

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸の
ラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

試験番号：1838（115-009）

目 次

1. 要 約	1 頁
2. 試 験 題 目	2
3. 試 験 目 的	2
9. 被 験 物 質	4
10. 試験材料および方法	5
11. 試 験 結 果	12
12. 考察および結論	16

Figures, Tables and References data

Figure 1	Survival ratio
Table 1	Survival and mortality
Table 2	Clinical observation
Figure 2	Body weight
Table 3	Body weight
Figure 3	Food consumption
Table 4	Food consumption
Table 5	Hematology
Table 6	Coagulation
Table 7	Blood chemistry
Table 8	Urinalysis
Table 9	Organ weight
Table 10	Organ weight per body weight
Table 11	Summary of gross findings (sacrificed at 4, 6 Week)
Table 12	Summary of histological findings (sacrificed at 4 Week)

1. 要 約：

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸をSD系ラットに一定期間毎日反復投与した時に現われる機能および形態の変化を観察し、その毒性を明らかにするため、強制経口投与による28日間反復投与毒性試験を実施した。

ラットは1群雌雄各5匹で4試験群、対照群および高用量群には雌雄各5匹の回復群を設け、計60匹を使用した。

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸は、0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液に懸濁し、0, 100, 300 および 1,000 mg/kgを毎日1回、4週間連続経口投与し、臨床観察、体重測定、飼料摂取量測定、血液学検査、血液凝固検査、生化学検査、尿検査、臓器重量測定および病理学検査を行った。なお、回復期間は2週間とし、投与終了時と同様な検査を実施した。

その結果は、次の如く要約される。

投与期間および回復期間を通じて、臨床観察で異常の認められた動物は雌雄いずれの試験群にもなく、死亡例も認められなかった。

体重は、雄の300および1,000 mg/kg群で増加抑制傾向にあったが、被験物質投与の影響と言える程明確なものではなかった。

飼料摂取量には、投与期間および回復期間を通じて雌雄とも群間で差が認められなかった。

血液学検査、血液凝固検査および生化学検査結果には、雌雄とも被験物質投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

尿検査の結果、雌雄ともウロビリノーゲン陽性、尿pHの低下が認められたが、被験物質の代謝物による変化と考えられ、特定臓器の障害に起因した変化とは考えられなかった。

臓器重量測定の結果、雌雄とも重量測定を実施したすべての臓器について、被験物質投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

病理学検査の結果、投与終了時および回復試験終了時の計画屠殺動物において、被験物質投与によると考えられる肉眼所見は、雌雄とも観察されなかった。

投与終了時の対照群および1,000 mg/kg群について組織学検査を行ったが、被験物質投与によると考えられる所見は、雌雄とも観察されなかった。

以上の結果、雌雄とも無影響量は1,000 mg/kgと判断された。

2. 試 験 題 目 : 2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いる
28日間の反復投与毒性試験

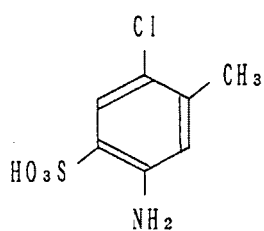
3. 試 験 目 的 : 新規化学物質の安全性を評価するため、環保業第 700号, 薬発第1039
号, 61基局第1014号(昭和61年12月5日)の「新規化学物質に係る試
験の方法について」に従って、ラットを用いる28日間の反復投与毒性
試験を実施した。

なお、試験の実施は環企研第 233号, 衛生第38号, 63基局第 823号
(昭和63年11月18日)の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質
に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設
について」の基準を満たすものとした。

9. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸
- 2) CAS No. 88-53-9
- 3) 純 度 99.5%以上
- 4) 化 学 名 2-Amino-5-chloro-4-methyl-benzene-sulfonic acid

5) 化学構造



- 6) 分 子 式 $C_7H_6ClNO_3S$
- 7) 分 子 量 221.5
- 8) 物質の状態 粉末
- 9) 溶 解 性 難溶性
- 10) 安 定 性 安定

10. 試験材料および方法：

1) 供試動物

供試したラット CD(SD) 系は日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市下古沢 795）から平成3年10月14日に4週齢で購入した。

動物を検収後、試験環境に9日間馴化し、平成3年10月23日に6週齢で投与を開始した。動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした。

