

最終報告書

2-メチル-2-プロパンチオールのラットを用いる
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

2006年8月11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..... | 14 |
| 5.1. 被験物質及び媒体..... | 14 |
| 5.1.1. 被験物質 (添付資料 1)..... | 14 |
| 5.1.2. 媒体..... | 15 |
| 5.2. 試験系..... | 16 |
| 5.2.1. 種及び系統..... | 16 |
| 5.2.2. 試験系選択の理由..... | 16 |
| 5.2.3. 購入動物数及び性別..... | 16 |
| 5.2.4. 供給源..... | 16 |
| 5.2.5. 生産場..... | 17 |
| 5.2.6. 週齢..... | 17 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| 5.2.7. 入荷時体重 | 17 |
| 5.2.8. 検疫、馴化 | 17 |
| 5.2.9. 検疫馴化期間中の識別方法 | 17 |
| 5.2.10. 群分け | 17 |
| 5.2.11. 群分け後の識別方法 | 17 |
| 5.3. 試験系の環境条件 | 18 |
| 5.3.1. 飼育環境 | 18 |
| 5.3.2. 飼料 | 19 |
| 5.3.3. 飲水 | 19 |
| 5.3.4. 床敷 | 20 |
| 5.3.5. 飼育器材の交換頻度 | 20 |
| 5.3.6. 洗浄および消毒 | 20 |
| 5.4. 被験物質と媒体との混合物の調製法及び調製頻度 | 20 |
| 5.4.1. 調製法 | 20 |
| 5.4.2. 調製頻度 | 21 |
| 5.4.3. 混合物中での被験物質の安定性及び均一性 | 21 |
| 5.4.4. 投与液の保存条件及び保存場所 | 21 |
| 5.4.5. 投与液の識別法 | 21 |
| 5.5. 混合物中の被験物質濃度測定 | 21 |
| 5.5.1. 標準物質 | 21 |
| 5.5.2. 試薬 | 22 |
| 5.5.3. 移動相 A の調製 | 22 |
| 5.5.4. 移動相 B の調製 | 22 |
| 5.5.5. 希釀溶媒の調製 | 23 |
| 5.5.6. 標準試料溶液の調製 | 23 |
| 5.5.7. 測定実測試料の調製 | 23 |
| 5.5.8. HPLC 条件 | 23 |
| 5.5.9. 濃度の算出法 | 24 |
| 5.5.10. データの取扱い | 24 |
| 5.6. 再測定 | 24 |
| 5.6.1. 再測定事例 | 25 |

| | |
|--|----|
| 5.6.2. 再測定及び再測定値の取扱い | 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 | 26 |
| 5.7.4. 投与方法の選択理由 | 26 |
| 5.7.5. 投与時刻 | 26 |
| 5.7.6. 投与回数, 投与及び回復期間, 並びにその設定理由 | 26 |
| 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 | 35 |
| 5.9. 統計学的処理 | 35 |
| 5.9.1. 多重比較検定 | 35 |
| 5.9.2. Wilcoxon rank-sum test | 36 |
| 5.9.3. χ^2 検定 | 36 |
| 5.9.4. Steel の多重比較検定 | 36 |
| 5.9.5. Fisher の正確確率検定法 | 36 |
| 5.9.6. Mann-Whitney の U 検定法 | 36 |
| 5.9.7. Wilcoxon の順位和検定法 (両側検定) | 36 |
| 6. 試験結果 | 37 |
| 6.1. 反復投与毒性試験に関する結果 | 37 |
| 6.1.1. 一般状態観察 | 37 |
| 6.1.2. 機能観察総合検査 | 37 |
| 6.1.3. 体重 | 38 |
| 6.1.4. 摂餌量 | 38 |
| 6.1.5. 尿検査 | 38 |
| 6.1.6. 血液学的検査 | 38 |
| 6.1.7. 血液生化学的検査 | 39 |

| | |
|--------------------------|----|
| 6.1.8. 剖検..... | 40 |
| 6.1.9. 器官重量..... | 40 |
| 6.1.10. 病理組織学的検査..... | 41 |
| 6.2. 生殖発生毒性試験に関する結果..... | 42 |
| 6.2.1. 親動物に及ぼす影響..... | 42 |
| 6.2.2. 児動物に及ぼす影響..... | 43 |
| 7. 考察..... | 44 |
| 8. 参考文献..... | 48 |

図及び群別データ

4. 要約

2-メチル-2-プロパンチオールの安全性に関する毒性試験の一環として、2-メチル-2-プロパンチオールを10, 50及び200mg/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(未交尾動物は雄と同様の42日間)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、一般状態に被験物質投与に起因した変化は認められず、死亡の発生もなかった。また、機能観察総合検査及び尿検査では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

体重では、200mg/kg群の雌雄で投与期間を通して低値または低値傾向が認められた。

摂餌量では、200mg/kg群の雄で投与4及び15日に、同群の雌で投与期間を通して低値または低値傾向が散見された。

血液学的検査では、200mg/kg群の雄で赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット及びMCHCの低値、血小板数の高値、PT及びAPTTの延長が認められた。200mg/kg群の雌では、赤血球数の低値及び網状赤血球率の高値が認められた。さらに、50mg/kg群の雄でMCHCの低値が認められた。

血液生化学的検査では、200mg/kg群の雄で α_1 -グロブリン及びグルコースの低値、 α_2 -グロブリン、アルブミン、 γ -GTP、総コレステロール及びリン脂質の高値がみられ、50mg/kg群の雄で総コレステロール及びリン脂質の高値が認められた。200mg/kg群の雌では、 α_1 -グロブリン及びグルコースの低値、総蛋白質、A/G比、アルブミン、総コレステロール及びリン脂質の高値がみられ、50mg/kg群の雌で総コレステロールの高値が認められた。

剖検では、左右腎臓の肥大及び褪色がそれぞれ、10mg/kgの雄1例、50mg/kg群の雄3例及び200mg/kg群の雄4例でみられ、200mg/kg群の雄2例で肝臓の肥大が認められた。

器官重量では、10mg/kg以上の群の雄で腎臓の絶対及び相対重量の高値または高値傾向がみら

れ、50 mg/kg 群の雄及び 200 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、200 mg/kg 群の雄では胸腺の絶対重量の低値が認められた。

病理組織学的検査では、肝臓で 10 mg/kg 群の雄 1 例、50 mg/kg 群の雄全例及び雌 3 例、200 mg/kg 群の雌雄全例で小葉中心性の肝細胞の軽度ないし中等度の肥大が認められた。肥大した肝細胞の細胞質は比較的均一な好酸性を呈していた。また、対照群の雄 1 例、10 mg/kg 群の雄 2 例、50 mg/kg 群の雄 4 例、200 mg/kg 群の雄 4 例で小葉辺縁部の肝細胞の軽度の脂肪変性（ナイル青染色で赤染）が認められた。腎臓では、雄の 10 mg/kg 群の 4 例、50 mg/kg 群の 3 例、200 mg/kg 群の全例で軽度ないし中等度の好塩基性尿細管が認められた。脾臓では、200 mg/kg 群の雌雄各 4 例で赤脾髄の軽度のヘモジデリン沈着（ペルリン青染色陽性）がみられ、対照群の雌 1 例、10 mg/kg 群の雌 2 例、50 mg/kg 群の雌 1 例、200 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 3 例で軽度の赤芽球性の髄外造血が認められた。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時の検査に引き続き、肝臓に 200 mg/kg 群の雌雄で相対重量の高値、組織学的に雌雄各 1 例で小葉辺縁部の肝細胞の軽度の脂肪変性が認められた。腎臓では、200 mg/kg 群の雄で絶対及び相対重量の高値がみられ、雄 1 例で肉眼的に肥大、組織学的に雄全例で軽度ないし中等度の好塩基性尿細管が認められた。また、脾臓では、組織学的に 200 mg/kg 群の雄 3 例及び雌全例で赤脾髄の軽度のヘモジデリン沈着が認められた。また、200 mg/kg 群の雄でヘモグロビン及び MCHC の低値、網状赤血球率の高値がみられ、さらに投与期間終了時にみられなかった変化として 200 mg/kg 群の雌で MCV 及び MCH の高値、MCHC の低値が認められた。これらの変化は、いずれも投与期間終了時と比較してその程度が軽減するか、あるいは関連する変化に消失ないし軽減する傾向が認められたことから、時間は要するものの、回復していくものと推察された。また、200 mg/kg 群の雌では、回復期間を通して体重の低値及び回復 1 日に摂餌量の低値が認められたが、雌雄ともに回復期間中の体重の増加量及び回復 4 日以降の摂餌量は対照群とほぼ同じかそれを上回っていたことから、回復しているものと判断した。その他はいずれの変化も消失していた。

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雄では 10 mg/kg/day 未満、雌では 10 mg/kg/day と推察された。

2. 生殖発生毒性

親動物では、発情周期、発情回数、交尾率、受胎率、交尾所要日数、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被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

児動物では、200 mg/kg 群で生後 4 日の雌雄児体重で低値が認められた。出産児数、出生率、出生児数、死産率、性比、外表異常出現率、児生存率、生後 0 日の雌雄児体重では、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生殖毒性に関する無影響量は 200 mg/kg/day、発生毒性に関する無影響量は 50 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 (添付資料 1)

5.1.1.1. 名称

2-メチル-2-プロパンチオール 【英名 ; 2-Methyl-2-propanethiol】

5.1.1.2. ロット番号

5.1.1.3. CAS 番号

75-66-1

5.1.1.4. 化学式

C₄H₁₀S

5.1.1.5. 分子量

90.20

5.1.1.6. 供給源

Natural Gas Odorizing

5.1.1.7. 性状

無色の液体

5.1.1.8. 純度

99.0-99.9 %

5.1.1.9. 比重

0.804

5.1.1.10. 氷点

34F (1°C)

5.1.1.11. 沸点

146~150F (63.3~65.6°C)

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、暗所下で保存した (実測温度 : 17~24°C).

5.1.1.13. 安定性

残余の被験物質の一部を株式会社三菱化学安全科学研究所 北九州研究所に送付して分析を行い (試験番号 : D050050, GLP 非適用), 試験期間中の安定性を確認した (添付資料 2 及び 3).

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

2006 年 2 月 14 日に廃棄処分した。

5.1.2. 媒体

5.1.2.1. 名称

トウモロコシ油

5.1.2.2. ロット番号

V4F1900, V5P7775

5.1.2.3. 製造元

ナカライトスク株式会社

5.1.2.4. 性状

淡黄色透明の液体

5.1.2.5. 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。

5.1.2.6. 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, Crl: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 163.4~186.6 g, 雌 135.9~164.4 g

5.2.8. 検疫, 創化

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. 検疫創化期間は雌雄とも 13 日とし, この間に一般状態の観察及び体重測定を行い, 一般状態で雄 1 例に外傷がみられた以外は全例が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. 検疫創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, 検疫創化期間中に外傷が認められた雄 1 例及び性周期が正常に回帰していない雌 8 例は, 群分けから除外した. 使用動物の体重は雄が 272.2~325.1 g, 雌が 188.1~235.9 g であり, 平均体重の±20%以内であった. 残余の動物 (群分け除外動物) は, 投与開始日の翌々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 83 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)

22~25 °C (許容範囲 21~27°C)

5.3.1.6. 湿度 (実測温度)

53~60 % (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. 減菌方法

高压蒸気滅菌

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、飼料中の夾雜物が㈱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 カ月ごとにニチゴー九州株式会社 (旧会社名：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

高压蒸気滅菌

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 (ただし、交配中は毎日交換した)

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した。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) 比重換算した必要量の被験物質を正確に分取した。
- 2) 最終調製量の 6~7 割の媒体が入ったビーカーに、分取した被験物質をスターラーで攪拌しながら、溶解した。
- 3) 溶解確認後、メスシリンダーに移した。
- 4) ビーカーを媒体で数回共洗いしながら、媒体でメスアップし、20 mg/mL 液とした。
- 5) 4)を媒体で希釈し、5 及び 1 mg/mL 液を調製した。

5.4.2. 調製頻度

1週間に1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

トウモロコシ油中 2-メチル-2-プロパンチオールの安定性試験（試験番号：P050086、株式会社パナファーム・ラボラトリーズ、GLP 適用）の結果、2-メチル-2-プロパンチオールの 1 及び 100 mg/mL 混合液は、褐色バイアル中、冷所保存下で調製 8 日 + 室温 6 時間後まで安定であった。

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、冷所で保存した。なお、調製直後には、一時的に低温室(61)に遮光下、冷所で保存した（実測温度：1~7 °C）。

5.4.5. 投与液の識別法

投与液を入れた褐色バイアルに、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、調製した投与液総量の任意の 1 カ所からそれぞれ約 10 mL 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±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 4）。

測定方法は、トウモロコシ油中 2-メチル-2-プロパンチオールの濃度測定法バリデーション試験（試験番号：P041531、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

2-メチル-2-プロパンチオール

5.5.1.2. ロット番号

200501-004

5.5.1.3. 供給源

Natural Gas Odorizing

5.5.1.4. 性状

無色の液体

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: 17~24°C).

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

廃棄処分した。

5.5.2. 試薬

アセトニトリル(HPLC用) : 和光純薬工業株式会社

2-プロパノール(HPLC用) : 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. 移動相 A の調製

アセトニトリル 7容及び純水 3容を混合し、移動相 Aとした。

5.5.4. 移動相 B の調製

2-プロパノール 9容及び純水 1容を混合し、移動相 Bとした。

5.5.5. 希釈溶媒の調製

アセトニトリル1容及び2-プロパノール1容を混合し、希釈溶媒とした。

5.5.6. 標準試料溶液の調製

標準物質 200 mg を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 100 mL とした。この液 1 mL を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 40 mL とした。さらに、この液 1 mL を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 10 mL とした (5 µg/mL)。調製は測定日に行った。

5.5.7. 測定実測試料の調製

(1) 1 mg/mL 投与液

投与液 (1 mg/mL) の任意の 2ヶ所よりそれぞれ 1 mL を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 200 mL とした。

(2) 5 mg/mL 投与液

投与液 (5 mg/mL) の任意の 2ヶ所よりそれぞれ 1 mL を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 50 mL とした。この液それぞれ 1 mL を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 20 mL とした。

(3) 20 mg/mL 投与液

投与液 (20 mg/mL) の任意の 2ヶ所よりそれぞれ 1 mL を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 100 mL とした。この液それぞれ 1 mL を正確に量り、希釈溶媒を加えて正確に 40 mL とした。

5.5.8. HPLC 条件

| | |
|-------------|---|
| 高速液体クロマトグラフ | : Waters 2690 (日本ウォーターズ株式会社) |
| 検出器 | : Waters 2487(日本ウォーターズ株式会社) |
| 検出波長 | : UV 200 nm |
| カラム | : YMC-Pack ODS-A (6 mm I.D. × 150 mm, 5 µm, 株式会社ワイエムシイ) |
| カラム温度 | : 40°C 付近の一定温度(設定温度: 40°C) |
| 注入量 | : 50 µL |
| 移動相 | : 移動相 A; アセトニトリル/純水混液(7:3) |

移動相 B; 2-プロパノール/純水混液(9:1)

移動相の送液; 移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する.

| 注入後からの時間(分) | 流量(mL) | 移動相 A (%) | 移動相 B (%) |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| 0 - 6.5 | 1.0 | 100 | 0 |
| 6.5 - 6.51 | 1.0 → 1.6 | 100 → 0 | 0 → 100 |
| 6.51 - 22 | 1.6 | 0 | 100 |
| 22 - 22.1 | 1.6 → 1.0 | 0 → 100 | 100 → 0 |
| 22.1 - 40 | 1.0 | 100 | 0 |

オートサンプラー設定温度 : 4°C

5.5.9. 濃度の算出法

自動積分により得られたピーク面積より、下記の計算式を用いて各被験物質混合物中の被験物質濃度を算出した。

$$\text{投与液中被験物質濃度}(\text{mg/mL}) = \frac{\text{標準試料溶液}(\mu\text{g/mL})}{1000} \times \left(\frac{A_T}{A_S} \right) \times D$$

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 ; 200 (1 mg/mL), 1000 (5 mg/mL), 4000 (20 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中の被験物質濃度とした。

5.5.10. 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 術目を四捨五入して有効数字 3 術とした。パーセントで表す結果はいずれも小数点以下 2 術目を四捨五入し、小数点以下 1 術とした。

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、次の通りとする。

- (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) 2.5.11.1. (4) 項以外の事例等により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。投与液は室温に戻した後に投与した。

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、2 週間の交配期間中に交尾が確認されなかった動物は雄と同様の 42 日間とした。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

10, 50 及び 200 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、交配した雌については、交尾成立後は妊娠 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、100 mg/kg 以上の群の雌雄で肝臓及び腎臓重量の高値、血清蛋白及び脂質の高値あるいは糖質の低値が認められ、300 あるいは 1000 mg/kg 群の雌雄で貧血様の変化、尿素窒素の高

値、体重及び摂餌量の低値が認められた。したがって、2-メチル-2-プロパンチオールのラットを用いた反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験の投与量は、明らかな毒性が発現すると予想される 200 mg/kg を高用量とし、以下公比約 4 で除した 50 及び 10 mg/kg をそれぞれ中用量及び低用量に設定した。

