

B-6577

最終報告書

試験名：1-クロロアンスラキノンのラットを用いた
2週間回復性観察を含む28日間反復経口投与毒性試験

試験番号：B-6577

試験期間：2009年8月20日-2011年6月17日

試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど1284

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
〒100-8916 東京都千代田区霞が関1-2-2

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065 東京都渋谷区大山町36-7

2. 目次

2.	目次	3
4.	要約	10
5.	緒言	11
6.	試験材料及び方法	12
6.1	被験物質及び媒体	12
6.1.1	被験物質	12
6.1.2	媒体	12
6.2	投与液の調製	13
6.2.1	媒体の調製	13
6.2.2	被験液の調製	13
6.2.3	投与液の保存方法	13
6.2.4	媒体中での安定性	13
6.2.5	被験液の濃度・均一性確認	13
6.3	試験動物種及び系統の選択理由	15
6.4	試験動物及び群分け	15
6.5	飼育条件	15
6.6	飼料及び飲料水中の混入物質	15
6.7	動物の識別及びケージへの表示	15
6.8	投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由	16
6.9	投与方法	16
6.10	投与量及びその設定根拠並びに群構成	16
6.11	観察及び検査の方法	16

6.11.1	一般状態の観察	17
6.11.2	詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定	17
6.11.2.1	詳細な一般状態の観察	17
6.11.2.2	機能検査	17
6.11.2.3	握力測定	17
6.11.2.4	自発運動量の測定	18
6.11.3	体重測定	18
6.11.4	摂餌量測定	18
6.11.5	尿検査	19
6.11.6	血液学検査	20
6.11.7	血液化学検査	21
6.11.8	病理学検査	22
6.11.8.1	剖検	22
6.11.8.2	器官重量測定	22
6.11.8.3	病理組織学検査	22
6.12	統計解析	23
7.	試験結果	24
7.1	一般状態	24
7.2	詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量	24
7.2.1	詳細な一般状態	24
7.2.2	機能検査	24
7.2.3	握力	24
7.2.4	自発運動量	24
7.3	体重	25
7.4	摂餌量	25
7.5	尿検査（摂水量含む）	25
7.6	血液学検査	25
7.7	血液化学検査	26
7.8	器官重量	26
7.9	剖検所見	27
7.10	病理組織学検査	27
8.	考察	31
9.	文献	33

図

Fig. 1~4	自発運動量
Fig. 5	体重
Fig. 6	摂餌量

表

Table 1-1~1-3	一般状態
Table 2-1~2-18	詳細な一般状態
Table 2-19、2-20	機能検査
Table 2-21、2-22	握力
Table 2-23、2-24	自発運動量
Table 3-1、3-2	体重
Table 4-1、4-2	摂餌量
Table 5-1~5-8	尿検査（摂水量含む）
Table 6-1~6-6	血液学検査
Table 7-1~7-4	血液化学検査
Table 8-1~8-8	器官重量
Table 9-1、9-2	剖検所見
Table 10-1~10-5	病理組織学検査

4. 要約

1-クロロアンスラキノンの28日間反復経口投与毒性試験を6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔CrI:CD(SD)、1群雌雄各6又は12匹〕を用いて実施した。投与量は0 (0.5 w/v%メチルセルロース水溶液：対照群)、4、20及び100 mg/kgとし、また、対照群と100 mg/kg投与群の一部の個体（1群雌雄各6匹）については投与期間終了後2週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

詳細な一般状態、握力及び体重では被験物質投与の影響は認められなかった。

一般状態では、投与期間中に褐色尿が100 mg/kg投与群の雌雄で認められた。

機能検査及び自発運動量では、投与4週で着地開脚幅において低値が100 mg/kg投与群の雄で、自発運動量の低値が100 mg/kg投与群の雄でみられた。

摂餌量では、投与期間初期に低値が100 mg/kg投与群の雌雄で認められた。

尿検査では、投与4週の色調で褐色尿が100 mg/kg投与群の雌雄に、沈渣で小円形上皮細胞の陽性例の増加傾向が100 mg/kg投与群の雄に認められた。

血液学検査では、投与期間終了時に赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値が4 mg/kg以上の投与群の雌と20 mg/kg投与群の雄で、平均赤血球容積の高値が20 mg/kg以上の投与群の雌で、平均赤血球血色素濃度の低値が100 mg/kg投与群の雌で、網赤血球率の高値が20 mg/kg以上の投与群の雌雄でみられた。また、プロトロンビン時間の高値が100 mg/kg投与群の雄で認められた。

血液化学検査では、総コレステロールの高値が100 mg/kg投与群の雌雄と無機リンの高値が20 mg/kg以上の投与群の雌でみられた。また、リン脂質の高値が100 mg/kg投与群の雌雄で、グルコースの低値が100 mg/kg投与群の雌でみられた。

病理検査では、肝臓の絶対及び相対重量の高値が20 mg/kg以上の投与群の雌と100 mg/kg投与群の雄で、組織学的に小葉中心性肝細胞肥大が20 mg/kg以上の投与群の雌と100 mg/kg投与群の雄で、甲状腺において組織学的に濾胞上皮細胞の肥大が20 mg/kg以上の投与群の雄で、腎臓の相対重量の高値が100 mg/kg投与群の雄で、組織学的に尿細管上皮細胞の好酸性小滴が4 mg/kg以上の投与群の雄と20 mg/kg以上の投与群の雌でみられた。また、脾臓の絶対あるいは相対重量の高値が20 mg/kg投与群の雌雄で、組織学的に色素沈着が4 mg/kg以上の投与群の雌で、うっ血及び髄外造血の亢進が20 mg/kg以上の投与群の雄と4 mg/kg以上の投与群の雌で、胸骨及び大腿骨(骨髓を含む)において組織学的に骨髓細胞成分の増加傾向が20 mg/kg以上の投与群の雌でみられた。

被験物質投与でみられた変化については、休薬により回復性が認められた。

以上の結果、1-クロロアンスラキノンの本試験条件下における無影響量は雄で病理組織学的検査の腎臓の変化で、雌で血液学検査と病理組織学的検査の脾臓の変化より4 mg/kg/dayを下回ると推定された。

B-6577

5. 緒言

厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室の依頼により、1-クロロア
ンスラキノンをラットに 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 週間休薬し、障害の可逆性を調べたのでその成績を報告する。なお、本試験は株式
会社ボゾリサーチセンター動物実験委員会の承認を受けている。

B-6577

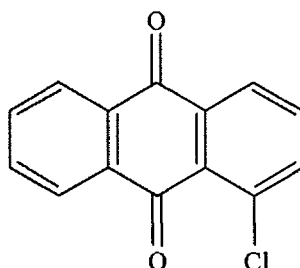
6. 試験材料及び方法

6.1 被験物質及び媒体

6.1.1 被験物質

被験物質は 提供された。本試験に使用した被験物質のロット番号、純度等は次の通りである。(添付資料 1)

名称	:	1-クロロアンスラキノン
英名	:	1-chloroanthraquinone
CAS 番号	:	82-44-0
分子式	:	$C_{14}H_7ClO_2$
構造式	:	



分子量	:	242.66
純度	:	99.11%
入手量	:	2 kg
保存方法	:	冷暗所 (冷蔵庫内; 実測値: 3~8°C)
安定性	:	投与終了後、試験受託者で安定であったことが確認された (添付資料 2)。
保存場所	:	御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟被験物質調製室
取扱い上の注意	:	マスク、手袋及び保護眼鏡を着用した。 火気や熱源などの着火源から遠ざけ、酸化剤との接触を避けた。
返却	:	被験物質約 1g を保存試料として保存した。分析用に小分けした被験物質の残量は廃棄した。また、動物試験終了後の被験物質の残量は厚生労働省ピアレビュー終了後、すべて廃棄する。

6.1.2 媒体

名称	:	0.5 w/v%メチルセルロース水溶液
----	---	---------------------

なお、本試験に先立って実施した被験液中の 1-クロロアンスラキノンの安定性・均一性試験 (試験番号: A-2166) において、0.5 w/v%メチルセルロース水溶液中での被

験物質の安定性及び均一性に良好な結果が得られていることから、媒体として 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を選択した。

6.2 投与液の調製

6.2.1 媒体の調製

- 調製方法 : メチルセルロース (400cP、和光純薬工業株式会社、ロット番号 ; EWM1974) を注射用水 (株式会社大塚製薬工場、ロット番号 ; 8K74、9E70) に溶解し、0.5 w/v% メチルセルロース水溶液とした。
- 調製頻度 : 最大 7 日分を一括調製し、調製後 8 日以内に投与に用いた。
- 保存方法 : 冷蔵庫内 (許容範囲 : 1~10°C、実測値 : 3~6°C) に保存した。

6.2.2 被験液の調製

濃度ごとに必要量の被験物質を正確に採取し、0.5 w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁して 0.8 mg/mL 液 (低用量群液)、4 mg/mL 液 (中用量群液) 及び 20 mg/mL 液 (高用量群液) を調製した。被験液は週 1 回以上の頻度で調製し、調製後 7 日以内に使用した。

6.2.3 投与液の保存方法

投与液は 1 日必要分ずつ褐色ガラス瓶に分注し、使用時まで冷所 (冷蔵庫内、1~10°C、実測値 : 3~6°C) 遮光で保存した。

6.2.4 媒体中での安定性

本被験物質の 0.1 及び 200 mg/mL 懸濁液 (媒体 : 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液) は、冷所 (冷蔵庫内、1~10°C) で 8 日間、その後室温で 24 時間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御殿場研究所で確認されている (試験番号 : A-2166、添付資料 3)。

6.2.5 被験液の濃度・均一性確認

投与 1 週と 4 週の投与に用いる各濃度の被験液について、その濃度・均一性を株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で HPLC 法を用いて確認した。その結果、表示値に対する濃度の割合は 104.1~106.0% (許容範囲 : 表示値に対する割合 ; 100±10%)、均一性は 0.1~0.5% (許容値 : CV10%以下) であり、いずれも許容範囲内であった (添付資料 4-1 及び 4-2)。分析法の概略を次に示す。

1 濃度当たりの採取本数及び採取量

- : 3 本 (上、中及び下層から採取)、1 本につき 10 mL

B-6577

測定対象物質 : 1-クロロアンスラキノン
 測定対象標準物質
 名称 : 1-クロロアンスラキノン
 ロット番号 : 10-04
 保存方法 : 冷暗所（冷蔵庫内；実測値：2~8℃）
 保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び生化学部標準物質
 保存場所

使用機器

HPLC システム

機器名及び型式		メーカー
HPLC	2695 セパレーションモジュール	Waters Corporation
検出器	2487 デュアルλ UV/VIS 検出器	
データ処理装置	Empower	

HPLC 測定条件

カラム : Cosmosil 5C₁₈-MS-II
 (4.6 mm×150 mm、5 μm、ナカライテスク株式会社)

カラム恒温槽設定温度

: 30℃

移動相 : 精製水／メタノール (2/8、v/v)

流速 : 1.0 mL/min

検出 : UV（測定波長 254 nm）

注入量 : 10 μL

オートサンプラー設定温度

: 10℃

分析時間 : 6 分間

注入順序 :

注入順序	注入回数	注入内容
1	3	標準溶液（システム適合性用）
2	3	標準溶液（定量用）
3	1	測定実測試料（0.8 mg/mL-上層）
4	1	測定実測試料（4 mg/mL-上層）
5	1	測定実測試料（20 mg/mL-上層）
6	1	測定実測試料（0.8 mg/mL-中層）
7	1	測定実測試料（4 mg/mL-中層）
8	1	測定実測試料（20 mg/mL-中層）
9	1	測定実測試料（0.8 mg/mL-下層）
10	1	測定実測試料（4 mg/mL-下層）
11	1	測定実測試料（20 mg/mL-下層）

標準溶液及び測定実測試料の測定は、注入後 24 時間以内に実施した。なお、バリデーション試験で、オートサンプラー内における 24 時間保存後の安定性が確認されている。

6.3 試験動物種及び系統の選択理由

毒性試験法ガイドラインによりラットを用いた試験が必要とされている。この試験に使用された系統のラットは特性がよく知られ、背景資料が豊富であることから選択した。

6.4 試験動物及び群分け

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] 雌雄各 47 匹^{注)} を 5 週齢で入手し、当所で 9 日間検疫・馴化飼育し、一般状態の観察 (1 回/日)、体重測定 (3 回) 及び詳細な一般状態の観察 (1 回) を行い、体重増加量、一般状態及び詳細な一般状態の観察に異常がみられず健康と思われる雌雄各 36 匹 (主群として雌雄各 24 匹、回復群として雌雄各 12 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 190~212 g、雌で 151~175 g 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 (投与開始の 2 日前) の体重に基づいて、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。個体の割付けはコンピュータを用いた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当てた) により行った。また、余剰動物は投与開始日に試験系から除外し安楽死させた。

注) : 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 45 匹であったが、実際には雌雄各 47 匹が納入された。

6.5 飼育条件

動物は温度 21~25°C (許容範囲: 23±3°C)、相対湿度 41~67% (許容範囲: 50±20%)、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) の動物飼育室 (201 号室) で、ブラケット式金属製網ケージ (W 250×D 350×H 200 mm: 日本ケージ株式会社) で個別飼育し、毎日 1 回の飼育室内の清掃を実施した。固形飼料 CRF-1 (オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号: 090512、090609、090805) は給餌器を用いて、また、御殿場市営水道水を給水瓶により自由に摂取させた。

6.6 飼料及び飲料水中の混入物質

飼料中の混入物質に関しては使用ロットについて Eurofins Scientific Analytics で分析を行い、また、飲料水については東芝機械環境センター株式会社に水道法に準拠する水質検査を定期的に (年 4 回) 依頼した。これらの分析成績書を入手し、試験成績に影響がないことを確認した後、写しを保存した。

6.7 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に小動物耳標を装着して個体識別した。入荷から群分け前までの間は試験番号、性別及び耳標番号を明記したケージラベルをつけた。群分け後は、性別及び用量ごと (対照群、低、中及び高用量群の順) に 4 桁の番号をつけた。この場合、1000 の位は群、100 の位は性 (0 番を雄、1 番を雌)、10 と 1 の位は個体番号とした。