動物の識別は、個体別飼育ケージに動物標識番号(Animal ID-No.) を付すことにより行った。

投与開始時の体重は雄で 137～151 g，雌で 111～127 g であった。

2) 種属選択理由

供試したラットの系統は感染性疾患に対する抵抗性、遺伝的安定性等を考慮して選んだ。

3) 飼 育

動物はバリアシステムの飼育室（9.8 × 8.2 × 2.5 m，200.9 m³）で飼育し、環境調節の目標値は温度 23 ± 1℃、相対湿度 55 ± 5%、換気回数 1 時間20回、照明150 ～ 300 lux，12 時間（午前7時点灯、午後7時消灯）とした。

株式会社 東京技研サービス（東京都府中市若松町2-8-16）の水洗式飼育機（674.2 × 80.0 × 175.5 cm）を使用し、金属製前面・床網目飼育ケージ（20.0 × 28.2 × 18.0 cm、飼育ケージ・スペース 10,152 cm³）に動物を1匹ずつ収容し、飼料と水を自由に摂取させた。飼育ケージは隔週1回、給餌器は週1回取り換えた。

なお、動物の馴化期間を含め、投与および回復期間中、データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった。

4) 試験群の構成

試験群の構成は下記に示した。

1 群雌雄各 5 匹、回復群を 0 および 1,000 mg/kg 群に雌雄各 5 匹、計 60 匹を使用した。

試験群	1		2		3		4	
用量 (mg/kg)	0		100		300		1,000	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	10	10	5	5	5	5	10	10
動物番号	1001	2001	1101	2101	1201	2201	1301	2301
	5	5	5	5	5	5	5	5
	1005	2005	1105	2105	1205	2205	1305	2305
動物番号	1006	2006					1306	2306
	5	5	—	—	—	—	5	5
	1010	2010					1310	2310

[用量設定理由]

用量設定のための予備試験を 0, 100, 300 および 1,000 mg/kg/day の 4 用量で実施した結果、死亡例はいずれの投与群でもみられず、また、体重、飼料摂取量、病理解剖所見および臓器重量にも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。従って、28 日間反復投与試験における最高用量は、限界用量の 1,000 mg/kg とし、以下公比 3 で除し中用量を 300 mg/kg、低用量を 100 mg/kg に設定した。別に担体（0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液）のみを投与する対照群を設けた。

5) 投与方法

被験物質の投与経路は経口とした。被験物質は 0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液（和光純薬工業株式会社、大阪府中央区道修町 3-1-2）に懸濁し、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与容量は体重 100 g 当り 0.5 ml とし、投与液の調製は週に 1 回とした。対照群には担体（0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液）のみを投与した。

6) 投与期間

投与期間は28日間とし、投与終了後 0 および 1,000 mg/kg 群について 2 週間の回復試験を実施した。

7) 飼 料

動物に与えた基礎飼料はオリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区日本橋小伝馬町 10-11）製造の放射線滅菌改良 NIH 公開ラット・マウス飼料（Modified NIH Open Formula Rat and Mouse Ration）を使用した。

基礎飼料中の環境汚染物質に関する分析結果は『Reference data 1』に示した。

8) 投与液中の被験物質の均一性／濃度分析

投与液の均一性／濃度確認のため全試験群について、第 1 および第 4 週投与用調製液の濃度分析を行った。なお、投与液の安定性については、予備試験（試験番号 1815）において調製後冷蔵庫保存で 2 週間安定であることが確認されている。

均一性／濃度分析の方法および結果は『Reference data 3』に示した。

9) 給 水

動物には水道水を自由に摂取させた。

水道水の分析結果は『Reference data 2』に示した。

10) 観 察

全動物を毎日 2 回（休日は死亡および死期の迫った動物の観察のみとした）観察し、中毒症状の有無、行動異常、死期の迫った動物、死亡動物等を臨床観察所見記録シートに記録した。

11) 体 重

体重は投与開始から回復試験終了時まで毎週 1 回測定した。

測定は自動天秤を用いて行い、フロッピー・ディスクに記録した。

12) 飼料摂取量

飼料摂取量は毎週1回給餌した残量を自動天秤を用いて測定し、フロッピー・ディスクに記録した。コンピュータで飼料摂取量 (g/week) を算出した。

13) 臨床検査

臨床検査は投与終了時および回復期間終了時の計2回実施した。

採血するに当たり、動物は約16時間絶食させた。動物をエーテルで麻酔後開腹し、腹部大動脈から採血した。

a. 血液学検査

血液学検査には初血を用いた。検査は THMS (米国テクニコン社) を用いて下記の項目を測定した (EDTA - 3K添加血液)。

白血球数	(WBC)	暗視野板法
赤血球数	(RBC)	暗視野板法
ヘモグロビン量	(HGB)	シアンメトヘモグロビン法
ヘマトクリット値	(HCT)	全赤血球の容積より補正
平均赤血球容積	(MCV)	RBC, HCTより算出
平均赤血球血色素量	(MCH)	HGB, RBCより算出
平均赤血球血色素濃度	(MCHC)	HGB, HCTより算出
血小板数	(PLT)	暗視野板法
白血球百分率		フローサイトケミストリー法

