



BOZO RESEARCH
CENTER INC.

最 終 報 告 書

トリチル=クロリドのラットを用いた2週間回復性観察を含む
28日間反復経口投与毒性試験

B-4477

株式会社 **ポリサーチセンター**

東京本部	〒151-0065	東京都渋谷区大山町36-7
本社・東京研究所	〒156-0042	東京都世田谷区羽根木1-3-11
御殿場研究所	〒412-0039	静岡県御殿場市かまど1284
函南研究所	〒419-0101	静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125

目 次

	頁
目 次	1
要 約	8
緒 言	10
試験材料及び方法	
1. 被験物質及び媒体	11
1) 被験物質	11
2) 媒体	11
2. 被験液の調製	12
1) 被験液の調製及び保存方法	12
2) 被験液の安定性	12
3) 被験液の濃度・均一性確認	12
3. 試験動物	12
4. 飼育条件	13
5. 投与経路、投与回数、投与期間及び回復期間とその選択理由	13
6. 投与方法及びその選択理由	13
7. 投与量及びその設定理由、群構成並びに動物数	13
8. 動物の識別及びケージへの表示	14
9. 検査方法	14
1) 一般状態の観察	14
2) 体重測定	14
3) 摂餌量測定	15

	頁
4) 尿検査（摂水量測定を含む）	15
5) 血液学検査	16
6) 血液生化学検査	17
7) 病理学検査	18
(1) 剖検及び器官重量測定	18
(2) 病理組織学検査	18
10. 統計解析	19

試験結果

1. 一般状態	20
1) 投与期間	20
2) 回復期間	20
2. 体重	20
1) 投与期間	20
2) 回復期間	20
3. 摂餌量	20
1) 投与期間	20
2) 回復期間	21
4. 尿検査（摂水量測定を含む）	21
1) 投与第 4 週検査	21
2) 回復第 2 週検査	21
5. 血液学検査	21
1) 投与期間終了時検査	21
2) 回復期間終了時検査	22
6. 血液生化学検査	22
1) 投与期間終了時検査	22
2) 回復期間終了時検査	22
7. 器官重量	22
1) 投与期間終了時剖検例	22
2) 回復期間終了時剖検例	23

	頁
8. 剖検所見	23
1) 投与期間終了時剖検例	23
2) 回復期間終了時剖検例	23
9. 病理組織学検査	23
1) 投与期間終了時剖検例	23
2) 回復期間終了時剖検例	24
考 察	25
文 献	27

Figures and Tables

Fig. 1	Body weight
Fig. 2	Food consumption
Table 1-1~1-3	Clinical signs
Table 2-1、2-2	Body weight
Table 3-1、3-2	Food consumption

Table 4-1~4-8	Urinalysis
Table 5-1~5-4	Hematological findings
Table 6-1~6-4	Blood chemical findings
Table 7-1~7-8	Absolute and relative organ weights
Table 8	Gross pathological findings
Table 9-1~9-4	Histopathological findings

要 約

Sprague-Dawley 系 SPF 雌雄ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕を用いて、トリチル=クロリドの反復投与による毒性並びにその回復性を検討した。投与量は 0（オリーブ油：対照群）、12、60 及び 300mg/kg/日とし、28 日間反復強制経口投与した。1 群の動物数は、対照群、60 及び 300mg/kg 投与群で雌雄各 12 匹、12mg/kg 投与群で雌雄各 6 匹とし、このうち、対照群、60 及び 300mg/kg 投与群の雌雄各 6 例については、28 日間投与後 2 週間休薬させた。

1. 一般状態

300mg/kg 投与群の雌雄で軟便がみられた。

2. 体重

60mg/kg 投与群の雌及び 300mg/kg 投与群の雌雄で体重増加抑制が認められた。

3. 摂餌量

300mg/kg 投与群の雌雄で投与初期に一過性の摂餌量の減少が、投与期間後半に 60 及び 300mg/kg 投与群の雄において摂餌量の増加がみられた。

4. 尿検査

60 及び 300mg/kg 投与群の雄で pH の低下、300mg/kg 投与群で摂水量の増加がみられた。

5. 血液学検査

300mg/kg 投与群の雌雄でフィブリノーゲン量の増加、雄で血小板数の増加及びプロトロンビン時間並びに活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。

6. 血液生化学検査

300mg/kg 投与群の雌雄で GPT 活性及び総コレステロールの増加とグルコースの減少が、雄で尿素窒素、総たん白質、リン脂質、総ビリルビン及びカルシウムの増加がみられた。60mg/kg 投与群では雄で尿素窒素の増加、雌でグルコースの減少がみられた。

7. 病理学検査

肝臓、盲腸並びに腎臓に変化がみられた。肝臓では重量増加及び小葉中心性の肝細胞肥大が 60 及び 300mg/kg 投与群の雌雄に、肉眼的な暗調化及び大型化が 300mg/kg 投与群の雄にみられた。盲腸では、粘膜の肥厚が 60mg/kg 投与群の雌と 300mg/kg 投与群の雌雄にみられた。腎臓では、重量増加が 300mg/kg 投与群の雌雄にみられた。

8. 回復性

休薬により、上記の変化はいずれも消失あるいは軽減し、回復性が認められた。

以上の如く、トリチル=クロリドをラットに 28 日間反復経口投与した結果、主な変化として 60mg/kg 投与群では、肝重量増加並びに小葉中心性肝細胞肥大が雌雄に、尿素窒素の増加が雄に、体重増加抑制、グルコースの減少並びに盲腸粘膜の肥厚が雌にみられた。300mg/kg 投与群ではこれらの変化に加え、軟便及びフィブリノーゲン量、GPT 活性、総コレステロール並びに腎臓重量の増加が雌雄に、プロトロンビン時間並びに活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、リン脂質、総たん白質並びに総ビリルビンの増加が雄にみられた。一方、12mg/kg 投与群の雌雄では変化は認められなかった。

これらの結果から、本試験におけるトリチル=クロリドの無影響量は雌雄ともに 12mg/kg/day と推定された。

緒 言

厚生省生活衛生局の依頼により、トリチル=クロリドをヒトが摂取した場合の影響を推定する目的で、被験物質をラットに 28 日間反復経口投与し、その影響を明らかにするとともに、2 週間休養し、障害の回復性を調べたのでその成績を報告する。なお、本試験は、以下の基準及びガイドラインに準拠し実施した。

- ・「『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令 第 4 条に規定する試験施設について』の一部改正について」

（平成 12 年 3 月 1 日環保安第 41 号環境庁企画調整局長、生衛発第 268 号厚生省生活衛生局長、平成 12・02・14 基局第 1 号通商産業省基礎産業局長連名通知）

- ・「『新規化学物質に係る試験の方法について』の一部改正等について」

（昭和 61 年 12 月 5 日；環保業第 700 号環境庁企画調整局長、薬発第 1039 号厚生省薬務局長、61 基局第 1014 号通商産業省基礎産業局長連名通知）

- ・「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」

（総理府告示第 6 号、昭和 55 年 3 月 27 日）

- ・「動物実験に関する指針」

（(株) 日本実験動物学会、昭和 62 年 5 月 22 日）

試験材料及び方法

1. 被験物質及び媒体

1) 被験物質

トリチル=クロリドは、厚生省生活衛生局企画課 生活化学安全対策室から提供された。

使用した被験物質のロット番号及び性状などを以下に示した。

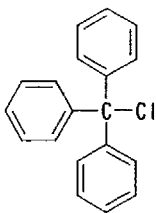
製 造 者 :

名 称 : トリチル=クロリド

(CAS 番号: 76-83-5)

構造式又は示性式

:



ロット番号 :

純 度 : 99.5%

性 状 : 白色～微黄色結晶性粉末

分 子 量 : 278.78

融 点 : 115℃

沸 点 : 310℃

保 存 方 法 : 室温・密閉

安 定 性 : 返却後の被験物質の分析結果から、動物試験期間中安定であったことが確認された。

保 存 場 所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び被験物質調製室

なお、提供された被験物質のうち、約 5g を保管試料として御殿場研究所の被験物質保管室に保管し、その他の残余被験物質は全量を製造者に返却した。

2) 媒体

製 造 者 : 丸石製薬株式会社

名 称 : オリーブ油

規 格 : 日本薬局方

ロット番号 : 0310
保存方法 : 室温
保存場所 : 御殿場研究所 被験物質調製室

2. 被験液の調製

1) 被験液の調製及び保存方法

投与容量が 10mL/kg 体重となるように、各濃度ごとに必要量の被験物質を秤取し、磁製乳鉢を用いて媒体に懸濁し、規定量とした。調製は最大 7 日分を一括して行い、1 日分ずつ褐色ガラス瓶に分注し、冷蔵（約 4℃）保存した。

2) 被験液の安定性

本被験物質の 1 及び 200mg/mL 懸濁液（媒体、オリーブ油）は、冷蔵（約 4℃）8 日後室温 24 時間保存で安定かつ均一であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（Attached Data 1）。

3) 被験液の濃度・均一性確認

投与第 1 及び 4 週の 2 回、投与に使用した各濃度液について HPLC 法により株式会社ボゾリサーチセンターで測定した。その結果、被験物質濃度は表示値に対して 95.0～100.0%、変動係数は 0.3～1.7% であり、いずれも許容範囲内（濃度：表示値±10%、変動係数 10%以内）で適正であった（Attached Data 2, 3）。

3. 試験動物

Sprague-Dawley 系 SPF ラット〔Crj：CD(SD)IGS、日本チャールス・リバー(株)、厚木飼育センター〕の雌雄各 57 匹^注を 4 週齢で入手し、約 2 週間検疫・馴化飼育した後、体重増加が順調で一般状態に異常のみられない健康な雌雄各 42 匹を選び、6 週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で 192～225g（平均値：207.3g）、雌で 147～173g（平均値：159.0g）であり、いずれの動物の体重も平均値±20%以内であった。

