discharge	Not detected		10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected		10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected		10	5	5	10
Lacrimation	Not detected		10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected		10	5	5	10
Salivation	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected		10	5	5	10
Vocalization	Not detected		10	5	5	10
Breathing	Normal		10	5	5	10
Body position	Normal		10	5	5	10
Convulsion	Not detected		10	5	5	10
Tremor	Not detected		10	5	5	10
Exploration	Normal		10	5	5	10
Alertness	Normal		10	5	5	10
Locomotor activity	Normal		10	5	5	10
Walk	Normal		10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected		10	5	5	10
Stereotypy	Not detected		10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected		10	5	5	10
Limb tone	Normal		10	5	5	10
Urination	Not detected or 1		10	4	5	10
	2 or more		0	1	0	0
Defecation	Color: Pale yellow	3/3	3/3	1/1	3/3	
	Not detected or 1	9	5	5	10	
	2 or more	1	0	0	0	
	Appearance:Normal	1/1	-	-	-	

Table 4-3 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 2 of administration period ⟩

Items		Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
		No. of animals	10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal		10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal		10	5	5	10
Muscle tone	Normal		10	5	5	10
Skin	Normal		10	5	5	10
Fur	Normal		10	5	5	10
Piloerection	Not detected		10	5	5	10
Eye discharge	Not detected		10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected		10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected		10	5	5	10
Lacrimation	Not detected		10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected		10	5	5	10
Salivation	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected		10	5	5	10
Vocalization	Not detected Temporally in handling	8 2	5 0	5 0	5 0	10 0
Breathing	Normal		10	5	5	10
Body position	Normal		10	5	5	10
Convulsion	Not detected		10	5	5	10
Tremor	Not detected		10	5	5	10
Exploration	Normal		10	5	5	10
Alertness	Normal		10	5	5	10
Locomotor activity	Normal		10	5	5	10
Walk	Normal		10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected		10	5	5	10
Stereotypy	Not detected		10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected		10	5	5	10
Limb tone	Normal		10	5	5	10
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow	10 0 1/1	5 0 2/2	5 0 2/2	9 1 3/3	10 0 0
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	10 0 -	5 0 -	5 0 -	10 0 0	

Table 4-4 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 3 of administration period ⟩

Items		Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
		No. of animals	10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal		10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal		10	5	5	10
Muscle tone	Normal		10	5	5	10
Skin	Normal		10	5	5	10
Fur	Normal		10	5	5	10
Piloerection	Not detected		10	5	5	10
Eye discharge	Not detected		10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected		10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected		10	5	5	10
Lacrimation	Not detected		10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected		10	5	5	10
Salivation	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected		10	5	5	10
Vocalization	Not detected Temporally in handling	7 3	5 0	5 0	5 0	10 0
Breathing	Normal		10	5	5	10
Body position	Normal		10	5	5	10
Convulsion	Not detected		10	5	5	10
Tremor	Not detected		10	5	5	10
Exploration	Normal		10	5	5	10
Alertness	Normal		10	5	5	10
Locomotor activity	Normal		10	5	5	10
Walk	Normal		10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected		10	5	5	10
Stereotypy	Not detected		10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected		10	5	5	10
Limb tone	Normal		10	5	5	10
Urination	Not detected or 1 2 or more	10 0	5 0	5 0	5 0	10 0
Defecation	Color: Pale yellow Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	3/3 10 0 1/1	1/1 5 0 -	- 5 0 -	- 10 0 -	1/1 0 0 -

Table 4-5 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 4 of administration period ⟩

Items		Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
		No. of animals	10	5	5	10
Reactivity on removal from the cage	Normal		10	5	5	10
Reactivity on handling	Normal		10	5	5	10
Muscle tone	Normal		10	5	5	10
Skin	Normal		10	5	5	10
Fur	Normal		10	5	5	10
Piloerection	Not detected		10	5	5	10
Eye discharge	Not detected		10	5	5	10
Palpebral closure	Not detected		10	5	5	10
Exophthalmos	Not detected		10	5	5	10
Lacrimation	Not detected		10	5	5	10
Smudge around mouth-nose	Not detected		10	5	5	10
Salivation	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected		10	5	5	10
Blotted fur around anus with feces	Not detected		10	5	5	10
Vocalization	Not detected		8	4	5	10
	Temporally in handling		2	1	0	0
Breathing	Normal		10	5	5	10
Body position	Normal		10	5	5	10
Convulsion	Not detected		10	5	5	10
Tremor	Not detected		10	5	5	10
Exploration	Normal		10	5	5	10
Alertness	Normal		10	5	5	10
Locomotor activity	Normal		10	5	5	10
Walk	Normal		10	5	5	10
Abnormal behavior	Not detected		10	5	5	10
Stereotypy	Not detected		10	5	5	10
Failure of consciousness	Not detected		10	5	5	10
Limb tone	Normal		10	5	5	10
Urination	Not detected or 1		10	5	5	10
	2 or more		0	0	0	0
	Color: Pale yellow		2/2	2/2	2/2	1/1
Defecation	Not detected or 1		10	5	5	10
	2 or more		0	0	0	0
	Appearance:Normal		-	-	-	-