網赤血球 (RC) はキャピロット (テルモ株式会社、東京都渋谷区幡ヶ谷2-44-1) で染色後、血液塗抹標本を作製し保管した。

下記の項目は、血液凝固自動測定装置 KC-40 (独国 Amelung社) を用いて測定した。クエン酸ソーダ添加血液を遠心分離して得た血漿を用いた。

プロトロンビン時間	(PT)	quick 1 段法
活性化部分トロンボプラスチン時間	(APTT)	クロット法

b. 生化学検査

生化学検査は Centrifichem ENCORE II (米国ベーカー社) および EKTACHEM 700N (米国コダック社) を用いて血清の下記の項目を測定した。

総 蛋 白	(TP)	ビュレット法
ア ル ブ ミ ン	(Alb)	B. C. G. 法
A/G比	(A/G)	計算値
血 糖	(Glu)	ヘキソキナーゼ法
中 性 脂 肪	(TG)	酵素法
総コレステロール	(T-Chol)	酵素法
尿 素 窒 素	(BUN)	ウレアーゼ改良法
ク レ ア チ ニ ン	(Crea)	Jaffe' 法
カ ル シ ウ ム	(Ca)	アリザリン法
無 機 リ ン	(IP)	モリブデンブルー法
グルタミン酸オキザロ酢酸 トランスアミナーゼ	(GOT)	Karmen改良法
グルタミン酸ピルビン酸 トランスアミナーゼ	(GPT)	Wroblewski and LaDue改良法
γ-グルタミルトランス ペプチダーゼ	(γ-GTP)	酵素法
アルカリホスファターゼ	(ALP)	Bessey-Lowry-Brock改良法
ナ ト リ ウ ム	(Na)	電極法
カ リ ウ ム	(K)	電極法
塩 素	(Cl)	電極法

c. 尿検査

尿は採尿器を用いて24時間（午前10時から翌日午前10時まで）尿を採取した。
下記の項目を検査した。

尿 量
色 調
濁 度
尿 比 重
沈 渣

尿比重は尿比重計UR-S（株式会社アタゴ、東京都板橋区本町 32-10）を用いて測定した。
沈渣は尿を遠心分離後染色（Sternheimer 変法）し、顕微鏡観察によって調べた。

下記の項目はN-マルティスティックスSG（マイルス・三共株式会社、東京都中央区銀座1-9-7）を用い、判定は CLINITEK 200（米国マイルス社）によって行った。

