
1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6
(1H,3H,5H)-トリオノのラットを用いる経口投与による
反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

最終報告書

作成日 2000年8月29日

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

目次

| | | |
|--------------------------------|-------|----|
| 要約 | | 12 |
| 緒言 | | 14 |
| 方法 | | |
| 1. 被験物質および媒体 | | 14 |
| 2. 投与検体および濃度確認 | | 14 |
| 3. 使用動物および飼育条件 | | 15 |
| 4. 投与経路, 投与方法, 群構成, 投与量および投与期間 | | 16 |
| 5. 観察および検査項目 | | 17 |
| 6. 統計学的方法 | | 21 |
| 結果 | | |
| I . 反復投与毒性 | | 22 |
| 1 . 雄(P)に及ぼす影響 | | 22 |
| 2 . 雌(P)に及ぼす影響 | | 23 |
| II . 生殖発生毒性 | | 24 |
| 1 . 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響 | | 24 |
| 2 . 新生児(F ₁)に及ぼす影響 | | 25 |
| 考察 | | 26 |
| 文献 | | 27 |

Attachment, Table, Fig.およびAppendixの目次

| |
|---|
| Table 1-1 General signs of male rats (P) in combined repeat dose ~ 1-4 and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- by oral administration 30~ 33 |
| Table 2 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5- tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration 34 |
| Table 3 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5- tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration 35 |
| Table 4-1 Urinary examination of male rats (P) in combined repeat dose ~ 4-2 and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- by oral administration 36~ 37 |
| Table 5 Hematological examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration 38 |
| Table 6 Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration 39 |
| Table 7 Necropsy findings of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- by oral administration 40 |

| | | |
|------------|--|--------|
| Table 8 | Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 41 |
| Table 9 | Histopathological findings of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 42 |
| Table 10-1 | General signs of female rats (P) in combined repeat dose ~10-2 and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 43~ 44 |
| Table 11-1 | General signs of dams (P) during pregnancy period in ~11-2 combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 45~ 46 |
| Table 12 | General signs of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 47 |
| Table 13 | Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 48 |
| Table 14 | Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 49 |
| Table 15 | Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 50 |

| | | |
|----------|---|----|
| Table 16 | Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 51 |
| Table 17 | Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 52 |
| Table 18 | Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 53 |
| Table 19 | Necropsy findings of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 54 |
| Table 20 | Organ weight of dams (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 55 |
| Table 21 | Histopathological findings of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 56 |
| Table 22 | Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 57 |
| Table 23 | Observation of pups (F1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 58 |

| | | |
|----------|--|----------|
| Table 24 | Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6 (1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 59 |
| Table 25 | Necropsy findings of pups (F1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6 (1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 60 |
| Fig. 1 | Chemical structure of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)- trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | 61 |
| Fig. 2 | Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5- tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 62 |
| Fig. 3 | Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5- tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 63 |
| Fig. 4 | Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5- tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 64 |
| Fig. 5 | Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/ developmental toxicity screening test of 1,3,5- triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- by oral administration | 65 |
| Fig. 6 | Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5- tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 66 |

| | | |
|--------|--|----------|
| Fig. 7 | Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 67 |
| Fig. 8 | Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration | 68 |

要約

1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する毒性影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、1000 mg/kgを最高用量とし、以下公比約3により300, 100および30 mg/kgとした。対照として媒体(注射用水)投与群を設けた。なお、各群の使用動物数は雌雄各12例とした。

I. 反復投与毒性

1. 雄(P)に及ぼす影響

一般状態：いずれの群とも死亡および瀕死例は認められなかった。いずれの群とも、一般状態に異常はみられなかった。

体重：投与に起因する変化はみられなかった。

摂餌量：投与に起因する変化はみられなかった。

尿検査：投与に起因する変化はみられなかった。

血液学検査：投与に起因する変化はみられなかった。

血液生化学検査：投与に起因する変化はみられなかった。

剖検：投与に起因する変化はみられなかった。

器官重量：投与に起因する変化はみられなかった。

病理組織学検査：投与に起因する変化はみられなかった。

2. 雌(P)に及ぼす影響

一般状態：いずれの群とも死亡および瀕死例は認められなかった。いずれの群とも、一般状態に異常はみられなかった。

体重：投与に起因する変化はみられなかった。

摂餌量：投与に起因する変化はみられなかった。

剖検：投与に起因する変化はみられなかった。

器官重量：投与に起因する変化はみられなかった。

病理組織学検査：肝臓において1000 mg/kg群で髄外造血が2例みられた。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

病理組織学検査：精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、腔および乳腺に投与に起因する変化はみられなかった。

発情回数、交尾率、交尾所要日数：投与に起因する変化はみられなかった。

受胎雌数，妊娠期間，分娩状態，哺育状態：投与に起因する変化はみられなかった。

受胎率：投与に起因する変化はみられなかった。

妊娠黄体数，着床数，着床率：投与に起因する変化はみられなかった。

出産率：投与に起因する変化はみられなかった。

2.新生児(F_1)に及ぼす影響

総出産児数，死産児数，哺育0日の新生児数，哺育0日の性比，分娩率，児の産出率，出生率：投与に起因する変化はみられなかった。

一般状態：投与に起因する変化はみられなかった。

哺育4日の生存児数，哺育4日の性比，哺育4日の生存率：投与に起因する変化はみられなかった。

外観観察：投与に起因する変化はみられなかった。

体重：投与に起因する変化はみられなかった。

剖検：投与に起因する変化はみられなかった。

以上のように，1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンの一般毒性学的無影響量は，雄では1000 mg/kg投与しても毒性学的影響が認められなかつたことから1000 mg/kg/dayと考えられる。また，雌では1000 mg/kg投与により肝臓に髄外造血が認められたことから300 mg/kg/dayと考えられる。生殖発生毒性学的無影響量は，1000 mg/kg投与しても雌雄親動物，児動物とも影響は認められなかつたことからいずれも1000 mg/kg/dayと考えられる。

緒言

1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンが継続的に人に摂取された場合の健康への影響を推定するために，OECD Guideline for Testing of Chemicals for Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Testに従って1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンを雄ラットに1日1回，49日間および雌ラットに1日1回，40～46日間経口投与した反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い，雌雄動物に対する毒性影響を検討するとともに，性腺機能，交尾行動，受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。

方法

1. 被験物質および媒体

被験物質の1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオン(CAS No.839-90-7)は，Fig.1に示す化学構造を有し，分子量：261.24，融点：135 °Cであり，融点以上の温度(180 °C, 3 mmHg)で分解し，沸点に至らない。分解温度は296 °Cであり，また，水(120 g/100 g, 25 °C)，アセトン(1.9 g/100 g, 25 °C)そしてメタノール(20 g/100 g, 25 °C)に溶解する非揮発性白色結晶粉末である。当試験には，1998年10月1日に厚生省生活衛生局企画課 生活化学安全対策室から提供されたものを用いた[製造元：
Lot No. 純度：99.0 %，ただし，不純物として，イソシアヌル酸を含む]。入手後は，試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温・遮光条件下で保管した。なお，投与期間終了後に当試験施設での保管分を除いた残余被験物質は
に返却し，その一部について分析した結果，使用期間中の安定性が確認された。

媒体として，注射用水を用いた。注射用水(株式会社大塚製薬工場，Lot No.9A79，入手日：1999年4月8日，使用期限：2004年1月)は，入手後，試験施設の被験物質保管室に室温条件下で保管した。

2. 投与検体および濃度確認

1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンは，各濃度ごとに注射用水で溶解して調製した。なお，2, 20および200 mg/mLの調製液は，室温・遮光条件下で7日間保存しても安定性に問題のないことが確認されていたため¹⁾(Attachment 1)，各濃度の調製液は調製後，1日分ごとに小分けし，室温・遮光条件下で保管し，調製後7日以内に使用した。投与後の残余投与検体は廃棄した。なお，調製に際して，被験物質の純度による換算は実施しなかった。

投与開始日に使用した各投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で高速液体クロマトグ

ラフを用いて測定した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の101.2～102.8 %であり、濃度に問題はなかった(Attachment 2)。

3. 使用動物および飼育条件

1) 動物種および系統

試験には、毒性試験に汎用されているSprague-Dawley系雌雄ラット [(SPF), Crj : CD (SD)IGS] を用いた。動物は、1999年5月12日に日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から8週齢で雌雄各73匹を購入した。入手後1日の体重範囲は、雄が258～288 g、雌が201～229 gであった。

2) 検疫および馴化、群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、5日間の検疫期間およびその後7日間の馴化期間を設けた。この間に、3回の体重測定および毎日一般状態の観察を、さらに雌は馴化期間中に7日間の性周期観察を行った。一般状態および体重推移に異常がみられず、また性周期観察で異常が認められなかつた動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与開始日に行った。群分け後の残余動物のうち、検疫・馴化動物番号の若い順に雄2例を選び、飼育期間終了時に微生物モニタリング検査に用いた。その他の残余動物は、投与開始日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄処分した。

動物の個体識別は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクによる記入法および色素塗布法を、群分け後は色素塗布法および耳パンチ法を併用して行った。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日、性別および検疫・馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、性別、動物番号および交尾成立日(雌のみ)を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

3) 環境条件および飼育管理

動物は、室温20～26 °C(実測値：20～23 °C)、湿度40～70 %(実測値：48～67 %)、明暗各12時間(照明：午前6時～午後6時)、換気回数12回／時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持されている飼育室(E棟4号室、ただし、検疫はE棟2号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中はステンレス製懸垂式ケージ(W: 240×D: 380×H: 200 mm)を用いて1ケージ当たり5匹までの雌雄別群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ(W: 755×D: 210×H: 170 mm)を用いて個別飼育した。ただし、交配はステンレス製懸垂式ケージ内で行った。母動物は、妊娠18日以降オートクレーブ処理した床敷(サンフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)を入れたプラスチック製ケージ(W: 310×D: 360×H: 175 mm)で個別飼育し、自然分娩および哺育させた。ケージの受け皿、給水瓶およびプラスチック製ケージの交換は1週間に2回以上、ステンレス製懸垂式ケージ、ステンレス製五連ケージおよび給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお、動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)および0.02 %次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。飼育期間終了時に採血したモニタリング動物の血清検査において、感染を示唆するような異常

はみられなかった。

床敷の微量金属および汚染物質の分析結果は、ほぼ6カ月ごとに財団法人日本食品分析センターで実施した成績を日本チャールス・リバー株式会社から入手した。その分析結果は、試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4) 飼料および飲料水

飼料は、入手後3カ月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ、自由に摂取させた。使用した飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センターおよびオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ6カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査結果は、いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路、投与方法、群構成、投与量および投与期間

1) 投与経路および投与方法

1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたポリプロピレン製ディスポーザブル注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、雄では投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。雌では、交配前および交配期間中は投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を、妊娠期間中は妊娠0, 7, 14および21日の体重を、授乳期間中は哺育0日の体重を基準とし、5 mL/kgで算出した。投与時刻は午前8時31分～11時30分の間で、投与回数は1日1回とした。

投与開始日の週齢は雌雄とも10週齢であり、体重範囲は雄が335～364 g、雌が233～263 gであった。

2) 群構成および投与量

群構成は、以下に示したように被験物質投与群として4群を設定し、その他に対照群を設けた。1群の動物数は、雌雄それぞれ12匹とした。

| 群 | 試験群 | 投与量 (濃度) | 雄(動物番号) | 雌(動物番号) |
|-----|---|---------------------------|-------------|-------------|
| 第1群 | 対照(注射用水) | 0 mg/kg (0 mg/mL) | 12(001~012) | 12(051~062) |
| 第2群 | 1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアゾン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオノン | 30 mg/kg (6 mg/mL) | 12(101~112) | 12(151~162) |
| 第3群 | 1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアゾン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオノン | 100 mg/kg (20 mg/mL) | 12(201~212) | 12(251~262) |
| 第4群 | 1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアゾン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオノン | 300 mg/kg (60 mg/mL) | 12(301~312) | 12(351~362) |
| 第5群 | 1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアゾン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオノン | 1000 mg/kg (200 mg/mL) | 12(401~412) | 12(451~462) |

投与量は、雄ラットを用いた2週間経口投与による予備試験²⁾(投与段階: 0, 125, 250, 500および1000 mg/kg)の結果により決定した。すなわち、死亡はいずれの群にも認められず、一般状態、体重、摂餌量および剖検にも異常はみられなかった。そこで、当試験では、OECDガイドラインで限界用量とされている1000 mg/kgを最高用量とし、以下公比約3により300, 100および30 mg/kgとした。また、対照として媒体(注射用水)のみを同容量投与する群を設けた。

3) 投与期間

投与期間は、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Combined Repeat Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Testに従って、雄では交配前14日間とその後35日間の合計49日間とし、雌では交配前14日間、交配期間中(最長14日間)、妊娠期間中および哺育3日までの合計40~46日間とした。なお、投与開始日を投与1日とした。

5. 観察および検査項目

1) 雄(P)

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は、投与前・後の1日2回(ただし、剖検日は剖検前1回)観察した。