動物は、検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日（投与開始 2 日前）の体重に基づいて層別化し、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。動物の割り付けはコンピュータを用いてブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ（ブロック配置法で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割り当てた）により実施した。群分け後の余剰動物は、試験系より除外した。

^注： 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 55 匹であったが、実際には雌雄各 57 匹が納入

された。

4. 飼育条件

動物は、温度 22～25℃、相対湿度 45～70%（ただし、一時的に温度最大 27℃、湿度最大 74% まで上昇した数回を除く）、換気回数 1 時間 10～15 回、照明 1 日 12 時間（07：00～19：00）の飼育室（815 号室）で飼育した。動物は、ブラケット式金属製網ケージ（W 254× D 350 × H 170 mm：リードエンジニアリング株式会社）に 1 匹ずつ収容し、固形飼料（放射線滅菌 CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）及び飲料水（御殿場市営水道水：自動給水）を自由に摂取させ飼育した。飼料中の混入物質に関しては、使用した全ロットについて財団法人日本食品分析センターで分析したデータを入手し、また、飲料水については、水道法に準拠した水質の検査を財団法人静岡県生活科学検査センターに定期的（年 4 回）に依頼し、得られたデータを入手してそれぞれ異常のないことを確認して保存した。

5. 投与経路、投与回数、投与期間及び回復期間とその選択理由

毒性試験法のガイドラインに準じ、投与経路は経口を選択、投与期間及び回復期間は 28 日間及び 2 週間（14 日間）とし、回復期間中は休薬させた。また、投与回数は反復投与試験で一般的に行われている 1 日 1 回（7 回/週）とした。

6. 投与方法及びその選択理由

投与容量は、10mL/kg 体重とした。また、投与方法はげっ歯類の経口投与に際して一般的に行われている方法を選択した。すなわち、1 日 1 回（08:00～12:02 の間）、被験液を金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。対照群には媒体（オリーブ油）を同様に投与した。個体ごとの投与液量は、最新の体重を基準に算出した。

7. 投与量及びその設定理由、群構成並びに動物数

投与量は、予備試験¹⁾の成績を参考にして設定した。すなわち、トリチル=クロリドの 30、100、300 及び 1000mg/kg を雌雄ラットに 2 週間反復経口投与したところ、1000mg/kg 投与群の雌雄で一過性の摂餌量減少、肝臓の暗調化並びに重量増加及び腎臓の重量増加、雄で体重増加抑制並びに GOT 活性、BUN 及び総コレステロールの増加がみられた。また、300mg/kg 投与群では雌雄で一過性の摂餌量減少及び肝臓並びに腎臓の重量増加、雄で GOT 活性並びに BUN の増加及び肝臓の暗調化、100mg/kg 投与群では雌雄で肝臓の重量増加と雄で腎臓の重量

増加がみられた。これらの結果から、明らかな毒性徴候が予想される 300mg/kg を高用量とし、以下公比 5 で減じて 60 及び 12mg/kg の 3 用量を設定し、これに对照群を加えた計 4 群を使用した。1 群当たりの動物数は、28 日間投与後に剖検する群（主群）に雌雄各 6 匹を用い、更に、对照群、中用量群及び高用量群では 28 日間投与後 2 週間休薬した後に剖検する群（回復群）に雌雄各 6 匹を用いた。群構成表を以下に示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃 度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	主 群		回 復 群	
					動物数	動物番号	動物数	動物番号
对照群	0	0	10	雄	6	1001～1006	6	1007～1012
				雌	6	1101～1106	6	1107～1112
低用量群	12	1.2	10	雄	6	2001～2006	-	—
				雌	6	2101～2106	-	—
中用量群	60	6	10	雄	6	3001～3006	6	3007～3012
				雌	6	3101～3106	6	3107～3112
高用量群	300	30	10	雄	6	4001～4006	6	4007～4012
				雌	6	4101～4106	6	4107～4112

8. 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に小動物用耳標をつけて個体識別を行った。各飼育ケージには、用量（群）ごとに色分けしたケージラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び剖検予定日を明記した。

9. 検査方法

1) 一般状態の観察

投与期間中は毎日 3 回、投与前と投与直後及び投与 2 時間後（ただし、土曜及び休日は投与前と投与直後の 2 回）、回復期間中は毎日 1 回（午前中）、体外表、体位・姿勢、意識・態度、行動、神経症状などの一般状態を観察した。

なお、以下投与開始日を投与 1 日、投与 1～7 日を投与第 1 週、また、投与終了日の翌日を回復 1 日、回復 1～7 日を回復第 1 週と起算して表示した。

2) 体重測定

投与第 1 週は投与 1 日、4 日及び 7 日の 3 回、その後は 3 日ないし 4 日間隔で週 2 回、当日の投与前（08：23～11：05 の間）に測定した。回復期間中は回復 1 日、3 日及び 7 日に測定し、その後は 3 日ないし 4 日間隔で週 2 回測定した。また、相対器官重量算出のため、投与終了時及び回復終了時の剖検日にも絶食後の体重を測定した。

3) 摂餌量測定

投与第1週は投与1日（前日からの1日量）、4日及び7日（いずれも3日間の累積量）の3回、それ以降は3ないし4日間隔で週2回（3～4日間の累積量）、また、回復第1週は回復3日（2日間の累積量）及び回復7日（4日間の累積量）の2回、それ以降は3日ないし4日間隔で週2回（3～4日間の累積量）、測定日の一定時間（08：41～11：20の間、ただし、投与期間中は投与前）に測定し、1匹1日量を算出した。

4) 尿検査（摂水量測定を含む）

投与第4週及び回復第2週に行った。

投与第4週（投与25日～26日の間）は、検査当日の投与後に全生存動物について、回復第2週（回復11日～12日の間）は回復群の全生存動物について、個別に採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を採取した。次いで、自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取した。検査項目は以下の通りである。なお、採取した最初の4時間尿についてpH以下沈渣までの検査と尿量を、その後に得られた20時間尿を用いて浸透圧及び尿量の測定を行い、尿量は4時間の尿量及び20時間の尿量を合計して算出した。摂水量は、採尿器をセットしたケージに収容した状態で前日からの1日の摂取量を、給水瓶を用いて測定した。

検査項目	測定方法
pH	URIFLET 7A 試験紙〔アークレイ(株)〕 ^{a)}
たん白質	URIFLET 7A 試験紙〔アークレイ(株)〕 ^{a)}
ケトン体	URIFLET 7A 試験紙〔アークレイ(株)〕 ^{a)}
グルコース	URIFLET 7A 試験紙〔アークレイ(株)〕 ^{a)}
潜血	URIFLET 7A 試験紙〔アークレイ(株)〕 ^{a)}
ビリルビン	URIFLET 7A 試験紙〔アークレイ(株)〕 ^{a)}
ウロビリノーゲン	URIFLET 7A 試験紙〔アークレイ(株)〕 ^{a)}
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量（24時間量）	容量測定
浸透圧	氷点降下法 ^{b)}
摂水量（24時間量）	重量法

使用測定機器

- a) : mini AUTION ANALYZER MA-4210
(アークレイ(株)[旧社名: ㈱京都第一科学])
- b) : 自動浸透圧測定装置 オートアンドスタット OM-6030
(アークレイ(株))

5) 血液学検査

投与期間及び回復期間終了の翌日の剖検時に、前日から一夜(約 16 時間)絶食させた全生存動物を、エーテル麻酔下に開腹し、腹大動脈から EDTA-2K 加採血瓶(SB-41: シスメックス(株))に血液を採取し、以下の項目について測定した。ただし、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間及びフィブリノーゲン量については、3.8%クエン酸ナトリウムを加えた容器に採取した血液を遠心分離(3000rpm、10 分間)して得られた血漿を用いて測定した。

検査項目	測定方法	単位
赤血球数(RBC)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量(Hb)	シアンメトヘモグロビン法 ^{c)}	g/dL
ヘマトクリット値(Ht)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出	%
平均赤血球容積(MCV)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	fL
平均赤血球血色素量(MCH)	赤血球数及びヘモグロビン量から算出	pg
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出	%
網赤血球率(Reticulocyte)	Brecher 法	%
血小板数(Platelet)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	10 ⁴ /μL
白血球数(WBC)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	10 ² /μL
白血球百分率	May-Giemsa 染色による鏡検法	%
プロトロンビン時間(PT) クロット法 ^{d)}		s
活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	クロット法 ^{d)}	s
フィブリノーゲン量	トロンボプラスチン法 ^{d)}	mg/dL

使用測定機器

- c) : コールター全自動 8 項目血球アナライザー T890
(ベックマン・コールター(株))
- d) : 血液凝固自動測定装置 ACL 100 (Instrumentation Laboratory)

6) 血液生化学検査

血液学検査のための採血と同時に、腹大動脈から採取した血液を凝固促進剤入り試験管（ベノジェクト II-オートセップ：テルモ(株)）に取り、遠心分離（3000rpm、10 分間）して得られた血清を用いて以下の項目について測定した。ただし、GOT、GPT、LDH 及び γ -GTP については、ヘパリンを加えた容器に採取した血液を遠心分離（3000rpm、10 分間）して得られた血漿を用いて測定した。