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 | 101~107, 108 ¹⁾ ~112 ¹⁾ |
| | | | | 雌 | 17 | 201~212, 213 ²⁾ ~217 ²⁾ |
| 低用量 | 10 | 1 | 10 | 雄 | 12 | 113~124 |
| | | | | 雌 | 12 | 218~229 |
| 中用量 | 50 | 5 | 10 | 雄 | 12 | 125~136 |
| | | | | 雌 | 12 | 230~241 |
| 高用量 | 200 | 20 | 10 | 雄 | 12 | 137~143, 144 ¹⁾ ~148 ¹⁾ |
| | | | | 雌 | 17 | 242~253, 254 ²⁾ ~258 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 1～3 時間）の 2 回、並びに投与 36 日（妊娠動物では早いもので妊娠 8 日から）から投与直後を含む 3 回、症状及び死亡の有無を観察した。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 1～3 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取った時に、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。なお、50 mg/kg 群の雌では、不妊時のデータ欠測に備え、予備動物として動物番号 235 についても同様に検査を実施したが、全例で分娩が認められたため、本動物のデータは試験の評価に使用しなかった。

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。なお、50 mg/kg 群の雌では、不妊時のデータ欠測に備え、予備動物として動物番号 235 についても同様に測定を実施したが、全例で分娩が認められたため、本動物のデータは試験の評価に使用しなかった。

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つたことから、回復期間の検査は実施しなかつた。なお、50 mg/kg 群の雌では、不妊時のデータ欠測に備え、予備動物として動物番号 235 についても同様に検査を実施したが、全例で分娩が認められたため、本動物のデータは試験の評価に使用しなかつた。

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製ケージ内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, 30, 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, 30, 32, 36, 39 及び 42 日に測定した。回復に用いた雌各 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陰塢を採取し、性周期の観察を行つた。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。これらの結果から、交尾所要日数、交尾率及び受(授)胎率を算出した。

5.8.1.7. 分娩時検査及び哺育期検査

交配に使用した雌について、分娩徵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が、全例が妊娠 24 日までに分娩した。

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(9~11 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 | メスシリンドー測定 | mL |
| 色調 | 肉眼的観察 | |
| 浸透圧 | 冰点降下法 OSMOMETER OM801, VOGEL 社 | Osm/kg |
| ナトリウム | 電極法 PVA-αIII, 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-αIII, 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-αIII, 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 | -, ±, +, ++, +++, +++++ |
| 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 赤血球が重なり合つたり、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 結晶が重なり合つたり過密状態で数の確認が不可能な場合 |

*：主に磷酸塩、蔥酸塩結晶。

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。また、50 mg/kg群の雌1例(動物番号238)については、瀕死となった原因を追究するため、同様に検査を実施した。なお、投与期間終了時の50 mg/kg群の雌については、不妊時のデータ欠測に備え、予備動物として動物番号235も同様に検査を実施したが、全例で分娩が認められたため、本動物のデータは試験の評価に使用しなかった。

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)に分注したもの用いた。動物は、採血前に18~20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項目は全自动血液凝固測定装置(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。また、50 mg/kg群の雌1例(動物番号238)については、瀕死となった原因を追究するため、同様に検査を実施した。なお、投与期間終了時の50 mg/kg群の雌については、不妊時のデータ欠測に備え、予備動物として動物番号235も同様に検査を実施したが、全例で分娩が認められたため、本動物のデータは試験の評価に使用しなかった。

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18~20時間絶食した。

検査項目及び検査方法

| 項目 | 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 fosfatas (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、株式会社アカリティカル・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。

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、5.8.1.9. 及び 5.8.1.10. 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。さらに、精巣及び精巣上体は雄全例について測定した。また、50 mg/kg 群の雌 1 例 (動物番号 238) については、瀕死となった原因を追究するため、同様に測定を実施した。なお、投与期間終了時の 50 mg/kg 群の雌については、不妊時のデータ欠測に備え、予備動物として動物番号 235 も同様に測定を実施したが、全例で分娩が認められたため、本動物のデータは試験の評価に使用しなかった。

| | | |
|-----|----|-------------------|
| 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% グルター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 5.8.1.9. 及び 5.8.1.10. 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、腎臓及び脾臓については、投与期間終了時の中間用量群及び低用量群の 5.8.1.9. 及び 5.8.1.10. 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、肝臓についてナイル染色を、脾臓についてベルリン染色及びシュモール反応を実施した。さらに、瀕死例については、瀕死となった原因を追究するため、同様に検査を実施した。

| | | |
|------------|-------|-------------|
| 大脑* | 気管* | 腸間膜リンパ節* |
| 小脳* | 舌 | 膀胱* |
| 延髄* | 胸腺* | 精嚢* |
| 下垂体 | 肝臓* | 前立腺* |
| 脊髄(胸部)* | 脾臓 | 精巢上体* |
| 眼球 | 脾臓* | 精巢* |
| 視神経 | 腎臓* | 卵巢* |
| ハーダー腺 | 副腎* | 子宮* |
| 下頸部リンパ節* | 食道 | 腔* |
| 頸下腺 | 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、児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、死産児についても剖検し、カ一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。

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、雌雄の児体重(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, Dunnett 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]

児生存率 [(新生児の 4 日の生児数/出生児数)×100]

6. 試験結果

6.1. 反復投与毒性試験に関する結果

6.1.1. 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。

200 mg/kg 群の雄では、投与 36 日より投与終了日まで投与直後に流涎が認められた。流涎は、毎日 2 ないし 3 例で認められ、投与後 1~3 時間では消失していた。また、200 mg/kg 群の雄 2 例で投与 38 日より回復終了日まで脱毛が観察された。200 mg/kg 群の雌 1 例では、妊娠 15 日より投与期間終了日まで脱毛が認められた。50 mg/kg 群の雌 1 例（動物番号 238）では、哺育 3 日に活動性低下がみられ、哺育 4 日に活動性低下、呼吸緩慢、皮膚蒼白、眼球蒼白、鼻周囲汚染及び下腹部汚染が認められ、瀕死の状態であった。対照群では、回復に使用した雌 1 例で投与 17 日より回復終了日まで腫瘍（右鼠径部皮下）が観察された。

6.1.2. 機能観察総合検査

6.1.2.1. 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。

瀕死例（50 mg/kg 群の雌 1 例）では、哺育 4 日の検査で中等度の呼吸不全、毛並みの汚れ、覚醒状態の低下が認められた。

6.1.2.2. 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。

6.1.2.3. 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 週の検査では、前肢及び後肢の握力とともに、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。雌の哺育 4 日の検査では、各被験物質投与群で前肢握力の低値又は低値傾向が認められたが、各被験物質投与群の間に差は認められず、投与量に依存し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。

6.1.2.4. 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も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. 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。

投与期間では、200 mg/kg 群の雌雄で投与 4 日より投与期間終了日または哺育 4 日まで低値または低値傾向が認められた。

回復期間では、200 mg/kg 群の雄で回復 1 日に低値傾向がみられ、同群の雌では回復期間を通して低値または低値傾向が認められた。

瀕死例では、哺育 4 日に減少が認められた。

6.1.4. 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。

投与期間では、200 mg/kg 群の雄では、投与 4 及び 15 日で低値が認められた。同群の雌では、投与 4 日より哺育 4 日または投与期間終了日まで、低値または低値傾向が散見された。このほか、10 mg/kg 群の雌では、投与 15 日に低値が認められたが、50 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。

回復期間では、200 mg/kg 群の雄で回復 4 日に高値が認められた。同群の雌では、回復 1 日に低値が認められた。

瀕死例では、哺育 1 及び 4 日に低値が認められた。

6.1.5. 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。

6.1.6. 血液学的検査

検査結果を Table 24~26 並びに Appendix 34~38 に示す。

投与期間終了時の検査では、200 mg/kg 群の雄で赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット及び MCHC の低値、血小板数の高値、PT 及び APTT の延長がみられ、50 mg/kg 群の雄で MCHC

の低値が認められた。また、200 mg/kg 群の雌で赤血球数の低値及び網状赤血球率の高値がみられ、50 mg/kg 以上の群の雌で APTT の短縮が認められた。また、10 mg/kg 群の雄では、網状赤血球率の低値が認められたが、同様の変化が 50 mg/kg 以上の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。10 mg/kg 群の雌で網状赤血球率の高値が認められたが、同様の変化が 50 mg/kg 群でみられていないこと、かつ他の赤血球パラメーターで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。

回復期間終了時の検査では、200 mg/kg 群の雄でヘモグロビン及び MCHC の低値及び網状赤血球率の高値がみられ、同群の雌で MCV 及び MCH の高値、MCHC の低値が認められた。このほか、200 mg/kg 群の雌で好塩基球の高値が認められたが、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。

瀕死例では、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、網状赤血球率及びリンパ球比の低値がみられ、MCH、MCHC、血小板数及び単球比の高値、PT (測定限界) 及び APTT の延長が認められた。

6.1.7. 血液生化学的検査

検査結果を Table 27~29 並びに Appendix 39~43 に示す。

投与期間終了時の検査では、200 mg/kg 群の雄で α_1 -グロブリン、グルコース及びクロールの低値、 α_2 -グロブリン、アルブミン、 γ -GTP、総コレステロール及びリン脂質の高値がみられ、50 mg/kg 群の雄で総コレステロール及びリン脂質の高値が認められた。200 mg/kg 群の雌では、 α_1 -グロブリン及びグルコースの低値、総蛋白質、A/G 比、アルブミン、総コレステロール及びリン脂質の高値がみられ、50 mg/kg 群の雌で総コレステロールの高値が認められた。このほか、50 mg/kg 群の雌で ALP の低値が認められたが、200 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、200 mg/kg 群の雄でクレアチニンの低値が認められたが、軽微な変化、かつ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。

瀕死例では、総蛋白質、 α_1 -グロブリン、GOT、GPT、 γ -GPT、トリグリセライド、総コレステロール、リン脂質、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、無機リン、カルシウム及びカリウムの高値、ナトリウム及びクロールの低値が認められた。

6.1.8. 剖検

検査結果を Table 30～32 並びに Appendix 44～48 に示す。

投与期間終了時の検査では、雄の 10 mg/kg 群の 1 例、50 mg/kg 群の 3 例及び 200 mg/kg 群の 4 例で左右腎臓の肥大、10 mg/kg の 1 例、50 mg/kg 群の 3 例及び 200 mg/kg 群の 4 例で左右腎臓の褪色、200 mg/kg 群の 2 例で肝臓の肥大が認められた。このほか、200 mg/kg 群の雌 1 例で脱毛が認められたが、全身性の変化ではないこと、かつ 1 例のみ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。また、50 mg/kg 群の雄 1 例で右精巣上体の黄白色結節が認められたが、200 mg/kg 群で同様の変化が認められないことから、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、雄 1 例で肝臓の褪色が認められた。

回復期間終了時の検査では、200 mg/kg 群の雄 1 例で左右腎臓の肥大が認められた。このほか、200 mg/kg 群の雄 2 例で脱毛が認められたが、全身性の変化ではなく、発生例数も少ないことから、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 例で皮下の灰白色腫瘍（右鼠径部）が認められた。

瀕死例では、左右腎臓の黒褐色化、腺胃粘膜の暗赤色点、胸腺及び脾臓の小型化が認められた。

6.1.9. 器官重量

測定結果を Table 33～35 並びに Appendix 49～59 に示す。

投与期間終了時の測定では、10 mg/kg 以上の群の雄で腎臓の絶対及び相対重量の高値または高値傾向がみられ、50 mg/kg 群の雄及び 200 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、200 mg/kg 群の雄では胸腺の絶対重量の低値が認められた。このほか、200 mg/kg 群の雄で心臓、甲状腺、精巣及び精巣上体の相対重量の高値、同群の雌で心臓の相対重量の高値が認められたが、絶対重量に変動はみられず、かつ後述する病理組織学的検査で被験物質投与に起因した変化がみられていないことから、最終体重が低値または低値傾向を示したことによる見かけ上の変動と判断した。また、50 mg/kg 群の雄で精巣上体の絶対及び相対重量の高値が認められたが、前述の 200 mg/kg 群で被験物質投与に起因した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動と判断した。さらに、50 mg/kg 群の雌で胸腺の絶対及び相対重量の高値が認められたが、200 mg/kg 群の雌で同様の変動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動と判断した。

回復期間終了時の検査では、200 mg/kg 群の雄で腎臓の絶対及び相対重量の高値がみられ、200 mg/kg 群の雌雄で肝臓の相対重量の高値が認められた。このほか、200 mg/kg 群の雄で副腎の絶対重量の高値がみられ、同群の雌で腎臓の相対重量の高値が認められたが、同様の変動が投与期

間終了時には認められることから、被験物質投与とは関連のない変動と判断した。

瀕死例では、他の 200 mg/kg 群の雌と同様に、被験物質投与に起因した変化として、肝臓及び腎臓の相対重量の高値が認められた。また、胸腺及び脾臓の絶対及び相対重量の低値、副腎の絶対及び相対重量の高値が認められた。

6.1.10. 病理組織学的検査

検査結果を Table 36~38 並びに Appendix 60~67 に示す。

投与期間終了時の検査では、肝臓で 10 mg/kg 群の雄 1 例、50 mg/kg 群の雄全例及び雌 3 例、200 mg/kg 群の雌雄全例で小葉中心性の肝細胞の軽度ないし中等度の肥大が認められた。肥大した肝細胞の細胞質は比較的均一な好酸性を呈していた。また、対照群の雄 1 例、10 mg/kg 群の雄 2 例、50 mg/kg 群の雄 4 例、200 mg/kg 群の雄 4 例で小葉辺縁部の肝細胞の軽度の脂肪変性が認められた。この変化は、HE 染色標本の鏡顕で小葉辺縁部の肝細胞の空胞の増加がみられため、各群の代表例各 1 例についてナイル青染色を実施したところ、赤染したことから、この空胞は中性脂肪であると判断し、肝細胞の脂肪変性であると断定した。腎臓では、10 mg/kg 以上の群の雄全例で近位尿細管上皮への中等度ないし重度の硝子滴沈着が認められ、用量増加に伴って程度が増強する傾向を示した。この近位尿細管上皮細胞の硝子滴沈着が認められた各群の代表例各 3 例について α_{2u} -グロブリンの免疫染色を実施した結果、硝子滴が沈着している箇所に α_{2u} -グロブリンの存在が確認された。さらに、雄では 10 mg/kg 群の 4 例、50 mg/kg 群の 3 例、200 mg/kg 群の全例で軽度ないし中等度の好塩基性尿細管も認められた。脾臓では、200 mg/kg 群の雌雄各 4 例で赤脾髄の軽度のヘモジデリン沈着がみられ、対照群の雌 1 例、10 mg/kg 群の雌 2 例、50 mg/kg 群の雌 1 例、200 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 3 例で軽度の赤芽球性の髓外造血が認められた。ヘモジデリン沈着は、各群の代表例各 1 例についてベルリン染色を実施した結果、青染することによって確認した。その結果、ベルリン染色よりも陽性反応の程度は弱いものの陽性を示したが、生理性に生じた消耗色素が染色されたものと考えられた。このほか、200 mg/kg 群では、雄 2 例で肺の骨化生、雌雄各 1 例で肺動脈の鉱質沈着及び雄 1 例で肺の巣状出血が認められたが、健常ラットにおいて少なからずみられる変化であり¹⁾、本試験でも発生例数が少ないとから、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 例及び雌 2 例、10 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 3 例、50 mg/kg 群の雄 1 例、200 mg/kg 群の雄 1 例及び雌 2 例で肝臓の单核細胞浸潤、対照群の雄 1 例、200 mg/kg 群の雄 4 例及び雌 2 例で甲状腺の鰓後体遺残、対照群の雌 1 例及び 200 mg/kg 群の雄 1 例で肺胞への泡沫細胞の集積、対照群及び 200 mg/kg 群の雄各 1 例で精細管の萎縮、対照群の雄 3 例及び 200 mg/kg 群の雄 2 例で前立腺のリンパ球浸潤が認められた。これらの変化は、発生例数及び程度に群間で差がない

ことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。さらに、50 mg/kg群の雄1例で巣状の肝細胞壊死及び50 mg/kg群の雌1例で腎臓皮質の鉱質沈着が認められたが、200 mg/kg群で同様の変化が認められなかつたことから、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、雄1例で心臓の単核細胞浸潤が認められた。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時に観察された小葉中心性の肝細胞肥大及び近位尿細管上皮の硝子滴沈着は認められなかつた。200 mg/kg 群では、雌雄各 1 例で小葉辺縁部の肝細胞の軽度の脂肪変性、雄全例で腎臓の軽度ないし中等度の好塩基性尿細管、雄 3 例及び雌全例で脾臓の赤脾髄の軽度のヘモジデリン沈着が認められた。このほか、対照群の雄 3 例及び雌 1 例、200 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 3 例で肝臓に単核細胞浸潤が認められたが、発生例数及び程度に群間の差がないことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。対照群の雄 1 例では、巣状の肝細胞壊死が認められた。

瀕死例では、腎臓に中等度の好塩基性尿細管、顆粒円柱及び尿細管の血液の貯留が認められた。また、肝臓では、小葉中心性の肝細胞の軽度の肥大及び脂肪変性並びに軽度の巣状の肝細胞壊死が認められた。さらに、脾臓の赤脾髄の軽度のヘモジデリン沈着、胸腺及び脾臓の中等度の萎縮、副腎束状帯皮質細胞の軽度の肥大、腺胃粘膜の軽度のびらん、骨髓における軽度の赤芽球系造血の低下、肺の軽度の巣状出血が認められた。

