



1-アミノアントラキノン
(1-Aminoanthraquinone)
のラットにおける
反復投与毒性・生殖発生毒性
併合試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	4
試験材料および方法	5
1. 被験物質	5
2. 使用動物および飼育条件	5
3. 群分け法	6
4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法	6
5. 予備試験（投与量の設定）	6
6. 観察方法	9
7. 動物の個体識別法	14
8. 統計処理	14
結 果	15
I. 反復投与毒性（親動物所見）	15
II. 生殖発生毒性	24
1. 生殖学的検査所見	24
2. 出生児所見	25
考 察	27
文 献	31

Tables (Table P1 ~ Table P14; Table 1 ~ Table 28)

OECD既存化学物質安全性スクリーニング試験の一環として 1-aminoanthraquinone (以下1-AAQ) の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行った。すなわち、1-AAQ の0 (溶媒対照)、40、200 および 1000 mg/kg を Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットの雌雄 (各13匹/群) に交配前2週間および交配期間2週間経口投与し、さらに雄では交配期間終了後2週間、雌では妊娠期間を通して分娩後哺育3日まで投与を継続して親動物に対する反復投与毒性および生殖能力ならびに次世代児の発生・発育に及ぼす影響について検討した。

I. 反復投与毒性 (親動物所見)

1. 雄動物

いずれの投与群においても一般状態、体重および摂餌量に毒性変化とみなされる異常は認められなかった。

42回投与終了翌日に実施した剖検では、200 mg/kg 以上の投与群において、脾臓が暗色を呈する例が増加し、1000 mg/kg 投与群では、腫大する例もみられ、200 mg/kg 以上の投与群において、肝臓の比体重値ならびに脾臓の重量および比体重値が有意な高値を示した。病理組織学的検査では、これらの投与群の脾臓において、色素沈着、髄外造血および赤脾髄のうっ血が対照群と比較して有意に増強した。また、血液学的検査において、200 mg/kg 以上の投与群で赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値および平均赤血球血色素濃度の減少ならびに網状赤血球比率の増加が認められた。さらに、1000 mg/kg 投与群では、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の有意な増加が認められたことから、1-AAQ の200 mg/kg 以上の投与量は、軽度な溶血性貧血を惹起するものと考えられる。

腎臓の病理組織学的検査において、すべての1-AAQ 投与群において近位尿細管上皮細胞の細胞質内に好酸性滴状物の形成、およびeosinophilic body の形成が対照群と比較して有意に増強した。また、血液生化学的検査では、200 mg/kg 以上の投与群において、塩素濃度が用量依存的に有意に減少し、1000 mg/kg 投与群では、カリウム濃度も有意に減少したことから、1-AAQ の40 mg/kg 以上の投与量は、腎臓に器質的変化を生じさせ、さらに、200 mg/kg 以上の投与量は軽度な機能的変化を生じさせる量であると考えられる。その他の器官については、毒性変化とみなされる異常は認められなかった。

2. 雌動物

いずれの投与群においても、体重および摂餌量に毒性変化とみなされる異常は認められず、分娩前までの一般状態にも毒性変化とみなされる異常は認められなかった。しかし、1-AAQ 各投与群において、哺育開始後、腔口周囲の血様汚染、消瘦、努力呼吸あるいは粗大呼吸、自発運動量の減少などの全身状態の悪化を示し、哺育行動が廃絶するものが増加した。これらのうち、一部は、全出生児が死亡した後に回復したが、200 mg/kg 以上の投与群では、瀕死状態になるものが認められ、1000 mg/kg 投与群では2例が死亡した。

死亡動物、瀕死動物および哺育4日に実施した分娩例の剖検では、剖検までの経過にかかわらず、肝臓および脾臓の暗色調変化が1-AAQ 各投与群でみられ、出生児生存例では、1000 mg/kg 投与群において脾臓重量比体重値が有意に増加した。これらの動物の血液学的検査では、いずれの動物も分娩により貧血傾向を示していたが、1000 mg/kg 投与群では、貧血の程度がやや亢進し、網状赤血球比率および平均赤血球血色素量の有意な増加が認められた。さらに病理組織学的検査において、200 mg/kg 以上の投与群の脾臓に色素沈着およびうっ血が対照群と比較して有意に増強し、肝臓では、少なくとも1000 mg/kg 投与群においてクッパー細胞の色素沈着が有意に増強した。これらのことから、雌においても200 mg/kg 以上の投与量により、軽度の溶血性貧血が惹起されるものと考えられた。一方、哺育開始後、全身状態が不良となり、死亡、瀕死あるいは出生児が死亡した動物の剖検では、脾臓および胸腺の萎縮、副腎の腫大、腎臓の淡色化がみられ、脱水も一部にみられた。腎臓の病理組織学的検査では、これらの動物の尿細管上皮細胞に壊死および再生がみられ、とくに、瀕死屠殺および死亡動物ではその程度が著しかった。対照群と比較すると、皮質および髄質における再生尿細管、尿細管上皮細胞の壊死、皮質尿細管細胞の空胞変性の変化の頻度および程度が、1000 mg/kg 投与群では有意に増強した。また、少なくとも1000 mg/kg 投与群では、胸腺の萎縮および副腎における束状帯細胞の空胞の増加が対照群と比較して有意に増強し、さらに、瀕死屠殺および死亡動物では、脾臓における濾胞の萎縮、および骨髓の造血細胞の減少がみられた。また、1000 mg/kg 投与群の瀕死屠殺動物の血液学的検査では、網状赤血球が認められず、活性部分トロンボプラスチン時間の著しい延長がみられた。これらのことから、1-AAQ の 40 mg/kg 以上の投与量は、腎臓の尿細管上皮に壊死および再生を惹起し、さらに200 mg/kg 以上の投与量は瀕死あるいは死亡に至らせる毒性発現量であると考えられる。

II. 生殖発生毒性

1. 生殖学的検査所見

交尾率および同居開始から交尾成立までに要した日数に对照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。また、着床および受胎率にも对照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められず、妊娠雌の黄体数、着床数および着床率にも对照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかったことから、1-AAQ の 1000 mg/kg までの投与量は、交尾、排卵および受胎に影響を及ぼさないものと考えられた。また、1-AAQ 投与に起因する分娩状態の異常はいずれの投与群にも認められず、出産率および妊娠期間に对照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。しかし、分娩後、1-AAQ 各投与群で哺育行動の廃絶が認められ、1-AAQ の 40 mg/kg 以上の投与量は哺育状態に悪影響を及ぼすものと考えられた。

2. 新生児所見

分娩率、生児出生率〔(出生生児数/着床痕数)×100〕および出生率には、对照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。新生児生存率は、いずれの投与群も对照群との間に有意差は認められなかったが、低値の傾向を示した。しかし、体重は、いずれの測定時期においても对照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。また、形態についても哺育0日の外表観察および死亡児の剖検では、1-AAQ 投与に起因する異常は観察されず、1-AAQ の 1000 mg/kg までの投与量には催奇形作用はないものと考えられる。哺育4日における全新生児の剖検では、1000 mg/kg 投与群の1腹中全例の児の胃内に淡赤色調の乳汁の貯留が認められたほかに外表および内臓の異常は認められなかった。

III. 評価

以上の試験成績から、本試験条件下では、1-AAQ の反復投与毒性に関する無影響量は、雌雄ともに 40 mg/kg/day を下回る量と推定される。また、生殖発生毒性に関する無影響量は、雄では、1000 mg/kg/day、雌では、40 mg/kg/day を下回る量と推定される。

1-AAQは、anthraquinone 誘導体の1つであり、染料および医薬品の原材料として広く使用されている¹⁾。Anthraquinone 誘導体の毒性および発癌性については、総説²⁾に述べられているが、1-AAQ の毒性については、マウスの腹腔内投与において、LD₅₀値が、1500 mg/kg であること³⁾、ウサギの角膜に対して中程度の刺激性があること⁴⁾、比較的長期間ラットに経口的に投与すると、乳癌の発生頻度が上昇し⁵⁾、マウスの腹腔内に250 mg/kg 投与すると、DNA の障害が認められるが⁶⁾、微生物による変異原性試験では、変異原性が認められないこと⁷⁾等が報告されている。1-AAQ の位置異性体である 2-aminoanthraquinone (以下 2-AAQ) については、比較的長期間、経口的に曝露すると、ラットでは腎毒性⁸⁻¹⁰⁾ が認められ、乳癌の発生は認められないが⁸⁾、hepatocellular neoplasm の発生が増加し、マウスでは hepatocellular carcinoma の発生が増加することが報告されている¹⁰⁾。とくに雌ラットでは、毒性が強く認められ、雄と比較して低濃度の曝露により死亡し、腎毒性、ならびに骨髄の低形成が顕著に認められる^{9, 10)}。また、去勢した雄に 2-AAQを同様に曝露すると、雌と同様な毒性が認められる⁹⁾ことから、生殖機能と毒性発現との関連性が疑われ、構造のきわめて類似した本化合物についても、反復投与毒性および生殖発生毒性の両面からの評価が必要であると考えられる。

今回、OECDによる既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として 1-AAQ の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験（以下、併合試験）を行い、同化合物の雌雄ラットに及ぼす反復投与毒性ならびに生殖・発生毒性について検討したのでその結果を報告する。

本試験は、OECD 化学物質試験法ガイドライン〔反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験法（1990年3月22日）〕、化学物質 GLP基準（昭和59年3月31日環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号および昭和63年11月18日環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に従って実施したものである。

【試験材料および方法】

1. 被験物質

1-AAQ [CAS No. 82-45-1 ; 化学式、 $C_{14}H_9NO_2$; 分子量、223.2 ; 化学名、1-amino-9,10-anthracenedione ; 別名、DIAZO FAST REDAL] は、anthracene と構造の類似した anthraquinone 類であり、anthraquinone 環の1位にアミノ基を一つ付加した anthraquinone アミノ誘導体である。

本試験に使用した 1-AAQ [ロット番号 () 純度、98.7% (wt%)] は、不純物として anthraquinone を 1.3% (wt%) 含み、水に不溶でメタノールおよびアセトンに溶解する (Annex 1) 赤色の粉末である。本被験物質は、使用時まで室温、遮光条件下で保管し、コーンオイル [ロット番号、V3R4952 (カライテスク㈱)] に懸濁して、いずれの用量においても1回の投与量が 10 ml/kg になるように含量を調整した。調製液は、室温、遮光条件下で保管し、調製後8日以内に投与した。調製液中の被験物質は、室温、遮光条件下で少なくとも8日間安定であり (Annex 2)、また、十分に振盪攪拌した後は、ほぼ所定量の1-AAQ が均一に含有されていたことを確認した (Annexes 3、4)。

2. 使用動物および飼育条件

試験には、雌雄とも7週齢にて購入した日本チャールス・リバー㈱厚木飼育センター生産の Sprague-Dawley 系ラット (Crj:CD、SPF) を使用した (Annex 5)。購入した動物は、入荷後1週間、馴化と検疫を兼ねて予備飼育し、一般状態に異常が認められなかったものを試験に供した [体重範囲 (群分け時) : 雄 296.9~357.1g、雌 188.4~218.4g]。

各動物は、温度 24 ± 1 ℃、相対湿度 55 ± 5 %、換気回数約15回/時間、照明12時間 (午前7時~午後7時) に条件設定されたバリアーシステムの飼育室で、金属製金網床ケージ (22×27×19cm、日本ケージ㈱) に個別に収容して飼育し、固型飼料 (CA-1、日本クレア㈱) および水道水を自由に摂取させた。妊娠18日以後の母動物には、飼育ケージの床に金属製床板を敷き、床敷として木製チップ (ホワイトフレーク®、日本チャールス・リバー㈱) を適宜供給した。

供給した飼料、水および床敷には試験に支障を来す可能性の考えられる混入物はなかった。

3. 群分け法

雌雄とも初回投与日の体重をもとに体重別層化無作為抽出法に準じて群分けし、1群につき各13匹を用意した。

4. 投与量、群構成、投与期間および投与方法

1-AAQ の投与量は、次項に示す予備試験の結果を参考に 40、200 および 1000 mg/kg とした。投与液量は、各用量とも10ml/kg とし、対照群のラットには、1-AAQ の媒体としたコーンオイルを1-AAQ 投与群と同一条件にて投与した。以下に群構成を示す。

群番号	被験物質	投与量 (mg/kg)	投与液量 (ml/kg)	匹数（動物番号）	
				雄	雌
1	溶媒対照 ^a	0	10	13 (MX01001-013)	13 (FB01001-013)
2	1-AAQ	40	10	13 (MX02001-013)	13 (FB02001-013)
3	1-AAQ	200	10	13 (MX03001-013)	13 (FB03001-013)
4	1-AAQ	1000	10	13 (MX04001-013)	13 (FB04001-013)

a: コーンオイル

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前14日間と交配期間14日間および交配期間終了後14日間の連続42日間、また、雌に対しては交配前14日間と最長14日間の交配期間中（交尾成立まで）ならびに交尾成立雌では妊娠期間を通して分娩後の哺育3日まで毎日1回、ラット用胃管を用いて強制的に経口投与した。毎日の投与は、原則として一定時刻の間（通常13時～15時）に行い、各動物の投与液量は、雄ならびに交配前および交配期間中の雌については週1回の測定体重をもとに、また、交尾成立後の雌については妊娠0日の体重をもとにそれぞれ算定した。

5. 予備試験（投与量の設定）

1-AAQ の0（溶媒対照）、40、200 および 1000 mg/kg を8週齢の Sprague-Dawley 系（Crj:CD）ラットの雌雄各5匹に1日1回、14日間、反復して経口投与し、雌雄ラットに及ぼす反復投与毒性について検討した。位置異性体である2-AAQ のラットに対するLD₅₀値は、経口投与の場合、36 g/kg であり、混餌投与の最大耐量は2%⁹⁾と、高値であったことから、予備試験では、1-AAQ の最大耐量を知るために、最高用量には OECD ガイドラインの限度値である1000 mg/kg を選定した。投与期間中は、生死、一般状態を毎日観察し、体重を投与1（投与開始日）、7 および14日に、摂餌量を投与1～2、7～8 および

13～14日に測定したほか、2-AAQ の毒性情報から、1-AAQ の腎毒性が推定されたため、投与3および10日に雌雄の全例について尿検査（検査項目：pH、潜血、総蛋白、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン）を実施した。しかし、後述の様に1-AAQ 投与により尿の色調が変化し、これが試験紙による検査を干渉していたことが明らかとなったため、検査の成績は、評価の対象から除外した。また、本試験において実施を予定していた尿検査もとをやめることとした。投与を終了した雌雄全例は、投与終了日の翌日に剖検し、体重、胸腺、肝臓、腎臓、副腎、精巣および卵巣の重量を測定したほか、全例について血液学的検査（検査項目：赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、白血球数、血小板数）および血液生化学的検査（検査項目：アルブミン濃度、GOT活性、GPT活性、尿素窒素濃度、総コレステロール濃度、総蛋白濃度、アルカリフォスファターゼ活性、LDH活性、ブドウ糖濃度、トリグリセライド濃度）を行った。重量を測定した器官は、10%ホルマリンに固定して保存した。試験材料および方法は、併合試験法に準じた。

予備試験結果は、次のように要約される。

1) 死亡例

雌雄ともにいずれの投与群にも死亡は認められなかった。

2) 一般状態

軟便の排泄がすべての投与群の全例に、初回投与の翌朝（投与2日）から8日間観察された。尿については、1-AAQ 各投与群の雌雄全例に色調の変化が初回投与後から投与期間中継続して観察され、投与前と比較して投与後に色調が濃くなる傾向が認められた。さらに、200 mg/kg 以上の投与群では、初回投与の翌朝（投与2日）から便の色調がオレンジ色に変化し、これは、剖検日まで毎日観察された。

3) 体重 (Tables P1～P4; Appendixes P1-1～P4-4)

1000 mg/kg 投与群の雌雄の体重増加に軽度の抑制傾向が認められたが、いずれの時期も対照群との間に有意差は認められなかった。その他の1-AAQ 投与群についても対照群との間に有意差は認められなかった。

4) 摂餌量 (Tables P5、P6; Appendixes P5-1~P6-4)

1000 mg/kg 投与群の雌雄の摂餌量にやや低値の傾向が認められたが、いずれの時期も対照群との間に有意差は認められなかった。その他の1-AAQ 投与群についても対照群との間に有意差は認められなかった。

5) 血液学的検査所見 (Tables P7、P8; Appendixes P7-1~P8-2)

1-AAQ 各投与群では、雌雄ともに赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値に減少傾向が認められ、赤血球数は、200 mg/kg 投与群の雄 ($p<0.05$) および 1000 mg/kg 投与群の雌 ($p<0.01$) が、血色素量は、200 mg/kg 以上の投与群の雌雄 ($p<0.01$ 、 $p<0.05$) が、また、ヘマトクリット値は、1000 mg/kg 投与群の雌雄 ($p<0.01$ 、 $p<0.05$) が対照群と比較して有意な低値を示した。しかし、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量および平均赤血球血色素濃度については、いずれの1-AAQ 投与群も雌雄ともに対照群と同様な値であった。血小板数についても対照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。白血球数は、1000 mg/kg 投与群の雄が対照群と比較して有意 ($p<0.05$) な低値を示したが、雌動物については、対照群と1-AAQ 投与群との間で有意差は認められなかった。これらの成績から、200 mg/kg 以上の1-AAQ は、雌雄動物に軽度な正常血球性、正常色素性の貧血を惹起するものと考えられた。

6) 血液生化学的検査所見 (Tables P9-1、P10; Appendixes P9-1~P10-4)

雄では、1000 mg/kg 投与群において、尿素窒素濃度の有意 ($p<0.05$) な増加と、アルカリフォスファターゼ活性の有意 ($p<0.05$) な低下が認められた。また、40 mg/kg 投与群では、GOT 活性の有意 ($p<0.05$) な低下が認められた。雌では、200 mg/kg 以上の投与群においてアルブミン濃度の有意 ($p<0.05$) な増加が認められた。また、1000 mg/kg 投与群では、GPT およびGOT 活性のいずれもが有意 ($p<0.05$) に上昇した。

7) 器官重量 (Tables P11、P12; Appendixes P11-1 ~P12-4)

1000 mg/kg 投与群において、雌雄ともに肝臓重量の増加傾向が認められ、比体重値が、有意 ($p<0.05$) な高値を示した。また、同群の雄では精巣重量および比体重値のいずれもが、対照群と比較して有意 ($p<0.05$) な高値を示した。その他の器官については、実重量、比体重値ともに対照群と1-AAQ 各投与群間で有意差は認められなかった。

8) 剖検所見 (Table P13-1~P14-2; Appendixes P13-1~P14-2)

40 mg/kg 投与群の雌 1 例、200 mg/kg 投与群の雄 2 例および雌 1 例、1000 mg/kg 投与群の雄 3 例および雌 5 例全例の肝臓は、暗色調を呈していた。そのうち、1000 mg/kg 投与群の雄 2 例の肝臓は軽度に腫脹していた。また、1000 mg/kg 投与群では雄 2 例および雌 4 例の脾臓は暗色調であり、そのうち雌 1 例の濾胞は不明瞭であった。

腎臓では、40 mg/kg 投与群の雌、200 mg/kg 投与群の雌雄および1000 mg/kg 投与群の雄の各 1 例が暗色調を呈していたが、明らかな用量依存性はなかった。また、200 および1000 mg/kg 両投与群の雄各 1 例の腎乳頭が赤色調であった。

その他に、認められた所見については明らかな用量依存性はなく、被験物質投与群ではこれら以外に、投与検体によると思われる胃あるいは腸内容の赤色化、被毛や脂肪組織の赤色化が認められた。

9) 併合試験における投与量

以上の成績から、200 mg/kg 以上の1-AAQ は、14日間の反復経口投与によって雌雄ラットに軽度な正常血球性、正常色素性の貧血を惹起し、また、雄ラットの肝臓に色調変化をもたらした。さらに、1000 mg/kg 投与は、雌の肝臓、および雌雄の脾臓にも色調変化をもたらし、雌雄の肝臓重量および雄の精巣重量を増加させ、雄の腎機能ならびに雌の肝臓機能にも軽度な影響を及ぼすことから、これらの投与量は、雌雄動物に対する影響量であることが示唆された。このことから、併合試験では、予備試験と同様に、最高用量には、1000 mg/kg/day を選び、以下を公比 5 で除して中間用量を 200 mg/kg/day、最低用量を 40 mg/kg/day に設定した。

6. 観察方法

1) 親動物

A. 一般状態

雌雄とも、全例について試験期間中毎日観察した。

B. 体重

雌雄とも、全例について体重を試験期間中週 1 回〔雄：投与 1、8、15、22、29、36、42日、雌：投与 1、8、15日〕および解剖日に測定した。投与22日までに交尾が成立しなかった雌は、投与22日にも体重を測定した。また、交尾成立雌では、妊娠 0、7、14、20

日、分娩した雌では、分娩後 1 および 3 日（哺育 0 および 4 日）の体重を測定した。

C. 摂餌量

雌雄とも、全例について体重測定日と同日に餌重量を測定し、測定日から次の測定日までの間の摂餌量を算定した。2 週間の交配期間中の摂餌量は測定しなかった。交尾成立雌では、妊娠 0～7、7～14、14～20 日の、さらに、分娩した雌では、哺育 0～4 日の摂餌量を測定した。なお、哺育途中で出生児の全例が死亡した母動物の摂餌量は、評価の対象から除外した。