Table 5-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

(On week 1 of recovery period)

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	1000
		5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacration	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	5 0	4 1
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Not detected	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow	4 1 4/4	5 0 1/1
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -

Table 5-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 2 of recovery period ⟩

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	1000
		5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacrimation	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	4 1	5 0
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Not detected	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow	5 0 3/3	5 0 -
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 1/1	5 0 -

Table 6-1 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 1 of recovery period ⟩

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	1000
		5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacration	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected Temporally in handling	4 1	5 0
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Not detected	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more Color: Pale yellow	5 0 2/2	5 0 1/1
Defecation	Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	5 0 -	5 0 -

Table 6-2 Incidence of clinical signs in detailed observation of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 2 of recovery period ⟩

Items	Dose(mg/kg/day) No. of animals	0	1000
		5	5
Reactivity on removal from the cage	Normal	5	5
Reactivity on handling	Normal	5	5
Muscle tone	Normal	5	5
Skin	Normal	5	5
Fur	Normal	5	5
Piloerection	Not detected	5	5
Eye discharge	Not detected	5	5
Palpebral closure	Not detected	5	5
Exophthalmos	Not detected	5	5
Lacration	Not detected	5	5
Smudge around mouth-nose	Not detected	5	5
Salivation	Not detected	5	5
Blotted fur in the lower abdomen with urine	Not detected	5	5
Blotted fur around anus with feces	Not detected	5	5
Vocalization	Not detected	5	5
Breathing	Normal	5	5
Body position	Normal	5	5
Convulsion	Not detected	5	5
Tremor	Not detected	5	5
Exploration	Normal	5	5
Alertness	Normal	5	5
Locomotor activity	Normal	5	5
Walk	Normal	5	5
Abnormal behavior	Not detected	5	5
Stereotypy	Not detected	5	5
Failure of consciousness	Not detected	5	5
Limb tone	Normal	5	5
Urination	Not detected or 1 2 or more	5 0	5 0
Defecation	Color: Pale yellow Not detected or 1 2 or more Appearance:Normal	2/2 5 0 . .	- 5 0 . .

Table 7 Incidence of responses in the sensory function test of male rats treated with
N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 4 of administration period ⟩

Items	Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
	No. of animals examined	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5

Table 8 Incidence of responses in the sensory function test of female rats treated with
 N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study
 (On week 4 of administration period)

Items	Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000
	No. of animals examined	5	5	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5	5	5
Hearing reaction	Normal	5	5	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5	5	5
Pain reaction	Normal	5	5	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5	5	5
Righting reflex	Normal	5	5	5	5

Table 9 Incidence of responses in the sensory function test of male rats treated with
N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

(On week 2 of recovery period)

Items	Dose(mg/kg/day)	0	1000
	No. of animals examined	5	5
Hearing reaction	Normal	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5
Pain reaction	Normal	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5
Righting reflex	Normal	5	5

Table 10 Incidence of responses in the sensory function test of female rats treated with
N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 2 of recovery period ⟩

Items	Dose(mg/kg/day)	0	1000
	No. of animals examined	5	5
Eye sight reaction	Normal	5	5
Hearing reaction	Normal	5	5
Sense of touch reaction	Normal	5	5
Pain reaction	Normal	5	5
Pupil reflex	Normal	5	5
Righting reflex	Normal	5	5

Table 11 Mean value of grip strength and motor activity of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

(On week 4 of administration period)

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength(g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	5	638 ± 82	233 ± 14	10308 ± 2667
100	5	694 ± 137	255 ± 50	12982 ± 3891
300	5	568 ± 164	236 ± 13	13889 ± 3496
1000	5	468 ± 153	249 ± 38	11376 ± 2322

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 12 Mean value of grip strength and motor activity of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 4 of administration period ⟩

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength(g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	5	385	262	13338
		± 91	± 30	± 3667
100	5	573 *	288	15625
		± 102	± 21	± 1265
300	5	483	256	12985
		± 68	± 50	± 4117
1000	5	641 **	264	12156
		± 145	± 20	± 3787

Each value is expressed as mean±S.D.

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

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

Table 13 Mean value of grip strength and motor activity of male rats treated with
 N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study
 (On week 2 of recovery period)

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength(g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	5	728 ± 109	287 ± 16	12926 ± 2325
1000	5	731 ± 134	390 ± 89	15578 ± 1007

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 14 Mean value of grip strength and motor activity of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

⟨ On week 2 of recovery period ⟩

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Grip strength(g)		Motor activity (counts) 0~60min.
		Forelimb	Hindlimb	
0	5	739 ± 51	379 ± 42	15481 ± 2851
1000	5	607 ± 181	272 * ± 60	16242 ± 761

Each value is expressed as mean±S.D.