pH

潜 血

ケ ト ン 体

糖

蛋 白

ビリルビン

ウロビリノーゲン

14) 病理学検査

病理解剖は投与終了時および回復期間終了時に動物をエーテル麻酔し、放血致死させ実施した。肉眼的異常を病理解剖所見記録シートに記録した。

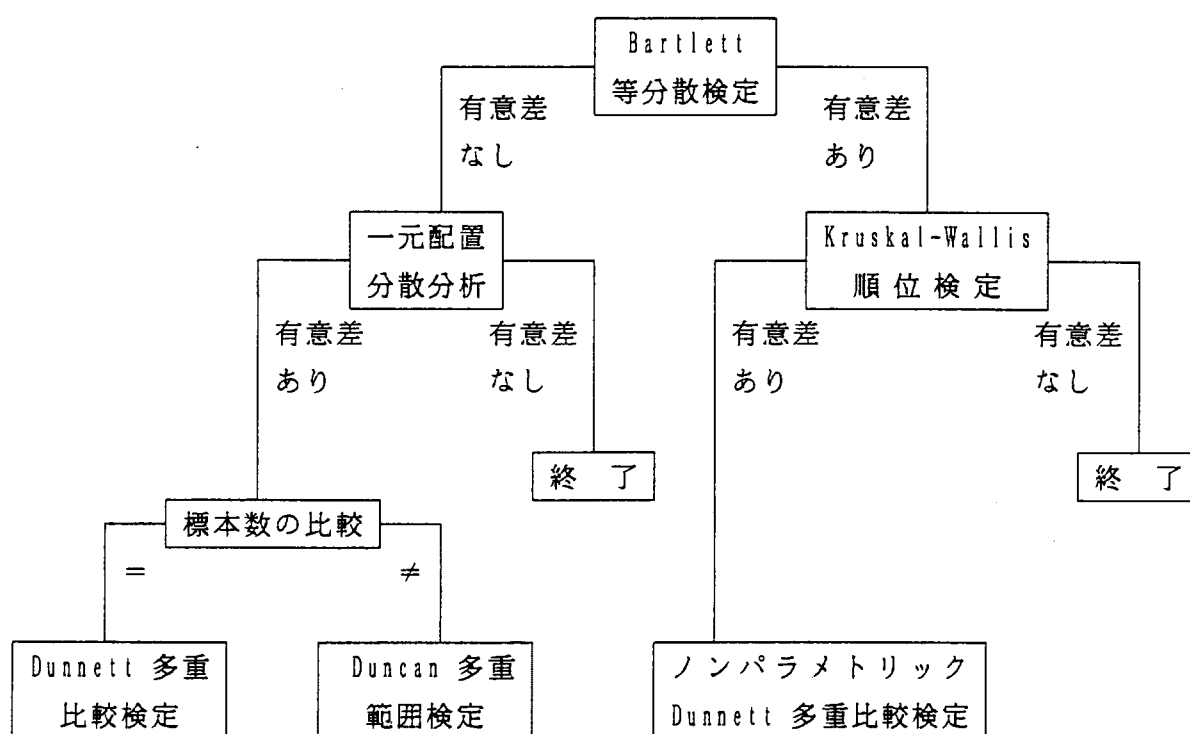
臓器重量は臓器重量測定用自動天秤を用いて、脳、肝、腎、脾、副腎、精巣および卵巣について測定し、臓器重量・体重比を算出した。

上記重量測定臓器と下垂体、眼球、甲状腺（上皮小体を含む）、心、肺、胃、膀胱、骨髄（大腿骨）および肉眼所見で変化が認められた器官・組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

病理組織学検査は固定した器官・組織のうち、対照群と高用量群の心、肝、脾、腎および副腎について行った。常法に従って㈱関東組織形態研究所で薄切標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジンで染色した。鏡検は安評センターで実施し、病変の種類および程度について記録した。

15) データの記録および統計分析

本試験の諸データは、安評センターのコンピュータ・システムを用いて記録し、統計分析した。各試験群の体重、飼料摂取量、血液学検査値、生化学検査値、尿検査値（尿量および尿比重のみ）、臓器重量および臓器重量・体重比は、下記に示した自動判別方式に従い、最初に Bartlett の等分散検定を実施した。等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、分散が有意で各群の標本数が同数の場合は Dunnett の多重比較検定、各群の標本数が異なる場合は Duncan の多重範囲検定で対照群と各投薬群間の有意差を検定した。Bartlett の等分散検定で不等分散の場合は Kruskal-Wallis の順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックの Dunnett の多重比較検定で対照群と各投薬群間の有意差を検定した。有意水準は 5 および 1 % の片側検定で実施した。



1 1. 試 験 結 果 :

1) 死 亡 率

生存率は Figure 1 に、生存数および死亡率は Table 1に示した。

投与期間中、雌雄とも対照群を含むすべての試験群で死亡例は認められなかった。また、回復期間中、雌雄とも対照群および 1,000 mg/kg群で死亡例は認められなかった。

2) 臨床観察

臨床観察所見は Table 2および Appendix 1 に示した。

投与期間および回復期間を通じて雌雄いずれの群にも異常動物は観察されなかった。

3) 体 重

体重は Figure 2, Table 3および Appendix 2 に示した。

雄では 1,000 mg/kg群で投与後3週に対照群に比べ低値が認められ、4週間の体重増加量は 300および 1,000 mg/kg群で低値を示した。回復期間中は、対照群と 1,000 mg/kg群で有意差は認められなかった。

雌では投与期間および回復期間を通じて群間で差が認められず、0～4および4～6週間の体重増加量にも差はなかった。

4) 飼料摂取量

飼料摂取量は Figure 3, Table 4および Appendix 3 に示した。

雌雄とも投与期間および回復期間中を通じて差が認められず、0～4および4～6週間の総摂取量にも差は認められなかった。

5) 血液学検査

血液学検査は Table 5および Appendix 4 に示した。

投与終了時の結果

雄では 300および 1,000 mg/kg群で対照群に比較して MCHC が低値を示したが、ヘモグロビン量および赤血球数に変化はなく、正常範囲内の変化であった。

