食薬セ研第１１－１７４３号
２００１年　６月２７日

2－エチル酪酸のラットを用いる
反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験

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 】

要　約 ---------- 1

Ⅰ．反復投与毒性 ---------- 1

1．雄動物所見 ---------- 1

2．雌動物所見 ---------- 1

Ⅱ．生殖発生毒性 ---------- 2

Ⅲ．評価 ---------- 2

緒　言 ---------- 3

試験材料および方法 ---------- 4

1．被験物質 ---------- 4

2．使用動物および飼育条件 ---------- 4

3．群分けおよび個体識別 ---------- 5

4．投与検体の調製 ---------- 5

5．投与量、群構成、投与期間および投与方法 ---------- 6

6．観察方法 ---------- 7

7．統計解析 ---------- 12

結　果 ---------- 14

Ⅰ．反復投与毒性 ---------- 14

1．一般状態 ---------- 14

2．体重 ---------- 15

3．摂餌量 ---------- 15

4．解剖時検査所見 ---------- 15

Ⅱ．生殖発生毒性 ---------- 21

1．性周期 ---------- 21

2．交配成績 ---------- 21

3．分娩および哺育所見 ---------- 21

4．黄体数および着床数 ---------- 22

5．出生児所見 ---------- 22

考　察 ---------- 23

1．反復投与毒性 ---------- 23

2．生殖発生毒性 ---------- 24

3．無作用量 ---------- 25

文　献 ---------- 26

Figures (Figure 1 ～ Figure 4)

Tables (Table 1 ～ Table 23)

【 要 約 】

2-エチル酪酸（BA2E と略記）の 0（媒体対照、コーン油）、10、50 および 250 mg/kg を Sprague-Dawley 系(Crj:CD) ラットの雌雄（各 13 匹／群）に、10 週齢から 2 週間経口投与し、2 週間を限度として交配させた。雄は交配期間終了後 2 週間を経過した後に剖検し、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施した。雌は交配後、自然分娩させ、4 日間出生児を哺育させた後、哺育 5 日に剖検して雄と同様の検査を実施した。分娩しなかった雌は、妊娠 26 日相当日に同様に剖検した。雌雄ともに剖検の前日まで投与を継続し、この間、親動物の一般状態、体重増加および摂餌量の変化などを観察するとともに、雌動物の性周期を観察した。また、親動物の分娩および泌乳を含む繁殖能力、ならびに出生児の哺育 4 日までの発育を観察し、出生児を哺育 4 日に剖検することにより、これらに対する BA2E の影響を検討した。結果は、以下のように要約される。

Ⅰ．反復投与毒性

1．雄動物所見

250 mg/kg 投与群において、投与後一過性の流涎が 1 例に認められた他に、BA2E 投与に起因した一般状態の異常、ならびに死亡および瀕死は認められなかった。また、体重増加および摂餌量にも投与の影響は認められなかった。

剖検時の血液学検査では、50 mg/kg 以上の投与群において白血球数が軽度に減少し、250 mg/kg 投与群において血小板数が減少したが、血液生化学検査成績に BA2E 投与の影響は認められなかった。250 mg/kg 投与群において腎臓の相対重量がやや増加したが、病理組織学検査では BA2E 投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

2．雌動物所見

対照群の 1 例が、難産により分娩中に死亡したが、BA2E 投与群に死亡および瀕死は認められなかった。一般状態の変化としては、250 mg/kg 投与群の 1 例に投与後一過性の流涎が認められたが、体重増加および摂餌量に投与の影響は認められなかった。

剖検時に実施した血液学検査の成績に投与の影響は認められなかった。250 mg/kg 投与群において腎臓重量およびその相対重量がやや増加したが、病理組織学検査では、いずれの組織にも BA2E 投与に起因した異常は認められなかった。

II．生殖発生毒性

性周期に BA2E 投与の影響は認められず、全例が交尾した。また、受胎率にも投与の影響は認められなかった。

BA2E 各投与群の妊娠期間は対照群と同様であり、出産率にも BA2E 投与の影響は認められなかった。また、妊娠黄体数、着床数、着床率、産児数および分娩率といった出生までの胚および胎児の生存性にも投与の影響は認められなかった。しかし、50 mg/kg 以上の投与群において、少数例に産児を集める行動や胎盤を処理する行動の欠如、あるいは分娩の遷延といった分娩異常が認められた。さらに、250 mg/kg 投与群では出産生児数が減少し、生児出産率および出生率が減少し、このために、哺育４日における生存児数も減少した。哺育０日および４日における性比ならびに新生児の４日の生存率には投与の影響は認められず、出生児の体重にも投与の影響は認められなかった。形態異常を示す出生児も認められなかった。

III．評価

以上の試験成績から、本試験条件下では、BA2E の無作用量は、反復投与毒性に関しては、雄では白血球数が軽度に減少したことから 10 mg/kg/day と推定され、雌では、投与後一過性の流涎が認められ、腎臓重量およびその相対重量が増加したことから 50 mg/kg/day と推定される。生殖発生毒性に関しては、雄では 250 mg/kg/day と推定され、雌では、50 mg/kg/day 以上の投与群の少数例に分娩異常が認められたことから 10 mg/kg/day であると推定される。出生児では、250 mg/kg/day 投与群において出生日における生存性が低下したことから 50 mg/kg/day であると推定される。

【 緒 言 】

2-エチル酪酸は、抗痙攣薬のバルプロ酸の類縁化学物質として知られている有機酸である。

2-エチル酪酸の毒性に関しては、非絶食下における被験物質のラット経口投与時の50%致死量は2200 mg/kg と報告されており[1]、OECD 化学物質試験法ガイドライン401／急性経口毒性試験に準拠して実施された「2-エチル酪酸のラットを用いる急性経口投与毒性試験」[2]において、2000 mg/kgを単回経口投与しても一過性の軽微な体重増加抑制傾向以外に変化が認められなかった。反復投与毒性に関しては、器官形成期投与試験[3]において、妊娠ラットを死亡させることが報告されている。

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、OECD 化学物質試験法ガイドライン 422／反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験法（1996 年 3 月 22 日）および、「化学物質 GLP」（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、昭和 63 年 11 月 18 日改正、環企研第 233 号、衛生第 38 号、63 基局第 823 号）に準拠して 2-エチル酪酸の反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、同化合物の親動物に対する反復投与の影響ならびに新生児の生存性、発育および形態を含む生殖発生に及ぼす影響ついて検討したので報告する。

【試験材料および方法】

1．被験物質

2-エチル酪酸（BA2E と略記、CAS No.: 88-09-5、分子式: $C_6H_{12}O_2$、分子量: 116.16、英名: butanoic acid, 2-ethyl-、沸点：194 ℃、蒸気圧：8.0 kPa (20℃)）は、下図の構造を有する有機酸である。

$$CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH\ (COOH)\ CH_2 \cdot CH_3$$

本試験には、　　から提供された BA2E（ロット番号：　　、純度：99.2%、不純物として水分 0.03%を含有する無色透明の液体）を使用した。提供された BA2E は使用時まで室温保管した。本試験に使用した BA2E については、投与終了後に　　に返却し、再分析して使用期間中の安定性を確認した（Table A)。

2．使用動物および飼育条件

試験には、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センター生産の Sprague-Dawley (SD)系(Crj:CD (SD)IGS、SPF)ラットを使用した。雌雄動物は 7 週齢で購入し、入荷後 6 日間、検疫と馴化を兼ねて飼育し、その間毎日一般状態を観察して異常が認められなかった動物を、さらに 2 週間予備飼育した。この間、雄は一般状態を観察し、雌は一般状態を観察するとともに性周期を観察した。動物の入荷、検疫ならびに群分け状況を、Table B に示した。

各動物は、基準温湿度各 22～25℃、および 50～65%、換気回数約 15 回／時間、照明 12 時間（7 時～19 時点灯）に制御された飼育室で、金属製金網床ケージ(220w×270d×190h mm）に個別に収容して飼育し、固型飼料（CE-2、日本クレア株式会社）および飲料水（水道水、秦野市水道局給水）を自由に摂取させた。妊娠 18 日（膣栓あるいは精子発見日＝妊娠 0 日）以後の母動物は、ラット用プラスチック製繁殖ケージ（350w×400d×180h mm)に収容し、哺育 5 日（哺育 0 日＝分娩日）まで紙パルプ製チップ（ALPHA-dri、加商株式会

社）を床敷として供給して飼育した。

試験期間中、秦野研究所中央温湿度監視装置により測定した飼育室の温度は 23.5～25.0℃と基準値内の値であった。また、相対湿度は、30 分以内の逸脱が２回（2000 年４月 14 日、９時～９時 30 分、湿度 48.0%および 2000 年４月 27 日、10 時 30 分～11 時、湿度 65.5%）認められたため、48.0～65.5%となったが、いずれの逸脱も短時間であり、試験に影響を及ぼさないものと判断された。使用した飼料、水および床敷についても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．群分けおよび個体識別

雌雄とも投与開始前日の体重に基づく体重別層化無作為抽出法により群分けし、各群に雌雄各 13 匹を配した。雌動物については、入荷後７日から群分け日まで性周期を毎日観察し、規則的に発情を回帰している動物を選択して群分けに用いた。

群分け後、すべての雌雄は、尾に油性フェルトペンで個体識別番号を示す番号を記して個体を識別した。各飼育ケージには、試験計画番号および個体識別番号を記入した、群ごとに色の異なる動物カードを掛けて個体識別の補助とした。出生児については、個体識別は行わなかった。

４．投与検体の調製

投与検体は、各濃度毎に秤量した BA2E を媒体としたコーン油（英名：corn oil、入手先：ナカライテスク株式会社、製造番号：V9F1299）に溶解し、いずれの用量においても１回の投与液量が２mL/kg 体重になるように含量を調製した。

投与検体の安定性については、本試験に先立ち、本被験物質のラットを用いる急性経口投与毒性試験（試験計画番号：A-99-057)において 0.5 および 20%(w/v) の調製検体について、冷蔵、遮光条件下における８日間の安定性を確認した。これに基づき、投与検体は１週間に１回以上の頻度で調製し、冷蔵、密封、遮光保管して調製後７日以内に使用した。

各濃度の投与検体に含まれる被験物質の含量は、投与開始前に 1 回、以下に示す方法で測定した。その結果、調製検体には所定量の BA2E が含まれていることを確認した（Table

C)。

測定方法

各濃度の調製検体を２mL ずつ採取し、ヘキサンで一定量とした後、適宜ヘキサンで希釈し、n-ヘプタン酸を内標準物質としてガスクロマトグラフ（GC)により測定し、同時に作成した検量線（BA2E ：25～100 μg/mL）を用いて濃度を求めた。

GC 条件：
分析カラム：TC-FFAP、0.32 mm i.d.×30 m、膜厚 0.25 μm（ジーエルサイエンス(株)）
カラム温度： 50℃→ 10℃/min→ 230℃
キャリアガス：ヘリウム、80 kPa
水素： 60 kPa
空気： 50 kPa
注入口温度： 200℃
検出器温度： 200℃
試料注入量： 1 μL

５．投与量、群構成、投与期間および投与方法

本試験の投与量は、2-エチル酪酸のラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合予備試験（試験計画番号：R-99-007、以下、予備試験と略記）の結果に基づいて決定した。すなわち、本試験と同系統のラット各群雌雄各５匹に、BA2E をコーン油に溶解して、0、250、500あるいは1000 mg/kg を２週間反復経口投与し、その間、一般状態を観察して、体重推移、摂餌量、尿の性状を調べた後、最終投与後に絶食してその翌日に剖検し、器官重量を測定した。その結果、1000 mg/kg 投与により、投与初期に自発運動が減少し、体重増加および摂餌量が抑制された。その後は流涎が認められるようになり、呼吸異常を示した雄の１例は瀕死状態に至った。さらに、2 週間の反復投与後には前胃粘膜の肥厚が認められ、雌雄の肝臓重量が増加し、雄の脾臓が腫大して、雌の腎臓重量が増加した。これらの結果ならびに、本試験では投与期間がさらに延長し、雌には妊娠、分娩および哺育といった生理的負荷が加えられることを考慮すると、1000 mg/kg は、耐量を超える量であると推測された。一方、瀕死状態に至らなかったものの、250 mg/kg および 500 mg/kg 投与群には呼吸の異常も認められ、肝臓および腎臓重量の増加傾向が認められた。また、呼吸の異常を認めなかった雄には脾臓重量の増加傾向も認められた。さらに、器官形成期の妊娠ラットに BA2E を 150 mg/kg 反復投与すると、母動物の一部が呼吸異常を示して瀕死あるいは

死に至ることが報告されていることから[3]、本試験における高用量には、予備試験において2週間の生存が確認された 250 mg/kg を設定し、以下公比5で除して、中用量には 50 mg/kg を、低用量には 10 mg/kg を設定することとした。

以下に群構成を示す。

群番号	被験物質	投与量 (mg/kg)	匹数（動物番号）	
			雄	雌
1	媒体対照 (corn oil)	0	13 (MX01001-013)	13 (FB01001-013)
2	BA2E	10	13 (MX02001-013)	13 (FB02001-013)
3	BA2E	50	13 (MX03001-013)	13 (FB03001-013)
4	BA2E	250	13 (MX04001-013)	13 (FB04001-013)