D. 交配

交配は、投与 15 日（投与開始日＝投与 1 日）の夕方から最長 2 週間、同一群内の雌雄を 1 対 1 で同居させて行った。交尾成立の確認は、毎朝、腔内の腔栓および腔垢中の精子の存在を調べるにより行い、交尾が確認された雌は、その日を妊娠 0 日と起算して雄から分離し、個別に飼育した。交配結果から、各群について交尾率〔（交尾動物数／同居動物数）×100〕、受胎率〔（妊娠動物数／交尾動物数）× 100〕、同居開始日から交尾確認日までの日数およびその間に回帰した発情数を求めた。

E. 分娩状態

各群とも交尾成立雌は、全例を自然分娩させた。分娩状態の直接観察は、可能なものについて行った。

F. 分娩日の算定

分娩の確認は、午前 9 時～11 時に限定し、この時間帯に分娩が完了していることを確認した動物について、その日を哺育 0 日、その前日を分娩日と規定した。午前 11 時を過ぎて分娩した動物については、翌日を哺育 0 日とした。

分娩を確認した全例について妊娠期間（妊娠 0 日～分娩日の日数）を算定し、出産率〔（生児出産雌数／妊娠雌数）× 100〕を各群について求めた。

G. 病理学的検査

a) 雄動物

イ. 剖検、器官重量および病理組織学的検査

最終投与日の投与終了後から絶食を開始し、翌日〔投与 43 日相当日〕にペントバルビタール深麻酔下で放血・致死させて剖検した。その際、全例について肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、精巣および精巣上体の重量を測定した。また、これらの器官のうち、精巣および精巣上体はブアン液に固定して保存し、その他の器官および脳、心臓、骨髄、副腎、膀胱なら

びに剖検において異常を認めた器官は、10%ホルマリンに固定して保存した。これらの器官のうち、腎臓および脾臓は各群の全例について、その他の器官は、対照群および 1000 mg/kg投与群の全例について組織切片を作製し、ヘマトキシリン－エオジン染色を行って病理組織学的検査を行った。対照群の1例（動物番号：MX01006）、40 mg/kg 投与群の2例（動物番号：MX02005, MX02012）、200 mg/kg 投与群の2例（動物番号：MX03001, MX03008）および1000 mg/kg 投与群の1例（動物番号：MX04006）の腎臓の組織切片については、PAS 染色も施して観察した。なお、脾臓重量の測定および骨髓の病理組織学的検査は、当初予定されていなかったが、予備試験において軽度の貧血が認められたため追加した。

ロ. 血液学的検査

全例について、剖検に先立ち、ペントバルビタール麻酔下で腹部後大静脈より EDTA を抗凝固剤として採血し、以下の項目について検査した。網状赤血球比率の測定は、当初予定されていなかったが、予備試験において軽度の貧血が認められたため追加した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
赤血球数 (RBC)	自動 (電気抵抗法)	Coulter Counter Model S-PLUS IV (コルター・エレクトロニクス 社)
白血球数 (WBC)	“ (“)	“
血色素量 (Hb)	“ (吸光度法)	“
平均赤血球容積 (MCV)	“ (電気抵抗法)	“
ヘマトクリット値 (Ht)	“ ($0.001 \times \text{RBC} \times \text{MCV}$)	“
平均赤血球血色素量	“ ($1000 \times \text{Hb} / \text{RBC}$)	“
平均赤血球血色素濃度	“ ($100 \times \text{Hb} / \text{Ht}$)	“
血小板数	“ (電気抵抗法)	“
白血球分類	視算 (静脈血塗抹標本, Wright-Giemsa 染色)	光学顕微鏡
網状赤血球比率	Brecher 法	“

ハ. 血液生化学的検査

全例について、血液学的検査のための採血に引き続き、ヘパリンを抗凝固剤として採血し、それぞれ血漿を分離して次の項目について検査を行った。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
総蛋白濃度	ビウレット法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
アルブミン濃度	B C G 法	“
総コレステロール濃度	C O D ・ D A O S 法	“
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼ G6PDH 法	“
尿素窒素濃度	ウレアーゼ G1. DH 法	“

項 目	測 定 法	使 用 機 器
クレアチニン濃度	Jaffe 法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
アルカリフォスファターゼ活性	p-ニトロフェリ/酸基質法	"
G O T 活性	S S C C 法	"
G P T 活性	S S C C 法	"
総ビリルビン濃度	エルビシロシキット S シリーズ	"
カルシウム濃度	O C P C 法	"
ナトリウム濃度	イオン電極法	Na-K-Cl アナライザー IT-3型 (常光)
カリウム濃度	イオン電極法	"
塩素濃度	電量滴定法	"
無機リン濃度	モリブデン酸直接法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS- FARA (ロシュ)
γ-G T P 活性	γ-グルタミル-p-ニトロニリド 基質法	"
A / G 比	計算	——

b) 雌動物

イ. 剖検、器官重量および病理組織学的検査

交尾不成立雌は交配期間終了日に、交尾したが分娩しない雌は妊娠25日相当日に、それぞれエーテル深麻酔下で放血・致死させ、剖検した。分娩した雌は哺育4日に、また、瀕死状態と判断された動物および死亡動物は、その都度剖検した。妊・不妊のいずれの例においても卵巣および子宮を摘出し、子宮については Salewski 法¹⁾ を応用して着床痕を染色して着床数を確認した。卵巣はブアン液に固定して保存し、実体顕微鏡下で黄体数を数えた。不妊例および交尾不成立例の卵巣については、病理組織学的検査を行った。また、肝臓、腎臓、脾臓および胸腺の重量を、死亡例を除く全例について測定した。これらの器官および脳、心臓、骨髄、副腎、子宮、膀胱および剖検において異常を認めた器官は10%ホルマリンに固定して保存した。これらの器官のうち、腎臓および脾臓は各群の全例について、その他の器官は、1000 mg/kg 投与群および対照群の全例について組織切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジン染色を施して病理組織学的検査を行った。

対照群の1例(動物番号: FB01012)および1000 mg/kg 投与群の2例(動物番号: FB04002、FB04008)の腎臓の組織切片については、PAS 染色も施した。なお、脾臓重量の測定および骨髄の病理組織学的検査は、当初予定されていなかったが、予備試験において軽度の貧血が認められたため追加した。

ロ. 血液学的検査

後述のように、分娩終了後に貧血様の症状を示し、また、分娩後の時間が経過している

にもかかわらず、膣から血様分泌物を排出する動物も認められ、全身状態の悪化した動物が多発したため、貧血の有無と血液凝固不全の有無とを確認するため、哺育4日の剖検あるいは瀕死屠殺に先立ち、全例について以下の項目について検査した。血液は、ペントバルビタール麻酔下で腹部後大静脈より、まず、クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として血液凝固時間測定用に採取し、次に、EDTAを抗凝固剤として採取した。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
赤血球数 (RBC)	自動 (電気抵抗法)	Coulter Counter Model S-PLUS IV (コルター・エレクトロニクス 社)
白血球数 (WBC)	〃 (〃)	〃
血色素量 (Hb)	〃 (吸光度法)	〃
平均赤血球容積 (MCV)	〃 (電気抵抗法)	〃
ヘマトクリット値 (Ht)	〃 ($0.001 \times \text{RBC} \times \text{MCV}$)	〃
平均赤血球血色素量	〃 ($1000 \times \text{Hb} / \text{RBC}$)	〃
平均赤血球血色素濃度	〃 ($100 \times \text{Hb} / \text{Ht}$)	〃
血小板数	〃 (電気抵抗法)	〃
白血球分類	視算 (静脈血塗抹標本, Wright-Giemsa 染色)	光学顕微鏡
網状赤血球比率	Brecher 法	光学顕微鏡
プロトロンビン時間 (PT)	PT測定用試薬 シンプラスチンオート	血液凝固時間自動測定装置 クロテック
活性部分 トロンボプラスチン 時間 (APTT)	APTT測定用試薬 ブラテリン A オート	〃

2) 出生児

A. 産児数の算定

哺育0日に産児数 (生存児 + 死亡児) を調べ、分娩率 [$(\text{産児数} / \text{着床痕数}) \times 100$] および生児出産率 [$(\text{出生生児数} / \text{着床痕数}) \times 100$] を求めた。また、産児の外表異常の有無および性別を調べ、性比 [$(\text{雄の生児数} / \text{出生生児数}) \times 100$] を算出した。

B. 死亡児数の算定

死亡児数を毎日調べ、出生率 [$(\text{生児数} / \text{産児数}) \times 100$] および新生児生存率 [$(\text{哺育4日の生児数} / \text{哺育0日の生児数}) \times 100$] を求めた。死亡児は剖検し、胸腔および腹腔内の器官を除去した後、エタノールに固定して保存した。

C. 体重測定

哺育0日および4日に一腹単位で雌雄別に体重 (litter 重量) を測定し、[litter 重量 / 測定児数] を各腹について求めた。

D. 剖検

哺育4日に全例をエーテル深麻酔下で致死させ、剖検した。胸腔および腹腔内の器官は、一括して摘出し、一腹ごとに10%ホルマリンに固定して保存した。カーカスは、一腹ごとにエタノールに固定して保存した。

7. 動物の個体識別法

試験に使用した動物には、F₁出生児を除き、すべて尾にフェルトペンで群および個体番号を記して個体識別した。各飼育ケージには、個体番号等の必要事項を記入した、群ごとに色彩の異なるカードを掛けて個体識別の補助とした。なお、F₁出生児は、個体を識別しなかった。

8. 統計処理

交尾率、受胎率および産児の形態異常発現頻度については Yates の補正を含む χ^2 検定¹²⁾ を行った。その他のすべてのデータは、個体ごとに得られた値あるいは一腹ごとの平均値を1標本として、各群の分散が0より大きい場合は、先ず、Bartlett法¹³⁾により各群の分散の一意性について検定した。その結果、分散が一樣とされた場合には、一元配置型の分散分析¹³⁾ を行い。群間に有意性が認められた場合には Dunnett法¹⁴⁾ あるいは Scheffé 法¹⁵⁾ により対照群と各被験物質投与群との間で平均値の差の検定を行った。分散が一樣でなかった場合、および分散が0となる群が存在するときは、Kruskal-Wallis 順位検定¹⁶⁾ を行い、群間に有意性が認められた場合に、対照群と1-AAQ 各投与群との差について Dunnett型¹⁴⁾ あるいは Scheffé型¹⁵⁾ の検定を行った。有意水準は、5%および1%とした。病理組織学的検査結果については、Mann-Whitney のU検定¹⁷⁾ を用いて検定した。

I. 反復投与毒性（親動物所見）

1) 一般状態（Tables 1、2; Appendixes 1-1～2-4）

A. 途中死亡例

雄動物に死亡例はなかった。

雌では、妊娠末期までいずれの投与群にも死亡動物は認められなかった。しかし、対照群の1例（動物番号：FB01012）は、妊娠22日に分娩開始兆候（破水および腔口周囲の血様の汚染）を示した直後に、努力呼吸、体温低下、自発運動量減少ならびに四肢および耳介の蒼白を示し、約2時間後に死亡した。また、1000 mg/kg 投与群の2例（動物番号：FB04003、FB04008）は、分娩終了確認時までは、尿および糞便の色調変化など他の動物と同様な変化のみを示していたが、それぞれ哺育4日および3日に死亡した。これらのうち1例（FB04003）は、哺育0日に哺育行動の一つである児集めを行わず、哺育1日においても腔口周囲に血様の汚染が認められ、また、乳頭の突出が哺育動物としては充分ではなかった。さらに哺育2日には、これらの症状のほかに眼瞼周囲被毛の汚染もみられ、糞便の排泄が認められなくなり、哺育4日に死亡した。他の1例（FB04008）も、哺育1日から腔口周囲の血様の汚染が認められ、さらに、哺育2日には消瘦し、哺育3日に死亡した。

B. 瀕死屠殺例

雄動物に瀕死屠殺例はなかった。

雌では、200 mg/kg 投与群の1例（動物番号：FB03008）および 1000 mg/kg 投与群の2例（動物番号：FB04002、FB04004）が、哺育開始後、以下に示すように全身状態が悪化し、瀕死状態にあると判断されたため、屠殺して剖検した。

動物番号FB03008：哺育0日から児集めを行わず、乳頭の突出も不充分であった。

さらに、哺育1日には下顎部被毛の汚染も認められた。哺育2日には、被毛汚染のほかに 消瘦、蒼白および自発運動量の減少がみられ、糞便および尿の排泄がみられなくなり、瀕死屠殺した。

動物番号FB04002：哺育1日から児集めを行わず、哺育2日には、腔口周囲の血様汚染、自発運動量の減少、閉眼および蒼白がみられ、さらに哺育3日には、粗大呼吸および眼瞼周囲の被毛汚染もみられ、糞便の

排泄は認められなくなり、瀕死屠殺した。

動物番号FB04004：哺育1日から児集めを行わず、腔口周囲の血様汚染および自発運動量の減少がみられた。さらに、哺育3日には、削瘦、粗大呼吸、閉眼、蒼白および眼瞼周囲の被毛汚染もみられ、糞便の排泄が認められなくなり、瀕死屠殺した。

C. 生存例

対照群を含むすべての投与群に軟便および投与後一過性の流涎が観察された。軟便は、投与期間の初期に雌雄動物の全例に認められた。流涎は、雄では、対照群の約半数およびすべての投与群のほぼ全例に、また、雌では、対照群を含むすべての投与群の約半数に認められた。流涎の認められた期間は、全投与期間にわたったが、いずれの投与群も雄は雌と比較して高頻度で観察された。

1-AAQ 投与群のみに観察された変化としては、オレンジ色の尿の排泄が 40 mg/kg 以上の投与群の雌雄動物の全例に、また、オレンジ色の便の排泄が 200 mg/kg 以上の投与群の雌雄動物の全例に観察された。これらの変化は、雌雄ともに投与開始後から認められ、瀕死状態で便、尿の排泄のみられなかった 1000 mg/kg 投与群の一部の雌動物を除き、いずれも剖検日に至るまで継続して観察された。

その他の変化としては、貧毛あるいは脱毛および脱毛部の痂皮形成が、対照群を含む各群に1～2例ずつ観察された。また、対照群の雌の1例（動物番号：FB01005）は、哺育2日から児集めを行わず、乳頭の突出が哺育動物としては充分ではなかった。また、腔口周囲の血様汚染、削瘦、粗大呼吸、閉眼および蒼白もみられた。さらに、哺育3日から、自発運動量の減少がみられ、糞便の排泄は認められなくなった。

3) 体重

A. 雄 (Tables 3, 4; Appendixes 3-1～4-4)

1000 mg/kg 投与群の体重増加に抑制傾向が認められたが、体重、区間増加量ともに対照群との間に有意差は認められなかった。その他の投与群の体重増加は対照群と同様であった。

B. 雌

(1) 交配前 (Tables 5, 6; Appendixes 5-1~6-4)

体重、区間増加量ともにいずれの1-AAQ 投与群においても有意な変化は認められなかった。投与21日 (Treatment 4 w) の体重は、測定対象が1例であったため、統計解析は行わなかった。

(2) 妊娠期間中 (Tables 7, 8; Appendixes 7-1~8-4)

体重、区間増加量ともにいずれの1-AAQ 投与群においても有意な変化は認められなかった。

(3) 分娩後 (Tables 9, 10; Appendixes 9-1~10-4)

1000 mg/kg 投与群は、妊娠20日の体重が対照群と比較してやや高値の傾向を示したにもかかわらず、分娩日の体重が低値の傾向を示したが、対照群との間に有意差はなく、その他の投与群についても、体重、区間増加量ともに対照群との間で有意な変化は認められなかった。

4) 摂餌量

A. 雄 (Table 11; Appendixes 11-1~11-4)

いずれの時期の摂餌量も対照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。

B. 雌

(1) 交配前 (Table 12; Appendixes 12-1~12-4)

いずれの時期の摂餌量も対照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。

(2) 妊娠期間中 (Table 13; Appendixes 13-1~13-4)

いずれの1-AAQ 投与群においても対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

(3) 分娩後 (Table 14; Appendixes 14-1~14-4)

哺育4日まで出生児が生存した例については、いずれの1-AAQ 投与群においても、対照群と比較して有意な変化は認められなかった。

5) 解剖時検査所見

A. 雄〔解剖日：投与期間（42回投与）終了翌日〕

(1) 血液学的検査所見 (Table 15; Appendixes 15-1~15-4)

200 mg/kg 以上の投与群において、軽度ではあるが、用量依存的かつ有意 ($p<0.01$) な赤血球数の減少ならびに網状赤血球比率の増加が認められ、さらに、1000 mg/kg 投与群では、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の有意 ($p<0.05$, $p<0.01$) な増加がみられた。血色素量、ヘマトクリット値および平均赤血球血色素濃度については、200 mg/kg 以上の投与群間ではほぼ同程度であったが、対照群と比較すると、血色素量およびヘマトクリット値は、両投与群において有意 ($p<0.05$, $p<0.01$) な減少が、また、平均赤血球血色素濃度については、200 mg/kg 投与群において有意 ($p<0.05$) な減少が認められた。

血小板数については、1000 mg/kg 投与群において有意 ($p<0.05$) な増加がみられた。

白血球数については、いずれの1-AAQ 投与群においても有意性のある変化は認められなかった。しかし、血液塗抹標本を観察した結果、200 mg/kg 以上の投与群において、用量依存的かつ有意 ($p<0.01$) な分葉核好中球比率の増加およびリンパ球比率の低下が認められた。

(2) 血液生化学的検査所見 (Table 16; Appendixes 16-1~16-4)

総蛋白濃度、アルブミン濃度、総コレステロール濃度、ブドウ糖濃度、尿素窒素濃度、クレアチニン濃度、総ビリルビン濃度およびA/G比については、いずれの1-AAQ 投与群においても有意性のある変化は認められなかった。

血漿無機質については、塩素濃度が 200 mg/kg 以上の投与群において、また、カリウム濃度が 1000 mg/kg 投与群において有意 ($p<0.05$, $p<0.01$) に減少したが、ナトリウムおよびカルシウム濃度については、有意性のある変化は認められなかった。無機リン濃度については、40 mg/kg 投与群において有意 ($p<0.05$) な減少がみられたが、その他の投与群は、対照群と同様であった。

酵素活性については、アルカリフォスファターゼ活性が用量に依存して低下する傾向が認められたが、対照群との間に有意差は認められなかった。GPTおよびGOT活性については、1000 mg/kg 投与群の1例が異常な高値を示したほかには、異常値を示すものはなく、対照群と1-AAQ 各投与群との間に有意差は認められなかった。

(3) 剖検所見 (Tables 17-1、17-2; Appendixes 17-1-1 ~17-4-2)

200 mg/kg 以上の投与群では、脾臓が暗色を呈する例が多く、1000 mg/kg 投与群では脾臓の腫大する例があった。40 mg/kg 投与群の脾臓に変化はなく、その他の器官に毒性変化とみなされる所見はなかった。

(4) 器官重量 (Table 18; Appendixes 18-1~18-4)

200 mg/kg 以上の投与群において肝臓の比体重値ならびに脾臓の重量および比体重値が有意 ($p < 0.01$) な高値を示した。このほかにはいずれの1-AAQ 投与群においても有意差のある器官重量の変化は認められなかった。

(5) 病理組織学的検査所見 (Table 19; Appendixes 19-1~19-4)

各器官における観察所見を以下に示す。

(腎臓)

40 mg/kg 投与群の11例、200 および 1000 mg/kg 投与群の13例全例の近位尿細管上皮細胞の細胞質内に、好酸性の滴状物がみられた (Photos 1、2)。この滴状物は、eosinophilic body に類似するが、形態はやや異なり、周囲に halo は認められず、細胞質内に数個が含まれ、より好酸性が強く、ほぼ円形を呈しており、PAS 染色陰性であった。同様の滴状物は対照群にも認められたが、1例のみでごく少数であり、対照群と比較すると、1-AAQ 各投与群では有意 ($p < 0.01$) に増強していた。さらに、対照群を含む各群で、近位尿細管上皮細胞に eosinophilic body の形成が認められたが、その頻度は上記の滴状物と同様に1-AAQ 各投与群では有意 ($p < 0.01$) に増強した。 (Photos 1、2)。

その他、萎縮性の再生尿細管が対照群を含む各投与群に認められたが、各投与群間に頻度および程度の差はなく、少数例に髄質の尿細管の拡張、尿細管内への出血、尿円柱などが認められた。

(脾臓)

200 および 1000 mg/kg 投与群では、色素沈着、髄外造血およびうっ血が対照群に比較して有意 ($p < 0.01$) に増強した (Photos 3、4)。

(膀胱)

対照群および 1000 mg/kg 投与群の各2例の粘膜固有層に、ごく軽度なリンパ球浸潤がみられたほかに変化はなかった。

(肝臓)

1000 mg/kg 投与群の5例のクッパー細胞に、ごく軽度な色素沈着が認められた。その他、小葉周辺部の肝細胞の脂肪滴形成、髄外造血および小肉芽腫がみられたが、対照群および1000 mg/kg 投与群の間に頻度および程度の差はなかった。

(心臓)

対照群および1000 mg/kg 投与群に心筋の壊死巣がみられたが、両群間に頻度および程度の明らかな差はなかった。また、対照群の1例の壊死巣は、出血を伴っていた。

(精巣)

対照群および1000 mg/kg 投与群の各2例に、ごく少数の萎縮精細管がみられたほかに、変化はなかった。

その他、対照群および1000 mg/kg 投与群の副腎、脳、胸腺、骨髓および精巣上体に変化はみられなかった。

B. 雌〔解剖日：死亡日、瀕死屠殺日、哺育4日（出生児生存）、哺育4日（全出生児死亡）、妊娠25日相当日（不妊例）、交配期間終了日（交尾不成立例）〕

(1) 血液学的検査所見

a) 哺育4日出生児生存例 (Table 20-1; Appendixes 20-1-1~20-1-4)