(2) 体重測定

体重は、1週間に2回測定した(測定日: 投与1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 43, 46, 49日および剖検日)。

(3) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前14日間および交配期間終了後に1週間に2回測定した(残量測定日: 投与3, 6, 10, 13, 31, 34, 38, 41, 45および48日)。なお、剖検前日の午後4時頃からは絶食とした。

(4) 尿検査

投与期間終了前に採尿ケージを用いて絶食・給水下で3時間で採取した尿(3時間尿)と引き続いて給餌・給水下で21時間で採取した尿(21時間尿)ならびにそれらを合計した尿(24時間尿)について、以下の検査を実施した。なお、検査後の尿は廃棄した。

3時間尿：色調は、外観判定とした。pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲンは、尿検査試験紙(ウロペーパーII 栄研7、栄研化学株式会社)に尿を滴下後に尿自動分析装置(US-2100、栄研化学株式会社)を用いて検査した。尿沈渣は、沈渣を尿沈渣染色液で染色後に顕微鏡下で観察した。なお、採尿は、当日の検体投与後に行った。

21時間尿：比重(S.G.)を屈折率により屈折型尿比重計(ユリベット-II D、株式会社ニコン)を用いて測定した。

24時間尿：尿量(UV)を比重と重量から算出した。

(5) 血液学検査

最終投与の翌日にペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/kg)による麻酔下で腹大動脈からカニュレーションにより血液を採取し、以下の血液学検査を実施した。なお、測定後の残余血液は廃棄した。

赤血球数(RBC)、ヘモグロビン量(HGB)、ヘマトクリット値(HCT)、血小板数(PLT)および白血球数(WBC)は、EDTA-2KコーティングしたSysmexサンプルカップに採取した血液について、多項目自動血球計数装置(Sysmex K-4500、シスメックス株式会社)を用いて測定した。さらに、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)および平均赤血球血色素濃度(MCHC)を算出した。

網状赤血球比率(RET)は、EDTA-2K処理した血液をBrecher法により超生体染色してスライドガラスに塗抹後、Giemsa染色標本を作製して顕微鏡下で赤血球1000個中の網状赤球数を計数し、算出した。

白血球百分率は、EDTA-2K処理した血液をスライドグラスに塗抹し、May-Giemsa染色標本を作製して顕微鏡下で白血球100個を分類計数した。

プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)およびフィブリノーゲン濃度(FIB)は、3.13 %クエン酸ナトリウムで処理後、遠心分離(約4 °C, 3000 rpm, 15分間)して得た血漿について、散乱光検出方式により血液凝固分析装置(コアグマスターII、三共株式会社)を用いて測定した。

(6) 血液生化学検査

血液学検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から遠心分離(約4 °C, 3000 rpm, 15分間)して得た血清について、以下の血液生化学検査を実施した。測定用の血清は測定時までは冷凍庫(-80 °C)内に保存し、保存用血清は最終報告書提出時まで冷凍庫(-80 °C)内に保管した。

ASTはMDH-UV法、ALTはLDH-UV法、ALPはp-ニトロフェニルリン酸基質法、γ-GTPはL-γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法、総蛋白(TP)はBiuret法、総ビリルビン(T-Bil)は安定化ジアゾニウム塩法、尿素窒素(UN)はウレアーゼ-GIDH法、クレアチニン

(CRE)はクレアチニナーゼ・F-DAOS法、ブドウ糖(Glu)はヘキソキナーゼ・G-6-PDH法、総コレステロール(T-Chol)はCOD・HDAOS法、トリグリセライド(TG)はGPO・HDAOS法、Caはo-CPC法、無機リン(IP)はPNP・XDH法、Na, KおよびClはイオン選択電極法により、いずれも生化学自動分析装置(AU 400、オリンパス光学工業株式会社)を用いて測定した。

アルブミン量(Alb)は総蛋白量および蛋白分画値[電気泳動法、自動電気泳動装置(AES 310、オリンパス光学工業株式会社)]から、A/G(アルブミン／グロブリン)は蛋白分画値から算出した。

(7) 剖検および器官重量測定

上記の(5)および(6)で採血した動物をさらに放血致死させた後に剖検した。脳(大脳、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣および精巣上体は重量を測定した。なお、各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。ただし、下垂体および甲状腺重量は、20 %中性緩衝ホルマリンで1晩固定後測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、精嚢、前立腺、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺および骨髓(胸骨・大腿骨)とともに20 %中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし、精巣および精巣上体はブアン液で約24時間固定後90 %アルコールに再固定し、眼球はグルタールアルデヒド・ホルマリンで1晩固定後20 %中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(8) 病理組織学検査

摘出した以下の器官・組織について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。なお、切り出し後の器官・組織は、10 %中性緩衝ホルマリンで保存した。

対照群および1000 mg/kg群について、心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、リンパ節(下顎・腸間膜)、腎臓、副腎、膀胱、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、下垂体、甲状腺、上皮小体(検査可能な動物のみ)、脳(大脳・小脳・延髄)、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺および骨髓(胸骨・大腿骨)についてHE染色組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。1000 mg/kg群の雄の検査で脾臓に髓外造血ならびに1000 mg/kg群の雌の検査で肝臓に髓外造血が認められたため、30, 100および300 mg/kg群の脾臓および肝臓についても同様に検査した。なお、精巣については、PAS-ヘマトキシリソ染色組織標本も作製したが、これらの標本について鏡検の必要を認めなかつたため、検査に用いなかつた。

2) 雌(P)

(1) 一般状態

一般状態および死亡の有無は、投与前・後の1日2回(ただし、剖検日は剖検前1回)観察した。

(2) 性周期

性周期は、投与開始日から交尾確認日まで毎日1回観察した。なお、発情期が連続2日間にわたって観察された場合は1回として発情回数を計数した。

(3) 体重測定

体重は、交配開始前14日間および交配期間中は1週間に2回(測定日：投与1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25および29日)，妊娠期間中は妊娠0, 7, 14および21日に，哺育期間中は哺育0および4日にそれぞれ測定した。

(4) 摂餌量測定

摂餌量は、交配開始前14日間までは1週間に2回(残量測定日：投与3, 6, 10および13日)，妊娠期間中は妊娠2, 9, 16および21日に，哺育期間中は哺育4日に測定した。

(5) 交尾不成立雌

交尾不成立雌は、交配期間終了後にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し，着床のみられない雌は，心臓，肺，気管，肝臓，脾臓，唾液腺(舌下腺・顎下腺)，食道，胃，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸，胸腺，脾臓，リンパ節(下顎・腸間膜)，腎臓，副腎，膀胱，卵巣，子宮，腔，下垂体，甲状腺，上皮小体，脳(大脳・小脳・延髄)，脊髄，坐骨神経，眼球，ハーダー腺，骨髓(胸骨・大腿骨)および乳腺を20 %中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし，眼球はグルタールアルデヒド・ホルマリンで1晩固定後20 %中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(6) 分娩状態の観察

交尾雌は自然分娩させ，分娩状態の異常の有無，分娩終了の確認を妊娠21日から妊娠25日の午前10時まで毎日行った。午前10時に分娩が終了していた場合，その日を哺育0日とした。

(7) 妊娠25日の午前10時までに分娩しなかった動物

妊娠25日の午前10時までに分娩しなかった雌は，エーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し，着床の有無により妊娠の成否を確認した。不妊雌は，脳(大脳，小脳，延髄)，下垂体，甲状腺，胸腺，心臓，肝臓，脾臓，腎臓，副腎，卵巣，肺，気管，脾臓，唾液腺(舌下腺・顎下腺)，食道，胃，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸，リンパ節(下顎・腸間膜)，膀胱，子宮，腔，上皮小体，脊髄，坐骨神経，眼球，ハーダー腺，骨髓(胸骨・大腿骨)および乳腺を20 %中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし，眼球はグルタールアルデヒド・ホルマリンで1晩固定後20 %中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(8) 哺育状態の観察

母動物は，哺育状態を哺育4日まで毎日観察した。

(9) 剖検および器官重量測定

哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し，着床数および妊娠黄体数を数えた。脳(大脳，小脳，延髄)，下垂体，甲状腺，胸腺，心臓，肝臓，脾臓，腎臓，副腎および卵巣は重量を測定した。なお，各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。ただし，下垂体および甲状腺重量は，20 %中性緩衝ホルマリンで1晩固定後測定した。これらの器官は，肺，気管，脾臓，唾液腺(舌下腺・顎下腺)，食道，胃，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸，リンパ節(下顎・腸間膜)，膀胱，子宮，腔，上皮小体，脊髄，坐骨神経，眼球，ハーダー腺，骨髓(胸骨・大腿骨)および乳腺とともに20 %中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし，眼球はグルタールアルデヒド・ホルマリンで1晩固

定後20 %中性緩衝ホルマリンに再固定した。

(10) 病理組織学検査

摘出した以下の器官・組織について常法に従ってパラフィン包埋標本を作製した。なお、切り出し後の器官・組織は、10 %中性緩衝ホルマリンで保存した。

対照群および1000 mg/kg群について、心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、唾液腺(舌下腺・頸下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、リンパ節(下頸・腸間膜)、腎臓、副腎、膀胱、卵巢、子宮、腔、下垂体、甲状腺、上皮小体(検査可能な動物のみ)、脳(大脳・小脳・延髄)、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨・大腿骨)および乳腺についてHE染色組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。1000 mg/kg群の検査で肝臓に髓外造血が認められたため、30, 100および300 mg/kg群の肝臓についても同様に検査した。

3) 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

14日間投与した雌雄を同一群内で1対1に組み合わせて同居交配した。交配期間は14日を限度として、交尾を確認するまでの連続同居交配とした。

交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻に行い、腔内に精子または腔栓を確認した雌を交尾成立動物として、その日を妊娠0日として起算した。

4) 新生児(F₁)

(1) 出産時の観察

出産時に総出産児数と性、死産児数、新生児数および外表異常の有無を観察した。死産児は、20 %中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。

(2) 新生児の観察

新生児は、一般状態および死亡の有無を毎日1回観察した。死亡児は、剖検後20 %中性緩衝ホルマリンに固定し、保存した。

(3) 体重測定

体重は、哺育0日(出生日)および4日に測定した。

(4) 剖検

生存児は、哺育4日にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

6.統計学的方法

有意差検定は以下に示したように、対照群と各投与群の間で行い、危険率を5 %とし、5 %未満($p<0.05$)と1 %未満($p<0.01$)とに分けて表示した。新生児の体重は一腹の平均値と合計値も算出した。なお、不受胎雌の交尾後的一般状態、体重および摂餌量は集計から除外した。

〈検定方法〉

体重(親動物、新生児)、摂餌量、尿量、尿比重、血液学検査、血液生化学検査、器官の絶対重量および相対重量、発情回数、交尾所要日数、妊娠期間〔分娩日(哺育0日)-交尾確認日〕、妊娠黄体数、着床数、着床率〔(着床数/妊娠黄体数)×100〕、総出産児数(新生児数+死産児数)、死産児数、新生児数、分娩率〔(総出産児数/着床数)×100〕、児の産

出率 [(哺育0日の新生児数／着床数)× 100] , 出生率 [(哺育0日の新生児数／総出産児数)× 100] , 哺育4日の生存児数, 哺育4日の生存率 [(哺育4日の生存児数／哺育0日の新生児数)× 100] , 性比(雄／雌)および外表異常の出現率 [(外表異常児数／新生児数)× 100] は, 各群で平均値および標準偏差を算出した。その後, Bartlett法による等分散性の検定を行い, 等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い, 有意ならばDunnett法により行った。一方, 等分散と認められなかった場合は, 順位を利用した一元配置法による分析(Kruskal-Wallisの検定)を行い, 有意ならば順位を利用したDunnett型の検定法により行った。

交尾率 [(交尾成立動物数／同居動物数)× 100] , 受胎率 [(受胎雌数／交尾成立動物数)× 100] および出産率 [(新生児出産雌数／受胎雌数)× 100] は, χ^2 検定により行った。

なお, 病理組織学検査において, 1000 mg/kg群で毒性学的影響が示唆され他の用量群についても検査を実施した雌における肝臓の髄外造血については, 対照群との群間比較を上記の順位を利用したDunnett型の検定法を用いて行った。

結果

I. 反復投与毒性

1. 雄(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 1-1~1-4, Appendix 1-1~1-5)

死亡および瀕死例は, いずれの群でも認められなかった。

一般状態観察において, いずれの群とも異常はみられなかった。

2) 体重(Table 2, Fig.2, Appendix 2-1~2-5)

各投与群とも, 対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

3) 摂餌量(Table 3, Fig.3, Appendix 3-1~3-5)

各投与群とも, 対照群と比べていずれの測定日の摂餌量にも有意差はみられなかった。

4) 尿検査(Table 4-1および4-2, Appendix 4-1~4-5)

各投与群とも, 対照群と比べて尿量および比重に有意差はみられなかった。

色調, pH, 蛋白質, ブドウ糖, ケトン体, ビリルビン, 潜血, ウロビリノーゲンおよび沈渣は, 各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。