各飼育ケージには、群分け前まで使用したケージラベルの裏に用量（群）ごとに色分けしたラベルをつけ、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。ただし、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定中は、観察者に対して投与の情報を制限するため、ケージラベルを裏返して試験番号、性別及び耳標番号のみを表示した。

6.8 投与経路、投与期間、投与回数及び回復期間とそれらの選択理由

毒性試験法ガイドラインに準じ、投与経路は経口投与を選択し、投与期間は28日間とした。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。回復期間は障害の可逆性を検討するのに適当と考えられる2週間（14日間）とし、この間投与を行わなかった。

6.9 投与方法

投与容量は5 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いて強制経口投与した（08:03~11:52の間）。対照群には媒体（0.5 w/v%メチルセルロース水溶液）を同様に投与した。個体ごとの投与液量（表示単位：0.1 mL）は最新の体重を基準に算出した。

6.10 投与量及びその設定根拠並びに群構成

1-クロロアンスラキノンの0（0.5 w/v%メチルセルロース水溶液）、100、300及び1000 mg/kg/dayを1群雌雄各5匹のラットに14日間反復経口投与した結果¹⁾、主な変化として、雌雄で各被験物質投与群の器官重量に変化がみられたことから、本試験における投与量は、100 mg/kg 投与群を高用量とし、公比5で除し、20 mg/kgを中用量に、4 mg/kgを低用量とし、対照群を加え4群構成とした。1群当たりの動物を主群では雌雄各6匹、回復群では対照群及び高用量群で雌雄各6匹とした。群構成表を次の表1に示す。

表 1. 群構成表

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
対照群	0	0	5	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	1107~1112
低用量群	4	0.8	5	雄	6	2001~2006	-	-
				雌	6	2101~2106	-	-
中用量群	20	4	5	雄	6	3001~3006	-	-
				雌	6	3101~3106	-	-
高用量群	100	20	5	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112

6.11 観察及び検査の方法

それぞれ記載された時期に観察及び検査を実施した。試験日の起算に関しては下記

の通りとした。

投与 1 日 (day 1 of administration)	: 投与開始日
投与 1 週 (week 1 of administration)	: 投与 1 から投与 7 日
回復 1 日 (day 1 of recovery)	: 回復開始日 (投与期間終了の翌日)
回復 1 週 (week 1 of recovery)	: 回復 1 から回復 7 日

6.11.1 一般状態の観察

全個体について投与期間中は毎日 3 回、投与前と投与直後及び約 2 時間後(ただし、詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量測定を実施する時は投与前と投与直後の 2 回)、回復期間中は毎日 1 回、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物などの一般状態を観察した。

6.11.2 詳細な一般状態の観察、機能検査、握力及び自発運動量の測定

詳細な一般状態の観察は、全個体について、投与開始前に 1 回、投与期間中及び回復期間中は毎週 1 回実施した。また、機能検査、握力及び自発運動量の測定は、投与 4 週(雄を投与 26 日、雌を投与 27 日)及び回復 2 週(回復 13 日)に行った。詳細な一般状態の観察及び機能検査については実測値あるいはスコア化した評点法を用いた。なお、観察及び検査は投与の情報を制限(ブラインド化)し、動物をランダムに配置した状態で行った。

6.11.2.1 詳細な一般状態の観察

1) ホームケージ内観察

姿勢、痙攣、異常行動

2) 手に持った観察

ケージからの取り出しやすさ、被毛・皮膚の状態、眼・鼻の分泌物、眼球(眼球突出、眼瞼閉鎖状態)、可視粘膜、自律神経機能(流涙、立毛、瞳孔径、流涎、異常呼吸)、ハンドリングに対する反応

3) オープンフィールド内観察

覚醒状態、痙攣、異常行動、常同行動、歩行、姿勢、身繕い、立ち上がり回数、排泄物(排糞数、排尿)

6.11.2.2 機能検査

聴覚反応、接近反応、接触反応、痛覚反応、瞳孔反射、空中正向反射、着地開脚幅

6.11.2.3 握力測定

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測定した。

6.11.2.4 自発運動量の測定

実験動物用自発運動センサーNS-AS01（株式会社ニューロサイエンス）を用いて自発運動量を測定した。測定は1時間とし、10分間隔及び0~60分の測定値を集計した。

6.11.3 体重測定

全個体について、投与期間中は投与1、4、7、10、14、17、21、24及び28日の投与前に、回復期間中は回復1、3、7、10及び14日に測定した。測定は08:26~10:29の間に行った。剖検日には相対器官重量算出のため、前日から約16時間絶食させた後の体重を測定した（08:04~08:17）。

6.11.4 摂餌量測定

全個体について、投与期間中は投与1、7、14、21及び28日の投与前に、回復期間中は回復7及び14日に測定した。測定は08:36~10:38の間に行った。なお、投与開始日の測定は前日からの1日量を、投与7日は6日間の累積摂取量を、その後は7日ごとに7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。回復1週は回復1日から7日までの6日間の累積摂取量を、その後は7日間の累積摂取量を測定し、1匹1日量を算出した。

6.11.5 尿検査

投与4週及び回復2週に行った。

投与4週（投与22日の投与後）は全個体について、回復2週（回復11日）は回復群の全個体について、検査当日にそれぞれ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、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、表2に記載した項目及び方法により検査した。また、摂水量は、採尿ケージに収容した状態で前日からの1日当たりの摂水量を、給水瓶を用いて測定した。

表2. 尿検査の項目、測定法及び使用機器など

1) 4時間尿についての検査	
検査項目	測定方法
pH	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
たん白質	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
ケトン体	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
グルコース	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
潜血	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
ビリルビン	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
ウロビリノーゲン	オーションスティックス-7EA 試験紙 ^{a)} (アークレイ株式会社)
色調	肉眼観察
沈渣	鏡検法
尿量 (4時間量) ^{注)}	目盛付スピッツ管を用いた容量測定 (単位: mL)
2) 20時間尿についての検査	
検査項目	測定方法
尿量 (20時間量) ^{注)}	メスシリンダーを用いた容量測定 (単位: mL)
浸透圧	氷点降下法 ^{b)} (単位: mOsm/kg)
使用測定機器	
^{a)} : AUTION™ MINI AM-4290 (アークレイ株式会社)	
^{b)} : 自動浸透圧測定装置 オートアンドスタット OM-6030 (アークレイ株式会社)	

注) : 4時間の尿量と20時間の尿量を合計して24時間の尿量 (mL/24 h) を算出した。

6.11.6 血液学検査

投与期間及び回復期間終了の翌日の計画剖検時に、前日から一夜（16~20 時間）絶食させた全個体について、エーテル麻酔下で開腹し、腹大動脈から EDTA-2K 加採血瓶（SB-41：シスメックス株式会社）に血液（約 1 mL）を採取した。得られた血液について表 3.1）に記載した項目及び方法により検査した。更に、血液（0.9 mL）を 3.8% クエン酸ナトリウム溶液加試験管（血液 9 容に対し 1 容の割合）に採取し、遠心分離（投与期間終了時；3,000 rpm、1580×g、10 分間、回復期間終了時；3,100 rpm、1690×g、12 分間）により得られた血漿について表 3.2）に記載した項目及び方法により検査した。なお、鏡検による確認に備え、全個体について May-Grünwald-Giemsa 染色法による血液塗抹標本作製したが、鏡検による確認は不要と判断し、鏡検は実施しなかった。

表 3. 血液学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) EDTA-2K 加血液についての検査		
検査項目	測定方法	単位
赤血球数 (RBC)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
ヘモグロビン量 (HGB)	シアンメトヘモグロビン変法 ^{a)}	g/dL
ヘマトクリット値 (HCT)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出 ^{a)}	%
平均赤血球容積 (MCV)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	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 ^{a)}	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 ^{a)}	g/dL
網赤血球率 (Retic.)	RNA 染色によるレーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	%
血小板数 (PLT)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ⁴ /μL
白血球数 (WBC)	2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	10 ² /μL
白血球百分率 ^{b)}	ペルオキシダーゼ染色によるフローサイトメトリー法 +2 角度レーザーフローサイトメトリー法 ^{a)}	% 10 ² /μL
2) クエン酸ナトリウム加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
プロトロンビン時間 (PT)	クロット法 ^{b)}	S
活性化部分トロンボ プラスチン時間 (APTT)	クロット法 ^{b)}	S
フィブリノーゲン量 (FIB)	トロンボプラスチン法 ^{b)}	mg/dL
使用測定機器		
^{a)} ：総合血液学検査装置アドヴィア 120 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Illinois, USA)		
^{b)} ：血液凝固自動測定装置 ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory, MA, USA)		

注)：リンパ球 (LYMP)、好中球 (NEUT)、好酸球 (EOS)、好塩基球 (BASO)、単球 (MONO) 及び大型非染色球 (LUC)。また、白血球百分率と白血球数から各分画の実数を算出した。

6.11.7 血液化学検査

血液学検査用試料と同時に採取した血液（約 4 mL）を凝固促進剤入り試験管（ベノジェクト II-オートセップ：テルモ株式会社）に取り、遠心分離（投与期間終了時；3,000 rpm、1580×g、10 分間、回復期間終了時；3,100 rpm、1690×g、12 分間）し、得られた血清について、表 4.1）に記載した項目及び方法により検査した。また、ヘパリン加試験管（血液 1 mL 当たり約 20 単位のヘパリン）に採取した血液（約 2 mL）を遠心分離（投与期間終了時；3,000 rpm、1580×g、10 分間、回復期間終了時；3,100 rpm、1690×g、12 分間）し、得られた血漿について表 4.2）に記載した項目及び方法により検査した。

表 4. 血液化学検査の項目、測定法及び使用機器など

1) 分離した血清についての検査		
検査項目	測定方法	単位
ALP	Bessey-Lowry 法 ^{a)}	IU/L
総コレステロール (T-CHO)	CEH-COD-POD 法 ^{a)}	mg/dL
トリグリセライド (TG)	LPL-GK-GPO-POD 法 ^{a)}	mg/dL
リン脂質 (PL)	PLD-ChOD-POD 法 ^{a)}	mg/dL
総ビリルビン (T-BIL)	ビリルビンオキシダーゼ法 ^{a)}	mg/dL
グルコース (GLU)	グルコースデヒドロゲナーゼ法 ^{a)}	mg/dL
尿素窒素 (BUN)	Urease-LEDH 法 ^{a)}	mg/dL
クレアチニン (CRNN)	Creatininase-creatinase-sarcosine oxidase-POD 法 ^{a)}	mg/dL
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カリウム (K)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
塩素 (Cl)	イオン選択電極法 ^{a)}	mmol/L
カルシウム (Ca)	OCPC 法 ^{a)}	mg/dL
無機リン (P)	モリブデン酸法 ^{a)}	mg/dL
総たん白質 (TP)	Biuret 法 ^{a)}	g/dL
アルブミン (ALB)	BCG 法 ^{a)}	g/dL
A/G 比 (A/G)	総たん白質及びアルブミンから算出	
2) ヘパリン加血液から分離した血漿についての検査		
検査項目	測定方法	単位
AST	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
ALT	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
LDH	UV-rate 法 ^{a)}	IU/L
γ-GTP	L-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド法 ^{a)}	IU/L
使用測定機器		
^{a)} ：臨床化学自動分析装置 TBA-120FR 形（新社名：東芝メディカルシステムズ株式会社、旧社名：株式会社東芝）		

6.11.8 病理学検査

6.11.8.1 剖検

すべての動物について、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・腹部を含む全身の器官・組織の肉眼による詳細な病理解剖を行い、結果を記録した。

6.11.8.2 器官重量測定

すべての動物について、次に示す器官の重量（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 100 g 当たりの相対重量を算出した。

なお、*印を付した両側性の器官については左右別々に測定し、その合計値で評価した。

脳、副腎*、胸腺、脾臓、心臓、肝臓、腎臓*、精巣*、精巣上体*、卵巢*、子宮

6.11.8.3 病理組織学検査

すべての個体について次に示す器官・組織を採取し、リン酸緩衝 10vol%ホルマリン液で固定した。ただし、肺はリン酸緩衝 10vol%ホルマリン液を注入後、眼球及び視神経はリン酸緩衝液で調製した 3vol%グルタルアルデヒド・2.5vol%ホルマリン液で固定後、精巣及び精巣上体はブアン液で固定した後、それぞれ、リン酸緩衝 10vol%ホルマリン液で保存し、パラフィン包埋した。その後、切片としてヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、主群の対照群及び高用量群（肉眼的異常部位については全例）について鏡検した。*で示した両側性器官については両側を摘出したが、鏡検は左側のみ行った。なお、被験物質投与の影響が疑われた雌雄の脾臓、肝臓、腎臓及び胸骨（骨髄を含む）、雄の甲状腺と雌の大腿骨（骨髄を含む）については低及び中用量群並びに回復群の全個体については鏡検した。また、上皮小体の標本作製において主群の対照群と中用量群の雄各 1 例で欠如がみられたが、少数例であり、高用量群において被験物質投与の変化が認められていないことから、試験成績に影響はないと判断した。

大脳、小脳、坐骨神経*、脊髄（胸部）、眼球*、下垂体、甲状腺*、上皮小体*、副腎*、胸腺、脾臓、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、気管、肺（気管支を含む）、胃、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板を含む）、盲腸、結腸、直腸、肝臓、腎臓*、膀胱、精巣*、精巣上体*、前立腺、卵巢*、子宮、胸骨（骨髄を含む）、大腿骨（骨髄を含む）*及び大腿部骨格筋*

他に、視神経（視神経は眼球と分離せず、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製まで実施した。）、ハーダー腺、胸大動脈、舌、食道、顎下腺、舌下腺、脾臓、膵、精囊、乳腺（鼠径部）、皮膚（鼠径部）、個体識別部位（耳介）及び喉頭を摘出して保存した。

6.12 統計解析

計量データ（オープンフィールド内観察の定量的項目、機能検査における定量的項目、握力、自発運動量、体重、体重増加量、摂餌量、摂水量、尿検査の定量的項目、血液学検査、血液化学検査及び器官重量）について、対照群と各投与群との間で統計解析を行った。まず、主群については Bartlett 検定により分散性の検定を行った（有意水準：両側 1%）。分散が等しい場合は Dunnett 法を用いて、非等分散の場合は Dunnett 型の mean rank test を用いて、対照群と各投与群との間で検定を行った（有意水準：両側 5 及び 1%）。なお、回復群については、F 検定により各群の分散の均一性の検定（有意水準：片側 5%）を行った。その結果、等分散性が認められた場合には対照群と被験物質投与群との平均値の差について Student の t 検定（有意水準：両側 5 及び 1%）を行った^{2) -6)}。