各用量の投与検体は、雄に対しては交配前2週間から最長2週間の交配期間を経て剖検前日に至るまでの連続 42 日間、また、雌に対しては交配前2週間、交尾までの交配期間、妊娠期間および哺育4日まで、分娩しない雌は妊娠 25 日相当日まで、それぞれ毎日1回、一定時刻の間（9時～13時）に、ラット用胃管を用いて調製検体を経口投与した。

投与検体は投与前に再度混和し、検体を吸入した胃管と異なる胃管をシリンジに装着し、さらに、シリンジ内に若干の空気を吸引して投与終了時に胃管の先端に投与検体が付着しないように投与した。各動物の投与液量（2mL/kg）は、雌雄とも最近時の体重をもとに、個体別に算出した。

6．観察方法

1）一般状態の観察

雌雄とも、全例について飼育期間中毎日1回以上観察した。投与期間中の動物については、投与前および投与終了後に観察した。症状が発現した場合、速やかな回復が期待されない所見を除き、症状の発現している間、断続的に可能な限り観察を継続した。死亡例については発見後体重を測定して剖検した。

2）体重測定

雄は全例について、投与１（投与開始日)、７、14、21、28、35、42 日および解剖日に測定した。

雌は全例について、交尾を確認するまでは投与１、７、14、21 日に、交尾確認後は、妊娠０、７、14、20 日に、分娩後は哺育０、４日および解剖日に測定した。分娩しなかった例も、妊娠 26 日相当日の剖検日に測定した。これらのうち、投与 21 日の体重については、交尾が確認されていない動物についてのみ測定したので評価の対象から除外した。

3）摂餌量測定

雄は全例について、投与１～２、７～８、14～15、29～30、35～36、41～42 日に測定した。

雌は全例について、交配前期間は投与１～２、７～８、14～15 日、交尾確認後は、妊娠０～１、７～８、14～15、20～21 日に、分娩後は哺育３～４日に測定した。

4）性周期

全例について群分け日までの性周期観察に引き続き、交尾確認日まで、腟スメア標本を作製して観察し、細胞構成から、発情期、発情前期および発情休止期に分類した。これらの分類に基づき、性周期の型を、４日間隔で発情を回帰するものを４日周期、４～５日間隔で発情を回帰するものを４および５日周期、これら以外の間隔で発情を回帰するものを不正周期に分類し、投与開始後性周期の型が変化した動物の頻度を群毎に算出するとともに、群ごとの平均発情回帰日数（個体毎の発情期から次回発情期までの日数の平均）を求めた。

5）交配

交配は、雌雄ともに２週間投与後(投与 15 日)の 12 週齢から、交尾を確認するまで、２週間を限度として同群内の雌雄１：１で連日同居させることによって行った。交尾の確認は、腟スメア中の精子の存在あるいは腟栓を確認することにより行い、いずれかが確認さ

れた日を妊娠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／交配動物数）×100、％〕を求め、子宮に着床痕の確認された雌動物を妊娠動物として受胎率〔(妊娠動物数／交尾動物数）×100、％〕を算出した。また、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期の回数も求めた。

6）分娩・哺育状態の観察

各群とも、交尾した雌は、全例を自然分娩させて哺育させた。

分娩の確認は、妊娠 21 日から分娩が確認されるまで、妊娠 25 日を限度として毎日行い、11 時までに分娩が完了した例についてその日を哺育 0 日とした。分娩状態を直接観察できた例については、異常の有無を断続的に観察し、直接観察ができなかった例については、分娩前後の一般状態および産児の状態から異常の有無を判断した。

妊娠 25 日相当日までに分娩が確認されない動物は翌日、後述の剖検の項に示した方法に従って剖検し、子宮に着床痕の認められなかった例を不妊と判定した。

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／妊娠動物数）×100、％〕を各群について求めた。また、哺育１日から毎日、哺育状態を観察し、哺育５日の剖検において数えられた着床数および妊娠黄体数から着床率〔(着床数／妊娠黄体数）×100、％〕を算出した。

7）F_1 出生児の観察

哺育０日に、雌雄別に産児数（生存児＋死亡児）を調べ、分娩率〔(産児数／着床痕数）×100、％〕、生児出産率〔(出産生児数／着床痕数）×100、％〕および出生率〔(出産生児数／産児数）×100、％〕を算出した。生存児については外表奇形の有無を観察した。翌日（哺育１日）から哺育４日まで、毎日一般状態を観察し、生児数と死亡児数を雌雄別に数え、新生児生存率〔(哺育４日の生児数／哺育０日の生児数）×100、％〕を算出した。生存児については、哺育０および４日に個別の体重を測定し、各腹ごとに雌雄別の平均値を算出するとともに、哺育０および４日における性比〔(哺育０あるいは４日雄生児数／哺育０

あるいは４日総生児数）×100〕を算出した。

８）剖検

雄動物は、投与 42 日に絶食を開始し、その 18～24 時間後にペントバルビタールナトリウム麻酔下で採血後、放血致死させ解剖し、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施するとともに、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣および精巣上体の重量を測定し、相対重量を算出した。

雌動物のうち、死亡例は発見後直ちに剖検した。交尾したが分娩しなかった例については妊娠 25 妊娠日相当日に、また、分娩した例は哺育 4 日に絶食を開始し、その 18～24 時間後にペントバルビタールナトリウム麻酔下で採血後、放血致死させ解剖し、血液学検査、血液生化学検査および病理学検査を実施するとともに、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓および副腎の重量を測定し、相対重量を算出した。

出生児については、死亡児は発見後速やかに剖検し、0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定して保存した。生存児は、全例を哺育４日にエーテル吸入により致死させ剖検し、異常の認められた器官を 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定し保存した。

９）血液学検査

腹部後大静脈から抗凝固剤としてクエン酸ナトリウムを用いてプロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間測定に用いる血液を採取し、次いで、腹部後大静脈から抗凝固剤として EDTA-3K を用いてその他の血液学検査に用いる血液を採取した。血液学検査の項目および測定方法を以下に示す。なお、採血時に作製した Wright-Giemsa 染色静脈血塗沫標本および Brecher 法による網状赤血球比率計測のための標本は、検査の必要がないと判断されたので使用しなかった。

項目	測定法	使用機器
赤血球数(RBC)	自動（電気抵抗法）	血液自動分析装置 CELL-DYN3500SL（ダイナボット）
白血球数(WBC)	自動（フローサイトメトリー・レーザー光散乱法/電気抵抗法）	同上

続く

項目	測定法	使用機器
白血球分類	自動（フローサイトメトリー・レーザー光散乱法）	血液自動分析装置 CELL-DYN3500SL（ダイナボット）
血色素量(Hb)	同上（吸光度法）	同上
平均赤血球容積(MCV)	自動（電気抵抗法）	同上
血小板数	同上（電気抵抗法）	同上
ヘマトクリト値(Ht)	計算（RBC×MCV×0.001）	
平均赤血球血色素量(MCH)	計算（Hb×1000/RBC）	
平均赤血球血色素濃度(MCHC)	計算（Hb×100/Ht）	
プロトロンビン時間(PT)	光散乱検出法	全自動血液凝固測定装置 CA-1000(東亜医用電子)
活性部分トロンボプラスチン時間(APTT)	同上	同上

10）血液生化学検査

全例について、前述の血液学検査に用いる血液の採取に引き続き、腹部後大静脈から抗凝固剤としてヘパリンを用いて採血し、以下の項目について検査した。

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	BCG 法	同上
総コレステロール濃度	COD･DAOS 法	同上
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼ G6PDH 法	同上
尿素窒素濃度(BUN)	ウレアーゼ GLDH 法	同上
クレアチニン濃度	Jaffé 法	同上
アルカリフォスファターゼ活性(ALP)	GSCC 法	同上
GOT（AST)活性	IFCC 法	同上
GPT（ALT)活性	同上	同上
γ-GTP 活性	γ-グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法	同上
トリグリセライド濃度	GPO･DAOS 法	同上
無機リン濃度 (Inorg.phos.)	モリブデン酸直接法	同上
総ビリルビン濃度	Jendrassik/Grof 法	同上
カルシウム濃度	OCPC 法	同上
A/G 比	計算	同上
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置 EA05（A&T）
カリウム濃度	同上	同上
塩素濃度	同上	同上

11）病理学検査

(1)　肉眼検査

全例について剖検し、器官・組織の肉眼観察を行った。また、雌雄とも全例について、脳、下垂体、脊髄、上部気道を含む上顎、甲状腺、心臓、気管、気管支、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、坐骨神経、大腿骨髄、病変部を採取し、さらに、雄は精巣、精巣上体、前立腺腹葉、凝固腺を含む精嚢を採取した。雌は卵巣、子宮、膣を採取し、子宮については、着床数を数え、分娩した雌の卵巣については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を数えた。また、雌雄ともに肺は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液で注入固定してから採取した。採取した器官および組織のうち、精巣ならびに精巣上体はブアン液（長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液を使用）に固定し、その他は 0.1M リン酸緩衝 10%ホルマリン溶液に固定して保存した。

(2)　病理組織学検査

固定・保存器官のうち、卵巣、精巣および精巣上体は全例について常法に従ってパラフィン切片とし、ヘマトキシリン－エオジン染色を行って病理組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。

定期解剖例については、全例の検査を実施する卵巣、精巣および精巣上体以外の固定・保存器官について、雄は対照群 5 例および 250 mg/kg 投与群 6 例、雌は不妊例を除く対照群 7 例および 250 mg/kg 投与群 5 例を動物番号の若い順に選定し、標本を作製して検査した。その結果、被験物質投与によると推定される異常はいずれの器官にも認められなかったので、その他の動物については標本を作製しなかった。

死亡例についてはすべての保存器官について、同様にして病理組織標本を作製し、検査した。病変部については、対照群の雄および 10 mg/kg 投与群の雌に認められた脱毛部を除き、すべて病理組織学検査を実施した。

7．統計解析

性周期の変化した動物の頻度、交尾率、受胎率ならびに出生児の形態異常の出現頻度に

ついては Fisher の直接確率検定[4]を行った。病理組織学検査所見では、グレード分けをしたデータは、Mann-Whitney のU検定[5]により、陽性グレードの合計値は Fisher の直接確率片側検定[6]により対照群と BA2E 各投与群との間の有意差検定を行った。その他のデータは、個体ごとに得られた値、あるいは litter ごとの平均値を1標本として、先ず Bartlett 法[7]により各群の分散の一様性について検定を行った。分散が一様である場合には、一元配置型の分散分析[7]を行い、群間に有意性が認められる場合は、Dunnett 法[6]により多重比較を行った。一方、いずれかの群で分散が0となる場合および分散が一様でない場合には、Kruskal-Wallis[8]の順位検定を行い、群間に有意性が認められる場合には、Dunnett 型[8]の検定法により多重比較を行った。有意水準はいずれも5％とした。

【 結 果 】

Ⅰ．反復投与毒性

1．一般状態

1）雄

死亡あるいは瀕死動物はいずれの投与群にも認められなかった。

一般状態については、10 mg/kg 投与群を除く各群の動物に、以下のような所見が認められた。

動物番号：MX01011：投与 15 日～43 日（剖検日）まで両前肢に脱毛が認められた。

動物番号：MX03009：投与 15 日に背側頚部に潰瘍が認められ、翌日には痂皮が形成されて、脱毛が認められたが、投与 28 日に回復した。

動物番号：MX03013：投与 22 日から投与 30 日まで両前肢に脱毛が認められた。

動物番号：MX04004：投与 42 日に、投与後一過性の流涎が認められた。

2）雌

対照群の 1 例（動物番号：FB01004）が、投与 38 日の分娩中に死亡したが、死亡発見時まで、一般状態の異常は認められなかった。本例の他に、死亡および瀕死屠殺例はなかった。

一般状態については、対照群を含む各群に以下のような所見が認められた。

動物番号：FB01007：投与 36 日～45 日（剖検日）まで右腋窩皮下に直径約 5 mm の結節が認られた。

動物番号：FB02002：投与 36 日～44 日（剖検日）に右側腹部に、また、投与 36 日～43 日に左側大腿部に脱毛が認められた。

動物番号：FB03004：投与 18 日から背側頚部に痂皮形成が認められた。投与 22 日には直径約 5 mm となり、投与 24 日まで観察された。

動物番号：FB04006：投与 35 日に、投与後一過性の流涎が認められた。

動物番号：FB04010：投与 35 日～41 日に両前肢に脱毛が認められた。

2．体重

1）雄（Figure 1; Tables 1～3; Appendices 1-1～3-4）

体重、増加量および累積増加量のいずれにも、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2）雌（Figure 2; Tables 4～6; Appendices 4-1～6-4）

交配前、妊娠中および分娩後のいずれの時期においても、体重、増加量および累積増加量に対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

3．摂餌量

1）雄（Figure 3; Table 7; Appendices 7-1～7-4）

対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2）雌（Figure 4; Table 8; Appendices 8-1～8-4）