5) 血液学検査(Table 5, Appendix 5-1~5-5)

各投与群とも, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。

6) 血液生化学検査(Table 6, Appendix 6-1~6-5)

各投与群とも, 対照群と比べていずれの測定項目にも有意差はみられなかった。

7) 剖検(Table 7, Appendix 7-1~7-5)

対照群では, 左精巣上体尾部に黄白色結節が1例(No.008)みられた。30, 100, 300および

1000 mg/kg群では、いずれにも異常はみられなかった。

8) 器官重量(Table 8, Appendix 8-1~8-5)

剖検日の体重において、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

器官重量において、各投与群とも対照群と比べていずれの絶対および相対重量にも有意差はみられなかった。

9) 病理組織学検査(Table 9, Appendix 9-1~9-5)

脾臓：対照群では、異常はみられなかった。30 mg/kg群で髓外造血が3例みられ、それらの程度はいずれもごく軽度であった。100 mg/kg群で髓外造血が4例みられ、それらの程度はいずれもごく軽度であった。300 mg/kg群で髓外造血が3例みられ、それらの程度はいずれもごく軽度であった。1000 mg/kg群で髓外造血が5例みられ、それらの程度はいずれもごく軽度であった。

その他の変化として以下に示した所見が得られた。

心臓：組織球浸潤が対照群および1000 mg/kg群で各4例みられた。

肺：出血が1000 mg/kg群で1例みられた。

肝臓：限局性の肝細胞壊死が対照群で1例、微小肉芽腫が対照群で10例、30 mg/kg群で7例、100 mg/kg群で6例、300 mg/kg群で8例および1000 mg/kg群で7例みられた。

腎臓：尿細管上皮硝子滴出現が対照群および1000 mg/kg群で各4例みられた。

前立腺：リンパ様細胞浸潤が対照群および1000 mg/kg群で各6例みられた。

ハーダー腺：リンパ様細胞浸潤が対照群で2例みられた。

なお、これらの変化は、対照群でも通常観察される変化であり、それらの程度もごく軽度～軽度であることから、偶発的変化と判断される。

その他には、対照群および1000 mg/kg群とも、気管、脾臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、下頸リンパ節、腸間膜リンパ節、膀胱、精巣、精巣上体、精糞、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、脳(大脳、小脳、延髄)、脊髄、坐骨神経、眼球および骨髓(胸骨、大腿骨)に異常はみられなかった。

2. 雌(P)に及ぼす影響

1) 一般状態(Table 10-1~10-2, 11-1~11-2および12, Appendix 10-1~10-5, 11-1~11-5および12-1~12-5)

死亡および瀕死例は、いずれの群でも認められなかった。

一般状態観察において、いずれの群とも異常はみられなかった。

2) 体重(Table 13~15, Fig.4および5, Appendix 13-1~13-5, 14-1~14-5および15-1~15-5)

交配開始前、妊娠期間および哺育期間において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の体重にも有意差はみられなかった。

3) 摂餌量(Table 16~18, Fig.6および7, Appendix 16-1~16-5, 17-1~17-5および18-1~18-5)

交配開始前および妊娠期間において、各投与群とも対照群と比べていずれの測定日の摂

餌量にも有意差はみられなかった。

哺育期間中において、30, 100および300 mg/kg群では対照群と比べて摂餌量に有意差はみられなかった。1000 mg/kg群では、対照群と比べて哺育4日に摂餌量の有意な高値がみられた。

4) 剖検(Table 19, Appendix 19-1~19-5)

いずれの群とも異常はみられなかった。

5) 器官重量(Table 20, Appendix 20-1~20-5)

剖検日の体重において、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

器官重量において、各投与群とも対照群と比べていずれの絶対および相対重量にも有意差はみられなかった。

6) 病理組織学検査(Table 21, Appendix 21-1~21-5)

肝臓：1000 mg/kg群で髄外造血(Photo 1)が2例みられ、それらの程度はいずれもごく軽度であった。なお、肝臓における髄外造血は、1000 mg/kg群で対照群と比べて有意差は認められなかった。

その他の変化として以下に示した所見が得られた。

肝臓：肝細胞広範囲壊死が30 mg/kg群で1例、限局性の肝細胞壊死が対照群、30および100 mg/kg群で各1例と300 mg/kg群で2例、微小肉芽腫が100, 300および1000 mg/kg群で各1例みられた。

脾臓：髄外造血が対照群で12例と1000 mg/kg群で10例みられた。

腎臓：尿細管空胞化が対照群で1例、リンパ様細胞浸潤が対照群で1例と1000 mg/kg群で2例みられた。

膀胱：潰瘍、粘膜固有層における出血および粘膜固有層におけるリンパ様細胞浸潤が対照群で各1例みられた。

なお、これらの変化は、対照群でも通常観察される変化であること、あるいは対照群でのみ認められている変化であること、もしくはそれらの程度は対照群と比べて差がないことから、偶発的変化と判断される。

その他には、対照群および1000 mg/kg群とも、心臓、肺、気管、脾臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、下頸リンパ節、腸間膜リンパ節、卵巢、子宮、腔、下垂体、副腎、上皮小体、脳(大脳、小脳、延髄)、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨、大腿骨)および乳腺に異常はみられなかった。

II. 生殖発生毒性

1. 親動物(P)の生殖発生に及ぼす影響

1) 発情回数(Table 22, Appendix 22-1~22-5)

交配前の投与期間(14日間)の発情回数は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

2) 交尾所要日数, 交尾率, 受胎雌数および受胎率(Table 22, Appendix 22-1~22-5)

交尾所要日数は, 各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった.

未交尾の組み合わせは, 対照群で1組みられた. しかし, 交尾率には各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった.

不受胎雌は, 30 mg/kg群で1例みられた. しかし, 受胎率には各投与群と対照群との間に有意差はみられなかった.

3) 妊娠期間および分娩状態(Table 23, Appendix 23-1~23-5)

妊娠期間は, 各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった. 母動物の分娩状態において, いずれの群とも異常はみられなかった.

4) 妊娠黄体数, 着床数および着床率(Table 23, Appendix 23-1~23-5)

各投与群とも, 対照群と比べて妊娠黄体数, 着床数および着床率に有意差はみられなかった.

5) 出産率および哺育状態(Table 23, Appendix 23-1~23-5)

出産率は, いずれの群とも100 %であった. 哺育状態において, いずれの群とも異常はみられなかった.

2.新生児(F₁)に及ぼす影響

1) 総出産児数, 死産児数, 哺育0日の新生児数, 哺育0日の性比, 分娩率, 児の産出率および出生率(Table 23, Appendix 23-1~23-5)

各投与群とも, 対照群と比べて総出産児数, 死産児数, 哺育0日の新生児数, 哺育0日の性比, 分娩率, 児の産出率および出生率に有意差はみられなかった.

2) 新生児の一般状態, 哺育4日の生存児数, 哺育4日の性比, 哺育4日の生存率および外表異常(Table 23, Appendix 23-1~23-5)

各投与群とも, 対照群と比べて哺育4日の生存児数, 哺育4日の性比および哺育4日の生存率に有意差はみられなかった.

新生児の外表観察では, いずれの群とも異常はみられなかった. 死産児においては, 300 mg/kg群で象鼻症が1例(No.362)みられたが, その他の投与群においては認められなかったことから, 偶発例と考えられる.

新生児の一般状態では, いずれの群とも異常はみられなかった.

3) 新生児の体重(Table 24, Fig.8, Appendix 24-1~24-5)

各投与群とも, 対照群と比べて哺育0および4日の雌雄別平均, 腹平均および腹合計の体重に有意差はみられなかった.

4) 生存児の剖検(Table 25, Appendix 25-1~25-5)

いずれの群とも, 異常はみられなかった.

5) 死亡児の剖検

いずれの群とも, 異常はみられなかった.

考察

1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する毒性影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎および分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、1000 mg/kgを最高用量とし、以下公比約3により300, 100および30 mg/kgとした。対照として媒体(注射用水)投与群を設けた。

雄に関しては、死亡および瀕死例はいずれの群にも認められなかった。また、観察期間を通して一般状態、体重および摂餌量に投与による影響はみられなかった。投与期間終了時の尿検査、血液学検査および血液生化学検査においても、投与による影響は認められなかった。また、剖検所見および器官重量にも投与による影響は認められなかった。病理組織学検査において、脾臓に髄外造血が30 mg/kg群で3例、100 mg/kg群で4例、300 mg/kg群で3例、1000 mg/kg群で5例みられたが、それらの程度はいずれもごく軽度であり、投与量との関連が明確ではないこと、骨髓に病理組織学変化は認められないこと、尿検査、血液学検査および血液生化学検査においても異常はみられないこと、髄外造血は対照群でも通常認められることから、偶発例と考えられ、1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンによる影響ではないと判断される。

雌に関しては、死亡および瀕死例はいずれの群にも認められなかった。また、観察期間を通して一般状態および体重に投与による影響はみられなかった。なお、1000 mg/kg群で哺育期に摂餌量の一過性の高値がみられたが、体重推移に異常の認められない変化であり、1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンによる影響とは考えられない。また、剖検所見および器官重量にも投与による影響は認められなかった。病理組織学検査において、1000 mg/kg群で肝臓に髄外造血が2例みられた。しかし、他の器官・組織に病理組織学変化は認められないこと、髄外造血は2例でごく軽度に認められているのみであることから、軽微な変化と考えられる。

したがって、当試験条件下における1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンの一般毒性学的無影響量は、雄が1000 mg/kg/day、雌が300 mg/kg/dayと考えられる。

親動物の生殖発生に対しては、前述したように1000 mg/kg群でも、精巣、精巣上体、精嚢、前立腺、卵巣、子宮、腔および乳腺に病理組織学変化は認められなかった。また、発情回数、交尾率、交尾所要日数、受胎率、妊娠黄体数、着床数、着床率、出産率、妊娠期間、分娩状態および哺育状態では、投与に起因すると思われる変化はみられなかった。

児動物に対しては、総出産児数、死産児数、哺育0日の新生児数、哺育0日の性比、分娩率、児の産出率、出生率、哺育4日の生存児数、哺育4日の性比および哺育4日の生存率に投与に起因すると思われる変化はみられなかった。新生児の外表観察において、投与に起因する異常はみられなかった。児動物の体重では、各投与群とも対照群との間に差はみられなかった。児動物の剖検では、いずれの群とも異常はみられなかった。

したがって、当試験条件下における1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジ

ン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンの生殖発生毒性学的な無影響量は、雌雄親動物、児動物とも1000 mg/kg/dayと考えられる。

以上のように、1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンの一般毒性学的無影響量は、雄では1000 mg/kg投与しても毒性学的影响が認められなかつたことから1000 mg/kg/dayと考えられる。また、雌では1000 mg/kg投与により肝臓に歯外造血が認められたことから300 mg/kg/dayと考えられる。生殖発生毒性学的な無影響量は、1000 mg/kg投与しても雌雄親動物、児動物とも影响は認められなかつたことからいすれも1000 mg/kg/dayと考えられる。

文献

- 1) : 1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンの調製液の安定性確認試験(試験番号：401118P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 2) : 1,3,5-トリス(2-ヒドロキシエチル)-1,3,5-トリアジン-2,4,6(1H,3H,5H)-トリオンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の予備試験(試験番号：500618P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)