雌ではいずれの検査項目においても対照群との間に差は認められなかった。

回復期間終了時の結果

雄では 1,000 mg/kg群で対照群に比較してヘモグロビン量および血小板数の減少が認められたが、正常範囲内の変化であった。

雌では 1,000 mg/kg群で対照群に比較して白血球数の減少が認められたが、正常範囲内の変化であった。

6) 血液凝固検査

血液凝固検査結果は Table 6 および Appendix 5 に示した。

投与期間終了時の検査において、雌雄ともにプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間は群間で差がなかった。

回復期間終了時の検査で、雌の 1,000 mg/kg 群でプロトロンビン時間が対照群に比較して延長したが、軽微な変化で投与終了時には認められず、被験物質投与とそれに続く休止との関連はないと考えられた。

7) 生化学検査

生化学検査は Table 7 および Appendix 6 に示した。

投与終了時の結果

雄では 100 および 300 mg/kg 群で対照群に比較してカルシウムが、また、300 mg/kg 群でアルブミンが減少したが、用量相関性のない変化であった。

雌ではすべての被験物質投与群で対照群に比較して γ -GTPの減少、カルシウムの増加が認められ、また、100 mg/kg 群で血糖の増加が認められたが、数値的に用量相関性はなく、正常範囲内の変化であった。

回復期間終了時の結果

雄では 1,000 mg/kg 群で対照群に比較してクレアチニン増加、総蛋白、アルブミンおよびカリウムの減少が認められたが、いずれも正常範囲内の値であった。

雌ではすべての検査項目において対照群と 1,000 mg/kg 群で差は認められなかった。

8) 尿 検 査

尿検査結果は Table 8 および Appendix 7 に示した。

投与終了時の結果

雌雄ともすべての被験物質投与群でウロビリノーゲン 1.0 E.U./dl 以上の動物が用量相関的に増加し、さらに、300 mg/kg 以上の群で尿 pH 5.5 以下の動物が増加した。

回復期間終了時の結果

雄では対照群と 1,000 mg/kg 群で、すべての検査項目について明確な差は認められなかった。

雌では 1,000 mg/kg 群で対照群に比較して尿比重が高値を示したが、尿量が僅かながら少ないため、投与終了時には認められなかった変化であり、被験物質の投与とそれに続く休止との関連はないと考えられた。

9) 臓器重量

臓器重量は Table 9 および Appendix 8 に示した。

投与終了時の結果

雌雄ともすべての重量測定臓器について対照群と被験物質投与群で差は認められなかった。

回復期間終了時の結果

雌雄とも 1,000 mg/kg 群と対照群とで重量に差のある臓器は認められなかった。

10) 臓器重量・体重比

臓器重量・体重比（相対重量）は Table 10 および Appendix 9 に示した。

投与終了時の結果

雌雄ともすべての重量測定臓器について対照群と被験物質投与群で差は認められなかった。

回復期間終了時の結果

雄の 1,000 mg/kg 群で対照群に比較して副腎相対重量が増加したが、対照群の値が低い傾向にあり、被験物質の投与およびそれに引続く投与休止に起因した変化ではないと考えられた。

雌では対照群と差のある臓器は認められなかった。

11) 病理学検査

肉眼所見は Table 11 および Appendix 10 に、組織所見は Table 12 および Appendix 11 に示した。

a) 剖検所見

発生率の上から被験物質投与によることの示唆される肉眼所見は、投与終了時および回復試験終了時の計画屠殺動物において、雌雄とも観察されなかった。

観察された所見は、いずれも各群に単発性の発生に止まった。

b) 組織所見

組織学的検索は、投与終了時の対照群および 1,000 mg/kg 群について行った。その結果、発生率の上で被験物質投与によると示唆される所見は観察されなかった。

なお、対照群を含め観察された主な所見を下記に示す。

(1) 肝

髄外造血：雄で低い発生であった。

脂肪化：いずれも小空胞が肝細胞中に散見される程度の程度のものであったが、雌雄とも高い発生であった。

肉芽巢：局所的にみられる軽度のものが大部分であった。その発生は、雄においては高い発生で、雌では殆どの例に観察された。

(2) 腎 好塩基性化：雌雄とも高い発生であった。

石灰化：雌雄ともやや高い発生であった。

好酸性小体：雄で低い発生であった。

(3) 副腎 空胞化：副腎束状帯に小さな空胞を呈するもので、雄の全例に観察された。

その他、観察された所見は単発性の発生であった。

1 2. 考察および結論：

臨床観察の結果、投与期間および回復期間を通じて雌雄いずれの群にも異常動物は観察されず、死亡例も認められなかった。

体重は、雄の 1,000 mg/kg 群で投与 3 週に対照群に比較し低値を示し、300 および 1,000 mg/kg 群で 4 週間の体重増加量が減少したが、数値的に用量相関性もなく、極めて軽微な変化であった。雌では投与期間および回復期間を通じて群間で差が認められなかった。飼料摂取量は、雌雄とも投与期間および回復期間を通じて対照群と差がなく、4 週間の総摂取量にも群間差は認められなかった。