7. 試験結果

7.1 一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~10 に示した。

1) 投与期間

褐色尿が 100 mg/kg 投与群の雌雄で投与 2 日以降、投与期間を通じて認められた。

2) 回復期間

褐色尿が 100 mg/kg 投与群の雌雄で回復 3 日まで認められた。

7.2 詳細な一般状態、機能検査、握力及び自発運動量

7.2.1 詳細な一般状態

成績を Table 2-1~2-18 及び Appendix 11~70 に示した。

1) 投与期間

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも各被験物質投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

2) 回復期間

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも 100 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

7.2.2 機能検査

成績を Table 2-19、2-20 及び Appendix 71~76 に示した。

1) 投与 4 週

着地開脚幅において有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復 2 週

いずれの検査項目においても異常はなく、雌雄とも 100 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

7.2.3 握力

成績を Table 2-21、2-22 及び Appendix 77~82 に示した。

1) 投与 4 週

後肢の有意な低値が 20 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復 2 週

雌雄とも 100 mg/kg 投与群と対照群との間に有意差は認められなかった。

7.2.4 自発運動量

成績を Fig. 1~4、Table 2-23、2-24 及び Appendix 83~88 に示した。

1) 投与 4 週

測定開始後 0~10 分及び 20~30 分の測定値の有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雄で認

められた。

2) 回復 2 週

雌雄とも 100 mg/kg 投与群と対照群はほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

7.3 体重

成績を Fig.5、Table 3-1、3-2 及び Appendix 89~94 に示した。

1) 投与期間

雌雄とも各被験物質投与群と対照群はほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

2) 回復期間

雌雄とも 100 mg/kg 投与群と対照群はほぼ同様に推移し、有意差は認められなかった。

7.4 摂餌量

成績を Fig.6、Table 4-1、4-2 及び Appendix 95~100 に示した。

1) 投与期間

有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雌雄で投与 7 日に認められた。

2) 回復期間

有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雌で回復 7 日に認められた。

7.5 尿検査（摂水量含む）

成績を Table 5-1~5-8 及び Appendix 101~118 に示した。

1) 投与 4 週

色調において褐色尿が 100 mg/kg 投与群の雄 5/12 例と雌 4/12 例で認められた。また、沈渣において小円形上皮細胞の陽性例が 100 mg/kg 投与群の雄 4/12 例でみられ、陽性例の増加傾向が認められた。

2) 回復 2 週

雌雄とも 100 mg/kg 投与群の定性的項目に異常は認められず、尿量、摂水量及び尿浸透圧においても対照群との間に有意差は認められなかった。

7.6 血液学検査

成績を Table 6-1~6-6 及び Appendix 119~136 に示した。

1) 投与期間終了時

赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の有意な低値が 4 mg/kg 以上の投与群の雌と 20 mg/kg 投与群の雄で、平均赤血球容積の有意な高値が 20 mg/kg 以上の投与群の雌で、平均赤血球血色素濃度の有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雌で、網赤血球率の有意な高値が 20 mg/kg 以上の投与群の雌雄で、血小板数の有意な高値が 20

mg/kg 投与群の雌で、プロトロンビン時間の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雄で認められた。また、白血球分画において大型非染色球率と大型非染色球数の有意な高値が 20 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復期間終了時

ヘマトクリット値及び平均赤血球容積の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雌で、平均赤血球血色素濃度の有意な低値と網赤血球率の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雄で認められた。また、白血球分画において単球数の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雌で認められた。

7.7 血液化学検査

成績を Table 7-1~7-4 及び Appendix 137~148 に示した。

1) 投与期間終了時

AST の有意な低値が 4 mg/kg 以上の投与群の雌で、ALT の有意な低値が 4 及び 100 mg/kg 投与群の雌で、総コレステロールとリン脂質の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雌雄で、ALP と総ビリルビンの有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雄で、無機リンの有意な高値が 20 mg/kg 以上の投与群の雌で、グルコースの有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雌で、総たん白質の有意な低値が 20 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復期間終了時

AST の有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雄で、塩素の有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雌で認められた。

7.8 器官重量

成績を Table 8-1~8-8 及び Appendix 149~172 に示した。

1) 投与期間終了時

肝臓	:	絶対及び相対重量の有意な高値が 20 mg/kg 以上の投与群の雌と 100 mg/kg 投与群の雄で認められた。
脾臓	:	絶対及び相対重量の有意な高値が 20 mg/kg 投与群の雄で、相対重量の有意な高値が 20 mg/kg 投与群の雌で認められた。
腎臓	:	相対重量の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雄で認められた。

2) 回復期間終了時

肝臓	:	絶対及び相対重量の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雌で、相対重量の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雄で認められた。
腎臓	:	絶対重量の有意な高値が 100 mg/kg 投与群の雌で認められた。
副腎	:	相対重量の有意な低値が 100 mg/kg 投与群の雌で認め

られた。

7.9 剖検所見

成績を Table 9-1、9-2 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

肺 : 一部暗赤色巣が 20 mg/kg 投与群の雄 1/6 例で認められた。

2) 回復期間終了時

回復期間終了時では剖検所見は認められなかった。

7.10 病理組織学検査

成績を Table 10-1~10-5 及び Appendix 173~244 に示した。

1) 投与期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が甲状腺、脾臓、肝臓、腎臓、胸骨（骨髄を含む）及び大腿骨（骨髄を含む）で認められた。

甲状腺 : 軽微な濾胞上皮細胞の肥大が 20 mg/kg 投与群の雄 1 例と 100 mg/kg 投与群の雄 3 例で認められた。

脾臓 : 軽微あるいは軽度な色素沈着が 4 mg/kg 投与群の雌 2 例、20 mg/kg 投与群の雌 5 例、100 mg/kg 投与群の雌全例で、軽微あるいは軽度なうっ血が 4 mg/kg 投与群の雌 1 例、20 mg/kg 投与群の雌雄全例、100 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌全例で認められた。また、髄外造血が対照群の雄 5 例、4 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 1 例、20 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 3 例、100 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例で軽微に、4 mg/kg 投与群の雌 1 例、20 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例、100 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例で軽度、20 mg/kg 投与群の雄 1 例で中等度にみられ、20 mg/kg 以上の投与群の雄と各被験物質投与群の雌で増強傾向が認められた。

肝臓 : 軽微から中等度な小葉中心性肝細胞肥大が 20 mg/kg 投与群の雌 1 例、100 mg/kg 投与群の雌雄各全例で認められた。

腎臓 : 軽微から中等度な尿細管上皮細胞の好酸性小滴が 4 mg/kg 投与群の雄 4 例、20 mg/kg 投与群の雄全例と雌 3 例、100 mg/kg 投与群の雄全例と雌 1 例で認められた。

胸骨（骨髄を含む） : 軽微な骨髄細胞成分の増加が対照群の雄 2 例と雌 1 例、4 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例、20 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 5 例、100 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌 5 例で

みられ、20 mg/kg 以上の投与群の雌で増加傾向が認められた。

大腿骨（骨髄を含む）

： 軽微な骨髄細胞成分の増加が 4 mg/kg 投与群の雌 1 例、20 mg/kg 投与群の雌 5 例、100 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 5 例でみられ、20 mg/kg 以上の投与群の雌で増加傾向が認められた。

投与期間終了時では以下に示す所見が認められたが、その出現状況などからいずれも偶発性の変化と判断した。

甲状腺： 軽微な異所性胸腺が 4 mg/kg 投与群の雄 1 例で、軽微な鰓後体の遺残が対照群の雄 3 例と雌 2 例、4 mg/kg 投与群の雄 3 例、20 mg/kg 投与群の雄 1 例、100 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 2 例で認められた。

心臓： 軽微な細胞浸潤が対照群の雌 1 例で認められた。

気管： 軽微な細胞浸潤が対照群の雌 1 例で認められた。

肺： 軽微な動脈壁の鉍質沈着が対照群の雌 1 例で、軽微な骨化生が対照群の雌 1 例で認められた。なお、剖検において一部暗赤色巣がみられた 20 mg/kg 投与群の雄 1 例において軽微な限局性出血が認められた。

胃： 軽微な粘膜下の細胞浸潤と軽微な粘膜の鉍質沈着が対照群の雄 1 例で認められた。

盲腸： 軽微な粘膜の細胞浸潤が対照群の雌 1 例で認められた。

肝臓： 軽微な髄外造血が対照群の雌 1 例、20 mg/kg 投与群の雄 3 例、100 mg/kg 投与群の雄 1 例で、軽微あるいは軽度な小葉辺縁性肝細胞空胞化が対照群の雌 1 例、4 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例、20 mg/kg 投与群の雌 1 例、100 mg/kg 投与群の雌 2 例で、軽微あるいは軽度な微小肉芽腫が対照群の雄 3 例と雌 4 例、4 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 5 例、20 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌全例、100 mg/kg 投与群の雄 4 例と雌全例で認められた。

腎臓： 軽微あるいは軽度な尿細管上皮細胞の空胞化が対照群の雌 4 例、20 mg/kg 投与群の雌 2 例、100 mg/kg 投与群の雌 3 例で、軽微な再生尿細管が対照群の雌雄各 3 例、4 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例、20 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 2 例、100 mg/kg 投与群の雄 5 例と雌 2 例で、軽微な硝子円柱が対照群の雄 1 例で、軽微な間質性の細胞浸潤が対照群の雌 1 例、4 mg/kg 投与群の雌 1 例、20 mg/kg 投与群の雄 2 例で、軽微な髄質/乳頭の鉍質沈

- 着が対照群の雄 2 例、4 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例、20 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 2 例、100 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 1 例で認められた。
- 膀胱 : 軽微な粘膜下細胞浸潤が 100 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。
- 精巣上体 : 軽微な間質性の細胞浸潤が 100 mg/kg 投与群の 2 例で認められた。
- 前立腺 : 軽微な間質性の細胞浸潤が対照群と 100 mg/kg 投与群の各 2 例で認められた。
- 大腿部骨格筋 : 軽微な間質性の細胞浸潤が対照群の雄 2 例、100 mg/kg 投与群の雌 1 例で、軽微な壊死/変性が 100 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。

2) 回復期間終了時

被験物質投与によると考えられる変化が脾臓で認められた。

- 脾臓 : 軽微から中等度の色素沈着が対照群の雌 5 例と 100 mg/kg 投与群の雄 3 例、雌全例で、軽微あるいは軽度な髓外造血が対照群の雄 4 例と雌 1 例、100 mg/kg 投与群の雄 5 例で認められた。

回復期間終了時では以下に示す所見が認められたが、その出現状況などからいずれも偶発性の変化と判断した。

- 甲状腺 : 軽微な鰓後体の遺残が 100 mg/kg 投与群の雄 2 例で認められた。
- 肝臓 : 小葉辺縁性肝細胞空胞化が対照群の雄 1 例と雌 2 例、100 mg/kg 投与群の雌 1 例で、軽微な髓外造血が対照群の雄 1 例、100 mg/kg 投与群の雄 1 例で、軽微な微小肉芽腫が対照群の雄 3 例と雌 5 例、100 mg/kg 投与群の雄 3 例と雌 4 例で認められた。
- 腎臓 : 軽微な尿細管の拡張が対照群の雌 1 例で、軽微あるいは軽度な再生尿細管が対照群の雄 2 例と雌 1 例、100 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例で、軽微な尿細管上皮細胞好酸性小滴が対照群の雄 1 例、100 mg/kg 投与群の雄 2 例で、軽微な硝子円柱が対照群の雄 1 例で、軽微な間質性の細胞浸潤が対照群の雌雄各 1 例、100 mg/kg 投与群の雄 1 例で、軽微な髓質/乳頭の鉍質沈着が対照群の雄 3 例、100 mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 1 例で認められた。
- 胸骨（骨髓を含む） : 軽微な骨髓細胞成分の増加が対照群の雄 2 例と雌 1 例、100 mg/kg 投与群の雄 1 例と雌 3 例で認められた。

B-6577

大腿骨（骨髄を含む）

: 軽微な骨髄細胞成分の増加が 100 mg/kg 投与群の雌 2 例で認められた。

8. 考察

1-クロロアンスラキノンの28日間反復経口投与毒性試験を6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔CrI:CD(SD)、1群雌雄各6又は12匹〕を用いて実施した。投与量は0(0.5w/v%メチルセルロース水溶液：対照群)、4、20及び100 mg/kgとし、また、対照群と100 mg/kg投与群の一部の個体(1群雌雄各6匹)については投与期間終了後2週間の休薬期間を設け、毒性変化の可逆性を検討した。

一般状態では、投与期間中に褐色尿が100 mg/kg投与群の雌雄で認められた。褐色尿は回復期間中においても回復3日まで散見されたものの、その後は消失し、休薬による回復性が認められた。

詳細な一般状態では、雌雄とも被験物質投与の影響はみられなかった。

機能検査、握力及び自発運動量では、投与4週に着地開脚幅の低値が100 mg/kg投与群の雄で、自発運動量の低値が100 mg/kg投与群の雄でみられた。中枢及び末梢神経の病理学検査に異常はみられていないもののこれらの変化は被験物質投与の影響が疑われた。なお、これらの変化は回復2週ではみられず、休薬により回復性が認められた。その他、投与4週に後肢握力の低値が20 mg/kg投与群の雄でみられたが、ごく軽度であり、高用量群では同様な変化がみられていないことから偶発性と判断した。

体重では、雌雄とも被験物質投与の影響はみられなかった。

摂餌量では、投与期間初期に低値が100 mg/kg投与群の雌雄で認められた。その他、回復期間中では100 mg/kg投与群の雌で高値がみられたものの、ごく軽度であり、通常毒性を示唆する低値ではないことから偶発性と判断した。

尿検査では、投与4週の色調で褐色尿が100 mg/kg投与群の雌雄に、沈渣で小円形上皮細胞の陽性例の増加傾向が100 mg/kg投与群の雄に認められた。なお、これらの変化は回復2週ではみられず、休薬による回復性が認められた。