Table 1-1 General signs of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of males and general signs | Days of administration | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------------------------|------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|
| | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | | 8 | | 9 | | 10 | | 11 | | 12 | | 13 | | 14 | |
| Control | 0 | Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | |
| | 30 | Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 100 | Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 300 | Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 1000 | Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 1-2 General signs of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of males and general signs | Days of administration | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------------------------|---------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|
| | | 16 | | 17 | | 18 | | 19 | | 20 | | 21 | | 22 | | 23 | | 24 | | 25 | | 26 | | 27 | | 28 | | 29 | | 30 | |
| | | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | | | | |
| Control | 0 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | |
| | 30 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 100 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | |
| | 300 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 1000 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 1-3 General signs of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of males and general signs | Days of administration | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------------------------------|---------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|----|--|
| | | 31 | | 32 | | 33 | | 34 | | 35 | | 36 | | 37 | | 38 | | 39 | | 40 | | 41 | | 42 | | 43 | | 44 | | 45 | |
| | | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | | | | |
| Control | 0 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | | |
| | 30 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | | |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 100 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | | |
| | 300 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | | |
| | 1000 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | | | |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 1-4 General signs of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | | Number of males and general signs | Days of administration | | | | | | | |
|---|------|--------------------------------------|------------------------|----|----|----|----|----|----|--|
| | | | 46 | | 47 | | 48 | | 49 | |
| | | | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | |
| Control | 0 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 30 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 100 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 300 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 1000 | Number of males Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 2 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | | |
|------------------------|--------------|----|--|--------------|--------------|--------------|----|
| | 0 | 12 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of males | | | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Days of administration | | | | | | | |
| 1 | 349.0 ± 8.0 | | 348.9 ± 8.1 | 348.7 ± 8.6 | 348.9 ± 8.1 | 348.4 ± 8.5 | |
| 4 | 362.8 ± 8.9 | | 362.4 ± 9.7 | 361.9 ± 12.6 | 362.0 ± 8.8 | 361.7 ± 12.2 | |
| 8 | 376.1 ± 10.2 | | 376.0 ± 13.4 | 376.7 ± 17.2 | 374.1 ± 12.2 | 374.7 ± 16.3 | |
| 11 | 382.7 ± 11.7 | | 383.5 ± 17.3 | 384.8 ± 19.1 | 379.4 ± 13.0 | 384.2 ± 18.6 | |
| 15 | 394.3 ± 15.2 | | 393.8 ± 19.9 | 397.4 ± 19.3 | 392.8 ± 17.5 | 394.5 ± 19.0 | |
| 18 | 394.8 ± 16.3 | | 398.3 ± 16.6 | 396.7 ± 16.5 | 393.2 ± 15.2 | 391.3 ± 17.8 | |
| 22 | 413.3 ± 20.8 | | 413.6 ± 19.1 | 412.2 ± 20.4 | 409.4 ± 20.2 | 409.0 ± 18.9 | |
| 25 | 425.8 ± 21.7 | | 423.9 ± 20.5 | 420.8 ± 21.0 | 420.5 ± 20.9 | 418.9 ± 20.9 | |
| 29 | 443.1 ± 22.6 | | 435.5 ± 22.0 | 433.7 ± 22.4 | 436.7 ± 24.4 | 433.3 ± 22.6 | |
| 32 | 447.1 ± 23.7 | | 439.5 ± 22.7 | 441.3 ± 22.0 | 443.6 ± 24.0 | 441.8 ± 23.4 | |
| 36 | 457.4 ± 25.0 | | 451.5 ± 23.2 | 449.7 ± 26.2 | 455.6 ± 24.6 | 456.2 ± 23.4 | |
| 39 | 461.8 ± 24.4 | | 459.5 ± 24.2 | 460.1 ± 27.9 | 462.8 ± 24.1 | 462.3 ± 24.0 | |
| 43 | 466.5 ± 25.6 | | 466.7 ± 24.9 | 467.3 ± 28.0 | 473.4 ± 25.7 | 468.9 ± 26.1 | |
| 46 | 467.1 ± 27.1 | | 473.8 ± 24.6 | 471.5 ± 24.9 | 476.9 ± 24.1 | 470.6 ± 29.8 | |
| 49 | 479.1 ± 28.9 | | 479.9 ± 25.0 | 482.2 ± 29.5 | 489.8 ± 26.2 | 485.7 ± 28.4 | |

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 3 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | | 1000 |
|------------------------|--------------------------------------|----|---|----|------------|----|------------|
| | 0 | 12 | 30 | 12 | 100 | 12 | |
| Number of males | | | | | | | |
| Days of administration | | | | | | | |
| 3 | 25.3 ± 1.5 | | 26.3 ± 1.2 | | 25.6 ± 1.9 | | 25.5 ± 1.5 |
| 6 | 25.7 ± 1.4 | | 26.3 ± 1.7 | | 26.1 ± 2.8 | | 25.7 ± 1.2 |
| 10 | 25.1 ± 1.7 | | 25.8 ± 2.4 | | 25.3 ± 1.8 | | 24.8 ± 2.1 |
| 13 | 25.1 ± 1.9 | | 24.2 ± 2.4 | | 24.9 ± 1.9 | | 24.7 ± 1.6 |
| 31 | 25.7 ± 2.5 | | 26.1 ± 1.7 | | 25.8 ± 2.5 | | 26.2 ± 1.9 |
| 34 | 26.5 ± 2.4 | | 26.3 ± 1.7 | | 26.4 ± 2.6 | | 27.0 ± 2.4 |
| 38 | 25.8 ± 1.8 | | 26.4 ± 2.4 | | 26.2 ± 2.5 | | 26.2 ± 2.2 |
| 41 | 25.4 ± 2.0 | | 25.7 ± 2.1 | | 26.0 ± 2.5 | | 26.3 ± 2.0 |
| 45 | 26.7 ± 2.7 | | 27.3 ± 1.7 | | 27.9 ± 3.0 | | 27.8 ± 2.3 |
| 48 | 26.5 ± 2.5 | | 26.8 ± 1.4 | | 27.6 ± 3.0 | | 28.5 ± 2.1 |
| | Each value shows mean (g/day) ± S.D. | | | | | | |

Table 4-1 Urinary examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------------------|-----------------|-----------------|--|-----------------|-----------------|---|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| Volume (mL): Mean ± S.D. | 14.69 ± 6.20 | 19.23 ± 5.21 | 18.92 ± 3.65 | 15.20 ± 3.55 | 14.59 ± 6.74 | |
| Specific gravity: Mean ± S.D. | 1.0525 ± 0.0175 | 1.0495 ± 0.0120 | 1.0471 ± 0.0084 | 1.0568 ± 0.0097 | 1.0598 ± 0.0129 | |
| Color | | | | | | |
| Light yellow | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| pH | | | | | | |
| 7.0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 7.5 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | |
| 8.0 | 1 | 1 | 4 | 1 | 1 | |
| 8.5 | 7 | 8 | 5 | 4 | 7 | |
| 9.0 | 3 | 3 | 2 | 6 | 3 | |
| Protein | | | | | | |
| Negative | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | |
| 10~20 mg/dL | 2 | 5 | 4 | 3 | 0 | |
| 30 mg/dL | 5 | 4 | 3 | 2 | 7 | |
| 100 mg/dL | 5 | 2 | 3 | 7 | 5 | |
| Glucose | | | | | | |
| Negative | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| Ketone body | | | | | | |
| Negative | 7 | 11 | 11 | 5 | 2 | |
| Slight | 5 | 1 | 1 | 7 | 10 | |
| Bilirubin | | | | | | |
| Negative | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| Occult blood | | | | | | |
| Negative | 11 | 10 | 11 | 12 | 11 | |
| Trace | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | |
| Slight | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| Marked | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Urobilinogen | | | | | | |
| Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |

Table 4-2 Urinary examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | | |
|--------------------------|--|----|-----|-----|------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Urinary sediments | | | | | |
| Epithelial cells | | | | | |
| 0~20 cells/100 fields | 10 | 12 | 10 | 9 | 11 |
| 21~100 cells/100 fields | 2 | 0 | 2 | 3 | 1 |
| Erythrocytes | | | | | |
| 0~20 cells/100 fields | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| 21~100 cells/100 fields | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 201~500 cells/100 fields | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Leukocytes | | | | | |
| 0~20 cells/100 fields | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Casts | | | | | |
| Not observed | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Crystals | | | | | |
| Not observed | 6 | 5 | 7 | 4 | 5 |
| Observed | 6 | 7 | 5 | 8 | 7 |

Table 5 Hematological examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|----------------------------|----------------|--------------|---|--------------|---------------|--|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| RBC ($10^6/\mu\text{L}$) | 848.3 ± 47.3 | 849.1 ± 43.7 | 843.3 ± 35.9 | 835.7 ± 32.0 | 836.7 ± 53.8 | |
| HGB (g/dL) | 15.46 ± 0.48 | 15.67 ± 0.77 | 15.54 ± 0.66 | 15.35 ± 0.58 | 15.39 ± 0.69 | |
| HCT (%) | 46.00 ± 1.72 | 46.90 ± 2.62 | 46.36 ± 2.29 | 45.56 ± 1.84 | 45.82 ± 2.56 | |
| MCV (fL) | 54.30 ± 1.42 | 55.27 ± 1.44 | 55.00 ± 1.95 | 54.54 ± 1.77 | 54.81 ± 1.55 | |
| MCH (pg) | 18.25 ± 0.69 | 18.45 ± 0.59 | 18.44 ± 0.61 | 18.37 ± 0.69 | 18.43 ± 0.62 | |
| MCHC (g/dL) | 33.61 ± 0.53 | 33.41 ± 0.40 | 33.55 ± 0.42 | 33.70 ± 0.48 | 33.62 ± 0.56 | |
| PLT ($10^3/\mu\text{L}$) | 101.75 ± 11.94 | 99.74 ± 9.39 | 100.69 ± 6.93 | 95.00 ± 6.38 | 106.54 ± 8.76 | |
| RET (%) | 27.0 ± 4.6 | 28.0 ± 4.8 | 26.5 ± 5.8 | 27.1 ± 4.8 | 25.4 ± 3.2 | |
| PT (SEC.) | 20.98 ± 4.17 | 19.96 ± 3.97 | 20.94 ± 4.79 | 20.33 ± 3.10 | 20.80 ± 4.97 | |
| APTT (SEC.) | 32.61 ± 4.55 | 30.71 ± 2.17 | 31.57 ± 3.51 | 31.62 ± 2.70 | 32.49 ± 4.50 | |
| FIB (mg/dL) | 227.5 ± 22.7 | 228.0 ± 16.4 | 226.5 ± 17.6 | 228.3 ± 9.1 | 217.2 ± 15.8 | |
| WBC ($10^3/\mu\text{L}$) | 70.8 ± 18.4 | 68.2 ± 15.6 | 62.9 ± 15.6 | 67.1 ± 18.3 | 66.8 ± 19.4 | |
| Differential leukocyte (%) | | | | | | |
| Lymphocyte | 91.4 ± 4.4 | 91.5 ± 3.8 | 91.0 ± 4.9 | 90.7 ± 4.1 | 90.8 ± 5.2 | |
| Neutrophil | 7.4 ± 4.0 | 7.5 ± 4.0 | 8.4 ± 4.7 | 8.4 ± 3.6 | 8.4 ± 4.9 | |
| Eosinophil | 0.8 ± 0.8 | 0.5 ± 0.7 | 0.3 ± 0.5 | 0.6 ± 1.2 | 0.3 ± 0.7 | |
| Basophil | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | |
| Monocyte | 0.4 ± 0.5 | 0.5 ± 0.8 | 0.3 ± 0.5 | 0.3 ± 0.7 | 0.5 ± 0.5 | |

Each value shows mean ± S.D.

Table 6 Blood chemical examination of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of males | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------|-----------------|----------------|----------------|---|----------------|----------------|------|
| | | 0 | 12 | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| AST (IU/L) | | 90.47 ± 16.03 | 93.92 ± 14.12 | 98.22 ± 16.70 | 90.08 ± 15.70 | 90.06 ± 12.32 | |
| ALT (IU/L) | | 30.65 ± 5.19 | 32.22 ± 6.11 | 33.33 ± 6.61 | 30.48 ± 2.54 | 30.33 ± 5.39 | |
| ALP (IU/L) | | 346.93 ± 70.40 | 316.90 ± 46.91 | 312.46 ± 46.92 | 346.17 ± 69.79 | 303.48 ± 46.26 | |
| γ-GTP (IU/L) | | 1.133 ± 0.217 | 1.254 ± 0.166 | 1.179 ± 0.163 | 1.104 ± 0.176 | 1.106 ± 0.110 | |
| TP (g/dL) | | 5.34 ± 0.17 | 5.35 ± 0.17 | 5.33 ± 0.19 | 5.38 ± 0.13 | 5.28 ± 0.24 | |
| Alb (g/dL) | | 2.718 ± 0.135 | 2.711 ± 0.083 | 2.718 ± 0.082 | 2.738 ± 0.086 | 2.698 ± 0.105 | |
| A/G ratio | | 1.038 ± 0.074 | 1.031 ± 0.068 | 1.044 ± 0.044 | 1.037 ± 0.051 | 1.049 ± 0.067 | |
| T-Bil (mg/dL) | | 0.127 ± 0.023 | 0.119 ± 0.018 | 0.124 ± 0.019 | 0.119 ± 0.025 | 0.128 ± 0.024 | |
| UN (mg/dL) | | 17.43 ± 1.63 | 18.13 ± 1.06 | 17.59 ± 1.67 | 17.07 ± 1.21 | 19.24 ± 2.80 | |
| CRE (mg/dL) | | 0.275 ± 0.025 | 0.270 ± 0.029 | 0.264 ± 0.024 | 0.263 ± 0.023 | 0.259 ± 0.024 | |
| Glu (mg/dL) | | 114.68 ± 11.91 | 114.03 ± 9.29 | 112.98 ± 8.28 | 114.37 ± 8.69 | 113.81 ± 9.29 | |
| T-Chol (mg/dL) | | 51.62 ± 10.80 | 56.73 ± 11.50 | 49.73 ± 15.49 | 56.21 ± 11.91 | 49.32 ± 8.92 | |
| TG (mg/dL) | | 32.33 ± 15.68 | 32.94 ± 12.43 | 31.44 ± 12.99 | 41.11 ± 8.44 | 38.60 ± 17.56 | |
| Na (mEq/L) | | 146.53 ± 1.11 | 146.23 ± 0.90 | 146.34 ± 1.25 | 145.98 ± 1.15 | 146.20 ± 1.78 | |
| K (mEq/L) | | 4.453 ± 0.163 | 4.550 ± 0.180 | 4.572 ± 0.217 | 4.532 ± 0.189 | 4.527 ± 0.203 | |
| Cl (mEq/L) | | 107.96 ± 0.88 | 107.52 ± 0.87 | 107.72 ± 1.50 | 107.57 ± 1.04 | 107.55 ± 1.40 | |
| Ca (mg/dL) | | 9.16 ± 0.27 | 9.14 ± 0.21 | 9.18 ± 0.29 | 9.18 ± 0.21 | 9.14 ± 0.19 | |
| IP (mg/dL) | | 7.34 ± 0.56 | 7.41 ± 0.66 | 7.41 ± 0.55 | 7.53 ± 0.51 | 7.77 ± 0.79 | |

Each value shows mean ± S.D.