分娩に伴う出血のため、対照群を含むすべての投与群の動物が貧血傾向を示したが、対照群と比較すると、1000 mg/kg 投与群では、赤血球数およびヘマトクリット値がやや低値を示し、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量および網状赤血球数がやや高値を示したが、有意差 ($p < 0.05$) は、平均赤血球血色素量および網状赤血球比率のみに認められた。平均赤血球血色素濃度については、いずれの1-AAQ 投与群においても有意性のある変化は認められなかった。

血液凝固に関連した検査項目では、1000 mg/kg 投与群において血小板数の増加傾向が認められ、また、用量に依存した活性部分トロンボプラスチン時間の延長傾向が認められたが、いずれも対照群との間に有意差は認められなかった。プロトロンビン時間については、いずれの1-AAQ 投与群においても有意性のある変化は認められなかった。

白血球数は、用量に依存して増加し、1000 mg/kg 投与群では有意差 ($p < 0.01$) が認められたが、血液塗抹標本の観察では、いずれの1-AAQ 投与群においても有意性のある変化は認められなかった。

個々の動物の検査成績についてみると、哺育状態の不良が認められた 40 および 200 mg/kg 投与群の各 1 例（動物番号：FB02003、FB03009）は、同群の他の動物と比較して、FB02003 は赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、血小板数および白血球数が高値を示し、FB03009 は白血球数が高値の傾向を示していた。

b) 全出生児死亡例 (Table 20-2)

いずれの動物の測定値も、同群の出生児生存例の結果あるいは予備試験において測定した非妊娠動物の測定値とほぼ同程度であったが、対照群の 1 例（動物番号：FB01005）の血色素量、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度および白血球数は高値の傾向を示した。

c) 瀕死屠殺例 (Table 20-3)

哺育 2 日に瀕死屠殺を行った、200 mg/kg 投与群の 1 例（動物番号：FB03008）は、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値および血小板数の増加傾向が認められ、血液凝固時間の延長傾向が認められた。また、哺育 3 日に瀕死屠殺を行った、1000 mg/kg 投与群の 2 例（動物番号：FB04002、FB04004）は、赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値が哺育 4 日剖検例と同程度の値であったが、網状赤血球が観察されなかった。また、血液凝固時間の延長、とくに活性部分トロンボプラスチン時間の著しい延長が認められた。

(2) 剖検所見 (Tables 21-1~21-7; Appendixes 21-1-1~21-1-4)

雌の全例の所見を Table 21-1 に、各経過別に分けた所見を Tables 21-2~21-7 に示した。

1-AAQ 投与群では、胸腺の萎縮、脾臓の萎縮および暗色化、副腎の腫大、腎臓の淡色化あるいは暗色化、肝臓の暗色化などがみられた。また、1000 mg/kg 投与群では、眼および口周囲の被毛汚染、ならびに膈内に暗色調粘液の貯留およびそれによると考えられる下腹部の被毛汚染がみられた。これらの所見のうち、肝臓および脾臓の暗色化は、動物の経過にかかわらずみられたが、その他の所見は、出生児の多くが死亡した例に多く観察された。また、脱水が 1000 mg/kg 投与群の全出生児死亡例に観察された。その他の所見は、例数が少なく、1-AAQ 投与との関連は明らかではなかった。

(3) 器官重量

a) 哺育4日出生児生存例 (Table 22-1; Appendixes 22-1-1~22-1-4)

1-AAQ の用量に依存した脾臓重量の増加が認められ、1000 mg/kg 投与群の比体重値には有意差 ($p < 0.01$) が認められた。その他の器官の重量については、いずれの投与群も対照群との間に有意差は認められなかった。

個々の動物の器官重量をみると、哺育状態の不良がみられた 200 および 400 mg/kg 両投与群の各 1 例 (動物番号: FB02003, FB03009) には、ともに腎臓比体重値の増加傾向ならびに、脾臓および胸腺重量の低下傾向がみられた。

b) 交尾不成立例、不妊例、全出生児死亡例、瀕死屠殺例 (Table 22-2)

交尾不成立、あるいは不妊であった非妊娠動物では、胸腺重量が哺育動物と比較して高値であった他には著変は認められなかった。また、この胸腺重量は、予備試験の雌動物の胸腺重量と同様な値であった。

全出生児死亡例では、1000 mg/kg 投与群に肝臓比体重値が高値であるものが、散見された。また、対照群を含む各群に腎臓比体重値が高値を示すもの、また、胸腺比体重値が低値を示すものが散見された。このほか、脾臓比体重値が著しく低値であったものが、対照群と 40 mg/kg 投与群に 1 例ずつ認められた。

瀕死屠殺例 3 例は、いずれも脾臓重量が著しい低値を示し、1000 mg/kg 投与群は 2 例ともに腎臓比体重値が高値を示した。

(4) 病理組織学的所見 (Tables 23-1~23-7; Appendix 23-1)

雌全例の所見を Table 23-1 に、各経過別に分けた所見を Tables 23-2~23-7 に示した。

各器官における観察所見を以下に示す。

(腎臓)

対照群の 1 例 (動物番号: FB01005)、40 mg/kg 投与群の 4 例 (動物番号: FB02003、FB02008、FB02009、FB02011)、200 mg/kg 投与群の 2 例 (動物番号: FB03008、FB03009) および 1000 mg/kg 投与群の 8 例 (動物番号: FB04002、FB04003、FB04004、FB04008、FB04010、FB04011、FB04012、FB04013) では皮質に多数の再生した尿細管上皮がみられ、しばしば、それらの腔内には壊死した尿細管上皮細胞の崩壊物を含んでいた (Photo 5)。また、200 および 1000 mg/kg 投与群では、崩壊物を含む尿細管腔内に石灰が沈着していた (Photo 6)。再生した尿細管は、40 および 1000 mg/kg 投与群の髓質にもみられた。

さらに、1-AAQ 投与群では、皮質において空胞変性に陥った近位尿細管上皮細胞の散在する例が認められた(Photo 7)。なお、対照群と比較すると、1000 mg/kg 投与群で皮質および髓質の再生尿細管上皮、尿細管上皮細胞の壊死、皮質尿細管上皮細胞の空胞変性の変化の頻度および程度がいずれも有意 ($p<0.05$ 、 $p<0.01$) に増強していた。近位尿細管上皮細胞における脂肪滴の沈着が、対照群を含む各群にみられたが、対照群と比較すると、1000 mg/kg 投与群では頻度および程度が有意 ($p<0.05$) に増強した。対照群の1例にみられた皮質尿細管の壊死および再生を示す例では、髓質および腎盂粘膜に好中球の浸潤が認められた。その他、各群の少数例に表に示す所見がみられた。

尿細管の壊死および再生像が明らかな例は、いずれも瀕死時屠殺例や死亡例、あるいは哺育期間中に全児または半数以上の出生児が死亡した例であった。

(脾臓)

対照群の1例(動物番号: FB01005)、40 および 200 mg/kg 投与群の2例(動物番号: FB02003、FB02011、FB03008、FB03009)、1000 mg/kg 投与群の4例(動物番号: FB04002、FB04004、FB04008、FB04013)では、濾胞の萎縮がみられ、いずれも腎臓に尿細管の壊死および再生の認められる例であった。対照群を含む各群の全例に色素沈着がみられたが、200 および 1000 mg/kg 投与群においてその程度が有意 ($p<0.05$ 、 $p<0.01$) に増強した。また、対照群を含む各群にうっ血がみられたが、200 および 1000 mg/kg 投与群では、対照群より頻度が有意 ($p<0.01$) に増加した。髓外造血が、対照群を含む各群にみられたが、濾胞の萎縮の明らかな例では髓外造血は乏しかった。

(膀胱)

対照群の1例(動物番号: FB01002)の粘膜固有層に、ごく軽度なリンパ球浸潤がみられたほかに変化はなかった。

(肝臓)

1000 mg/kg 投与群では、クッパー細胞の色素沈着が有意 ($p<0.01$) に増強した。死亡した2例(動物番号: FB04003、FB04008)の小葉中心部に肝細胞の壊死がみられ、このうち1例(動物番号: FB04003)には巣状の壊死がみられた。その他の所見には、対照群との間に頻度および程度の差はなかった。

(副腎)

1000 mg/kg 投与群では、束状帯細胞の空胞が有意 ($p<0.01$) に増加した。その他の所見は例数が少なく、対照群との間に差はみられなかった。

(胸腺)

対照群でも萎縮する例がみられ、死亡した1例(動物番号:FB01012)には、著しく多数のリンパ球が壊死していたが、1000 mg/kg 投与群では、より多くの例の胸腺が萎縮していた($p<0.05$)。

(骨髄)

造血細胞の全体的な減少が、対照群の2例(動物番号:FB01005、FB01012)および1000 mg/kg投与群の5例(動物番号:FB04002、FB04003、FB04004、FB04008、FB04011)にみられた。

(脳)

変化はみられなかった。

(心臓)

変化はみられなかった。

(卵巣)

不妊であったために標本を作製した例のうち、40 および 200 mg/kg 投与群の各1例(動物番号:FB02005、FB03006)に黄体嚢胞がみられたが、対照群の交尾不成立であった1例(動物番号:FB01007)および 200 mg/kg 投与群の不妊であった1例(動物番号:FB03003)に変化は認められなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 生殖学的検査所見

1) 交配成績 (Table 24; Appendixes 24-1~24-4)

交尾率および同居開始から交尾成立までに要した日数に対照群と各被験物質投与群との間で有意差は認められなかった。また、着床の有無を基準に妊娠の成否を判定する限りにおいては、妊娠が成立した雌の数に群間で著しい差はみられず、したがって受胎率にも対照群と各被験物質投与群との間で有意差は認められなかった。

2) 分娩および哺育状態 (Table 25; Appendixes 25-1~25-4)

対照群の妊娠動物12例中1例(一般状態の項 (Table 2) 参照)が、分娩中に死亡したほかには、いずれの投与群においても分娩状態に異常は認められなかった。

哺育状態については、対照群を含む各投与群で、哺育0日から、児集めを行わない動物

が認められ、その数は1-AAQ の用量に依存して増加した (Table 2、Appendixes2-1～2-4)。
これらの動物のうち、対照群、40 および 200 mg/kg 投与群の各 1 例 (動物番号 : FB01005、FB02009、FB03010) および 1000 mg/kg 投与群の 4 例 (FB04002、FB04004、FB04010、FB04013) については、分娩状態の観察が可能であったが、いずれも分娩終了後の哺育行動に異常は観察されなかった。また、哺育行動の廃絶により全出生児が死亡した例あるいは半数以上の出生児が死亡した例が、対照群では11例中 1 例であったのに対し、40 mg/kg 投与群では12例中 4 例、200 mg/kg 投与群では11例中 3 例、1000 mg/kg 投与群では13例中 8 例に達し、1000 mg/kg 投与群では対照群との間に有意差($p<0.05$) が認められた。

3) 黄体数、着床数および着床率 (Table 25; Appendixes 25-1～25-4)

妊娠動物の黄体数、着床数および着床率に対照群と各被験物質投与群との間で有意差は認められなかった。

4) 出産率および妊娠期間 (Table 25; Appendixes 25-1～25-4)

出産率および妊娠期間に対照群と1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2. 出生児所見

1) 一般状態および生存性 (Table 25; Appendixes 25-1～25-4)

哺育 0 日の生存性については、1000 mg/kg 投与群では、一腹平均の生児数が対照群と比較して有意 ($p<0.05$) に増加したが、分娩率、生児出産率および出生率には対照群との間で有意差は認められなかった。

哺育開始後、対照群を含む各群の出生児に、腹部に乳汁の貯留 (ミルクスポット) が認められず、体温の低下しているものがみられた。対照群では、哺育 2 日に 1 腹 (母動物番号 : FB01005) の出生児に認められ、翌日全例が死亡した。40 mg/kg 投与群では、3 腹 (母動物番号 : FB02003、FB02009、FB02011) の出生児がそれぞれ哺育 2、1 および 1 日に同様の变化を示し、2 腹 (母動物番号 : FB02009、FB02011) は、翌日に全例が死亡した。200 mg/kg 投与群でも 3 腹 (母動物番号 : FB03008、FB03009、FB03010) の出生児がそれぞれ哺育 1、3 および 1 日に同様の变化を示し、2 腹 (母動物番号 : FB03008、FB03010) は、翌日に全例が死亡した。さらに、1000 mg/kg 投与群では、6 腹 (母動物番号 : FB04002、FB04003、FB04004、FB04008、FB04010、FB04013) の出生児がいずれも哺育 1 日に、また、1

腹（母動物番号：FB04012）が哺育 2 日に同様の変化を示し、哺育 3 日に母動物が死亡するまで一部の出生児が生存していた 1 腹（母動物番号：FB04008）のほかには、いずれも 1～4 日後に全例が死亡した。このため、1000 mg/kg 投与群の新生児生存率は対照群との間に有意差は認められなかったが低値を示した。200 mg/kg 以下の投与群でも、哺育 0 日の生存性に有意な変化は認められなかったが、新生児生存率は、やや低値の傾向を示した。性比については対照群と 1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2) 体重 (Table 26; Appendixes 26-1～26-4)

体重については対照群と 1-AAQ 各投与群との間で有意差は認められなかった。

3) 形態 (Tables 27, 28)

哺育 0 日の生児についての外表観察では、いずれの動物にも異常は観察されなかった（表には示さず）。

哺育 4 日における全出生児の剖検において、1000 mg/kg 投与群の 1 腹（母動物番号：FB04005）の全例に、胃内に貯留しているミルクが淡赤色調を呈しているのが観察されたほかには、いずれの投与群の新生児にも異常は認められなかった。

死亡児の剖検では、対照群の 1 腹中（母動物番号：FB01001）の 1 例の哺育 1 日雌死亡児に、小舌、小顎および口蓋裂の複合奇形が観察されたが、その他の死亡児に異常は認められなかった。

【考 察】

以上の試験成績から、1-AAQ の 200 mg/kg 以上の量は、42日間にわたる反復投与により雄ラットに軽度の貧血を惹起し、髄外造血を亢進させるほか、肝臓および脾臓に色素沈着を来し、これらの器官重量を増加させた。さらに、病理組織学的検査では、1-AAQ 各投与群において腎臓の近位尿細管上皮細胞に、eosinophilic body の顕著な形成および好酸性滴状物の増強がみられた。Eosinophilic body は、雄ラットに一般的に認められる所見で、肝臓から分泌された $\alpha_2\text{U}$ -グロブリンの尿細管における再吸収像であるとされている。しかし、化学物質などの投与により、投与された化学物質と、あるいはその代謝産物とこれが結合すると、尿細管上皮細胞における $\alpha_2\text{U}$ -グロブリンの処理が滞り、eosinophilic body 形成の亢進として認められることがあるといわれている¹⁸⁾。今回、対照群の動物にも eosinophilic body が認められたが、1-AAQ 各投与群における変化はこれと比較し著しいこと、血液生化学的検査では 200 mg/kg 以上の投与群において血漿無機質の減少がみられており、さらに、2 週間の反復投与を行った予備試験では、1000 mg/kg 投与群において血漿尿素窒素濃度の上昇が認められていることから、1-AAQ の 40 mg/kg 以上の量は、雄ラットの腎臓に軽度の器質的障害を惹起し、さらに 200 mg/kg 以上の量は、軽度の機能的障害も惹起するものと推測され、40 mg/kg は雄に対する影響量であり、200 mg/kg は軽度の毒性発現量であることが示唆された。貧血の成因については、尿の着色および脾臓の色素沈着の増加から赤血球の破壊亢進が疑われる。尿の着色については、他に異常の認められていない 40 mg/kg 投与群の雄にも投与後間もなく観察されていることから、他のアントラキノンと同様に、小腸で吸収された 1-AAQ が肝臓においてグルクロン酸抱合を受け、一部が腎臓を経て尿から排泄される²⁾ ことによる被験物質由来の着色であると考えられる。しかし、脾臓に沈着していた色素は、ヘモジデリンであると考えられること、末梢血中に網状赤血球の増加あるいは髄外造血が亢進したこと、ならびに大球性貧血であったことから、血漿総ビリルビン濃度には変化はなかったが、溶血性貧血である可能性が高い。

雌動物は、分娩終了までは、いずれの投与群の動物も雄と類似した変化が認められた。また、分娩にも異常は認められなかったが、哺育開始後、急速に全身衰弱を示す動物が増加し、200 mg/kg 以上の投与群では、その一部は瀕死状態に至り、1000 mg/kg 投与群では、死亡も認められた。また、哺育行動が廃絶したため、これらの動物の出生児は死亡し

たが、瀕死状態に至らなかった母動物の全身状態は、出生児の死亡を境に改善され、哺育開始と毒性発現との間に強い因果関係があるものと考えられる。

各種検査成績を哺育状態の経過とあわせて評価すると、母動物に対する1-AAQの影響を二つに大別できると考えられる。すなわち、哺育状態に異常の認められなかった動物では、200 mg/kg 以上の投与群において脾臓のうっ血および色素沈着の増強がみられ、さらに、1000 mg/kg 投与群において網状赤血球比率の増加、脾臓重量の増加および肝臓の色素沈着の増強など、雄と同様に溶血性貧血を示唆する変化とそれに伴う造血の亢進が認められた。一方、全出生児死亡例では、肝臓および脾臓の色素沈着の増強は、哺育状態が正常であった動物と同様に認められたが、腎皮質尿細管の上皮細胞に壊死および再生が認められ、瀕死剖検例および死亡例ではその程度が著しかった。また、脾臓は萎縮し、骨髓の造血細胞の減少も認められた。しかし、これらの動物では末梢血中の血球数は赤血球数および白血球数ともに、哺育状態正常例と同程度かあるいは高値の傾向を示した。また、哺育4日まで出生児の一部は生存していたが、全身状態の不良が認められた動物では、多血の傾向が認められた。泌乳ラットは、乳汁として体液を大量に体外へ排出している。そのため、分娩後の動物の循環血量は増加し¹⁹⁾、恒常性を維持している。今回、尿細管上皮細胞に壊死性の変化が認められた動物では、水分および電解質の再吸収が体液の喪失を補充するのに充分ではなかったものと推測され、その結果、一部の動物の解剖時にみられたように、脱水に陥ったものと考えられる。このうち、尿細管上皮の障害の程度が著しいものは瀕死状態に至り、障害が比較的軽度なものは、泌乳量の低下および哺育行動の廃絶により、出生児が死亡して泌乳による体液の損失が軽減されると回復に向かったものと考えられる。一方、出生児の一部が生存し、泌乳がわずかでも継続していた動物は軽度な脱水状態が持続していたものと考えられる。一般状態の悪化から瀕死状態に至るまでの経過が急激であったので、死因の一部として尿毒症が関与している可能性もあるが、今回は、雌の血液尿素窒素量を測定しなかったため、腎障害による尿毒症発症の有無については明らかではない。造血細胞の減少については、1-AAQの位置異性体である2-AAQの毒性変化としても認められている⁹⁾が、今回は、対照群の全出生児死亡動物にも観察されていることから、1-AAQの直接作用である可能性は乏しい。一方、腎障害において腎臓のエリスロポイエチン産生細胞が障害されると、エリスロポイエチン分泌が減少するために貧血が起きることが知られている。エリスロポイエチンは、出生後は主に、腎臓の間質細胞で産生されているといわれているが²⁰⁾、今回の病理組織学的検査では間質細胞に病変は観察されなかった。

しかし、腎病変が重篤であったものに造血の低下が観察されていることから、造血の低下は、腎障害に伴う二次的变化であると推測される。

全出生児死亡動物では、脾臓における濾胞の減少および胸腺の萎縮が観察された。これらの動物では、副腎が腫大し、糖質コルチコイド産生の場合である副腎皮質束状帯の空胞形成増加が認められた。同様の变化は、対照群の死亡例および全児死亡例にも観察されていることから、全身状態の不良などのストレスにより、糖質コルチコイド分泌が亢進したことによる、二次的な変化であると考えられる。

今回、脾臓の病理組織学的検査から、雌においても 200 mg/kg 以上の投与量により、溶血性貧血が惹起されるものと考えられた。しかし、その他の変化は、いずれも皮質尿細管上皮細胞の壊死および再生に付随した変化であると考えられる。皮質尿細管上皮細胞の壊死および再生は、対照群にも 1 例観察されているが、すべての 1-AAQ 投与群において腎病変の発生頻度が増加する傾向が認められた。このことから、1-AAQ は、40 mg/kg 以上の投与量により尿細管上皮細胞に壊死および再生を惹起するものと考えられる。2-AAQ にも雌に対する腎臓毒性が認められているが、その病変は、尿細管腔内に形成された結晶の栓塞を主体とするもので⁹⁾、今回認められた変化とは病理発生が異なるものと考えられる。皮質尿細管上皮細胞の壊死および再生は非妊娠動物では稀な変化であるが、2-AAQ との病変の差がアミノ基の付加位置による構造活性に起因した相違なのか、使用したラットの系統差によるものか、あるいは非妊娠動物と泌乳動物との生理状態の違いによるものかは、さらに検討が必要であると考えられる。血液凝固時間は、1-AAQ 投与群で延長の傾向が認められたが、有意差はなかった。一方、哺育状態が不良であった動物の多くに、分娩後の時間が経過しているにもかかわらず、腔からの血様分泌物が認められていること、瀕死屠殺した動物では血液凝固時間に異常な延長が認められていることから、哺育不良と血液凝固遅延は何らかの関係があるものと考えられるが、全身状態の悪化による栄養不良や、脱水による血液性状の変化などの二次的变化である可能性も考えられる。