血液学検査では、投与期間終了時に赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値が4 mg/kg以上の投与群の雌と20 mg/kg投与群の雄で、平均赤血球容積の高値が20 mg/kg以上の投与群の雌で、平均赤血球血色素濃度の低値が100 mg/kg投与群の雌で、網赤血球率の高値が20 mg/kg以上の投与群の雌雄でみられ、被験物質投与による貧血が疑われた。また、プロトロンビン時間の高値が100 mg/kg投与群の雄で認められた。なお、回復期間終了時にも平均赤血球容積の高値が100 mg/kg投与群の雌で、網赤血球率の高値が100 mg/kg投与群の雄でみられたものの程度は軽減し、ヘマトクリット値も高値に転じていることから休薬による回復あるいは回復傾向が認められた。その他、投与期間終了時に白血球分画において大型非染色球の高値が20 mg/kg投与群の雄で、血小板数の高値が20 mg/kg投与群の雌でみられたがごく軽度であり、高用量群では同様な変化はみられていないことから偶発性的変化と判断した。また、回復期間終了時に平均赤血球血色素濃度の低値が100 mg/kg投与群の雄で、白血球分画において単球数の高値が100 mg/kg投与群の雌でみられたが、いずれもごく軽度で

あり、投与期間終了時にはみられていないことから偶発性の変化と判断した。

血液化学検査では、総コレステロールの高値が 100 mg/kg 投与群の雌雄と無機リンの高値が 20 mg/kg 以上の投与群の雌でみられ、被験物質投与による肝臓への影響が疑われた。また、リン脂質の高値が 100 mg/kg 投与群の雌雄で、グルコースの低値が 100 mg/kg 投与群の雌でみられ、発現機序は明らかではないものの被験物質投与の影響が疑われた。なお、回復期間終了時にはいずれの変化も消失し、休薬による回復性が認められた。その他、投与期間終了時に ALP と総ビリルビンの低値が 100 mg/kg 投与群の雄で、AST の低値が 4 mg/kg 以上の投与群の雌で、ALT の低値が 4 及び 100 mg/kg 投与群の雌みられたが、いずれもごく軽度であり、通常毒性を示唆する高値ではないことから毒性学的意義はないと判断した。また、投与期間終了時に総たん白質の低値が 20 mg/kg 投与群の雄でみられたが、高用量群では同様な変化がみられていないことから偶発性と判断した。更に、回復期間終了時に AST の低値が 100 mg/kg 投与群の雄で、塩素の低値が 100 mg/kg 投与群の雌でみられたが、いずれもごく軽度であり、投与期間終了時にはみられていないことから偶発性と判断した。

病理検査では、肝臓の絶対及び相対重量の高値が 20 mg/kg 以上の投与群の雌と 100 mg/kg 投与群の雄で、組織学的に小葉中心性肝細胞肥大が 20 mg/kg 以上の投与群の雌と 100 mg/kg 投与群の雄で、甲状腺において組織学的に濾胞上皮細胞の肥大が 20 mg/kg 以上の投与群の雄で、腎臓の相対重量の高値が 100 mg/kg 投与群の雄で、組織学的に尿細管上皮細胞の好酸性小滴が 4 mg/kg 以上の投与群の雄と 20 mg/kg 以上の投与群の雌でみられ、いずれも被験物質投与の影響が疑われた。また、脾臓の絶対あるいは相対重量の高値が 20 mg/kg 投与群の雌雄で、組織学的に色素沈着が 4 mg/kg 以上の投与群の雌で、うっ血及び髄外造血の亢進が 20 mg/kg 以上の投与群の雄と 4 mg/kg 以上の投与群の雌で、胸骨及び大腿骨（骨髄を含む）において組織学的に骨髄細胞成分の増加傾向が 20 mg/kg 以上の投与群の雌でみられ、上述した貧血との関連が疑われた。なお、大腿骨（骨髄を含む）、胸骨（骨髄を含む）、腎臓、肝臓及び甲状腺にみられた所見は休薬により消失あるいは軽減していることから回復性が認められた。また、脾臓は回復終了時においても髄外造血の亢進が 100 mg/kg 投与群の雄に、色素沈着の増強が 100 mg/kg 投与群の雌にみられたが、いずれも貧血に伴う 2 次的変化であり、貧血については回復性がみられていることから、休薬による回復傾向があると考えられた。その他、投与期間終了時の剖検において 20 mg/kg 投与群の雄で肺の暗赤色巣がみられたが発現状況などから偶発性と判断した。

以上の結果、1-クロロアンスラキノンの本試験条件下における無影響量は雄で病理組織学的検査の腎臓の変化で、雌で血液学検査と病理組織学的検査の脾臓の変化より 4 mg/kg/day を下回ると推定された。

9. 文献

- 1) 1-クロロアンスラキノンのラットを用いた14日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：C-B445、2009年）
- 2) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1989.
- 3) Dunnett CW. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. J Am Stat Assoc 1955; 50:1096-121.
- 4) Dunnett CW. New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics 1964; 20:482-91.
- 5) 佐久間昭（1977）：薬効評価－計画と解析－I 東京大学出版会, 東京.
- 6) 佐久間昭（1981）：薬効評価－計画と解析－II 東京大学出版会, 東京.