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

Table 15 Body weight of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Dose (mg/kg/day)	Day	Administration period						Recovery period				(g)	
								Gain		Gain			
		1	7	14	21	28	1~28	0	7	14	0~14		
0		162 ± 6 (10)	213 ± 12 (10)	272 ± 16 (10)	325 ± 21 (10)	362 ± 27 (10)	201 ± 24 (10)	360 ± 21 (5)	394 ± 22 (5)	426 ± 23 (5)	66 ± 6 (5)		
100		164 ± 4 (5)	211 ± 6 (5)	273 ± 8 (5)	329 ± 15 (5)	368 ± 26 (5)	204 ± 28 (5)						
300		163 ± 7 (5)	216 ± 10 (5)	277 ± 10 (5)	329 ± 15 (5)	363 ± 14 (5)	200 ± 14 (5)						
1000		162 ± 6 (10)	211 ± 10 (10)	268 ± 18 (10)	314 ± 24 (10)	349 ± 28 (10)	187 ± 25 (10)	351 ± 25 (5)	386 ± 32 (5)	414 ± 37 (5)	63 ± 16 (5)		

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals

Table 16 Body weight of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

(g)

Dose (mg/kg/day)	Day	Administration period						Recovery period			
		1	7	14	21	28	Gain 1~28	0	7	14	Gain 0~14
0		139 ± 5 (10)	162 ± 8 (10)	182 ± 11 (10)	203 ± 11 (10)	223 ± 11 (10)	85 ± 8 (10)	224 ± 14 (5)	239 ± 16 (5)	250 ± 21 (5)	26 ± 9 (5)
100		138 ± 6 (5)	162 ± 5 (5)	182 ± 13 (5)	213 ± 16 (5)	230 ± 23 (5)	92 ± 18 (5)				
300		139 ± 7 (5)	159 ± 5 (5)	180 ± 10 (5)	202 ± 13 (5)	220 ± 13 (5)	81 ± 11 (5)				
1000		139 ± 6 (10)	161 ± 9 (10)	181 ± 10 (10)	203 ± 15 (10)	220 ± 19 (10)	81 ± 15 (10)	222 ± 23 (5)	236 ± 17 (5)	240 ± 14 (5)	18 ± 12 (5)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals

Table 17 Food consumption of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Dose (mg/kg/day)	Week	Administration period				(g/rat/day)	
						Recovery period	
		1	2	3	4	1	2
0		30	32	34	41	33	33
	±	4	3	3	4	3	2
		(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
100		30	34	36	38		
	±	2	1	2	3		
		(5)	(5)	(5)	(5)		
300		31	33	34	35 *		
	±	3	1	2	3		
		(5)	(5)	(5)	(5)		
1000		29	31	32 *	31 **	32	33
	±	2	3	2	3	2	4
		(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals

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

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

Table 18 Food consumption of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Dose (mg/kg/day)	Week	(g/rat/day)					
		Administration period				Recovery period	
		1	2	3	4	1	2
0		23	21	23	24	25	26
	±	3	3	2	3	4	4
	(n)	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
100		21	24	24	24		
	±	4	3	4	5		
	(n)	(5)	(5)	(5)	(5)		
300		23	22	22	24		
	±	2	4	4	1		
	(n)	(5)	(5)	(5)	(5)		
1000		22	22	22	23	21	24
	±	3	2	3	2	4	3
	(n)	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n) : No. of animals

Table 19

Urinary findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 4 of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH						Protein					Glucose			
		C	PY	-	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+	-	1+	2+
0	5	1	4		5					4	1				4	1		5		
100	5		5		5					1	4				5	**		5		
300	5		5		5					2	3				5	**		5		
1000	5		5		5					3	1	1			4		1 *	5		

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Ketone body				Occult blood				Urobilinogen					Bilirubin					
		-	±	1+	2+	3+	-	±	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8	-	1+	2+	3+
0	5	5					5					5					5			
100	5	5					5					5					5			
300	5	5					5					5					5			
1000	5	5					5					5					5			

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

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

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

Glucose : -(negligible), 1+(100mg/dL), 2+(250mg/dL), 3+(500mg/dL)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL), 3+(80mg/dL)

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : -(negligible), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)

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

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

Table 20

Urinary findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 4 of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH						Protein					Glucose				
		C	PY	-	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+
0	5		5	5								1	4			1	4			5	
100	5		5	5								2	1	2			4	1			5
300	5		5	5								1	3	1			1	3	1		5
1000	5		5	5								2	3				1	3	1		5
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Ketone body				Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin					
		-	±	1+	2+	3+	-	±	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8	-	1+	2+	3+	
0	5	4	1				5					5					5				
100	5	4	1				5					5					5				
300	5	4	1				5					5					5				
1000	5	4	1				5					5					5				

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

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

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

Glucose : -(negligible), 1+(100mg/dL), 2+(250mg/dL), 3+(500mg/dL)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL), 3+(80mg/dL)

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : -(negligible), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)

Table 21

Urinary findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 2 of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH						Protein				Glucose					
		C	PY	-	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+
0	5		5		5								2	3		1	4		5		
1000	5		5		5								2	3		2	3		5		