いずれの時期も、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

4．解剖時検査所見

1）血液学検査所見

(1) 雄(Table 9; Appendices 9-1～9-4)

赤血球系の各測定値には、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。白血球系については、50 mg/kg 以上の投与群において白血球数が対照群と比較して有意（$p<0.05$）に減少した。白血球百分比については対照群との間に有意差は認められなかったが、リンパ球以外の白血球比率は、むしろ対照群より高い値を示していた。凝固系については、250 mg/kg 投与群において血小板数が有意（$p<0.01$）に減少していたが、血液凝固時間には対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

(2) 雌(Table 10; Appendices 10-1～10-4)

いずれの検査項目についても対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2）血液生化学検査所見

(1) 雄(Table 11; Appendices 11-1～11-4)

いずれの検査項目についても対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

(2) 雌(Table 12; Appendices 12-1～12-4)

50 mg/kg 以上の投与群においてγ-GTP 活性が対照群と比較して軽度ながら有意（$p<0.05$、$p<0.01$）に上昇した。また、対照群と比較すると、50 mg/kg 投与群において総ビリルビン濃度の有意（$p<0.01$）な減少およびカルシウム濃度の有意（$p<0.01$）な増加が認められたが、その他の BA2E 投与群については対照群との間に有意差は認められなかった。上記以外の項目については、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

3）剖検所見

(1) 雄(Table 13; Appendix 13)

対照群の 2 例および 250 mg/kg 投与群の 1 例の精巣上体では、左右いずれかの片側性に黄色あるいは乳白色の結節が観察された。50 mg/kg および 250 mg/kg 投与群の各 2 例に肝臓および腎臓の腫大が認められた。また、これらのうち 250 mg/kg 投与群の 1 例には右側腎臓の皮質に淡色域が認められた。これらの他に、250 mg/kg 投与群では胸腺の腫大が 1 例に、小型化が 2 例に観察された。

(2) 雌(Table 14; Appendix 14)

<u>死亡動物（動物番号：FB01004）</u>

胎児が左右子宮角にそれぞれ 2 および 1 例遺残していた他に、いずれの器官にも変化は認められなかった。

<u>生存動物</u>

妊娠 26 日相当日に剖検した不妊例 2 例については、対照群の 1 例に所見は認められなかったが、50 mg/kg 投与群の 1 例の胸腺に小型化が認められた。哺育 5 日の定期解剖では、胸腺の小型化が対照群を含む各投与群に 1 例ずつ認められた。また、対照群の 2 例および 10 mg/kg 投与群の 1 例の腺胃粘膜に赤色点が認められ、10 mg/kg 投与群の別の 1 例において前胃粘膜の肥厚が観察された。50 mg/kg 投与群では、1 例の左側子宮角に赤色域が観察

された。この他、対照群では、1例に左側子宮角の限局性拡張が認められ、一般状態の観察において右腋窩皮下に結節の認められた例には、その部位に腫瘤が認められた。

4）病理組織学検査所見

(1) 雄(Table 15; Appendix 15)

以下に示す器官に異常所見が認められたが、脳、気管、下顎リンパ節、膀胱、凝固腺を含む精嚢、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、副腎、下垂体、坐骨神経、上部気道を含む上顎、大腿骨骨髄、脊髄には異常は認められなかった。また、胸腺についても剖検時に異常の認められた例も含めて異常は観察されなかった。

（精巣）

対照群の 13 例中3例および 250 mg/kg 投与群の 13 例中1例に精細管の萎縮が認められた。

（精巣上体）

対照群の 13 例中2例および 250 mg/kg 投与群の 13 例中1例に、精子肉芽腫が認められた。これらの動物および精巣に異常が認められた上記の動物のうち、対照群の2例および 250 mg/kg 投与群の1例において管腔に細胞残屑が認められた。また、10 mg/kg 投与群を除く各群の 13 例中2～3例の間質にリンパ球浸潤が観察された。

（前立腺腹葉）

対照群の5例中3例および 250 mg/kg 投与群の6例中4例において、間質あるいは上皮にリンパ球および形質細胞の浸潤が観察されたが、病変の程度に両群間で差は認められなかった。

（肝臓）

対照群の5例、および剖検時に腫大の認められた1例を含む 250 mg/kg 投与群の6例に加え、剖検時に腫大の認められた 50 mg/kg 投与群の2例および 250 mg/kg 投与群の1例について検査した結果、全例に門脈周囲性の脂肪化が観察された。これらのうち、50 mg/kg 投与群の1例にみられた脂肪化の程度は、他の例と比べて著しかった。また、小肉芽腫が対照群の4例、50 mg/kg 投与群の1例および 250 mg/kg 投与群の2例に観察された。これ

らの病変の程度および頻度には対照群と 250 mg/kg 投与群との間で明瞭な差は認められなかった。

（腎臓）

対照群の５例、および剖検時に腫大の認められた１例を含む 250 mg/kg 投与群の６例に加え、剖検時に腫大の認められた 50 mg/kg 投与群の２例および 250 mg/kg 投与群の１例について検査した結果、250 mg/kg 投与群の１例において、右側皮質に精巣上体管に類似した異所性の組織が観察された。また、対照群および 250 mg/kg 投与群の各２例、ならびに 50 mg/kg 投与群の１例に eosinophilic body が観察された。これらのうち、対照群の１例は、他の例と比べて、変化の程度が著しかった。その他の所見としては、皮質の好塩基性尿細管が対照群の３例、50 mg/kg 投与群の２例および 250 mg/kg 投与群の３例に認められ、皮質あるいは髄質の硝子円柱が 250 mg/kg 投与群の各１例に、皮髄境界部の嚢胞が対照群の１例に、また、鉱質沈着が対照群および 50 mg/kg 投与群の各１例に認められた。

（脾臓）

対照群および 250 mg/kg 投与群の５および６例全例に髄外造血および褐色色素の沈着が観察されたが、これらの程度に対照群と 250 mg/kg 投与群との間で差は認められなかった。

（肺および気管支）

対照群の５例中１例および 250 mg/kg 投与群の６例中２例に泡沫細胞の集簇が認められた。

（心臓）

対照群の５例中１例および 250 mg/kg 投与群の６例中１例に心筋の変性／繊維化が認められたが、これらの程度に対照群と 250 mg/kg 投与群との間で差は認められなかった。

（甲状腺）

250 mg/kg 投与群の６例中１例に異所性の胸腺組織が認められた。

(2) 雌(Table 16; Appendix 16)

死亡動物（動物番号：FB01004）

腎臓では糸球体毛細血管内に多数のフィブリン血栓が認められ、近位および遠位尿細管には核濃縮が、近位尿細管には空胞変性が、遠位尿細管の管腔には細胞残屑が観察された。

毛細血管内のフィブリン血栓は、肺にも多数認められ、肺の動脈には鉱質沈着も認められた。これらの所見の他に、本例の腎臓には生存例にも観察されている鉱質沈着が認められ、脾臓には髄外造血および褐色色素の沈着が観察された。

生存動物

以下に示す器官に異常が認められたが、脳、気管、下顎リンパ節、心臓、卵巣、膣、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、腸間膜リンパ節、副腎、下垂体、坐骨神経、上部気道を含む上顎、大腿骨骨髄、脊髄には異常は認められなかった。また、胃についても、剖検時に異常が観察された例を含めて、病理組織学検査では異常は観察されなかった。

（子宮）

剖検時に左側子宮角の限局性拡張の認められた１例を含む対照群の７例ならびに 250 mg/kg 投与群の５例に加え、剖検時に左側子宮角に赤色域が観察された 50 mg/kg 投与群の１例についても検査した結果、対照群において限局性拡張の認められた例には限局した管腔の嚢胞状の拡張が認められた。また、50 mg/kg 投与群の例には、筋層に褐色色素を含むマクロファージの浸潤が認められた。

（肝臓）

対照群の７例中６例および 250 mg/kg 投与群の５例全例に門脈周囲性の脂肪化が観察されたが、その程度および頻度には両群間で差は認められなかった。この他、250 mg/kg 投与群では小肉芽腫および髄外造血がそれぞれ１例ずつ認められた。

（腎臓）

対照群の７例中４例および 250 mg/kg 投与群の５例中２例に皮質の好塩基性尿細管が認められ、対照群の３例および 250 mg/kg 投与群の２例に鉱質沈着が認められたが、これらの所見の程度および頻度に両群間で差は認められなかった。

（脾臓）

対照群および 250 mg/kg 投与群の７および５例全例に髄外造血および褐色色素の沈着が観察されたが、その程度に両群間で差は認められなかった。

（肺および気管支）

対照群の７例中５例および 250 mg/kg 投与群の５例中２例に泡沫細胞の集簇が認められ

たが、その程度および頻度に両群間で差は認められなかった。

（胸腺）

対照群の７例および剖検時に小型化の観察された１例を含む 250 mg/kg 投与群の５例に加えて、剖検時に同様の所見が認められた対照群、10 mg/kg 投与群および 50 mg/kg 投与群の各１例について検査した結果、50 mg/kg 投与群および 250 mg/kg 投与群の１例に萎縮が認められ、50 mg/kg 投与群の例は程度が著しかった。剖検時に小型化の観察された 50 mg/kg 投与群の不妊例１例に異常は観察されなかった。

（膀胱）

250 mg/kg 投与群の５例中１例の粘膜固有層にリンパ球浸潤が認められた。

（甲状腺）

対照群の７例中１例の間質にリンパ球および形質細胞の浸潤が観察された。

（その他）

対照群の１例において右腋窩皮下に腫瘤が認められた例には、腋窩部の乳腺にリンパ球およびマクロファージの浸潤が認められ、乳管内には細胞残屑が認められた。

５）器官重量

(1) 雄(Table 17; Appendices 17-1～17-4)

250 mg/kg 投与群において腎臓重量が増加傾向を示し、その相対重量は対照群と比較して有意（$p<0.05$）に増加した。その他の器官については、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

(2) 雌(Table 18; Appendices 18-1～18-4)

250 mg/kg 投与群において腎臓重量およびその相対重量が対照群と比較して有意（$p<0.05$）に増加したが、その他の器官については、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

II. 生殖発生毒性

1．性周期 (Table 19; Appendices 19-1～19-4)

投与開始後に性周期の変化した動物の頻度および平均発情回帰日数には、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2．交配成績 (Table 20; Appendices 20-1～20-4)

全例が交尾し、対照群および 50 mg/kg 投与群の各 1 例を除き受胎した。また、同居開始から交尾までに要した日数およびその間に回帰した発情期の回数にも対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

3．分娩および哺育所見 (Tables 21; Appendices 21-1～21-4)

対照群では、12 例中 6 例の分娩を直接観察した。これらのうち 1 例（動物番号：FB01004）は、妊娠 22 日の分娩中に死亡したが、分娩状態に異常は認められなかった。しかし、娩出された産児 13 例のうち 2 例に皮下出血が認められたことから、これら 2 例の娩出時には分娩困難があったものと推測された。BA2E 投与群では、10 mg/kg 投与群の 13 例中 9 例、50 mg/kg 投与群の 12 例中 5 例、および 250 mg/kg 投与群の 13 例中 9 例の分娩を直接観察した。これらのうち、50 mg/kg 投与群の 2 例、および 250 mg/kg 投与群の 1 例に分娩状態の不良が認められた。50 mg/kg 投与群の 1 例（動物番号：FB03002）は、妊娠 23 日に 16 匹を分娩したが、産児を集める行動が認められず、5 匹は死亡していた。また、50 mg/kg 投与群の他の 1 例（動物番号：FB03004）は、妊娠 22 日に分娩を開始したが、4 時間が経過しても 3 匹しか分娩せず、翌日、死亡児 1 匹を含む 18 匹の分娩が確認され、分娩の遷延が認められた。250 mg/kg 投与群の 1 例（動物番号：FB04007）は、妊娠 23 日に 13 匹を分娩したが、胎盤処理および産児を集める行動が認められず、8 匹は死亡していた。10 mg/kg 投与群の動物に分娩状態の異常は観察されず、妊娠期間および出産率については対照群と BA2E 各投与群の間で有意差は認められなかった。

哺育状態の異常はいずれの投与群の動物にも認められなかった。

4．黄体数および着床数（Table 21; Appendices 21-1～21-4）

BA2E 各投与群の黄体数および着床数、ならびに着床率は、対照群と同様の値であった。

5．出生児所見

1）一般状態および生存性（Table 21; Appendices 21-1～21-4）

いずれの投与群の動物も行動を含む一般状態に異常は認められなかった。

BA2E 各投与群の生存性を対照群と比較すると、250 mg/kg 投与群において、出産生児数、生児出産率および出生率が有意（$p<0.05$、$p<0.01$）に低下した。産児数および分娩率もやや低下したが、有意差は認められなかった。哺育 0 日における性比については、対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

哺育期間中は、いずれの投与群においても死亡児が増加することはなく、新生児生存率は対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。しかし、250 mg/kg 投与群では、哺育 0 日において低下していた生児数がそのまま維持されたため、対照群と比較すると、哺育 4 日における生児数に有意差（$p<0.05$）が認められた。哺育 4 日における性比については対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