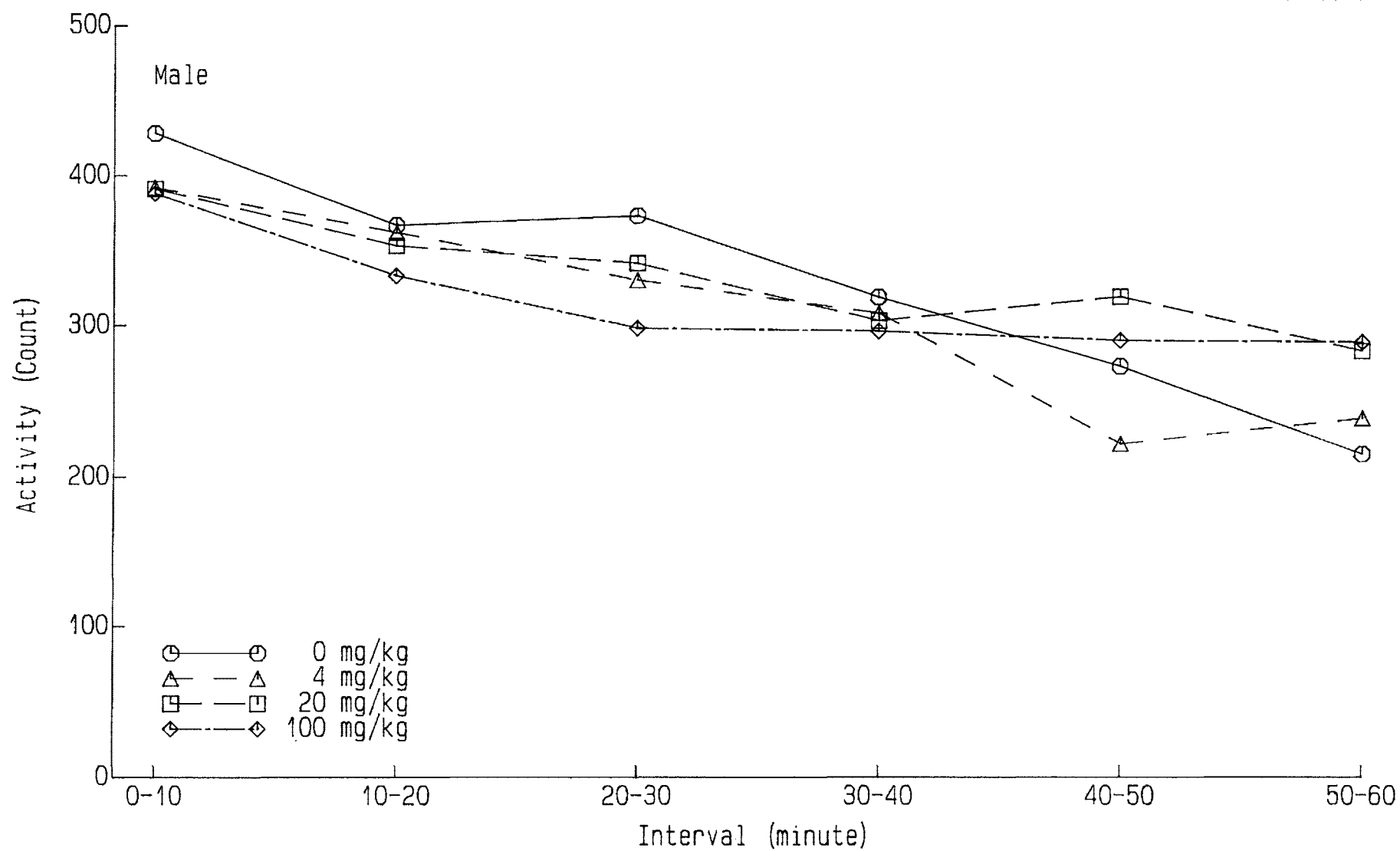


Fig.1 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

—— Motor activity (Week 4 of administration period) ——

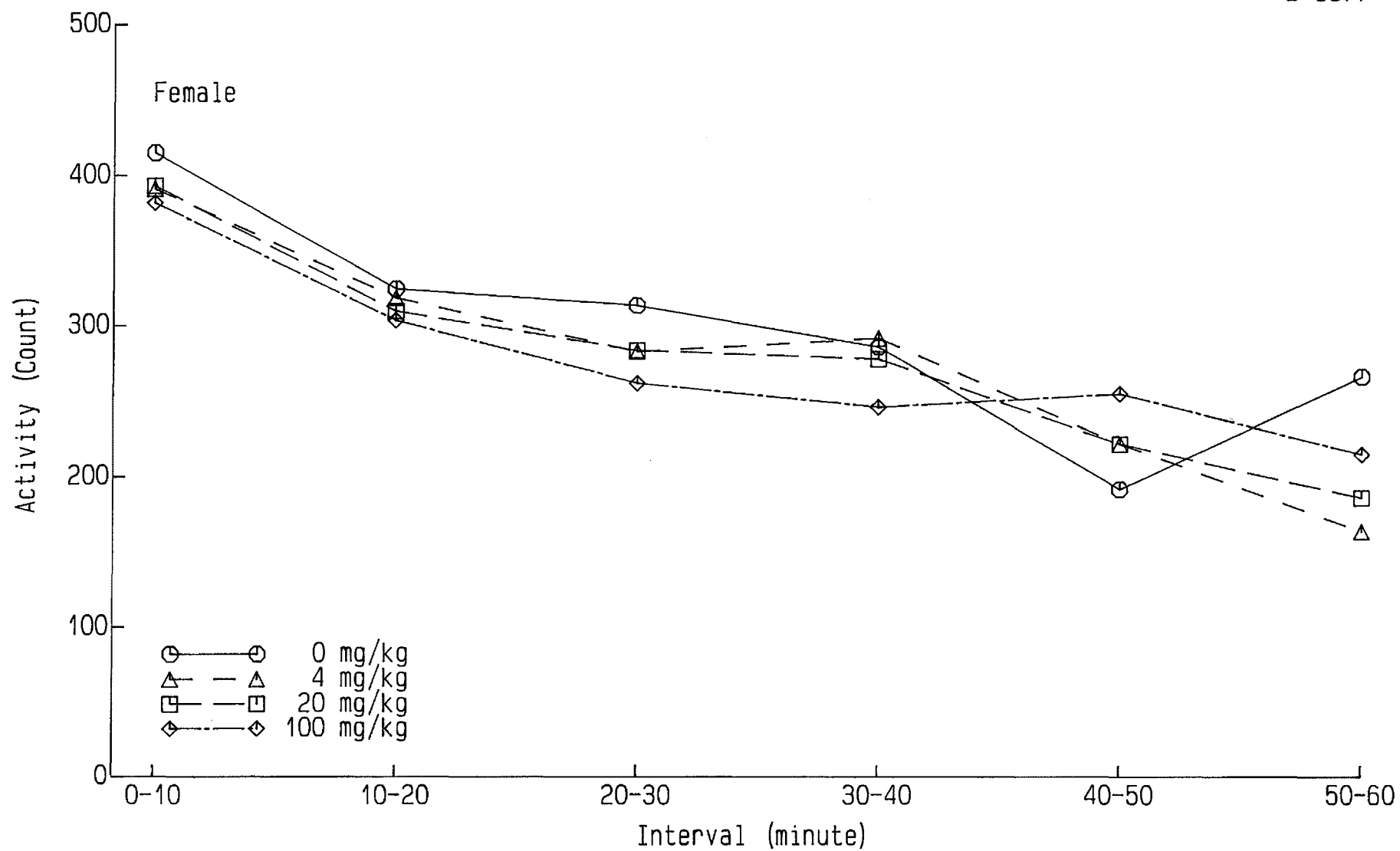


Fig.2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

— Motor activity (Week 4 of administration period) —

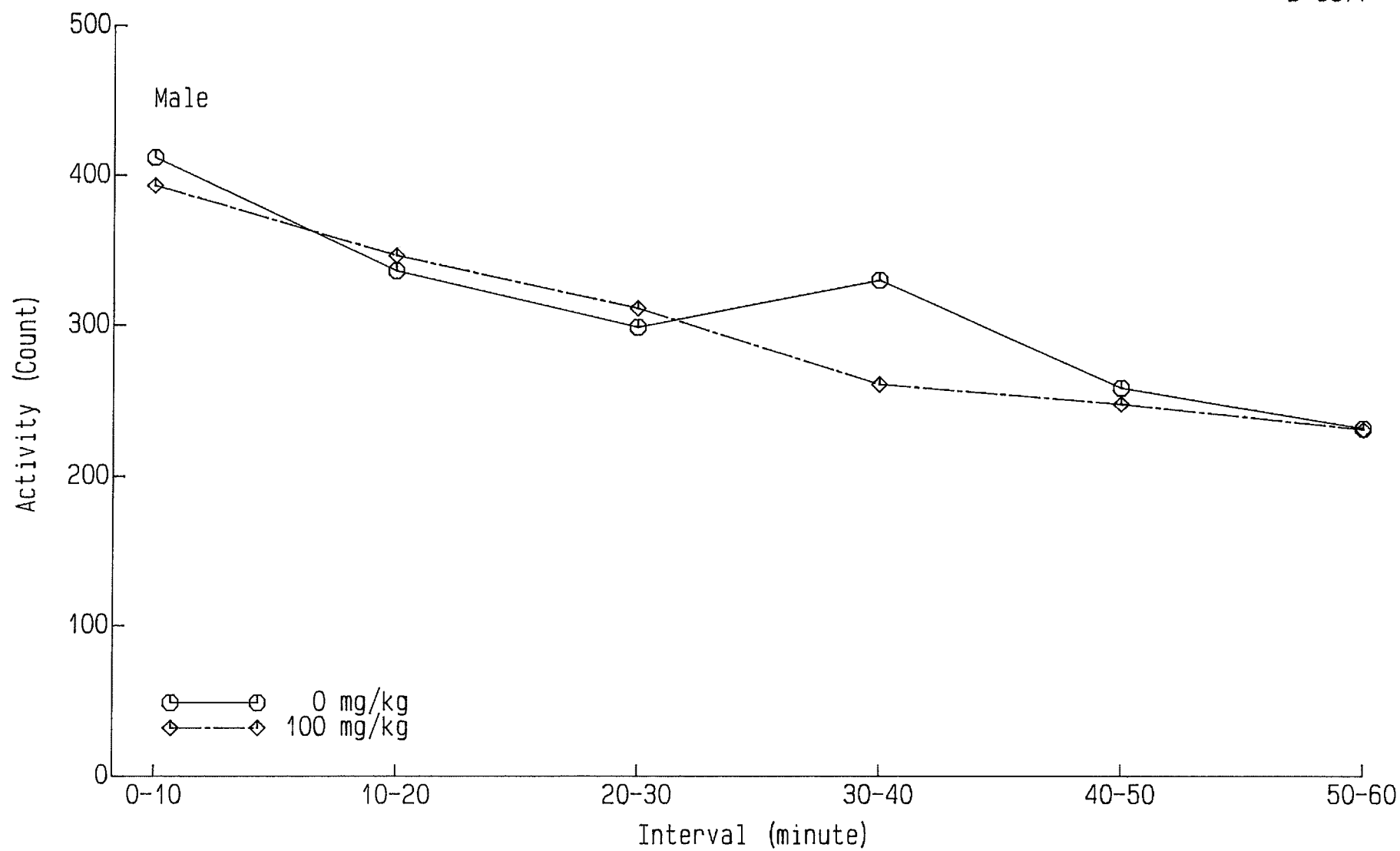


Fig.3 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 2 of recovery period) ——

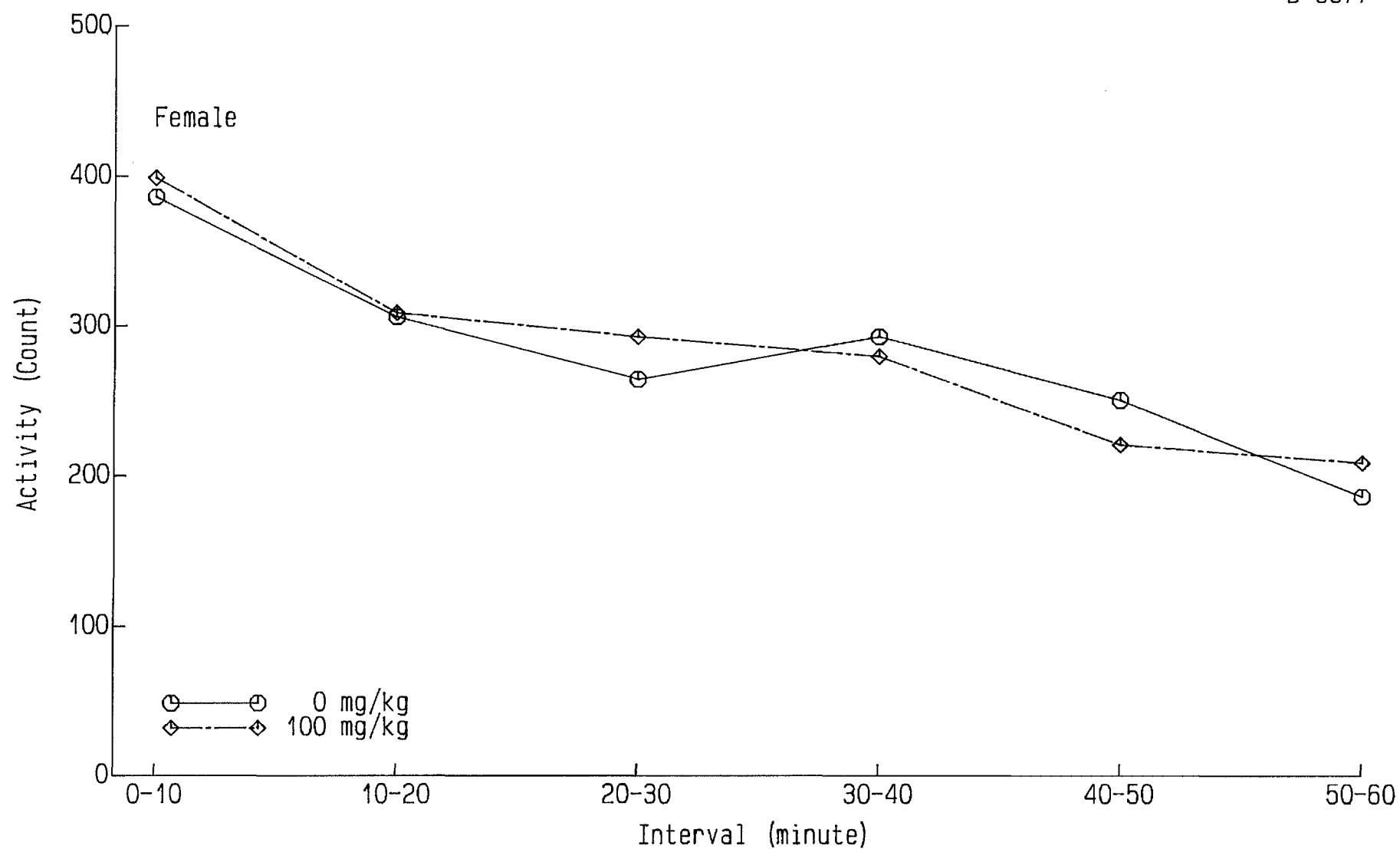


Fig.4 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
—— Motor activity (Week 2 of recovery period) ——

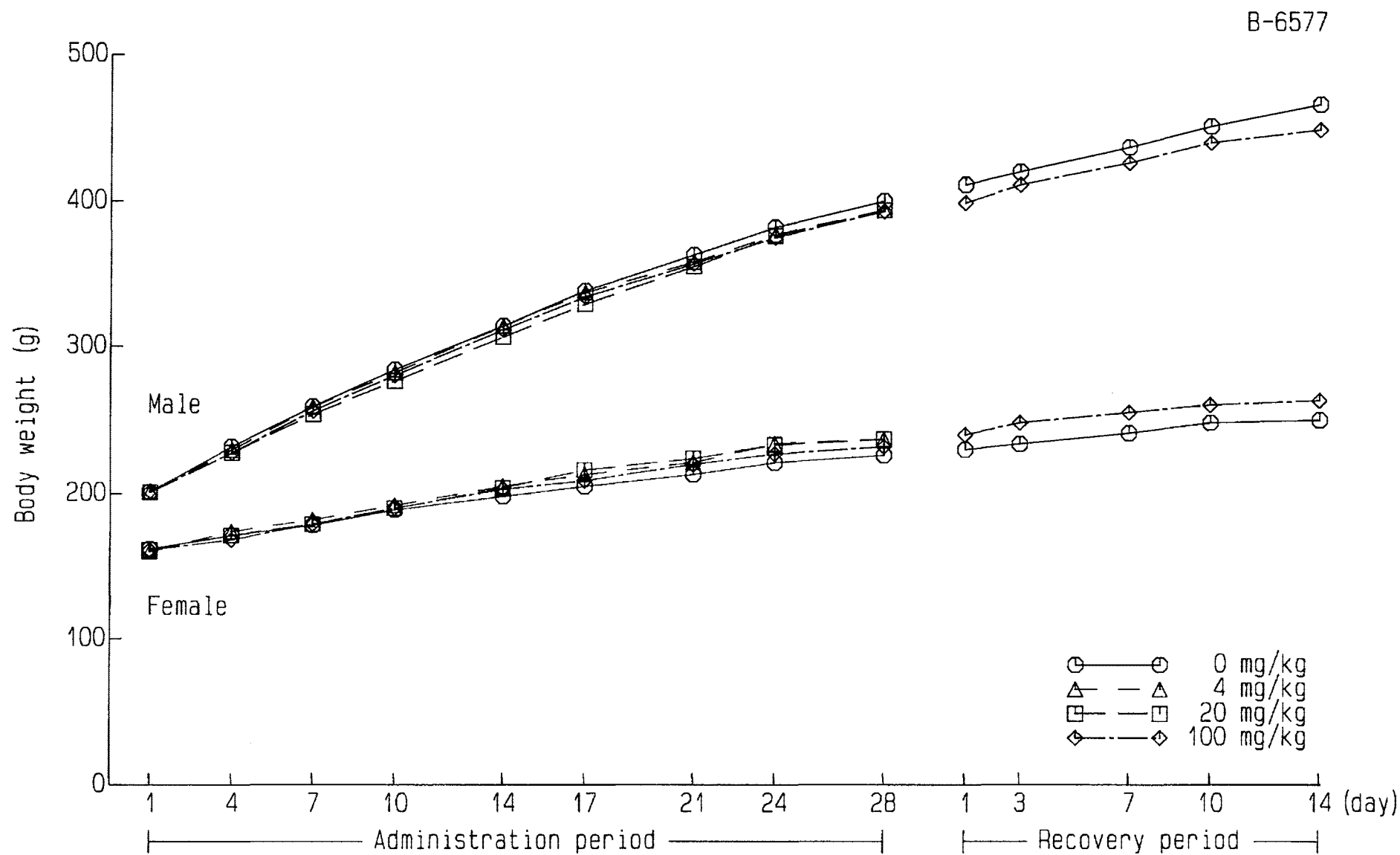


Fig.5 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

—— Body weight ——

B-6577

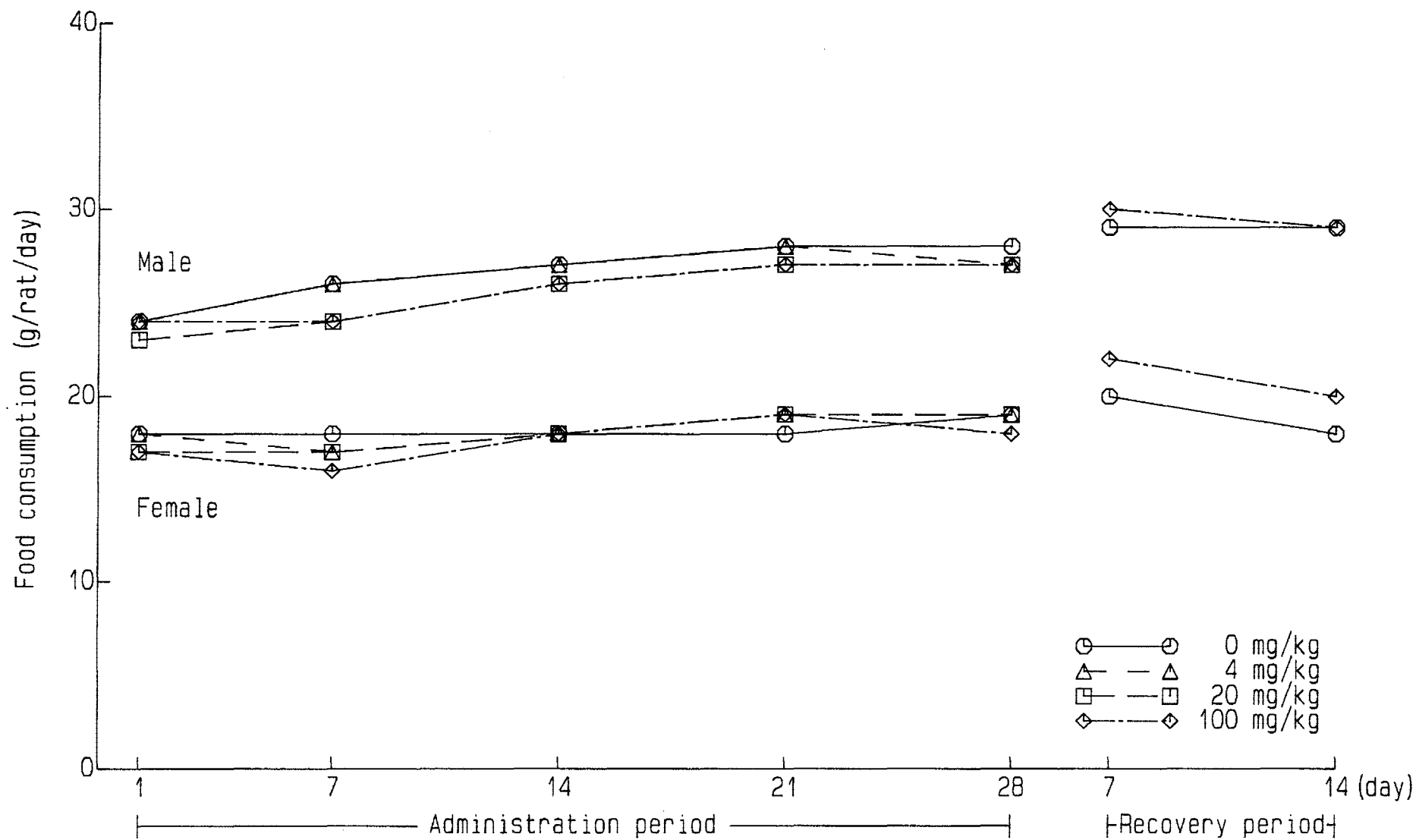


Fig.6 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

—— Food consumption ——

Table 1-1

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Administration period)

[illegible]

Table 1-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Clinical signs (Administration period)

Sex	Dose mg/kg	Findings	Day of administration														29a)
			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	6
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
	4	No. of animals	6	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	6
	20	No. of animals	6	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	6
	100	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
		No abnormality	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Brown urine	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
Female	0	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
		No abnormality	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
	4	No. of animals	6	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	6
	20	No. of animals	6	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	6
	100	No. of animals	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6
		No abnormality	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Brown urine	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	6

a) : Day of necropsy

Table 1-3

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Clinical signs (Recovery period)