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 68, 69 に示す。

性周期検査では、交配前投与期間を通して、性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つた。

生殖能力検査では、200 mg/kg 群の 1 組で交尾が確認されなかつたが、その他ではすべてに交尾が確認され、交尾率は対照群、10 及び 50 mg/kg 群で 100 %、200 mg/kg 群で 91.67 % であり、対照群と 200 mg/kg 群との間に有意な差は認められなかつた。また、交尾が確認された動物では全例で分娩がみられ、受胎率は対照群、20, 80 及び 300 mg/kg 群のいずれでも 100 % であり、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つた。

6.2.1.2. 分娩及び哺育状態

検査結果を Table 40 及び Appendix 70 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、瀕死例を除く全例で分娩及び哺育状態に異常は認められなかった。

瀕死例では、分娩状態及び哺育 1 日の哺育状態に異常は認められなかつたが、哺育 2 日より授乳行動がみられなくなり、哺育 3 日より出生児の回集が認められなかつた。本例では、哺育 3 日より一般状態で活動性低下などの症状が観察されていることから、全身状態の悪化により、哺育状態の不良がみられたと考えられた。

6.2.2. 児動物に及ぼす影響

検査結果を Table 40 及び Appendix 70 に示す。

分娩時検査では、出生児の外表異常検査で 200 mg/kg 群の 1 例に外脳症、眼瞼開存（右）及び舌突出が認められたが、型別の外表異常出現率に対照群と比較して有意な差は認められなかつた。出産児数、出生率、出生児数、雌雄児体重、死産率及び出生児の性比では被験物質投与に起因した変化は認められなかつた。

哺育期の検査では、出生後 4 日の体重で雌雄ともに低値が認められた。児生存率及び剖検では、被験物質投与に起因した変化は認められなかつた。

7. 考察

2-メチル-2-プロパンチオールの安全性に関する毒性試験の一環として、2-メチル-2-プロパンチオールを10, 50及び200mg/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(未交尾動物は雄と同様の42日間)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。

1. 濕死例

50mg/kg群の雌1例では、哺育3日より状態が悪化し、哺育4日には活動性低下、呼吸緩慢、皮膚蒼白、眼球蒼白、鼻周囲汚染及び下腹部汚染が認められた。本例では、一般状態及び血液学的検査で貧血を示唆する変化がみられ、腎臓では肉眼的に黒褐色化、組織学的に出血性変化及び障害性変化が認められた。これらのことから、腎臓からの出血に伴った失血性貧血あるいは腎機能障害が濕死の原因と考えられた。腎臓の変化は、その発生機序は不明であるが、本例のみに認められた変化であり、200mg/kg群の雌に同様の変化が認められなかつたことから、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。また、病理組織学的検査で肝臓にみられた小葉中心性の肝細胞の脂肪変性は、貧血に伴う低酸素症に関連している可能性が考えられ^{2,3)}、血液生化学的検査でみられた脂質系パラメーターの変化もこの変化に起因したものと考えられた。前述のほかにも、一般状態、観察機能検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査で種々の変化が認められたが、いずれも一般状態の悪化に伴った変化と判断した。

2. 反復投与毒性

投与期間を通して、死亡の発生はなかった。

一般状態では、投与36日より投与終了日まで、200mg/kg群の雄で流涎が認められた。流涎は投与直後に認められ、投与後2~3時間には消失するという一過性の変化であり、その他の自律神経系への作用を示唆する変化(縮瞳、流涙等)が認められなかつたことから、自律神経系への作用により惹起されたものではなく、被験物質の刺激等により誘発されたものと考えられ、毒性学的意義はないものと判断した。

機能観察総合検査及び尿検査では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。体重では、200 mg/kg 群の雌雄で投与期間を通して低値または低値傾向が認められた。また、摂餌量では、200 mg/kg 群の雄で投与 4 及び 15 日に、同群の雌で投与期間を通して低値または低値傾向が散見された。

血液学的検査では、200 mg/kg 群の雄で赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット及び MCHC の低値が、同群の雌で赤血球数の低値及び網状赤血球率の高値がみられ、50 mg/kg 群の雄では MCHC の低値が認められた。また、病理組織学的検査では、200 mg/kg 群の雌雄で赤脾髄の軽度のヘモジデリン沈着（ベルリン青染色陽性）が認められた。この脾臓の赤脾髄のヘモジデリン沈着は、被験物質投与による溶血性貧血の可能性が考えられた。なお、病理組織学的検査で骨髓に赤血球産生低下などの変化は認められなかった。さらに、赤芽球性の髓外造血が 200 mg/kg 群の雄及び対照群を含む各群の雌に認められ、200 mg/kg 群で多く発生する傾向にあることから、200 mg/kg 群の変化は赤血球数の低値に対して脾臓での造血亢進が生じたものと考えられた。しかし、雌では、対照群でも認められており、その発生頻度に差がないこと、妊娠・出産による貧血で髓外造血が亢進されることから、10 及び 50 mg/kg 群の雌の変化については被験物質投与との関連はないと判断した。また、50 mg/kg 以上の群の雌で APTT の短縮が認められた。

肝臓では、肉眼的に 200 mg/kg 群の雄で肥大、組織学的に 10 mg/kg 以上の群の雄及び 50 mg/kg 以上の群の雌で小葉中心性の肝細胞の軽度ないし中等度の肥大が認められた。肝細胞肥大は、ペルオキシソーム、滑面小胞体などの細胞内小器官の増加によって生じることが知られている²⁾。本試験では、肥大が小葉中心性に生じていたこと、肥大した肝細胞の細胞質が顆粒状でなく、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。さらに、対照群を含む各群の雄で小葉辺縁部の肝細胞の軽度の脂肪変性（ナイル青染色で赤染）が認められた。この変化は、雄のみの発生で、対照群から認められたものの、50 mg/kg 以上の群で多く発生する傾向にあることから、被験物質投与に関連した肝臓の脂質代謝系への影響を示唆するものと考えられた。また、血液生化学的検査で 50 ないし 200 mg/kg 群の雌雄で総コレステロール及びリン脂質の高値がみられ、これらの変化は雌雄でみられているものの、前述の肝臓の脂質代謝系への影響を示唆する変化と考えられた。

腎臓では、10 mg/kg 以上の雄に肉眼的に肥大及び褪色、組織学的に近位尿細管上皮への中等度ないし重度の硝子滴沈着がみられ、さらに絶対及び相対重量の高値または高値傾向が認められた。

硝子滴沈着は、用量増加に伴って程度が増強する傾向が認められ、この近位尿細管上皮細胞の硝子滴沈着がみられた箇所では、 α_{2u} -グロブリンの存在が確認され、この変化は雄性ラットに特有の変化であることが知られている⁴⁾。また、好塩基性尿細管は、硝子滴の程度が強くなると二次的に尿細管傷害を誘起することが知られている⁴⁾。本試験でみられた変化は、尿細管上皮に沈着した硝子滴の程度が弱い 10 mg/kg 群でも好塩基性尿細管の発生が多いことから、被験物質の直接的な影響で生じた可能性が考えられた。この腎臓の変化に関連のある変化として、血液生化学的検査で 200 mg/kg 群の雄にみられたクロールの低値が認められた。

以上のほか、血液学的検査では、200 mg/kg 群の雄で血小板数の高値、PT 及び APTT の延長が認められた。また、血液生化学的検査では、200 mg/kg 群の雄で α_1 -グロブリン、グルコースの低値、 α_2 -グロブリン、アルブミン及び γ -GTP の高値が、200 mg/kg 群の雌で α_1 -グロブリン及びグルコースの低値、総蛋白質、A/G 比及びアルブミンの高値が認められた。これらの変化は、肝臓の機能低下による変化と考えられたが、病理組織学的検査で肝臓に障害性変化は認められなかった。これらのほか、器官重量で 200 mg/kg 群の雄に胸腺の絶対重量の低値が認められた。

回復期間終了時の検査では、投与期間終了時の変化に引き続き、肝臓で 200 mg/kg 群の雌雄で組織学的に小葉辺縁部の肝細胞の軽度の脂肪変性及び相対重量の高値が認められた。しかし、脂肪変性の発生例数は減少し、重量変動の程度も軽減しており、血液生化学的検査でみられた脂質系パラメーターの変化も認められなかった。腎臓では、200 mg/kg 群の雄に剖検で肥大、組織学的に軽度ないし中等度の好塩基性尿細管がみられ、さらに絶対及び相対重量の高値が認められたが、近位尿細管上皮における硝子滴は消失していた。脾臓では、200 mg/kg 群の雌雄で組織学的に赤脾髄の軽度のヘモジデリン沈着、血液学的検査で 200 mg/kg 群の雄でヘモグロビン及び MCHC の低値と網状赤血球率の高値がみられ、さらに投与期間終了時でみられていない変化として 200 mg/kg 群の雌で MCV 及び MCH の高値と MCHC の低値が認められたが、赤芽球性の髓外造血は消失しており、赤血球数やヘマトクリットに変化はなかった。これらの変化は、いずれも投与期間終了時と比較して、その程度が軽減するか、あるいは関連する変化に消失ないし軽減する傾向が認められたことから、時間は要するものの、回復していくものと推察された。また、200 mg/kg 群の雄では回復 1 日に体重の低値傾向がみられ、同群の雌では回復期間を通して体重の低値及び回復 1 日に摂餌量の低値が認められたが、雌雄ともに回復期間中の体重の増加量及び回復 4 日以降の摂餌量は対照群とほぼ同じかそれを上回っていたことから、回復しているものと判断した。その他はいずれの変化も消失していた。

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雄では 10 mg/kg/day 未満、雌では 10 mg/kg/day と推察された。

3. 生殖発生毒性

親動物では、性周期検査、性周期、発情回数、交尾率、受(授)胎率、交尾所要日数、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、200 mg/kg 群で生後 4 日の雌雄の児体重で低値が認められた。また、200 mg/kg 群の 1 例で外表検査に脳症、眼瞼開存（右）及び舌突出がみられたが、これらの異常はいずれも 1 例のみに観察された変化であり、自然発生的にみられる所見として報告されていることから^{6), 7)}、被験物質投与とは関連のない変化と判断した。出産児数、出生率、出生児数、死産率、性比、外表異常出現率、児生存率、生後 0 日の雌雄児体重では、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生殖毒性に関する無影響量は 200 mg/kg/day、発生毒性に関する無影響量は 50 mg/kg/day と推察された。

8. 参考文献

- 1) Tokuhisa Nagayabu et al. (1999): Crj:CD(SD)IGS Rats and Effects of a Commercial Low Protein Diet on the Biological Parameters Used in Repeated-Dose Toxicity Studies at the Hikari Branch, Drug Safety Research Laboratories in Takeda Chemical Industries, Ltd., Biological Reference Data on CD(SD)IGS Rats, pp.89-104
- 2) 原田 孝則, 真板 敬三 (2000): 各論 5 章 肝／胆嚢, 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.179-213.
- 3) 土井 邦雄 (2000): 総論 3 章 化学物質による細胞傷害のメカニズム, 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.31-38.
- 4) P. Greaves (1990): Urinary Tract. In: Histopathology of preclinical toxicity studies. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp497-583.
- 5) P. Greaves (1990): Haemopoietic and Lymphatic Systems. In: Histopathology of preclinical toxicity studies. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp77-142.
- 6) Nakatuka, T., Horimoto, M., Ito, M., Matubara, Y., Akaike, M. and Ariyuki, F.(1997) : Japan pharmaceutical manufacturers association(JPMA) survey on background control data of developmental and reproductive toxicity studies in rats, rabbits and mice. Congenital Anomalies, 37, 74-81.
- 7) 亀山 義郎, 谷村 孝, 安田 峰生編(1980) : 実験動物における自然発生奇形, 先天異常, 20(1), 25-106.