血液学検査、血液凝固検査および生化学検査結果には、雌雄ともに被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

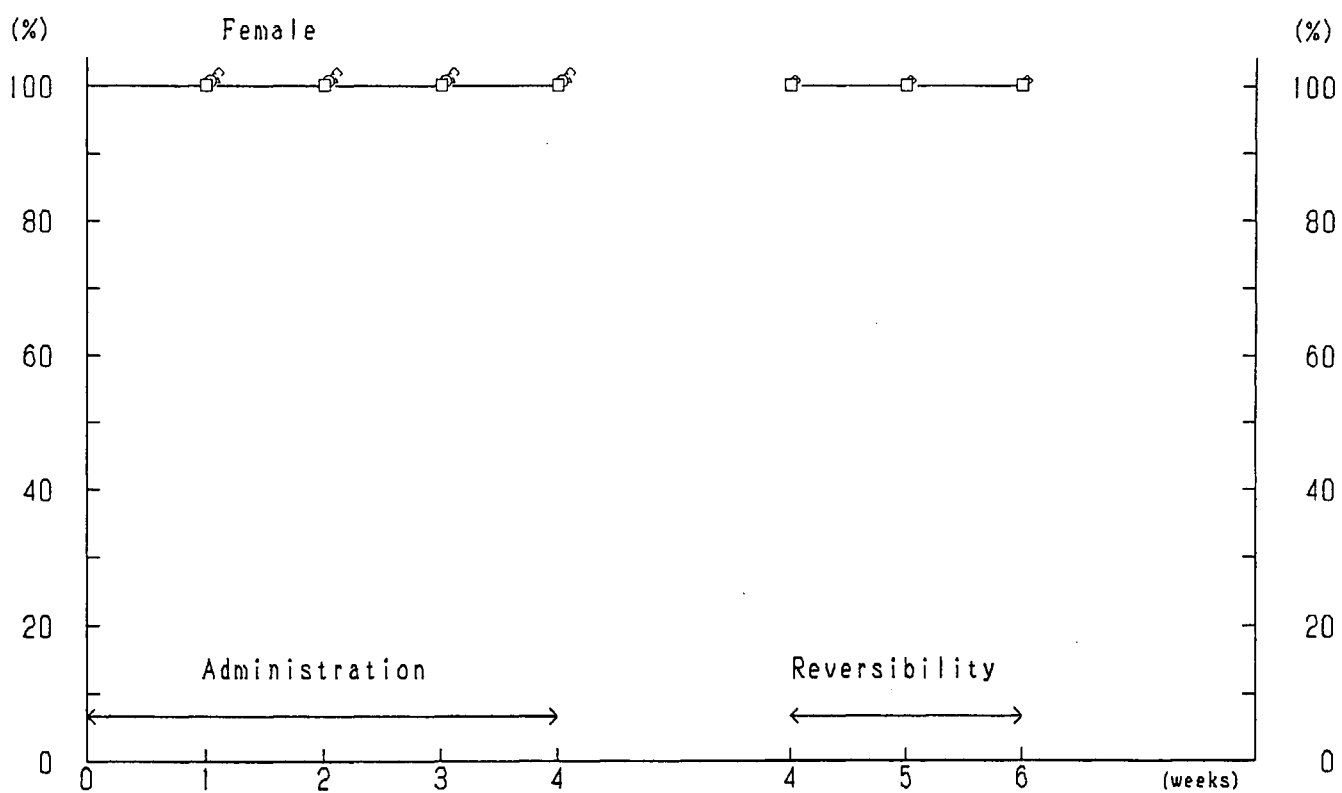
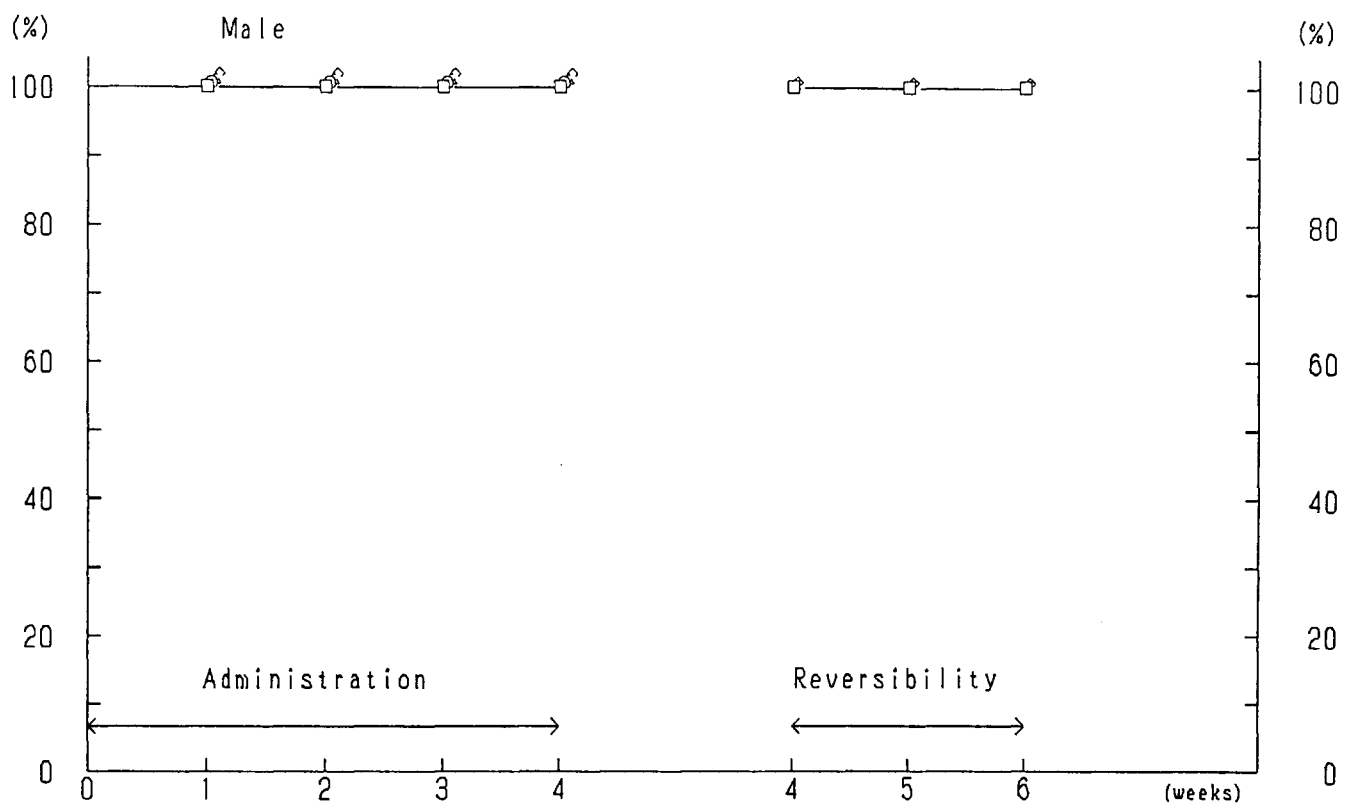
尿検査の結果、被験物質投与群でウロビリノーゲンの増加、尿 pH の低下が認められたが、薬剤干渉が示唆され以下の追加試験を行った。ラット尿に被験物質を飽和させ（本被験物質の水溶解度 90 mg/100 ml）、本試験で用いた尿試験紙で検査したところウロビリノーゲンは陰性、pH は僅かに下がった程度であった。次にラットに被験物質を 1,000 mg/kg 単回投与した後の尿について追加検査した結果、ウロビリノーゲンは本試験で用いた N-マルチスティックス SG 試験紙（Ehrlich アルデヒド反応）では陽性、これとは反応系の異なるウロペーパー“栄研”UAG-3（ジアゾ・カップリング反応）では陰性であり、尿 pH は低値を示した。しかしながら、投与後 2 日の尿では両試験紙ともウロビリノーゲンは陰性であった。また、本試験では関連する諸検査に異常は認められず、回復期間終了時の検査では対照群と差がないことから、薬剤干渉による偽陽性と判断された。