哺育以外の生殖発生毒性については、1000 mg/kg までの 1-AAQ は、雌雄動物の交尾および受胎能力、胚の着床、ならびに分娩に対する影響は認められなかった。次世代の生後発育については、出生児の死亡が 1-AAQ 各投与群で増加した。これは、前述のように母動物の全身状態の悪化に起因するものと考えられるが、1000 mg/kg 投与群において、胃内の乳汁が被験物質と同様な色調を呈する児が認められたことから、乳汁移行の可能性があるものと考えられる。Anthraquinone 系の下剤を泌乳中の婦人に投与すると、乳汁を介し

て児へ移行するとの報告²¹⁾ もあることから、出生児に対する影響は養子実験などを通して確認する必要があるものと考えられる。しかし、催奇形作用は、1000 mg/kg までの1-AAQ にはないものと推察される。

これらのことから本試験条件下では、1-AAQ の雄に対する無影響量は、反復投与毒性に関しては 40 mg/kg/day を下回り、生殖発生毒性に関しては1000 mg/kg/day であると推察される。また、雌に対する無影響量は、反復投与毒性および生殖・発生毒性ともに 40 mg/kg/day を下回る量であると推察される。

【文 献】

- 1) The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.
Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E. eds., Eleventh edn.,
Merck & CO., Inc., Rahway, N.J., U.S.A. (1989)
- 2) Sendelbach, L. E.: A review of the toxicity and carcinogenicity of anthra-
quinone derivatives. Toxicology, 57: 227-240 (1989)
- 3) Volodchenko, V. A.: The results of and future prospects for the study of
toxicological features specific for the anthraquinone derivatives. Gigiena
Truda i Professional'nye Zabolevaniia, 21 (12): 27-30 (1977)
- 4) Marhold, J. V.: Sbornik Vysledku Toxicologickeho Vysetreni Latek A
Prinpravku, Institut Pro Vychovu Vedoucicn Pracovniku Chemickeho Prumyclu
Praha, Czechoslovakia, 121 (1972)
- 5) Lahman, S., Grice, H. C., Sinclair, J. W.: Studies in chemical carcinogene-
sis. III. α -Aminoanthraquinone. Toxicol. Appl. Pharmacol., 8: 346 (1966)
- 6) Cesarone, C. F., Bolognesi, C., Santi, L.: Evaluation of damage to DNA after
in vivo exposure to different classes of chemicals. Arch. Toxicol., Suppl. 5
: 355-359 (1982)

- 7) Brown, J. P., Brown, R. J.: Mutagenesis by 9,10-anthraquinone derivatives and related compounds in *Salmonella Typhimurium*. Mutation Res., 40: 203-224(1976)
- 8) Griswold, D. P., Jr., Casey, A. E., Weisburger, J. H.: The carcinogenicity of multiple intragastric doses of aromatic and heterocyclic nitro or amino derivatives in young female Sprague-Dawley rats. Cancer Res., 28: 924-933 (1968)
- 9) Baker, J. R., Smith, E. R., Yoon, Y. H., Wade, G. G., Rosenkrantz, H., Schmall, B.: Nephrotoxic effect of 2-aminoanthraquinone in Fischer rats. J. Toxicol. Environ. Health, 1: 1-11 (1975)
- 10) Murthy, A. S. K., Russfield, A. B., Hagopian, M., Monson, R., Snell, J., Weisburger, E. K.: Carcinogenicity and nephrotoxicity of 2-amino-, 1-amino-, 2-methyl-, and 2-methyl-1-nitro-anthraquinone. Toxicol. Let., 4: 71-78 (1979)
- 11) Salewski, E.: Färbemethode zum makroskopischen Nachweis von Implantationsstellen am Uterus der Ratte. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 247, 367 (1964)
- 12) 西村秀雄: 胎児科学、雄鷄社、東京 (1976) pp. 115~177
- 13) 佐久間昭: 薬効評価—計画と解析、東大出版会、東京 (1977)

- 14) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics*, 20, 482-491 (1964)
- 15) Scheffé, H.: A method for judging all contrasts in the analysis of variance. *Biometrika*, 40, 87-104 (1953)
- 16) Kruskal, W. H., W. A. Wallis: Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J. Amer. Statist. Assoc.*, 47, 583-621 (1952)
- 17) 丹後俊郎: 医学への統計学 (古川俊之 監修)、朝倉書店、東京 (1985)
- 18) Swenberg, J. A., Short, B., Borghoff, S., Strasser, J., Charbonneau, M.: The comparative pathology of $\alpha_2\text{U}$ -globulin nephropathy. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 97, 35-46 (1989)
- 19) Hawell, A., Linzell, J.L.: The time course of cardiovascular changes in lactation in rat. *J. Physiol.*, 233: 93-109 (1973)
- 20) Koury, S. T., Koury, M. J., Bondurant, M. C., Caro, J., Graber, S. E.: Quantitation of erythropoietin-producing cell in kidneys of mice by *in situ* hybridization: Correlation with hematocrit, renal erythropoietin mRNA, and serum erythropoietine concentration. *Blood*, 74: 645-651 (1989)
- 21) Nelemans, F. A.: Clinical and toxicological aspect of anthraquinone laxatives. *Pharmacology*, 14, 73-77 (1976)

【TABLE INDEX】

I. Dose range finding study of 1-AAQ in rats

TABLES	(APPENDIXES)	TABLE TITLE
P 1	(P 1-1 ~ P 1-4)	Body weight of males in the treatment period
P 2	(P 2-1 ~ P 2-4)	Body weight gain data of males in the treatment period
P 3	(P 3-1 ~ P 3-4)	Body weight of females in the treatment period
P 4	(P 4-1 ~ P 4-4)	Body weight gain data of females in the treatment period
P 5	(P 5-1 ~ P 5-4)	Food consumption of males in the treatment period
P 6	(P 6-1 ~ P 6-4)	Food consumption of females in the treatment period
P 7	(P 7-1 ~ P 7-2)	Summary of hematological findings of males
P 8	(P 8-1 ~ P 8-2)	Summary of hematological findings of females
P 9	(P 9-1 ~ P 9-2)	Summary of biochemical findings of males
P10	(P10-1 ~ P10-2)	Summary of biochemical findings of females
P11	(P11-1 ~ P11-4)	Absolute and relative organ weight of males
P12	(P12-1 ~ P12-4)	Absolute and relative organ weight of females
P13	(P13)	Summary of macroscopic findings in males
P14	(P14)	Summary of macroscopic findings in females

II. Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-AAQ in rats

TABLES	(APPENDIXES)	TABLE TITLE
1	(1-1 ~ 1-4)	Summary of clinical signs of F ₀ males
2	(2-1 ~ 2-4)	Summary of clinical signs of F ₀ females
3	(3-1 ~ 3-4)	Body weight of F ₀ males in the treatment period
4	(4-1 ~ 4-4)	Body weight gain data of F ₀ males in the treatment period
5	(5-1 ~ 5-4)	Body weight of F ₀ females in the pre-mating period
6	(6-1 ~ 6-4)	Body weight gain data of F ₀ females in the pre-mating period
7	(7-1 ~ 7-4)	Body weight of F ₀ females in the pregnant period

8	(8-1 ~ 8-4)	Body weight gain data of F ₀ females in the pregnant period
9	(9-1 ~ 9-4)	Body weight of F ₀ females in the lactation period
10	(10-1 ~10-4)	Body weight gain data of F ₀ females in the lactation period
11	(11-1 ~11-4)	Food consumption of F ₀ males in the treatment period
12	(12-1 ~12-4)	Food consumption of F ₀ females in the pre-mating period
13	(13-1 ~13-4)	Food consumption of F ₀ females in the pregnant period
14	(14-1 ~14-4)	Food consumption of F ₀ females in the lactation period
15	(15-1 ~15-4)	Summary of hematological findings of F ₀ males
16	(16-1 ~16-4)	Summary of biochemical findings of F ₀ males
17	(17-1 ~17-4)	Summary of macroscopic findings in F ₀ males
18	(18-1 ~18-4)	Absolute and relative organ weight of F ₀ males
19	(19-1 ~19-4)	Summary of histopathological findings in F ₀ males
20-1	(20-1-1~20-1-4)	Summary of hematological findings of F ₀ females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)
20-2		" (Complete litter loss)
20-3		" (Sacrificed at moribund)
21-1	(21-1-1~21-1-4)	Summary of macroscopic findings in F ₀ females
21-2		" (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)
21-3		" (Sacrificed or died during delivery)
21-4		" (Sacrificed or died during lactation)
21-5		" (Complete litter loss)
21-6		" (Not pregnant)
21-7		" (Not copulated)
22-1	(22-1-1~22-1-4)	Absolute and relative organ weight of F ₀ females
22-2		Absolute and relative organ weight of F ₀ females; Organ weight of animals sacrificed on the way of test period
23-1	(23-1 ~23-4)	Summary of histopathological findings in F ₀ females
23-2		" (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)
23-3		" (Sacrificed or died during delivery)

23-4		" (Sacrificed or died during lactation)
23-5		" (Complete litter loss)
23-6		" (Not copulated)
24	(24-1 ~25-4)	Summary of reproductive performance
25	(25-1 ~25-4)	Summary of development of F ₁ pups up to day 4 of lactation
26	(26-1 ~26-4)	Body weight of F ₁ pups up to day 4 of lactation
27		Summary of morphological observation of pups
28		Summary of morphological observation of F ₁ dead pups

Table P 1

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight of males in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Day				
1 (Init. wt.)	340.1 $\pm$ 13.1 (5)	335.9 $\pm$ 13.5 (5)	338.7 $\pm$ 14.2 (5)	337.9 $\pm$ 10.8 (5)
7	376.4 $\pm$ 19.3 (5)	372.5 $\pm$ 18.5 (5)	370.8 $\pm$ 19.2 (5)	370.5 $\pm$ 13.2 (5)
14	419.5 $\pm$ 28.5 (5)	409.6 $\pm$ 22.1 (5)	410.3 $\pm$ 27.6 (5)	409.0 $\pm$ 19.4 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table P 2

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight gain data of males in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Day				
1~7	36.2 $\pm$ 9.3 (5)	36.6 $\pm$ 6.0 (5)	32.2 $\pm$ 6.8 (5)	32.6 $\pm$ 7.3 (5)
7~14	43.2 $\pm$ 10.8 (5)	37.1 $\pm$ 7.4 (5)	39.5 $\pm$ 11.7 (5)	38.4 $\pm$ 7.2 (5)
1~14	79.4 $\pm$ 19.0 (5)	73.8 $\pm$ 9.7 (5)	71.7 $\pm$ 18.2 (5)	71.1 $\pm$ 12.2 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table P 3

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight of females in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Day				
1 (Init. wt.)	226.7 $\pm$ 6.5 (5)	228.6 $\pm$ 8.5 (5)	226.3 $\pm$ 14.4 (5)	225.2 $\pm$ 11.6 (5)
7	236.0 $\pm$ 11.7 (5)	239.6 $\pm$ 10.8 (5)	240.4 $\pm$ 17.6 (5)	236.0 $\pm$ 13.1 (5)
14	253.1 $\pm$ 13.5 (5)	259.1 $\pm$ 15.9 (5)	257.9 $\pm$ 18.5 (5)	248.5 $\pm$ 12.4 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table P 4

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight gain data of females in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Day				
1~7	9.3 $\pm$ 6.7 (5)	11.0 $\pm$ 5.0 (5)	14.0 $\pm$ 5.3 (5)	10.7 $\pm$ 3.5 (5)
7~14	17.1 $\pm$ 6.1 (5)	19.6 $\pm$ 6.0 (5)	17.6 $\pm$ 3.2 (5)	12.6 $\pm$ 7.2 (5)
1~14	26.4 $\pm$ 10.1 (5)	30.5 $\pm$ 7.9 (5)	31.6 $\pm$ 4.9 (5)	23.3 $\pm$ 3.8 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table P 5

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Food consumption of males in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Day				
1~2	21.6 $\pm$ 4.0 (5)	18.9 $\pm$ 2.3 (5)	16.3 $\pm$ 1.7 (5)	18.8 $\pm$ 3.6 (5)
7~8	22.1 $\pm$ 1.8 (5)	21.0 $\pm$ 2.5 (5)	21.8 $\pm$ 3.1 (5)	20.1 $\pm$ 2.2 (5)
13~14	21.0 $\pm$ 4.8 (5)	18.9 $\pm$ 2.7 (5)	19.6 $\pm$ 3.0 (5)	20.2 $\pm$ 2.5 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table P 6

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Food consumption of females in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Day				
1~2	13.2 $\pm$ 2.3 (5)	12.2 $\pm$ 1.7 (5)	13.9 $\pm$ 2.7 (5)	14.6 $\pm$ 1.3 (5)
7~8	14.0 $\pm$ 2.0 (5)	14.6 $\pm$ 2.2 (5)	16.0 $\pm$ 1.8 (5)	14.3 $\pm$ 2.2 (5)
13~14	14.5 $\pm$ 1.7 (5)	15.1 $\pm$ 2.8 (5)	15.0 $\pm$ 1.1 (5)	12.2 $\pm$ 1.1 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table P7

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of hematological findings of males

Group	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 100/\text{mm}^3$)
Control	(5) 745 ± 43	(5) 15.0 ± 0.3	(5) 42.7 ± 1.6	(5) 57.3 ± 1.5	(5) 20.2 ± 0.9	(5) 35.2 ± 0.8	(5) 116.4 ± 12.7	(5) 150 ± 37
40 mg/kg	(5) 731 ± 34	(5) 14.5 ± 0.6	(5) 41.6 ± 2.0	(5) 56.9 ± 1.0	(5) 19.9 ± 0.4	(5) 35.0 ± 0.4	(5) 108.3 ± 11.1	(5) 106 ± 31
200 mg/kg	(5) 681* ± 36	(5) 14.2* ± 0.5	(5) 40.5 ± 1.5	(5) 59.6 ± 1.8	(5) 20.9 ± 0.6	(5) 35.0 ± 0.3	(5) 113.0 ± 10.2	(5) 147 ± 35
1000 mg/kg	(5) 691 ± 18	(5) 13.9** ± 0.5	(5) 39.6* ± 0.9	(5) 57.4 ± 1.2	(5) 20.1 ± 0.4	(5) 35.1 ± 0.8	(5) 111.6 ± 10.8	(5) 93* ± 9

Parameter: Mean $\pm$ S.D.
(): N

*: Significantly different from control, $p < 0.05$
**: Significantly different from control, $p < 0.01$

Table P3

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of hematological findings of females

Group	RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	MCV (μ^3)	MCH (pg)	MCHC (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 100/\text{mm}^3$)
Control	(5) 707 ± 47	(5) 14.6 ± 0.7	(5) 40.8 ± 2.7	(5) 57.8 ± 0.9	(5) 20.7 ± 0.6	(5) 35.8 ± 0.7	(5) 114.5 ± 7.2	(5) 76 ± 14
40 mg/kg	(5) 690 ± 27	(5) 14.1 ± 0.6	(5) 39.5 ± 1.1	(5) 57.2 ± 1.3	(5) 20.4 ± 0.8	(5) 35.8 ± 0.8	(5) 114.0 ± 9.3	(5) 75 ± 18
200 mg/kg	(5) 672 ± 34	(5) 13.3* ± 0.8	(5) 38.2 ± 2.1	(5) 56.8 ± 1.7	(5) 19.7 ± 0.7	(5) 34.7 ± 0.6	(5) 114.6 ± 14.2	(5) 63 ± 16
1000 mg/kg	(5) 600** ± 37	(5) 12.3** ± 0.5	(5) 34.8** ± 1.2	(5) 58.0 ± 2.2	(5) 20.6 ± 0.8	(5) 35.4 ± 0.4	(5) 108.9 ± 17.7	(5) 74 ± 21

Parameter: Mean $\pm$ S.D.
(): N

*: Significantly different from control, $p < 0.05$
**: Significantly different from control, $p < 0.01$

Table P9

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of biochemical findings of males

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	BUN (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)
Control	(5) 5.2 ±0.1	(5) 2.9 ±0.1	(5) 9 ±1	(5) 145 ±11	(5) 46 ±6	(5) 57 ±29	(5) 455 ±67	(5) 195 ±49	(5) 29 ±2	(5) 63 ±3
40 mg/kg	(5) 5.2 ±0.3	(5) 3.0 ±0.2	(5) 9 ±2	(5) 151 ±13	(5) 47 ±8	(5) 68 ±17	(5) 335 ±50	(5) 124 ±17	(5) 24 ±5	(5) 51** ±2
200 mg/kg	(5) 5.0 ±0.1	(5) 2.7 ±0.1	(5) 8 ±2	(5) 152 ±8	(5) 48 ±7	(5) 47 ±8	(5) 420 ±105	(5) 146 ±19	(5) 27 ±3	(5) 60 ±6
1000 mg/kg	(5) 5.3 ±0.1	(5) 3.1 ±0.2	(5) 12* ±1	(5) 151 ±13	(5) 46 ±9	(5) 50 ±13	(5) 308* ±86	(5) 220 ±68	(5) 29 ±2	(5) 62 ±7

Parameter: Mean±S.D.
():N*:Significantly different from control. p<0.05
**:Significantly different from control. p<0.01

Table P10

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of biochemical findings of females

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	BUN (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)
Control	(5) 5.6 ±0.2	(5) 3.5 ±0.2	(5) 14 ±2	(5) 130 ±10	(5) 49 ±5	(5) 67 ±26	(5) 205 ±47	(5) 108 ±9	(5) 19 ±3	(5) 51 ±3
40 mg/kg	(5) 5.4 ±0.2	(5) 3.4 ±0.2	(5) 13 ±1	(5) 127 ±7	(5) 57 ±11	(5) 48 ±12	(5) 193 ±55	(5) 108 ±35	(5) 19 ±1	(5) 47 ±5
200 mg/kg	(5) 5.9 ±0.3	(5) 3.8* ±0.2	(5) 16 ±3	(5) 144 ±18	(5) 46 ±3	(5) 56 ±19	(5) 163 ±25	(5) 146 ±19	(5) 26 ±6	(5) 57 ±7
1000 mg/kg	(5) 5.9 ±0.1	(5) 3.9* ±0.2	(5) 14 ±3	(5) 124 ±17	(5) 68 ±15	(5) 47 ±15	(5) 182 ±60	(5) 240 ±152	(5) 27* ±6	(5) 73* ±25

Parameter: Mean±S.D.
(): N*: Significantly different from control, p<0.05
**: Significantly different from control, p<0.01

Table P 11

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Absolute and relative organ weight of males; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds		Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)		0	40	200	1000
Final body weight	(g)	395.7 $\pm$ 26.9 (5)	388.7 $\pm$ 21.1 (5)	390.0 $\pm$ 24.4 (5)	387.3 $\pm$ 18.5 (5)
Liver	(g)	12.86 $\pm$ 1.29 ^{a)} (5) 3.26 $\pm$ 0.42 ^{b)}	13.41 $\pm$ 1.15 (5) 3.45 $\pm$ 0.23	13.29 $\pm$ 0.96 (5) 3.41 $\pm$ 0.18	15.10 $\pm$ 1.66 (5) 3.89 $\pm$ 0.31*
Kidneys	(g)	2.56 $\pm$ 0.13 (5) 0.65 $\pm$ 0.04	2.51 $\pm$ 0.14 (5) 0.65 $\pm$ 0.06	2.53 $\pm$ 0.13 (5) 0.65 $\pm$ 0.03	2.57 $\pm$ 0.11 (5) 0.67 $\pm$ 0.04
Thymus	(mg)	457.6 $\pm$ 161.9 (5) 115.2 $\pm$ 38.0	485.6 $\pm$ 121.7 (5) 124.5 $\pm$ 28.1	423.3 $\pm$ 97.1 (5) 108.4 $\pm$ 24.1	436.7 $\pm$ 92.2 (5) 112.4 $\pm$ 20.7
Adrenal glands	(mg)	56.5 $\pm$ 8.0 (5) 14.2 $\pm$ 1.3	56.7 $\pm$ 7.1 (5) 14.6 $\pm$ 1.6	51.9 $\pm$ 6.7 (5) 13.3 $\pm$ 1.9	58.1 $\pm$ 4.2 (5) 15.0 $\pm$ 0.9
Testis	(g)	2.93 $\pm$ 0.08 (5) 0.74 $\pm$ 0.04	3.01 $\pm$ 0.17 (5) 0.77 $\pm$ 0.04	3.00 $\pm$ 0.12 (5) 0.77 $\pm$ 0.04	3.24 $\pm$ 0.22* (5) 0.84 $\pm$ 0.06*

^{a)} : Absolute weight^{b)} : Relative weight(g or mg per 100g body weight)