[illegible]

Table 2-1 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-3

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-4

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-5

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	100	0	100
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-6

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : home cage observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	100	0	100
	No. of animals	6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6

Table 2-7 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-8

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-9 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-10 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Ease of removal from cage									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12
Fur condition									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Skin									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Secretions-Eye, Nose									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Exophthalmos									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Palpebral closure									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Mucosal membranes									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Lacrimation									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Piloerection									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupil size									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Salivation									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal respiration									
Absent		12	6	6	12	12	6	6	12
Reactivity to handling									
Easy		12	6	6	12	12	6	6	12

Table 2-11

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	100	0	100
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	6
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	6

Table 2-12

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : in-the-hand observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	100	0	100
	No. of animals	6	6	6	6
Ease of removal from cage					
Easy		6	6	6	6
Fur condition					
Normal		6	6	6	6
Skin					
Normal		6	6	6	6
Secretions-Eye, Nose					
Absent		6	6	6	6
Exophthalmos					
Absent		6	6	6	6
Palpebral closure					
Normal		6	6	6	6
Mucosal membranes					
Normal		6	6	6	6
Lacrimation					
Normal		6	6	6	6
Piloerection					
Absent		6	6	6	6
Pupil size					
Normal		6	6	6	6
Salivation					
None		6	6	6	6
Abnormal respiration					
Absent		6	6	6	6
Reactivity to handling					
Easy		6	6	6	6

Table 2-13

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 1 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		2± 2	2± 1	4± 2	2± 2	5± 2	4± 2	4± 2	6± 1
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	0± 0	1± 1	0± 0	1± 2	0± 0	0± 0
Urination									
None		10	6	5	8	12	6	6	12
Small amount		2	0	1	4	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-14

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
No/minimal location		0	0	0	1	0	0	0	0
Normal		12	6	6	11	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		3± 2	2± 1	3± 2	3± 2	7± 3	5± 3	7± 5	8± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	0± 1	1± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		9	6	6	9	12	6	6	12
Small amount		3	0	0	3	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-15

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 3 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		5± 2	5± 2	5± 1	4± 3	8± 2	6± 4	6± 2	9± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		10	4	6	8	12	6	6	11
Small amount		2	2	0	3	0	0	0	1
Moderate amount		0	0	0	1	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-16

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Arousal									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Convulsion									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Abnormal behavior									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Stereotypy									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Gait									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Posture									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Grooming									
None		12	6	6	12	12	6	6	12
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 2	5± 2	5± 1	4± 1	10± 3	7± 4	9± 2	11± 3
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 1	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination									
None		10	4	6	10	12	6	6	12
Small amount		1	2	0	2	0	0	0	0
Moderate amount		1	0	0	0	0	0	0	0

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 2-17

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 1 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	100	0	100
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
Normal		6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		4± 2	5± 3	7± 2	8± 2
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		5	4	6	6
Small amount		1	2	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-18

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Detailed clinical signs : open field observation (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	100	0	100
	No. of animals	6	6	6	6
Arousal					
Normal		6	6	6	6
Convulsion					
None		6	6	6	6
Abnormal behavior					
None		6	6	6	6
Stereotypy					
None		6	6	6	6
Gait					
Normal		6	6	6	6
Posture					
Normal		6	6	6	6
Grooming					
None		6	6	6	6
Rearing count (Mean±S.D.)		5± 2	5± 3	10± 5	12± 4
Defecation count (Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Urination					
None		5	4	6	6
Small amount		1	1	0	0
Moderate amount		0	1	0	0

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-19 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Manipulative test (Week 4 of administration period)

Parameter	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	4	20	100	0	4	20	100
	No. of animals	12	6	6	12	12	6	6	12
Auditory response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Approach response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Touch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Tail pinch response									
Normal		12	6	6	12	12	6	6	12
Pupillary reflex									
Pass, both		12	6	6	12	12	6	6	12
Aerial righting reflex									
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		82±17	70±17	80±25	63±14*D	52±13	64±22	64±18	49±14

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)
 D : Dunnett's test

Table 2-20 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Manipulative test (Week 2 of recovery period)

Parameter	Sex	Male		Female	
	Dose (mg/kg)	0	100	0	100
	No. of animals	6	6	6	6
Auditory response					
Normal		6	6	6	6
Approach response					
Normal		6	6	6	6
Touch response					
Normal		6	6	6	6
Tail pinch response					
Normal		6	6	6	6
Pupillary reflex					
Pass, both		6	6	6	6
Aerial righting reflex					
(Total score: Mean±S.D.)		0± 0	0± 0	0± 0	0± 0
Landing foot splay (mm: Mean±S.D.)		76±11	66±10	47±14	39±11

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-21 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Grip strength (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	12	12
		Mean	1047	642
		S.D.	156	93
	4	No.	6	6
		Mean	1079	584
		S.D.	124	40
	20	No.	6	6
		Mean	1071	500*
		S.D.	180	151D
	100	No.	12	12
		Mean	980	571
		S.D.	137	101
Female	0	No.	12	12
		Mean	919	521
		S.D.	195	149
	4	No.	6	6
		Mean	877	482
		S.D.	158	58
	20	No.	6	6
		Mean	974	467
		S.D.	151	69
	100	No.	12	12
		Mean	906	450
		S.D.	172	67

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 2-22 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Grip strength (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Fore limb g	Hind limb g
Male	0	No.	6	6
		Mean	1288	683
		S.D.	164	55
	100	No.	6	6
		Mean	1436	724
		S.D.	224	112
Female	0	No.	6	6
		Mean	1207	634
		S.D.	146	97
	100	No.	6	6
		Mean	1185	615
		S.D.	169	87

No significant difference between treated group and control group.

Table 2-23

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Motor activity (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg		Interval (minutes)						Total(0-60)
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	
Male	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	428	367	373	319	273	215	1975
		S.D.	34	30	35	68	86	144	296
	4	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	392	362	330	308	222	239	1853
		S.D.	42	31	29	51	105	134	276
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	391	353	341	303	319	283	1989
		S.D.	30	45	38	79	55	124	275
	100	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	388*	333	298**	296	290	289	1894
		S.D.	35D	35	70D	45	64	56	180
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	415	325	314	286	192	266	1797
		S.D.	66	83	70	95	134	71	395
	4	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	391	319	283	292	222	164	1671
		S.D.	44	48	71	89	92	130	382
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	393	310	284	278	222	186	1672
		S.D.	48	57	55	36	106	84	156
	100	No.	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	382	304	262	246	255	215	1664
		S.D.	40	55	63	71	90	73	277

Unit : Count

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 2-24 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Motor activity (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	Interval (minutes)							
			0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	Total(0-60)
Male	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	412	336	299	330	259	232	1868
		S.D.	29	36	52	23	55	105	210
	100	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	393	346	311	261	248	231	1789
		S.D.	53	80	83	84	82	128	404
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	386	306	265	293	251	186	1686
		S.D.	66	59	90	57	124	135	269
	100	No.	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	399	309	293	280	221	209	1711
		S.D.	65	101	110	112	63	119	417

Unit : Count

No significant difference between treated group and control group.

Table 3-1 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Body weight (Administration period)

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	201	232	259	284	314	338	363	382	400	199
		S.D.	7	8	9	11	14	15	19	19	24	21
	4	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	202	230	259	282	314	337	358	377	394	192
		S.D.	6	6	9	9	8	10	12	14	15	17
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	201	228	254	276	306	329	355	376	394	193
		S.D.	5	6	10	14	19	22	25	27	28	27
	100	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	202	228	256	280	311	334	357	375	393	191
		S.D.	5	6	9	14	19	21	24	26	27	23
Female	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	162	171	178	189	198	205	213	221	226	64
		S.D.	4	7	12	13	16	18	20	20	20	18
	4	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	160	174	182	192	205	213	221	234	237	77
		S.D.	9	7	7	7	9	8	8	9	10	17
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	161	171	179	190	204	216	224	233	237	77
		S.D.	4	3	8	9	12	13	13	13	11	10
	100	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Mean	161	168	179	190	203	209	220	227	232	72
		S.D.	8	6	9	10	12	15	18	14	12	11

Unit : g

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 3-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Body weight (Recovery period)

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	411	420	437	451	466	55
		S.D.	29	30	33	35	36	8
	100	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	399	411	426	440	449	50
		S.D.	29	32	38	42	46	18
Female	0	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	230	234	241	248	250	20
		S.D.	16	21	21	17	17	7
	100	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean	240	248	255	260	263	23
		S.D.	14	10	11	12	13	9

Unit : g

No significant difference between treated group and control group.

Table 4-1 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Food consumption (Administration period)

Sex	Dose mg/kg		Day of administration				
			1	7	14	21	28
Male	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	26	27	28	28
		S.D.	2	2	2	2	2
	4	No.	6	6	6	6	6
		Mean	24	26	27	28	27
		S.D.	2	2	2	2	1
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	23	24	26	27	27
		S.D.	2	2	3	3	2
	100	No.	12	12	12	12	12
		Mean	24	24*	26	27	27
		S.D.	1	1D	2	2	3
Female	0	No.	12	12	12	12	12
		Mean	18	18	18	18	19
		S.D.	2	1	2	2	2
	4	No.	6	6	6	6	6
		Mean	18	17	18	19	19
		S.D.	3	1	1	2	2
	20	No.	6	6	6	6	6
		Mean	17	17	18	19	19
		S.D.	2	1	2	2	2
	100	No.	12	12	12	12	12
		Mean	17	16**	18	19	18
		S.D.	2	1D	1	2	1

Unit : g/rat/day

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 4-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Food consumption (Recovery period)

Sex	Dose mg/kg		Day of recovery	
			7	14
Male	0	No.	6	6
		Mean	29	29
		S.D.	3	2
	100	No.	6	6
		Mean	30	29
		S.D.	3	4
Female	0	No.	6	6
		Mean	20	18
		S.D.	1	1
	100	No.	6	6
		Mean	22*	20
		S.D.	1T	1

Unit : g/rat/day

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 5-1 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Urinalysis (Week 4 of administration period)

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	12	0	0	0	0	0	0	0	7	5	2	8	2	0	0	0	2	5	5	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	4	6	0	0	0	0	0	0	1	3	2	0	5	1	0	0	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	20	6	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	3	2	0	0	0	3	1	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	100	12	0	0	0	0	0	0	1	10	1	0	8	4	0	0	0	3	5	4	0	0	0	12	0	0	0	0	0
Female	0	12	0	0	1	0	1	0	2	7	1	7	1	4	0	0	0	8	0	4	0	0	0	12	0	0	0	0	0
	4	6	0	0	0	2	0	0	2	2	0	4	0	2	0	0	0	4	0	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	20	6	0	0	1	1	0	1	1	2	0	5	1	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	100	12	0	0	1	0	1	0	1	7	2	9	2	1	0	0	0	10	2	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0
1) - : <10 mg/dL			+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL														
2) - : <5 mg/dL			+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL														
3) - : <30 mg/dL			+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL														

Table 5-2

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color			
			-	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY	B
Male	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0
	4	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
	100	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	7	0	5
Female	0	12	11	0	1	0	0	12	0	0	0	0	10	2	0	0	0	0	12	0	0
	4	6	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
	100	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	8	0	4

4) - : <0.03 mg/dL +- : 0.03 - 0.05 mg/dL + : 0.06 - 0.15 mg/dL ++ : 0.16 - 0.75 mg/dL +++ : >0.75 mg/dL
 5) - : <0.5 mg/dL + : 0.5 - 1.5 mg/dL ++ : 1.6 - 5.0 mg/dL +++ : 5.1 - 10.0 mg/dL ++++ : >10.0 mg/dL
 6) +- : <2.0 mg/dL + : 2.0 - 3.5 mg/dL ++ : 3.6 - 7.0 mg/dL +++ : 7.1 - 12.0 mg/dL ++++ : >12.0 mg/dL
 7) LY : Light yellow Y : Yellow DY : Dark yellow B : Brown

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

Table 5-4 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Water intake and urinalysis (Week 4 of administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	12	Mean	36	11.7	1874
			S.D.	10	4.6	345
	4	6	Mean	38	12.2	1730
			S.D.	2	2.5	239
	20	6	Mean	35	9.9	1930
			S.D.	4	2.7	276
	100	12	Mean	36	11.1	1669
			S.D.	7	3.3	323
Female	0	12	Mean	28	7.2	2072
			S.D.	5	4.2	547
	4	6	Mean	31	7.3	2053
			S.D.	6	6.5	645
	20	6	Mean	29	5.9	2182
			S.D.	7	2.8	590
	100	12	Mean	32	8.8	1817
			S.D.	4	4.5	484

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 5-5 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Urinalysis (Week 2 of recovery period)

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	0	6	0	0	3	3	0	0	0	0	3	3	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	100	6	0	0	0	0	0	0	1	4	1	0	3	3	0	0	0	1	2	3	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Female	0	6	0	0	1	0	2	0	1	2	0	4	0	2	0	0	0	4	0	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	100	6	0	0	0	0	0	2	0	4	0	1	5	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
1) - : <10 mg/dL			+- : 10 - 25 mg/dL			+ : 26 - 85 mg/dL			++ : 86 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 600 mg/dL			++++ : >600 mg/dL														
2) - : <5 mg/dL			+- : 5 - 7.5 mg/dL			+ : 7.6 - 30 mg/dL			++ : 31 - 70 mg/dL			+++ : 71 - 125 mg/dL			++++ : >125 mg/dL														
3) - : <30 mg/dL			+- : 30 - 60 mg/dL			+ : 61 - 125 mg/dL			++ : 126 - 250 mg/dL			+++ : 251 - 750 mg/dL			++++ : >750 mg/dL														

Table 5-6 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	4) Occult blood					5) Bilirubin					6) Urobilinogen					7) Color			
			-	+-	+	++	+++	-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY	B
Male	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
	100	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
	100	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0
4) - : <0.03 mg/dL			+- : 0.03 - 0.05 mg/dL					+ : 0.06 - 0.15 mg/dL					++ : 0.16 - 0.75 mg/dL					+++ : >0.75 mg/dL			
5) - : <0.5 mg/dL			+ : 0.5 - 1.5 mg/dL					++ : 1.6 - 5.0 mg/dL					+++ : 5.1 - 10.0 mg/dL					++++ : >10.0 mg/dL			
6) +- : <2.0 mg/dL			+ : 2.0 - 3.5 mg/dL					++ : 3.6 - 7.0 mg/dL					+++ : 7.1 - 12.0 mg/dL					++++ : >12.0 mg/dL			
7) LY : Light yellow			Y : Yellow					DY : Dark yellow					B : Brown								