2-メチル-2-プロパンチオールのラットを用いる
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 |

Study No.P041487

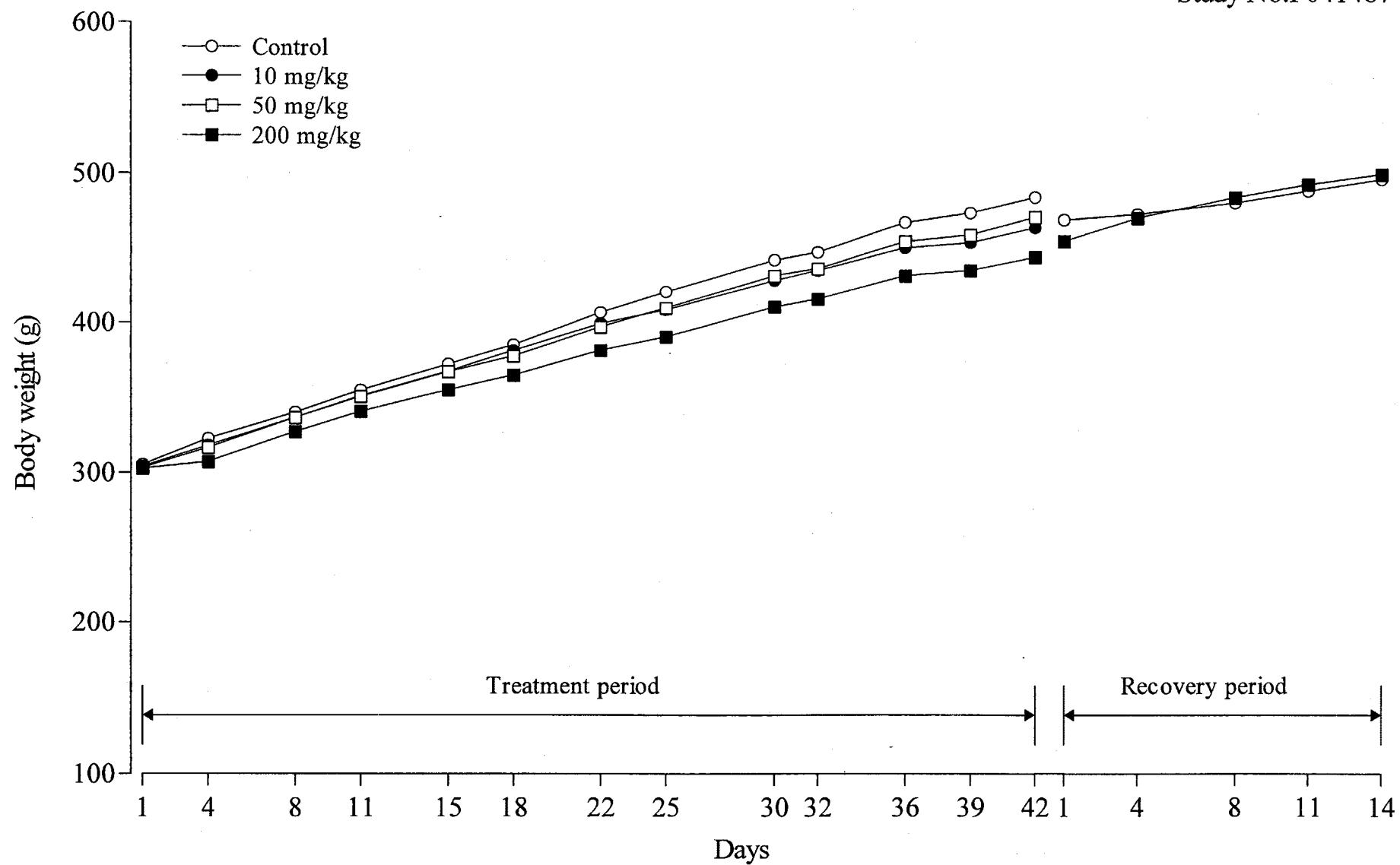


Figure 1 Body weight changes in male rats

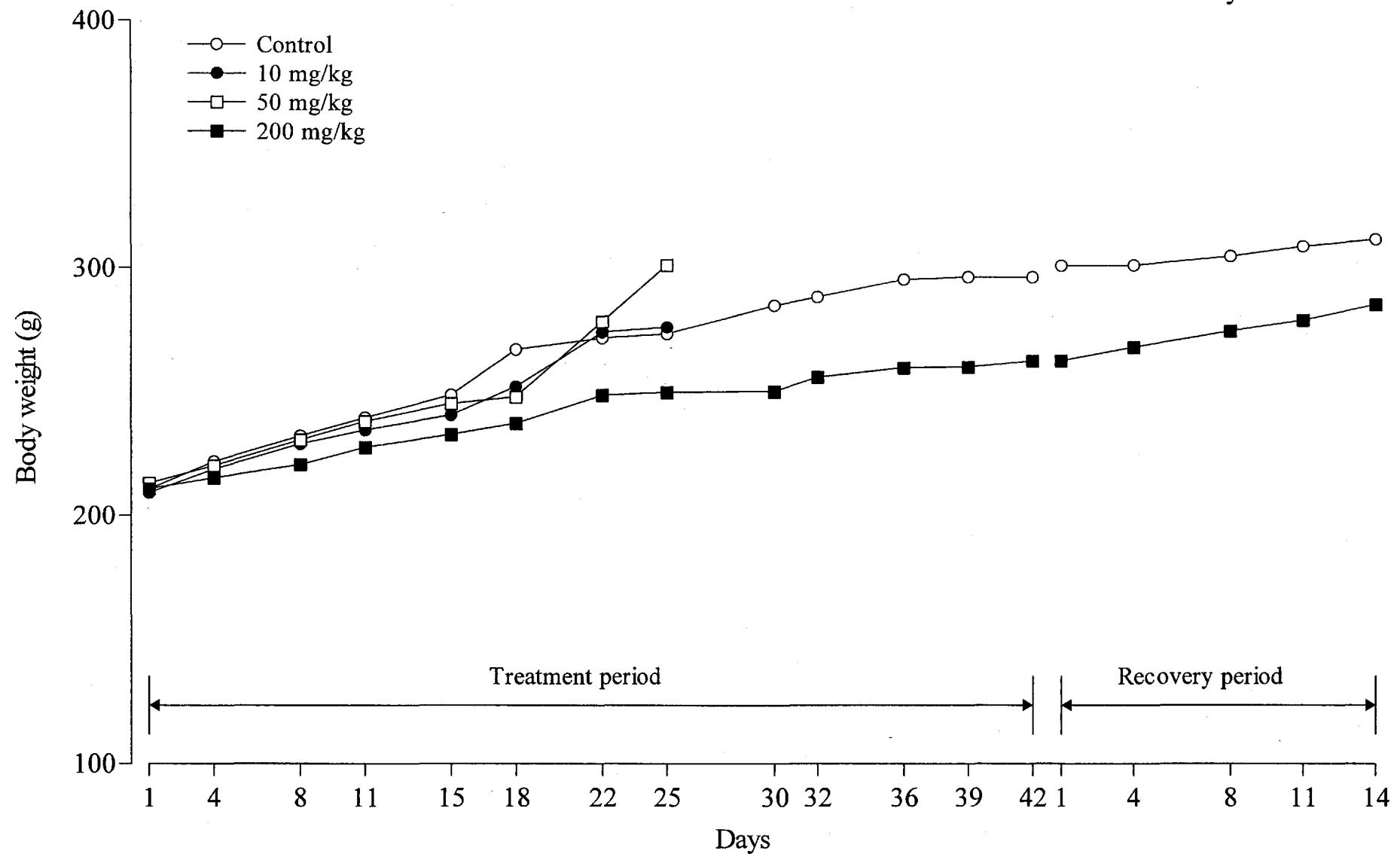


Figure 2 Body weight changes in female rats

Study No.P041487

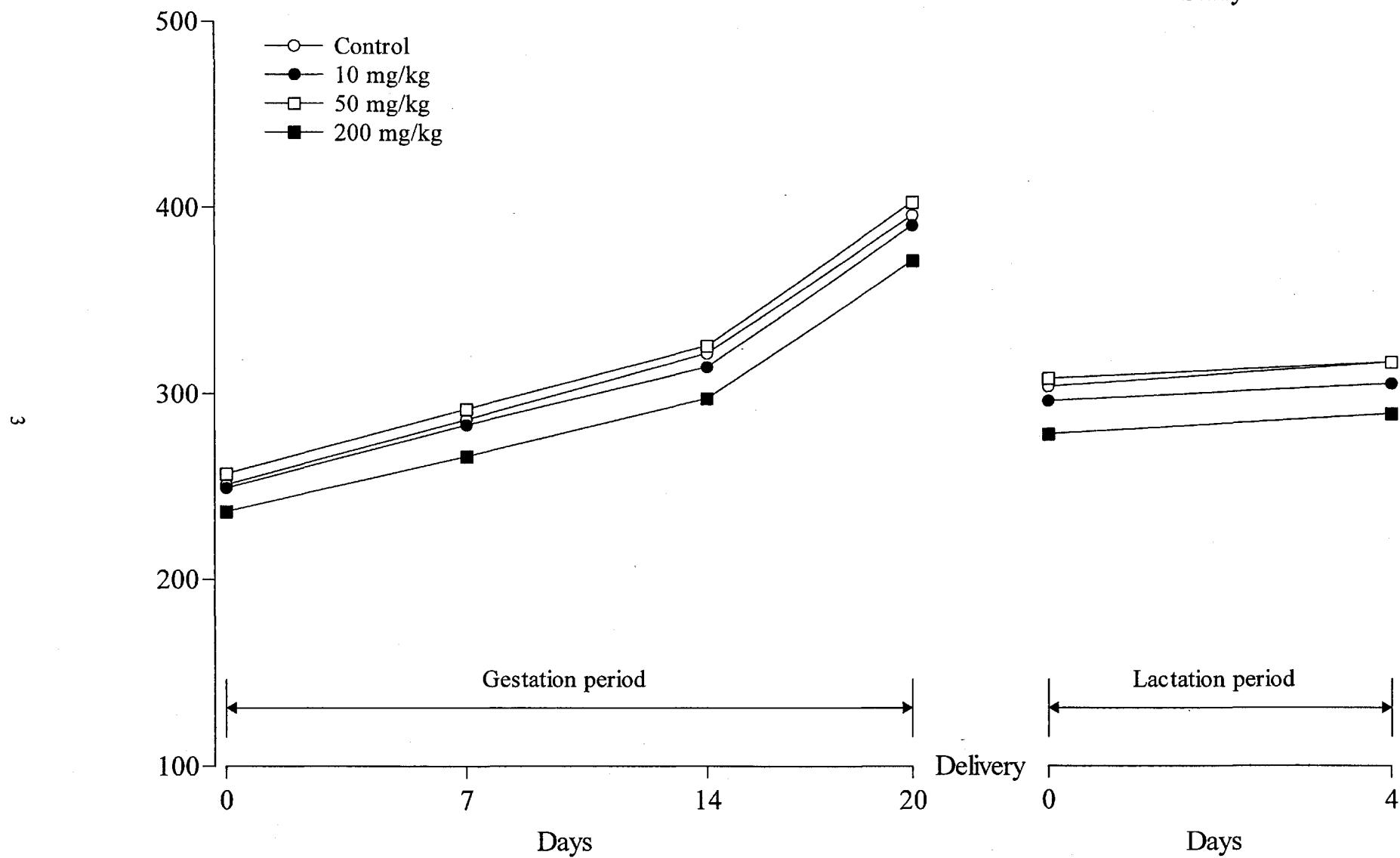


Figure 3 Body weight changes in F0 dams - gestation and lactation period -

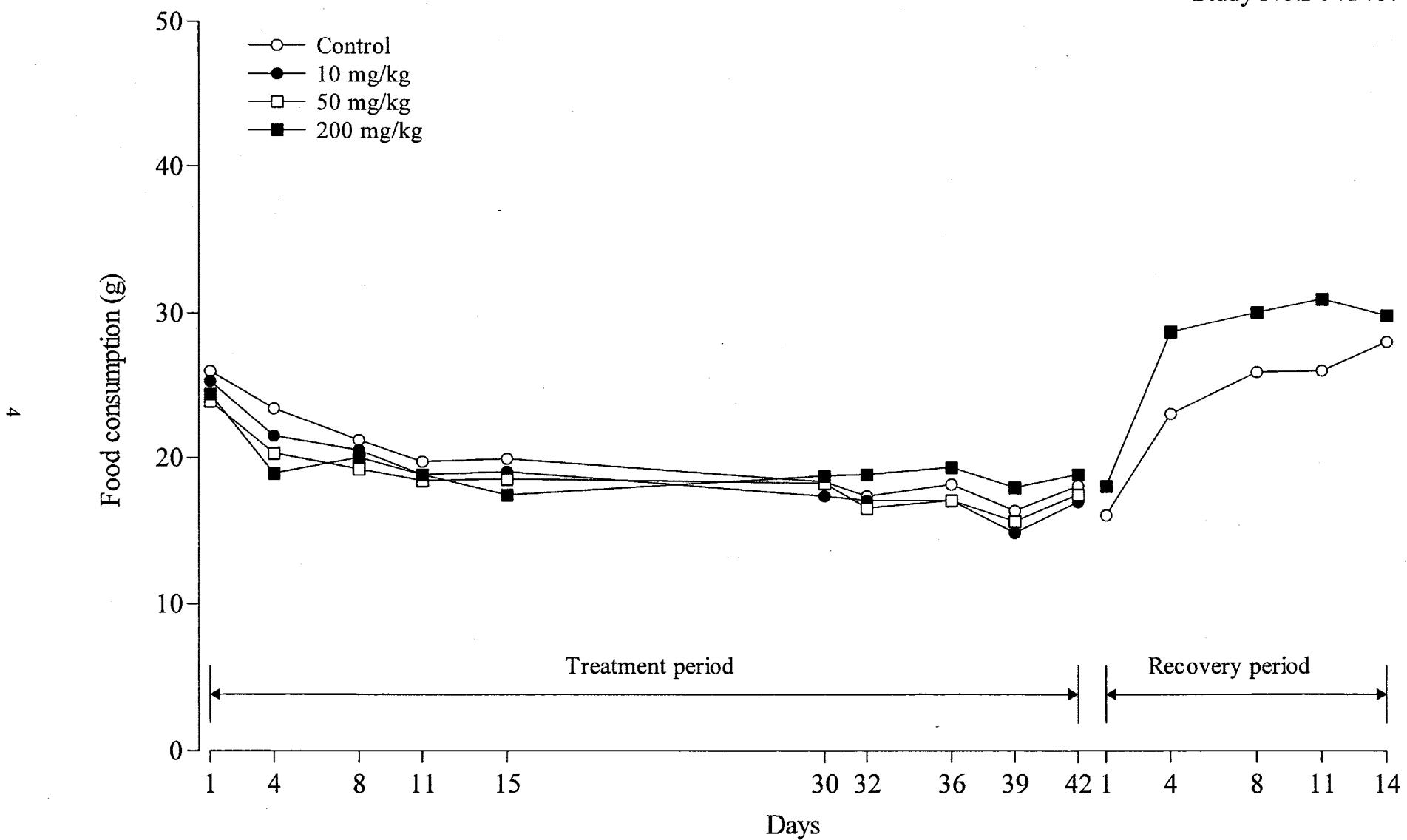


Figure 4 Food consumption in male rats

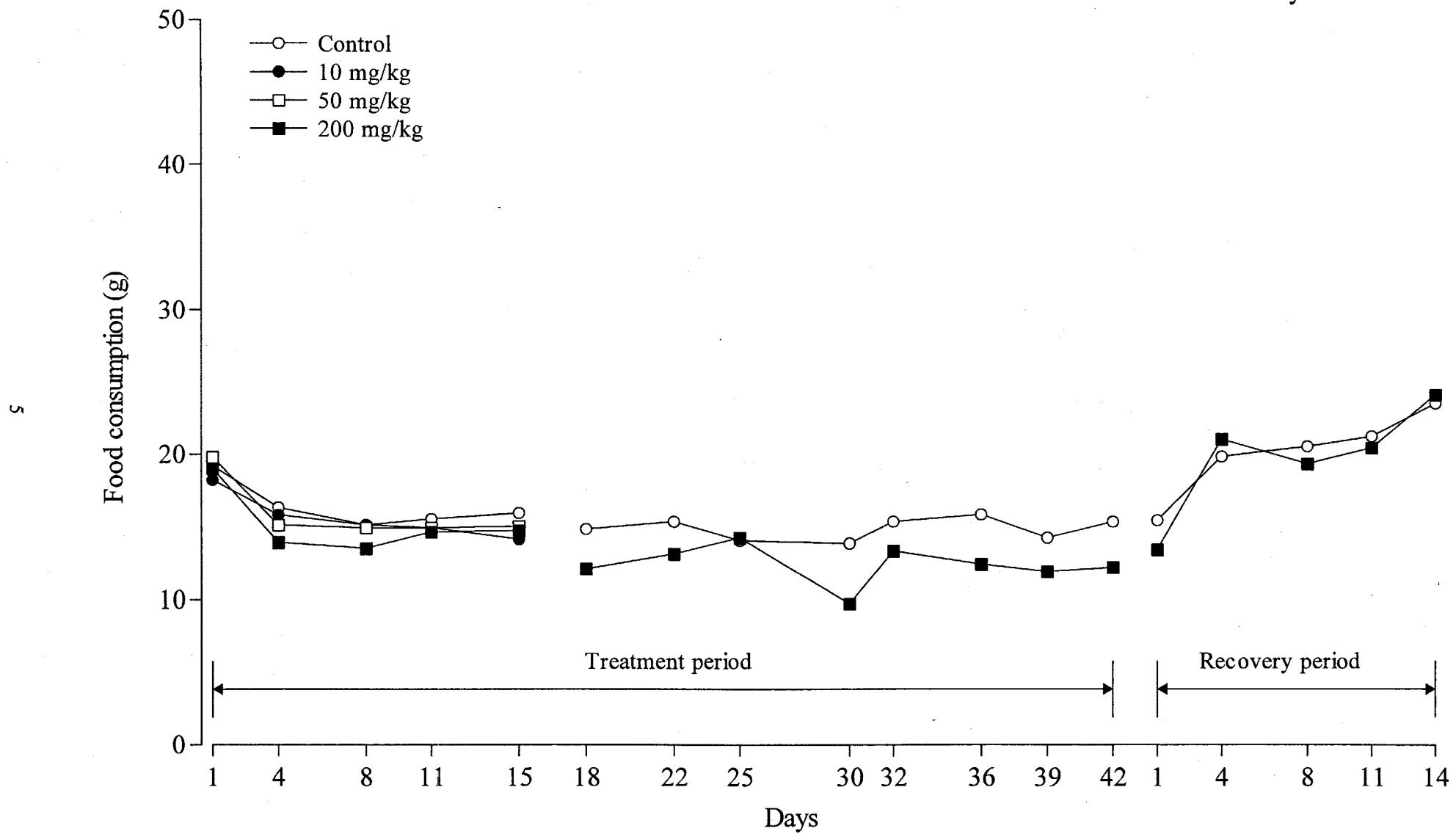


Figure 5 Food consumption in female rats

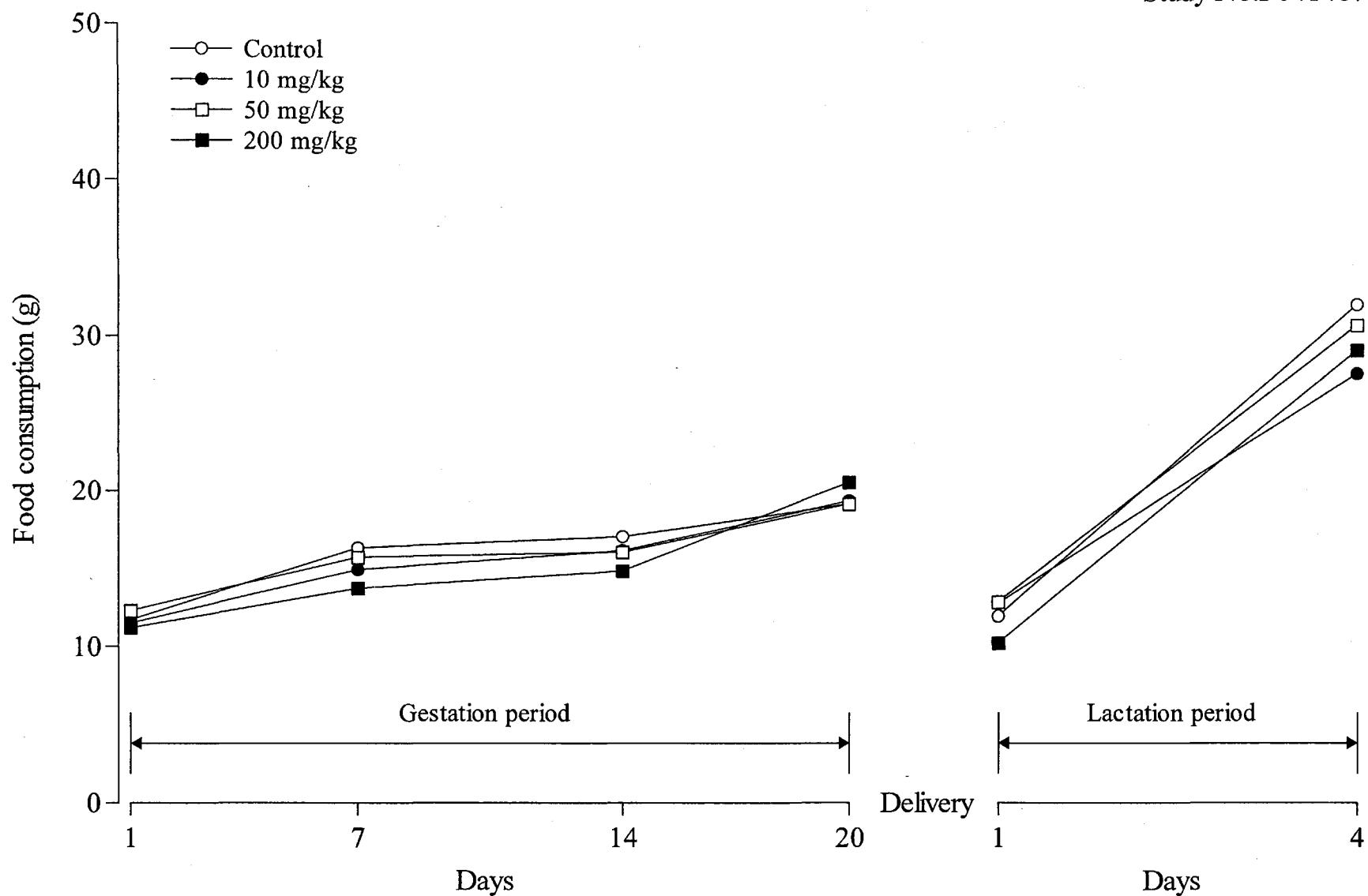


Figure 6 Food consumption in F0 dams - gestation and lactation period -

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 | |
| | 10 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 | |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 50 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 | |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 200 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 | |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | | Salivation | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | Loss of hair | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Female | Control | Number of examined | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 14 | 13 | 7 | 6 | 6 |
| | | No abnormality | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 13 | 12 | 6 | 5 | 5 |
| | | Mass | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| | 10 mg/kg | Number of examined | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | 7 | 2 | 1 | 1 |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 | 7 | 2 | 1 | 1 |
| | 50 mg/kg | Number of examined | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 9 | 9 | 4 | 1 | 1 |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 9 | 9 | 4 | 1 | 1 |
| | 200 mg/kg | Number of examined | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 16 | 14 | 10 | 7 | 7 |
| | | No abnormality | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 16 | 14 | 10 | 7 | 7 |