Vehicle control : Corn oil

* :Significant difference from control, p<0.05

Table P 12

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Absolute and relative organ weight of females; Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds		Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)		0	40	200	1000
Final body weight	(g)	238.0 $\pm$ 8.2 (5)	244.6 $\pm$ 12.8 (5)	243.1 $\pm$ 17.5 (5)	234.5 $\pm$ 12.5 (5)
Liver	(g)	7.52 $\pm$ 0.18 ^{a)} (5) 3.16 $\pm$ 0.06 ^{b)}	7.69 $\pm$ 0.43 (5) 3.14 $\pm$ 0.14	8.04 $\pm$ 0.68 (5) 3.31 $\pm$ 0.12	7.93 $\pm$ 0.78 (5) 3.38 $\pm$ 0.17*
Kidneys	(g)	1.56 $\pm$ 0.08 (5) 0.65 $\pm$ 0.03	1.57 $\pm$ 0.11 (5) 0.64 $\pm$ 0.02	1.67 $\pm$ 0.17 (5) 0.68 $\pm$ 0.04	1.59 $\pm$ 0.18 (5) 0.68 $\pm$ 0.05
Thymus	(mg)	420.7 $\pm$ 60.2 (5) 177.3 $\pm$ 29.2	396.6 $\pm$ 72.3 (5) 162.6 $\pm$ 32.0	361.1 $\pm$ 75.2 (5) 147.7 $\pm$ 21.6	349.9 $\pm$ 86.4 (5) 149.0 $\pm$ 33.9
Adrenal glands	(mg)	63.2 $\pm$ 7.3 (5) 26.7 $\pm$ 3.6	62.8 $\pm$ 5.7 (5) 25.8 $\pm$ 2.8	67.8 $\pm$ 8.7 (5) 27.9 $\pm$ 3.1	59.5 $\pm$ 12.4 (5) 25.4 $\pm$ 4.8
Ovary	(mg)	83.8 $\pm$ 7.6 (5) 35.3 $\pm$ 4.4	78.6 $\pm$ 12.2 (5) 32.0 $\pm$ 3.8	83.0 $\pm$ 13.7 (5) 33.9 $\pm$ 3.4	78.7 $\pm$ 11.0 (5) 33.5 $\pm$ 4.2

^{a)} : Absolute weight^{b)} : Relative weight(g or mg per 100g body weight)

Vehicle control : Corn oil

* :Significant difference from control, p<0.05

Table P 13

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of macroscopic findings in males

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Liver)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark color	5	0	5	0	3	2	2	3
yellowish	4	1	5	0	5	0	5	0
accentuated lobular pattern	4	1	4	1	3	2	3	2
enlargement	5	0	5	0	5	0	3	2
(Spleen)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark color	5	0	5	0	5	0	3	2
indistinct follicle	5	0	5	0	5	0	5	0
(Kidney)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark color	5	0	5	0	4	1	4	1
reddish papilla	5	0	5	0	4	1	4	1
(Ileum)	[5]		[5]		[5]		[5]	
diverticulum	5	0	5	0	5	0	5	0
(Adrenal)	[5]		[5]		[5]		[5]	
enlargement	5	0	5	0	5	0	5	0
(Lung)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark colored spot	5	0	5	0	4	1	5	0
(Thymus)	[5]		[5]		[5]		[5]	
small	5	0	5	0	4	1	4	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table P 14

Dose range finding study of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of macroscopic findings in females

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Liver)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark color	5	0	4	1	4	1	0	5
yellowish	4	1	5	0	5	0	5	0
accentuated lobular pattern	5	0	5	0	5	0	4	1
enlargement	5	0	5	0	5	0	5	0
(Spleen)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark color	5	0	5	0	5	0	1	4
indistinct follicle	5	0	5	0	5	0	4	1
(Kidney)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark color	5	0	4	1	4	1	5	0
reddish papilla	5	0	5	0	5	0	5	0
(Ileum)	[5]		[5]		[5]		[5]	
diverticulum	4	1	5	0	5	0	5	0
(Adrenal)	[5]		[5]		[5]		[5]	
enlargement	5	0	5	0	4	1	5	0
(Lung)	[5]		[5]		[5]		[5]	
dark colored spot	5	0	5	0	5	0	5	0
(Thymus)	[5]		[5]		[5]		[5]	
small	5	0	5	0	5	0	5	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-AAQ in rats

Summary of clinical signs of F₀ males

Clinical signs	Group (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs Day of dosase period						Total
			1 ~ 7	8 ~ 14	15 ~ 21	22 ~ 28	29 ~ 35	36 ~ 42	
Temporary salivation immediately after administration	Contorl	13	0	2	6	7	6	7	8
	40	13	2	9	11	9	10	7	12
	200	13	1	10	11	11	10	10	13
	1000	13	2	11	11	10	10	9	13
Soft stool	Contorl	13	13	13	0	0	0	0	13
	40	13	13	13	0	0	0	0	13
	200	13	13	13	0	0	0	0	13
	1000	13	13	13	0	0	0	0	13
Orange colored urine	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	13	13	13	13	13	13	13
	200	13	13	13	13	13	13	13	13
	1000	13	13	13	13	13	13	13	13
Orange colored feces	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0
	200	13	13	13	13	13	13	13	13
	1000	13	13	13	13	13	13	13	13

Table 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-AAQ in rats

Summary of clinical signs of F₀ females

Clinical signs	Group (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs											Total
			Day of dosase period						L ₀ ^{a)}	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	
			1 ~ 7	8 ~ 14	15 ~ 21	22 ~ 28	29 ~ 35	36 ~ 44						
Temporary salivation immediately after administration	Contorl	13	0	1	3	3	3	3	1	1	3	4	0	7
	40	13	0	4	3	3	5	5	2	1	2	2	0	8
	200	13	0	1	2	4	1	3	3	4	0	0	0	6
	1000	13	0	4	6	3	4	5	1	3	1	1	0	7
Soft stool	Contorl	13	13	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
	40	13	13	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
	200	13	13	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
	1000	13	13	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
Orange colored urine	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	13	13	13	13	13	13	12	12	12	12	12	13
	200	13	13	13	13	13	13	13	11	11	10	10	10	13
	1000	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	12	9	13
Orange colored feces	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	40	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	13	13	13	13	13	13	13	11	11	10	10	10	13
	1000	13	13	13	13	13	13	13	13	13	12	9	9	13
Decrease/No-feces or no-urine	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	40	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	4
Emaciation	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	40	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
	200	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	0	3
Cumulative number of death	Contorl	-	0	0	0	0	1 ^{b)}	2 ^{c)}	2	2	2	2	2	2
	40	-	0	0	0	0	0	1 ^{d)}	1	1	1	1	1	1
	200	-	0	0	0	0	0	2 ^{d)}	2	2	3 ^{e)}	3	3	3
	1000	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 ^{e-a)}	4 ^{e)}	4

a), Lactation period

b), Not copulation

c), Death

d), Not pregnancy

e), Sacrificed at moribund

Table 2

(Continued)

Summary of clinical signs of P₀ females

Clinical signs	Group (mg/kg)	Initial number of animals	Number of animals with clinical signs											Total
			Day of dosase period						L ₀ ^{a)}	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	
			1 ~ 7	8 ~ 14	15 ~ 21	22 ~ 28	29 ~ 35	36 ~ 44						
Vaginal discharge	Contorl	13	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	2
	40	13	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	2
	200	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0	4	5	3	0	5
Decreased locomotor activity	Contorl	13	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	2
	40	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2	0	2
Labored respiration /Slow respiration	Contorl	13	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	2
	40	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
Incomplete projection of the nipples	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	40	13	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	2
	200	13	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	1	3
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0	3	1	2	0	4
Not retrieving her pups	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	40	13	0	0	0	0	0	0	2	2	1	1	1	3
	200	13	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1	1	3
	1000	13	0	0	0	0	0	0	1	5	2	3	0	6
Complete litter loss	Contorl	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	40	13	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	3
	200	13	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	1000	13	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	2	7
Cumulative number of death	Contorl	-	0	0	0	0	1 ^{b)}	2 ^{c)}	2	2	2	2	2	2
	40	-	0	0	0	0	0	1 ^{d)}	1	1	1	1	1	1
	200	-	0	0	0	0	0	2 ^{d)}	2	2	3 ^{e)}	3	3	3
	1000	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 ^{e,*)}	4 ^{c)}	4

a), Lactation period

b), Not copulation

c), Death

d), Not pregnancy

e), Sacrificed at moribund

Table 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight of F₀ males in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Week				
1 (Init. wt.)	323.4 $\pm$ 11.6 (13)	322.9 $\pm$ 13.3 (13)	322.1 $\pm$ 10.8 (13)	322.2 $\pm$ 10.2 (13)
2	366.7 $\pm$ 15.3 (13)	369.4 $\pm$ 20.2 (13)	364.6 $\pm$ 15.8 (13)	359.9 $\pm$ 12.8 (13)
3	410.6 $\pm$ 22.1 (13)	413.0 $\pm$ 25.2 (13)	404.1 $\pm$ 19.3 (13)	399.9 $\pm$ 17.1 (13)
4	444.3 $\pm$ 28.2 (13)	444.4 $\pm$ 31.2 (13)	435.5 $\pm$ 20.1 (13)	429.7 $\pm$ 22.5 (13)
5	481.7 $\pm$ 34.0 (13)	476.5 $\pm$ 35.2 (13)	472.2 $\pm$ 20.9 (13)	461.7 $\pm$ 27.6 (13)
6	516.5 $\pm$ 40.1 (13)	506.3 $\pm$ 37.5 (13)	505.7 $\pm$ 27.7 (13)	493.5 $\pm$ 35.4 (13)
7	543.3 $\pm$ 46.3 (13)	531.5 $\pm$ 42.4 (13)	529.6 $\pm$ 33.3 (13)	515.5 $\pm$ 39.3 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 4

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight gain data of F₀ males in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Week				
1~2	43.3 $\pm$ 7.6 (13)	46.4 $\pm$ 10.3 (13)	42.5 $\pm$ 8.7 (13)	37.7 $\pm$ 8.6 (13)
2~3	43.9 $\pm$ 8.7 (13)	43.6 $\pm$ 7.0 (13)	39.5 $\pm$ 7.0 (13)	40.0 $\pm$ 7.0 (13)
3~4	33.7 $\pm$ 8.8 (13)	31.4 $\pm$ 8.9 (13)	31.4 $\pm$ 7.0 (13)	29.9 $\pm$ 6.5 (13)
4~5	37.4 $\pm$ 6.7 (13)	32.1 $\pm$ 7.7 (13)	36.7 $\pm$ 5.7 (13)	31.9 $\pm$ 6.9 (13)
5~6	34.8 $\pm$ 8.3 (13)	29.8 $\pm$ 9.6 (13)	33.5 $\pm$ 9.6 (13)	31.9 $\pm$ 9.2 (13)
6~7	26.8 $\pm$ 7.4 (13)	25.2 $\pm$ 7.8 (13)	23.8 $\pm$ 9.1 (13)	21.9 $\pm$ 7.4 (13)
1~3'	87.1 $\pm$ 13.9 (13)	90.0 $\pm$ 15.7 (13)	82.0 $\pm$ 11.4 (13)	77.7 $\pm$ 14.3 (13)
1~4	120.9 $\pm$ 20.3 (13)	121.4 $\pm$ 22.2 (13)	113.4 $\pm$ 13.4 (13)	107.6 $\pm$ 19.6 (13)
1~5	158.3 $\pm$ 26.0 (13)	153.6 $\pm$ 25.3 (13)	150.1 $\pm$ 14.5 (13)	139.5 $\pm$ 24.7 (13)
1~6	193.1 $\pm$ 32.0 (13)	183.4 $\pm$ 30.0 (13)	183.6 $\pm$ 21.9 (13)	171.4 $\pm$ 33.0 (13)
1~7	219.9 $\pm$ 38.2 (13)	208.6 $\pm$ 35.3 (13)	207.5 $\pm$ 27.9 (13)	193.3 $\pm$ 35.9 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight of F₀ females in the pre-mating period (g); Mean ± S.D. (N)

Compounds		Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)		0	40	200	1000
Treatment Week					
1	(Init. wt.)	204.3 ± 8.2 (13)	204.7 ± 5.8 (13)	204.6 ± 7.3 (13)	204.6 ± 7.9 (13)
2		222.7 ± 8.9 (13)	226.6 ± 8.3 (13)	226.5 ± 6.6 (13)	221.7 ± 12.0 (13)
3		239.4 ± 8.6 (13)	246.9 ± 10.2 (13)	247.1 ± 8.4 (13)	241.4 ± 14.4 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight gain data of F₀ females in the pre-mating period (g); Mean ± S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment Week				
1~2	18.4 ± 4.8 (13)	21.9 ± 5.6 (13)	21.9 ± 6.7 (13)	17.1 ± 7.8 (13)
2~3	16.7 ± 3.5 (13)	20.4 ± 4.7 (13)	20.6 ± 5.8 (13)	19.7 ± 4.8 (13)
1~3	35.0 ± 5.8 (13)	42.2 ± 8.7 (13)	42.5 ± 7.8 (13)	36.8 ± 10.3 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight of F₀ females in the pregnant period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Pregnant Day				
0	245.3 $\pm$ 12.0 (12)	252.1 $\pm$ 13.2 (12)	254.0 $\pm$ 9.2 (11)	246.6 $\pm$ 14.7 (13)
7	276.4 $\pm$ 11.3 (12)	284.2 $\pm$ 15.3 (12)	287.5 $\pm$ 10.1 (11)	277.4 $\pm$ 18.6 (13)
14	313.9 $\pm$ 12.8 (12)	325.1 $\pm$ 20.3 (12)	327.0 $\pm$ 11.6 (11)	320.2 $\pm$ 19.4 (13)
20	384.5 $\pm$ 17.5 (12)	397.0 $\pm$ 27.7 (12)	395.9 $\pm$ 17.9 (11)	393.6 $\pm$ 22.4 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 8

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight gain data of F₀ females in the pregnant period (g); Mean ± S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Pregnant Day				
0~7	31.0 ± 7.5 (12)	32.1 ± 8.4 (12)	33.5 ± 6.5 (11)	30.7 ± 6.3 (13)
7~14	37.5 ± 4.0 (12)	40.9 ± 8.3 (12)	39.5 ± 5.6 (11)	42.8 ± 5.2 (13)
14~20	70.6 ± 7.7 (12)	71.9 ± 13.4 (12)	68.9 ± 8.0 (11)	73.4 ± 10.7 (13)
0~14	68.6 ± 8.7 (12)	73.0 ± 15.3 (12)	73.0 ± 10.1 (11)	73.6 ± 9.4 (13)
0~20	139.2 ± 11.7 (12)	144.9 ± 24.6 (12)	141.9 ± 14.8 (11)	147.0 ± 15.7 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 9

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight of F₀ females in the lactation period (g); Mean ± S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Post partum Day				
0	294.5 ± 19.8 (11)	294.1 ± 26.0 (12)	298.7 ± 18.0 (11)	275.8 ± 31.6 (13)
4	308.6 ± 16.3 (10)	303.8 ± 31.1 (9)	314.6 ± 31.6 (9)	310.2 ± 35.3 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table 10

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight gain data of F₀ females in the lactation period (g); Mean±S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Post partum Day				
0~4	11.7 ± 16.3 (10)	2.4 ± 25.6 (9)	13.7 ± 22.4 (9)	16.5 ± 18.4 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table 11

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Food consumption of F₀ males in the treatment period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment, Week				
1	154.0 $\pm$ 11.9 (13)	165.0 $\pm$ 19.8 (13)	156.2 $\pm$ 15.4 (13)	147.2 $\pm$ 15.3 (13)
2	149.8 $\pm$ 15.9 (13)	154.7 $\pm$ 19.0 (13)	149.1 $\pm$ 15.5 (13)	146.1 $\pm$ 14.2 (13)
5	138.9 $\pm$ 17.1 (13)	142.1 $\pm$ 16.9 (13)	138.4 $\pm$ 24.4 (13)	137.0 $\pm$ 19.0 (13)
6	118.7 $\pm$ 15.1 (13)	117.5 $\pm$ 17.3 (13)	121.5 $\pm$ 20.5 (13)	116.2 $\pm$ 17.2 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 12

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Food consumption of F₀ females in the pre-mating period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Treatment, Week				
1	108.6 $\pm$ 7.8 (13)	108.7 $\pm$ 11.0 (13)	109.2 $\pm$ 7.1 (13)	107.7 $\pm$ 14.9 (13)
2	101.6 $\pm$ 9.3 (13)	103.7 $\pm$ 9.2 (13)	105.2 $\pm$ 7.2 (13)	106.6 $\pm$ 13.9 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 13

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Food consumption of F₀ females in the pregnant period (g); Mean ± S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Pregnant Day				
0~7	109.4 ± 13.5 (12)	114.0 ± 16.3 (12)	117.9 ± 11.8 (11)	114.3 ± 18.1 (13)
7~14	132.6 ± 13.4 (12)	136.4 ± 15.4 (12)	145.2 ± 14.2 (11)	145.4 ± 17.1 (13)
14~20	122.4 ± 13.0 (12)	121.0 ± 10.8 (12)	121.9 ± 11.4 (11)	125.8 ± 11.1 (13)

Vehicle control : Corn oil

Table 14

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Food consumption of F₀ females in the lactation period (g); Mean $\pm$ S.D. (N)

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Post partum Day				
0~4	82.1 $\pm$ 17.2 (10)	66.7 $\pm$ 30.0 (9)	75.7 $\pm$ 32.5 (9)	76.3 $\pm$ 25.6 (5)

Vehicle control : Corn oil

Table 15

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinon in rats

Summary of hematological findings of Fo males

Group	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μ^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)
Control	(13) 795 ± 133	(13) 14.8 ± 0.5	(13) 43.2 ± 1.1	(13) 54.4 ± 1.4	(13) 18.7 ± 0.7	(13) 34.3 ± 0.6	(13) 1.6 ± 0.4	(13) 103.6 ± 10.0
40 mg/kg	(13) 781 ± 132	(13) 14.8 ± 0.6	(13) 42.9 ± 1.6	(13) 54.9 ± 1.1	(13) 18.9 ± 0.6	(13) 34.4 ± 0.8	(13) 1.6 ± 0.4	(13) 104.9 ± 12.2
200 mg/kg	(13) 732** ± 126	(13) 13.8** ± 0.4	(13) 40.7** ± 1.4	(13) 55.2 ± 1.6	(13) 18.6 ± 0.5	(13) 33.8* ± 0.4	(13) 3.0** ± 0.8	(13) 106.7 ± 10.3
1000 mg/kg	(13) 727** ± 144	(13) 14.0** ± 0.6	(13) 41.6* ± 1.9	(13) 57.2** ± 1.3	(13) 19.3* ± 0.5	(13) 33.8 ± 0.4	(13) 3.3** ± 0.9	(13) 117.0* ± 13.7

Group	R B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
Control	(13) 104 ± 29	(13) 0 ± 0	(13) 11 ± 5	(13) 1 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 1 ± 1	(13) 88 ± 5
40 mg/kg	(13) 96 ± 24	(13) 0 ± 0	(13) 12 ± 4	(13) 1 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 3* ± 2	(13) 84 ± 5
200 mg/kg	(13) 82 ± 19	(13) 0 ± 0	(13) 17** ± 5	(13) 0 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 2 ± 2	(13) 81** ± 6
1000 mg/kg	(13) 101 ± 22	(13) 0 ± 0	(13) 20** ± 11	(13) 0 ± 1	(13) 0 ± 0	(13) 3 ± 2	(13) 77** ± 10

Parameter: Mean $\pm$ S.D.
(): N*: Significantly different from control, $p < 0.05$
**: Significantly different from control, $p < 0.01$

Table 16

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinon in rats

Summary of biochemical findings of Fo males

Group	Total protein	Albumin	A/G	BUN	Creatinine	Glucose	Total cholesterol	Total bilirubin
	(g/dl)	(g/dl)		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
Control	(13) 5.3 ±0.2	(13) 2.9 ±0.2	(13) 1.23 ±0.14	(13) 11 ±2	(13) 0.7 ±0.1	(13) 162 ±15	(13) 57 ±11	(13) 0.09 ±0.02
40 mg/kg	(13) 5.4 ±0.2	(13) 2.9 ±0.2	(13) 1.23 ±0.20	(13) 11 ±2	(13) 0.7 ±0.1	(13) 153 ±16	(13) 56 ±9	(13) 0.07 ±0.02
200 mg/kg	(13) 5.3 ±0.2	(13) 3.0 ±0.1	(13) 1.30 ±0.19	(13) 12 ±2	(13) 0.7 ±0.1	(13) 161 ±21	(13) 62 ±10	(13) 0.08 ±0.03
1000 mg/kg	(13) 5.3 ±0.2	(13) 2.9 ±0.2	(13) 1.27 ±0.16	(13) 12 ±2	(13) 0.7 ±0.1	(13) 152 ±11	(13) 59 ±12	(13) 0.09 ±0.03

Group	Na	K	Cl	Ca	Inorg. phos.	ALP	GPT	GOT	γ-GTP
	(mEq/l)	(mEq/l)	(mEq/l)	(mg/dl)	(mg/dl)	(U/l)	(U/l)	(U/l)	(U/l)
Control	(13) 141.6 ±0.6	(13) 4.35 ±0.21	(13) 103.5 ±1.3	(13) 8.6 ±0.3	(13) 5.5 ±0.4	(13) 301 ±68	(13) 29 ±12	(13) 56 ±8	(13) 0 ±0
40 mg/kg	(13) 141.7 ±0.8	(13) 4.13 ±0.14	(13) 103.0 ±1.3	(13) 8.7 ±0.3	(13) 5.1* ±0.4	(13) 280 ±67	(13) 26 ±4	(13) 50 ±5	(13) 0 ±0
200 mg/kg	(13) 141.1 ±0.6	(13) 4.22 ±0.15	(13) 102.2* ±0.9	(13) 8.7 ±0.2	(13) 5.2 ±0.4	(13) 266 ±68	(13) 29 ±7	(13) 55 ±7	(13) 0 ±0
1000 mg/kg	(13) 141.1 ±1.2	(13) 3.97** ±0.22	(13) 102.2* ±1.5	(13) 8 ±0.2	(13) 5.3 ±0.4	(13) 255 ±64	(13) 46 ±73	(13) 72 ±55	(13) 0 ±0

Parameter: Mean±S.D.
():N*:Significantly different from control. p<0.05
**:Significantly different from control. p<0.01

Table 17

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of macroscopic findings in Fo males