Table 7 Necropsy findings of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|----------------------------|---------|---|-----|-----|------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| Number of males | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Findings | | | | | |
| Normal | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Epididymis(left) | | | | | |
| Yellow white nodule(cauda) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Table 8 Organ weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | | |
|---------------------|----------------|----------------|--|----------------|----------------|--|--|
| | 0 12 | 30 12 | 100 12 | 300 12 | 1000 12 | | |
| Number of males | | | | | | | |
| Body weight (g) | 455.8 ± 27.1 | 455.3 ± 24.8 | 453.8 ± 25.3 | 463.8 ± 25.3 | 461.3 ± 28.6 | | |
| Brain (g) | 2.072 ± 0.087 | 2.121 ± 0.086 | 2.068 ± 0.070 | 2.094 ± 0.076 | 2.082 ± 0.073 | | |
| (g%) | 0.456 ± 0.033 | 0.468 ± 0.028 | 0.457 ± 0.026 | 0.453 ± 0.025 | 0.453 ± 0.031 | | |
| Pituitary (mg) | 14.12 ± 1.96 | 14.63 ± 1.25 | 13.98 ± 1.17 | 14.28 ± 1.67 | 13.81 ± 2.06 | | |
| (mg%) | 3.09 ± 0.40 | 3.22 ± 0.23 | 3.09 ± 0.23 | 3.08 ± 0.30 | 2.99 ± 0.50 | | |
| Thyroids (mg) | 19.40 ± 3.82 | 19.34 ± 3.89 | 18.60 ± 1.93 | 20.57 ± 3.74 | 18.25 ± 3.97 | | |
| (mg%) | 4.26 ± 0.83 | 4.23 ± 0.67 | 4.12 ± 0.53 | 4.43 ± 0.79 | 3.99 ± 0.94 | | |
| Thymus (mg) | 310.96 ± 78.25 | 317.95 ± 91.18 | 268.24 ± 47.59 | 336.78 ± 65.34 | 287.72 ± 63.50 | | |
| (mg%) | 67.98 ± 16.47 | 69.88 ± 19.86 | 59.38 ± 11.74 | 72.55 ± 13.18 | 62.48 ± 14.06 | | |
| Heart (g) | 1.367 ± 0.128 | 1.480 ± 0.127 | 1.435 ± 0.198 | 1.451 ± 0.111 | 1.440 ± 0.143 | | |
| (g%) | 0.298 ± 0.031 | 0.324 ± 0.022 | 0.315 ± 0.032 | 0.314 ± 0.032 | 0.313 ± 0.026 | | |
| Liver (g) | 10.939 ± 0.947 | 11.758 ± 1.310 | 11.519 ± 1.316 | 11.658 ± 0.949 | 11.926 ± 1.672 | | |
| (g%) | 2.399 ± 0.096 | 2.580 ± 0.184 | 2.533 ± 0.174 | 2.515 ± 0.151 | 2.578 ± 0.246 | | |
| Spleen (g) | 0.736 ± 0.099 | 0.798 ± 0.111 | 0.821 ± 0.138 | 0.767 ± 0.096 | 0.792 ± 0.121 | | |
| (g%) | 0.161 ± 0.021 | 0.175 ± 0.020 | 0.182 ± 0.026 | 0.166 ± 0.017 | 0.172 ± 0.022 | | |
| Kidneys (g) | 2.944 ± 0.226 | 3.003 ± 0.229 | 3.062 ± 0.247 | 3.063 ± 0.198 | 3.079 ± 0.304 | | |
| (g%) | 0.649 ± 0.053 | 0.660 ± 0.035 | 0.673 ± 0.048 | 0.662 ± 0.040 | 0.668 ± 0.058 | | |
| Adrenals (mg) | 54.02 ± 7.21 | 57.68 ± 8.79 | 57.93 ± 6.62 | 55.82 ± 6.31 | 54.40 ± 6.64 | | |
| (mg%) | 11.90 ± 1.76 | 12.66 ± 1.64 | 12.78 ± 1.50 | 12.05 ± 1.32 | 11.83 ± 1.65 | | |
| Testes (g) | 3.304 ± 0.252 | 3.296 ± 0.259 | 3.395 ± 0.299 | 3.276 ± 0.214 | 3.345 ± 0.203 | | |
| (g%) | 0.728 ± 0.075 | 0.726 ± 0.072 | 0.751 ± 0.074 | 0.708 ± 0.050 | 0.727 ± 0.053 | | |
| Epididymides (g) | 0.683 ± 0.207 | 0.704 ± 0.182 | 0.650 ± 0.137 | 0.598 ± 0.130 | 0.683 ± 0.242 | | |
| (g%) | 0.151 ± 0.046 | 0.155 ± 0.040 | 0.143 ± 0.031 | 0.129 ± 0.028 | 0.148 ± 0.053 | | |

Each value shows mean ± S.D.

Table 9 Histopathological findings of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | | | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|---------|----|---|---|----|--|------|---|---|---|-----|----|---|---|---|-----|----|----|---|---|------|---|----|----|---|---|---|---|----|----|
| | 0 | | | | | 30 | | | | | 100 | | | | | 300 | | | | | 1000 | | | | | | | | | |
| Incidence & Grade | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ |
| Findings | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Heart | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cellular infiltration, histiocyte | 8 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Lung | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hemorrhage | 12 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Liver | [12] | | | | | | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Necrosis, focal, hepatocyte | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Microgranuloma | 2 | 10 | 5 | 5 | 0 | 0 | 5 | 7 | 4 | 3 | 0 | 0 | 6 | 6 | 5 | 1 | 0 | 0 | 4 | 8 | 7 | 1 | 0 | 0 | 5 | 7 | 3 | 4 | 0 | 0 |
| Spleen | [12] | | | | | | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hematopoiesis, extramedullary | 12 | 0 | | | | | 9 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 8 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 9 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 7 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| Kidney | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hyaline droplet, tubular epithelium | 8 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Prostate | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cellular infiltration, lymphoid cell | 6 | 6 | 4 | 2 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Harderian gland | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Cellular infiltration, lymphoid cell | 10 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N: No abnormality detected.

A: Abnormality detected.

[]:Number of males examined.

No remarkable changes were seen in trachea, pancreas, salivary gland(sublingual and submandibular), esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, thymus, lymph node(submandibular and mesenteric), urinary bladder, testis, epididymis, seminal vesicle, pituitary, adrenal, thyroid, parathyroid, brain(cerebrum, cerebellum and medulla oblongata), spinal cord, sciatic nerve, eyeball and bone marrow(sternum and femur).

Examined only liver and spleen in the 30, 100 and 300 mg/kg group.

Table 10-1 General signs of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of females and general signs | Days of administration | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | | 8 | | 9 | | 10 | | 11 | | 12 | | 13 | | |
| | | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | |
| Control | 0 | Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | |
| | 30 | Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 100 | Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 300 | Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 1000 | Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 10-2 General signs of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of females and general signs | Days of administration | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----|--|----|--|
| | | 15* | | 16 | | 17 | | 18 | | 19 | | 20 | | 21 | | 22 | | 23 | | 24 | | 25 | | 26 | | 27 | | 28 | | 29 | |
| | | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | | | | | |
| Control | 0 | Number of females | 12 | 11 | 11 | 9 | 9 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | |
| | | Normal | 12 | 11 | 11 | 9 | 9 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | |
| | 30 | Number of females | 12 | 8 | 8 | 6 | 6 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | | Normal | 12 | 8 | 8 | 6 | 6 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | | | |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 100 | Number of females | 12 | 12 | 12 | 10 | 10 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 10 | 10 | 6 | 6 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | | | |
| | 300 | Number of females | 12 | 10 | 10 | 6 | 6 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| | | Normal | 12 | 10 | 10 | 6 | 6 | 3 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | | | | |
| | 1000 | Number of females | 12 | 9 | 9 | 5 | 5 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | |
| | | Normal | 12 | 9 | 9 | 5 | 5 | 2 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | | | | | |

Be: before administration, Af: after administration.

*: commencement of pairing.

Table 11-1 General signs of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of dams and general signs | Days of pregnancy | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-------------------------------------|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 0 | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | | 6 | | 7 | | 8 | | 9 | | 10 | | 11 | | 12 | |
| Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af |
| Control | 0 | Number of dams | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | Normal | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | 30 | Number of dams | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | Normal | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| 1,3,5-triazine- | 100 | Number of dams | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| 1,3,5-tris | 300 | Number of dams | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| (2-hydroxyethyl)- | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 1000 | Number of dams | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 11-2 General signs of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of dams and general signs | Days of pregnancy | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------------------------------------|-------------------|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 14 | | 15 | | 16 | | 17 | | 18 | | 19 | | 20 | | 21 | | 22 | |
| | | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af |
| Control | 0 | Number of dams | | 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 5 5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Normal | | 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 5 5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 30 | Number of dams | | 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 3 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Normal | | 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 3 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 100 | Number of dams | | 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 3 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Normal | | 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 3 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 300 | Number of dams | | 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 1 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Normal | | 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 1 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1000 | Number of dams | | 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 3 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | Normal | | 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 12 3 3 | | | | | | | | | | | | | | | |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 12 General signs of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Number of dams and general signs | Days of lactation | | | | | | | | | |
|---|-------------------------------------|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 0 | | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | |
| | | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | Af | Be | |
| Control | 0 | Number of dams | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | Normal | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| 1,3,5-triazine- 2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris (2-hydroxyethyl)- | 30 | Number of dams | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | | Normal | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 | 11 |
| | 100 | Number of dams | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 300 | Number of dams | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | 1000 | Number of dams | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | | Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |

Be: before administration, Af: after administration.

Table 13 Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|------------------------|--------------------|-------------------|---|--------------------|--------------|----|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Days of administration | | | | | | |
| 1 | 249.3 ± 9.1 | 249.3 ± 9.2 | 249.5 ± 9.1 | 249.2 ± 8.4 | 249.1 ± 9.0 | |
| 4 | 252.3 ± 11.6 | 254.4 ± 12.2 | 254.9 ± 10.4 | 251.7 ± 7.5 | 252.5 ± 7.6 | |
| 8 | 258.4 ± 13.4 | 258.3 ± 14.5 | 261.3 ± 12.0 | 258.3 ± 9.0 | 262.1 ± 6.8 | |
| 11 | 261.1 ± 13.4 | 265.8 ± 17.1 | 262.9 ± 15.7 | 262.8 ± 12.1 | 266.6 ± 9.5 | |
| 15 | 268.3 ± 15.9 | 270.6 ± 14.1 | 267.0 ± 17.0 | 268.3 ± 12.6 | 271.8 ± 10.4 | |
| 18 | 281.3 ± 16.1 (4) | 268.0 ± 9.1 (4) | 278.5 ± 16.3 (6) | 270.0 ± 16.6 (3) | 271.5 (2) | |
| 22 | 287.0 (1) | | | | | |
| 25 | 299.0 (1) | | | | | |
| 29 | 304.0 (1) | | | | | |

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Table 14 Body weight of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------|--------------|---|--------------|--------------|--------------|
| | | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| Number of dams | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| Days of pregnancy | | | | | |
| 0 | 278.4 ± 12.6 | 280.5 ± 11.1 | 278.0 ± 16.0 | 275.7 ± 9.7 | 278.7 ± 8.0 |
| 7 | 312.9 ± 18.6 | 317.6 ± 13.6 | 317.8 ± 17.5 | 312.9 ± 10.0 | 313.9 ± 12.0 |
| 14 | 344.3 ± 19.1 | 350.5 ± 20.6 | 355.3 ± 22.7 | 349.7 ± 12.6 | 347.8 ± 14.9 |
| 21 | 435.3 ± 25.2 | 447.5 ± 28.4 | 446.1 ± 31.1 | 446.5 ± 20.0 | 443.7 ± 21.4 |

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 15 Body weight of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------|---------|--------------|---|--------------|--------------|--------------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of dams | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | |
| Days of lactation | 0 | 310.8 ± 28.0 | 315.9 ± 15.1 | 323.6 ± 32.7 | 326.2 ± 15.6 | 315.8 ± 19.0 |
| | 4 | 338.5 ± 18.1 | 347.5 ± 18.1 | 355.6 ± 20.9 | 351.6 ± 14.8 | 349.3 ± 16.0 |