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 |
| | 10 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 |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 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 |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Salivation | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| | | Loss of hair | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 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 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | | Mass | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 10 mg/kg | Number of examined | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | No abnormality | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 50 mg/kg | Number of examined | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | No abnormality | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 200 mg/kg | Number of examined | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | | No abnormality | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

Table 1 - continued Clinical signs in male and female rats

| Sex | Group and dose | Clinical sign | Days of recovery atment | | | | | | | | | | | | |
|--------|----------------------|--------------------|-------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| Male | Control | Number of examined | 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 |
| | | 200 mg/kg | Number of examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | No abnormality | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | | Loss of hair | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | | Control | Number of examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Female | Control | No abnormality | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | | Mass | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | | 200 mg/kg | Number of examined | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | No abnormality | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

Table 2 Clinical signs in F₀ 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 |
| Female | Control | Number of examined | 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 |
| | 10 mg/kg | Number of examined | 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 |
| | 50 mg/kg | Number of examined | 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 |
| | | Hypoactivity | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Pale skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Pale eyes | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Soiled perinaris | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | Soiled periproctal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 200 mg/kg | Number of examined | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | No abnormality | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | Loss of hair | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |

Table 2 - continued Clinical signs in F₀ 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 |
| | 10 mg/kg | Number of examined | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 6 | 0 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 6 | 0 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | Number of examined | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 3 | 1 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | No abnormality | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 3 | 1 | 12 | 12 | 12 | 11 | 11 |
| | | Hypoactivity | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | | Bradypnea | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | Pale skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | Pale eyes | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | Soiled perinaris | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | | Soiled periproctal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 200 mg/kg | Number of examined | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 2 | 0 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | No abnormality | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 2 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| | | Loss of hair | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|-----|------------------|-----------------------|-------------|------------------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 soild fur; 3, Extreme soild fur.

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

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

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

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

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 2 | Gait 2 | Stereotypies and/or bizarre behaviors 1 | Ptosis 1 | Diarrhea 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 rats - before administration -

| Sex | Group and dose | Number of animals | Observation on the open field | |
|--------|----------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|
| | | | Defecation (number) | Urination (number) |
| Male | Control | 12 | 4 ±2 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 3 ±2 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 3 ±3 | 1 ±1 |
| | 200 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±1 |
| Female | Control | 17 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 17 | 0 ±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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 obsrevation | | | | | |
|--------|----------------|-------------------|-----------------------|-------------|------------|--------------|----------------------------|------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 1 | Fur 1 | Mucous membranes 2 | Incontinence of urine 1 | Muscle tone 2 | Body temperature 2 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 soild fur; 3, Extreme soild fur.

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

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

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

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

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 rats - week 1 -

| Sex | Group and dose | Number of animals | Observation on the open field | |
|--------|----------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|
| | | | Defecation (number) | Urination (number) |
| Male | Control | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 3 ±3 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| Female | Control | 17 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 1 ±2 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 17 | 0 ±1 | 0 ±0 |

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|-----|------------------|-----------------------|-------------|------------------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 soild fur; 3, Extreme soild fur.

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

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

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

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

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 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 rats - week 2 -

| Sex | Group and dose | Number of animals | Observation on the open field | |
|--------|----------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|
| | | | Defecation (number) | Urination (number) |
| Male | Control | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 4 ±3 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 12 | 4 ±2 | 0 ±0 |
| Female | Control | 17 | 1 ±2 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 17 | 0 ±1 | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | 10 mg/kg | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 50 mg/kg | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 200 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 6 - continued

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

| Sex | Group and dose | Number of animals | Hand held obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | 10 mg/kg | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 50 mg/kg | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 200 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 convolution of limb or/and head shivering; 3, Clonic convolution; 4, Tonic flexion or tonic extension convolution.

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|-------------|------------|--------------|----------------------------|------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | 10 mg/kg | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 50 mg/kg | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 200 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 6 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 -

| Sex | Group and dose | Number of animals | Hand held obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|----------|-----------------------|----------------------------|------------------|-----------------------|
| | | | Piloerection 1 | Fur 1 | Mucous membranes 2 | Incontinence of urine 1 | Muscle tone 2 | Body temperature 2 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | 10 mg/kg | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 50 mg/kg | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 200 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 soild fur; 3, Extreme soild fur.

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

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

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

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

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| | 10 mg/kg | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 50 mg/kg | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 200 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 6 - continued Detailed clinical observation in male and female rats - week 3 -

| Sex | Group and dose | Number of animals | Observation on the open field | |
|--------|----------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|
| | | | Defecation (number) | Urination (number) |
| Male | Control | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 3 ±2 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| Female | Control | 7 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 2 | 0 - | 0 - |
| | 50 mg/kg | 4 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 10 | 1 ±2 | 0 ±0 |

Not 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 10 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 50 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------|-------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 10 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 50 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 10 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 50 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|-----|------------------|-----------------------|-------------|------------------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 10 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 50 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

Not significantly different from control.

Observation and score.

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

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

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

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

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

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

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 10 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 50 mg/kg | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 rats - 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 1 ±1 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±1 |
| | 200 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| Female | Control | 5 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 1 | - | - |
| | 50 mg/kg | 1 | - | - |
| | 200 mg/kg | 6 | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|-------------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 convolution of limb or/and head shivering; 3, Clonic convolution; 4, Tonic flexion or tonic extension convolution.

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 urinæ.

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 rats - week 5 -

| Sex | Group and dose | Number of animals | Observation on the open field | |
|--------|----------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|
| | | | Defecation (number) | Urination (number) |
| Male | Control | 12 | 1 ±2 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 1 ±2 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 1 ±2 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 12 | 2 ±2 | 0 ±0 |
| Female | Control | 5 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 6 | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------|-------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 convolution of limb or/and head shivering; 3, Clonic convolution; 4, Tonic flexion or tonic extension convolution.

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 1 | Fur 1 | Mucous membranes 2 | Incontinence of urine 1 | Muscle tone 2 | Body temperature 2 |
| Male | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 urinæ.

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Female | Control | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

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 rats - 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 1 ± 2 | 0 ± 0 |
| | 200 mg/kg | 12 | 1 ± 2 | 0 ± 0 |
| Female | Control | 5 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| | 200 mg/kg | 6 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |

55
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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 obsevation | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Female | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|-----|------------------|-----------------------|-------------|------------------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

Not significantly different from control.

Observation and score.

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

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

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

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

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

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

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 | 1 ±1 | 0 ±0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 0 ±0 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 11 | 0 ±0 | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 Fo dams - day 14 of gestation -

| Sex | Group and dose | Number of dams | Hand held obsrevation | | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|-----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Female | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|-------------|------------|--------------|----------------------------|------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|-----|------------------|-----------------------|-------------|------------------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

Not significantly different from control.

Observation and score.

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

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

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 11 | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 obsevation | | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------|---------|----------|-------------|-------------|
| | | | Handling reactivity | Vocalizations | Tremors | Twitches | Convulsions | Respiration |
| | | | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 3 |
| Female | Control | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 0 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 11 1 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 0 |

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 obssrevation | | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|------------------------|-------------|------------|--------------|----------------------------|------|
| | | | 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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |

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 obsevation | | | | | | | | |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|--|-----|---|------------------|--|-----------------------|----|-------------|
| | | | Piloerection | | Fur | | Mucous membranes | | Incontinence of urine | | Muscle tone |
| | | | 1 | | 1 | 3 | 2 | | 1 | 2 | 2 |
| Female | Control | 12 | 12 | | 12 | 0 | 12 | | 12 | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 12 | | 12 | 0 | 12 | | 12 | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 12 | | 11 | 1 | 12 | | 12 | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 11 | | 11 | 0 | 11 | | 11 | 11 | 11 |

Not significantly different from control.

Observation and score.

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

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

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

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

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

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

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 | |
| | | | 1 | 2 | 2 | | 1 | | 1 | 1 |
| Female | Control | 12 | 0 | 12 | 12 | | 12 | | 12 | 12 |
| | 10 mg/kg | 12 | 0 | 12 | 12 | | 12 | | 12 | 12 |
| | 50 mg/kg | 12 | 1 | 11 | 12 | | 12 | | 12 | 12 |
| | 200 mg/kg | 11 | 0 | 11 | 11 | | 11 | | 11 | 11 |

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 |
| | 10 mg/kg | 12 | 1 ±2 | 0 ±0 |
| | 50 mg/kg | 12 | 0 ±1 | 0 ±0 |
| | 200 mg/kg | 11 | 0 ±1 | 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 |
| | 10 mg/kg | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 50 mg/kg | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 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; 2, 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 |
| | 10 mg/kg | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 50 mg/kg | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 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; 2, 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 | 1002 | 495 |
| | | S.D. | ± 144 | ± 57 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 1198 | 461 |
| | | S.D. | ± 365 | ± 104 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 1124 | 519 |
| | | S.D. | ± 226 | ± 189 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 1093 | 498 |
| | | S.D. | ± 161 | ± 128 |

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 | 1037 | 449 |
| | | S.D. | ±229 | ±79 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 573** | 409 |
| | | S.D. | ±171 | ±95 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 695 | 452 |
| | | S.D. | ±258 | ±66 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 598* | 346 |
| | | S.D. | ±198 | ±48 |

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

Table 17 Motor activity in male rats - week 6 -

| Sex | Group and dose | Motor 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 |
| | | Mean | 3029 | 1883 | 1862 | 1225 | 1415 | 10674 |
| | | S.D. | ±1302 | ±512 | ±1261 | ±1047 | ±977 | ±6219 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 3009 | 1644 | 1087 | 449 | 1398 | 7854 |
| | | S.D. | ±486 | ±1040 | ±999 | ±226 | ±1124 | ±2416 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 3254 | 1878 | 1352 | 1356 | 1429 | 10415 |
| | | S.D. | ±837 | ±436 | ±255 | ±149 | ±379 | ±1131 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 2496 | 1516 | 1158 | 952 | 1030 | 8032 |
| | | S.D. | ±384 | ±406 | ±248 | ±628 | ±745 | ±2122 |

Not significantly different from control.

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

| Sex | Group and dose | Mortor activity | | | | | | |
|--------|----------------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | Time in minutes | | | | | | |
| | | 0-10 | 10-20 | 20-30 | 30-40 | 40-50 | 50-60 | Total |
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 1284 | 1127 | 670 | 513 | 495 | 509 |
| | | S.D. | ±287 | ±712 | ±560 | ±401 | ±383 | ±231 |
| | | | | | | | | ±2025 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 1326 | 585 | 1112 | 798 | 513 | 486 |
| | | S.D. | ±573 | ±295 | ±220 | ±304 | ±503 | ±712 |
| | | | | | | | | ±1897 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 1614 | 1068 | 1019 | 892 | 759 | 780 |
| | | S.D. | ±1187 | ±921 | ±1021 | ±1201 | ±705 | ±1011 |
| | | | | | | | | ±5507 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 1506 | 585 | 502 | 520 | 489 | 702 |
| | | S.D. | ±420 | ±515 | ±520 | ±376 | ±382 | ±481 |
| | | | | | | | | ±1048 |

Not significantly different from control.

Table 19 Body weights in male and female rats

| Group and dose | Male | | | | | | | | | | | |
|-------------------|---------|------|-------|----------|------|-------|-----------------|------|-------|-----------|-------|-------|
| | Control | | | 10 mg/kg | | | 50 mg/kg | | | 200 mg/kg | | |
| Days of treatment | | | | | | | Body weight (g) | | | | | |
| 1 | 305.0± | 14.5 | (12) | 303.9± | 15.3 | (12) | 303.1± | 13.5 | (12) | 302.5± | 15.9 | (12) |
| 4 | 322.2± | 18.8 | (12) | 317.7± | 19.7 | (12) | 316.3± | 14.0 | (12) | 307.0± | 17.1 | (12) |
| 8 | 339.7± | 22.0 | (12) | 336.2± | 22.8 | (12) | 336.2± | 18.6 | (12) | 326.8± | 20.5 | (12) |
| 11 | 354.5± | 25.0 | (12) | 350.6± | 27.0 | (12) | 350.3± | 19.3 | (12) | 340.3± | 22.8 | (12) |
| 15 | 371.7± | 27.3 | (12) | 367.1± | 30.1 | (12) | 366.7± | 22.2 | (12) | 354.6± | 24.7 | (12) |
| 18 | 384.8± | 26.4 | (12) | 380.8± | 31.2 | (12) | 377.2± | 24.1 | (12) | 364.4± | 27.3 | (12) |
| 22 | 406.4± | 30.3 | (12) | 399.1± | 33.5 | (12) | 396.8± | 25.7 | (12) | 381.0± | 28.0 | (12) |
| 25 | 420.2± | 32.2 | (12) | 408.2± | 35.2 | (12) | 409.5± | 26.2 | (12) | 390.1± | 29.7 | (12) |
| 30 | 441.6± | 32.5 | (12) | 427.9± | 36.6 | (12) | 431.1± | 27.1 | (12) | 410.1± | 32.9 | (12) |
| 32 | 446.8± | 32.8 | (12) | 434.6± | 36.3 | (12) | 435.9± | 28.1 | (12) | 415.6± | 31.8 | (12) |
| 36 | 466.7± | 35.4 | (12) | 449.7± | 37.4 | (12) | 453.9± | 30.4 | (12) | 431.1± | 33.7* | (12) |
| 39 | 472.8± | 35.4 | (12) | 453.1± | 38.2 | (12) | 458.4± | 29.6 | (12) | 434.6± | 34.6* | (12) |
| 42 | 483.3± | 33.7 | (12) | 463.1± | 38.3 | (12) | 470.3± | 31.1 | (12) | 443.5± | 33.4* | (12) |
| Days of recovery | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 468.3± | 32.5 | (5) | | | | | | | 454.1± | 25.9 | (5) |
| 4 | 472.0± | 33.9 | (5) | | | | | | | 469.6± | 28.5 | (5) |
| 8 | 479.5± | 36.8 | (5) | | | | | | | 483.1± | 31.3 | (5) |
| 11 | 487.3± | 38.4 | (5) | | | | | | | 491.8± | 32.9 | (5) |
| 14 | 495.1± | 34.9 | (5) | | | | | | | 498.4± | 33.0 | (5) |

*: P<0.05 (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 | | | 10 mg/kg | | | 50 mg/kg | | | 200 mg/kg | | |
| Days of treatment | | | | | | | Body weight (g) | | | | | |
| 1 | 210.6± | 10.0 | { 17) | 209.1± | 11.0 | { 12) | 213.0± | 10.9 | { 12) | 210.8± | 10.1 | { 17) |
| 4 | 221.7± | 13.2 | { 17) | 218.6± | 11.0 | { 12) | 220.1± | 13.6 | { 12) | 215.1± | 10.7 | { 17) |
| 8 | 231.9± | 14.3 | { 17) | 228.8± | 12.5 | { 12) | 230.3± | 17.5 | { 12) | 220.5± | 11.3 | { 17) |
| 11 | 239.2± | 16.6 | { 17) | 234.2± | 14.7 | { 12) | 237.7± | 20.0 | { 12) | 227.4± | 12.8 | { 17) |
| 15 | 248.3± | 20.3 | { 17) | 240.3± | 16.1 | { 12) | 244.9± | 20.3 | { 12) | 232.5± | 14.1* | { 17) |
| 18 | 266.7± | 24.6 | { 7) | 251.6± | - | { 2) | 247.5± | 21.7 | { 4) | 236.9± | 18.3 | { 10) |
| 22 | 271.3± | 12.9 | { 5) | 273.6± | - | { 1) | 277.9± | - | { 1) | 248.1± | 17.4 | { 7) |
| 25 | 272.9± | 17.3 | { 5) | 275.6± | - | { 1) | 300.8± | - | { 1) | 249.3± | 16.7 | { 6) |
| 30 | 284.3± | 19.3 | { 5) | | | | | | | 249.6± | 17.9* | { 6) |
| 32 | 287.8± | 18.0 | { 5) | | | | | | | 255.3± | 16.6* | { 6) |
| 36 | 294.8± | 21.6 | { 5) | | | | | | | 259.1± | 17.8* | { 6) |
| 39 | 295.8± | 20.7 | { 5) | | | | | | | 259.4± | 19.0* | { 6) |
| 42 | 295.7± | 21.0 | { 5) | | | | | | | 261.9± | 20.3* | { 6) |
| Days of recovery | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 300.4± | 18.9 | { 5) | | | | | | | 262.1± | 20.5* | { 5) |
| 4 | 300.5± | 20.3 | { 5) | | | | | | | 267.4± | 21.1* | { 5) |
| 8 | 304.1± | 20.1 | { 5) | | | | | | | 273.9± | 21.2* | { 5) |
| 11 | 308.0± | 19.9 | { 5) | | | | | | | 278.3± | 23.6 | { 5) |
| 14 | 310.8± | 20.0 | { 5) | | | | | | | 284.5± | 25.7 | { 5) |