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Ketone body				Occult blood				Urobilinogen				Bilirubin						
		-	±	1+	2+	3+	-	±	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8	-	1+	2+	3+
0	5	5					5					5					5			
1000	5	5					5					5					5			

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

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

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

Glucose : -(negligible), 1+(100mg/dL), 2+(250mg/dL), 3+(500mg/dL)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL), 3+(80mg/dL)

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : -(negligible), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)

Table 22

Urinary findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< On week 2 of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Color		Cloudy		pH						Protein					Glucose				
		C	PY	-	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+
0	5		5		5							3	2		2	1	2		5		
1000	5		5		5							4	1		1	2	2		5		

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Ketone body				Occult blood				Urobilinogen				Bilirubin						
		-	±	1+	2+	3+	-	±	1+	2+	3+	0.1	1	2	4	8	-	1+	2+	3+
0	5	5					5					5					5			
1000	5	5					5					5					5			

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

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

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

Glucose : -(negligible), 1+(100mg/dL), 2+(250mg/dL), 3+(500mg/dL)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dL), 1+(15mg/dL), 2+(40mg/dL), 3+(80mg/dL)

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

Urobilinogen : Ehrlich unit/dL

Bilirubin : -(negligible), 1+(slight), 2+(moderate), 3+(marked)

Table 23

Hematological findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	5	811 ± 37	15.6 ± 0.4	47.4 ± 1.2	59 ± 2	19.3 ± 0.7	33.0 ± 0.2	27.7 ± 5.4	13.1 ± 0.5
100	5	773 ± 27	15.2 ± 0.4	46.4 ± 1.0	60 ± 1	19.6 ± 0.3	32.7 ± 0.2	28.5 ± 8.2	13.2 ± 0.2
300	5	773 ± 41	15.1 ± 0.4	46.3 ± 1.6	60 ± 3	19.6 ± 0.7	32.7 ± 0.5	30.5 ± 6.0	13.1 ± 0.2
1000	5	800 ± 70	15.3 ± 1.0	46.3 ± 2.9	58 ± 2	19.1 ± 0.7	33.0 ± 0.5	32.4 ± 13.8	13.5 ± 0.4
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10 ⁴ /μL)	WBC (10 ³ /μL)	Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	20.9 ± 1.8	141 ± 10	76 ± 25	0.0 ± 0.0	0.7 ± 0.3	12.3 ± 3.3	83.8 ± 2.7	3.2 ± 0.7
100	5	22.2 ± 1.1	130 ± 8	76 ± 21	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.5	12.0 ± 2.2	83.8 ± 3.5	3.0 ± 1.4
300	5	20.5 ± 1.1	133 ± 16	57 ± 12	0.0 ± 0.0	1.3 ± 0.4	14.1 ± 2.4	81.1 ± 2.4	3.5 ± 1.3
1000	5	22.3 ± 0.6	150 ± 22	69 ± 10	0.0 ± 0.0	0.8 ± 0.3	13.4 ± 2.9	82.7 ± 3.1	3.0 ± 1.1

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 24

Hematological findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10 ⁶ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	5	768 ± 28	14.9 ± 0.5	44.4 ± 1.5	58 ± 2	19.4 ± 0.6	33.6 ± 0.3	19.6 ± 1.8	13.3 ± 0.2
100	5	739 ± 46	14.5 ± 0.5	43.3 ± 1.4	59 ± 2	19.6 ± 0.7	33.4 ± 0.5	23.6 ± 3.4	13.1 ± 0.2
300	5	741 ± 57	14.2 ± 0.9	42.5 ± 2.6	58 ± 2	19.2 ± 0.5	33.4 ± 0.4	23.1 ± 4.9	13.0 ± 0.4
1000	5	777 ± 10	15.0 ± 0.3	44.6 ± 0.4	58 ± 1	19.3 ± 0.3	33.6 ± 0.5	19.5 ± 4.4	13.2 ± 0.4
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10 ⁴ /μL)	WBC (10 ³ /μL)	Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	18.4 ± 1.6	121 ± 16	59 ± 23	0.0 ± 0.0	0.9 ± 0.3	13.0 ± 4.7	82.8 ± 4.3	3.3 ± 0.9
100	5	17.6 ± 1.1	122 ± 10	39 ± 10	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.6	12.5 ± 2.5	82.5 ± 3.2	3.6 ± 1.0
300	5	17.7 ± 1.1	124 ± 10	38 ± 9	0.0 ± 0.0	1.5 ± 0.4	18.3 ± 3.0	76.7 ± 2.6	3.6 ± 1.3
1000	5	18.0 ± 0.8	132 ± 15	44 ± 8	0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.3	12.9 ± 4.7	82.9 ± 5.1	2.9 ± 1.1

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 25

Hematological findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	5	833 ± 29	15.8 ± 0.5	47.6 ± 1.0	57 ± 1	18.9 ± 0.4	33.2 ± 0.7	28.2 ± 8.8	13.1 ± 0.1
1000	5	856 ± 57	16.1 ± 0.5	48.1 ± 1.2	56 ± 3	18.9 ± 0.9	33.5 ± 0.5	21.3 ± 5.5	13.4 ± 1.0
<hr/>									
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. (10 ⁴ /μL)	WBC (10 ³ /μL)	Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	19.1 ± 0.5	133 ± 6	79 ± 8	0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.7	16.0 ± 2.3	80.7 ± 2.9	2.1 ± 0.3
1000	5	21.0 ± 3.4	126 ± 10	81 ± 12	0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.4	13.2 ± 1.7	83.2 ± 1.8	2.3 ± 0.5

Each value is expressed as mean±S.D.