2）体重（Table 22; Appendices 22-1～22-4）

雌雄ともにいずれの時期も対照群と BA2E 各投与群との間で有意差は認められなかった。

3）形態観察所見（Table 23）

生存産児の形態観察（表には示さず）では、分娩途中で母動物が死亡した対照群の 1 腹（母動物番号：FB01004）の雌産児 2 例に、胸部および両前肢皮下に血液の貯留、皮膚の乾燥、ならびに左側後肢末端の皮下血腫および尾の小血腫あるいは吻部および両後肢の皮下血腫が認められたが、内臓に異常は観察されなかった。

死亡児に異常は観察されなかった。

哺育 4 日における剖検では、50 mg/kg 投与群の 1 腹（母動物番号：FB03007）の雌 2 例にに曲尾が観察された他に、いずれの投与群にも異常は観察されなかった。

【 考 察 】

1．反復投与毒性

雌雄ともに、250 mg/kg 投与群において、流涎が観察されたが、各1例に投与後一過性に認められた軽微な変化であった。

予備試験では、1000 mg/kg の反復投与を受けた雄が呼吸異常を示して瀕死状態に至ったが、本試験では、瀕死あるいは死亡動物は認められなかった。Narotsky ら[3]は、器官形成期にあたる妊娠時期に BA2E を150 あるいは 250 mg/kg 経口投与すると母動物が誤嚥により呼吸異常を示して死亡することを報告し、これは被験物質の消化管に対する刺激作用によるものであると推定している。予備試験において瀕死状態に至った動物に誤嚥は認められなかったが、呼吸異常の成因を知るために本試験では病理組織学検査に上部気道を加えた。また、BA2E の最高用量を減らし、胃管の外壁に被験物質が全く付着しないようにして投与したところ、死亡および瀕死のみならず呼吸異常も観察されなかった。病理学検査においても上部気道から肺に至るまで呼吸器に異常は観察されなかったため、予備試験でみられた呼吸異常の成因を知ることはできなかった。

体重増加および摂餌量には BA2E 投与の影響は認められなかった。

剖検時の血液学検査では、50 mg/kg 以上の投与群の雄において白血球数が軽度に減少し、250 mg/kg 投与群では血小板数も減少した。いずれも軽微な変化であるが、用量に依存して変動していることから、BA2E 投与に起因した変化であると考えられる。白血球数の減少については、リンパ球以外の白血球比率は、むしろ対照群より高い値を示していたことから、白血球数の減少は、リンパ球数の減少に由来するものと推測される。雌動物の血液学検査には投与の影響は認められなかった。

雌の血液生化学検査において、50 mg/kg 以上の投与群のγ-GTP 活性がやや上昇した。しかし、その程度はごく軽微であり、50 mg/kg および 250 mg/kg 両群間で BA2E の用量に関連した変化が認められなかった。また、その他の肝機能を表す指標に投与の影響は認められず、肝臓重量および肝臓の病理組織学検査においても投与に起因する異常は観察されなかったことから、50 mg/kg 以上の投与群において認められたγ-GTP 活性の僅かな上昇は偶発

的変化であると判断された。その他の変化はいずれも BA2E の投与量とは無関係に認められた変化であることから、BA2E 投与による影響ではないものと考えられる。雄の血液生化学検査成績には投与の影響は認められなかった。

雌雄ともに、250 mg/kg 投与群において腎臓重量あるいはその相対重量が増加した。高用量群に認められた変化であり、予備試験においても腎臓重量の増加が雌雄に認められていたことから、BA2E 投与による影響であると考えられる。しかし、血液生化学検査では腎機能を示す各指標に BA2E 投与の影響は認められず、病理組織学検査においても異常は観察されなかったことから、その成因は不明である。その他の器官の重量には雌雄ともに BA2E 投与の影響は認められなかった。

病理学検査ではいずれの器官にも BA2E 投与の影響は認められなかった。

２．生殖発生毒性

雌動物について観察した性周期には BA2E 投与の影響は認められなかった。また、交配成績にも BA2E 投与の影響は認められなかったことから、250 mg/kg までの BA2E は、親動物の生殖能力に影響を及ぼさないものと考えられる。

対照群の 1 例が分娩中に死亡した。死亡までに異常は全く観察されなかったが、病理組織学検査では肺および腎臓糸球体の毛細血管内にフィブリン血栓が認められたことから、フィブリン血栓に関連した原因により死亡したものと推測される。分娩状態の異常は 50 mg/kg 以上の投与群にも少数例ずつ認められたが、いずれも、分娩翌日以降の哺育状態には異常が認められなかったことから、対照群の死亡例とは異なる原因により分娩状態に異常をきたしたものと推測される。

250 mg/kg 投与群において出産生児数が減少した。着床数には投与の影響は認められず、産児数は軽度な減少に留まっていたことから、出生時の死亡が増加したことによるものと考えられる。250 mg/kg 投与では、1 例ではあるが、分娩状態の異常が認められ、その例では生児出産率および出生率も著しい低値（いずれも 38.5%）を示していた。その他の動物の分娩状態に異常は認められなかったが、250 mg/kg 投与では生児出産率および出生率が有意に低下していたことから、250 mg/kg の BA2E 投与は分娩に影響を及ぼし、産児の生存性

を低下させるものと考えられる。50 mg/kg 投与群においても２例に分娩の異常が観察された。２例のうち１例は生児出産率および出生率がやや低かった（いずれも 68.8%）。また、50 mg/kg 投与群の生児出産率および出生率は、対照群との間に有意差は認められなかったが、やや低い値を示していたことから、50 mg/kg 投与も分娩に影響を及ぼす可能性があるものと推測される。10 mg/kg 投与群では、分娩および出生児の生存性のいずれにも投与の影響も認められなかった。出生児の性比および発育、ならびに分娩翌日以降の生存性については、いずれの投与群においても BA2E 投与の影響は認められなかった。

BA2E は、催奇形物質であるバルプロ酸と類似した化学構造を有する化学物質である。本試験では 50 mg/kg 投与群の同腹の 2 例に曲尾が認められた。曲尾は、本系統のラットでしばしば観察される奇形であり、BA2E の用量とは無関係に、１腹のみに観察されたことから、本例は自然発生によるものと判断された。従って、250 mg/kg までの投与量の BA2E に催奇形性はないものと判断された。

３．無作用量

以上の試験成績から、本試験条件下では、BA2E の無作用量は、反復投与毒性に関しては、雄では白血球数が軽度に減少したことから 10 mg/kg/day と推定され、雌では、投与後一過性の流涎が認められ、腎臓重量およびその相対重量が増加したことから 50 mg/kg/day と推定された。生殖発生毒性に関しては、雄では 250 mg/kg/day と推定され、雌では、50 mg/kg/day 以上の投与群の少数例に分娩異常が認められたことから 10 mg/kg/day であると推定された。出生児では、250 mg/kg/day 投与群において出生日における生存性が低下したことから 50 mg/kg/day であると推定された。

【 文 献 】

1) Smyth, H. F. Jr., Carpenter, C. P., Weil, C. S., Pozzani, U. C.: Range-finding toxicity data list V. Ind. Hyg. Occup. Med. 10: 61-68 (1954).

2)　　:「2-エチル酪酸のラットを用いる急性経口投与毒性試験」最終報告書（食薬セ研第１１－１７３６号、２００１年6月１８日）

3) Narotsky, M. G., Francis, E.L., Kavlock, R.J.: Developmental toxicity and structure-activity relationships of aliphatic acids, including dose-response assessment of valproic acid in mice and rats. Fund. Appl. Toxicol. 22: 251-265 (1994).

4) 吉村　功：毒性・薬効データの統計解析（吉村　功編)、サイエンティスト社、東京 (1977).

5) 丹後俊郎：医学への統計学（古川俊之　監修)、朝倉書店、東京 (1985).

6) 石居　進：生物統計学入門、培風館、東京 (1992).

7) 佐久間昭：薬効評価ー計画と解析、東京大学出版会、東京 (1977).

8) Dunnett, C. W.: New tables for multiple comparisons with a control. Biometrics, 20: 482-491 (1964).

9) Kruskal, W. H., Wallis, W. A.: Use of ranks in one-criterion variance analysis. J. Amer. Statist. Assoc., 47: 583-621 (1952).