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Thymus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored area	13	0	13	0	13	0	12	1
(Lung)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored spot	12	1	12	1	11	2	12	1
(Spleen)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	13	0	8	5	1	12
accentuated follicle	13	0	13	0	12	1	13	0
enlargement	13	0	13	0	13	0	10	3
accessory spleen	13	0	13	0	12	1	13	0
(Adrenal gland)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	13	0	13	0	12	1	11	2
pale color	13	0	13	0	12	1	13	0
(Kidney)	[13]		[13]		[13]		[13]	
recessed area	13	0	12	1	13	0	13	0
reddish medulla	13	0	13	0	12	1	12	1
dark color	13	0	13	0	13	0	12	1
(Urinary bladder)	[13]		[13]		[13]		[13]	
coagulum	13	0	13	0	13	0	12	1
dark color	13	0	13	0	12	1	13	0
(Liver)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color / yellowish	5	8	3	10	5	8	7	6
accentuated lobular pattern	11	2	13	0	11	2	11	2
enlargement	13	0	13	0	13	0	12	1
dark color	13	0	13	0	13	0	11	2
(Skin)	[13]		[13]		[13]		[13]	
soiled ventral skin	13	0	12	1	11	2	12	1
(Stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
hematin	13	0	13	0	11	2	13	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 18

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Absolute and relative organ weight of F₀ males; Mean ± S.D. (N)

Compounds		Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)		0	40	200	1000
Final body weight	(g)	522.5 ± 44.9 (13)	510.9 ± 41.5 (13)	508.0 ± 31.1 (13)	493.1 ± 36.8 (13)
Liver	(g)	17.76 ± 2.47 ^{a)} (13) 3.39 ± 0.26 ^{b)}	17.86 ± 2.34 (13) 3.49 ± 0.27	19.15 ± 2.60 (13) 3.76 ± 0.33 ^{**}	18.95 ± 2.43 (13) 3.83 ± 0.27 ^{**}
Kidneys	(g)	3.01 ± 0.23 (13) 0.58 ± 0.06	2.99 ± 0.23 (13) 0.59 ± 0.03	3.04 ± 0.23 (13) 0.60 ± 0.03	2.93 ± 0.24 (13) 0.59 ± 0.04
Spleen	(g)	0.79 ± 0.11 (13) 0.15 ± 0.02	0.83 ± 0.11 (13) 0.16 ± 0.02	0.98 ± 0.11 ^{**} (13) 0.19 ± 0.02 ^{**}	1.07 ± 0.17 ^{**} (13) 0.22 ± 0.03 ^{**}
Thymus	(mg)	329.7 ± 55.7 (13) 63.2 ± 10.0	341.5 ± 69.5 (13) 67.0 ± 13.5	390.0 ± 79.5 (13) 77.2 ± 17.6	340.5 ± 78.7 (13) 69.1 ± 15.0
Testis	(g)	3.22 ± 0.18 (13) 0.62 ± 0.06	3.24 ± 0.20 (13) 0.64 ± 0.05	3.05 ± 0.21 (13) 0.60 ± 0.05	3.30 ± 0.26 (13) 0.67 ± 0.05
Epididymis	(g)	1.20 ± 0.07 (13) 0.23 ± 0.03	1.17 ± 0.10 (13) 0.23 ± 0.03	1.15 ± 0.18 (13) 0.23 ± 0.05	1.19 ± 0.13 (13) 0.24 ± 0.03

^{a)} : Absolute weight^{b)} : Relative weight(g or mg per 100g body weight)

Vehicle control : Corn oil

^{**} : Significant difference from control, p<0.01

Table 19

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo males

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Kidney)	[13]					[13]					[13]					[13]				
eosinophilic droplet in proximal tubular epithelium	12	1	0	0	0	2	2	6	3	0**	0	0	2	11	0**	0	4	4	5	0**
eosinophilic body	9	2	1	1	0	1	4	4	4	0**	1	0	2	8	2**	1	0	1	10	1**
atrophic/regenerated tubule	5	7	1	0	0	5	8	0	0	0	7	6	0	0	0	4	8	1	0	0
focal dilatation of tubule in medulla	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0	12	0	1	0	0
hemorrhage into the tubular lumen	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
cast in the tubular lumen	12	1	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
(Spleen)	[13]					[13]					[13]					[13]				
deposit of pigment	0	3	10	0	0	0	1	11	1	0	0	0	2	11	0**	0	0	0	13	0**
extramedullary hematopoiesis	0	3	10	0	0	0	0	10	3	0	0	0	5	8	0**	0	0	1	12	0**
congestion	10	1	2	0	0	6	0	7	0	0	1	0	7	5	0**	0	0	0	13	0**
(Urinary bladder)	[13]					[0]					[0]					[13]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria	11	2	0	0	0											11	2	0	0	0
(Liver)	[13]					[0]					[0]					[13]				
deposit of pigment in Kupffer cell	13	0	0	0	0											8	5	0	0	0
lipid droplet in peripheral zone	0	0	2	11	0											0	0	5	8	0
extramedullary hematopoiesis	9	4	0	0	0											8	5	0	0	0
microgranuloma	0	11	2	0	0											0	11	1	1	0
(Heart)	[13]					[0]					[0]					[13]				
focal necrosis	6	5	2	0	0											9	2	2	0	0
hemorrhage	12	1	0	0	0											13	0	0	0	0
(Adrenal gland)	[13]					[0]					[0]					[12]				
abnormality	13	0	0	0	0											12	0	0	0	0
(Brain)	[13]					[0]					[0]					[13]				
abnormality	13	0	0	0	0											13	0	0	0	0
(Thymus)	[13]					[0]					[0]					[13]				
abnormality	13	0	0	0	0											13	0	0	0	0
(Bone marrow)	[13]					[0]					[0]					[13]				
abnormality	13	0	0	0	0											13	0	0	0	0
(Testis)	[13]					[0]					[0]					[13]				
atrophy of tubule	11	2	0	0	0											11	2	0	0	0
(Epididymis)	[13]					[0]					[0]					[13]				
abnormality	13	0	0	0	0											13	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

**p<0.01

Table 20-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of hematological findings of F0 females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

Group	R B C ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μ^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
Control	(8) 598 ± 32	(8) 11.6 ± 0.5	(8) 34.7 ± 1.6	(8) 58.1 ± 1.1	(8) 19.4 ± 0.5	(8) 33.5 ± 0.4	(8) 3.4 ± 1.9	(8) 115.3 ± 9.1	(10) 10.8 ± 0.6	(10) 24.4 ± 3.0
40 mg/kg	(8) 584 ± 93	(8) 11.5 ± 1.6	(8) 34.1 ± 4.1	(8) 58.8 ± 2.6	(8) 19.8 ± 0.6	(8) 33.6 ± 0.9	(9) 4.3 ± 2.5	(8) 107.2 ± 17.9	(9) 10.9 ± 0.4	(9) 30.9 ± 8.2
200 mg/kg	(9) 572 ± 39	(9) 11.4 ± 0.6	(9) 34.0 ± 2.2	(9) 59.5 ± 1.7	(9) 19.9 ± 0.6	(9) 33.4 ± 0.5	(9) 5.1 ± 2.6	(9) 120.4 ± 15.5	(9) 10.9 ± 0.6	(9) 32.4 ± 8.6
1000 mg/kg	(5) 542 ± 34	(5) 11.2 ± 0.6	(5) 33.3 ± 1.7	(5) 61.5 ± 3.0	(5) 20.6* ± 1.0	(5) 33.5 ± 0.3	(4) 8.5* ± 3.1	(5) 123.2 ± 18.2	(5) 10.8 ± 0.7	(5) 33.1 ± 6.6

Group	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
Control	(8) 73 ± 24	(10) 0 ± 0	(10) 26 ± 10	(10) 0 ± 1	(10) 0 ± 0	(10) 3 ± 1	(10) 71 ± 10
40 mg/kg	(8) 91 ± 26	(9) 0 ± 0	(9) 36 ± 23	(9) 0 ± 1	(9) 0 ± 0	(9) 3 ± 3	(9) 61 ± 25
200 mg/kg	(9) 110 ± 37	(9) 0 ± 0	(9) 34 ± 10	(9) 0 ± 0	(9) 0 ± 0	(9) 3 ± 3	(9) 62 ± 12
1000 mg/kg	(5) 149** ± 27	(5) 1 ± 1	(5) 29 ± 12	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 1	(5) 67 ± 12

Parameter: Mean $\pm$ S.D.
(): N*: Significantly different from control. $p < 0.05$
**: Significantly different from control. $p < 0.01$

Table 20-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Hematological findings of F₀ females (Complete litter loss)

Group	Animal No.	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
Control	FB01005	633	16.5	35.2	55.6	26.1	46.9	0.6	78.1	13.6	39.1
40 mg/kg	FB02008	559	10.6	31.6	56.6	19.0	33.5	6.0	118.8	12.0	27.1
	FB02009	591	11.5	33.7	57.1	19.5	34.1	6.8	119.0	12.2	31.1
	FB02011	668	12.0	35.2	52.7	18.0	34.1	0.1	119.6	10.1	27.6
200 mg/kg	FB03010	545	11.2	33.1	60.8	20.6	33.8	9.4	138.5	12.0	36.8
1000 mg/kg	FB04010	540	10.8	31.7	58.7	20.0	34.1	7.5	95.1	11.8	31.0
	FB04011	510	10.1	29.9	58.6	19.8	33.8	10.0	101.1	10.3	29.3
	FB04012	513	10.9	30.8	60.0	21.2	35.4	4.7	125.9	11.6	28.2
	FB04013	632	13.1	37.5	59.4	20.7	34.9	2.7	169.9	13.5	37.2

Group	Animal No.	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
Control	FB01005	226	3	75	0	0	11	11
40 mg/kg	FB02008	137	0	25	0	0	3	72
	FB02009	82	1	26	0	0	3	70
	FB02011	149	0	85	0	0	5	10
200 mg/kg	FB03010	81	0	22	0	0	7	71
1000 mg/kg	FB04010	113	1	22	0	0	4	73
	FB04011	85	0	67	0	0	2	31
	FB04012	126	0	66	0	0	1	33
	FB04013	98	3	72	0	0	6	19

Table 20-3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Hematological findings of F₀ females (Sacrificed at moribund)

Animal No.	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
FB03008	700	16.3	40.1	57.3	23.3	40.6	1.1	184.9	12.5	40.2
FB04002	524	11.6	33.1	63.2	22.1	35.0	0.0	123.7	17.1	65.4
FB04004	470	11.8	28.7	61.1	25.1	41.1	0.0	146.7	34.2	93.6

Animal No.	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
FB03008	126	2	75	0	0	14	9
FB04002	133	N.E.					
FB04004	182	3	76	0	0	2	19

N.E. :Not examined

Table 21-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of macroscopic findings in Fo females

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General finding)	[13]		[13]		[13]		[13]	
hydrothorax	12	1	13	0	13	0	13	0
anemia	13	0	12	1	13	0	11	2
dehydration	13	0	12	1	13	0	10	3
(Thymus)	[13]		[13]		[13]		[13]	
small	11	2	10	3	10	3	4	9
dark color	13	0	12	1	13	0	13	0
edema around the thymus	13	0	13	0	13	0	12	1
(Heart)	[13]		[13]		[13]		[13]	
mass in the right atrium	13	0	13	0	13	0	12	1
(Lung)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored spot	12	1	13	0	13	0	13	0
dark colored area	12	1	12	1	13	0	12	1
edematous	12	1	13	0	13	0	13	0
dark color	13	0	13	0	13	0	11	2
insufficient retraction	13	0	13	0	13	0	11	2
(Duodenum)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	13	0	13	0	12	1
(Jejunum)	[13]		[13]		[13]		[13]	
cloudy white mucosa	12	1	13	0	13	0	13	0
dark color	13	0	13	0	13	0	12	1
(Ileum)	[13]		[13]		[13]		[13]	
cloudy white mucosa	12	1	13	0	13	0	13	0
dark color	13	0	13	0	13	0	12	1
(Cecum)	[13]		[13]		[13]		[13]	
decrease of content	13	0	13	0	13	0	12	1
(Spleen)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	11	2	13	0	13	0	13	0
small	12	1	11	2	12	1	8	5
dark color	13	0	11	2	10	3	3	10
indistinct follicle	13	0	13	0	13	0	12	1
(Pancreas)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	13	0	13	0	11	2
(Adrenal gland)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	12	1	13	0	13	0	13	0
enlargement	13	0	11	2	12	1	7	6
dark colored area	13	0	13	0	13	0	12	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-1 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-a anthraquinone

Summary of macroscopic findings in Fo females

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Ovary)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	12	1	13	0	13	0	13	0
(Vagina)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark colored mucous	13	0	13	0	13	0	9	4
(Kidney)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	11	2	9	4	12	1	8	5
granular surface	12	1	13	0	13	0	13	0
dark colored medulla	12	1	13	0	13	0	13	0
dark color	13	0	13	0	13	0	10	3
dark colored C-M junction	13	0	13	0	13	0	12	1
soft	13	0	13	0	13	0	12	1
(Bone marrow)	[13]		[13]		[13]		[13]	
pale color	13	0	12	1	13	0	12	1
(Liver)	[13]		[13]		[13]		[13]	
dark color	13	0	11	2	11	2	7	6
soft	13	0	12	1	13	0	10	3
(Skin)	[13]		[13]		[13]		[13]	
soiled eyelid	13	0	12	1	13	0	10	3
soiled around the mouth	13	0	12	1	11	2	9	4
soiled ventral skin	13	0	12	1	10	3	7	6
(Mammary gland)	[13]		[13]		[13]		[13]	
enlargement	9	4	12	1	12	1	11	2
(Forestomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
white linear elevated area	12	1	13	0	13	0	13	0
thickening of mucosa	13	0	12	1	12	1	13	0
dark colored spot	13	0	12	1	13	0	13	0
(Glandular stomach)	[13]		[13]		[13]		[13]	
hematin	11	2	13	0	13	0	13	0
pale colored spot	12	1	13	0	13	0	13	0
dark colored spot	13	0	13	0	13	0	12	1
dark colored mucosa	13	0	13	0	13	0	12	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-methoxyanthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General finding)	[10]		[9]		[9]		[5]	
hydrothorax	10	0	9	0	9	0	5	0
anemia	10	0	8	1	9	0	5	0
dehydration	10	0	8	1	9	0	5	0
(Thymus)	[10]		[9]		[9]		[5]	
small	9	1	8	1	8	1	3	2
dark color	10	0	8	1	9	0	5	0
edema around the thymus	10	0	9	0	9	0	5	0
(Heart)	[10]		[9]		[9]		[5]	
mass in the right atrium	10	0	9	0	9	0	5	0
(Lung)	[10]		[9]		[9]		[5]	
dark colored spot	9	1	9	0	9	0	5	0
dark colored area	10	0	8	1	9	0	5	0
edematous	10	0	9	0	9	0	5	0
dark color	10	0	9	0	9	0	5	0
insufficient retraction	10	0	9	0	9	0	5	0
(Duodenum)	[10]		[9]		[9]		[5]	
dark color	10	0	9	0	9	0	5	0
(Jejunum)	[10]		[9]		[9]		[5]	
cloudy white mucosa	10	0	9	0	9	0	5	0
dark color	10	0	9	0	9	0	5	0
(Ileum)	[10]		[9]		[9]		[5]	
cloudy white mucosa	10	0	9	0	9	0	5	0
dark color	10	0	9	0	9	0	5	0
(Cecum)	[10]		[9]		[9]		[5]	
decrease of content	10	0	9	0	9	0	5	0
(Spleen)	[10]		[9]		[9]		[5]	
pale color	10	0	9	0	9	0	5	0
small	10	0	8	1	9	0	5	0
dark color	10	0	7	2	7	2	2	3
indistinct follicle	10	0	9	0	9	0	5	0
(Pancreas)	[10]		[9]		[9]		[5]	
dark color	10	0	9	0	9	0	5	0
(Adrenal gland)	[10]		[9]		[9]		[5]	
pale color	10	0	9	0	9	0	5	0
enlargement	10	0	8	1	8	1	4	1
dark colored area	10	0	9	0	9	0	5	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-2 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-*r* poanthraquinone

Summary of macroscopic findings in Fo females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Ovary)	[10]		[9]		[9]		[5]	
enlargement	9	1	9	0	9	0	5	0
(Vagina)	[10]		[9]		[9]		[5]	
dark colored mucous	10	0	9	0	9	0	5	0
(Kidney)	[10]		[9]		[9]		[5]	
pale color	9	1	7	2	8	1	4	1
granular surface	10	0	9	0	9	0	5	0
dark colored medulla	10	0	9	0	9	0	5	0
dark color	10	0	9	0	9	0	3	2
dark colored C-M junction	10	0	9	0	9	0	5	0
soft	10	0	9	0	9	0	5	0
(Bone marrow)	[10]		[9]		[9]		[5]	
pale color	10	0	9	0	9	0	5	0
(Liver)	[10]		[9]		[9]		[5]	
dark color	10	0	7	2	7	2	2	3
soft	10	0	9	0	9	0	5	0
(Skin)	[10]		[9]		[9]		[5]	
soiled eyelid	10	0	8	1	9	0	5	0
soiled around the mouth	10	0	9	0	8	1	5	0
soiled ventral skin	10	0	9	0	7	2	4	1
(Mammary gland)	[10]		[9]		[9]		[5]	
enlargement	6	4	8	1	8	1	5	0
(Forestomach)	[10]		[9]		[9]		[5]	
white linear elevated area	10	0	9	0	9	0	5	0
thickening of mucosa	10	0	8	1	8	1	5	0
dark colored spot	10	0	8	1	9	0	5	0
(Glandular stomach)	[10]		[9]		[9]		[5]	
hematin	10	0	9	0	9	0	5	0
pale colored spot	10	0	9	0	9	0	5	0
dark colored spot	10	0	9	0	9	0	5	0
dark colored mucosa	10	0	9	0	9	0	5	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-methoxyanthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Sacrificed or died during delivery)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General finding)	[1]		[0]		[0]		[0]	
hydrothorax		0 1						
anemia		1 0						
dehydration		1 0						
(Thymus)	[1]		[0]		[0]		[0]	
small		1 0						
dark color		1 0						
edema around the thymus		1 0						
(Heart)	[1]		[0]		[0]		[0]	
mass in the right atrium		1 0						
(Lung)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark colored spot		1 0						
dark colored area		0 1						
edematous		0 1						
dark color		1 0						
insufficient retraction		1 0						
(Duodenum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark color		1 0						
(Jejunum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
cloudy white mucosa		1 0						
dark color		1 0						
(Ileum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
cloudy white mucosa		1 0						
dark color		1 0						
(Cecum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
decrease of content		1 0						
(Spleen)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color		0 1						
small		1 0						
dark color		1 0						
indistinct follicle		1 0						
(Pancreas)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark color		1 0						
(Adrenal gland)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color		1 0						
enlargement		1 0						
dark colored area		1 0						

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-3 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-a ioanthraquinone

Summary of macroscopic findings in Fo females (Sacrificed or died during delivery)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Ovary)	[1]		[0]		[0]		[0]	
enlargement	1	0						
(Vagina)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark colored mucous	1	0						
(Kidney)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color	1	0						
granular surface	0	1						
dark colored medulla	0	1						
dark color	1	0						
dark colored C-M junction	1	0						
soft	1	0						
(Bone marrow)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color	1	0						
(Liver)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark color	1	0						
soft	1	0						
(Skin)	[1]		[0]		[0]		[0]	
soiled eyelid	1	0						
soiled around the mouth	1	0						
soiled ventral skin	1	0						
(Mammary gland)	[1]		[0]		[0]		[0]	
enlargement	1	0						
(Forestomach)	[1]		[0]		[0]		[0]	
white linear elevated area	1	0						
thickening of mucosa	1	0						
dark colored spot	1	0						
(Glandular stomach)	[1]		[0]		[0]		[0]	
hematin	0	1						
pale colored spot	0	1						
dark colored spot	1	0						
dark colored mucosa	1	0						

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-4

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-anthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Sacrificed or died during lactation)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General finding)	[0]		[0]		[0]		[1]	
hydrothorax							1	0
anemia							1	0
dehydration							1	0
(Thymus)	[0]		[0]		[0]		[1]	
small							1	0
dark color							1	0
edema around the thymus							0	1
(Heart)	[0]		[0]		[0]		[1]	
mass in the right atrium							0	1
(Lung)	[0]		[0]		[0]		[1]	
dark colored spot							1	0
dark colored area							0	1
edematous							1	0
dark color							1	0
insufficient retraction							0	1
(Duodenum)	[0]		[0]		[0]		[1]	
dark color							1	0
(Jejunum)	[0]		[0]		[0]		[1]	
cloudy white mucosa							1	0
dark color							1	0
(Ileum)	[0]		[0]		[0]		[1]	
cloudy white mucosa							1	0
dark color							1	0
(Cecum)	[0]		[0]		[0]		[1]	
decrease of content							1	0
(Spleen)	[0]		[0]		[0]		[1]	
pale color							1	0
small							0	1
dark color							0	1
indistinct follicle							1	0
(Pancreas)	[0]		[0]		[0]		[1]	
dark color							1	0
(Adrenal gland)	[0]		[0]		[0]		[1]	
pale color							1	0
enlargement							0	1
dark colored area							1	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-4 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-
n-anthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Sacrificed or died during lactation)