Table 26

Hematological findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	RBC ($10^4/\mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	Ht (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)
0	5	769 ± 29	14.6 ± 0.3	43.3 ± 0.9	56 ± 1	18.9 ± 0.4	33.6 ± 0.1	21.5 ± 4.0	13.5 ± 0.6
1000	5	783 ± 11	14.9 * ± 0.2	44.5 * ± 0.3	57 ± 1	19.1 ± 0.3	33.5 ± 0.4	20.0 ± 2.7	13.9 ± 0.5
<hr/>									
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	APTT (sec)	Plat. ($10^4/\mu\text{L}$)	WBC ($10^2/\mu\text{L}$)	Baso.	Eosin.	Neutro.	Lymph.	Mono.
0	5	17.1 ± 1.8	121 ± 7	43 ± 10	0.0 ± 0.0	1.8 ± 0.8	11.7 ± 3.0	83.7 ± 3.6	2.8 ± 1.0
1000	5	16.5 ± 1.3	123 ± 9	44 ± 11	0.0 ± 0.0	1.4 ± 0.5	13.5 ± 3.7	82.6 ± 3.4	2.6 ± 1.0

Each value is expressed as mean±S.D.

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

Table 27

Blood biochemical findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	5	358 \pm 153	71 \pm 8	34 \pm 1	808 \pm 78	0.61 \pm 0.27	5.82 \pm 0.30	2.90 \pm 0.30	0.99 \pm 0.10	62 \pm 10	68 \pm 26
100	5	289 \pm 92	84 \pm 23	45 \pm 20	819 \pm 136	0.40 \pm 0.23	5.76 \pm 0.29	2.73 \pm 0.23	0.90 \pm 0.06	79 \pm 19	64 \pm 8
300	5	335 \pm 123	75 \pm 4	38 \pm 5	774 \pm 52	2.34 \pm 4.08	5.82 \pm 0.21	2.86 \pm 0.22	0.97 \pm 0.09	81 \pm 7	51 \pm 17
1000	5	349 \pm 132	72 \pm 6	35 \pm 2	818 \pm 188	0.42 \pm 0.10	5.79 \pm 0.11	2.99 \pm 0.17	1.07 \pm 0.09	64 \pm 13	56 \pm 12
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	5	152 \pm 14	14.4 \pm 1.4	0.38 \pm 0.02	0.33 \pm 0.05	9.9 \pm 0.5	8.2 \pm 0.5	146 \pm 1	4.93 \pm 0.46	104 \pm 2	
100	5	155 \pm 11	13.3 \pm 1.8	0.37 \pm 0.04	0.53 ** \pm 0.05	9.8 \pm 0.1	8.6 \pm 0.4	147 \pm 1	4.97 \pm 0.16	105 \pm 1	
300	5	145 \pm 8	12.3 \pm 2.3	0.40 \pm 0.02	0.60 ** \pm 0.10	9.8 \pm 0.2	8.4 \pm 0.6	147 \pm 0	5.15 \pm 0.28	104 \pm 2	
1000	5	146 \pm 7	13.0 \pm 1.2	0.41 \pm 0.03	0.61 ** \pm 0.09	9.8 \pm 0.3	8.5 \pm 0.6	146 \pm 1	5.37 \pm 0.41	105 \pm 1	

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

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

Table 28

Blood biochemical findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of administration period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ-GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	5	458 ± 119	78 ± 8	28 ± 4	579 ± 48	1.32 ± 0.48	5.96 ± 0.27	3.12 ± 0.29	1.11 ± 0.14	79 ± 7	27 ± 11
100	5	341 ± 125	67 ± 5	29 ± 4	426 ± 62	0.81 ± 0.39	5.85 ± 0.10	3.00 ± 0.09	1.05 ± 0.06	91 ± 15	27 ± 7
300	5	463 ± 233	77 ± 13	30 ± 4	460 ± 152	1.85 ± 0.08	5.88 ± 0.26	3.06 ± 0.28	1.09 ± 0.12	75 ± 14	24 ± 10
1000	5	406 ± 120	94 ± 57	32 ± 13	452 ± 93	0.63 * ± 0.25	5.90 ± 0.18	3.14 ± 0.18	1.13 ± 0.07	74 ± 10	18 ± 3
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	5	128 ± 8	15.5 ± 2.1	0.46 ± 0.06	0.26 ± 0.05	9.6 ± 0.4	7.0 ± 0.9	146 ± 1	5.04 ± 0.38	108 ± 1	
100	5	139 ± 7	13.9 ± 2.2	0.39 ± 0.05	0.26 ± 0.01	9.5 ± 0.3	7.3 ± 0.5	147 ± 1	4.96 ± 0.52	108 ± 2	
300	5	133 ± 9	14.0 ± 2.3	0.39 ± 0.04	0.29 ± 0.03	9.3 ± 0.2	6.8 ± 0.7	148 ± 2	4.94 ± 0.33	108 ± 3	
1000	5	138 ± 22	15.6 ± 3.2	0.41 ± 0.06	0.29 ± 0.04	9.5 ± 0.3	7.0 ± 0.5	147 ± 2	4.90 ± 0.32	108 ± 0	