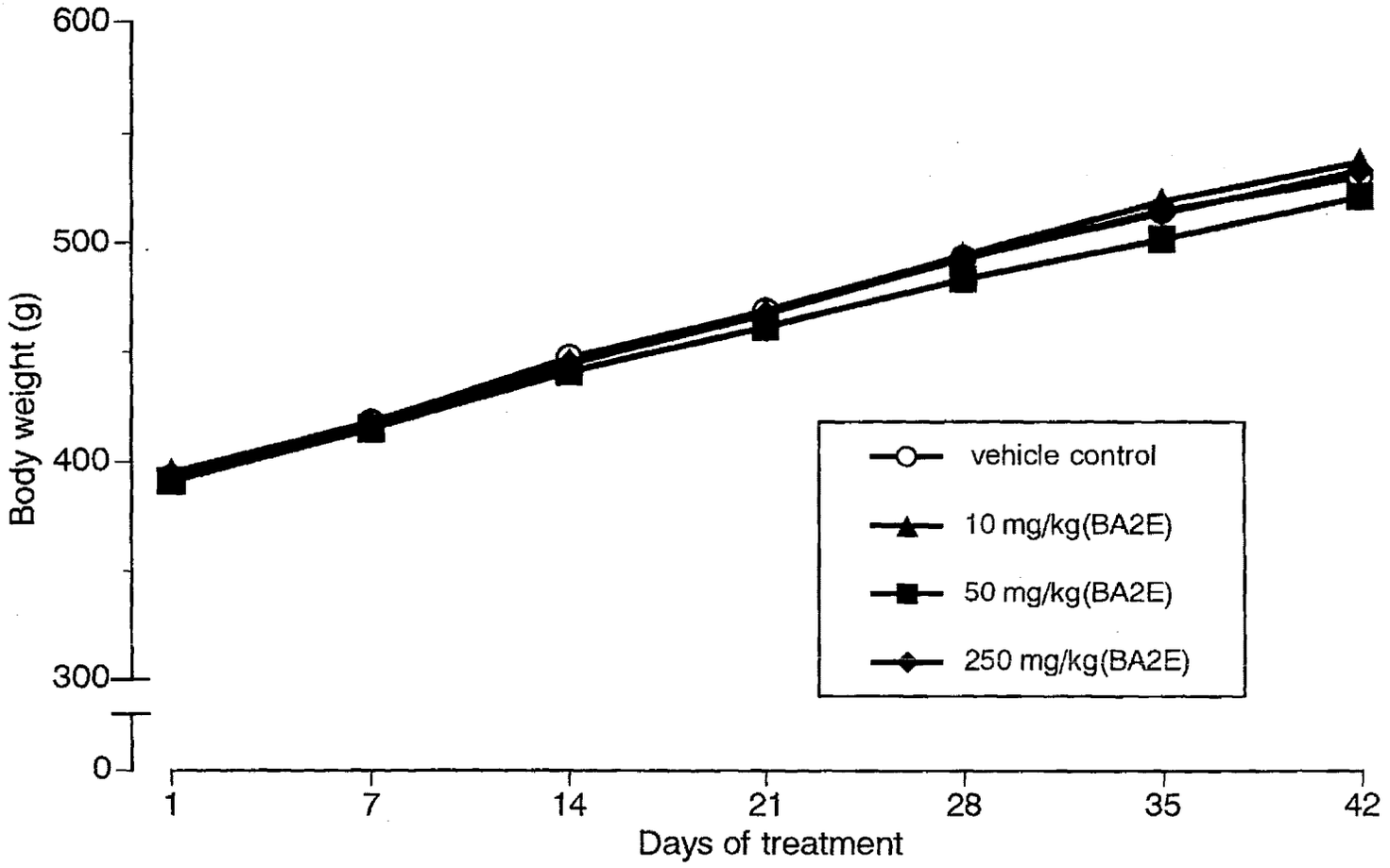

Figure 1 Body weight changes of males during treatment period

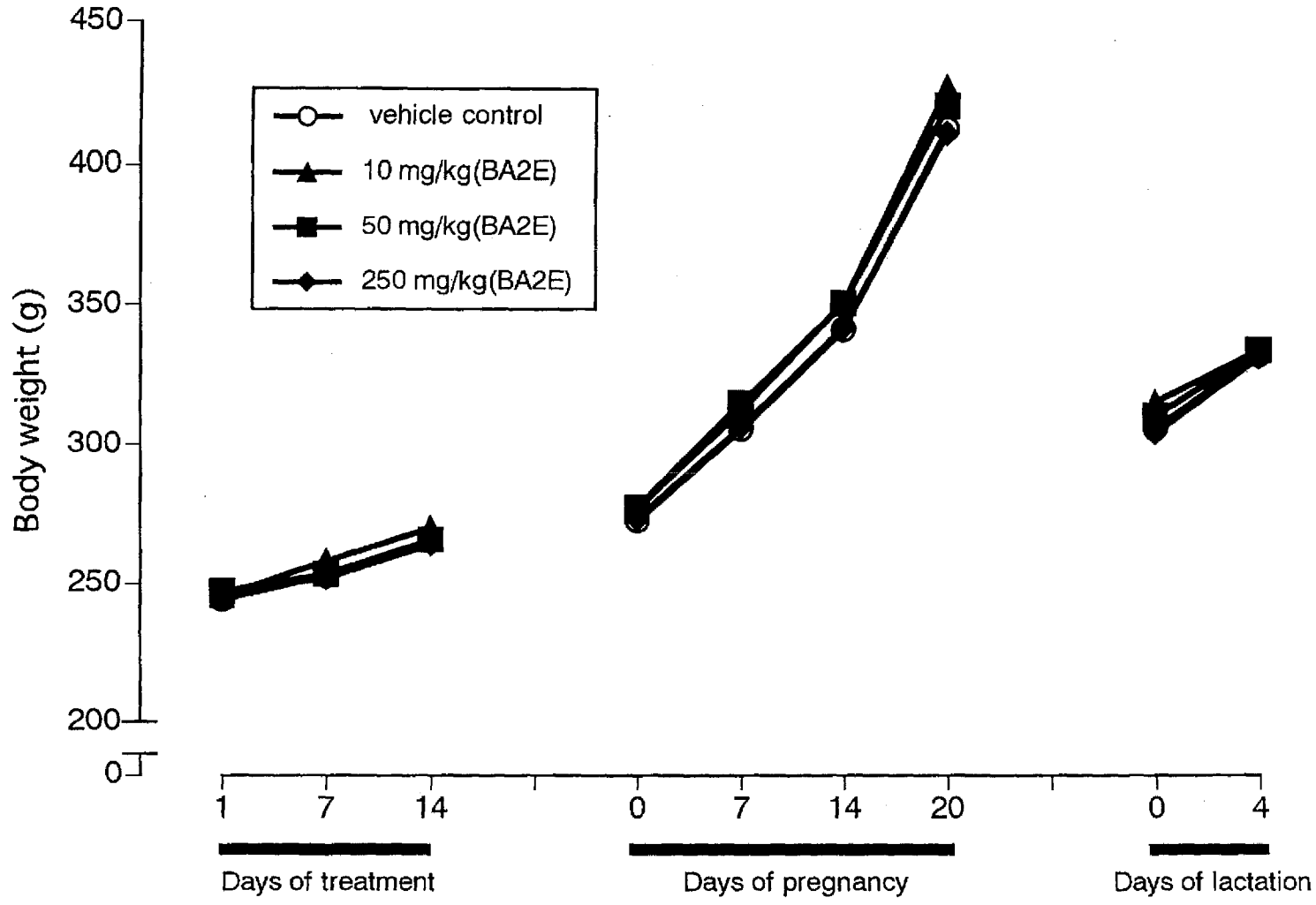

Figure 2 Body weight changes of females during treatment period

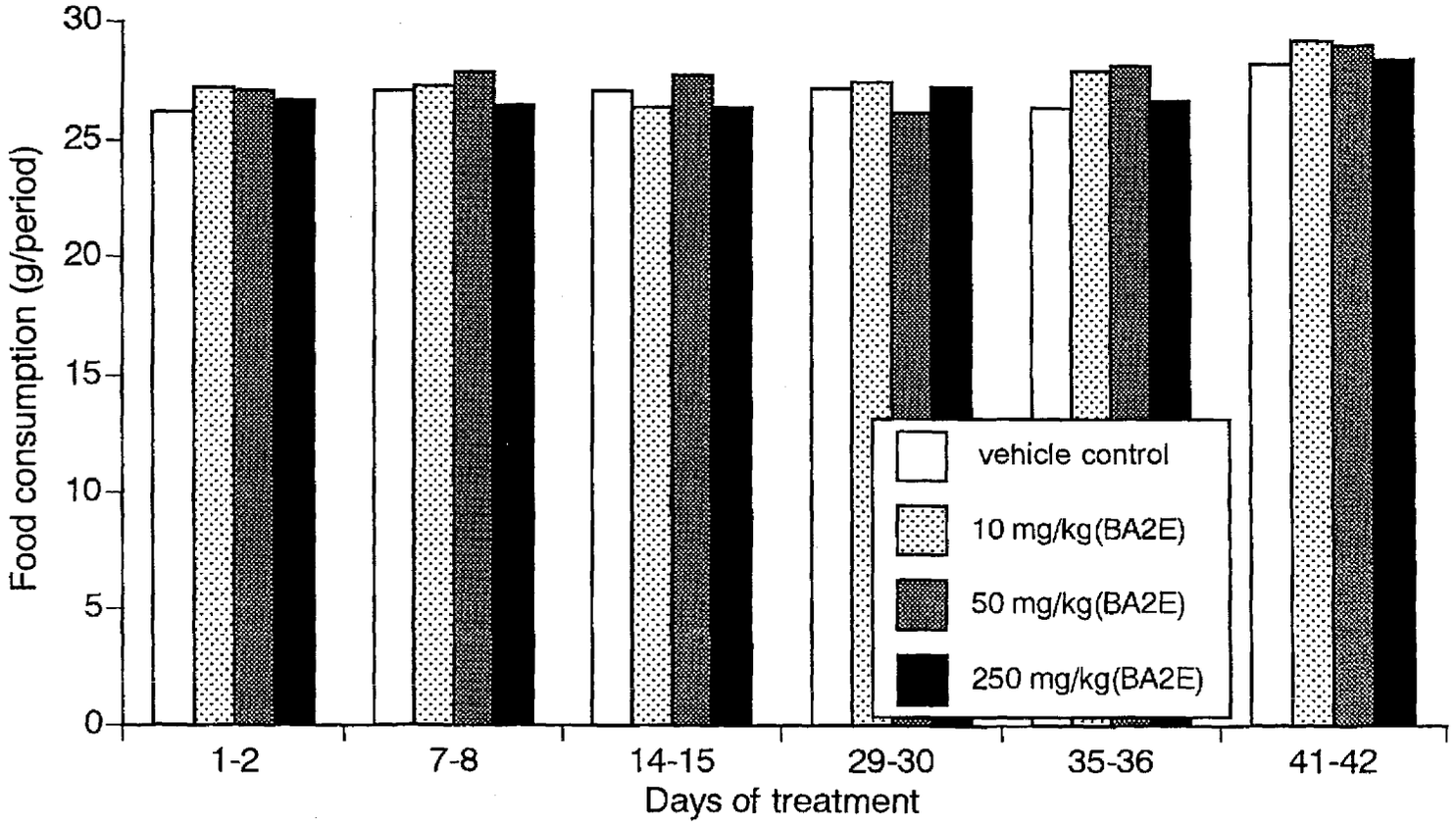

Figure 3 Food consumption of males during treatment period

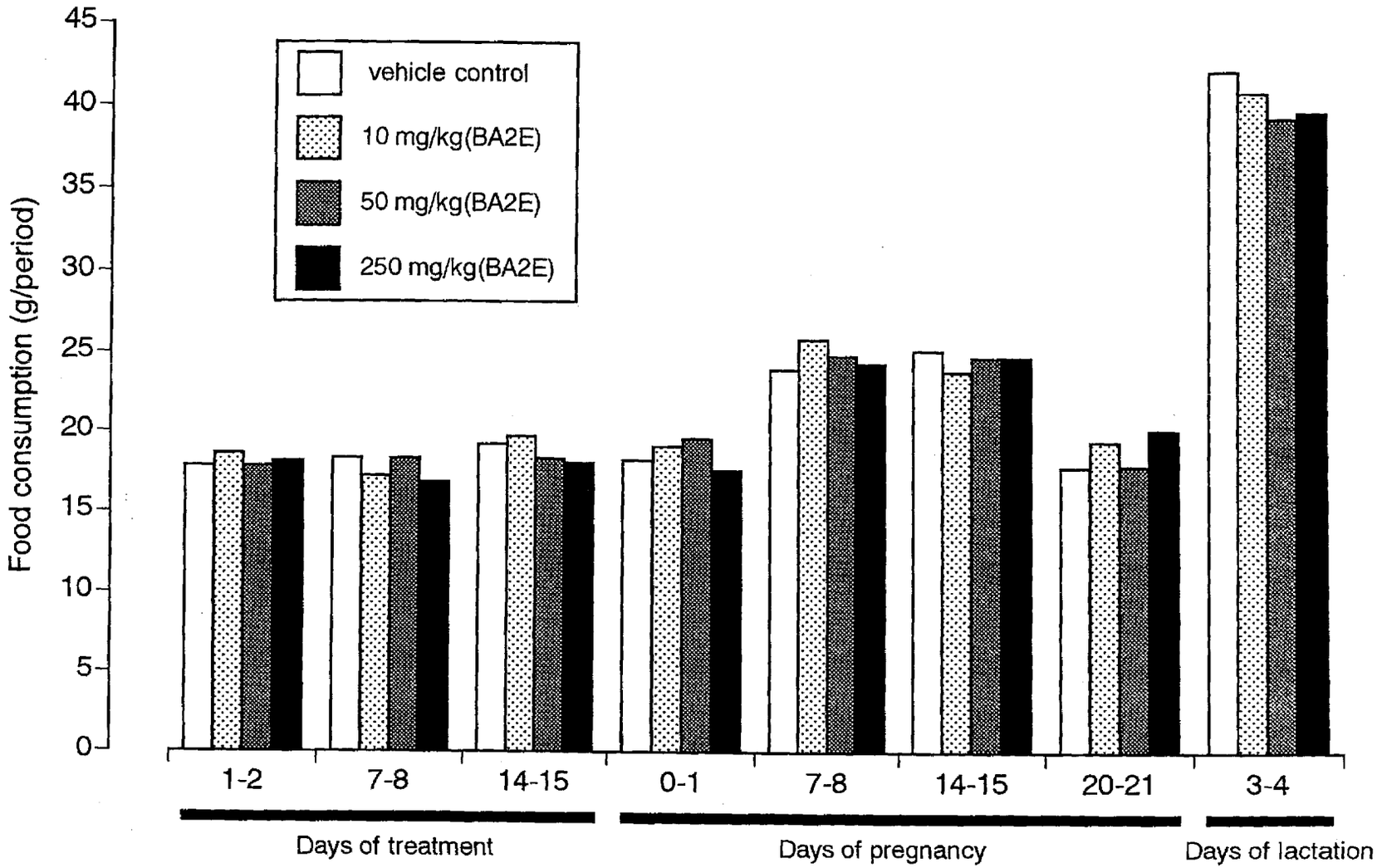

Figure 4 Food consumption of females during treatment period

【TABLE INDEX】

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

TABLE No.	APPENDIX No.	TABLE TITLE
1	1-1 ～ 1-4	Body weight of males
2	2-1 ～ 2-4	Body weight gain of males
3	3-1 ～ 3-4	Cumulative body weight gain of males
4	4-1 ～ 4-4	Body weight of females
5	5-1 ～ 5-4	Body weight gain of females
6	6-1 ～ 6-4	Cumulative body weight gain of females
7	7-1 ～ 7-4	Food consumption of males
8	8-1 ～ 8-4	Food consumption of females
9	9-1 ～ 9-4	Hematological findings in males
10	10-1 ～10-4	Hematological findings in females
11	11-1 ～11-4	Biochemical findings in males
12	12-1 ～12-4	Biochemical findings in females
13	13	Macroscopic findings in males
14	14	Macroscopic findings in females
15	15	Histopathological findings in males
16	16	Histopathological findings in females
17	17-1 ～17-4	Organ weight of males
18	18-1 ～18-4	Organ weight of females
19	19-1 ～19-4	Estrous cycle
20	20-1 ～20-4	Reproductive performance
21	21-1 ～21-4	Development of pups up to day 4 of lactation
22	22-1 ～22-4	Body weight of pups up to day 4 of lactation
23		Morphological findings in pups

Table 1

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Body weight of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1	392.4 ± 25.3 (13)	395.3 ± 21.3 (13)	391.3 ± 22.4 (13)	392.7 ± 22.2 (13)
7	418.0 ± 26.9 (13)	418.5 ± 27.5 (13)	415.3 ± 26.6 (13)	416.4 ± 29.5 (13)
14	447.4 ± 32.3 (13)	445.6 ± 35.5 (13)	441.2 ± 32.2 (13)	444.8 ± 33.8 (13)
21	469.2 ± 36.8 (13)	469.3 ± 41.7 (13)	461.9 ± 36.7 (13)	467.6 ± 36.3 (13)
28	493.6 ± 40.0 (13)	495.0 ± 48.0 (13)	484.0 ± 44.7 (13)	493.9 ± 38.4 (13)
35	515.8 ± 45.1 (13)	520.2 ± 53.8 (13)	502.6 ± 50.7 (13)	514.9 ± 43.6 (13)
42	531.5 ± 50.1 (13)	538.1 ± 57.8 (13)	522.3 ± 54.7 (13)	534.1 ± 50.4 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 2