*: P<0.05 (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 | | | 10 mg/kg | | | 50 mg/kg | | | 200 mg/kg | | |
| Days of gestation | 0 | 250.9± | 25.9 | { 12) | 249.0± | 20.4 | { 12) | 256.7± | 25.7 | { 12) | 236.4± | 15.5 |
| | 7 | 285.6± | 19.5 | { 12) | 282.8± | 20.0 | { 12) | 291.3± | 21.3 | { 12) | 265.8± | 14.8* |
| | 14 | 321.5± | 23.3 | { 12) | 314.0± | 20.7 | { 12) | 325.5± | 24.3 | { 12) | 296.9± | 15.9* |
| | 20 | 395.2± | 26.9 | { 12) | 389.8± | 32.5 | { 12) | 402.2± | 33.0 | { 12) | 371.1± | 27.5 |
| Days of lactation | 0 | 303.2± | 22.1 | { 12) | 295.4± | 22.7 | { 12) | 307.5± | 21.2 | { 12) | 277.6± | 21.8* |
| | 4 | 316.2± | 20.2 | { 12) | 304.6± | 20.4 | { 12) | 316.2± | 30.6 | { 12) | 288.4± | 16.5* |

*: P<0.05 (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 | | | 10 mg/kg | | | 50 mg/kg | | | 200 mg/kg | | |
| Days of treatment | 1 | 26.0± 2.6 | (12) | 25.3± 2.7 | (12) | 23.9± 1.1 | (12) | 24.4± 2.1 | (12) | 24.4± 2.1** | (12) | |
| | 4 | 23.4± 3.5 | (12) | 21.5± 2.1 | (12) | 20.3± 1.4 | (12) | 18.9± 2.5 | (12) | | | |
| | 8 | 21.2± 2.2 | (12) | 20.5± 2.3 | (12) | 19.2± 1.9 | (12) | 20.0± 2.5 | (12) | | | |
| | 11 | 19.7± 2.7 | (12) | 18.8± 2.9 | (12) | 18.4± 1.8 | (12) | 18.8± 2.5 | (12) | | | |
| | 15 | 19.9± 3.0 | (12) | 19.0± 2.8 | (12) | 18.5± 2.1 | (12) | 17.4± 1.9* | (12) | | | |
| | 30 | 18.3± 1.8 | (12) | 17.3± 2.0 | (12) | 18.2± 1.6 | (12) | 18.7± 2.5 | (12) | | | |
| | 32 | 17.3± 1.7 | (12) | 17.0± 2.2 | (12) | 16.5± 1.5 | (12) | 18.8± 2.7 | (12) | | | |
| | 36 | 18.1± 2.3 | (12) | 17.0± 1.1 | (12) | 17.0± 1.9 | (12) | 19.3± 3.6 | (12) | | | |
| | 39 | 16.3± 2.6 | (12) | 14.8± 1.5 | (12) | 15.6± 1.6 | (12) | 17.9± 3.8 | (12) | | | |
| | 42 | 18.0± 1.8 | (12) | 16.9± 2.0 | (12) | 17.4± 2.1 | (12) | 18.8± 2.2 | (12) | | | |
| Days of recovery | 1 | 16.0± 1.7 | (5) | | | | | 18.0± 2.5 | (5) | | | |
| | 4 | 23.0± 2.7 | (5) | | | | | 28.7± 4.0* | (5) | | | |
| | 8 | 25.9± 2.9 | (5) | | | | | 30.0± 3.5 | (5) | | | |
| | 11 | 26.0± 2.8 | (5) | | | | | 30.9± 3.8 | (5) | | | |
| | 14 | 28.0± 1.6 | (5) | | | | | 29.8± 2.7 | (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 21 - continued Food consumption in male and female rats

| Group and dose | Female | | | | | | | | | |
|-------------------|---------|--------------|-------|---------------|-------|--------------|----------|----------------|-------|-----------|
| | Control | | | 10 mg/kg | | | 50 mg/kg | | | 200 mg/kg |
| Days of treatment | 1 | 19.2± 1.8 | (17) | 18.2± 2.5 | (12) | 19.8± 2.2 | (12) | 19.0± 2.2 | (17) | |
| | 4 | 16.3± 2.6 | (17) | 15.8± 1.2 | (12) | 15.1± 2.1 | (12) | 13.9± 2.0** | (17) | |
| | 8 | 15.1± 2.7 | (17) | 15.1± 1.3 | (12) | 14.9± 3.2 | (12) | 13.5± 2.1 | (17) | |
| | 11 | 15.5± 3.3 | (17) | 14.9± 2.8 | (12) | 14.9± 3.1 | (12) | 14.6± 3.0 | (17) | |
| | 15 | 15.9± 3.0 | (17) | 14.1± 1.6* | (12) | 15.0± 3.6 | (12) | 14.7± 2.1 | (17) | |
| | 18 | 14.8± 1.8 | (5) | | | | | 12.1± 1.6* | (5) | |
| | 22 | 15.3± 0.7 | (5) | | | | | 13.1± 2.3 | (5) | |
| | 25 | 14.0± 2.9 | (5) | | | | | 14.2± 4.0 | (5) | |
| | 30 | 13.8± 3.7 | (5) | | | | | 9.7± 2.5 | (6) | |
| | 32 | 15.3± 1.9 | (5) | | | | | 13.3± 2.8 | (6) | |
| | 36 | 15.8± 1.5 | (5) | | | | | 12.4± 1.5** | (6) | |
| | 39 | 14.2± 1.4 | (5) | | | | | 11.9± 1.9* | (6) | |
| | 42 | 15.3± 3.7 | (5) | | | | | 12.2± 2.0 | (6) | |
| Days of recovery | 1 | 15.4± 0.8 | (5) | | | | | 13.4± 1.2* | (5) | |
| | 4 | 19.8± 2.4 | (5) | | | | | 21.0± 2.1 | (5) | |
| | 8 | 20.5± 3.5 | (5) | | | | | 19.3± 3.2 | (5) | |
| | 11 | 21.2± 3.4 | (5) | | | | | 20.4± 5.0 | (5) | |
| | 14 | 23.5± 1.5 | (5) | | | | | 24.1± 3.0 | (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 F₀ dams - gestation and lactation period -

| Group and dose | Female | | | | | | | | | |
|----------------------|---------|--------------|-------|--------------|-------|---------------|----------|----------------|-------|-----------|
| | Control | | | 10 mg/kg | | | 50 mg/kg | | | 200 mg/kg |
| Food consumption (g) | | | | | | | | | | |
| Days of gestation | 1 | 11.7± 2.2 | { 12} | 11.5± 2.2 | { 12} | 12.3± 2.3 | { 12} | 11.2± 2.1 | { 11} | |
| | 7 | 16.3± 1.1 | { 12} | 14.9± 1.8 | { 12} | 15.7± 1.9 | { 12} | 13.7± 2.1** | { 11} | |
| | 14 | 17.0± 2.6 | { 12} | 16.1± 2.3 | { 12} | 16.0± 2.4 | { 12} | 14.8± 2.5 | { 11} | |
| | 20 | 19.1± 2.9 | { 12} | 19.3± 3.8 | { 12} | 19.1± 2.5 | { 12} | 20.5± 3.2 | { 11} | |
| Days of lactation | 1 | 11.9± 4.6 | { 12} | 12.7± 6.0 | { 12} | 12.8± 5.0 | { 12} | 10.2± 3.9 | { 11} | |
| | 4 | 31.9± 3.2 | { 12} | 27.5± 9.9 | { 12} | 30.6± 10.8 | { 12} | 29.0± 6.3 | { 11} | |

**: P<0.01 (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 | 9.2 | 1.678 | 0.764 | 1.733 | 1.322 |
| | | S.D. | ±6.4 | ±0.781 | ±0.296 | ±0.371 | ±0.408 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 13.4 | 1.124 | 0.680 | 1.338 | 0.966 |
| | | S.D. | ±8.8 | ±0.535 | ±0.228 | ±0.307 | ±0.168 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.9 | 1.730 | 0.683 | 1.461 | 1.084 |
| | | S.D. | ±1.5 | ±0.398 | ±0.165 | ±0.218 | ±0.209 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 8.9 | 1.702 | 0.902 | 1.490 | 1.055 |
| | | S.D. | ±2.3 | ±0.433 | ±0.286 | ±0.279 | ±0.407 |

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 | |
|------|----------------------|-------------------------|-------|----|-----|-----|---------|---|---|---|---------|-------------|-----------|---|
| | | | | Y | 7.5 | 8.0 | 8.5 | - | ± | + | | | | |
| Male | Control | 5 | 5 | | 1 | 2 | 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | 5 | 5 | 5 |
| | 10 mg/kg | 5 | 5 | | 1 | 3 | 1 | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 | 5 | 5 |
| | 50 mg/kg | 5 | 5 | | 2 | 3 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 5 | 5 | 5 |
| | 200 mg/kg | 5 | 5 | | 0 | 5 | 0 | 2 | 2 | 1 | 0 | 5 | 5 | 5 |

Not 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 |
| | 10 mg/kg | 5 | 4 | 1 | 5 |
| | 50 mg/kg | 5 | 5 | 0 | 5 |
| | 200 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 | |
| | | | - | | - | - | + | - |
| Male | Control | 5 | 5 | | 5 | 5 | 0 | 5 |
| | 10 mg/kg | 5 | 5 | | 5 | 4 | 1 | 5 |
| | 50 mg/kg | 5 | 5 | | 5 | 5 | 0 | 5 |
| | 200 mg/kg | 5 | 5 | | 5 | 5 | 0 | 5 |

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 - day 43 -

| Sex | Group and dose | | Leukocytes (10 ³ / μL) | Erythrocytes (10 ⁴ / μL) | Hemoglobin (g/dL) | Hematocrit (%) | MCV (fL) | MCH (pg) | MCHC (g/dL) | Reticulocyte (%) | Platelets (10 ⁴ / μL) |
|------|----------------|------|--------------------------------------|--|----------------------|-------------------|-------------|-------------|----------------|---------------------|-------------------------------------|
| Male | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 9.43 | 815 | 14.9 | 42.2 | 51.8 | 18.3 | 35.3 | 2.3 | 95.1 |
| | | S.D. | ±2.55 | ±29 | ±0.5 | ±1.2 | ±1.1 | ±0.3 | ±0.2 | ±0.2 | ±5.9 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 11.04 | 820 | 14.9 | 42.9 | 52.3 | 18.2 | 34.9 | 1.8* | 96.1 |
| | | S.D. | ±1.25 | ±21 | ±0.6 | ±1.6 | ±1.3 | ±0.5 | ±0.2 | ±0.3 | ±5.9 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 10.54 | 768 | 14.2 | 40.9 | 53.3 | 18.5 | 34.7* | 2.2 | 106.6 |
| | | S.D. | ±0.48 | ±39 | ±0.3 | ±0.9 | ±1.7 | ±0.7 | ±0.5 | ±0.2 | ±9.1 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 9.08 | 743** | 13.7** | 39.8* | 53.6 | 18.5 | 34.5** | 3.5 | 121.7** |
| | | S.D. | ±1.53 | ±28 | ±0.5 | ±1.8 | ±1.7 | ±0.6 | ±0.3 | ±0.9 | ±19.2 |

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

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

| Sex | Group and dose | PT | | APTT | |
|------|----------------------|------|-------|--------|-------|
| | | | (sec) | | (sec) |
| Male | Control | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 14.1 | 26.1 | |
| | | S.D. | ±1.1 | ±1.9 | |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 14.8 | 27.9 | |
| | | S.D. | ±1.8 | ±4.3 | |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 16.5 | 27.0 | |
| | | S.D. | ±4.2 | ±3.8 | |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 21.9* | 38.1** | |
| | | S.D. | ±8.9 | ±7.5 | |

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

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

| Sex | Group and dose | Differential leukocyte count | | | | | |
|------|----------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| | | Eosinophil (%) | Neutrophil (%) | Lymphocyte (%) | Basophil (%) | Monocyte (%) | Large unstained cell (%) |
| Male | Control | N Mean S.D. | 5 1.0 ± 0.3 | 5 21.6 ± 6.3 | 5 74.8 ± 6.8 | 5 0.1 ± 0.1 | 5 1.8 ± 0.8 |
| | 10 mg/kg | N Mean S.D. | 5 1.1 ± 0.4 | 5 19.8 ± 6.5 | 5 76.5 ± 7.0 | 5 0.1 ± 0.1 | 5 1.8 ± 0.4 |
| | 50 mg/kg | N Mean S.D. | 5 1.0 ± 0.2 | 5 20.7 ± 3.6 | 5 75.4 ± 3.8 | 5 0.1 ± 0.0 | 5 1.9 ± 0.4 |
| | 200 mg/kg | N Mean S.D. | 5 0.7 ± 0.2 | 5 24.5 ± 6.8 | 5 71.9 ± 7.6 | 5 0.1 ± 0.0 | 5 1.7 ± 0.9 |
| | | | | | | | 5 1.0 ± 0.4 |

Not significantly different from control.

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

| Sex | Group and dose | | Leukocytes (10 ³ / μL) | Erythrocytes (10 ⁴ / μL) | Hemoglobin (g/dL) | Hematocrit (%) | MCV (fL) | MCH (pg) | MCHC (g/dL) | Reticulocyte (%) | Platelets (10 ⁴ / μL) |
|--------|----------------|------|--------------------------------------|--|----------------------|-------------------|-------------|-------------|----------------|---------------------|-------------------------------------|
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 10.24 | 656 | 12.5 | 35.3 | 53.9 | 19.0 | 35.3 | 4.4 | 108.9 |
| | | S.D. | ±1.76 | ±36 | ±0.4 | ±1.2 | ±1.4 | ±0.6 | ±0.4 | ±0.7 | ±13.2 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 10.07 | 634 | 12.3 | 35.2 | 55.5 | 19.4 | 34.9 | 7.0* | 115.5 |
| | | S.D. | ±1.36 | ±12 | ±0.4 | ±1.7 | ±1.8 | ±0.3 | ±0.7 | ±1.8 | ±20.4 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 10.25 | 640 | 12.6 | 36.2 | 56.6 | 19.7 | 34.8 | 5.7 | 123.1 |
| | | S.D. | ±2.42 | ±21 | ±0.5 | ±2.2 | ±3.2 | ±0.7 | ±0.8 | ±2.1 | ±20.1 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 8.97 | 607* | 11.9 | 34.2 | 56.4 | 19.7 | 34.9 | 6.4* | 137.3 |
| | | S.D. | ±2.18 | ±37 | ±0.7 | ±2.2 | ±1.3 | ±0.4 | ±0.3 | ±0.5 | ±19.4 |

*: P<0.05 (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 | 12.6 | 19.6 |
| | | S.D. | ±0.4 | ±1.6 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 13.1 | 17.8 |
| | | S.D. | ±1.0 | ±1.0 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 12.0 | 17.1* |
| | | S.D. | ±0.4 | ±0.8 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 |
| | | Mean | 12.4 | 16.8** |
| | | S.D. | ±0.8 | ±1.4 |

*: P<0.05, **: P<0.01 (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 Mean S.D. | 5 0.7 ± 0.2 | 5 38.1 ± 6.5 | 5 57.2 ± 6.0 | 5 0.1 ± 0.1 | 5 3.3 ± 0.8 |
| | 10 mg/kg | N Mean S.D. | 5 0.6 ± 0.4 | 5 32.7 ± 2.8 | 5 63.1 ± 3.4 | 5 0.1 ± 0.0 | 5 2.9 ± 0.6 |
| | 50 mg/kg | N Mean S.D. | 5 0.6 ± 0.1 | 5 29.2 ± 11.0 | 5 66.0 ± 11.3 | 5 0.1 ± 0.1 | 5 3.1 ± 1.2 |
| | 200 mg/kg | N Mean S.D. | 5 0.5 ± 0.3 | 5 29.2 ± 8.2 | 5 66.8 ± 8.7 | 5 0.1 ± 0.0 | 5 2.5 ± 0.6 |
| | | | | | | | 5 0.9 ± 0.5 |

Not significantly different from control.