Each value is expressed as mean±S.D.

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

Table 29

Blood biochemical findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	5	351 \pm 185	75 \pm 10	43 \pm 9	587 \pm 118	0.63 \pm 0.17	5.69 \pm 0.15	2.88 \pm 0.11	1.02 \pm 0.05	74 \pm 7	62 \pm 14
1000	5	314 \pm 150	71 \pm 6	35 \pm 6	569 \pm 89	0.36 * \pm 0.17	6.01 * \pm 0.20	2.94 \pm 0.17	0.96 \pm 0.07	70 \pm 8	64 \pm 12
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	5	148 \pm 18	14.2 \pm 1.6	0.39 \pm 0.03	0.38 \pm 0.03	9.4 \pm 0.2	8.2 \pm 0.6	146 \pm 1	5.09 \pm 0.41	105 \pm 2	
1000	5	158 \pm 6	15.2 \pm 2.2	0.40 \pm 0.03	0.32 \pm 0.05	9.5 \pm 0.3	8.0 \pm 0.4	146 \pm 1	4.92 \pm 0.35	106 \pm 1	

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

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

Table 30

Blood biochemical findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study

< At the end of recovery period >

Dose (mg/kg/day)	No. of animals	LDH (IU/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	T.P. (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G	T-Chol. (mg/dL)	T.G. (mg/dL)
0	5	459 \pm 134	74 \pm 9	31 \pm 3	322 \pm 78	1.43 \pm 0.73	6.26 \pm 0.48	3.23 \pm 0.49	1.07 \pm 0.18	74 \pm 10	26 \pm 13
1000	5	428 \pm 171	90 \pm 28	34 \pm 10	328 \pm 60	1.08 \pm 0.43	6.11 \pm 0.12	3.15 \pm 0.20	1.07 \pm 0.11	69 \pm 12	27 \pm 11
Dose (mg/kg/day)	No. of animals	Glu. (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T-Bil. (mg/dL)	Ca (mg/dL)	P (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	
0	5	124 \pm 14	17.0 \pm 2.6	0.44 \pm 0.03	0.27 \pm 0.04	9.2 \pm 0.5	7.2 \pm 0.8	145 \pm 2	5.10 \pm 0.84	107 \pm 2	
1000	5	127 \pm 15	16.6 \pm 1.3	0.42 \pm 0.04	0.27 \pm 0.02	9.3 \pm 0.3	7.4 \pm 0.5	147 \pm 1	4.97 \pm 0.28	107 \pm 3	

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

Table 31 Incidence of necropsy findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Findings	At the end of administration period				At the end of recovery period	
	Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000	0
Fate	KA	KA	KA	KA	KR	KR
No.of animals	5	5	5	5	5	5
Abnormalities	0	0	0	0	0	0

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

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

Table 32 Incidence of necropsy findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade	At the end of administration period				At the end of recovery period	
			Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000	0
			Fate	KA	KA	KA	KA	KR
			No.of animals	5	5	5	5	5
Thymus	: Reddish area	-		5	5	5	5	5
		+		0	0	0	0	0
Uterus	: Hydrometra	-		5	5	4	5	5
		+		0	0	1	0	0

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

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

Grade, -:Negative; +:Slight.

Table 33

Absolute and relative organ weights of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
 in the repeated dose 28-day oral toxicity study
 <At the end of administration period>

Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Testis (g)	Epididy- mis (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)	
Absolute	0	5	325	1.86	0.50	1.11	10.18	2.62	58.8	0.67	3.25	0.84	10.1	24.0
			±29	±0.04	±0.06	±0.07	±1.37	±0.31	±6.8	±0.15	±0.23	±0.10	±0.7	±3.6
Absolute	100	5	332	1.93	0.55	1.14	10.55	2.77	66.3	0.64	3.07	0.79	10.0	28.8 *
			±19	±0.06	±0.10	±0.03	±1.05	±0.28	±9.9	±0.13	±0.13	±0.07	±0.5	±1.0
Absolute	300	5	327	1.92	0.55	1.14	10.25	2.66	60.5	0.64	3.24	0.80	11.0	23.4
			±12	±0.04	±0.08	±0.07	±0.66	±0.21	±9.1	±0.07	±0.24	±0.05	±1.7	±1.3
Absolute	1000	5	313	1.85	0.55	1.03	9.44	2.58	56.2	0.66	3.27	0.79	10.1	23.3
			±32	±0.08	±0.08	±0.13	±1.07	±0.32	±9.1	±0.15	±0.23	±0.05	±1.1	±2.8
Relative @	0	5	325	0.58	0.15	0.34	3.13	0.80	18.2	0.20	1.00	0.26	3.1	7.4
			±29	±0.05	±0.02	±0.01	±0.19	±0.05	±2.0	±0.03	±0.07	±0.04	±0.3	±0.9
Relative @	100	5	332	0.58	0.17	0.35	3.17	0.83	19.9	0.19	0.93	0.24	3.0	8.7 *
			±19	±0.02	±0.02	±0.02	±0.17	±0.05	±2.8	±0.03	±0.05	±0.03	±0.2	±0.5
Relative @	300	5	327	0.59	0.17	0.35	3.14	0.81	18.5	0.19	0.99	0.25	3.4	7.2
			±12	±0.03	±0.02	±0.02	±0.11	±0.05	±2.6	±0.02	±0.04	±0.01	±0.5	±0.6
Relative @	1000	5	313	0.60	0.18	0.33	3.01	0.82	18.0	0.21	1.05	0.25	3.3	7.5
			±32	±0.05	±0.02	±0.02	±0.07	±0.04	±3.1	±0.03	±0.04	±0.02	±0.2	±1.0

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

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

Table 34

Absolute and relative organ weights of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study
<At the end of administration period>

	Dose	No. of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Ovary (mg)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)
	(mg/kg/day)												
Absolute	0	5	204 ±7	1.82 ±0.07	0.45 ±0.06	0.81 ±0.08	6.08 ±0.47	1.55 ±0.05	73.6 ±9.2	0.47 ±0.04	93.5 ±25.7	12.5 ±1.7	20.0 ±2.0
	100	5	211 ±20	1.76 ±0.04	0.43 ±0.10	0.78 ±0.15	6.59 ±0.92	1.82 * ±0.11	67.9 ±12.9	0.49 ±0.04	87.9 ±11.5	12.6 ±1.9	22.8 ±3.3
Relative @	0	5	204 ±10	0.89 ±0.07	0.22 ±0.11	0.40 ±0.06	2.98 ±0.55	0.76 ±0.11	36.1 ±6.2	0.23 ±0.05	45.7 ±12.6	6.1 ±1.1	9.8 ±3.1
	100	5	211 ±10	0.84 ±0.06	0.20 ±0.06	0.37 ±0.04	3.11 ±0.68	0.86 ±0.19	32.2 ±9.7	0.23 ±0.07	41.9 ±9.9	6.0 ±1.7	10.8 ±2.2
Relative @	300	5	200 ±10	0.90 ±0.06	0.22 ±0.05	0.37 ±0.03	3.19 ±0.13	0.83 ±0.03	35.3 ±4.4	0.23 ±0.03	45.9 ±8.0	6.2 ±0.6	9.8 ±1.9
	1000	5	194 ±10	0.91 ±0.05	0.21 ±0.06	0.39 ±0.01	3.07 ±0.20	0.84 ±0.07	33.3 ±3.4	0.22 ±0.03	41.1 ±3.2	6.7 ±0.5	10.8 ±1.1

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

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

Table 35

Absolute and relative organ weights of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
 in the repeated dose 28-day oral toxicity study
 <At the end of recovery period>

Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Testis (g)	Epididy- mis (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)	
Absolute	0	5	388	1.99	0.43	1.27	10.68	3.00	58.8	0.68	3.45	1.10	12.0	29.0
			±25	±0.03	±0.09	±0.09	±1.04	±0.28	±5.7	±0.04	±0.38	±0.04	±1.3	±4.4
	1000	5	377	1.93	0.52	1.20	10.92	2.85	66.7	0.73	3.45	1.11	11.0	28.3
			±35	±0.09	±0.08	±0.13	±0.96	±0.34	±9.0	±0.14	±0.24	±0.11	±1.2	±4.3
Relative @	0	5	388	0.51	0.11	0.33	2.75	0.77	15.2	0.17	0.89	0.29	3.1	7.4
			±25	±0.03	±0.02	±0.03	±0.21	±0.04	±2.0	±0.01	±0.07	±0.02	±0.2	±0.7
	1000	5	377	0.52	0.14	0.32	2.90	0.75	17.7	0.19	0.92	0.30	2.9	7.6
			±35	±0.04	±0.03	±0.01	±0.07	±0.07	±1.5	±0.03	±0.09	±0.05	±0.4	±1.4

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

Table 36

Absolute and relative organ weights of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine
in the repeated dose 28-day oral toxicity study
<At the end of recovery period>