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Body weight gain of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1～7	25.6 ± 6.8 (13)	23.2 ± 9.1 (13)	24.1 ± 6.7 (13)	23.7 ± 9.7 (13)
7～14	29.4 ± 8.2 (13)	27.1 ± 10.1 (13)	25.9 ± 8.6 (13)	28.4 ± 7.1 (13)
14～21	21.8 ± 7.1 (13)	23.8 ± 8.6 (13)	20.7 ± 8.1 (13)	22.8 ± 8.5 (13)
21～28	24.3 ± 7.3 (13)	25.7 ± 7.2 (13)	22.0 ± 10.6 (13)	26.3 ± 4.4 (13)
28～35	22.2 ± 7.8 (13)	25.2 ± 7.8 (13)	18.6 ± 8.5 (13)	21.0 ± 7.8 (13)
35～42	15.7 ± 6.2 (13)	17.9 ± 7.3 (13)	19.7 ± 7.0 (13)	19.1 ± 8.3 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 3

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1～7	25.6 ± 6.8 (13)	23.2 ± 9.1 (13)	24.1 ± 6.7 (13)	23.7 ± 9.7 (13)
1～14	55.0 ± 10.1 (13)	50.3 ± 18.3 (13)	50.0 ± 12.4 (13)	52.1 ± 14.8 (13)
1～21	76.8 ± 14.2 (13)	74.1 ± 24.2 (13)	70.7 ± 17.5 (13)	74.9 ± 18.9 (13)
1～28	101.1 ± 18.0 (13)	99.8 ± 30.6 (13)	92.7 ± 26.1 (13)	101.2 ± 21.4 (13)
1～35	123.4 ± 22.8 (13)	124.9 ± 36.0 (13)	111.3 ± 31.9 (13)	122.2 ± 26.3 (13)
1～42	139.0 ± 28.2 (13)	142.8 ± 39.6 (13)	131.0 ± 36.1 (13)	141.3 ± 32.8 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 4

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Body weight of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1	244.2 ± 12.4 (13)	245.7 ± 15.4 (13)	247.3 ± 13.1 (13)	246.9 ± 15.8 (13)
7	252.9 ± 13.4 (13)	258.2 ± 14.1 (13)	253.4 ± 12.2 (13)	252.0 ± 13.5 (13)
14	265.5 ± 15.4 (13)	270.1 ± 20.4 (13)	265.9 ± 16.4 (13)	264.3 ± 16.7 (13)
Days of pregnancy				
0	272.8 ± 21.2 (12)	277.4 ± 19.5 (13)	277.5 ± 10.8 (12)	273.4 ± 18.8 (13)
7	305.7 ± 22.0 (12)	312.4 ± 24.6 (13)	314.9 ± 16.5 (12)	306.4 ± 19.7 (13)
14	341.3 ± 25.1 (12)	350.8 ± 30.3 (13)	350.6 ± 18.4 (12)	341.9 ± 22.5 (13)
20	412.9 ± 29.2 (12)	427.8 ± 38.6 (13)	421.0 ± 20.5 (12)	411.4 ± 26.1 (13)
Days of lactation				
0	305.9 ± 27.1 (11)	315.6 ± 37.6 (13)	310.6 ± 27.1 (12)	304.6 ± 27.0 (13)
4	332.3 ± 27.7 (11)	334.0 ± 30.6 (13)	333.9 ± 18.8 (12)	331.6 ± 22.5 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 5

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Body weight gain of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1～7	8.7 ± 7.7 (13)	12.5 ± 5.7 (13)	6.1 ± 7.5 (13)	5.1 ± 6.8 (13)
7～14	12.6 ± 5.6 (13)	11.9 ± 7.1 (13)	12.5 ± 6.7 (13)	12.3 ± 7.5 (13)
Days of pregnancy				
0～7	32.9 ± 5.3 (12)	35.1 ± 7.0 (13)	37.3 ± 7.2 (12)	33.0 ± 4.2 (13)
7～14	35.6 ± 8.4 (12)	38.4 ± 9.1 (13)	35.7 ± 5.7 (12)	35.5 ± 6.6 (13)
14～20	71.6 ± 8.3 (12)	76.9 ± 10.8 (13)	70.4 ± 8.3 (12)	69.5 ± 8.6 (13)
Days of lactation				
0～4	26.5 ± 17.2 (11)	18.4 ± 16.8 (13)	23.3 ± 15.6 (12)	26.9 ± 14.5 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 6

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Cumulative body weight gain of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1~7	8.7 ± 7.7 (13)	12.5 ± 5.7 (13)	6.1 ± 7.5 (13)	5.1 ± 6.8 (13)
1~14	21.3 ± 8.2 (13)	24.4 ± 7.7 (13)	18.6 ± 8.5 (13)	17.4 ± 6.9 (13)
Days of pregnancy				
0~7	32.9 ± 5.3 (12)	35.1 ± 7.0 (13)	37.3 ± 7.2 (12)	33.0 ± 4.2 (13)
0~14	68.5 ± 11.8 (12)	73.5 ± 13.3 (13)	73.1 ± 10.3 (12)	68.5 ± 7.9 (13)
0~20	140.1 ± 17.7 (12)	150.4 ± 22.9 (13)	143.5 ± 15.0 (12)	138.0 ± 12.0 (13)
Days of lactation				
0~4	26.5 ± 17.2 (11)	18.4 ± 16.8 (13)	23.3 ± 15.6 (12)	26.9 ± 14.5 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 7

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Food consumption of males (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1～2	26.2 ± 2.8 (13)	27.2 ± 3.7 (13)	27.1 ± 3.3 (13)	26.7 ± 4.1 (13)
7～8	27.1 ± 3.4 (13)	27.3 ± 3.1 (13)	27.9 ± 3.2 (13)	26.5 ± 4.1 (13)
14～15	27.1 ± 3.8 (13)	26.4 ± 4.0 (13)	27.8 ± 3.5 (13)	26.4 ± 3.2 (13)
29～30	27.2 ± 3.6 (13)	27.5 ± 4.6 (13)	26.2 ± 3.2 (13)	27.3 ± 3.6 (13)
35～36	26.4 ± 3.6 (13)	28.0 ± 3.5 (13)	28.2 ± 4.8 (13)	26.7 ± 3.5 (13)
41～42	28.3 ± 4.0 (13)	29.3 ± 4.3 (13)	29.1 ± 3.6 (13)	28.5 ± 3.4 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 8

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Food consumption of females (g); mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Days of treatment				
1～2	17.8 ± 1.3 (13)	18.6 ± 2.7 (13)	17.8 ± 3.2 (13)	18.1 ± 2.4 (13)
7～8	18.3 ± 2.7 (13)	17.2 ± 3.1 (13)	18.3 ± 2.1 (13)	16.8 ± 3.1 (13)
14～15	19.2 ± 3.0 (13)	19.7 ± 3.4 (13)	18.3 ± 3.1 (13)	18.0 ± 3.1 (13)
Days of pregnancy				
0～1	18.2 ± 2.7 (12)	19.1 ± 2.8 (13)	19.6 ± 2.2 (12)	17.6 ± 2.1 (13)
7～8	24.0 ± 3.1 (12)	25.9 ± 4.0 (13)	24.9 ± 3.0 (12)	24.4 ± 3.2 (13)
14～15	25.2 ± 4.3 (12)	23.9 ± 3.7 (13)	24.8 ± 3.3 (12)	24.8 ± 2.3 (13)
20～21	17.8 ± 5.5 (12)	19.5 ± 5.1 (13)	17.9 ± 3.5 (12)	20.2 ± 3.0 (13)
Days of lactation				
3～4	42.3 ± 4.7 (11)	41.0 ± 3.5 (13)	39.4 ± 3.8 (12)	39.8 ± 7.7 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 9

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Hematological findings in males; mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0[a)]	10	50	250
RBC ($\times 10^4/\mu L$)	850 ± 48 (13)	825 ± 42 (13)	850 ± 60 (13)	828 ± 31 (13)
Hemoglobin (g/dL)	15.2 ± 0.7 (13)	15.0 ± 0.5 (13)	15.1 ± 0.9 (13)	15.0 ± 0.6 (13)
Hematocrit (%)	44.6 ± 1.9 (13)	44.2 ± 1.6 (13)	44.5 ± 2.9 (13)	44.5 ± 1.6 (13)
MCV (fL)	52.5 ± 1.4 (13)	53.6 ± 1.2 (13)	52.4 ± 1.8 (13)	53.7 ± 1.4 (13)
MCH (pg)	17.9 ± 0.5 (13)	18.3 ± 0.5 (13)	17.8 ± 0.6 (13)	18.1 ± 0.5 (13)
MCHC (g/dL)	34.1 ± 0.3 (13)	34.0 ± 0.4 (13)	34.0 ± 0.4 (13)	33.8 ± 0.4 (13)
WBC ($\times 100/\mu L$)	87.8 ± 20.2 (13)	75.1 ± 23.5 (13)	65.0 ± 20.1 * (13)	64.7 ± 16.0 * (13)
Neutrophil (%)	13 ± 4 (13)	14 ± 3 (13)	15 ± 5 (13)	16 ± 5 (13)
Eosinophil (%)	1 ± 1 (13)	2 ± 1 (13)	2 ± 1 (13)	2 ± 1 (13)
Basophil (%)	0 ± 0 (13)	0 ± 0 (13)	0 ± 0 (13)	0 ± 0 (13)
Monocyte (%)	3 ± 2 (13)	4 ± 2 (13)	4 ± 1 (13)	4 ± 2 (13)
Lymphocyte (%)	82 ± 4 (13)	79 ± 5 (13)	79 ± 6 (13)	78 ± 7 (13)
Platelet ($\times 10^4/\mu L$)	111.4 ± 20.3 (13)	103.8 ± 13.2 (13)	103.6 ± 10.2 (13)	93.8 ± 7.4 ** (13)
PT (sec)	16.2 ± 3.4 (13)	14.7 ± 1.3 (13)	15.9 ± 3.0 (13)	15.9 ± 2.6 (13)
APTT (sec)	22.1 ± 2.6 (13)	21.1 ± 2.4 (13)	21.9 ± 2.3 (13)	21.5 ± 1.9 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
* : significant difference from control, $p<0.05$
**: significant difference from control, $p<0.01$

Table 10

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Hematological findings in females; mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0[a)]	10	50	250
RBC ($\times 10^4/\mu L$)	646 ± 32 (11)	633 ± 48 (13)	650 ± 46 (12)	657 ± 40 (13)
Hemoglobin (g/dL)	12.7 ± 0.7 (11)	12.5 ± 0.7 (13)	12.7 ± 0.7 (12)	12.9 ± 0.6 (13)
Hematocrit (%)	37.5 ± 2.2 (11)	36.9 ± 2.1 (13)	37.4 ± 2.2 (12)	38.1 ± 1.9 (13)
MCV (fL)	58.1 ± 1.5 (11)	58.4 ± 2.0 (13)	57.6 ± 1.8 (12)	58.1 ± 3.1 (13)
MCH (pg)	19.7 ± 0.6 (11)	19.8 ± 0.7 (13)	19.5 ± 0.7 (12)	19.7 ± 1.0 (13)
MCHC (g/dL)	33.9 ± 0.5 (11)	33.9 ± 0.3 (13)	33.9 ± 0.4 (12)	34.0 ± 0.3 (13)
WBC ($\times 100/\mu L$)	97.4 ± 24.5 (11)	91.2 ± 22.8 (13)	96.4 ± 25.8 (12)	90.0 ± 18.8 (13)
Neutrophil (%)	19 ± 5 (11)	24 ± 9 (13)	21 ± 5 (12)	20 ± 6 (13)
Eosinophil (%)	1 ± 0 (11)	1 ± 0 (13)	1 ± 1 (12)	1 ± 0 (13)
Basophil (%)	0 ± 0 (11)	0 ± 0 (13)	0 ± 0 (12)	0 ± 0 (13)
Monocyte (%)	8 ± 5 (11)	5 ± 3 (13)	5 ± 2 (12)	6 ± 3 (13)
Lymphocyte (%)	72 ± 9 (11)	70 ± 10 (13)	72 ± 6 (12)	73 ± 5 (13)
Platelet ($\times 10^4/\mu L$)	111.7 ± 15.9 (11)	119.1 ± 11.5 (13)	110.2 ± 15.0 (12)	102.8 ± 10.8 (13)
PT (sec)	13.2 ± 0.7 (11)	13.2 ± 0.7 (13)	12.9 ± 0.5 (12)	13.2 ± 0.6 (13)
APTT (sec)	17.7 ± 2.4 (11)	16.6 ± 1.0 (12)	16.9 ± 0.8 (12)	16.7 ± 0.8 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 11