検査項目	測定方法	単位
GOT	UV-rate 法 ^{e)}	IU/L
GPT	UV-rate 法 ^{e)}	IU/L
LDH	UV-rate 法 ^{e)}	IU/L
γ -GTP	γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド 法 ^{e)}	IU/L
AlP	Bessey-Lowry 法 ^{e)}	IU/L
総コレステロール (T.cho)	CEH-COD-POD 法 ^{e)}	mg/dL
トリグリセライド (TG)	GK-GPO-POD 法 ^{e)}	mg/dL
リン脂質 (PL)	PLD-ChOD-POD 法 ^{e)}	mg/dL
総ビリルビン (T.bilirubin)	アゾビリルビン法 ^{e)}	mg/dL
グルコース (Glucose)	Hexokinase-G6PD 法 ^{e)}	mg/dL
尿素窒素 (BUN)	Urease-GLDH 法 ^{e)}	mg/dL
クレアチニン (Creatinine)	Jaffé 法 ^{e)}	mg/dL
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ^{e)}	mmol/L
カリウム (K)	イオン選択電極法 ^{e)}	mmol/L
塩素 (Cl)	イオン選択電極法 ^{e)}	mmol/L
カルシウム (Ca)	OCPC 法 ^{e)}	mg/dL
無機リン (P)	モリブデン酸法 ^{e)}	mg/dL
総たん白質 (TP)	Biuret 法 ^{e)}	g/dL
アルブミン (Albumin)	BCG 法 ^{e)}	g/dL

検査項目	測定方法	単位
A/G 比 (A/G)	総たん白質及びアルブミンから算出	

使用測定機器

e) : 全自動分析装置 Monarch (Instrumentation Laboratory)

7) 病理学検査

(1) 剖検及び器官重量測定

全生存動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、体外表、頭部、胸部及び腹部を含む全身の器官・組織について詳細に観察・記録した。次いで、以下に示す器官・組織について器官重量（絶対重量）を測定するとともに、絶対重量と剖検時の体重から、体重 100g 当たりの相対重量を算出した。なお、*印をつけた両側性の器官については左右別々に測定したが、その合計値で評価した。

脳、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）*、胸腺、心臓、肺（気管支を含む）、肝臓、脾臓、腎臓*、副腎*、精巣*、精巣上体*、卵巣*、子宮

(2) 病理組織学検査

全動物について、次の器官・組織をリン酸緩衝 10%ホルマリン液で固定、保存した（ただし、眼球、ハーダー腺及び視神経はリン酸緩衝液で調製した 3%グルタルアルデヒド・2.5%ホルマリン液で、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後リン酸緩衝 10%ホルマリン液で保存した）。次いで、下線を施した器官・組織についてパラフィン包埋し、このうち主群の対照群と高用量群について切片とし、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色を行い鏡検した。その結果、被験物質投与による影響が疑われた雌雄の肝臓及び盲腸は、主群の中及び低用量群についても検索した。回復群は、まず主群で被験物質投与による影響が疑われた肝臓と盲腸について対照群と高用量群で検査を行った。その結果被験物質投与の影響が疑われた雄の肝臓と雌の盲腸は、中用量群についても検索した。更に、正常及び異常所見の代表例について写真を撮影した。

大脳、小脳、脊髄(胸部)、坐骨神経、眼球、視神経、ハーダー腺、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、胸腺、脾臓、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、胸大動脈、気管、肺（気管支を含む）、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、顎下腺、舌下腺、肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巣、子宮、腔、乳腺、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）、大腿部骨格筋、

皮膚（鼠径部）、喉頭、個体識別部（耳介）

10. 統計解析^{2~4)}

各検査項目のうち数値化した成績について、まず Bartlett 法により各群の分散の均一性の検定（有意水準：両側 1%）を行った。その結果、分散が均一の場合には Dunnett 法を用いて対照群と各投与群との平均値の差の検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を、分散が均一でない場合には Dunnett 型の方法（mean rank test 法）を用いて対照群と各投与群との平均順位の差の検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を行った。また、尿の定性的項目については、累積 χ^2 検定法（有意水準：両側 5 及び 1%）を、病理組織学検査の成績については、Mann-Whitney の U 検定（有意水準：片側 5 及び 1%）を行った。

試験結果

1. 一般状態

成績を Table 1-1～1-3 及び Appendix 1～11 に示した。

1) 投与期間

雌雄いずれの群にも死亡はみられず、12 及び 60mg/kg 投与群の雌雄では一般状態の異常も認められなかった。

300mg/kg 投与群では雄で投与 3 日以降、雌で投与 5 日以降、数例で軟便が連日観察された。なお、投与 28 日において軟便の例数が雌雄とも増加しているが、絶食により症状が増強された結果と考えられた。

2) 回復期間

回復期間を通じて、いずれの動物にも異常は認められなかった。

2. 体重

成績を Fig. 1、Table 2-1、2-2 及び Appendix 12～18 に示した。

1) 投与期間

雄では、12 及び 60mg/kg 投与群の体重は対照群と同様に推移した。300mg/kg 投与群の体重は、投与 21 日以降対照群を有意に下回って推移し、投与期間を通じた体重増加量も対照群に比べ有意に低かった。

雌では、12mg/kg 投与群の体重は対照群と同様に推移した。60 及び 300mg/kg 投与群の体重は投与 14 日以降対照群をやや下回って推移し、投与 14 日の 60mg/kg 投与群では有意差も認められた。また、これらの群における投与期間を通じた体重増加量は、対照群に比べ有意に低かった。

2) 回復期間

回復期間を通じて、雌雄の各投与群の体重は対照群と同様に推移した。

3. 摂餌量

成績を Fig. 2、Table 3-1、3-2 及び Appendix 19～25 に示した。

1) 投与期間

雄では、12mg/kg 投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。60mg/kg 投与群では投与 21 日以降対照群に比べ有意な高値がみられた。300mg/kg 投与群では、投与 4 日に対照群

に比べ有意な低値を示したが、投与 14 日以降は逆に対照群に比べ有意な高値を示した。

雌では、12 及び 60mg/kg 投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。300mg/kg 投与群では、投与 4 日に対照群に比べ有意な低値を示したが、その後は対照群と同様に推移した。

2) 回復期間

雄では、300mg/kg 投与群で対照群に比べて有意な高値が回復 3 日にみられたが、それ以降は対照群と同様に推移した。

雌では、回復期間を通じて各投与群の摂餌量は対照群と同様に推移した。

4. 尿検査（摂水量測定を含む）

成績を Table 4-1～4-8 及び Appendix 26～46 に示した。

1) 投与第 4 週検査

雄では、pH の有意な低下が 60 及び 300mg/kg 投与群に、摂水量の有意な増加が 300mg/kg 投与群にみられた。なお、60mg/kg 投与群で尿たん白質、ケトン体及びウロビリノーゲンの有意な増加が、12 及び 60mg/kg 投与群で尿浸透圧の有意な高値が認められたが、いずれも用量に関連した変化ではなかった。

雌では、各投与群と対照群の間に差は認められなかった。

2) 回復第 2 週検査

雌雄ともに、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。なお、ケトン体の有意な減少が 60mg/kg 投与群の雄にみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

5. 血液学検査

成績を Table 5-1～5-4 及び Appendix 47～60 に示した。

1) 投与期間終了時検査

雄では、平均赤血球色素濃度の有意な増加が全ての投与群にみられた。更に、300mg/kg 投与群では、血小板数及びフィブリノーゲン量の有意な増加並びにプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の有意な延長がみられた。なお、好酸球分画比率の有意な増加が 60mg/kg 投与群にみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

雌では、網赤血球率の有意な減少及びフィブリノーゲン量の有意な増加が 300mg/kg 投与群にみられた。

2) 回復期間終了時検査

雌雄ともに、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。なお、60mg/kg 投与群において網赤血球率の有意な減少が雄に、平均赤血球血色素量の有意な増加が雌にみられたが、いずれも用量に関連した変化ではなかった。

6. 血液生化学検査

成績を Table 6-1～6-4 及び Appendix 61～74 に示した。

1) 投与期間終了時検査

雄では、尿素窒素の有意な増加が 60 及び 300mg/kg 投与群に、GPT 活性、総たん白質、総コレステロール、リン脂質、総ビリルビン及びカルシウムの有意な増加とグルコースの有意な減少が 300mg/kg 投与群にみられた。

雌では、グルコースの有意な減少が 60 及び 300mg/kg 投与群に、GPT 活性及び総コレステロールの有意な増加が 300mg/kg 投与群にみられた。なお、60mg/kg 投与群において AIP 活性の有意な減少が雄に、ナトリウムの有意な増加が雌にみられたが、いずれも用量に関連した変化ではなかった。

2) 回復期間終了時検査

雄では、尿素窒素の有意な増加が 60 及び 300mg/kg 投与群に、無機リンの有意な増加が 300mg/kg 投与群にみられた。

雌では、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。なお、60mg/kg 投与群でカルシウムの有意な増加がみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

7. 器官重量

成績を Table 7-1～7-8 及び Appendix 75～116 に示した。

1) 投与期間終了時剖検例

被験物質投与に関連すると考えられる変化が、雌雄の肝臓及び腎臓に認められた。

肝臓 : 雄では、相対重量の有意な増加が 60 及び 300mg/kg 投与群にみられた。

雌では、絶対重量及び相対重量の有意な増加が 300mg/kg 投与群に、相対重量の有意な増加が 60mg/kg 投与群にみられた。

腎臓 : 雌雄ともに、相対重量の有意な増加が 300mg/kg 投与群にみられた。

なお、脳、肺及び副腎の相対重量の有意な増加が 300mg/kg 投与群の雄にみられたが、剖検時の体重の低値に起因する変化と考えられた。また、副腎の相対重量の有意な増加が