Table 5-7 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Urinalysis (Week 2 of recovery period)

			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	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	100	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	
Female	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	5	1	0	0	0	
	100	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	3	3	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																																

Table 5-8 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Water intake and urinalysis (Week 2 of recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Water intake mL/24h	Urine volume mL/24h	Osmolality mOsm/kg
Male	0	6	Mean	40	12.2	1962
			S.D.	8	5.1	461
	100	6	Mean	38	12.2	1970
			S.D.	7	4.5	358
Female	0	6	Mean	28	7.0	2023
			S.D.	5	3.4	598
	100	6	Mean	27	8.3	1911
			S.D.	5	3.1	373

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-1 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC X10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Retic %	PLT X10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	788	15.4	44.3	56.2	19.5	34.7	2.4	136.1	14.6	23.8	256
			S.D.	26	0.4	1.6	0.7	0.4	0.5	0.2	41.9	1.7	2.0	25
	4	6	Mean	783	15.3	43.8	55.8	19.5	34.8	2.7	125.3	14.9	23.3	293
			S.D.	16	0.4	1.1	1.2	0.5	0.3	0.5	8.0	1.5	2.3	34
	20	6	Mean	743*	14.2**	41.2**	55.5	19.1	34.3	4.1**	126.0	14.9	25.7	284
			S.D.	24D	0.5D	1.1D	0.9	0.3	0.5	0.5D	9.0	2.3	4.6	24
	100	6	Mean	773	14.6	42.3	54.8	18.9	34.6	3.4**	128.0	17.6*	24.8	297
			S.D.	42	0.7	2.0	2.1	0.5	0.4	0.6D	11.1	1.7D	3.9	33
Female	0	6	Mean	820	15.7	43.8	53.4	19.2	35.9	1.9	128.0	11.5	17.7	192
			S.D.	33	0.6	1.3	1.4	0.2	0.8	0.2	12.7	0.9	1.8	11
	4	6	Mean	739**	14.2**	39.8**	53.9	19.2	35.6	2.8	138.7	11.0	16.6	193
			S.D.	19D	0.3D	1.2D	1.0	0.5	0.6	0.9	13.2	0.8	1.6	14
	20	6	Mean	704**	13.9**	39.6**	56.4*	19.8	35.1	4.2**	146.6*	11.2	18.2	190
			S.D.	20D	0.2D	0.6D	2.1D	0.7	0.6	0.6D	16.2D	0.4	1.8	23
	100	6	Mean	713**	14.0**	40.3**	56.6*	19.7	34.8**	4.8**	138.5	11.1	19.2	210
			S.D.	36D	0.5D	1.5D	2.1D	0.8	0.4D	0.7D	6.3	0.5	3.4	31

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	102.2	79.5	16.5	1.1	0.3	2.1	0.6
			S.D.	32.5	7.4	7.4	0.4	0.1	0.6	0.3
	4	6	Mean	131.5	80.2	15.4	0.7	0.4	2.5	0.9
			S.D.	28.2	4.5	4.5	0.4	0.1	0.6	0.2
	20	6	Mean	122.0	78.3	17.2	0.8	0.3	2.4	1.0*
			S.D.	21.0	2.2	2.0	0.4	0.1	0.5	0.3D
	100	6	Mean	105.8	79.3	16.9	0.9	0.3	1.8	0.8
			S.D.	41.5	5.9	5.4	0.5	0.1	0.3	0.2
Female	0	6	Mean	82.0	79.1	16.5	1.3	0.2	2.2	0.8
			S.D.	10.7	3.5	2.8	0.4	0.1	0.9	0.2
	4	6	Mean	99.8	78.0	17.4	1.3	0.3	2.2	1.0
			S.D.	34.4	6.9	6.3	0.3	0.1	1.3	0.4
	20	6	Mean	83.9	79.5	15.6	0.9	0.2	2.7	1.2
			S.D.	27.5	4.8	4.7	0.4	0.1	0.9	0.3
	100	6	Mean	85.9	79.3	16.0	0.8	0.2	2.5	1.1
			S.D.	35.8	4.6	3.0	0.3	0.1	1.1	0.4

LUC : Large unstained cells

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-3 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		Differential leukocyte counts ($\times 10^3/\mu\text{L}$)					
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	81.9	16.1	1.0	0.3	2.1	0.7
			S.D.	30.0	6.5	0.3	0.2	0.9	0.4
	4	6	Mean	106.1	19.5	0.9	0.5	3.3	1.1
			S.D.	26.4	4.3	0.4	0.2	1.2	0.4
	20	6	Mean	95.6	21.0	0.9	0.4	2.9	1.2*
			S.D.	17.1	4.3	0.5	0.1	0.6	0.3D
	100	6	Mean	83.8	18.1	0.9	0.3	1.9	0.8
			S.D.	32.3	10.3	0.4	0.2	0.7	0.3
Female	0	6	Mean	65.0	13.4	1.0	0.2	1.8	0.7
			S.D.	9.6	2.1	0.5	0.1	0.8	0.2
	4	6	Mean	78.4	17.0	1.2	0.3	1.9	1.1
			S.D.	29.2	9.4	0.4	0.1	0.6	0.7
	20	6	Mean	67.1	12.6	0.8	0.2	2.2	1.0
			S.D.	23.4	4.7	0.6	0.1	0.8	0.4
	100	6	Mean	68.5	13.4	0.7	0.2	2.1	1.0
			S.D.	29.7	5.0	0.3	0.2	1.1	0.7

LUC : Large unstained cells

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 6-4 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		RBC ×10 ⁴ /μL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	Retic %	PLT ×10 ⁴ /μL	PT s	APTT s	FIB mg/dL
Male	0	6	Mean	810	15.4	42.3	52.3	19.0	36.3	2.2	107.0	15.1	24.8	276
			S.D.	30	0.5	1.0	1.2	0.5	0.4	0.2	7.7	1.8	3.5	30
	100	6	Mean	799	14.9	42.0	52.6	18.6	35.4**	3.0**	108.8	15.1	22.7	268
			S.D.	27	0.4	1.1	1.7	0.5	0.4T	0.5AT	9.6	1.3	3.2	21
Female	0	6	Mean	766	14.7	40.1	52.4	19.2	36.7	2.1	125.9	11.8	18.5	179
			S.D.	13	0.2	0.7	1.0	0.3	0.5	0.6	30.6	0.4	2.5	15
	100	6	Mean	770	15.2	41.6*	54.0*	19.7	36.4	1.5	114.7	12.1	19.1	194
			S.D.	27	0.6	1.4T	1.2T	0.5	0.4	0.5	6.8	0.6	1.5	26

* : p<0.05 ; ** : p<0.01 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

AT : Aspin-Welch t-test

Table 6-5 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		WBC	Differential leukocyte counts (%)					
				$\times 10^2/\mu\text{L}$	LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	102.4	79.5	15.9	1.0	0.3	2.3	1.0
			S.D.	25.0	7.6	6.6	0.4	0.0	0.7	0.5
	100	6	Mean	102.8	78.2	17.0	1.2	0.3	2.3	1.1
			S.D.	16.7	5.8	6.1	0.4	0.1	0.6	0.2
Female	0	6	Mean	68.4	75.5	20.1	1.4	0.2	1.8	1.0
			S.D.	16.4	5.1	5.6	0.6	0.0	0.6	0.2
	100	6	Mean	74.0	71.5	22.6	1.8	0.2	2.7	1.2
			S.D.	17.8	4.9	5.2	0.5	0.1	0.8	0.6

LUC : Large unstained cells

No significant difference between treated group and control group.

Table 6-6 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Hematology (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.	Differential leukocyte counts ($\times 10^2/\mu\text{L}$)						
				LYMP	NEUT	EOS	BASO	MONO	LUC
Male	0	6	Mean	82.2	15.7	1.0	0.3	2.2	1.1
			S.D.	24.6	5.0	0.4	0.1	0.5	0.5
	100	6	Mean	80.2	17.6	1.2	0.3	2.4	1.1
			S.D.	13.9	7.3	0.4	0.1	0.8	0.3
Female	0	6	Mean	51.9	13.5	1.0	0.1	1.3	0.7
			S.D.	14.3	4.2	0.5	0.1	0.5	0.2
	100	6	Mean	53.1	16.7	1.3	0.1	1.9*	0.9
			S.D.	13.7	5.5	0.5	0.1	0.4T	0.4

LUC : Large unstained cells

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 7-1

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST IU/L	ALT IU/L	LDH IU/L	γ -GTP IU/L	ALP IU/L	T-CHO mg/dL	TG mg/dL	PL mg/dL	T-BIL mg/dL	GLU mg/dL
Male	0	6	Mean	62	26	50	1	760	50	45	85	0.1	133
			S.D.	2	2	9	0	181	12	15	14	0.0	18
	4	6	Mean	67	27	53	1	680	56	53	96	0.1	144
			S.D.	3	4	5	0	168	6	20	14	0.1	9
	20	6	Mean	61	25	51	1	629	64	42	99	0.1	120
			S.D.	5	3	6	0	145	13	22	15	0.1	11
	100	6	Mean	58	22	52	1	472**	81**	44	116**	0.0*	139
			S.D.	6	2	8	0	83D	14D	28	12D	0.1DT	12
Female	0	6	Mean	63	24	51	2	390	71	17	119	0.1	107
			S.D.	4	2	12	1	130	17	4	15	0.0	9
	4	6	Mean	56*	19*	49	2	355	69	18	118	0.1	116
			S.D.	4D	3D	10	1	89	18	8	31	0.0	14
	20	6	Mean	56*	21	43	1	339	82	17	127	0.1	98
			S.D.	4D	4	8	1	58	8	9	12	0.0	10
	100	6	Mean	55*	18**	49	1	322	99*	26	156*	0.0	86*
			S.D.	5D	3D	13	1	56	13D	10	17D	0.1	14D

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 7-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After administration period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	14	0.25	143	4.8	106	9.7	8.1	6.1	3.1	1.03
			S.D.	2	0.02	1	0.3	2	0.4	0.4	0.1	0.1	0.04
	4	6	Mean	14	0.26	144	4.8	107	9.7	8.4	6.0	3.1	1.05
			S.D.	2	0.02	1	0.1	2	0.2	0.6	0.2	0.2	0.04
	20	6	Mean	14	0.25	144	5.0	106	9.6	8.5	5.8**	3.0	1.09
			S.D.	3	0.04	2	0.3	2	0.3	0.6	0.1D	0.1	0.07
	100	6	Mean	15	0.25	144	5.1	105	9.9	8.6	6.3	3.2	1.01
			S.D.	1	0.02	1	0.3	1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.06
Female	0	6	Mean	17	0.28	142	5.0	109	9.5	7.1	6.2	3.3	1.14
			S.D.	4	0.04	0	0.2	1	0.3	0.6	0.2	0.1	0.11
	4	6	Mean	18	0.26	141	5.1	109	9.6	7.3	6.3	3.5	1.21
			S.D.	2	0.03	1	0.3	1	0.4	0.5	0.4	0.3	0.07
	20	6	Mean	17	0.28	142	4.9	108	9.8	8.4**	6.3	3.4	1.14
			S.D.	2	0.02	2	0.5	1	0.3	0.4D	0.2	0.1	0.06
	100	6	Mean	18	0.29	143	4.9	109	9.7	8.0*	6.4	3.3	1.04
			S.D.	2	0.03	1	0.4	1	0.1	0.7D	0.3	0.2	0.03

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)
 D : Dunnett's test

Table 7-3

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		AST	ALT	LDH	γ -GTP	ALP	T-CHO	TG	PL	T-BIL	GLU
				IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Male	0	6	Mean	68	29	49	1	595	61	65	96	0.1	142
			S.D.	7	5	11	1	67	10	25	11	0.0	5
	100	6	Mean	59*	25	47	1	577	62	55	99	0.1	159
			S.D.	7T	2	8	0	68	9	23	11	0.0	19
Female	0	6	Mean	57	22	41	1	291	68	17	120	0.1	114
			S.D.	7	3	7	0	52	8	6	12	0.0	11
	100	6	Mean	56	20	36	1	238	75	20	125	0.1	126
			S.D.	3	3	3	1	35	13	9	17	0.0	25

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 7-4 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Blood chemistry (After recovery period)

Sex	Dose mg/kg	No.		BUN mg/dL	CRNN mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	Cl mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	TP g/dL	ALB g/dL	A/G
Male	0	6	Mean	13	0.26	144	4.5	106	10.0	7.4	6.2	3.1	1.04
			S.D.	1	0.02	1	0.2	2	0.2	0.7	0.2	0.1	0.09
	100	6	Mean	13	0.25	144	4.7	106	10.0	7.7	6.2	3.1	1.02
			S.D.	1	0.03	1	0.4	2	0.3	0.4	0.2	0.1	0.07
Female	0	6	Mean	19	0.31	143	4.5	110	10.1	6.6	6.5	3.4	1.13
			S.D.	2	0.03	1	0.4	1	0.2	0.5	0.2	0.1	0.07
	100	6	Mean	17	0.28	143	4.3	109*	10.1	6.5	6.6	3.5	1.11
			S.D.	2	0.03	1	0.5	1T	0.1	0.2	0.3	0.2	0.05

* : $p < 0.05$ (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 8-1 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After administration period)
 Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	367	2.00	518	1.22	10.72	0.67	2.66	62
		S.D.	18	0.05	128	0.10	0.85	0.07	0.27	11
	4	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	363	2.03	507	1.24	10.70	0.67	2.76	63
		S.D.	14	0.06	74	0.10	0.20	0.11	0.23	12
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	364	2.05	576	1.27	11.56	0.92*	2.84	62
		S.D.	29	0.08	180	0.15	1.52	0.12D	0.26	6
	100	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	363	2.01	517	1.24	14.56**	0.78	2.94	59
		S.D.	26	0.07	70	0.14	1.40DT	0.19	0.15	4
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.55	140	0.33	2.93	0.18	0.73	17
		S.D.		0.03	28	0.01	0.15	0.02	0.04	3
	4	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.56	139	0.34	2.95	0.18	0.76	17
		S.D.		0.03	17	0.02	0.15	0.03	0.05	3
	20	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.57	156	0.35	3.17	0.26**	0.78	17
		S.D.		0.06	39	0.05	0.21	0.03D	0.06	1
	100	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.56	142	0.34	4.01**	0.21	0.82*	16
		S.D.		0.03	12	0.02	0.18D	0.05	0.06D	1