Group	Control	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg
Grade	- +	- +	- +	- +
(Ovary)	[0]	[0]	[0]	[1]
enlargement				1 0
(Vagina)	[0]	[0]	[0]	[1]
dark colored mucous				0 1
(Kidney)	[0]	[0]	[0]	[1]
pale color				1 0
granular surface				1 0
dark colored medulla				1 0
dark color				1 0
dark colored C-M junction				0 1
soft				1 0
(Bone marrow)	[0]	[0]	[0]	[1]
pale color				1 0
(Liver)	[0]	[0]	[0]	[1]
dark color				1 0
soft				1 0
(Skin)	[0]	[0]	[0]	[1]
soiled eyelid				1 0
soiled around the mouth				0 1
soiled ventral skin				0 1
(Mammary gland)	[0]	[0]	[0]	[1]
enlargement				1 0
(Forestomach)	[0]	[0]	[0]	[1]
white linear elevated area				1 0
thickening of mucosa				1 0
dark colored spot				1 0
(Glandular stomach)	[0]	[0]	[0]	[1]
hematin				1 0
pale colored spot				1 0
dark colored spot				0 1
dark colored mucosa				1 0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-methoxyanthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Complete litter loss)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General finding)	[1]		[3]		[2]		[7]	
hydrothorax	1	0	3	0	2	0	7	0
anemia	1	0	3	0	2	0	5	2
dehydration	1	0	3	0	2	0	4	3
(Thymus)	[1]		[3]		[2]		[7]	
small	0	1	1	2	0	2	0	7
dark color	1	0	3	0	2	0	7	0
edema around the thymus	1	0	3	0	2	0	7	0
(Heart)	[1]		[3]		[2]		[7]	
mass in the right atrium	1	0	3	0	2	0	7	0
(Lung)	[1]		[3]		[2]		[7]	
dark colored spot	1	0	3	0	2	0	7	0
dark colored area	1	0	3	0	2	0	7	0
edematous	1	0	3	0	2	0	7	0
dark color	1	0	3	0	2	0	5	2
insufficient retraction	1	0	3	0	2	0	6	1
(Duodenum)	[1]		[3]		[2]		[7]	
dark color	1	0	3	0	2	0	6	1
(Jejunum)	[1]		[3]		[2]		[7]	
cloudy white mucosa	0	1	3	0	2	0	7	0
dark color	1	0	3	0	2	0	6	1
(Ileum)	[1]		[3]		[2]		[7]	
cloudy white mucosa	0	1	3	0	2	0	7	0
dark color	1	0	3	0	2	0	6	1
(Cecum)	[1]		[3]		[2]		[7]	
decrease of content	1	0	3	0	2	0	6	1
(Spleen)	[1]		[3]		[2]		[7]	
pale color	0	1	3	0	2	0	7	0
small	0	1	2	1	1	1	3	4
dark color	1	0	3	0	1	1	1	6
indistinct follicle	1	0	3	0	2	0	6	1
(Pancreas)	[1]		[3]		[2]		[7]	
dark color	1	0	3	0	2	0	5	2
(Adrenal gland)	[1]		[3]		[2]		[7]	
pale color	0	1	3	0	2	0	7	0
enlargement	1	0	2	1	2	0	3	4
dark colored area	1	0	3	0	2	0	6	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-5 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-*n*-anthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Complete litter loss)

Group	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Ovary)	[1]		[3]		[2]		[7]	
enlargement	1	0	3	0	2	0	7	0
(Vagina)	[1]		[3]		[2]		[7]	
dark colored mucous	1	0	3	0	2	0	4	3
(Kidney)	[1]		[3]		[2]		[7]	
pale color	0	1	1	2	2	0	3	4
granular surface	1	0	3	0	2	0	7	0
dark colored medulla	1	0	3	0	2	0	7	0
dark color	1	0	3	0	2	0	6	1
dark colored C-M junction	1	0	3	0	2	0	7	0
soft	1	0	3	0	2	0	6	1
(Bone marrow)	[1]		[3]		[2]		[7]	
pale color	1	0	2	1	2	0	6	1
(Liver)	[1]		[3]		[2]		[7]	
dark color	1	0	3	0	2	0	4	3
soft	1	0	2	1	2	0	4	3
(Skin)	[1]		[3]		[2]		[7]	
soiled eyelid	1	0	3	0	2	0	4	3
soiled around the mouth	1	0	2	1	1	1	4	3
soiled ventral skin	1	0	2	1	1	1	3	4
(Mammary gland)	[1]		[3]		[2]		[7]	
enlargement	1	0	3	0	2	0	5	2
(Forestomach)	[1]		[3]		[2]		[7]	
white linear elevated area	0	1	3	0	2	0	7	0
thickening of mucosa	1	0	3	0	2	0	7	0
dark colored spot	1	0	3	0	2	0	7	0
(Glandular stomach)	[1]		[3]		[2]		[7]	
hematin	0	1	3	0	2	0	7	0
pale colored spot	1	0	3	0	2	0	7	0
dark colored spot	1	0	3	0	2	0	7	0
dark colored mucosa	1	0	3	0	2	0	6	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-methylnanthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Not pregnant)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General finding)	[0]		[1]		[2]		[0]	
hydrothorax			1	0	2	0		
anemia			1	0	2	0		
dehydration			1	0	2	0		
(Thymus)	[0]		[1]		[2]		[0]	
small			1	0	2	0		
dark color			1	0	2	0		
edema around the thymus			1	0	2	0		
(Heart)	[0]		[1]		[2]		[0]	
mass in the right atrium			1	0	2	0		
(Lung)	[0]		[1]		[2]		[0]	
dark colored spot			1	0	2	0		
dark colored area			1	0	2	0		
edematous			1	0	2	0		
dark color			1	0	2	0		
insufficient retraction			1	0	2	0		
(Duodenum)	[0]		[1]		[2]		[0]	
dark color			1	0	2	0		
(Jejunum)	[0]		[1]		[2]		[0]	
cloudy white mucosa			1	0	2	0		
dark color			1	0	2	0		
(Ileum)	[0]		[1]		[2]		[0]	
cloudy white mucosa			1	0	2	0		
dark color			1	0	2	0		
(Cecum)	[0]		[1]		[2]		[0]	
decrease of content			1	0	2	0		
(Spleen)	[0]		[1]		[2]		[0]	
pale color			1	0	2	0		
small			1	0	2	0		
dark color			1	0	2	0		
indistinct follicle			1	0	2	0		
(Pancreas)	[0]		[1]		[2]		[0]	
dark color			1	0	2	0		
(Adrenal gland)	[0]		[1]		[2]		[0]	
pale color			1	0	2	0		
enlargement			1	0	2	0		
dark colored area			1	0	2	0		

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-6 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-anthraquinone

Summary of macroscopic findings in Fo females (Not pregnant)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Ovary)	[0]		[1]		[2]		[0]	
enlargement			1	0	2	0		
(Vagina)	[0]		[1]		[2]		[0]	
dark colored mucous			1	0	2	0		
(Kidney)	[0]		[1]		[2]		[0]	
pale color			1	0	2	0		
granular surface			1	0	2	0		
dark colored medulla			1	0	2	0		
dark color			1	0	2	0		
dark colored C-M junction			1	0	2	0		
soft			1	0	2	0		
(Bone marrow)	[0]		[1]		[2]		[0]	
pale color			1	0	2	0		
(Liver)	[0]		[1]		[2]		[0]	
dark color			1	0	2	0		
soft			1	0	2	0		
(Skin)	[0]		[1]		[2]		[0]	
soiled eyelid			1	0	2	0		
soiled around the mouth			1	0	2	0		
soiled ventral skin			1	0	2	0		
(Mammary gland)	[0]		[1]		[2]		[0]	
enlargement			1	0	2	0		
(Forestomach)	[0]		[1]		[2]		[0]	
white linear elevated area			1	0	2	0		
thickening of mucosa			1	0	2	0		
dark colored spot			1	0	2	0		
(Glandular stomach)	[0]		[1]		[2]		[0]	
hematin			1	0	2	0		
pale colored spot			1	0	2	0		
dark colored spot			1	0	2	0		
dark colored mucosa			1	0	2	0		

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-methylnanthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Not copulated)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(General finding)	[1]		[0]		[0]		[0]	
hydrothorax	1	0						
anemia	1	0						
dehydration	1	0						
(Thymus)	[1]		[0]		[0]		[0]	
small	1	0						
dark color	1	0						
edema around the thymus	1	0						
(Heart)	[1]		[0]		[0]		[0]	
mass in the right atrium	1	0						
(Lung)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark colored spot	1	0						
dark colored area	1	0						
edematous	1	0						
dark color	1	0						
insufficient retraction	1	0						
(Duodenum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark color	1	0						
(Jejunum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
cloudy white mucosa	1	0						
dark color	1	0						
(Ileum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
cloudy white mucosa	1	0						
dark color	1	0						
(Cecum)	[1]		[0]		[0]		[0]	
decrease of content	1	0						
(Spleen)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color	1	0						
small	1	0						
dark color	1	0						
indistinct follicle	1	0						
(Pancreas)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark color	1	0						
(Adrenal gland)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color	1	0						
enlargement	1	0						
dark colored area	1	0						

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 21-7 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-methylnanthraquinone

Summary of macroscopic findings in F0 females (Not copulated)

Group Grade	Control		40 mg/kg		200 mg/kg		1000 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Ovary)	[1]		[0]		[0]		[0]	
enlargement	1	0						
(Vagina)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark colored mucous	1	0						
(Kidney)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color	1	0						
granular surface	1	0						
dark colored medulla	1	0						
dark color	1	0						
dark colored C-M junction	1	0						
soft	1	0						
(Bone marrow)	[1]		[0]		[0]		[0]	
pale color	1	0						
(Liver)	[1]		[0]		[0]		[0]	
dark color	1	0						
soft	1	0						
(Skin)	[1]		[0]		[0]		[0]	
soiled eyelid	1	0						
soiled around the mouth	1	0						
soiled ventral skin	1	0						
(Mammary gland)	[1]		[0]		[0]		[0]	
enlargement	1	0						
(Forestomach)	[1]		[0]		[0]		[0]	
white linear elevated area	1	0						
thickening of mucosa	1	0						
dark colored spot	1	0						
(Glandular stomach)	[1]		[0]		[0]		[0]	
hematin	1	0						
pale colored spot	1	0						
dark colored spot	1	0						
dark colored mucosa	1	0						

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 22 - 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Absolute and relative organ weight of F₀ females; Mean ± S.D. (N)

Compounds		Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)		0	40	200	1000
Final body weight	(g)	308.6 ± 16.3 (10)	303.8 ± 31.1 (9)	314.6 ± 31.6 (9)	310.2 ± 35.3 (5)
Liver	(g)	13.21 ± 1.35 ^{a)} (10) 4.28 ± 0.41 ^{b)}	12.71 ± 1.58 (9) 4.19 ± 0.40	13.65 ± 1.67 (9) 4.34 ± 0.38	14.96 ± 1.95 (5) 4.85 ± 0.66
Kidneys	(g)	1.93 ± 0.28 (10) 0.63 ± 0.07	1.94 ± 0.17 (9) 0.65 ± 0.10	1.88 ± 0.15 (9) 0.61 ± 0.12	2.04 ± 0.27 (5) 0.66 ± 0.11
Spleen	(g)	0.58 ± 0.10 (10) 0.19 ± 0.03	0.59 ± 0.16 (9) 0.19 ± 0.04	0.67 ± 0.19 (9) 0.21 ± 0.05	0.83 ± 0.16 (5) 0.27 ± 0.04 ^{**}
Thymus	(mg)	164.7 ± 71.1 (10) 53.1 ± 22.6	154.5 ± 103.3 (9) 48.8 ± 28.6	168.2 ± 74.3 (9) 52.5 ± 22.2	172.4 ± 76.9 (5) 54.5 ± 22.3

a) : Absolute weight

b) : Relative weight(g or mg per 100g body weight)

Vehicle control : Corn oil

^{**}:Significant difference from control, p<0.01

Table 22 - 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Absolute and relative organ weight of F₀ females ; Organ weight of animals, which sacrificed on the way of test period

Origin of dissection	Dose groups (mg/kg)	Animal no.	Final body weight (g)	Liver		Kidneys		Spleen		Thymus	
				Absolute (g)	Relative	Absolute (g)	Relative	Absolute (g)	Relative	Absolute (mg)	Relative
Not copulated	0	FB01007 a)	291.4	10.26	3.52	1.70	0.58	0.52	0.18	348.7	119.7
Not pregnant	40	FB02005	328.3	11.59	3.53	1.89	0.57	0.50	0.15	360.7	109.9
	200	FB03003	325.0	13.75	4.23	2.28	0.70	0.70	0.21	447.0	137.5
		FB03006	302.0	12.09	4.00	1.54	0.51	0.60	0.20	327.2	108.3
	0	FB01005	232.5	9.28	3.99	2.02	0.87	0.16	0.07	33.5	14.4
Complete litter loss	40	FB02008	280.8	12.54	4.47	2.14	0.76	Error		58.9	21.0
		FB02009	284.5	11.86	4.17	2.02	0.71	0.53	0.19	41.2	14.5
		FB02011	257.2	11.67	4.54	2.26	0.88	0.15	0.06	35.2	13.7
	200	FB03010	323.7	14.29	4.41	1.88	0.58	0.72	0.22	69.3	21.4
	1000	FB04010	289.4	17.44	6.03	1.98	0.68	1.02	0.35	59.0	20.4
		FB04011	259.1	13.87	5.35	2.20	0.85	0.63	0.24	31.9	12.3
		FB04012	286.2	13.75	4.80	2.13	0.74	0.73	0.26	80.3	28.1
		FB04013	220.9	9.89	4.48	2.41	1.09	0.34	0.15	47.3	21.4
	200	FB03008	237.0	9.50	4.01	1.73	0.73	0.16	0.07	60.3	25.4
		FB04002	241.0	10.73	4.45	2.27	0.94	0.24	0.10	78.2	32.4
Sacrificed at moribund	1000	FB04004	237.9	10.15	4.27	2.12	0.89	0.20	0.08	45.7	19.2

Relative: g or mg per 100 g body weight

a): Identification no. (sex-course-group no.-individual no.)

Error : Not determined due to technical error at measurement

Vehicle control : Corn oil

Table 23-1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females

Group	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
Grade	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Kidney)	[13]					[13]					[13]					[13]				
regeneration of tubular epithelium in cortex	12	0	0	1	0	9	0	1	3	0	11	0	0	2	0	5	0	2	6	0*
cell debris in tubular lumen / tubular necrosis	12	0	1	0	0	9	0	2	2	0	11	0	0	2	0	5	1	2	4	1*
calcification in tubular lumen of cortex	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	1	0	0	0	9	1	3	0	0
regeneration of tubular epithelium in medulla	13	0	0	0	0	10	2	1	0	0	13	0	0	0	0	5	4	4	0	0**
vacuolar degeneration of tubular epithelium in cortex	13	0	0	0	0	7	2	3	1	0	10	0	1	2	0	4	0	5	4	0**
lipid droplet in tubular epithelium	11	0	1	1	0	6	1	4	2	0	7	4	0	2	0	4	1	2	6	0*
infiltration of neutrophil in medulla	12	0	0	1	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
infiltration of neutrophil in pelvic mucosa	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
dilatation of tubule	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	9	0	4	0	0
intracytoplasmic inclusion body in proximal tubule	12	0	0	1	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
hemorrhage into the tubular lumen	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
cast in the tubular lumen	12	0	0	1	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0	11	0	0	2	0
thrombus in glomerulus	12	0	1	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0
intracytoplasmic inclusion body in collecting tubule	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
atrophic/regenerated tubule	11	2	0	0	0	11	2	0	0	0	11	2	0	0	0	11	2	0	0	0
focal dilatation of tubule in medulla	12	1	0	0	0	13	0	0	0	0	13	0	0	0	0	12	0	1	0	0
(Spleen)	[13]					[13]					[13]					[12]				
atrophy of follicle	12	0	0	0	1	11	0	1	1	0	11	0	1	1	0	8	1	1	2	0
deposit of pigment	0	0	12	1	0	0	0	9	4	0	0	0	4	9	0**	0	0	5	7	0*
congestion	11	0	1	1	0	9	0	4	0	0	2	0	11	0	0**	2	0	10	0	0**
extramedullary hematopoiesis	0	1	6	6	0	0	1	5	7	0	0	1	5	7	0	2	1	1	7	1

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

*p<0.05; **p<0.01

Table 23-1 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Urinary bladder)	[10]					[0]					[0]					[11]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria	9	1	0	0	0											11	0	0	0	0
(Liver)	[13]					[0]					[0]					[13]				
deposit of pigment in Kupffer cell	13	0	0	0	0											5	6	2	0	0**
necrosis of hepatocyte in central zone	13	0	0	0	0											11	1	1	0	0
focal necrosis	13	0	0	0	0											12	0	1	0	0
atrophy of hepatocyte	11	0	2	0	0											9	0	4	0	0
lipid droplet in peripheral zone	2	9	2	0	0											4	4	5	0	0
microgranuloma	10	3	0	0	0											7	6	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	12	1	0	0	0											8	5	0	0	0
(Adrenal gland)	[13]					[0]					[0]					[13]				
increase of vacuolation in fascicular zone	11	0	2	0	0											4	0	2	7	0**
hemorrhage in cortex	13	0	0	0	0											12	0	0	1	0
infiltration of neutrophil	13	0	0	0	0											12	0	1	0	0
necrosis of cortical cell in fascicular zone	13	0	0	0	0											12	0	1	0	0
(Thymus)	[13]					[0]					[0]					[12]				
atrophy	7	3	1	1	1											2	2	0	3	5*
necrosis of lymphocyte	12	0	0	0	1											11	0	1	0	0
(Bone marrow)	[13]					[0]					[0]					[13]				
decrease of hemopoietic cell	11	0	1	1	0											8	0	5	0	0
(Brain)	[13]					[0]					[0]					[13]				
abnormality	13	0	0	0	0											13	0	0	0	0
(Heart)	[13]					[0]					[0]					[13]				
abnormality	13	0	0	0	0											13	0	0	0	0
(Ovary)	[1]					[1]					[2]					[0]				
corpus luteum cyst	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0					

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

*p<0.05; **p<0.01

Table 23-2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

Group	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
Grade	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Kidney)	[10]					[9]					[9]					[5]				
regeneration of tubular epithelium in cortex	10	0	0	0	0	8	0	0	1	0	8	0	0	1	0	5	0	0	0	0
cell debris in tubular lumen / tubular necrosis	10	0	0	0	0	8	0	0	1	0	8	0	0	1	0	5	0	0	0	0
calcification in tubular lumen of cortex	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
regeneration of tubular epithelium in medulla	10	0	0	0	0	8	0	1	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
vacuolar degeneration of tubular epithelium in cortex	10	0	0	0	0	6	2	1	0	0	8	0	0	1	0	2	0	3	0	0
lipid droplet in tubular epithelium	10	0	0	0	0	5	1	2	1	0	5	3	0	1	0	4	1	0	0	0
infiltration of neutrophil in medulla	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
infiltration of neutrophil in pelvic mucosa	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
dilatation of tubule	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
intracytoplasmic inclusion body in proximal tubule	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
hemorrhage into the tubular lumen	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
cast in the tubular lumen	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
thrombus in glomerulus	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
intracytoplasmic inclusion body in collecting tubule	10	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
atrophic/regenerated tubule	9	1	0	0	0	8	1	0	0	0	9	0	0	0	0	3	2	0	0	0
focal dilatation of tubule in medulla	9	1	0	0	0	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	5	0	0	0	0
(Spleen)	[10]					[9]					[9]					[5]				
atrophy of follicle	10	0	0	0	0	8	0	1	0	0	8	0	1	0	0	5	0	0	0	0
deposit of pigment	0	0	10	0	0	0	0	7	2	0	0	0	3	6	0	0	0	3	2	0
congestion	9	0	1	0	0	5	0	4	0	0	1	0	8	0	0	0	0	5	0	0
extramedullary hematopoiesis	0	0	4	6	0	0	0	4	5	0	0	0	3	6	0	0	0	0	5	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-2 (Continued)
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Subjected to autopsy on day 4 of lactation)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Urinary bladder)	[8]					[0]					[0]					[5]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria	7	1	0	0	0											5	0	0	0	0
(Liver)	[10]					[0]					[0]					[5]				
deposit of pigment in Kupffer cell	10	0	0	0	0											3	2	0	0	0
necrosis of hepatocyte in central zone	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
focal necrosis	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
atrophy of hepatocyte	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
lipid droplet in peripheral zone	2	7	1	0	0											2	2	1	0	0
microgranuloma	8	2	0	0	0											1	4	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	9	1	0	0	0											2	3	0	0	0
(Adrenal gland)	[10]					[0]					[0]					[5]				
increase of vacuolation in fascicular zone	10	0	0	0	0											4	0	0	1	0
hemorrhage in cortex	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
infiltration of neutrophil	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
necrosis of cortical cell in fascicular zone	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Thymus)	[10]					[0]					[0]					[5]				
atrophy	6	3	0	1	0											2	2	0	1	0
necrosis of lymphocyte	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Bone marrow)	[10]					[0]					[0]					[5]				
decrease of hemopoietic cell	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Brain)	[10]					[0]					[0]					[5]				
abnormality	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Heart)	[10]					[0]					[0]					[5]				
abnormality	10	0	0	0	0											5	0	0	0	0
(Ovary)	[0]					[0]					[0]					[0]				
corpus luteum cyst																				

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe
[], Number of animals examined