60mg/kg 投与群の雌にみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

2) 回復期間終了時剖検例

被験物質投与に関連すると考えられる変化が、雌の肝臓にみられた。

肝臓 : 雄では、対照群と各投与群との間に差は認められなかった。

雌では、相対重量の有意な増加が 300mg/kg 投与群にみられた。

なお、甲状腺の相対重量の有意な減少が 60mg/kg 投与群の雄にみられたが、用量に関連した変化ではなかった。

8. 剖検所見

成績を Table 8 及び Appendix 117～130 に示した。

1) 投与期間終了時剖検例

雄では、300mg/kg 投与群で肝臓の暗調化が 3/6 例、大型化が 1/6 例にみられた。

雌では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

2) 回復期間終了時剖検例

雌雄ともに、いずれの動物にも異常は認められなかった。

9. 病理組織学検査

成績を Table 9-1～9-4 及び Appendix 131～144 に、また、所見の代表例を Photo. 1～4 に示した。

1) 投与期間終了時剖検例

被験物質投与に関連すると考えられる変化が、雌雄の肝臓及び盲腸にみられた。

肝臓 : 軽微あるいは軽度の小葉中心性肝細胞肥大 (Photo. 2) が 60mg/kg 投与群の雄 3/6 例と雌 5/6 例及び 300mg/kg 投与群の雌雄全例にみられた。なお、軽微な微小肉芽腫が対照群の雌 1 例にみられたが、その出現状況から偶発所見と判断した。

盲腸 : 軽微な粘膜の肥厚 (Photo. 4) が 60mg/kg 投与群の雌 2/6 例及び 300mg/kg 投与群の雄 5/6 例と雌 5/6 例にみられた。

他に、以下の所見がみられたが、生理的変化である脾臓の髄外造血を除き、その出現状況及び病理学的性状から偶発所見と判断した。

肺 : 泡沫細胞の集簇 (300mg/kg 投与群の雌雄各 1 例)

下垂体 : 前葉における嚢胞 (300mg/kg 投与群の雌 1 例)、異所性頭蓋咽頭管様構

造 (300mg/kg 投与群の雌 1 例)

脾臓 : 髓外造血 (対照群及び 300mg/kg 投与群の雌雄全例)

腎臓 : 好塩基性尿細管 (対照群と 300mg/kg 投与群でそれぞれ雌雄各 1 例)

前立腺 : 間質の細胞浸潤 (対照群の 2 例)

眼球 : 網膜萎縮 (300mg/kg 投与群の雄 1 例)、硝子体出血 (300mg/kg 投与群の雄 1 例)

投与終了時剖検例で検索した他の器官・組織、すなわち大脳、小脳、脊髄(胸部)、坐骨神経、甲状腺 (上皮小体を含む)、副腎、胸腺、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、気管、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、膀胱、精巣、精巣上体、卵巢、子宮、胸骨 (骨髓を含む)、大腿骨 (骨髓を含む)、大腿部骨格筋には異常所見は認められなかった。

2) 回復期間終了時剖検例

被験物質投与に関連すると考えられる変化が、雄の肝臓及び雌の盲腸にみられた。

肝臓 : 軽微な小葉中心性肝細胞肥大が 300mg/kg 投与群の雄 1/6 例にみられた。

なお、軽微な微小肉芽腫が対照群の雌雄各 3 例と 300mg/kg 投与群の雌 2 例にみられたが、その出現状況から偶発所見と判断した。

盲腸 : 軽微な粘膜の肥厚が 300mg/kg 投与群の雌 2/6 例にみられた。

考 察

Sprague-Dawley 系 SPF 雌雄ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕に、トリチル=クロリドを 0（オリブ油：対照群）、12、60 及び 300mg/kg/day の用量で 28 日間反復強制経口投与し、その毒性を検討するとともに、対照群、60 及び 300mg/kg 投与群についてはその後 2 週間休薬させ、変化の回復性について検討した。

投与期間中を通じて死亡動物はみられなかった。一般状態では、投与 3～5 日以降 300mg/kg 投与群の雌雄で軟便が認められた。

体重では、60mg/kg 投与群の雌と 300mg/kg 投与群の雌雄で体重増加抑制が認められた。

摂餌量では、投与開始後一過性の摂餌量減少が 300mg/kg 投与群の雌雄にみられた。しかし、投与期間の後半では、逆に摂餌量の増加が 60 及び 300mg/kg 投与群の雄に認められた。300mg/kg 投与群の雄では体重増加抑制も認められていることから、被験物質投与による摂餌効率の低下が示唆された。

尿検査では、pH の低下が 60 及び 300mg/kg 投与群の雄に、摂水量の増加が 300mg/kg 投与群の雄にみられた。摂水量については、300mg/kg 投与群で軟便がみられていることから、糞中に過剰に排泄された水分を補うための増加と考えられた。

血液学検査では、300mg/kg 投与群の雌雄でフィブリノーゲン量の増加、雄で血小板の増加及びプロトロンビン時間並びに活性化部分トロンボプラスチン時間の延長が認められた。なお、雄において平均赤血球血色素濃度の増加がすべての投与群にみられたが、その変化の程度が用量に関連していないこと、他の赤血球項目に何ら変化がみられていないことから毒性ではないと判断した。また、300mg/kg 投与群の雌にみられた網赤血球率の減少も他の赤血球項目に変化がないことから毒性学的意義のない変化と考えられた。

血液化学検査では、GPT 活性の増加が 300mg/kg 投与群の雌雄にみられ、被験物質による肝機能障害が示唆された。また、同用量群の雌雄で総コレステロールの増加、雄で総ビリルビン、リン脂質及び総たん白質の増加がみられたが、これらも被験物質による肝臓への影響と推定された。更に、尿素窒素の増加が 60 及び 300mg/kg 投与群の雄にみられ、被験物質の腎臓への影響も示唆された。なお、60mg/kg 投与群の雌と 300mg/kg 投与群の雌雄でグルコースの減少がみられたが、前述の摂餌効率の低下を反映した変化と推察された。他にカルシウムの増加が 300mg/kg 投与群の雄にみられたが、機序は不明であった。

病理組織学検査では、肝臓、腎臓及び盲腸に変化がみられた。腎臓では、重量増加が 300mg/kg

投与群の雌雄にみられ、血液化学検査の所見と同様、被験物質の腎臓に対する影響が示唆された。肝臓では、肉眼的に大型化及び暗調化が 300mg/kg 投与群の雄に、重量増加及び組織学検査における小葉中心性の肝細胞肥大が 60 及び 300mg/kg 投与群の雌雄に認められた。盲腸では、粘膜の肥厚が 60mg/kg 投与群の雌及び 300mg/kg 投与群の雌雄に認められた。

休薬により、上記の変化はいずれも消失あるいは軽減し、回復性が認められた。なお、無機リンの増加が 300mg/kg 投与群の雄にみられたが、回復期間のみの変化であり、原因となる腎障害などの変化も認められないことから毒性学的意義はないと判断した。

以上の如く、トリチル=クロリドをラットに 28 日間反復経口投与した結果、主な変化として 60mg/kg 投与群では、肝重量増加並びに小葉中心性肝細胞肥大が雌雄に、尿素窒素の増加が雄に、体重増加抑制、グルコースの減少並びに盲腸粘膜の肥厚が雌にみられた。300mg/kg 投与群ではこれらの変化に加え、軟便及びフィブリノーゲン量、GPT 活性、総コレステロール並びに腎臓重量の増加が雌雄に、プロトロンビン時間並びに活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、リン脂質、総たん白質並びに総ビリルビンの増加が雄にみられた。一方、12mg/kg 投与群の雌雄では変化は認められなかった。

これらの結果から、本試験におけるトリチル=クロリドの無影響量は雌雄ともに 12mg/kg/day と推定された。

文 献

- 1)
トリチル=クロリドのラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（予備試験）
（株式会社ボゾリサーチセンター 試験番号：U-1917、2000 年 3 月）
- 2) Shayne C. Gad and Carrol S. Weil (1994) : Chapter 7. Statistics for Toxicologists, *In* Principles and Methods of Toxicology (A. Wallace Hayes, ed.), 3rd ed., pp. 221-274, Raven Press, Ltd., New York.
- 3) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－Ⅱ, pp.23-27, 東京大学出版会, 東京.
- 4) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－Ⅱ, pp.387-389, 東京大学出版会, 東京.