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

| Sex | Group and dose | | Leukocytes (10 ³ / μL) | Erythrocytes (10 ¹² / μL) | Hemoglobin (g/dL) | Hematocrit (%) | MCV (fL) | MCH (pg) | MCHC (g/dL) | Reticulocyte (%) | Platelets (10 ⁴ / μL) |
|--------|----------------|------|--------------------------------------|---|----------------------|-------------------|-------------|-------------|----------------|---------------------|-------------------------------------|
| Male | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 9.01 | 818 | 15.5 | 43.2 | 52.9 | 19.0 | 35.8 | 2.3 | 91.3 |
| | | S.D. | ±2.04 | ±37 | ±0.5 | ±1.8 | ±2.5 | ±1.0 | ±0.8 | ±0.2 | ±4.7 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 11.03 | 799 | 14.5* | 41.7 | 52.3 | 18.1 | 34.7* | 2.8* | 96.5 |
| | | S.D. | ±3.68 | ±27 | ±0.6 | ±1.4 | ±1.8 | ±0.7 | ±0.6 | ±0.3 | ±7.2 |
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 5.93 | 780 | 14.8 | 40.7 | 52.3 | 18.9 | 36.2 | 2.2 | 105.7 |
| | | S.D. | ±1.58 | ±20 | ±0.4 | ±0.7 | ±0.9 | ±0.4 | ±0.4 | ±0.4 | ±18.2 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.72 | 735 | 14.3 | 40.3 | 54.8** | 19.5* | 35.6* | 2.5 | 109.0 |
| | | S.D. | ±1.88 | ±39 | ±0.8 | ±2.3 | ±1.2 | ±0.3 | ±0.3 | ±0.4 | ±11.8 |

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

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

| Sex | Group and dose | PT | | APTT | |
|--------|----------------------|------|-------|------|-------|
| | | | (sec) | | (sec) |
| Male | Control | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 18.4 | 28.1 | |
| | | S.D. | ±2.7 | ±2.3 | |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 23.1 | 29.4 | |
| | | S.D. | ±6.3 | ±4.1 | |
| Female | Control | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 11.8 | 19.4 | |
| | | S.D. | ±0.5 | ±3.0 | |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | |
| | | Mean | 11.8 | 21.0 | |
| | | S.D. | ±0.4 | ±0.7 | |

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 |
| | | Mean | 1.3 | 15.1 | 79.9 | 0.1 | 2.9 |
| | | S.D. | ±0.3 | ±3.4 | ±3.5 | ±0.0 | ±0.5 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 1.1 | 17.6 | 77.3 | 0.1 | 2.9 |
| | | S.D. | ±0.5 | ±3.1 | ±2.5 | ±0.1 | ±0.8 |
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 1.6 | 18.6 | 76.8 | 0.1 | 2.0 |
| | | S.D. | ±0.6 | ±5.4 | ±5.7 | ±0.0 | ±0.4 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 1.1 | 17.9 | 78.1 | 0.2* | 2.0 |
| | | S.D. | ±0.3 | ±5.1 | ±5.1 | ±0.1 | ±0.7 |

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

Table 27 Biochemical findings in male rats - 43 day -

| Sex | Group and dose | T. Protein | A/G ratio | α_1 -Globulin | α_2 -Globulin | β -Globulin | γ -Globulin | Albumin | T.Bilirubin | GOT |
|------|----------------------|------------|-----------|----------------------|----------------------|-------------------|--------------------|-----------|-------------|-----------|
| | | (g/dL) | | (%) | (%) | (%) | (%) | (g/dL) | (mg/dL) | (IU/L) |
| Male | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 5.4 | 1.19 | 17.9 | 7.6 | 16.6 | 3.9 | 2.92 | 0.0 |
| | | S.D. | ± 0.2 | ± 0.15 | ± 2.6 | ± 0.7 | ± 2.2 | ± 0.4 | ± 0.22 | ± 0.0 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 5.6 | 1.20 | 17.8 | 8.0 | 15.7 | 4.1 | 3.04 | 0.0 |
| | | S.D. | ± 0.3 | ± 0.06 | ± 1.6 | ± 0.4 | ± 0.5 | ± 1.0 | ± 0.18 | ± 0.0 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 5.4 | 1.21 | 16.8 | 8.2 | 17.1 | 3.3 | 2.93 | 0.0 |
| | | S.D. | ± 0.4 | ± 0.12 | ± 2.3 | ± 0.6 | ± 0.9 | ± 0.5 | ± 0.16 | ± 0.0 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.0 | 1.33 | 13.7* | 8.8* | 17.7 | 2.8 | 3.43** | 0.0 |
| | | S.D. | ± 0.6 | ± 0.06 | ± 1.4 | ± 0.8 | ± 0.4 | ± 0.4 | ± 0.30 | ± 0.0 |

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

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

| 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 | 19 | 0.3 | 273 | 60 | 45 | 106 | 124 | 10.3 | 0.4 |
| | | S.D. | ± 4 | ± 0.2 | ± 54 | ± 10 | ± 8 | ± 10 | ± 9 | ± 1.1 | ± 0.1 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 19 | 0.5 | 238 | 73 | 45 | 126 | 117 | 11.1 | 0.4 |
| | | S.D. | ± 3 | ± 0.4 | ± 29 | ± 17 | ± 17 | ± 20 | ± 16 | ± 1.7 | ± 0.0 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 21 | 0.2 | 242 | 85* | 62 | 141* | 111 | 9.9 | 0.4 |
| | | S.D. | ± 6 | ± 0.3 | ± 33 | ± 8 | ± 20 | ± 8 | ± 23 | ± 0.9 | ± 0.0 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 26 | 0.8* | 253 | 96** | 88 | 171** | 79** | 11.6 | 0.4 |
| | | S.D. | ± 4 | ± 0.4 | ± 75 | ± 15 | ± 41 | ± 26 | ± 9 | ± 1.5 | ± 0.1 |

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

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

| Sex | Group and dose | | IP (mg/dL) | Ca (mg/dL) | Na (mEq/L) | K (mEq/L) | Cl (mEq/L) |
|------|----------------------|------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| Male | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 7.2 | 10.4 | 148.2 | 4.27 | 108.4 |
| | | S.D. | ±0.7 | ±0.6 | ±1.4 | ±0.25 | ±2.3 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 7.5 | 10.6 | 148.4 | 4.40 | 107.6 |
| | | S.D. | ±0.4 | ±0.6 | ±0.9 | ±0.18 | ±1.6 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.8 | 10.0 | 146.9 | 4.53 | 107.0 |
| | | S.D. | ±0.5 | ±0.6 | ±1.4 | ±0.12 | ±1.4 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 7.1 | 10.7 | 148.3 | 4.42 | 105.1* |
| | | S.D. | ±0.8 | ±0.9 | ±1.7 | ±0.12 | ±2.1 |

*: P<0.05 (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 | 5.2 | 1.19 | 18.4 | 8.0 | 15.6 | 3.6 | 2.85 | 0.0 | 84 |
| | | S.D. | ± 0.3 | ± 0.07 | ± 1.2 | ± 0.3 | ± 1.1 | ± 0.6 | ± 0.18 | ± 0.1 | ± 6 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 5.4 | 1.12 | 17.6 | 7.7 | 17.3 | 4.7 | 2.83 | 0.0 | 92 |
| | | S.D. | ± 0.2 | ± 0.12 | ± 1.8 | ± 1.2 | ± 1.6 | ± 1.2 | ± 0.21 | ± 0.0 | ± 20 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 5.4 | 1.20 | 17.9 | 8.3 | 15.8 | 3.6 | 2.92 | 0.0 | 86 |
| | | S.D. | ± 0.5 | ± 0.09 | ± 0.7 | ± 1.0 | ± 1.0 | ± 1.4 | ± 0.25 | ± 0.0 | ± 8 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.2** | 1.36* | 15.5* | 7.3 | 16.4 | 3.2 | 3.57** | 0.0 | 83 |
| | | S.D. | ± 0.4 | ± 0.11 | ± 2.1 | ± 1.0 | ± 1.7 | ± 0.7 | ± 0.29 | ± 0.0 | ± 12 |

*: P<0.05, **: P<0.01 (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 Mean S.D. | 5 44 ± 5 | 5 0.1 ± 0.2 | 5 241 ± 37 | 5 74 ± 3 | 5 76 ± 23 | 5 144 ± 8 | 5 121 ± 7 | 5 18.4 ± 3.0 |
| | 10 mg/kg | N Mean S.D. | 5 41 ± 15 | 5 0.1 ± 0.1 | 5 223 ± 75 | 5 80 ± 7 | 5 67 ± 51 | 5 145 ± 10 | 5 112 ± 12 | 5 19.0 ± 1.2 |
| | 50 mg/kg | N Mean S.D. | 5 40 ± 6 | 5 0.3 ± 0.3 | 5 132* ± 30 | 5 97* ± 8 | 5 78 ± 31 | 5 173 ± 19 | 5 107 ± 14 | 5 17.9 ± 2.8 |
| | 200 mg/kg | N Mean S.D. | 5 37 ± 8 | 5 0.4 ± 0.5 | 5 177 ± 90 | 5 120* ± 22 | 5 83 ± 26 | 5 223** ± 32 | 5 93** ± 8 | 5 20.5 ± 4.9 |

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

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

| Sex | Group and dose | | IP (mg/dL) | Ca (mg/dL) | Na (mEq/L) | K (mEq/L) | Cl (mEq/L) |
|--------|----------------|------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 8.8 | 11.0 | 147.8 | 3.95 | 106.3 |
| | | S.D. | ±1.1 | ±0.7 | ±1.0 | ±0.21 | ±1.9 |
| | 10 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 8.4 | 10.9 | 146.2 | 4.09 | 104.8 |
| | | S.D. | ±1.1 | ±0.4 | ±0.5 | ±0.34 | ±2.8 |
| | 50 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 7.9 | 10.8 | 147.8 | 4.00 | 106.7 |
| | | S.D. | ±0.5 | ±0.6 | ±1.6 | ±0.15 | ±2.7 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 7.8 | 11.0 | 147.0 | 4.08 | 105.2 |
| | | S.D. | ±0.8 | ±0.3 | ±1.0 | ±0.30 | ±1.6 |

Not 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 | 5.5 | 1.12 | 20.9 | 6.7 | 16.2 | 3.4 | 2.89 | 0.0 | 86 |
| | | S.D. | ± 0.1 | ± 0.12 | ± 2.3 | ± 0.4 | ± 1.1 | ± 0.8 | ± 0.12 | ± 0.0 | ± 8 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 5.5 | 1.03 | 21.5 | 6.9 | 16.3 | 4.6 | 2.80 | 0.0 | 78 |
| | | S.D. | ± 0.3 | ± 0.07 | ± 2.6 | ± 0.4 | ± 0.8 | ± 1.1 | ± 0.13 | ± 0.0 | ± 12 |
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.4 | 1.32 | 16.6 | 5.9 | 14.8 | 5.8 | 3.66 | 0.0 | 77 |
| | | S.D. | ± 0.7 | ± 0.12 | ± 0.7 | ± 0.5 | ± 1.8 | ± 0.8 | ± 0.53 | ± 0.1 | ± 13 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.5 | 1.21 | 18.4 | 5.8 | 15.4 | 5.8 | 3.57 | 0.0 | 74 |
| | | S.D. | ± 0.4 | ± 0.11 | ± 1.8 | ± 0.5 | ± 0.8 | ± 0.6 | ± 0.30 | ± 0.1 | ± 14 |

Not significantly different from control.

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

| 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 | 24 | 0.0 | 177 | 71 | 32 | 114 | 118 | 16.2 | 0.5 |
| | | S.D. | ± 5 | ± 0.0 | ± 39 | ± 5 | ± 16 | ± 12 | ± 10 | ± 3.0 | ± 0.1 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 23 | 0.1 | 146 | 78 | 32 | 119 | 115 | 15.0 | 0.4* |
| | | S.D. | ± 6 | ± 0.2 | ± 27 | ± 10 | ± 12 | ± 11 | ± 10 | ± 2.6 | ± 0.1 |
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 20 | 0.1 | 96 | 101 | 19 | 178 | 122 | 19.1 | 0.5 |
| | | S.D. | ± 6 | ± 0.2 | ± 26 | ± 9 | ± 5 | ± 23 | ± 15 | ± 2.1 | ± 0.0 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 16 | 0.1 | 77 | 106 | 20 | 190 | 130 | 17.8 | 0.5 |
| | | S.D. | ± 2 | ± 0.2 | ± 18 | ± 8 | ± 12 | ± 18 | ± 17 | ± 2.7 | ± 0.1 |

*: 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 (mg/dL) | Ca (mg/dL) | Na (mEq/L) | K (mEq/L) | Cl (mEq/L) |
|--------|----------------------|------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| Male | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 7.2 | 10.4 | 148.0 | 4.20 | 107.1 |
| | | S.D. | ±0.3 | ±0.4 | ±0.9 | ±0.20 | ±1.0 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 7.3 | 10.4 | 147.6 | 4.25 | 105.5 |
| | | S.D. | ±0.5 | ±0.4 | ±1.6 | ±0.14 | ±2.7 |
| Female | Control | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.0 | 10.7 | 145.9 | 3.97 | 106.3 |
| | | S.D. | ±0.5 | ±0.4 | ±1.0 | ±0.20 | ±2.1 |
| | 200 mg/kg | N | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 6.5 | 10.6 | 146.6 | 4.17 | 106.6 |
| | | S.D. | ±0.5 | ±0.3 | ±0.6 | ±0.38 | ±2.0 |

Not significantly different from control.

Table 30 Necropsy findings in male rats - day 43 -

| Organs and findings | Sex | Male | | | | |
|-----------------------------|-----|-------------------|---------|----------|----------|-----------|
| | | Group and dose | Control | 10 mg/kg | 50 mg/kg | 200 mg/kg |
| | | Number of animals | 7 | 12 | 12 | 7 |
| Digestive system | | | | | | |
| Liver | | | | | | |
| Discoloration | | 1 | 0 | 0 | 0 | |
| Enlargement | | 0 | 0 | 0 | 2 | |
| Urinary system | | | | | | |
| Kidney | | | | | | |
| Discoloration, bilateral | | 0 | 1 | 3 | 4 | |
| Enlargement, bilateral | | 0 | 1 | 3 | 4 | |
| Genital system | | | | | | |
| Epididymis | | | | | | |
| Nodule, right, light yellow | | 0 | 0 | 1 | 0 | |

Not 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 Group and dose Number of animals | Female | | | |
|-----------------------------|--|---------------|----------------|----------------|-----------------|
| | | Control 12 | 10 mg/kg 12 | 50 mg/kg 12 | 200 mg/kg 11 |
| Digestive system | | | | | |
| Stomach | Spot, mucosa, glandular stomach, dark red | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Hematopoietic system | | | | | |
| Thymus | Small | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Spleen | Small | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Urinary system | | | | | |
| Kidney | Coloration, bilateral, black-brown | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Integumentary system | | | | | |
| Integument | Loss, hair | 0 | 0 | 0 | 1 |

Not significantly different from control.

No appreciable changes in all other organs and tissues.

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

| Organs and findings | Sex Group and dose Number of animals | Male | | Female | |
|-----------------------------|--|---------|-----------|---------|-----------|
| | | Control | 200 mg/kg | Control | 200 mg/kg |
| | | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Urinary system | | | | | |
| Kidney | | | | | |
| Enlargement, bilateral | | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Integumentary system | | | | | |
| Integument | | | | | |
| Loss, hair | | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Mass, subcutis, light gray | | 0 | 0 | 1 | 0 |

No appreciable changes in all other organs and tissues.

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

| Group and dose | Control | 10 mg/kg | 50 mg/kg | 200 mg/kg |
|-------------------------------|------------|------------|-------------|--------------|
| No. of animals | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Absolute organ weights | | | | |
| Final body weight (g) | 479.3±21.4 | 465.2±43.6 | 458.8±42.4 | 409.9±29.7* |
| Brain (g) | 2.19±0.06 | 2.24±0.07 | 2.13±0.08 | 2.14±0.04 |
| Thyroids (mg) | 20.6±3.7 | 21.7±2.4 | 18.9±2.5 | 22.1±3.7 |
| Heart (g) | 1.35±0.06 | 1.48±0.12 | 1.43±0.20 | 1.44±0.20 |
| Thymus (g) | 0.40±0.06 | 0.37±0.06 | 0.41±0.08 | 0.26±0.05** |
| Liver (g) | 14.06±1.13 | 15.15±2.42 | 18.19±2.02* | 19.81±3.12** |
| Spleen (g) | 0.74±0.09 | 0.71±0.09 | 0.79±0.06 | 0.70±0.14 |
| Kidneys (g) | 3.11±0.23 | 3.62±0.51 | 3.92±0.37* | 4.41±0.72** |
| Adrenals (mg) | 60.9±7.9 | 63.5±8.1 | 57.9±4.3 | 61.8±7.2 |
| Relative organ weights | | | | |
| Brain (g/100 gB.W.) | 0.46±0.03 | 0.48±0.04 | 0.47±0.06 | 0.52±0.04 |
| Thyroids (mg/100 gB.W.) | 4.3±0.8 | 4.7±0.4 | 4.1±0.5 | 5.4±0.6* |
| Heart (g/100 gB.W.) | 0.28±0.02 | 0.32±0.03 | 0.31±0.04 | 0.35±0.04** |
| Thymus (g/100 gB.W.) | 0.08±0.01 | 0.08±0.02 | 0.09±0.02 | 0.06±0.02 |
| Liver (g/100 gB.W.) | 2.93±0.13 | 3.25±0.30 | 3.96±0.17** | 4.81±0.51** |
| Spleen (g/100 gB.W.) | 0.15±0.02 | 0.15±0.01 | 0.17±0.02 | 0.17±0.03 |
| Kidneys (g/100 gB.W.) | 0.65±0.07 | 0.78±0.06* | 0.86±0.02* | 1.07±0.15* |
| Adrenals (mg/100 gB.W.) | 12.7±1.4 | 13.8±2.3 | 12.7±1.5 | 15.1±1.2 |

*: 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 -

| Group and dose | Control | 10 mg/kg | 50 mg/kg | 200 mg/kg |
|-------------------------------|------------|------------|-------------|--------------|
| No. of animals | 7 | 12 | 12 | 7 |
| Absolute organ weights | | | | |
| Final body weight (g) | 476.5±31.6 | 446.0±39.9 | 450.1±30.3 | 411.4±35.8** |
| Epididymides (g) | 1.12±0.10 | 1.17±0.08 | 1.25±0.09* | 1.16±0.06 |
| Testes (g) | 3.14±0.33 | 3.22±0.25 | 3.35±0.34 | 3.34±0.09 |
| Relative organ weights | | | | |
| Epididymides (g/100 gB.W.) | 0.24±0.03 | 0.26±0.03 | 0.28±0.03** | 0.28±0.02** |
| Testes (g/100 gB.W.) | 0.66±0.09 | 0.72±0.07 | 0.75±0.08 | 0.82±0.06** |

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

Values are mean±S.D.