	Dose	No. of Animals	Body weight (g)	Brain (g)	Thymus (g)	Heart (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Adrenal gland (mg)	Spleen (g)	Ovary (mg)	Pituitary gland (mg)	Thyroid gland (mg)
	(mg/kg/day)												
Absolute	0	5	228	1.84	0.41	0.85	6.47	1.71	69.2	0.45	84.0	14.2	21.5
			±20	±0.09	±0.09	±0.11	±0.94	±0.13	±14.3	±0.05	±11.8	±2.3	±5.1
@	1000	5	221	1.76	0.39	0.76	6.23	1.75	71.2	0.47	70.7	13.6	19.4
			±15	±0.05	±0.09	±0.04	±0.49	±0.14	±7.6	±0.11	±17.6	±2.2	±2.4
Relative @	0	5	228	0.81	0.18	0.37	2.82	0.75	30.2	0.20	36.7	6.2	9.3
			±20	±0.06	±0.02	±0.02	±0.19	±0.03	±4.9	±0.02	±2.8	±0.7	±1.5
@	1000	5	221	0.80	0.18	0.34 *	2.82	0.79	32.2	0.21	31.8	6.1	8.8
			±15	±0.07	±0.05	±0.01	±0.08	±0.06	±2.3	±0.04	±6.5	±0.7	±0.8

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight.

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

Table 37 Incidence of histopathological findings of male rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade	At the end of administration period				At the end of recovery period				
			Dose(mg/kg/day)					0			
				Fate	KA No. of animals	5	100 KA	1000 KA	1000		
Lung	: Mineralization, artery	-				5	#	#	4	#	#
		+				0	#	#	1	#	#
	Accumulation, foam cell	-				4	#	#	4	#	#
		+				1	#	#	1	#	#
Heart	: Myocardial degeneration/fibrosis	-				5	#	#	4	#	#
		+				0	#	#	1	#	#
Liver	: Microgranuloma	-				4	#	#	5	#	#
		+				1	#	#	0	#	#
	Hematopoiesis, extramedullary	-				4	#	#	5	#	#
		+				1	#	#	0	#	#
Kidney	: Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	-				1	#	#	0	#	#
		+				4	#	#	5	#	#
	Basophilic tubule	-				4	#	#	3	#	#
		+				1	#	#	2	#	#
Thymus	: Hemorrhage	-				4	#	#	4	#	#
		+				1	#	#	1	#	#
Spleen	: Hematopoiesis, extramedullary	-				0	#	#	0	#	#
		+				5	#	#	5	#	#
	Deposit, pigment, brown	-				0	#	#	0	#	#
		+				5	#	#	5	#	#
Prostate	: Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium	-				4	#	#	5	#	#
		+				1	#	#	0	#	#

KA : Killed by design at the end of administration period, KR : Killed by design at the end of recovery period, #:Not examined.

Grade, -:Negative; +:Slight.

No abnormalities were detected in the brain, pituitary, thyroid, parathyroid, trachea, stomach, small intestine, large intestine, adrenal, urinary bladder, testis, epididymis, seminal vesicle, spinal cord, sciatic nerve, bone marrow, lymph nodes and eye ball from animals of control and 1000 mg/kg group.

Table 38 Incidence of histopathological findings of female rats treated with N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine in the repeated dose 28-day oral toxicity study

Organ	: Findings	Grade	At the end of administration period				At the end of recovery period		
			Dose(mg/kg/day)	0	100	300	1000	0	1000
			Fate	KA No.of animals	KA 5	KA 5	KA 5	KR 5	KR 5
Lung	: Mineralization, artery	-		4	#	#	3	#	#
		+		1	#	#	2	#	#
Lung	Metaplasia, osseous	-		4	#	#	5	#	#
		+		1	#	#	0	#	#
Liver	: Microgramuloma	-		3	#	#	4	#	#
		+		2	#	#	1	#	#
Kidney	: Basophilic tubule	-		4	#	#	3	#	#
		+		1	#	#	2	#	#
Kidney	: Cyst, solitary	-		3	#	#	4	#	#
		+		1	#	#	1	#	#
		++		1	#	#	0	#	#
Thymus	: Hemorrhage	-		5	#	#	4	#	0/1 ^a
		+		0	#	#	1	#	1/1 ^a
Spleen	: Hematopoiesis, extramedullary	-		0	#	#	0	#	#
		+		5	#	#	5	#	#
Spleen	Deposit, pigment, brown	-		0	#	#	0	#	#
		+		5	#	#	5	#	#
Pituitary	: Remnant, Rathke's pouch	-		5	#	#	4	#	#
		+		0	#	#	1	#	#
Uterus	: Dilatation, lumen	-		5	#	0/1 ^a	5	#	#
		+		0	#	1/1 ^a	0	#	#

KA : Killed by design at the end of administration period, KR : Killed by design at the end of recovery period, #: Not examined.

a : Examined the animal with a macroscopic abnormality.

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

No abnormalities were brain, thyroid, parathyroid, trachea, heart, stomach, small intestine, large intestine, adrenal, urinary bladder, ovary, spinal cord, sciatic nerve, bone marrow, lymph nodes and eye ball from animals of control and 1000 mg/kg group.