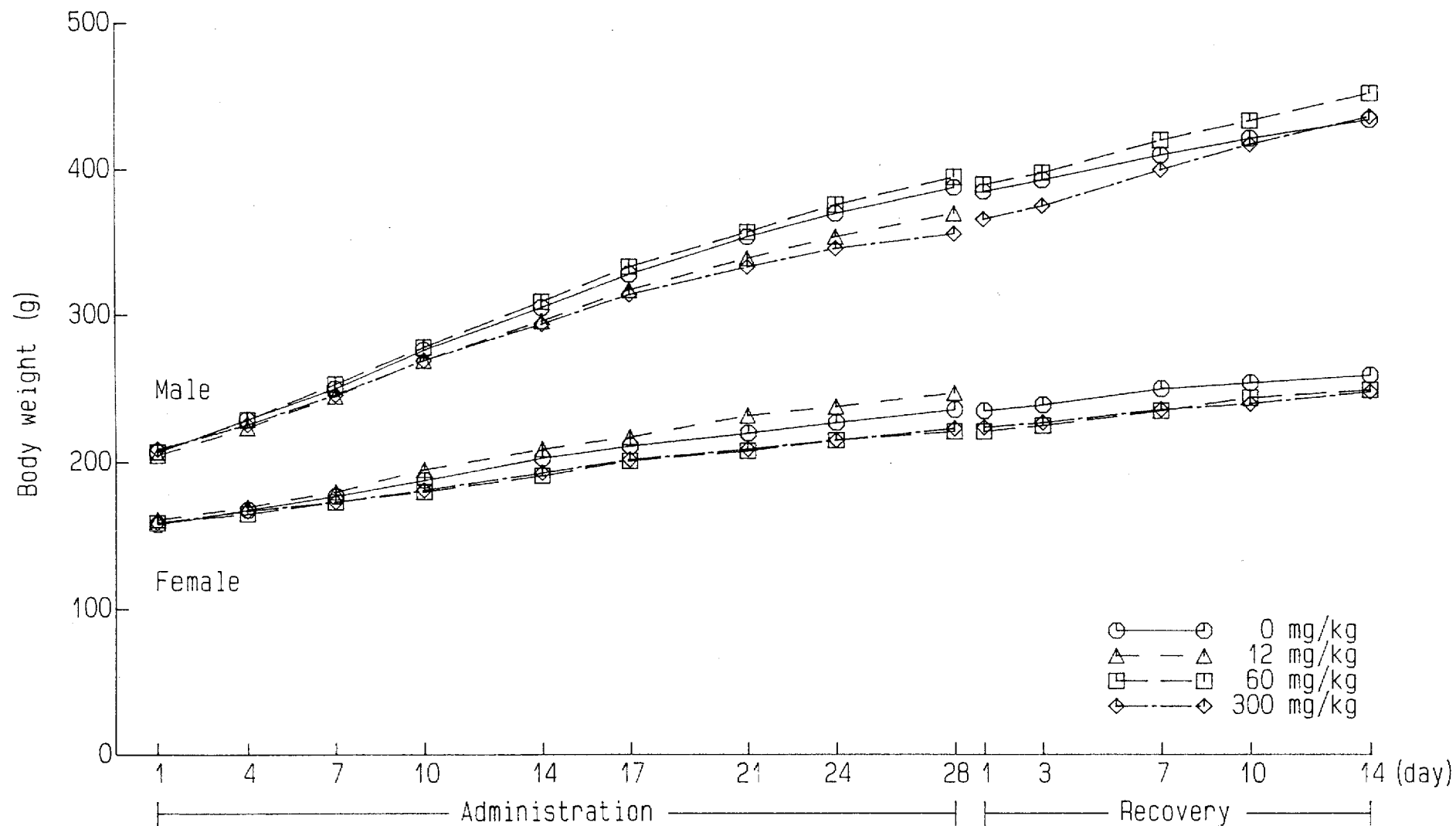


Fig.1 Body weight of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

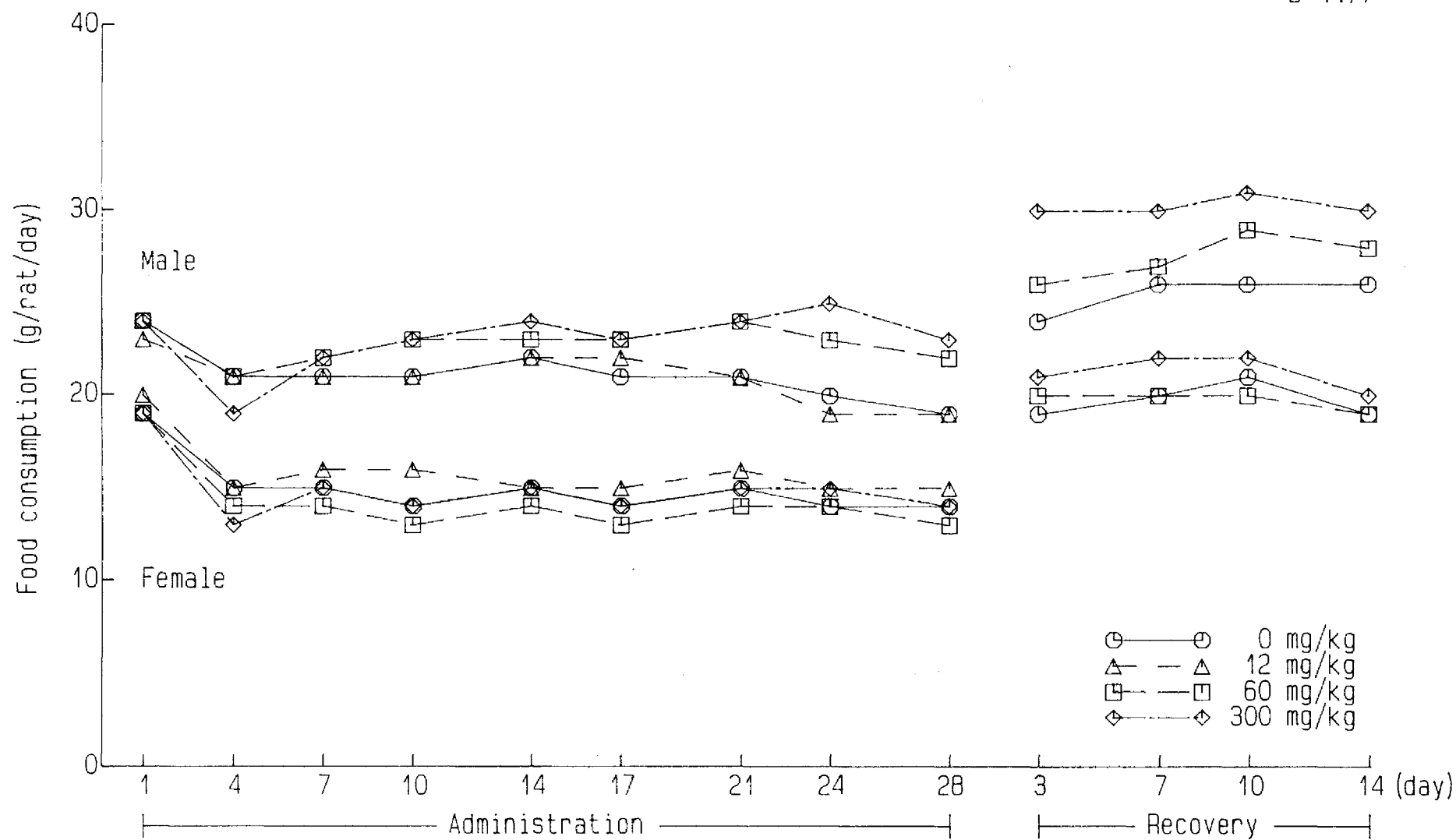


Fig.2 Food consumption of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

Table 1-1

Clinical signs of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

[illegible]

Table 1-2

Clinical signs of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of administration													
			15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Male	0	No. of animals	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	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	60	No. of animals	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
	300	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		No abnormality	9	8	9	10	9	10	10	8	9	9	8	9	8	5
Female	0	Soft feces	3	4	3	2	3	2	2	4	3	3	4	3	4	7
	12	No. of animals	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
	60	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		No abnormality	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	300	No. of animals	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
	300	No. of animals	8	8	9	9	8	8	9	8	9	9	8	9	8	5
		Soft feces	4	4	3	3	4	4	3	4	3	3	4	3	4	7

Table 1-3

Clinical signs of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period of 2 weeks

[illegible]

Table 2-1 Body weight of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg		Day of administration								Gain 1-28	
			1	4	7	10	14	17	21	24		28
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	207	229	250	276	305	328	354	370	388	180
		S.D.	9	11	12	15	17	21	22	25	27	22
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	205	224	245	269	296	317	339	354	370	166
		S.D.	8	11	14	15	18	19	19	22	25	21
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	207	229	253	278	309	333	357	376	395	187
		S.D.	6	7	7	9	10	12	12	13	15	14
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	209	226	246	269	294	314	333*	346*	356**	148**
		S.D.	7	9	10	12	17	20	25	26	28	23
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	158	168	177	188	203	211	220	227	236	77
		S.D.	8	10	8	9	11	13	13	15	16	12
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	161	170	180	195	209	217	232	238	247	86
		S.D.	6	6	5	7	5	13	13	9	12	8
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	159	165	173	180	191*	201	208	215	221	62*
		S.D.	6	8	10	11	14	16	16	20	19	17
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	159	167	173	181	193	202	209	215	223	64*
		S.D.	7	8	7	9	10	12	15	14	16	10

Unit : g

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 2-2

Body weight of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery					Gain 1-14
			1	3	7	10	14	
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	385	393	410	421	434	50
		S.D.	33	35	39	42	46	19
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	390	398	420	433	452	63
		S.D.	16	16	20	20	23	17
	300	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	366	375	400	417	436	70
		S.D.	23	22	29	30	33	12
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	235	239	250	254	259	24
		S.D.	17	14	16	20	25	10
	60	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	221	225	235	244	249	29
		S.D.	23	23	26	25	26	4
	300	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	224	227	236	240	248	25
		S.D.	13	11	13	15	16	4

Unit : g

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-1 Food consumption of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg		Day of administration								
			1	4	7	10	14	17	21	24	28
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	24	21	21	21	22	21	21	20	19
		S.D.	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	23	21	21	21	22	22	21	19	19
		S.D.	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	24	21	22	23	23	23	24*	23*	22**
		S.D.	2	1	1	2	2	2	2	2	2
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	24	19*	22	23	24*	23*	24**	25**	23**
		S.D.	1	2	1	2	2	2	4	3	3
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	19	15	15	14	15	14	15	14	14
		S.D.	2	1	1	1	2	1	2	1	2
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	20	15	16	16	15	15	16	15	15
		S.D.	1	1	1	1	1	2	1	1	1
	60	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	19	14	14	13	14	13	14	14	13
		S.D.	3	2	1	2	2	2	1	2	1
	300	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	19	13**	15	14	15	14	15	15	14
		S.D.	2	1	1	1	2	2	2	2	1

Unit : g/rat/day

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 3-2

Food consumption of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery			
			3	7	10	14
Male	0	No.	6	6	6	6
		Mean	24	26	26	26
		S.D.	4	4	4	5
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	26	27	29	28
		S.D.	2	3	3	3
	300	No.	6	6	6	6
		Mean	30**	30	31	30
		S.D.	2	3	3	2
Female	0	No.	6	6	6	6
		Mean	19	20	21	19
		S.D.	1	2	4	3
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	20	20	20	19
		S.D.	2	2	2	2
	300	No.	6	6	6	6
		Mean	21	22	22	20
		S.D.	1	2	2	2

Unit : g/rat/day

Significantly different from control group (**:p<0.01)

Table 4-2 Urinalysis of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin						6) Urobilinogen					7) Color		
			-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	+++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	3	8	1	0	0**	0	12	0
	300	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	9	3	0	0	0	0	12	0
Female	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0
	300	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0