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Biochemical findings in males; mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0[a)]	10	50	250
Total protein (g/dL)	5.5 ± 0.3 (13)	5.4 ± 0.2 (13)	5.4 ± 0.3 (13)	5.4 ± 0.3 (13)
Alubumin (g/dL)	3.2 ± 0.2 (13)	3.0 ± 0.2 (13)	3.0 ± 0.2 (13)	3.1 ± 0.2 (13)
A/G	1.36 ± 0.13 (13)	1.26 ± 0.11 (13)	1.28 ± 0.15 (13)	1.34 ± 0.09 (13)
BUN (mg/dL)	16 ± 3 (13)	17 ± 3 (13)	17 ± 3 (13)	16 ± 2 (13)
Creatinine (mg/dL)	0.7 ± 0.1 (13)	0.7 ± 0.1 (13)	0.7 ± 0.1 (13)	0.7 ± 0.1 (13)
Glucose (mg/dL)	152 ± 21 (13)	144 ± 24 (13)	140 ± 15 (13)	148 ± 17 (13)
Total cholesterol (mg/dL)	44 ± 7 (13)	44 ± 7 (13)	40 ± 10 (13)	41 ± 9 (13)
Triglyceride (mg/dL)	47 ± 18 (13)	41 ± 13 (13)	35 ± 14 (13)	39 ± 18 (13)
ALP (U/L)	193 ± 42 (13)	214 ± 39 (13)	233 ± 53 (13)	225 ± 44 (13)
GPT (U/L)	30 ± 3 (13)	32 ± 4 (13)	31 ± 5 (13)	39 ± 29 (13)
GOT (U/L)	67 ± 10 (13)	66 ± 6 (13)	69 ± 10 (13)	79 ± 35 (13)
γ-GTP (U/L)	0 ± 0 (13)	0 ± 1 (13)	0 ± 0 (13)	0 ± 1 (13)
Total bilirubin (mg/dL)	0.08 ± 0.02 (13)	0.09 ± 0.02 (13)	0.09 ± 0.02 (13)	0.09 ± 0.02 (13)
Inorganic phosphate (mg/dL)	5.7 ± 0.7 (13)	5.8 ± 0.8 (13)	5.8 ± 0.8 (13)	6.1 ± 0.7 (13)
Ca (mg/dL)	8.9 ± 0.2 (13)	8.8 ± 0.3 (13)	8.8 ± 0.3 (13)	8.9 ± 0.2 (13)
Na (mEq/L)	145.5 ± 1.3 (13)	145.5 ± 1.1 (13)	146.3 ± 1.2 (13)	145.4 ± 1.5 (13)
K (mEq/L)	4.00 ± 0.35 (13)	3.91 ± 0.31 (13)	3.96 ± 0.25 (13)	4.10 ± 0.22 (13)
Cl (mEq/L)	109.0 ± 1.8 (13)	109.4 ± 1.5 (13)	110.0 ± 0.8 (13)	108.3 ± 1.7 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 12

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Biochemical findings in females; mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0[a)]	10	50	250
Total protein (g/dL)	5.4 ± 0.4 (11)	5.4 ± 0.2 (13)	5.7 ± 0.4 (12)	5.4 ± 0.4 (13)
Alubumin (g/dL)	3.1 ± 0.2 (11)	3.1 ± 0.1 (13)	3.3 ± 0.3 (12)	3.2 ± 0.2 (13)
A/G	1.34 ± 0.12 (11)	1.33 ± 0.12 (13)	1.38 ± 0.13 (12)	1.46 ± 0.18 (13)
BUN (mg/dL)	17 ± 3 (11)	15 ± 3 (13)	17 ± 3 (12)	18 ± 3 (13)
Creatinine (mg/dL)	0.7 ± 0.1 (11)	0.7 ± 0.1 (13)	0.8 ± 0.1 (12)	0.6 ± 0.1 (13)
Glucose (mg/dL)	124 ± 12 (11)	128 ± 9 (13)	135 ± 13 (12)	136 ± 15 (13)
Total cholesterol (mg/dL)	49 ± 11 (11)	48 ± 14 (13)	49 ± 11 (12)	47 ± 10 (13)
Triglyceride (mg/dL)	63 ± 20 (11)	64 ± 22 (13)	76 ± 28 (12)	53 ± 18 (13)
ALP (U/L)	103 ± 25 (11)	129 ± 51 (13)	128 ± 53 (12)	138 ± 57 (13)
GPT (U/L)	40 ± 6 (11)	40 ± 5 (13)	38 ± 7 (12)	41 ± 9 (13)
GOT (U/L)	62 ± 7 (11)	65 ± 10 (13)	59 ± 8 (12)	64 ± 13 (13)
γ-GTP (U/L)	0 ± 0 (11)	0 ± 0 (13)	1 ± 0 * (12)	1 ± 1 ** (13)
Total bilirubin (mg/dL)	0.11 ± 0.02 (11)	0.09 ± 0.02 (13)	0.07 ± 0.03 ** (12)	0.10 ± 0.03 (13)
Inorganic phosphate (mg/dL)	6.8 ± 0.7 (11)	6.3 ± 0.5 (13)	6.6 ± 0.9 (12)	6.6 ± 1.0 (13)
Ca (mg/dL)	9.0 ± 0.5 (11)	9.2 ± 0.3 (13)	9.7 ± 0.2 ** (12)	9.4 ± 0.5 (13)
Na (mEq/L)	143.2 ± 1.0 (11)	143.7 ± 1.0 (13)	142.9 ± 1.0 (12)	143.4 ± 1.0 (13)
K (mEq/L)	4.31 ± 0.55 (11)	3.98 ± 0.27 (13)	4.04 ± 0.29 (12)	3.95 ± 0.25 (13)
Cl (mEq/L)	107.6 ± 1.7 (11)	108.4 ± 1.2 (13)	107.5 ± 1.4 (12)	107.9 ± 1.6 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
* : significant difference from control, $p<0.05$
**: significant difference from control, $p<0.01$

Table 13

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Macroscopic findings in males

Compound	BA2E							
Groups (mg/kg)	0[a)]		10		50		250	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
Epididymis	[13]		[13]		[13]		[13]	
Nodule, yellow/milky white, right/left side	11	2	13	0	13	0	12	1
Liver	[13]		[13]		[13]		[13]	
Enlargement	13	0	13	0	11	2	11	2
Kidney	[13]		[13]		[13]		[13]	
Enlargement	13	0	13	0	11	2	11	2
Area, pale, cortex, right side	13	0	13	0	13	0	12	1
Thymus	[13]		[13]		[13]		[13]	
Enlargement	13	0	13	0	13	0	12	1
Small	13	0	13	0	13	0	11	2

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
-, Negative; +, Positive
[ ], Number of animals examined

Table 14

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Macroscopic findings in females

Compound	BA2E							
Groups (mg/kg)	0[a,b]		10		50		250	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
Stomach	[12]		[13]		[13]		[13]	
Spot, red, mucosa, glandular stomach	10	2	12	1	13	0	13	0
Thickening, mucosa, forestomach	12	0	12	1	13	0	13	0
Uterus	[12]		[13]		[13]		[13]	
Dilatation, focal, left horn	11	1	13	0	13	0	13	0
Area, red, left horn	12	0	13	0	12	1	13	0
Thymus	[12]		[13]		[13]		[13]	
Small	11	1	12	1	11	2	12	1
Subcutaneous tissue of Axilla	[12]		[13]		[13]		[13]	
Mass	11	1	13	0	13	0	13	0

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
b): The data of one female who died during delivery (animal no., FB01004) were excluded.
-, Negative; +, Positive
[ ], Number of animals examined

Table 15

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Histopathological findings in males

Compound	BA2E																							
Groups (mg/kg)	0[a)]						10						50						250					
Grade		-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.		-	±	+	++	+++	Pos.
Testis	[13]							[13]							[13]							[13]						
Atrophy, seminiferous tubule		10	3	0	0	0	3		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	0	1	0	0	1
Epididymis	[13]							[13]							[13]							[13]						
Cell debris, lumen		11	2	0	0	0	2		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	0	1	0	0	1
Spermatic granuloma		11	0	1	1	0	2		13	0	0	0	0	0		13	0	0	0	0	0		12	0	0	1	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte, interstitium		10	3	0	0	0	3		13	0	0	0	0	0		11	2	0	0	0	2		11	2	0	0	0	2
Prostate: ventral lobe	[5]							[0]							[0]							[6]						
Cellular infiltration, lymphocyte & plasma cell, interstitium/epithelium		2	2	0	1	0	3																2	1	1	2	0	4
Liver	[5]							[0]							[2]							[7]						
Fatty change, periportal		0	4	1	0	0	5									0	0	1	1	0	2		0	5	2	0	0	7
Microgranuloma		1	4	0	0	0	4									1	1	0	0	0	1		5	0	2	0	0	2
Kidney	[5]							[0]							[2]							[7]						
Ectopic tissue, epididymis-like duct, cortex, right side		5	0	0	0	0	0									2	0	0	0	0	0		6	0	0	1	0	1
Eosinophilic body		3	0	1	1	0	2									1	0	1	0	0	1		5	2	0	0	0	2
Basophilic tubule, cortex		2	3	0	0	0	3									0	2	0	0	0	2		4	2	1	0	0	3
Cast, hyalin, medulla		5	0	0	0	0	0									2	0	0	0	0	0		6	0	1	0	0	1
Cast, hyalin, cortex		5	0	0	0	0	0									2	0	0	0	0	0		6	1	0	0	0	1
Cyst, cortico-medullary junction		4	1	0	0	0	1									2	0	0	0	0	0		7	0	0	0	0	0
Mineralization		4	1	0	0	0	1									1	1	0	0	0	1		7	0	0	0	0	0
Spleen	[5]							[0]							[0]							[6]						
Hematopoiesis, extramedullary		0	1	4	0	0	5																0	1	5	0	0	6
Deposit, pigment, brown		0	5	0	0	0	5																0	6	0	0	0	6
Lung & Bronchus	[5]							[0]							[0]							[6]						
Accumulation, foam cell		4	1	0	0	0	1																4	2	0	0	0	2
Heart	[5]							[0]							[0]							[6]						
Degeneration/fibrosis, myocardium		4	1	0	0	0	1																5	1	0	0	0	1
Thyroid gland	[5]							[0]							[0]							[6]						
Ectopic thymus		5	0	0	0	0	0																5	1	0	0	0	1

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[ ], Number of animals examined

Table 15 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Histopathological findings in males

Compound	BA2E																							
Groups (mg/kg)	0[a)]						10						50						250					
Grade	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
Brain	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Spinal cord	[5]						[0]						[0]						[8]					
No remarkable change																								
Thymus	[5]						[0]						[0]						[8]					
No remarkable change																								
Trachea	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Mandibular lymph node	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Urinary bladder	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Seminal vesicle & Coagulating gland	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Stomach	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Duodenum	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Jejunum	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Ileum	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Cecum	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Colon	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Rectum	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Mesentric lymph node	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Adrenal gland	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Pituitary gland	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Sciatic nerve	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Nasal cavity	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								
Bone marrow of femur	[5]						[0]						[0]						[6]					
No remarkable change																								

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[ ], Number of animals examined

Table 16

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Histopathological findings in females (subjected to autopsy on day 5 of lactation)

Compound	BA2E																							
Groups (mg/kg)	0[a]						10						50						250					
Grade	[ ]	-	±	+	++	+++	Pos.	[ ]	-	±	+	++	+++	Pos.	[ ]	-	±	+	++	+++	Pos.	[ ]	-	±	+	++	+++	Pos.
Ovary	[11]							[13]							[12]							[13]						
No remarkable change																												
Uterus	[7]							[0]							[1]							[5]						
Dilatation, cystic, lumen, focal		6	0	0	0	1	1									1	0	0	0	0	0		5	0	0	0	0	0
Cellular infiltration, macrophage, with brown pigment, muscular layer		7	0	0	0	0	0									0	0	0	1	0	1		5	0	0	0	0	0
Liver	[7]							[0]							[0]							[5]						
Fatty change, periportal		1	6	0	0	0	6																0	5	0	0	0	5
Microgranuloma		7	0	0	0	0	0																4	1	0	0	0	1
Hematopoiesis, extramedullary		7	0	0	0	0	0																4	1	0	0	0	1
Kidney	[7]							[0]							[0]							[5]						
Basophilic tubule, cortex		3	4	0	0	0	4																3	2	0	0	0	2
Mineralization		4	3	0	0	0	3																3	1	1	0	0	2
Spleen	[7]							[0]							[0]							[5]						
Hematopoiesis, extramedullary		0	0	1	6	0	7																0	0	0	5	0	5
Deposit, pigment, brown		0	7	0	0	0	7																0	5	0	0	0	5
Lung & bronchus	[7]							[0]							[0]							[5]						
Accumulation, foam cell		2	5	0	0	0	5																3	1	1	0	0	2
Thymus	[8]							[1]							[1]							[5]						
Atrophy		8	0	0	0	0	0		1	0	0	0	0	0		0	0	0	1	0	1		4	1	0	0	0	1
Urinary bladder	[7]							[0]							[0]							[5]						
Cellular infiltration, lymphocyte, lamina propria		7	0	0	0	0	0																4	1	0	0	0	1
Thyroid gland	[7]							[0]							[0]							[5]						
Cellular infiltration, plasma cell & lymphocyte, interstitium		6	1	0	0	0	1																5	0	0	0	0	0

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[ ], Number of animals examined

Table 16 (continued)

Combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Histopathological findings in females (subjected to autopsy on day 5 of lactation)