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

| Group and dose | Control | 10 mg/kg | 50 mg/kg | 200 mg/kg |
|-------------------------------|------------|------------|------------|--------------|
| No. of animals | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Absolute organ weights | | | | |
| Final body weight (g) | 290.3±17.1 | 297.2±16.2 | 301.3±10.3 | 267.8±19.9 |
| Brain (g) | 2.08±0.07 | 2.06±0.07 | 2.05±0.11 | 2.04±0.08 |
| Thyroids (mg) | 15.8±1.6 | 15.1±4.8 | 16.1±2.5 | 14.9±2.0 |
| Heart (g) | 0.93±0.05 | 0.99±0.06 | 1.02±0.08 | 0.99±0.05 |
| Thymus (g) | 0.15±0.02 | 0.24±0.08 | 0.23±0.03* | 0.14±0.04 |
| Liver (g) | 10.63±0.79 | 11.21±0.89 | 11.65±0.60 | 13.44±1.64** |
| Spleen (g) | 0.60±0.08 | 0.66±0.06 | 0.60±0.05 | 0.55±0.07 |
| Kidneys (g) | 1.98±0.05 | 2.04±0.12 | 2.03±0.22 | 1.84±0.12 |
| Adrenals (mg) | 69.3±5.5 | 69.0±6.5 | 69.2±8.3 | 61.6±2.7 |
| Relative organ weights | | | | |
| Brain (g/100 gB.W.) | 0.72±0.05 | 0.69±0.02 | 0.68±0.01 | 0.76±0.06 |
| Thyroids (mg/100 gB.W.) | 5.5±0.2 | 5.1±1.6 | 5.3±0.9 | 5.6±1.0 |
| Heart (g/100 gB.W.) | 0.32±0.02 | 0.33±0.02 | 0.34±0.02 | 0.37±0.03** |
| Thymus (g/100 gB.W.) | 0.05±0.00 | 0.08±0.03 | 0.07±0.01* | 0.05±0.01 |
| Liver (g/100 gB.W.) | 3.66±0.17 | 3.77±0.25 | 3.88±0.32 | 5.05±0.73* |
| Spleen (g/100 gB.W.) | 0.21±0.03 | 0.23±0.03 | 0.20±0.01 | 0.20±0.02 |
| Kidneys (g/100 gB.W.) | 0.68±0.04 | 0.69±0.04 | 0.67±0.06 | 0.69±0.03 |
| Adrenals (mg/100 gB.W.) | 23.9±2.4 | 23.2±2.3 | 23.0±2.4 | 23.1±2.4 |

*: 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 -

| Group and dose No. of animals | Male | | Female | |
|----------------------------------|--------------|----------------|--------------|----------------|
| | Control 5 | 200 mg/kg 5 | Control 5 | 200 mg/kg 5 |
| Absolute organ weights | | | | |
| Final body weight (g) | 465.1±34.0 | 466.2±30.9 | 287.5±18.7 | 261.6±21.2 |
| Brain (g) | 2.20±0.08 | 2.21±0.09 | 2.10±0.07 | 2.01±0.07 |
| Thyroids (mg) | 17.0±1.4 | 21.0±4.1 | 16.4±2.6 | 17.0±2.1 |
| Heart (g) | 1.39±0.10 | 1.48±0.11 | 0.96±0.05 | 0.94±0.09 |
| Thymus (g) | 0.30±0.09 | 0.32±0.02 | 0.28±0.07 | 0.31±0.07 |
| Liver (g) | 12.17±1.51 | 13.64±1.79 | 8.04±0.92 | 8.07±0.80 |
| Spleen (g) | 0.74±0.09 | 0.85±0.09 | 0.53±0.07 | 0.54±0.07 |
| Kidneys (g) | 3.01±0.26 | 3.79±0.64* | 2.00±0.22 | 1.97±0.10 |
| Adrenals (mg) | 56.3±3.5 | 63.0±3.6* | 77.4±12.9 | 71.7±5.5 |
| Epididymides (g) | 1.24±0.09 | 1.16±0.02 | | |
| Testes (g) | 3.38±0.28 | 3.08±0.22 | | |
| Relative organ weights | | | | |
| Brain (g/100 gB.W.) | 0.47±0.04 | 0.47±0.02 | 0.73±0.04 | 0.78±0.08 |
| Thyroids (mg/100 gB.W.) | 3.7±0.4 | 4.5±0.7 | 5.7±0.6 | 6.5±0.9 |
| Heart (g/100 gB.W.) | 0.30±0.02 | 0.32±0.03 | 0.33±0.01 | 0.36±0.03 |
| Thymus (g/100 gB.W.) | 0.07±0.02 | 0.07±0.01 | 0.10±0.02 | 0.12±0.02 |
| Liver (g/100 gB.W.) | 2.61±0.20 | 2.92±0.21* | 2.79±0.14 | 3.09±0.14* |
| Spleen (g/100 gB.W.) | 0.16±0.02 | 0.18±0.02 | 0.19±0.03 | 0.21±0.03 |
| Kidneys (g/100 gB.W.) | 0.65±0.04 | 0.81±0.09** | 0.70±0.04 | 0.76±0.04* |
| Adrenals (mg/100 gB.W.) | 12.2±1.1 | 13.6±1.6 | 26.9±3.8 | 27.4±1.7 |
| Epididymides (g/100 gB.W.) | 0.27±0.02 | 0.25±0.01 | | |
| Testes (g/100 gB.W.) | 0.73±0.06 | 0.66±0.07 | | |

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

Values are mean±S.D.

Table 36 Histopathological findings in mele rats - day 43 -

| Sex Group and dose Number of animals | Male | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|---|----|-----|-------|----------|---|----|-----|-------|----------|---|----|-----|-------|-----------|---|-----|-----|-------|
| | Control | | | | | 10 mg/kg | | | | | 50 mg/kg | | | | | 200 mg/kg | | | | |
| | - | + | ++ | +++ | 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) |
| Degeneration, hepatocyte, fatty, periportal | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 4 | 0 | 0 | 4 | 1 | 4 | 0 | 0 | 4 |
| Necrosis, hepatocyte, focal | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 5 | 0 | 0 | 5** | 0 | 2 | 3 | 0 | 5** |
| Cellular infiltration, mononuclear cell | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3 | 2 | 0 | 0 | 2 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Respiratory system | | | | | | NR(5) | | | | (0) | | | | | (0) | | | | | NR(5) |
| Trachea | | | | | | (5) | | | | (0) | | | | | (0) | | | | | (5) |
| Lung | | | | | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | 3 |
| Metaplasia, osseous | | | | | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | 2 |
| Hemorrhage, focal | | | | | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | 1 |
| Accumulation, foam cell, alveolus | | | | | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | 1 |
| Mineralization, artery | | | | | | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | 1 |
| 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 | | | | | | (5) | | | | (5) | | | | | (5) | | | | | (5) |
| Hematopoiesis, erythroblastic, extramedullary | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Deposit, hemosiderin, red pulp | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 4* |
| Bone marrow (sternum) | | | | | | NR(5) | | | | (0) | | | | | (0) | | | | | NR(5) |
| Bone marrow (femur) | | | | | | NR(5) | | | | (0) | | | | | (0) | | | | | NR(5) |
| Cardiovascular system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Heart | | | | | | (5) | | | | (0) | | | | | (0) | | | | | |
| Cellular infiltration, mononuclear cell | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | | | | | (0) | | | | | | 5 | 0 | (5) | 0 | 0 |

*: P<0.05, **: P<0.01 (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 mele rats - day 43 -

| Organs and findings | Sex Group and dose Number of animals | Male | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|---------|---|----|-----|-------|----------|---|-----|-----|-------|----------|---|----|-----|-------|-----------|---|-----|-------|-------|
| | | Control | | | | | 10 mg/kg | | | | | 50 mg/kg | | | | | 200 mg/kg | | | | |
| | | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total |
| Urinary system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kidney | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tubule, basophilic | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 5 | 0 | 4* | 2 | 3 | 0 | 5 | 3 | 2 | 3 | 5** | |
| Droplet, epithelial cell, proximal tubule, hyaline | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | (0) | 5** | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 5** | 0 | 0 | 0 | NR(5) | |
| Urinary bladder | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Genital system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Testis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Atrophy, seminiferous tubule | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | | | | (0) | | | | | | | | 4 | 1 | (5) | 1 | |
| Epididymis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Prostate | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | (5) | |
| Cellular infiltration, lymphocyte | 2 | 3 | 0 | 0 | 3 | | | | (0) | | | | | | | | 3 | 2 | 0 | 2 | |
| Seminal vesicle | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Endocrine system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Thyroid | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Remnant, ultimobranchial body | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | | | | (0) | | | | | | | | 1 | 4 | (5) | 4 | |
| Parathyroid | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Adrenal | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Nervous system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cerebrum | | | | | | NR(5) | | | (0) | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Cerebellum | | | | | | NR(5) | | | (0) | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Medulla oblongata | | | | | | NR(5) | | | (0) | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Spinal cord | | | | | | NR(5) | | | (0) | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Sciatic nerve | | | | | | NR(5) | | | (0) | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Musculoskeletal system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sternum | | | | | | NR(5) | | | (0) | | | | | | | | | | | NR(5) | |
| Femur | | | | | | NR(5) | | | (0) | | | | | | | | | | | NR(5) | |

*: P<0.05, **: P<0.01 (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 F₀ dams - day 5 lactation -

| Organs and findings | Sex | Female | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------------------|---------|---|----|-----|----------|---|---|----|----------|-------|---|---|-----------|-----|-------|---|---|----|-----|-------|
| | | Control | | | | 10 mg/kg | | | | 50 mg/kg | | | | 200 mg/kg | | | | | | | |
| | Number of animals | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | | | |
| | | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total |
| Digestive system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Stomach | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Duodenum | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Jejunum | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Ileum | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Cecum | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Colon | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Rectum | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Liver | | | | | | (5) | | | | | (5) | | | | | | | | | | (5) |
| Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | 3 | 0 | 3 | 2 | 0 | 5** |
| Cellular infiltration, mononuclear cell | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 5 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Respiratory system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Trachea | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Lung | | | | | | (5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | (5) |
| Accumulation, foam cell, alveolus | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Mineralization, artery | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hematopoietic system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Thymus | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Submaxillary lymph node | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Mesenteric lymph node | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Spleen | | | | | | (5) | | | | | (5) | | | | | | | | | | (5) |
| Hematopoiesis, erythroblastic, extramedullary | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 3 |
| Deposit, hemosiderin, red pulp | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 4* |
| Bone marrow (sternum) | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Bone marrow (femur) | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Cardiovascular system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Heart | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | NR(5) |
| Urinary system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kidney | | | | | | (5) | | | | | (5) | | | | | | | | | | |
| Mineralization, cortex | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | (0) | 0 | 4 | 1 | (5) | 0 | 1 | 5 | 0 | (5) | 0 |
| Urinary bladder | | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | | | | | | |

*: P<0.05, **: P<0.01 (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 lactation -

| Organs and findings | Sex | Female | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----------------|---------|-------------------|-----|-------|---|----------|----|-----|-------|---|----------|----|-----|-------|---|-----------|-------|-------|-------|
| | | Control | | | | | 10 mg/kg | | | | | 50 mg/kg | | | | | 200 mg/kg | | | |
| | Group and dose | | Number of animals | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | | | |
| | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total |
| Genital system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ovary | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | (0) | | | | NR(5) | |
| Uterus | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | (0) | | | | NR(5) | |
| Vagina | | | | | NR(5) | | | | | (0) | | | | | (0) | | | | NR(5) | |
| Endocrine system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Thyroid | | | | | (5) | | | | | (0) | | | | | (0) | | | | (5) | |
| Remnant, ultimobranchial body | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | | (0) | | | | | (0) | | | 3 | 2 | |
| 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 Group and dose Number of animals | Male | | | | | | | | | | Female | | | | | | | | | |
|---|--|---------|---|-----|-----|-------|-----------|---|-----|-----|-------|---------|---|-----|-----|-------|-----------|---|----|-----|-------|
| | | Control | | | | | 200 mg/kg | | | | | Control | | | | | 200 mg/kg | | | | |
| | | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total | - | + | ++ | +++ | Total |
| Digestive system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Liver | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Degeneration, hepatocyte, fatty, periportal | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Necrosis, hepatocyte, focal | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cellular infiltration, mononuclear cell | 2 | 3 | 0 | 0 | 3 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 0 | 3 |
| Hematopoietic system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Spleen | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Deposit, hemosiderin, red pulp | 5 | 0 | 0 | (5) | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | 3 | 5 | 0 | (5) | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 5** |
| Urinary system | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kidney | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tubule, basophilic | 5 | 0 | 0 | (5) | 0 | 0 | 0 | 2 | (5) | 3 | 0 | 5** | 5 | 0 | (5) | 0 | 0 | 5 | 0 | (5) | 0 |

**: P<0.01 (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 | 10 | 50 | 200 |
|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Number of females examined | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Count of estrus ^{a)} | 3.67 ± 0.78 | 3.92 ± 0.29 | 3.83 ± 0.58 | 3.83 ± 0.39 |
| Estrous cycle ^{b)} | 3.97 ± 0.10 | 4.00 ± 0.00 | 4.03 ± 0.10 | 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) | 11(91.67) |
| Female | 12(100) | 12(100) | 12(100) | 11(91.67) |
| Number of impregnated ^{d)} | 12(100) | 12(100) | 12(100) | 11(100) |
| Number of pregnant ^{c)} | 12(100) | 12(100) | 12(100) | 11(100) |
| Duration of mating ^{b)} | 2.75 ± 1.42 | 3.33 ± 2.84 | 3.58 ± 3.18 | 3.36 ± 1.80 |

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 | 10 | 50 | 200 |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Number of dams | 12 | 12 | 12 | 11 |
| Number of corpora lutea ^{a)} | 15.08 ± 2.11 | 14.58 ± 2.61 | 15.67 ± 2.15 | 15.36 ± 1.96 |
| Number of implantations ^{a)} | 14.25 ± 1.76 | 13.42 ± 3.00 | 14.92 ± 2.75 | 14.45 ± 2.66 |
| Implantation index ^{b)} | 94.48 | 92.00 | 95.21 | 94.08 |
| Gestation index ^{c)} | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Number of dams with live newborns | 12 | 12 | 12 | 11 |
| Gestational days ^{a)} | 22.08 ± 0.29 | 22.50 ± 0.52 | 22.33 ± 0.65 | 22.18 ± 0.40 |
| Number of newborns ^{a)} | 13.75 ± 1.82 | 13.08 ± 3.34 | 14.08 ± 3.20 | 13.64 ± 2.77 |
| Number of stillborns ^{d)} | | | | |
| Male | 0 | 0 | 3 | 0 |
| Female | 0 | 1 | 1 | 0 |
| Total | 0 | 1 (0.64) | 4 (2.37) | 0 |
| Number of live newborns ^{a)} | 13.75 ± 1.82 | 13.00 ± 3.28 | 13.75 ± 3.11 | 13.64 ± 2.77 |
| Birth index ^{e)} | 95.93 | 96.89 | 92.18 | 94.34 |
| Sex ratio of live newborns ^{f)} | 0.83 (75/ 90) | 1.20 (85/ 71) | 0.92 (79/ 86) | 0.88 (70/ 80) |
| Body weight of live newborns (g) | | | | |
| Male on day 0 | 6.4 ± 0.5 | 6.9 ± 0.6 | 6.7 ± 0.7 | 6.2 ± 0.2 |
| on day 4 | 10.3 ± 0.8 | 10.3 ± 2.2 | 10.0 ± 2.4 | 8.6 ± 0.9** |
| Female on day 0 | 6.1 ± 0.6 | 6.4 ± 0.6 | 6.3 ± 0.6 | 5.9 ± 0.2 |
| on day 4 | 9.8 ± 0.9 | 9.8 ± 2.0 | 9.5 ± 2.4 | 8.2 ± 0.9** |
| Viability index ^{g)} | 98.79 | 98.08 | 96.97 | 99.33 |
| Number of external anomalies ^{h)} | 0 | 0 | 0 | 1 (0.66) |
| Exencephaly | 0 | 0 | 0 | 1 (0.66) |
| Open eyelid | 0 | 0 | 0 | 1 (0.66) |
| Protruding tongue | 0 | 0 | 0 | 1 (0.66) |

**: P<0.01 (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 birth/Number of live newborns)×100.

h) Values in parentheses represent percentages to number of newborns.