4) - : 0 mg/dL +- : 0.03 mg/dL + : 0.06 - 0.1 mg/dL ++ : 0.2 - 0.5 mg/dL +++ : ≥ 1.0 mg/dL
5) - : 0 mg/dL +- : 0.2 mg/dL + : 0.5 - 1.0 mg/dL ++ : 2.0 - 4.0 mg/dL +++ : 6.0 - 10.0 mg/dL ++++ : > 10.0 mg/dL
6) +- : 0.2 - 1.0 mg/dL + : 2.0 - 3.0 mg/dL ++ : 4.0 - 6.0 mg/dL +++ : 8.0 - 12.0 mg/dL ++++ : > 12.0 mg/dL
7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow
Significantly different from control group (**:p<0.01)

Table 4-3

Urinalysis of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

			URINE SEDIMENT																																
Sex	Dose mg/kg	No.																		CRYSTALLIZATION															
			RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO				
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++					
Male	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0		
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0		
	60	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	8	3	1	0	0	12	0	0	0	0		
	300	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	9	2	1	0	0	12	0	0	0	0		
Female	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0		
	12	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0		
	60	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0		
	300	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0		

SEC : Squamous Epithelial Cell - : Negative

SREC : Small Round Epithelial Cell +- : Slight

PS : Phosphate Salts + : Mild

CO : Calcium Oxalate ++ : Moderate

+++ : Severe

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-4 Urinalysis of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	12	Mean	36	7.8	1805
			S.D.	7	3.5	545
	12	6	Mean	33	5.4	2399*
			S.D.	2	1.6	287
	60	12	Mean	39	5.7	2234*
			S.D.	4	2.4	286
	300	12	Mean	46*	8.0	1560
			S.D.	11	3.6	342
Female	0	12	Mean	30	4.4	1826
			S.D.	5	1.3	355
	12	6	Mean	31	5.5	1682
			S.D.	8	2.9	478
	60	12	Mean	29	4.7	1879
			S.D.	7	2.2	473
	300	12	Mean	40	8.0	1369
			S.D.	13	4.6	594

Significantly different from control group (*:p<0.05)

Table 4-5

Urinalysis of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg	No.	pH									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose					
			5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++
Male	0	6	0	0	0	0	0	0	1	4	1	0	0	3	3	0	0	0	2	4	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	0	0	1	0	2	1	2	0	0	4	2	0	0	4	0	2	0	0	0*	6	0	0	0	0	0
	300	6	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	0	0	3	3	0	0	3	1	2	0	0	0	6	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	0	1	1	1	1	1	1	3	1	2	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	60	6	0	0	2	0	0	1	1	2	0	1	1	4	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	300	6	0	1	0	0	0	1	0	4	0	2	2	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
1)			- : 0 - 5 mg/dL			+- : 10 - 20 mg/dL			+ : 30 - 70 mg/dL			++ : 100 - 200 mg/dL			+++ : 250 - 400 mg/dL			++++ : >400 mg/dL											
2)			- : 0 mg/dL			+- : 5 mg/dL			+ : 10 - 20 mg/dL			++ : 30 - 45 mg/dL			+++ : 60 - 80 mg/dL			++++ : >80 mg/dL											
3)			- : 0 - 10 mg/dL			+- : 30 - 50 mg/dL			+ : 70 - 100 mg/dL			++ : 150 - 200 mg/dL			+++ : 300 - 500 mg/dL			++++ : ≥1000 mg/dL											
Significantly different from control group (*:p<0.05)																													

Table 4-6

Urinalysis of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color			
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY
Male	0	6	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0	2	4	0	0	0	0	6	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0
4)			-	: 0 mg/dL		+-	: 0.03 mg/dL		+	: 0.06 - 0.1 mg/dL		++	: 0.2 - 0.5 mg/dL		+++	: ≥1.0 mg/dL					
5)			-	: 0 mg/dL		+-	: 0.2 mg/dL		+	: 0.5 - 1.0 mg/dL		++	: 2.0 - 4.0 mg/dL		+++	: 6.0 - 10.0 mg/dL		++++	: >10.0 mg/dL		
6)			+-	: 0.2 - 1.0 mg/dL		+	: 2.0 - 3.0 mg/dL		++	: 4.0 - 6.0 mg/dL		+++	: 8.0 - 12.0 mg/dL		++++	: >12.0 mg/dL					
7)			LY	: Light yellow		Y	: Yellow		DY	: Dark yellow											
No significant difference in any treated groups from control group.																					

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-7

Urinalysis of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 2 weeks

			URINE SEDIMENT																				CRYSTALLIZATION												
Sex	Dose mg/kg	No.	RBC					WBC					SEC					SREC					Cast			PS					CO				
			-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	-	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	2	0	3	1	0	6	0	0	0	0		
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	3	2	0	1	0	6	0	0	0	0		
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	2	3	1	0	0	6	0	0	0	0		
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0		
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0		
	300	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0		
SEC : Squamous Epithelial Cell								- : Negative																											
SREC : Small Round Epithelial Cell								+- : Slight																											
PS : Phosphate Salts								+ : Mild																											
CO : Calcium Oxalate								++ : Moderate																											
								+++ : Severe																											

SEC : Squamous Epithelial Cell - : Negative
 SREC : Small Round Epithelial Cell +- : Slight
 PS : Phosphate Salts + : Mild
 CO : Calcium Oxalate ++ : Moderate
 +++ : Severe

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-8

Urinalysis of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	6	Mean	39	9.7	2040
			S.D.	11	4.2	432
	60	6	Mean	40	9.0	2141
			S.D.	5	3.1	343
	300	6	Mean	41	9.5	2269
			S.D.	6	6.3	592
Female	0	6	Mean	39	8.1	1814
			S.D.	13	4.7	339
	60	6	Mean	28	6.9	2174
			S.D.	10	2.9	587
	300	6	Mean	46	9.0	2113
			S.D.	17	4.3	592

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 5-1 Hematological findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC ×10 ⁴ /μl.	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC %	Reticu- locyte %	Plate- let ×10 ⁴ /μl.	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
Male	0	6	Mean	758	15.5	45	59.0	20.5	34.6	2.2	102.7	13.8	16.4	263
			S.D.	24	0.3	1	1.3	0.6	0.6	0.3	7.0	0.6	0.7	16
	12	6	Mean	741	15.9	45	60.3	21.4	35.5**	2.2	99.7	14.9	18.8	263
			S.D.	29	0.3	1	1.9	0.8	0.4	0.3	6.1	1.6	2.0	15
	60	6	Mean	747	15.9	45	60.0	21.3	35.5*	2.4	105.2	14.3	17.8	265
			S.D.	18	0.6	1	1.3	0.6	0.3	0.3	4.8	0.8	1.2	12
	300	6	Mean	763	15.8	45	58.6	20.8	35.4*	1.9	120.5**	19.7**	26.0**	329*
			S.D.	44	0.3	1	2.4	1.0	0.5	0.6	9.3	5.0	4.6	48
Female	0	6	Mean	720	15.2	43	59.6	21.2	35.5	2.3	107.7	12.7	15.2	215
			S.D.	29	0.4	1	1.5	0.5	0.2	0.5	8.3	0.4	0.8	12
	12	6	Mean	741	15.8	44	59.8	21.2	35.5	1.9	103.6	12.6	14.4	217
			S.D.	10	0.3	1	1.1	0.5	0.4	0.2	9.1	0.4	0.8	12
	60	6	Mean	726	15.5	44	60.2	21.3	35.5	2.1	117.7	12.3	14.4	226
			S.D.	28	0.8	2	1.0	0.6	0.5	0.4	29.4	0.4	1.0	18
	300	6	Mean	735	15.5	43	59.0	21.1	35.8	1.7*	114.5	12.3	15.1	243*
			S.D.	20	0.6	2	1.7	0.7	0.3	0.2	6.5	0.6	1.2	21

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 5-2 Hematological findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)						
				$\times 10^3/\mu\text{L}$	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
Male	0	6	Mean	84	89.0	0.3	9.9	0.4	0.0	0.3	0.0
			S.D.	21	4.1	0.4	4.2	0.5	0.0	0.4	0.0
	12	6	Mean	69	83.8	0.5	14.4	0.7	0.0	0.6	0.0
			S.D.	27	8.1	0.4	7.1	0.6	0.0	0.5	0.0
	60	6	Mean	82	85.1	0.4	12.5	1.3*	0.0	0.7	0.0
			S.D.	23	3.7	0.4	3.6	0.8	0.0	0.4	0.0
	300	6	Mean	81	82.6	0.5	15.8	0.6	0.0	0.5	0.0
			S.D.	20	3.2	0.4	3.0	0.4	0.0	0.3	0.0
	0	6	Mean	69	81.9	0.6	16.0	0.9	0.0	0.6	0.0
			S.D.	21	7.2	0.5	6.8	0.6	0.0	0.5	0.0
	12	6	Mean	72	86.7	0.3	11.8	0.8	0.0	0.5	0.0
			S.D.	18	4.2	0.4	4.5	0.7	0.0	0.4	0.0
Female	60	6	Mean	72	86.2	0.3	12.0	0.9	0.0	0.6	0.0
			S.D.	18	5.8	0.4	4.9	0.6	0.0	0.5	0.0
	300	6	Mean	77	86.3	0.7	11.7	0.6	0.0	0.8	0.0
			S.D.	16	9.4	0.6	8.3	0.7	0.0	0.5	0.0

Significantly different from control group (*:p<0.05)