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

DT : Dunnett-type rank test

Table 8-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Male

		Testis (R+L)		Epididymis (R+L)	
Dose mg/kg		g(g/100g BW)		mg(mg/100g BW)	
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	3.11	846	
		S.D.	0.14	43	
	4	No.	6	6	
		Mean	3.06	837	
		S.D.	0.16	81	
	20	No.	6	6	
		Mean	3.24	851	
		S.D.	0.37	65	
	100	No.	6	6	
		Mean	3.21	821	
		S.D.	0.28	51	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.85	231	
		S.D.	0.03	12	
	4	No.	6	6	
		Mean	0.85	231	
		S.D.	0.05	28	
	20	No.	6	6	
		Mean	0.90	236	
		S.D.	0.14	30	
	100	No.	6	6	
		Mean	0.88	227	
		S.D.	0.07	10	

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-3

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Absolute and relative organ weight (After administration period)

Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	219	1.82	440	0.84	6.26	0.49	1.77	76
		S.D.	24	0.10	91	0.08	0.74	0.16	0.21	13
	4	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	224	1.92	437	0.82	6.61	0.54	1.70	69
		S.D.	7	0.06	60	0.04	0.34	0.05	0.11	5
	20	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	222	1.90	422	0.83	7.08*	0.65	1.74	67
		S.D.	10	0.07	25	0.03	0.42D	0.08	0.11	10
	100	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	216	1.85	415	0.78	9.04**	0.60	1.67	68
		S.D.	13	0.06	72	0.07	0.53D	0.12	0.12	9
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.84	200	0.38	2.86	0.22	0.82	35
		S.D.		0.07	22	0.03	0.14	0.04	0.11	7
	4	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.86	195	0.37	2.96	0.24	0.76	31
		S.D.		0.03	25	0.02	0.18	0.02	0.05	2
	20	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.86	191	0.37	3.20**	0.29*	0.79	30
		S.D.		0.05	18	0.02	0.16D	0.03D	0.05	5
	100	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.86	193	0.36	4.20**	0.28	0.78	32
		S.D.		0.06	36	0.03	0.14D	0.06	0.07	4

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)

D : Dunnett's test

Table 8-4 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After administration period)
 Female

		Ovary (R+L)		Uterus
Dose mg/kg		mg(mg/100g BW)		mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	96.7	428
		S.D.	21.4	122
	4	No.	6	6
		Mean	98.9	468
		S.D.	18.7	108
	20	No.	6	6
		Mean	92.4	405
		S.D.	9.0	59
	100	No.	6	6
		Mean	92.6	464
		S.D.	10.3	126
Relative	0	No.	6	6
		Mean	44.2	196
		S.D.	8.8	55
	4	No.	6	6
		Mean	43.3	209
		S.D.	7.8	45
	20	No.	6	6
		Mean	41.8	184
		S.D.	4.0	33
	100	No.	6	6
		Mean	43.0	217
		S.D.	3.7	64

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 8-5 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Male

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	436	2.05	440	1.35	11.90	0.74	2.89	60
		S.D.	29	0.07	106	0.11	1.35	0.11	0.30	7
	100	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	425	2.10	437	1.40	12.59	0.79	3.03	62
		S.D.	42	0.09	108	0.11	1.79	0.11	0.22	7
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.47	101	0.31	2.72	0.17	0.66	14
		S.D.		0.03	22	0.01	0.17	0.03	0.04	2
	100	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.50	103	0.33	2.96*	0.19	0.72	15
		S.D.		0.05	27	0.02	0.20T	0.02	0.07	1

* : p<0.05 (Significant difference from control group)

T : Student's t-test

Table 8-6 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Male

Dose mg/kg		Testis (R+L) g(g/100g BW)		Epididymis (R+L) mg(mg/100g BW)	
Absolute	0	No.	6	6	
		Mean	3.08	1168	
		S.D.	0.27	88	
	100	No.	6	6	
		Mean	3.39	1201	
		S.D.	0.21	79	
Relative	0	No.	6	6	
		Mean	0.71	269	
		S.D.	0.05	16	
	100	No.	6	6	
		Mean	0.81	285	
		S.D.	0.10	32	

No significant difference between treated group and control group.

Table 8-7 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Female

	Dose mg/kg		Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Spleen	Kidney (R+L)	Adrenal (R+L)
			g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	236	1.88	342	0.79	6.32	0.51	1.61	73
		S.D.	14	0.07	49	0.06	0.22	0.03	0.11	8
	100	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	248	1.90	326	0.82	7.08**	0.51	1.77*	65
		S.D.	11	0.06	64	0.04	0.22T	0.08	0.08T	9
Relative	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.80	145	0.33	2.68	0.22	0.68	31
		S.D.		0.02	20	0.02	0.08	0.02	0.06	3
	100	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.77	131	0.33	2.86**	0.21	0.72	26*
		S.D.		0.05	24	0.02	0.07T	0.03	0.06	3T

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Significant difference from control group)
 T : Student's t-test

Table 8-8 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Absolute and relative organ weight (After recovery period)
 Female

Dose mg/kg		Ovary (R+L) mg(mg/100g BW)		Uterus mg(mg/100g BW)
Absolute	0	No.	6	6
		Mean	83.6	517
		S.D.	10.2	119
	100	No.	6	6
		Mean	81.5	525
		S.D.	12.3	159
Relative	0	No.	6	6
		Mean	35.3	220
		S.D.	2.6	51
	100	No.	6	6
		Mean	32.8	211
		S.D.	4.3	60

No significant difference between treated group and control group.

Table 9-1

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	4 6	20 6	100 6	0 6	4 6	20 6	100 6
Lung(bronchus) Focus, dark red		0	0	1	0	0	0	0	0

M : Male, F : Female

Table 9-2

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Gross pathological findings (After recovery period)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M	M	F	F
		0	100	0	100
Findings		6	6	6	6
All tissues					
Not remarkable		6	6	6	6

M : Male, F : Female

Table 10-1

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	4 6	20 6	100 6	0 6	4 6	20 6	100 6
Cerebrum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Cerebellum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Sciatic nerve									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spinal cord, thoracic									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Eye									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Pituitary									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Thyroid									
Number examined		6	6	6	6	6	0	0	6
Not remarkable		3	3	4	2	4	0	0	4
Ectopic thymus		0	1	0	0	0	0	0	0
minimal		0	1	0	0	0	0	0	0
Remnant, ultimobranchial body		3	3	1	1	2	0	0	2
minimal		3	3	1	1	2	0	0	2
Hypertrophy, follicular cell		0	0	1	3	0	0	0	0
minimal		0	0	1	3	0	0	0	0
Parathyroid									
Number examined		5	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	6
No sample		1	0	0	0	0	0	0	0
Adrenal									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Thymus									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Spleen									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		1	4	0	0	6	2	0	0
Pigmentation		0	0	0	0	0	2	5	6
minimal		0	0	0	0	0	2	4	1
mild		0	0	0	0	0	0	1	5
Hematopoiesis, extramedullary		5	2	6	6	0	2	6	4
minimal		5	2	2	3	0	1	3	2
mild		0	0	3	3	0	1	3	2
moderate		0	0	1	0	0	0	0	0
Congestion		0	0	6	4	0	1	6	6
minimal		0	0	6	3	0	1	2	5
mild		0	0	0	1	0	0	4	1

M : Male, F : Female

Table 10-2 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
 Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Dose(mg/kg):	Number:	0	4	20	100	0	4	20	100
Findings		6	6	6	6	6	6	6	6
Lymph node, submandibular									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Lymph node, mesenteric									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Heart									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	6
Cell infiltration		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Trachea									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	6
Cell infiltration		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Lung (bronchus)									
Number examined		6	0	1	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	4	0	0	6
Mineralization, arterial wall		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Hemorrhage, focal		0	0	1	0	0	0	0	0
minimal		0	0	1	0	0	0	0	0
Metaplasia, osseous		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		5	0	0	6	6	0	0	6
Cell infiltration, submucosal		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Mineralization, mucosal		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Intestine, duodenum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, jejunum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, ileum (Peyer's patch)									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, cecum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	5	0	0	6
Cell infiltration, mucosal		0	0	0	0	1	0	0	0
minimal		0	0	0	0	1	0	0	0
Intestine, colon									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6
Intestine, rectum									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	6

M : Male, F : Female

Table 10-3

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 6	M 4 6	M 20 6	M 100 6	F 0 6	F 4 6	F 20 6	F 100 6
Findings									
Liver									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		3	3	0	0	2	1	0	0
Vacuolation, hepatocyte, periportal		0	1	0	0	1	1	1	2
minimal		0	1	0	0	0	0	1	2
mild		0	0	0	0	1	1	0	0
Hematopoiesis, extramedullary		0	0	3	1	1	0	0	0
minimal		0	0	3	1	1	0	0	0
Microgranuloma		3	3	4	4	4	5	6	6
minimal		3	3	4	4	3	4	3	4
mild		0	0	0	0	1	1	3	2
Hypertrophy, hepatocytic, central		0	0	0	6	0	0	1	6
minimal		0	0	0	2	0	0	1	0
mild		0	0	0	4	0	0	0	4
moderate		0	0	0	0	0	0	0	2
Kidney									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		1	1	0	0	1	2	0	1
Vacuolation, tubular cell		0	0	0	0	4	0	2	3
minimal		0	0	0	0	4	0	2	2
mild		0	0	0	0	0	0	0	1
Regeneration, tubular		3	3	3	5	3	3	2	2
minimal		3	3	3	5	3	3	2	2
Eosinophilic droplet, tubular cell		0	4	6	6	0	0	3	1
minimal		0	1	0	0	0	0	2	0
mild		0	3	5	1	0	0	1	1
moderate		0	0	1	5	0	0	0	0
Urinary cast, hyaline		1	0	0	0	0	0	0	0
minimal		1	0	0	0	0	0	0	0
Cell infiltration, interstitial		0	0	2	0	1	1	0	0
minimal		0	0	2	0	1	1	0	0
Mineralization, medullary/papillary		2	1	1	3	0	1	2	1
minimal		2	1	1	3	0	1	2	1
Urinary bladder									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		6	0	0	6	6	0	0	5
Cell infiltration, submucosal		0	0	0	0	0	0	0	1
minimal		0	0	0	0	0	0	0	1
Testis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	6	-	-	-	-
Ovary									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6
Epididymis									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		6	0	0	4	-	-	-	-
Cell infiltration, interstitial		0	0	0	2	-	-	-	-
minimal		0	0	0	2	-	-	-	-
Uterus									
Number examined		-	-	-	-	6	0	0	6
Not remarkable		-	-	-	-	6	0	0	6

M : Male, F : Female
 - : Not applicable

Table 10-4

A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks

Histopathological findings (After administration period)

Organs	Sex:	M	M	M	M	F	F	F	F
Findings	Dose(mg/kg): Number:	0 6	4 6	20 6	100 6	0 6	4 6	20 6	100 6
Prostate									
Number examined		6	0	0	6	-	-	-	-
Not remarkable		4	0	0	4	-	-	-	-
Cell infiltration, interstitial		2	0	0	2	-	-	-	-
minimal		2	0	0	2	-	-	-	-
Bone+Bone marrow, sternal									
Number examined		6	6	6	6	6	6	6	6
Not remarkable		4	3	2	2	5	4	1	1
Hypercellularity, bone marrow		2	3	4	4	1	2	5	5
minimal		2	3	4	4	1	2	5	5
Bone+Bone marrow, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	6	6	6
Not remarkable		6	0	0	5	6	5	1	1
Hypercellularity, bone marrow		0	0	0	1	0	1	5	5
minimal		0	0	0	1	0	1	5	5
Skeletal muscle, femoral									
Number examined		6	0	0	6	6	0	0	6
Not remarkable		4	0	0	6	6	0	0	4
Cell infiltration, interstitial		2	0	0	0	0	0	0	1
minimal		2	0	0	0	0	0	0	1
Necrosis/Degeneration, muscular		0	0	0	0	0	0	0	1
minimal		0	0	0	0	0	0	0	1

M : Male, F : Female

- : Not applicable

Table 10-5 A 28-day oral toxicity study of 1-chloroanthraquinone in rats with a recovery period of 2 weeks
Histopathological findings (After recovery period)

Organs	Sex: Dose(mg/kg): Number:	M 0 6	M 100 6	F 0 6	F 100 6
Findings					
Thyroid					
Number examined		6	6	0	0
Not remarkable		6	4	0	0
Remnant, ultimobranchial body		0	2	0	0
minimal		0	2	0	0
Spleen					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		2	0	1	0
Pigmentation		0	3	5	6
minimal		0	3	5	0
mild		0	0	0	5
moderate		0	0	0	1
Hematopoiesis, extramedullary		4	5	1	0
minimal		4	3	1	0
mild		0	2	0	0
Liver					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		2	3	0	1
Vacuolation, hepatocyte, periportal		1	0	2	1
minimal		1	0	2	1
Hematopoiesis, extramedullary		1	1	0	0
minimal		1	1	0	0
Microgranuloma		3	3	5	4
minimal		3	3	5	4
Kidney					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		0	2	3	3
Dilatation, tubular		0	0	1	0
minimal		0	0	1	0
Regeneration, tubular		2	3	1	3
minimal		2	2	1	3
mild		0	1	0	0
Eosinophilic droplet, tubular cell		1	2	0	0
minimal		1	2	0	0
Urinary cast, hyaline		1	0	0	0
minimal		1	0	0	0
Cell infiltration, interstitial		1	1	1	0
minimal		1	1	1	0
Mineralization, medullary/papillary		3	2	0	1
minimal		3	2	0	1
Bone+Bone marrow, sternal					
Number examined		6	6	6	6
Not remarkable		4	5	5	3
Hypercellularity, bone marrow		2	1	1	3
minimal		2	1	1	3
Bone+Bone marrow, femoral					
Number examined		0	0	6	6
Not remarkable		0	0	6	4
Hypercellularity, bone marrow		0	0	0	2
minimal		0	0	0	2

M : Male, F : Female