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 16 Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|------------------------|---------|------------|--|------------|------------|------------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Days of administration | 3 | 17.9 ± 2.0 | 18.9 ± 2.3 | 18.3 ± 1.7 | 18.1 ± 2.6 | 17.7 ± 2.5 |
| | 6 | 18.1 ± 2.6 | 19.2 ± 2.1 | 19.3 ± 2.4 | 18.2 ± 2.2 | 18.6 ± 2.0 |
| | 10 | 19.1 ± 2.9 | 19.3 ± 2.8 | 19.3 ± 2.5 | 18.9 ± 2.3 | 19.7 ± 2.0 |
| | 13 | 20.3 ± 1.9 | 19.3 ± 2.0 | 18.9 ± 2.7 | 18.7 ± 2.9 | 19.3 ± 2.3 |

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 17 Food consumption of dams (P) during pregnancy period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------|------------|------------|---|------------|------------|--|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of dams | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | |
| Days of pregnancy | | | | | | |
| 2 | 22.0 ± 3.7 | 23.1 ± 2.9 | 24.1 ± 2.3 | 22.8 ± 3.0 | 21.5 ± 2.9 | |
| 9 | 25.6 ± 3.7 | 26.2 ± 3.8 | 27.1 ± 3.5 | 26.8 ± 3.0 | 26.2 ± 2.8 | |
| 16 | 25.0 ± 1.3 | 26.1 ± 2.0 | 26.3 ± 2.9 | 25.9 ± 2.7 | 26.3 ± 2.3 | |
| 21 | 21.7 ± 2.6 | 22.6 ± 2.5 | 23.6 ± 3.3 | 24.0 ± 2.8 | 23.3 ± 2.5 | |

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 18 Food consumption of dams (P) during lactation period in combined repeat dose and reproductive developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------|---------|------------|---|------------|------------|--------------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of dams | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | |
| Days of lactation | 4 | 33.0 ± 5.7 | 37.0 ± 3.7 | 36.3 ± 4.7 | 34.0 ± 4.6 | 39.1 ± 3.7** |

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 19 Necropsy findings of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|--------------------|---------|---|-----|-----|------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Findings Normal | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |

Table 20 Organ weight of dams (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | | |
|------------------|----------------|----------------|--|----------------|----------------|--|--|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | | |
| Number of dams | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | | |
| Body weight (g) | 338.5 ± 18.1 | 347.5 ± 18.1 | 355.6 ± 20.9 | 351.6 ± 14.8 | 349.3 ± 16.0 | | |
| Brain (g) | 1.951 ± 0.060 | 1.935 ± 0.043 | 1.953 ± 0.051 | 1.942 ± 0.060 | 1.946 ± 0.094 | | |
| (g%) | 0.577 ± 0.024 | 0.559 ± 0.034 | 0.551 ± 0.027 | 0.553 ± 0.026 | 0.556 ± 0.036 | | |
| Pituitary (mg) | 22.21 ± 3.15 | 22.18 ± 2.42 | 23.19 ± 3.27 | 24.33 ± 2.77 | 22.71 ± 2.63 | | |
| (mg%) | 6.55 ± 0.72 | 6.39 ± 0.65 | 6.55 ± 0.98 | 6.91 ± 0.70 | 6.51 ± 0.74 | | |
| Thyroids (mg) | 19.29 ± 3.97 | 19.05 ± 2.17 | 21.77 ± 3.78 | 18.00 ± 2.57 | 18.20 ± 2.80 | | |
| (mg%) | 5.68 ± 1.08 | 5.50 ± 0.70 | 6.15 ± 1.05 | 5.14 ± 0.85 | 5.21 ± 0.78 | | |
| Thymus (mg) | 204.46 ± 56.14 | 234.73 ± 67.93 | 249.35 ± 49.40 | 253.42 ± 54.08 | 229.23 ± 74.10 | | |
| (mg%) | 60.08 ± 15.52 | 67.53 ± 19.22 | 70.53 ± 15.69 | 72.08 ± 15.26 | 65.40 ± 20.19 | | |
| Heart (g) | 1.044 ± 0.103 | 1.066 ± 0.081 | 1.119 ± 0.076 | 1.088 ± 0.099 | 1.049 ± 0.058 | | |
| (g%) | 0.308 ± 0.026 | 0.306 ± 0.016 | 0.314 ± 0.016 | 0.309 ± 0.030 | 0.301 ± 0.023 | | |
| Liver (g) | 13.284 ± 1.104 | 13.268 ± 1.437 | 13.570 ± 2.264 | 13.538 ± 1.284 | 13.304 ± 1.209 | | |
| (g%) | 3.931 ± 0.369 | 3.817 ± 0.340 | 3.824 ± 0.625 | 3.852 ± 0.323 | 3.815 ± 0.367 | | |
| Spleen (g) | 0.693 ± 0.116 | 0.732 ± 0.092 | 0.710 ± 0.090 | 0.767 ± 0.110 | 0.727 ± 0.145 | | |
| (g%) | 0.205 ± 0.029 | 0.211 ± 0.024 | 0.198 ± 0.020 | 0.218 ± 0.034 | 0.208 ± 0.038 | | |
| Kidneys (g) | 2.003 ± 0.159 | 1.978 ± 0.136 | 2.013 ± 0.133 | 2.003 ± 0.208 | 2.048 ± 0.211 | | |
| (g%) | 0.593 ± 0.044 | 0.571 ± 0.044 | 0.566 ± 0.034 | 0.571 ± 0.055 | 0.588 ± 0.062 | | |
| Adrenals (mg) | 75.63 ± 7.99 | 83.82 ± 9.39 | 83.48 ± 14.63 | 79.03 ± 8.28 | 78.52 ± 12.25 | | |
| (mg%) | 22.41 ± 2.80 | 24.12 ± 2.23 | 23.63 ± 4.61 | 22.52 ± 2.59 | 22.54 ± 3.73 | | |
| Ovaries (mg) | 108.93 ± 11.30 | 107.25 ± 14.76 | 106.13 ± 11.32 | 106.07 ± 11.27 | 103.23 ± 11.14 | | |
| (mg%) | 32.25 ± 3.59 | 30.94 ± 4.63 | 29.89 ± 3.20 | 30.23 ± 3.50 | 29.65 ± 3.66 | | |

Each value shows mean ± S.D.

Table 21 Histopathological findings of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | | | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|----|---|---|----|--|------|---|---|---|-----|----|------|---|---|-----|------|----|----|----|------|----|----|------|----|----|----|----|----|----|
| | 0 | | | | | 30 | | | | | 100 | | | | | 300 | | | | | 1000 | | | | | | | | | |
| Incidence & Grade | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ | N | A | ± | + | 2+ | 3+ |
| Findings | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Liver | [12] | | | | | | [12] | | | | | | [12] | | | | [12] | | | | | | | [12] | | | | | | |
| Necrosis, massive, hepatocyte | 12 | 0 | | | | | 11 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 12 | 0 | | 12 | 0 | | 12 | 0 | | 12 | 0 | | 12 | 0 | | 12 | 0 | |
| Necrosis, focal, hepatocyte | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 10 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 | | 12 | 0 | |
| Microgranuloma | 12 | 0 | | | | | 12 | 0 | | | | | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| Hematopoiesis, extramedullary | 12 | 0 | | | | | 12 | 0 | | | | | 12 | 0 | | | 12 | 0 | | 10 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 10 | 2 | | 10 | 2 |
| Spleen | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Hematopoiesis, extramedullary | 0 | 12 | 3 | 8 | 1 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | 10 | 1 | 5 | 4 | 0 | |
| Kidney | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Vacuolization, urinary tubule | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 0 | | 12 | 0 | | |
| Cellular infiltration, lymphoid cell | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | |
| Urinary bladder | [12] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ulcer | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 0 | | 12 | 0 | | |
| Hemorrhage, propria | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 0 | | 12 | 0 | | |
| Cellular infiltration, lymphoid cell, propria | 11 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 0 | | 12 | 0 | | |

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

N: No abnormality detected.

A: Abnormality detected.

[]:Number of females examined.

No remarkable changes were seen in heart, lung, trachea, pancreas, salivary gland(sublingual and submandibular), esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, thymus, lymph node(submandibular and mesenteric), ovary, uterus, vagina, pituitary, adrenal, thyroid, parathyroid, brain(cerebrum, cerebellum and medulla oblongata), spinal cord, sciatic nerve, eyeball, Harderian gland, bone marrow(sternum and femur) and mammary gland.
Examined only liver in the 30, 100 and 300 mg/kg group.

Table 22 Number of estrous cases and reproductive performance of male and female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|---|-----------|---|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| Number of females | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Number of estrous cases before mating (14 days) | | | | | |
| Mean±S.D. | 3.6 ± 0.5 | 3.1 ± 0.9 | 3.4 ± 0.7 | 3.4 ± 0.5 | 3.3 ± 0.9 |
| Number of pairs | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Number of pairs with successful copulation | 11 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Copulation index (%) ^{a)} | 91.7 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Number of conceiving days | | | | | |
| Mean±S.D. | 2.9 ± 0.9 | 2.7 ± 1.6 | 3.3 ± 0.8 | 2.6 ± 1.1 | 2.3 ± 1.1 |
| Conceiving days 1-5 | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| Conceiving days ≥6 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Number of pregnant females | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| Fertility index (%) ^{b)} | 100.0 | 91.7 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Number of pregnant females with live pups | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 |

a): (Number of pairs with successful copulation / number of pairs)×100.

b): (Number of pregnant females / number of pairs with successful copulation)×100.

Table 23 Observation of pups (F1) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | |
|--|------------------------|------------------------|---|------------------------|------------------------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| Number of dams | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| Length of gestation (days) | 22.45 ± 0.52 | 22.27 ± 0.47 | 22.25 ± 0.45 | 22.08 ± 0.29 | 22.25 ± 0.45 |
| Pregnancy days ≤ 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Pregnancy days = 22 | 6 | 8 | 9 | 11 | 9 |
| Pregnancy days ≥ 23 | 5 | 3 | 3 | 1 | 3 |
| Corpora lutea | 18.2 ± 2.5 | 18.3 ± 3.2 | 17.0 ± 2.0 | 17.0 ± 2.6 | 18.4 ± 3.4 |
| Implantation scars | 15.6 ± 2.5 | 16.8 ± 3.2 | 15.6 ± 1.6 | 15.7 ± 1.9 | 16.2 ± 1.6 |
| Implantation index (%) ^{a)} | 86.5 ± 12.9 | 92.2 ± 9.4 | 92.0 ± 7.3 | 92.8 ± 6.9 | 89.4 ± 11.0 |
| Gestation index (%) ^{b)} | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Pups born | 14.7 ± 3.0 | 15.9 ± 3.3 | 14.8 ± 1.6 | 14.8 ± 1.7 | 15.8 ± 1.3 |
| Stillbirths | 0.3 ± 0.6 | 0.1 ± 0.3 | 0.4 ± 1.2 | 0.3 ± 0.5 | 0.2 ± 0.4 |
| Live pups born | 14.5 ± 2.8 | 15.8 ± 3.2 | 14.3 ± 2.1 | 14.4 ± 1.7 | 15.6 ± 1.2 |
| Sex ratio at birth ^{c)} (Total male/total female) | 1.15 ± 0.68 79 / 80 | 1.25 ± 0.67 89 / 85 | 1.08 ± 0.50 84 / 88 | 0.91 ± 0.37 79 / 94 | 1.28 ± 1.06 94 / 93 |
| Delivery index (%) ^{d)} | 93.5 ± 7.8 | 94.5 ± 6.6 | 94.8 ± 4.5 | 94.3 ± 5.1 | 97.7 ± 2.9 |
| Birth index (%) ^{e)} | 92.1 ± 8.1 | 94.1 ± 7.0 | 92.2 ± 10.2 | 92.3 ± 5.6 | 96.6 ± 3.8 |
| Live birth index (%) ^{f)} | 98.5 ± 3.8 | 99.5 ± 1.5 | 97.1 ± 8.4 | 97.8 ± 3.3 | 98.9 ± 2.5 |
| Live pups on day 4 of lactation | 14.4 ± 2.9 | 15.6 ± 3.1 | 14.3 ± 2.1 | 14.3 ± 1.8 | 15.3 ± 1.2 |
| Sex ratio on day 4 of lactation ^{g)} (Total male/total female) | 1.14 ± 0.68 78 / 80 | 1.31 ± 0.76 89 / 83 | 1.06 ± 0.49 83 / 88 | 0.90 ± 0.36 78 / 93 | 1.28 ± 1.05 93 / 91 |
| Viability index (%) ^{g)} | 99.3 ± 2.4 | 98.9 ± 2.4 | 99.4 ± 2.0 | 98.8 ± 2.9 | 98.5 ± 3.7 |
| External anomalies (%) ^{h)} | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 |

Each value shows mean ± S.D. per dam.

a): (Number of implantation scars / number of corpora lutea)×100.

c): Number of male pups / number of female pups.

e): (Number of live pups born / number of implantation scars)×100.

g): (Number of live pups on day 4 / number of live pups born)×100.

b): (Number of dams with live pups / number of pregnant dams)×100.

d): (Number of pups born / number of implantation scars)×100.

f): (Number of live pups born / number of pups born)×100.

h): (Number of pups with external anomalies / number of live pups)×100.