Compound	BA2E																							
Groups (mg/kg)	0[a)]						10						50						250					
Grade	–	±	+	++	+++	Pos.	–	±	+	++	+++	Pos.	–	±	+	++	+++	Pos.	–	±	+	++	+++	Pos.
Brain	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Spinal cord	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Trachea	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Mandibular lymph node	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Heart	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Vagina	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Stomach	[7]						[2]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Duodenum	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Jejunum	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Ileum	[5]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Cecum	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Colon	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Rectum	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Mesentric lymph node	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Adrenal gland	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Pituitary gland	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Sciatic nerve	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Nasal cavity	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Bone marrow of femur	[7]						[0]						[0]						[5]					
No remarkable change																								
Subcutaneous tissue of Axilla	[1]						[0]						[0]						[0]					
Cellular infiltration, lymphocyte, & macrophage, mammary gland		0	1	0	0	0	1																	
Cell debris, lactiferous duct, mammary gland		0	0	1	0	0	1																	

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

–, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[ ], Number of animals examined

Table 17

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Organ weight of males; mean ± S.D. (N)

Compound		BA2E			
Groups (mg/kg)		0 [a)]	10	50	250
Final body weight	(g)	502.1 ± 47.6 (13)	509.8 ± 52.2 (13)	492.1 ± 52.0 (13)	501.7 ± 45.2 (13)
Brain	(g)	2.02 ± 0.07 [b)] (13)	2.02 ± 0.08 (13)	2.01 ± 0.08 (13)	1.99 ± 0.10 (13)
		0.41 ± 0.04 [c)] (13)	0.40 ± 0.04 (13)	0.41 ± 0.05 (13)	0.40 ± 0.04 (13)
Heart	(g)	1.36 ± 0.13 (13)	1.38 ± 0.21 (13)	1.35 ± 0.13 (13)	1.36 ± 0.10 (13)
		0.27 ± 0.02 (13)	0.27 ± 0.02 (13)	0.28 ± 0.02 (13)	0.27 ± 0.02 (13)
Thymus	(mg)	270.5 ± 75.2 (13)	270.4 ± 78.9 (13)	290.1 ± 129.6 (13)	259.6 ± 98.2 (13)
		53.3 ± 11.4 (13)	52.7 ± 12.8 (13)	58.1 ± 21.9 (13)	51.5 ± 18.5 (13)
Liver	(g)	13.75 ± 2.19 (13)	13.80 ± 2.41 (13)	13.64 ± 2.58 (13)	13.89 ± 2.05 (13)
		2.73 ± 0.21 (13)	2.69 ± 0.23 (13)	2.76 ± 0.30 (13)	2.76 ± 0.20 (13)
Kidneys	(g)	3.05 ± 0.42 (13)	3.13 ± 0.37 (13)	3.09 ± 0.26 (13)	3.36 ± 0.29 (13)
		0.61 ± 0.06 (13)	0.61 ± 0.03 (13)	0.63 ± 0.06 (13)	0.67 ± 0.05 * (13)
Spleen	(g)	0.82 ± 0.15 (13)	0.83 ± 0.13 (13)	0.83 ± 0.14 (13)	0.77 ± 0.09 (13)
		0.16 ± 0.02 (13)	0.16 ± 0.02 (13)	0.17 ± 0.03 (13)	0.15 ± 0.02 (13)
Adrenal glands	(mg)	57.1 ± 6.1 (13)	53.5 ± 10.9 (13)	58.6 ± 9.2 (13)	54.0 ± 6.3 (13)
		11.5 ± 1.5 (13)	10.5 ± 1.6 (13)	12.0 ± 2.1 (13)	10.8 ± 1.3 (13)
Testes	(g)	3.25 ± 0.33 (13)	3.26 ± 0.27 (13)	3.36 ± 0.32 (13)	3.08 ± 0.24 (13)
		0.65 ± 0.07 (13)	0.64 ± 0.07 (13)	0.69 ± 0.11 (13)	0.62 ± 0.07 (13)
Epididymides	(g)	1.21 ± 0.10 (13)	1.24 ± 0.13 (13)	1.25 ± 0.10 (13)	1.18 ± 0.11 (13)
		0.24 ± 0.02 (13)	0.24 ± 0.03 (13)	0.26 ± 0.04 (13)	0.24 ± 0.03 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
b): absolute weight
c): relative weight (g or mg per 100g body weight)
*: significant difference from control, $p<0.05$

Table 18

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Organ weight of females; mean ± S.D. (N)

Compound		BA2E			
Groups (mg/kg)		0 [a]	10	50	250
Final body weight	(g)	307.8 ± 27.0 (11)	309.5 ± 29.4 (13)	306.6 ± 17.3 (12)	306.1 ± 20.4 (13)
Brain	(g)	1.89 ± 0.10 [b] (11)	1.91 ± 0.05 (13)	1.91 ± 0.08 (12)	1.92 ± 0.06 (13)
		0.62 ± 0.05 [c] (11)	0.62 ± 0.06 (13)	0.62 ± 0.03 (12)	0.63 ± 0.04 (13)
Heart	(g)	0.93 ± 0.09 (11)	0.90 ± 0.06 (13)	0.92 ± 0.09 (12)	0.93 ± 0.08 (13)
		0.30 ± 0.01 (11)	0.29 ± 0.01 (13)	0.30 ± 0.02 (12)	0.30 ± 0.02 (13)
Thymus	(mg)	169.7 ± 59.3 (11)	172.7 ± 70.8 (13)	197.4 ± 78.6 (12)	185.4 ± 81.2 (13)
		54.8 ± 17.7 (11)	55.2 ± 19.9 (13)	64.3 ± 24.5 (12)	60.2 ± 26.0 (13)
Liver	(g)	10.24 ± 1.29 (11)	9.85 ± 0.66 (13)	10.19 ± 0.78 (12)	10.25 ± 0.94 (13)
		3.32 ± 0.22 (11)	3.19 ± 0.22 (13)	3.32 ± 0.12 (12)	3.35 ± 0.24 (13)
Kidneys	(g)	1.89 ± 0.16 (11)	1.94 ± 0.16 (13)	2.01 ± 0.21 (12)	2.12 ± 0.24 * (13)
		0.62 ± 0.03 (11)	0.63 ± 0.04 (13)	0.65 ± 0.05 (12)	0.70 ± 0.08 * (13)
Spleen	(g)	0.71 ± 0.09 (11)	0.67 ± 0.08 (13)	0.67 ± 0.07 (12)	0.68 ± 0.13 (13)
		0.23 ± 0.03 (11)	0.22 ± 0.03 (13)	0.22 ± 0.02 (12)	0.22 ± 0.04 (13)
Adrenal glands	(mg)	69.3 ± 8.4 (11)	72.5 ± 10.4 (13)	67.9 ± 10.3 (12)	67.7 ± 7.9 (13)
		22.5 ± 1.8 (11)	23.6 ± 3.8 (13)	22.2 ± 3.4 (12)	22.2 ± 2.6 (13)

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
b): absolute weight
c): relative weight (g or mg per 100g body weight)
*: significant difference frc :ontrol, $p<0.05$

Table 19

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Estrous cycle

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Number of females examined	13	13	13	13
Pre-treatment period				
Number of females showing 4-day cycle	13	13	13	13
Treatment period				
Number of animals showing:				
4-day cycle	12	13	13	12
4- and 5- day cycle	0	0	0	1
Irregular cycle	1	0	0	0
Mean length of estrous cycle in days				
Mean ± S.D.	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.1
Number of vaginal estrus during mating period				
Mean ± S.D.	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 20

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Reproductive performance

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Number of pairs examined (A)	13	13	13	13
Number of pairs copulated (B)	13	13	13	13
Copulation index [(B/A)×100,%]	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of fertile pairs (C)	12	13	12	13
Fertility index [(C/B)×100,%]	92.3	100.0	92.3	100.0
Pairing days until copulation Mean ± S.D.	2.6 ± 1.7	2.0 ± 1.1	2.8 ± 1.2	2.3 ± 1.3

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 21

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Development of pups up to day 4 of lactation; mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Number of pregnant females	12	13	12	13
Number of pregnant females with live newborns	11	13	12	13
Gestation index	91.7	100.0	100.0	100.0
Gestation length in days	22.5 ± 0.5 (11)	22.3 ± 0.5 (13)	22.4 ± 0.5 (12)	22.6 ± 0.5 (13)
Number of corpora lutea	16.1 ± 1.4 (12)	16.0 ± 1.9 (13)	16.2 ± 2.4 (12)	15.8 ± 1.8 (13)
Number of implantations	15.2 ± 1.9 (12)	15.4 ± 1.5 (13)	15.2 ± 2.5 (12)	15.1 ± 1.6 (13)
Implantation index	94.4 ± 9.2 (12)	96.4 ± 4.6 (13)	93.7 ± 6.7 (12)	95.8 ± 4.4 (13)
Day 0 of lactation				
Number of newborns	14.4 ± 2.2 (11)	14.5 ± 1.8 (13)	14.3 ± 3.2 (12)	13.5 ± 2.0 (13)
Delivery index	95.0 ± 6.2 (11)	94.4 ± 5.3 (13)	93.1 ± 9.8 (12)	89.3 ± 9.7 (13)
Number of live newborns	14.4 ± 2.2 (11)	14.4 ± 1.6 (13)	13.4 ± 3.1 (12)	11.5 ± 3.1 * (13)
Birth index	95.0 ± 6.2 (11)	93.5 ± 4.7 (13)	87.9 ± 11.2 (12)	76.0 ± 16.8 ** (13)
Live birth index	100.0 ± 0.0 (11)	99.1 ± 2.3 (13)	94.8 ± 10.1 (12)	86.4 ± 21.1 ** (13)
Sex ratio on day 0	53.2 ± 17.9 (11)	45.2 ± 14.3 (13)	53.3 ± 12.6 (12)	47.9 ± 16.0 (13)
Day 4 of lactation				
Number of live pups	14.1 ± 2.0 (11)	14.3 ± 1.7 (13)	13.4 ± 3.1 (12)	11.5 ± 3.0 * (13)
Viability index	98.3 ± 4.0 (11)	99.5 ± 2.0 (13)	100.0 ± 0.0 (12)	99.4 ± 2.1 (13)
Sex ratio on day 4	52.5 ± 17.6 (11)	45.4 ± 14.3 (13)	53.3 ± 12.6 (12)	48.1 ± 15.9 (13)

Gestation index = (number of pregnant females with live newborns/number of pregnant females) × 100, %
Implantation index = (number of implantations/number of corpora lutea) × 100, %
Delivery index = (number of newborns/number of implantations) × 100, %
Birth index = (number of live newborns/number of implantations) × 100, %
Live birth index = (number of live newborns/number of newborns) × 100, %
Sex ratio on day 0 = (number of male live newborns/number of live newborns) × 100, %
Viability index = (number of live pups on day 4 of lactation/number of live newborns) × 100, %
Sex ratio on day 4 = (number of male live pups on day 4 of lactation/number of live pups on day 4 of lactation) × 100, %

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
*: significant difference from control, $p<0.05$
**: significant difference from control, $p<0.01$

Table 22

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Body weight of pups up to day 4 of lactation; mean ± S.D. (N)

Compound	BA2E			
Groups (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Day 0 (At birth)				
No. of live newborns				
Male	7.6 ± 2.7 (11)	6.6 ± 2.6 (13)	7.3 ± 2.5 (12)	5.8 ± 3.1 (13)
Female	6.7 ± 2.7 (11)	7.8 ± 1.8 (13)	6.2 ± 2.1 (12)	5.7 ± 1.6 (13)
Body weight of newborn in grams				
Male	6.8 ± 0.7 (11)	6.8 ± 0.4 (13)	6.8 ± 1.0 (12)	7.0 ± 0.9 (13)
Female	6.4 ± 0.6 (11)	6.5 ± 0.4 (13)	6.4 ± 0.8 (12)	6.6 ± 0.8 (13)
Day 4				
No. of live pups				
Male	7.4 ± 2.5 (11)	6.6 ± 2.6 (13)	7.3 ± 2.5 (12)	5.8 ± 3.1 (13)
Female	6.7 ± 2.7 (11)	7.7 ± 1.8 (13)	6.2 ± 2.1 (12)	5.6 ± 1.5 (13)
Body weight of pup in grams				
Male	10.6 ± 1.2 (11)	10.6 ± 0.9 (13)	11.4 ± 2.5 (12)	11.8 ± 2.0 (13)
Female	10.1 ± 1.2 (11)	10.2 ± 0.9 (13)	10.9 ± 1.9 (12)	11.2 ± 2.1 (13)

Parentheses indicate the number of litters evaluated.
a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)

Table 23

Combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of BA2E by oral administration in rats

Morphological findings in pups

Compound	BA2E			
Dose (mg/kg)	0 [a)]	10	50	250
Dead pups				
Number of dead pups examined				
External observation	0	2	10	22
Visceral observation	0	2	5	17
External changes				
Number of pups	0	0	0	0
Visceral changes				
Number of pups	0	0	0	0
Day 4 of lactation				
Number of live pups examined	155	186	161	149
External changes				
Number of pups	0	0	2	0
Types and number				
Kinked tail	0	0	2 [b)]	0
Visceral changes				
Number of pups	0	0	0	0
Total number				
External observation	155	188	171	171
External changes	0	0	2	0
Visceral observation	155	188	166	166
Visceral changes	0	0	0	0

a): vehicle control, corn oil (2 mL/kg)
b): FB03007 (dam no.)