Table 5-3 Hematological findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC $\times 10^4/\mu\text{L}$	Hb g/dL	Ht %	MCV fL	MCH pg	MCHC %	Reticu- loocyte %	Plate- let $\times 10^3/\mu\text{L}$	PT s	APTT s	Fibri- nogen mg/dL
Male	0	6	Mean	795	15.5	46	57.6	19.5	33.9	2.5	101.8	14.9	18.7	254
			S.D.	41	0.5	2	1.8	0.7	0.7	0.2	8.6	1.3	1.4	14
	60	6	Mean	802	15.6	47	57.6	19.4	33.7	2.0**	97.7	15.8	18.5	255
			S.D.	13	0.4	1	1.0	0.3	0.6	0.3	9.1	0.7	1.9	7
	300	6	Mean	801	15.7	46	57.7	19.6	34.1	2.5	99.5	16.4	19.4	258
			S.D.	37	0.5	2	1.1	0.5	0.4	0.1	8.0	1.6	1.0	17
Female	0	6	Mean	798	15.2	45	56.3	19.0	33.8	1.9	103.2	13.3	15.3	201
			S.D.	10	0.4	1	0.5	0.5	0.6	0.4	7.3	0.9	0.8	15
	60	6	Mean	765	15.1	44	57.5	19.7*	34.2	2.1	108.3	13.1	15.1	200
			S.D.	18	0.4	1	0.5	0.2	0.3	0.4	4.3	0.4	1.1	11
	300	6	Mean	788	15.1	45	56.6	19.1	33.8	2.2	105.6	12.9	16.4	199
			S.D.	59	0.9	2	1.7	0.5	0.3	0.2	9.0	0.4	1.1	12

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 5-4

Hematological findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)						
				$\times 10^3/\mu\text{L}$	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
Male	0	6	Mean	77	84.5	0.1	13.7	0.9	0.0	0.8	0.0
			S.D.	21	1.5	0.2	1.4	0.4	0.0	0.4	0.0
	60	6	Mean	81	86.5	0.2	12.3	0.5	0.0	0.5	0.0
			S.D.	26	2.3	0.3	2.4	0.4	0.0	0.0	0.0
	300	6	Mean	76	84.3	0.1	13.9	1.0	0.0	0.8	0.0
			S.D.	11	6.4	0.2	6.2	1.0	0.0	0.4	0.0
Female	0	6	Mean	61	87.6	0.3	11.2	0.8	0.0	0.3	0.0
			S.D.	13	6.6	0.4	6.6	0.3	0.0	0.3	0.0
	60	6	Mean	52	83.9	0.5	13.5	1.5	0.0	0.6	0.0
			S.D.	2	7.5	0.5	6.8	1.1	0.0	0.6	0.0
	300	6	Mean	57	84.6	0.4	13.6	0.8	0.0	0.7	0.0
			S.D.	14	3.1	0.5	3.1	0.5	0.0	0.3	0.0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-1 Blood chemical findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		GOT (ASAT) IU/L	GPT (ALAT) IU/L	LDH IU/L	AlP IU/L	γ -GTP IU/L	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL
Male	0	6	Mean	48	30	50	481	2.4	6.2	3.7	1.46	61	59	104
			S.D.	10	4	14	157	0.3	0.3	0.0	0.13	14	20	17
	12	6	Mean	40	30	48	425	2.2	6.2	3.7	1.50	63	68	106
			S.D.	8	2	5	72	0.2	0.2	0.1	0.07	9	11	11
	60	6	Mean	39	34	45	317*	2.1	6.3	3.8	1.47	63	64	110
			S.D.	6	7	10	57	0.4	0.3	0.2	0.09	5	18	8
	300	6	Mean	44	47**	41	468	2.8	6.6*	3.8	1.36	76*	54	128*
			S.D.	7	7	8	36	0.6	0.2	0.1	0.10	12	14	15
Female	0	6	Mean	43	22	33	250	2.1	6.5	3.9	1.50	60	31	104
			S.D.	12	3	5	49	0.6	0.2	0.2	0.12	11	3	16
	12	6	Mean	40	24	32	244	2.0	6.3	3.8	1.57	59	33	101
			S.D.	9	1	5	63	0.4	0.3	0.1	0.15	11	6	15
	60	6	Mean	36	24	27	252	2.3	6.4	3.8	1.47	69	34	114
			S.D.	8	2	7	49	0.3	0.5	0.2	0.13	6	3	8
	300	6	Mean	31	28**	33	207	2.7	6.7	3.8	1.35	80*	38	124
			S.D.	10	4	6	37	0.4	0.4	0.2	0.09	19	8	23

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 6-2 Blood chemical findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL
Male	0	6	Mean	0.10	148	9	0.61	144	4.9	109	9.7	8.3
			S.D.	0.01	16	1	0.04	1	0.4	1	0.2	0.6
	12	6	Mean	0.11	130	10	0.57	144	4.9	109	9.6	7.8
			S.D.	0.01	11	2	0.05	1	0.2	1	0.3	0.3
	60	6	Mean	0.10	130	13**	0.58	144	4.7	108	9.8	7.8
			S.D.	0.00	14	2	0.06	1	0.1	1	0.3	0.4
	300	6	Mean	0.12**	105**	13**	0.57	144	4.7	109	10.2*	8.0
			S.D.	0.01	13	2	0.05	1	0.2	2	0.1	0.4
Female	0	6	Mean	0.09	117	13	0.61	141	4.6	110	9.7	7.8
			S.D.	0.01	5	3	0.08	1	0.3	1	0.2	0.6
	12	6	Mean	0.09	117	13	0.57	142	4.8	110	9.7	8.1
			S.D.	0.01	11	1	0.02	1	0.4	1	0.2	0.5
	60	6	Mean	0.09	101*	13	0.56	143*	4.7	110	9.8	8.4
			S.D.	0.01	7	2	0.07	1	0.4	1	0.3	0.5
	300	6	Mean	0.10	98**	14	0.56	142	4.6	109	10.0	8.1
			S.D.	0.02	11	1	0.02	1	0.2	2	0.3	0.4

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 6-3 Blood chemical findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg	No.		GOT (ASAT) IU/L	GPT (ALAT) IU/L	LDH IU/L	ALP IU/L	γ -GTP IU/L	TP g/dL	Albumin g/dL	A/G	T.cho mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL
Male	0	6	Mean	44	29	45	310	2.0	6.2	3.6	1.38	69	62	108
			S.D.	9	5	9	61	0.2	0.2	0.1	0.06	12	19	12
	60	6	Mean	40	24	49	280	1.9	6.2	3.6	1.39	67	71	107
			S.D.	6	2	7	63	0.4	0.2	0.1	0.02	12	23	16
	300	6	Mean	41	24	44	289	1.9	6.2	3.6	1.39	60	55	99
			S.D.	10	3	12	65	0.3	0.2	0.1	0.11	12	18	15
Female	0	6	Mean	51	23	32	139	2.0	6.6	3.9	1.39	64	31	110
			S.D.	7	4	5	55	0.3	0.4	0.2	0.06	16	4	20
	60	6	Mean	47	23	30	138	1.7	6.6	3.9	1.45	72	30	123
			S.D.	6	2	4	20	0.3	0.3	0.1	0.11	11	3	14
	300	6	Mean	51	24	30	129	2.2	6.8	3.9	1.40	69	30	117
			S.D.	4	2	3	30	0.5	0.3	0.2	0.09	12	6	18

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 6-4

Blood chemical findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

Sex	Dose mg/kg	No.		T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL
Male	0	6	Mean	0.10	140	12	0.61	143	4.7	110	9.2	7.3
			S.D.	0.01	9	1	0.08	1	0.5	2	0.2	0.4
	60	6	Mean	0.10	142	14**	0.65	143	4.6	110	9.3	7.6
			S.D.	0.01	6	1	0.07	1	0.3	2	0.2	0.4
	300	6	Mean	0.11	135	14**	0.66	143	4.7	110	9.2	8.1*
			S.D.	0.01	8	1	0.04	1	0.4	2	0.3	0.6
Female	0	6	Mean	0.09	120	15	0.65	141	5.0	112	9.1	6.7
			S.D.	0.02	14	2	0.05	1	0.2	2	0.2	0.8
	60	6	Mean	0.10	119	15	0.63	142	4.8	111	9.4*	7.5
			S.D.	0.01	9	1	0.07	1	0.4	1	0.2	0.8
	300	6	Mean	0.09	119	16	0.66	142	4.7	111	9.3	6.9
			S.D.	0.01	22	4	0.04	1	0.4	1	0.2	0.9

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 7-1 Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Pituitary	Thyroid (R+L)	Thymus	Heart	Lung	Liver
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	373	2.02	10.4	19.2	490	1.22	1.31	12.18
		S.D.	26	0.03	1.7	3.1	103	0.10	0.10	1.65
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	349	1.95	9.4	17.2	461	1.16	1.24	11.44
		S.D.	24	0.06	1.8	2.4	129	0.09	0.08	0.73
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	376	2.00	11.5	18.7	555	1.22	1.30	13.44
		S.D.	10	0.08	1.1	4.1	90	0.09	0.08	1.17
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	324**	1.97	9.7	19.4	414	1.08	1.24	14.01
		S.D.	30	0.06	1.7	4.0	35	0.11	0.11	1.53
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.55	2.8	5.2	131	0.33	0.35	3.25
		S.D.		0.04	0.4	1.0	22	0.03	0.02	0.25
	12	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.56	2.7	4.9	131	0.34	0.36	3.28
		S.D.		0.05	0.5	0.7	33	0.04	0.02	0.05
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.54	3.1	5.0	148	0.33	0.35	3.58*
		S.D.		0.03	0.3	1.1	25	0.03	0.02	0.24
	300	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.61*	3.0	5.9	129	0.34	0.38*	4.32**
		S.D.		0.05	0.3	1.0	17	0.01	0.01	0.14