Table 23-3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Sacrificed or died during delivery)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Kidney)	[1]					[0]					[0]					[0]				
regeneration of tubular epithelium in cortex	1	0	0	0	0															
cell debris in tubular lumen / tubular necrosis	1	0	0	0	0															
calcification in tubular lumen of cortex	1	0	0	0	0															
regeneration of tubular epithelium in medulla	1	0	0	0	0															
vacuolar degeneration of tubular epithelium in cortex	1	0	0	0	0															
lipid droplet in tubular epithelium	0	0	0	1	0															
infiltration of neutrophil in medulla	1	0	0	0	0															
infiltration of neutrophil in pelvic mucosa	1	0	0	0	0															
dilatation of tubule	1	0	0	0	0															
intracytoplasmic inclusion body in proximal tubule	0	0	0	1	0															
hemorrhage into the tubular lumen	1	0	0	0	0															
cast in the tubular lumen	0	0	0	1	0															
thrombus in glomerulus	0	0	1	0	0															
intracytoplasmic inclusion body in collecting tubule	1	0	0	0	0															
atrophic/regenerated tubule	1	0	0	0	0															
focal dilatation of tubule in medulla	1	0	0	0	0															
(Spleen)	[1]					[0]					[0]					[0]				
atrophy of follicle	1	0	0	0	0															
deposit of pigment	0	0	1	0	0															
congestion	0	0	0	1	0															
extramedullary hematopoiesis	0	0	1	0	0															

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[]. Number of animals examined

Table 23-3 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Sacrificed or died during delivery)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Urinary bladder)	[1]					[0]					[0]					[0]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria	1	0	0	0	0															
(Liver)	[1]					[0]					[0]					[0]				
deposit of pigment in Kupffer cell	1	0	0	0	0															
necrosis of hepatocyte in central zone	1	0	0	0	0															
focal necrosis	1	0	0	0	0															
atrophy of hepatocyte	0	0	1	0	0															
lipid droplet in peripheral zone	0	1	0	0	0															
microgranuloma	1	0	0	0	0															
extramedullary hematopoiesis	1	0	0	0	0															
(Adrenal gland)	[1]					[0]					[0]					[0]				
increase of vacuolation in fascicular zone	0	0	1	0	0															
hemorrhage in cortex	1	0	0	0	0															
infiltration of neutrophil	1	0	0	0	0															
necrosis of cortical cell in fascicular zone	1	0	0	0	0															
(Thymus)	[1]					[0]					[0]					[0]				
atrophy	0	0	1	0	0															
necrosis of lymphocyte	0	0	0	0	1															
(Bone marrow)	[1]					[0]					[0]					[0]				
decrease of hemopoietic cell	0	0	1	0	0															
(Brain)	[1]					[0]					[0]					[0]				
abnormality	1	0	0	0	0															
(Heart)	[1]					[0]					[0]					[0]				
abnormality	1	0	0	0	0															
(Ovary)	[0]					[0]					[0]					[0]				
corpus luteum cyst																				

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-4

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Sacrificed or died during lactation)

Group	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg					
Grade	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	
(Kidney)	[0]					[0]					[0]					[1]					
regeneration of tubular epithelium in cortex																	0	0	0	1	0
cell debris in tubular lumen / tubular necrosis																	0	0	0	1	0
calcification in tubular lumen of cortex																	0	1	0	0	0
regeneration of tubular epithelium in medulla																	0	1	0	0	0
vacuolar degeneration of tubular epithelium in cortex																	0	0	0	1	0
lipid droplet in tubular epithelium																	0	0	0	1	0
infiltration of neutrophil in medulla																	1	0	0	0	0
infiltration of neutrophil in pelvic mucosa																	1	0	0	0	0
dilatation of tubule																	1	0	0	0	0
intracytoplasmic inclusion body in proximal tubule																	0	0	1	0	0
hemorrhage into the tubular lumen																	0	0	1	0	0
cast in the tubular lumen																	0	0	0	1	0
thrombus in glomerulus																	1	0	0	0	0
intracytoplasmic inclusion body in collecting tubule																	1	0	0	0	0
atrophic/regenerated tubule																	1	0	0	0	0
focal dilatation of tubule in medulla																	1	0	0	0	0
(Spleen)	[0]					[0]					[0]					[1]					
atrophy of follicle																	0	0	1	0	0
deposit of pigment																	0	0	0	1	0
congestion																	0	0	1	0	0
extramedullary hematopoiesis																	1	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-4 (Continued)
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Sacrificed or died during lactation)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Urinary bladder)	[0]					[0]					[0]					[1]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria																1	0	0	0	0
(Liver)	[0]					[0]					[0]					[1]				
deposit of pigment in Kupffer cell																0	0	1	0	0
necrosis of hepatocyte in central zone																0	0	1	0	0
focal necrosis																1	0	0	0	0
atrophy of hepatocyte																0	0	1	0	0
lipid droplet in peripheral zone																0	1	0	0	0
microgranuloma																1	0	0	0	0
extramedullary hematopoiesis																1	0	0	0	0
(Adrenal gland)	[0]					[0]					[0]					[1]				
increase of vacuolation in fascicular zone																0	0	0	1	0
hemorrhage in cortex																1	0	0	0	0
infiltration of neutrophil																1	0	0	0	0
necrosis of cortical cell in fascicular zone																0	0	1	0	0
(Thymus)	[0]					[0]					[0]					[1]				
atrophy																0	0	0	0	1
necrosis of lymphocyte																1	0	0	0	0
(Bone marrow)	[0]					[0]					[0]					[1]				
decrease of hemopoietic cell																0	0	1	0	0
(Brain)	[0]					[0]					[0]					[1]				
abnormality																1	0	0	0	0
(Heart)	[0]					[0]					[0]					[1]				
abnormality																1	0	0	0	0
(Ovary)	[0]					[0]					[0]					[0]				
corpus luteum cyst																				

- , Negative; ± , Very slight; + , Slight; ++ , Moderate; +++ , Severe
[], Number of animals examined

Table 23-5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Complete litter loss)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Kidney)	[1]					[3]					[2]					[7]				
regeneration of tubular epithelium in cortex	0	0	0	1	0	0	0	1	2	0	1	0	0	1	0	0	0	2	5	0
cell debris in tubular lumen / tubular necrosis	0	0	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	1	0	0	1	2	3	1
calcification in tubular lumen of cortex	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	4	0	3	0	0
regeneration of tubular epithelium in medulla	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	3	4	0	0
vacuolar degeneration of tubular epithelium in cortex	1	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	1	1	0	2	0	2	3	0
lipid droplet in tubular epithelium	0	0	1	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	1	0	0	0	2	5	0
infiltration of neutrophil in medulla	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	7	0	0	0	0
infiltration of neutrophil in pelvic mucosa	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	7	0	0	0	0
dilatation of tubule	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	3	0	4	0	0
intracytoplasmic inclusion body in proximal tubule	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	7	0	0	0	0
hemorrhage into the tubular lumen	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	7	0	0	0	0
cast in the tubular lumen	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0	1	0	0	6	0	0	1	0
thrombus in glomerulus	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	7	0	0	0	0
intracytoplasmic inclusion body in collecting tubule	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	6	0	1	0	0
atrophic/regenerated tubule	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	7	0	0	0	0
focal dilatation of tubule in medulla	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	6	0	1	0	0
(Spleen)	[1]					[3]					[2]					[8]				
atrophy of follicle	0	0	0	0	1	2	0	0	1	0	1	0	0	1	0	3	1	0	2	0
deposit of pigment	0	0	0	1	0	0	0	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0	2	4	0
congestion	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	0	4	0	0
extramedullary hematopoiesis	0	1	0	0	0	0	1	0	2	0	0	1	0	1	0	1	1	1	2	1

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-5 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Complete litter loss)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Urinary bladder)	[0]					[0]					[0]					[5]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria																5	0	0	0	0
(Liver)	[1]					[0]					[0]					[7]				
deposit of pigment in Kupffer cell	1	0	0	0	0											2	4	1	0	0
necrosis of hepatocyte in central zone	1	0	0	0	0											6	1	0	0	0
focal necrosis	1	0	0	0	0											6	0	1	0	0
atrophy of hepatocyte	0	0	1	0	0											4	0	3	0	0
lipid droplet in peripheral zone	0	1	0	0	0											2	1	4	0	0
microgranuloma	1	0	0	0	0											5	2	0	0	0
extramedullary hematopoiesis	1	0	0	0	0											5	2	0	0	0
(Adrenal gland)	[1]					[0]					[0]					[7]				
increase of vacuolation in fascicular zone	0	0	1	0	0											0	0	2	5	0
hemorrhage in cortex	1	0	0	0	0											6	0	0	1	0
infiltration of neutrophil	1	0	0	0	0											6	0	1	0	0
necrosis of cortical cell in fascicular zone	1	0	0	0	0											7	0	0	0	0
(Thymus)	[1]					[0]					[0]					[6]				
atrophy	0	0	0	0	1											0	0	0	2	4
necrosis of lymphocyte	1	0	0	0	0											5	0	1	0	0
(Bone marrow)	[1]					[0]					[0]					[7]				
decrease of hemopoietic cell	0	0	0	1	0											3	0	4	0	0
(Brain)	[1]					[0]					[0]					[7]				
abnormality	1	0	0	0	0											7	0	0	0	0
(Heart)	[1]					[0]					[0]					[7]				
abnormality	1	0	0	0	0											7	0	0	0	0
(Ovary)	[0]					[0]					[0]					[0]				
corpus luteum cyst																				

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Not pregnant)

Group	Control	40 mg/kg	200 mg/kg	1000 mg/kg
Grade	- ± + ++ +++	- ± + ++ +++	- ± + ++ +++	- ± + ++ +++
(Kidney)	[0]	[1]	[2]	[0]
regeneration of tubular epithelium in cortex		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
cell debris in tubular lumen / tubular necrosis		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
calcification in tubular lumen of cortex		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
regeneration of tubular epithelium in medulla		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
vacuolar degeneration of tubular epithelium in cortex		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
lipid droplet in tubular epithelium		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
infiltration of neutrophil in medulla		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
infiltration of neutrophil in pelvic mucosa		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
dilatation of tubule		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
intracytoplasmic inclusion body in proximal tubule		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
hemorrhage into the tubular lumen		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
cast in the tubular lumen		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
thrombus in glomerulus		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
intracytoplasmic inclusion body in collecting tubule		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
atrophic/regenerated tubule		0 1 0 0 0	0 2 0 0 0	
focal dilatation of tubule in medulla		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
(Spleen)	[0]	[1]	[2]	[0]
atrophy of follicle		1 0 0 0 0	2 0 0 0 0	
deposit of pigment		0 0 0 1 0	0 0 0 2 0	
congestion		1 0 0 0 0	0 0 2 0 0	
extramedullary hematopoiesis		0 0 1 0 0	0 0 2 0 0	

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-6 (Continued)

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Not pregnant)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Urinary bladder)	[0]					[0]					[0]					[0]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria																				
(Liver)	[0]					[0]					[0]					[0]				
deposit of pigment in Kupffer cell																				
necrosis of hepatocyte in central zone																				
focal necrosis																				
atrophy of hepatocyte																				
lipid droplet in peripheral zone																				
microgranuloma																				
extramedullary hematopoiesis																				
(Adrenal gland)	[0]					[0]					[0]					[0]				
increase of vacuolation in fascicular zone																				
hemorrhage in cortex																				
infiltration of neutrophil																				
necrosis of cortical cell in fascicular zone																				
(Thymus)	[0]					[0]					[0]					[0]				
atrophy																				
necrosis of lymphocyte																				
(Bone marrow)	[0]					[0]					[0]					[0]				
decrease of hemopoietic cell																				
(Brain)	[0]					[0]					[0]					[0]				
abnormality																				
(Heart)	[0]					[0]					[0]					[0]				
abnormality																				
(Ovary)	[0]					[1]					[2]					[0]				
corpus luteum cyst						0	0	1	0	0	1	0	1	0	0					

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Not copulated)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Kidney)	[1]					[0]					[0]					[0]				
regeneration of tubular epithelium in cortex	1	0	0	0	0															
cell debris in tubular lumen / tubular necrosis	1	0	0	0	0															
calcification in tubular lumen of cortex	1	0	0	0	0															
regeneration of tubular epithelium in medulla	1	0	0	0	0															
vacuolar degeneration of tubular epithelium in cortex	1	0	0	0	0															
lipid droplet in tubular epithelium	1	0	0	0	0															
infiltration of neutrophil in medulla	1	0	0	0	0															
infiltration of neutrophil in pelvic mucosa	1	0	0	0	0															
dilatation of tubule	1	0	0	0	0															
intracytoplasmic inclusion body in proximal tubule	1	0	0	0	0															
hemorrhage into the tubular lumen	1	0	0	0	0															
cast in the tubular lumen	1	0	0	0	0															
thrombus in glomerulus	1	0	0	0	0															
intracytoplasmic inclusion body in collecting tubule	1	0	0	0	0															
atrophic/regenerated tubule	0	1	0	0	0															
focal dilatation of tubule in medulla	1	0	0	0	0															
(Spleen)	[1]					[0]					[0]					[0]				
atrophy of follicle	1	0	0	0	0															
deposit of pigment	0	0	1	0	0															
congestion	1	0	0	0	0															
extramedullary hematopoiesis	0	0	1	0	0															

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe

[], Number of animals examined

Table 23-7 (Continued)
Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone

Summary of histopathological findings in Fo females (Not copulated)

Group Grade	Control					40 mg/kg					200 mg/kg					1000 mg/kg				
	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++
(Urinary bladder)	[1]					[0]					[0]					[0]				
infiltration of lymphocyte in lamina propria	1	0	0	0	0															
(Liver)	[1]					[0]					[0]					[0]				
deposit of pigment in Kupffer cell	1	0	0	0	0															
necrosis of hepatocyte in central zone	1	0	0	0	0															
focal necrosis	1	0	0	0	0															
atrophy of hepatocyte	1	0	0	0	0															
lipid droplet in peripheral zone	0	0	1	0	0															
microgranuloma	0	1	0	0	0															
extramedullary hematopoiesis	1	0	0	0	0															
(Adrenal gland)	[1]					[0]					[0]					[0]				
increase of vacuolation in fascicular zone	1	0	0	0	0															
hemorrhage in cortex	1	0	0	0	0															
infiltration of neutrophil	1	0	0	0	0															
necrosis of cortical cell in fascicular zone	1	0	0	0	0															
(Thymus)	[1]					[0]					[0]					[0]				
atrophy	1	0	0	0	0															
necrosis of lymphocyte	1	0	0	0	0															
(Bone marrow)	[1]					[0]					[0]					[0]				
decrease of hemopoietic cell	1	0	0	0	0															
(Brain)	[1]					[0]					[0]					[0]				
abnormality	1	0	0	0	0															
(Heart)	[1]					[0]					[0]					[0]				
abnormality	1	0	0	0	0															
(Ovary)	[1]					[0]					[0]					[0]				
corpus luteum cyst	1	0	0	0	0															

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe
[], Number of animals examined

Table 24

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of reproductive performance

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Number of mated pairs	13	13	13	13
Number of copulated pairs	12	13	13	13
Copulation index A)	92.3	100.0	100.0	100.0
Number of pregnant animals	12	12	11	13
Fertility index B)	100.0	92.3	84.6	100.0
Pairing days until copulation Mean $\pm$ S.D.	2.0 $\pm$ 1.0	2.2 $\pm$ 1.1	2.5 $\pm$ 1.6	2.8 $\pm$ 1.3
Times of vaginal estrous Mean $\pm$ S.D.	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	1.0 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.3

A): Copulation index = (Number of copulated pairs / Number of mated pairs) $\times$ 100 ; %B): Fertility index = (Number of pregnant animals / Number of copulated pairs) $\times$ 100 ; %

Vehicle control: Corn oil

Table 25

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of development of F₁ pups up to day 4 of lactation; Mean $\pm$ S.D.

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Number of pregnant females	12	12	11	13
Number of pregnant females with live pups	11	12	11	13
Gestation index A)	91.7	100.0	100.0	100.0
Gestation length in days	21.4 $\pm$ 0.5 (11)	21.4 $\pm$ 0.5 (12)	21.5 $\pm$ 0.5 (11)	21.5 $\pm$ 0.5 (13)
Number of corpora lutea	16.4 $\pm$ 1.8 (12)	16.9 $\pm$ 1.9 (12)	15.8 $\pm$ 2.6 (11)	16.5 $\pm$ 2.9 (13)
Number of implantation sites	13.8 $\pm$ 3.2 (12)	14.4 $\pm$ 4.0 (12)	14.7 $\pm$ 1.8 (11)	15.7 $\pm$ 2.9 (13)
Implantation index B)	84.7 $\pm$ 21.0 (12)	84.8 $\pm$ 19.3 (12)	94.1 $\pm$ 10.1 (11)	95.2 $\pm$ 8.5 (13)
Day 0 of lactation				
Number of pups born	11.1 $\pm$ 4.6 (12)	13.3 $\pm$ 3.9 (12)	12.7 $\pm$ 1.6 (11)	14.5 $\pm$ 2.9 (13)*
Delivery index C)	82.1 $\pm$ 27.5 (12)	91.4 $\pm$ 9.7 (12)	86.9 $\pm$ 9.1 (11)	92.5 $\pm$ 6.5 (13)
Number of live pups	11.5 $\pm$ 2.9 (11)	12.6 $\pm$ 3.6 (12)	11.9 $\pm$ 2.9 (11)	11.5 $\pm$ 3.7 (13)
Birth index D)	86.0 $\pm$ 11.6 (11)	87.5 $\pm$ 11.2 (12)	80.3 $\pm$ 16.4 (11)	73.9 $\pm$ 20.3 (13)
Live birth index E)	96.0 $\pm$ 7.5 (11)	95.6 $\pm$ 5.9 (12)	93.0 $\pm$ 17.4 (11)	80.9 $\pm$ 24.1 (13)
Sex ratio F)	44.4 $\pm$ 8.9 (11)	46.6 $\pm$ 15.0 (12)	53.6 $\pm$ 19.1 (11)	51.3 $\pm$ 7.1 (13)
Day 4 of lactation				
Number of live pups	10.3 $\pm$ 4.4 (11)	8.2 $\pm$ 5.9 (12)	9.0 $\pm$ 5.5 (11)	4.8 $\pm$ 6.5 (12)
Viability index G)	90.9 $\pm$ 30.2 (11)	68.8 $\pm$ 43.7 (12)	73.2 $\pm$ 42.7 (11)	40.6 $\pm$ 50.3 (12)

Parenthesis indicates the number of litters evaluated

A): Gestation index = (Number of pregnant females with pups alive / Number of pregnant females) $\times$ 100 ; %B): Implantation index = (Number of implantation sites / Number of corpora lutea) $\times$ 100 ; %C): Delivery index = (Number of pups born / Number of implantation sites) $\times$ 100 ; %D): Birth index = (Number of pups alive on Day 0 / Number of implantation sites) $\times$ 100 ; %E): Live birth index = (Number of pups alive on Day 0 / Number of pups born) $\times$ 100 ; %F): Sex ratio = (Number of male pups alive on Day 0 / Number of pups alive on Day 0) $\times$ 100 ; %G): Viability index = (Number of pups alive on Day 4 / Number of pups alive on Day 0) $\times$ 100 ; %

Vehicle control : corn oil

*:Significant difference from control, $p < 0.01$

Table 26

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Body weight of F₁ pups up to day 4 of lactation; Mean±S.D.

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
Day 0 (At birth)				
No. of live pups	11.5 ± 2.9 (11)	12.6 ± 3.6 (12)	11.9 ± 2.9 (11)	11.5 ± 3.7 (13)
Male	5.2 ± 1.7	5.8 ± 2.0	6.1 ± 2.1	5.8 ± 1.9
Female	6.4 ± 1.6	6.8 ± 2.7	5.8 ± 3.0	5.6 ± 2.2
Weight of pup in grams				
Male	6.8 ± 0.7	6.4 ± 0.8	6.6 ± 0.3	6.3 ± 0.8
Female	6.3 ± 0.5	6.1 ± 0.8	6.2 ± 0.4	5.8 ± 0.7
Day 4				
No. of live pups	11.3 ± 2.9 (10)	10.9 ± 3.8 (9)	11.0 ± 3.6 (9)	11.4 ± 4.5 (5)
Male	5.1 ± 1.8	4.7 ± 1.7	5.7 ± 2.3	5.0 ± 2.0
Female	6.2 ± 1.6	6.2 ± 3.0	5.3 ± 2.8	6.4 ± 2.7
Weight of pup in grams				
Male	10.6 ± 2.2	9.9 ± 3.0	9.6 ± 2.2	10.3 ± 2.2
Female	10.0 ± 1.7	9.4 ± 2.8	9.2 ± 2.2	9.8 ± 2.0

Parenthesis indicates the number of litters evaluated

Vehicle control : Corn oil

Table 27

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of morphological observation of pups

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
No. of pups examined				
<u>External observation</u>	113	98	99	57
<u>Visceral observation</u>	113	98	99	57
No. of pups showing abnormalities				
<u>External abnormalities</u>	0	0	0	0
<u>Visceral abnormalities</u>				
Major abnormalities	0	0	0	0
Minor abnormalities	0	0	0	6
Types and frequencies (%) of viscerle abnormalities				
Colored milk in the stomach				10.5

Vehicle control : Corn oil

Table 28

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1-aminoanthraquinone in rats

Summary of morphological observation of F₁ dead pups

Compounds	Vehicle control	1-AAQ	1-AAQ	1-AAQ
Dose groups (mg/kg)	0	40	200	1000
No. of dead pups examined				
<u>External observation</u>	13	35	4	88
<u>Visceral observation</u>	13	21	4	72
No. of dead pups showing abnormalities				
<u>External abnormalities</u>	1	0	0	0
<u>Visceral abnormalities</u>				
Major abnormalities	0	0	0	0
Minor abnormalities	0	0	0	0
Types and frequencies (%) of external abnormalities				
micrognathia	7.7			
microglossia	7.7			
cleft palate	7.7			

Vehicle control : Corn oil