Table 24 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------------|----------------|----------------|---|----------------|----------------|--|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 | |
| Number of dams | 11 | 11 | 12 | 12 | 12 | |
| Male weight | | | | | | |
| Days of lactation | | | | | | |
| 0 | 6.87 ± 0.55 | 6.69 ± 0.42 | 6.74 ± 0.58 | 6.73 ± 0.38 | 6.87 ± 0.38 | |
| 4 | 10.93 ± 1.50 | 10.74 ± 1.20 | 11.14 ± 1.38 | 10.99 ± 1.04 | 10.93 ± 0.86 | |
| Female weight | | | | | | |
| Days of lactation | | | | | | |
| 0 | 6.54 ± 0.70 | 6.28 ± 0.41 | 6.48 ± 0.52 | 6.35 ± 0.33 | 6.42 ± 0.34 | |
| 4 | 10.39 ± 1.68 | 10.08 ± 1.07 | 10.63 ± 1.37 | 10.43 ± 1.09 | 10.45 ± 0.65 | |
| Mean pups weight | | | | | | |
| Days of lactation | | | | | | |
| 0 | 6.70 ± 0.63 | 6.50 ± 0.42 | 6.59 ± 0.53 | 6.54 ± 0.32 | 6.64 ± 0.41 | |
| 4 | 10.66 ± 1.58 | 10.43 ± 1.14 | 10.87 ± 1.37 | 10.73 ± 1.01 | 10.68 ± 0.77 | |
| Litter weight | | | | | | |
| Days of lactation | | | | | | |
| 0 | 95.53 ± 13.54 | 102.09 ± 17.06 | 94.08 ± 11.63 | 94.04 ± 11.57 | 103.52 ± 10.80 | |
| 4 | 149.24 ± 15.47 | 160.23 ± 20.21 | 152.62 ± 12.75 | 151.77 ± 16.77 | 163.77 ± 16.75 | |

Each value shows mean (g) ± S.D. per dam.

Table 25 Necropsy findings of pups (F1) on day 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

| Group (mg/kg) | Control | 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- | | | |
|-------------------|---------|---|-----|-----|------|
| | 0 | 30 | 100 | 300 | 1000 |
| Number of males | 78 | 89 | 83 | 78 | 93 |
| Findings | | | | | |
| Normal | 78 | 89 | 83 | 78 | 93 |
| Number of females | 80 | 83 | 88 | 93 | 91 |
| Findings | | | | | |
| Normal | 80 | 83 | 88 | 93 | 91 |

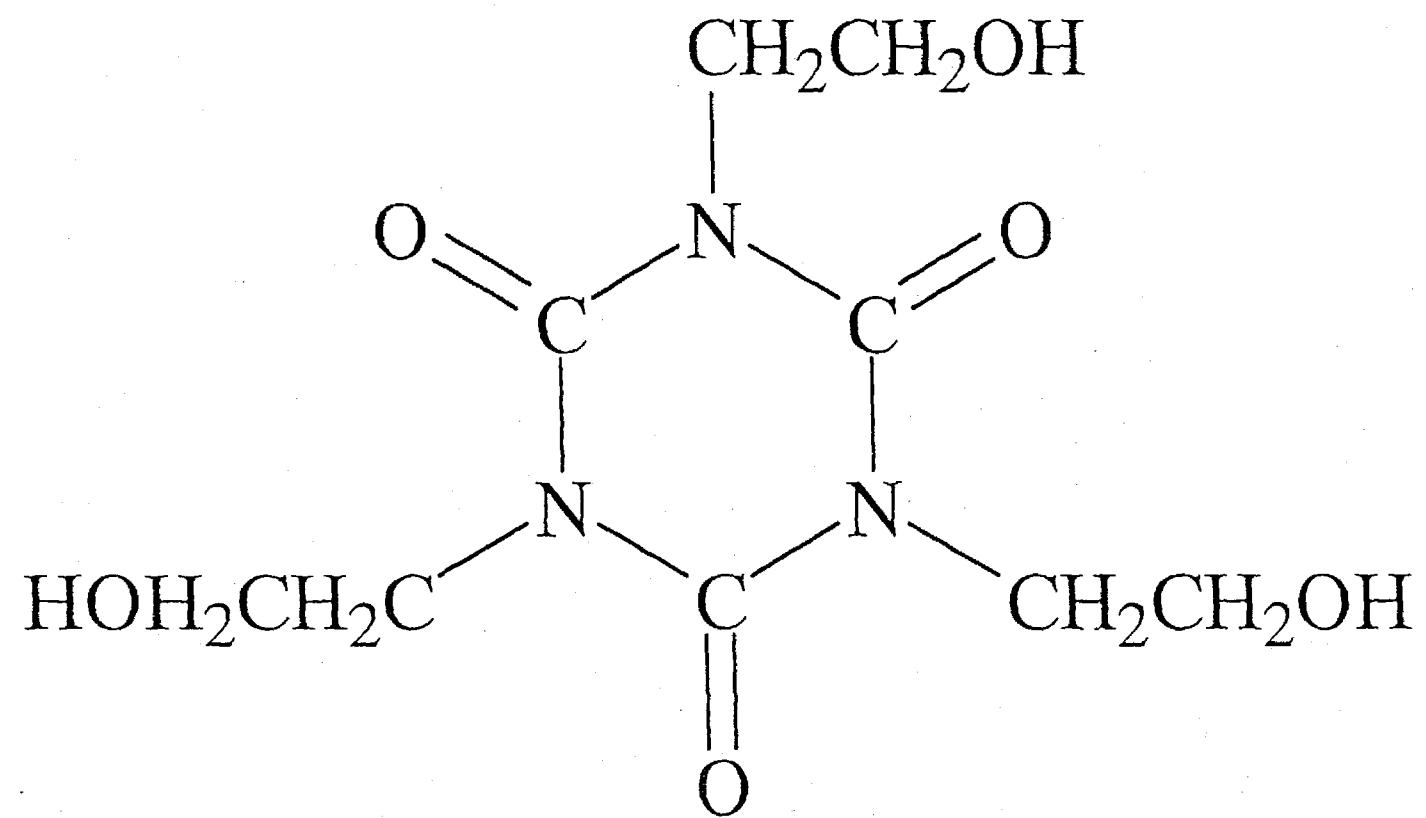


Fig. 1 Chemical structure of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)-

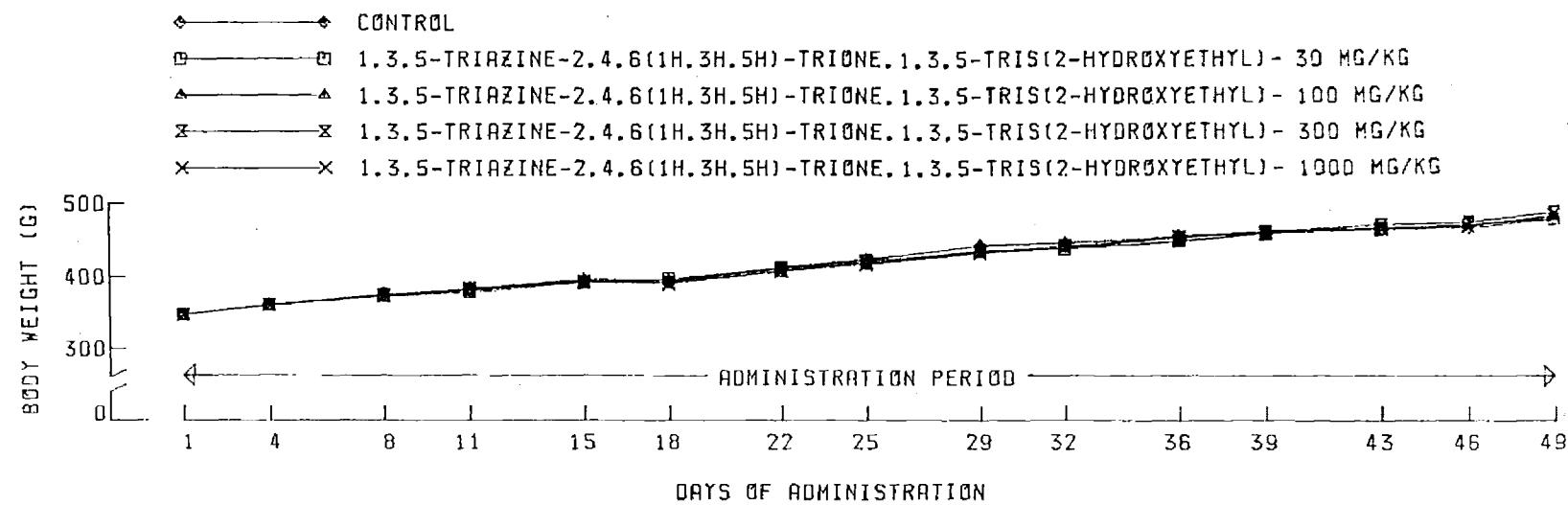


Fig. 2 Body weight of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

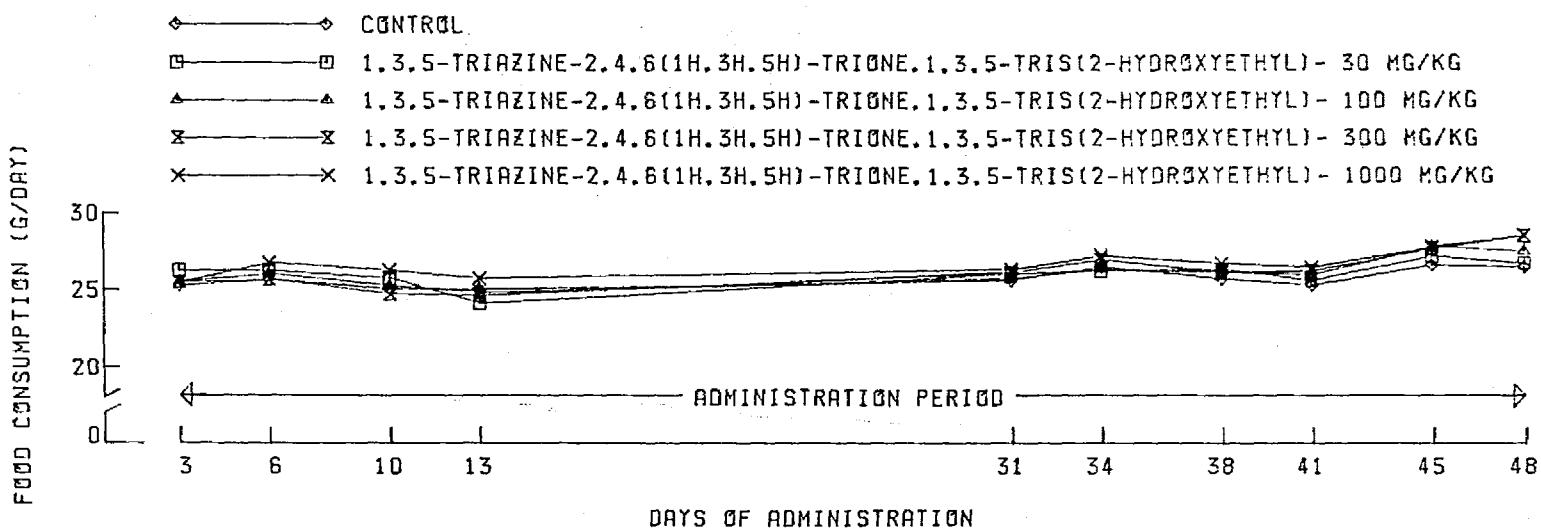


Fig. 3 Food consumption of male rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