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 7-2 Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Dose mg/kg		Spleen g(g/100g BW)	Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	Testis (R+L) g(g/100g BW)	Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6
		Mean	0.67	2.68	3.09	802
		S.D.	0.10	0.25	0.18	43
	12	No.	6	6	6	6
		Mean	0.56	2.68	2.96	756
		S.D.	0.10	0.17	0.17	35
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	0.72	2.83	3.06	769
		S.D.	0.13	0.26	0.13	48
	300	No.	6	6	6	6
		Mean	0.62	2.80	2.99	768
		S.D.	0.09	0.41	0.21	48
Relative	0	No.	6	6	6	6
		Mean	0.18	0.72	0.84	215
		S.D.	0.02	0.06	0.09	15
	12	No.	6	6	6	6
		Mean	0.16	0.77	0.85	217
		S.D.	0.03	0.03	0.07	11
	60	No.	6	6	6	6
		Mean	0.19	0.76	0.82	205
		S.D.	0.04	0.06	0.04	10
	300	No.	6	6	6	6
		Mean	0.19	0.86**	0.93	239
		S.D.	0.02	0.06	0.11	29

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 7-3 Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

		Body weight	Brain	Pituitary	Thyroid (R+L)	Thymus	Heart	Lung	Liver
Dose mg/kg		g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	224	1.84	12.1	14.2	352	0.77	6.75
		S.D.	16	0.11	2.1	2.8	91	0.04	0.73
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	232	1.86	12.7	16.6	470	1.01	6.95
		S.D.	10	0.10	2.2	1.7	96	0.08	0.49
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	210	1.84	11.2	14.4	431	1.02	7.22
		S.D.	11	0.11	2.2	1.2	60	0.12	0.90
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	206	1.89	11.2	13.6	410	0.95	8.65**
		S.D.	15	0.04	1.2	1.6	79	0.03	0.92
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.82	5.4	6.3	156	0.35	0.45	3.00
		S.D.	0.09	1.0	0.8	37	0.02	0.01	0.17
	12	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.81	5.4	7.2	203	0.35	0.44	3.00
		S.D.	0.04	0.9	0.8	38	0.03	0.04	0.12
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.88	5.3	6.9	205	0.34	0.49	3.42**
		S.D.	0.05	0.9	0.8	23	0.03	0.03	0.26
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.92	5.5	6.6	201	0.36	0.46	4.19**
		S.D.	0.07	0.6	0.6	45	0.02	0.03	0.17

Significantly different from control group (**:p<0.01)

Table 7-4 Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

			Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	Ovary (R+L)	Uterus
Dose mg/kg			g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.49	1.56	60	77.4	433
		S.D.	0.05	0.12	6	9.5	81
	12	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.49	1.64	61	82.0	356
		S.D.	0.05	0.13	10	13.4	56
	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.50	1.63	69	86.4	456
		S.D.	0.10	0.19	9	16.7	73
	300	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.45	1.73	61	84.4	493
		S.D.	0.04	0.20	9	7.6	105
Relative	0	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.22	0.70	27	34.4	195
		S.D.	0.01	0.04	2	2.6	43
	12	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.21	0.71	26	35.5	154
		S.D.	0.02	0.04	4	5.8	27
	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.24	0.78	33*	40.9	217
		S.D.	0.04	0.07	3	6.9	33
	300	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.22	0.84**	30	41.1	240
		S.D.	0.02	0.07	4	3.6	55

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 7-5

Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

Dose mg/kg	Body weight		Brain	Pituitary	Thyroid (R+L)	Thymus	Heart	Lung	Liver
	g		g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	407	2.04	11.3	19.2	1.26	1.31	11.59
		S.D.	44	0.08	1.6	3.6	0.11	0.10	1.63
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	420	2.00	11.6	15.5	1.31	1.35	12.24
		S.D.	20	0.05	0.7	3.2	0.10	0.10	0.65
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	403	2.04	10.8	19.2	1.27	1.35	11.94
		S.D.	29	0.03	0.7	3.5	0.09	0.04	1.54
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.51	2.8	4.7	106	0.31	0.33	2.84
		S.D.	0.04	0.2	0.6	15	0.02	0.02	0.16
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.48	2.8	3.7*	105	0.31	0.32	2.92
		S.D.	0.02	0.2	0.7	17	0.03	0.03	0.19
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	0.51	2.7	4.8	118	0.32	0.34	2.96
		S.D.	0.03	0.1	0.8	19	0.04	0.03	0.25

Significantly different from control group (*:p<0.05)

Table 7-6

Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

			Spleen	Kidney	Adrenal	Testis	Epididymis
			g(g/100g BW)	(R+L) g(g/100g BW)	(R+L) mg(mg/100g BW)	(R+L) g(g/100g BW)	(R+L) mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.79	3.05	55	3.09	996
		S.D.	0.14	0.31	8	0.20	44
	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.72	2.91	56	3.12	1020
		S.D.	0.07	0.27	8	0.22	97
	300	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.77	2.98	56	2.99	982
		S.D.	0.10	0.26	10	0.27	52
	0	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.20	0.75	14	0.77	246
		S.D.	0.02	0.07	2	0.11	23
Relative	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.17	0.70	14	0.75	244
		S.D.	0.02	0.07	2	0.08	32
	300	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.19	0.74	14	0.75	245
		S.D.	0.02	0.09	2	0.08	17

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 7-7

Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

		Body weight	Brain	Pituitary	Thyroid (R+L)	Thymus	Heart	Lung	Liver
Dose mg/kg		g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	238	1.84	12.4	13.8	402	0.83	1.01
		S.D.	18	0.09	2.0	2.1	138	0.08	1.04
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	231	1.88	13.0	15.0	389	0.79	6.40
		S.D.	22	0.05	2.2	3.7	90	0.07	0.69
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	229	1.88	13.3	14.2	396	0.80	6.81
		S.D.	15	0.07	1.1	2.7	71	0.06	0.62
Relative	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.78	5.2	5.9	167	0.35	2.69
		S.D.		0.06	0.9	1.2	46	0.02	0.29
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.82	5.6	6.5	168	0.34	2.77
		S.D.		0.08	0.5	1.6	33	0.01	0.06
	300	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.82	5.8	6.2	173	0.35	2.98*
		S.D.		0.06	0.5	1.1	25	0.02	0.18

Significantly different from control group (*:p<0.05)

Table 7-8

Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 2 weeks

			Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)	Ovary (R+L)	Uterus
Dose mg/kg			g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.45	1.79	62	71.7	540
		S.D.	0.06	0.22	10	15.7	188
	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.47	1.70	62	64.5	555
		S.D.	0.07	0.14	9	4.8	108
	300	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.48	1.75	65	75.9	432
		S.D.	0.07	0.21	8	8.9	87
Relative	0	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.19	0.76	26	30.0	225
		S.D.	0.02	0.09	4	5.1	69
	60	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.21	0.74	27	28.1	243
		S.D.	0.03	0.05	4	2.7	52
	300	No.	6	6	6	6	6
		Mean	0.21	0.76	28	33.2	190
		S.D.	0.03	0.06	4	3.3	38

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8 Gross pathological findings of rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Sex	Organs Findings	Dose (mg/kg) No. of animals	0	12	60	300
			6	6	6	6
Male	Liver					
	Dark discoloration		0	0	0	3
	Large		0	0	0	1

No lesions were found in females.

Table 9-1

Histopathological findings of male rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)	0								12								60								300							
	No. of animals	6								6								6								6							
-findings	Grade	0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE				
Lung (Bronchus)																																	
-accumulation, foam cell		6						6																5	1			1	6				
Cecum																																	
-thickening, mucosal		6						6	6						6	6						6	1	5				5**	6				
Liver																																	
-hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		6						6	6						6	3	3					3	6		4	2		6**	6				
Spleen																																	
-extramedullary hematopoiesis			6				6	6																6				6	6				
Kidney																																	
-basophilic tubule		5	1				1	6															5	1				1	6				
Prostate																																	
-cell infiltration, interstitial		4	1	1			2	6															6						6				
Eye																																	
-atrophy, retina		6						6															5	1				1	6				
-hemorrhage, vitreous body		6						6															5		1			1	6				

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

Significantly different from control group (**:p<0.01)

Table 9-2 Histopathological findings of female rats administered orally with Trityl chloride for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)	0								12								60								300							
	No. of animals	6								6								6								6							
-findings	Grade	0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE				
Lung (Bronchus)																																	
-accumulation, foam cell		6						6																5	1			1	6				
Cecum																																	
-thickening, mucosal		6						6	6						6	4	2				2	6		1	5			5**	6				
Liver																																	
-hypertrophy, hepatocyte, centrilobular		6						6	6						6	1	5				5**	8				6		6**	6				
-microgranuloma		5	1				1	6	6						6	6					5	6		6					6				
Pituitary																																	
-cyst, anterior lobe		8						6																5			1	1	6				
-aberrant cranio-pharyngeal structure		8						6																5			1	1	6				
Spleen																																	
-extramedullary hematopoiesis			6					6	6																6			6	6				
Kidney																																	
-basophilic tubule		5	1				1	6																5	1			1	6				

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined
Significantly different from control group (**:p<0.01)

Table 9-3

Histopathological findings of male rats administered orally with Trityl chloride for 28 days
and followed by a recovery period for 14 days

Organs	Dose (mg/kg)		0								60								300							
	No. of animals		0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE	0	1	2	3	P	Obs	TE			
-findings	Grade																									
Liver																										
-hypertrophy, hepatocyte, centrilobular			6						6	6						6	5	1				1	6			
-microgranuloma			3	3				3	6	6						6	6						6			

0 : No remarkable changes

1 : Slight

2 : Mild

3 : Moderate

P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE : Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-4 Histopathological findings of female rats administered orally with Trityl chloride for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Organs	Dose (mg/kg)	0								60								300							
		6								6								6							
-findings	Grade	0	1	2	3	P	Obs	TE		0	1	2	3	P	Obs	TE		0	1	2	3	P	Obs	TE	
Cecum																									
-thickening, mucosal		6						6	6							6		4	2				2	6	
Liver																									
-microgranuloma		3	3				3	6										4	2				2	6	

0 : No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate
P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs : Observed number
TE : Total Examined
No significant difference in any treated groups from control group.