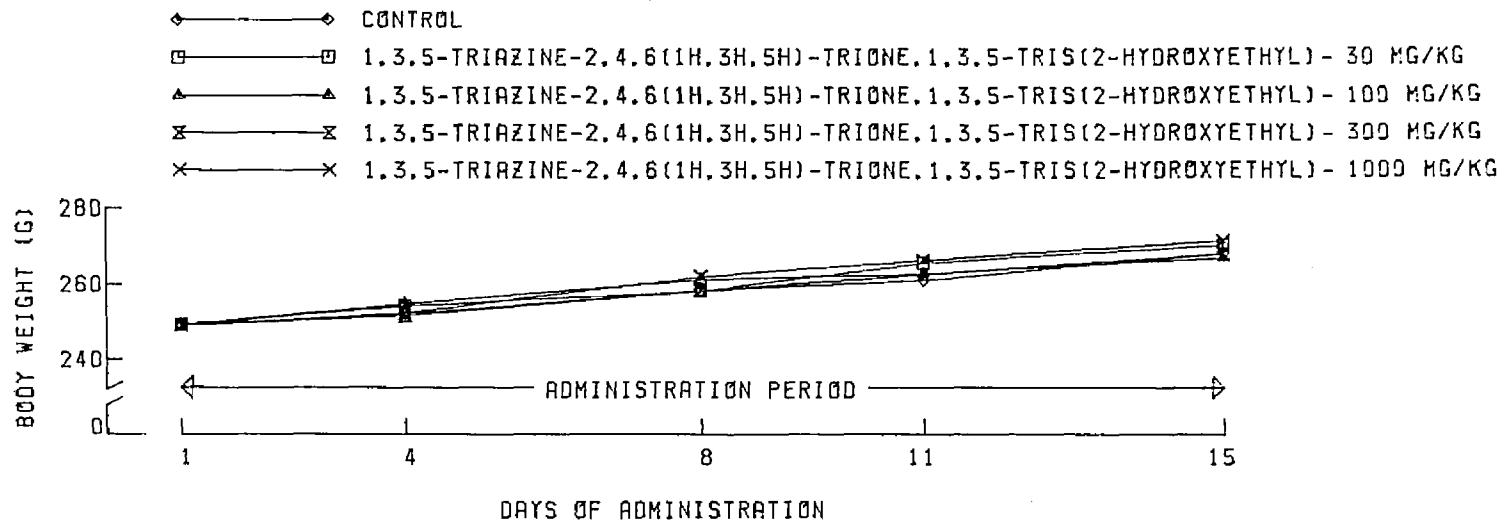


Fig. 4 Body weight of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

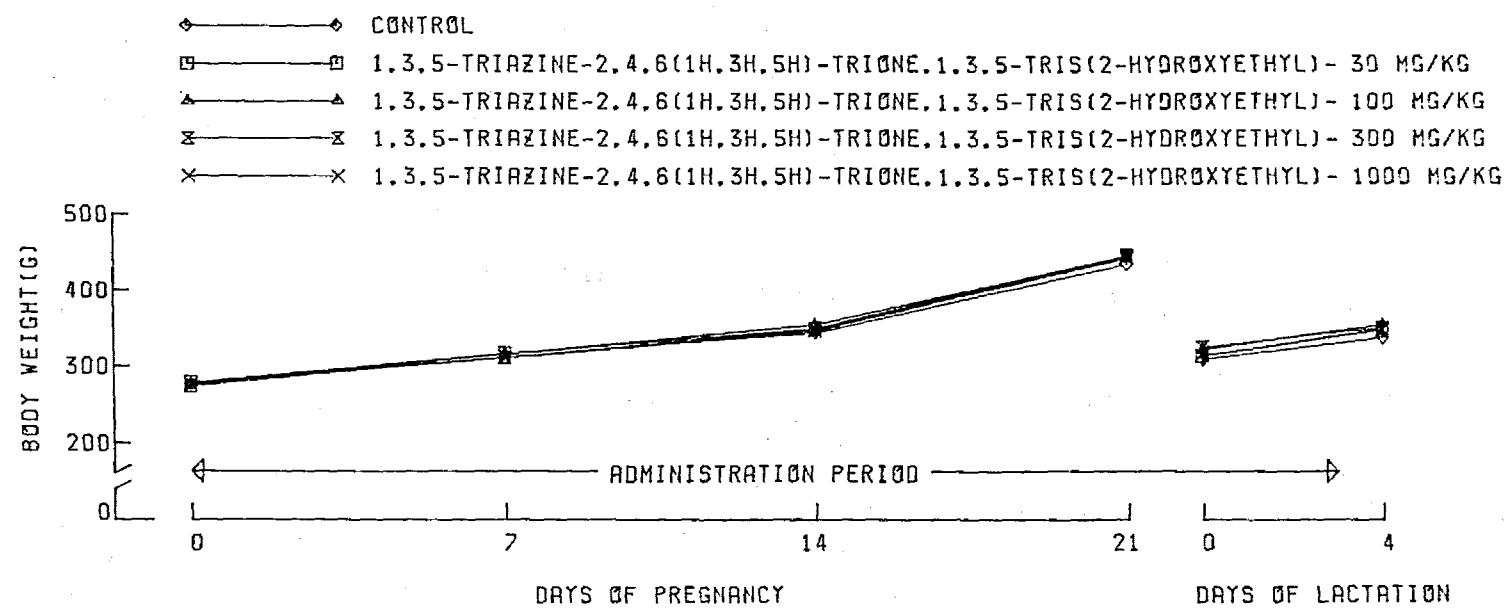


Fig. 5 Body weight of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

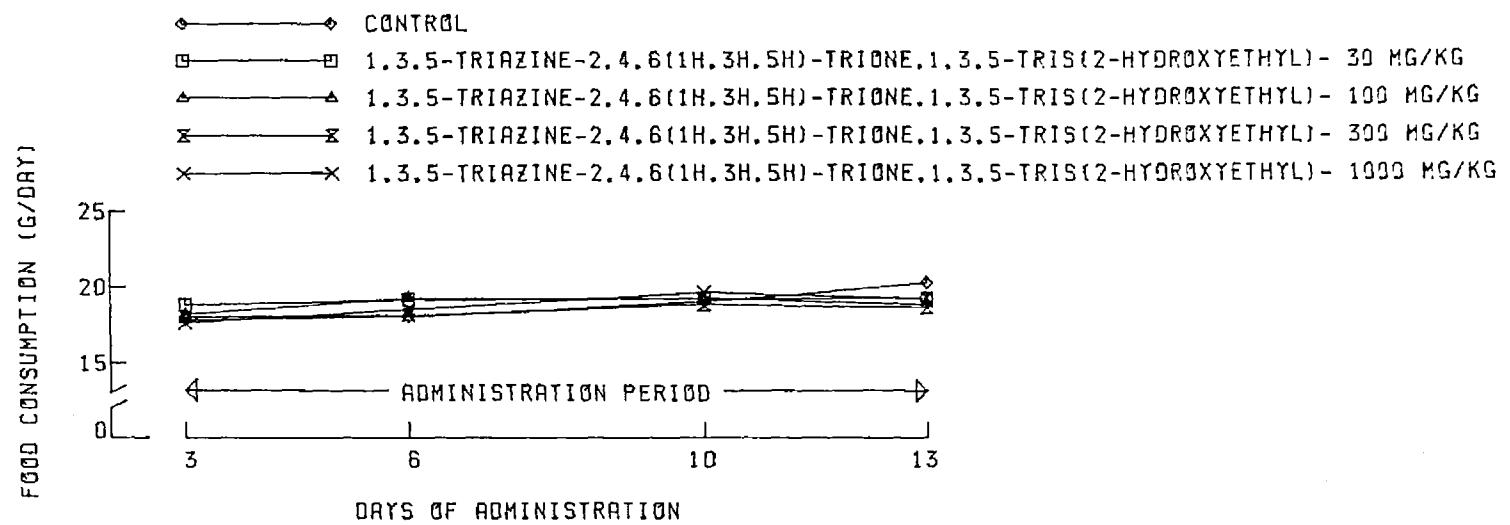


Fig. 6 Food consumption of female rats (P) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

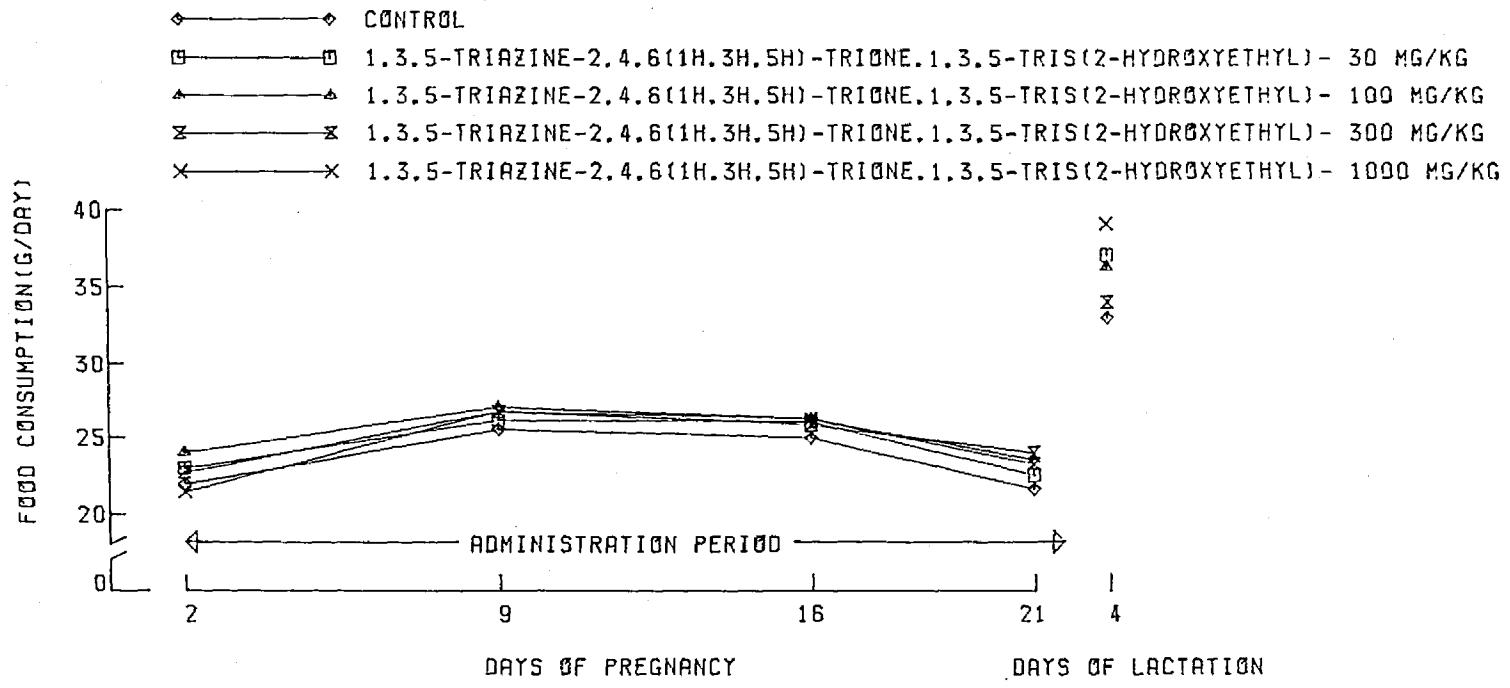


Fig. 7 Food consumption of dams (P) during pregnancy and lactation periods in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration

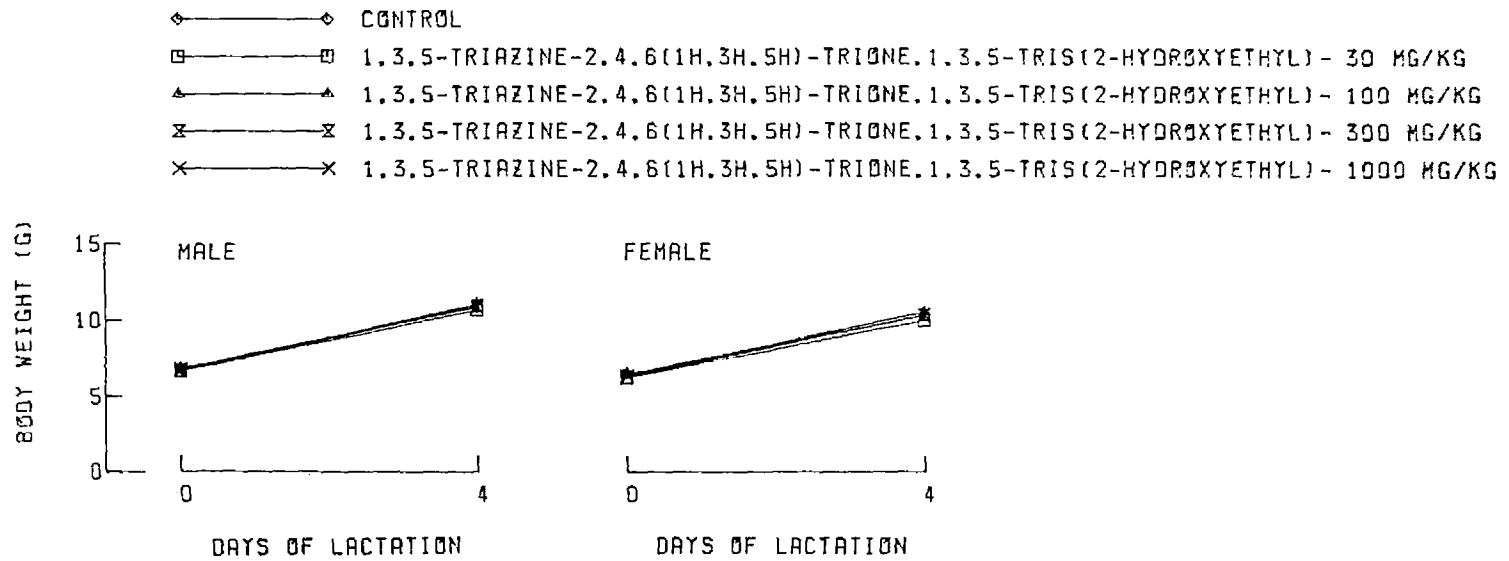


Fig. 8 Body weight of pups (F1) on days 0 and 4 of lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of 1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- by oral administration