臓器重量測定の結果、雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

病理学検査の結果、肉眼的にも、組織学的にも、被験物質投与によると示唆される病変は、雌雄ともに観察されなかった。

以上の結果、雌では測定および検査したすべての項目で、1,000 mg/kg 投与群でも被験物質投与の影響が認められなかった。雄においても、300 および 1,000 mg/kg 投与で極めて僅かな体重増加抑制傾向が認められたが、明確なものではなく、被験物質投与の影響と判断する程のものではなかった。従って、雌雄とも無影響量は 1,000 mg/kg と推察された。

Figures, Tables



Exp. No : 1838(115-009)

Dose level (mg/kg)

—□— 0
 —○— 100
 —△— 300
 —◇— 1,000

Figure 1. Survival ratio

Table 1. Survival and mortality

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Mortality (%)
		1	2	3	4	
Male	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
Female	0	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	0.0
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	0.0

Number surviving / Number per group.

Table 1. -continued Survival and mortality

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Mortality (%)
		5	6	
Male	0	5/5	5/5	0.0
	1,000	5/5	5/5	0.0
Female	0	5/5	5/5	0.0
	1,000	5/5	5/5	0.0

Number surviving / Number per group.

Table 2. Clinical observation

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Male

Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Total (1 → 4)
		1	2	3	4	
normal/Number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	10
sacrificed	0	0	0	0	5	5
	100	0	0	0	5	5
	300	0	0	0	5	5
	1,000	0	0	0	5	5

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Male

Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Total (5 → 6)
		5	6	
normal/Number per group	0	5/5	5/5	5
	1,000	5/5	5/5	5
sacrificed	0	0	5	5
	1,000	0	5	5

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Female

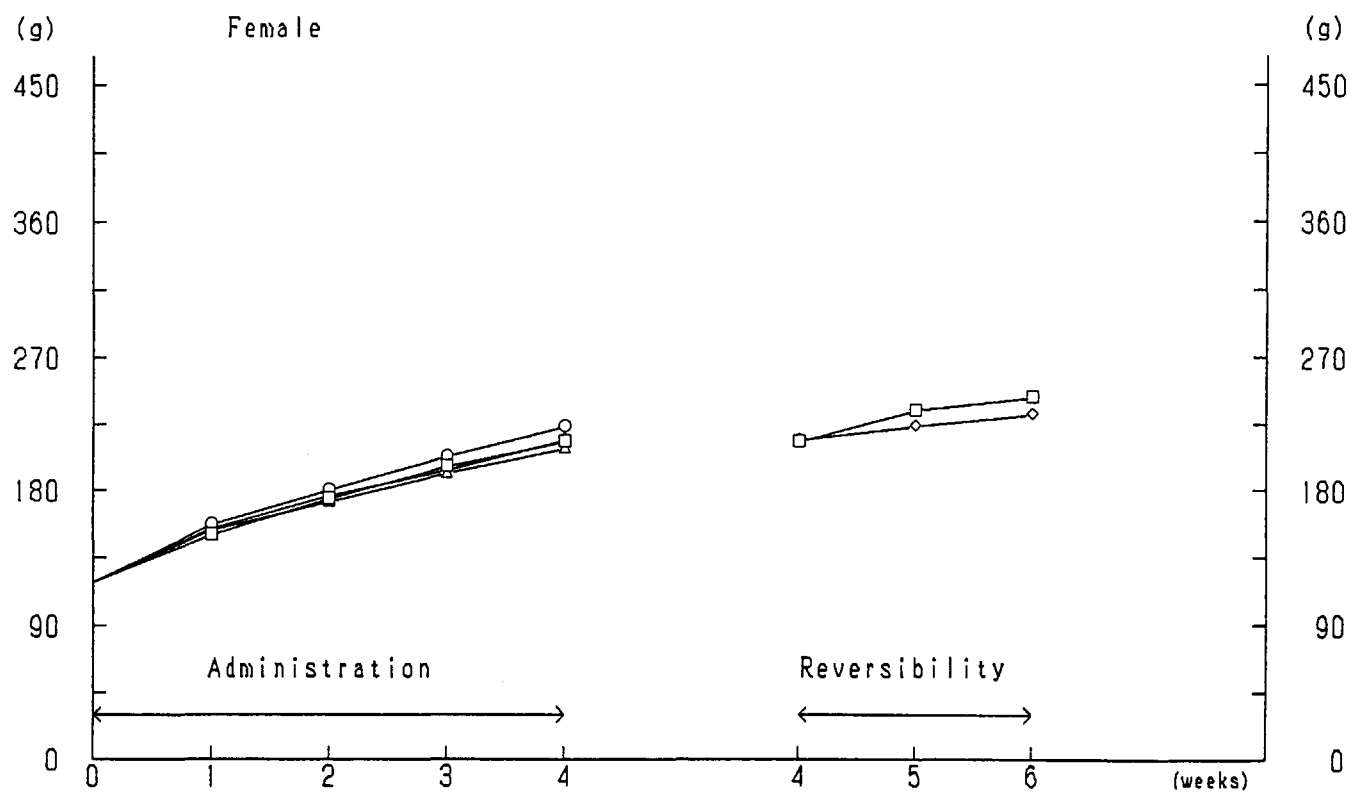
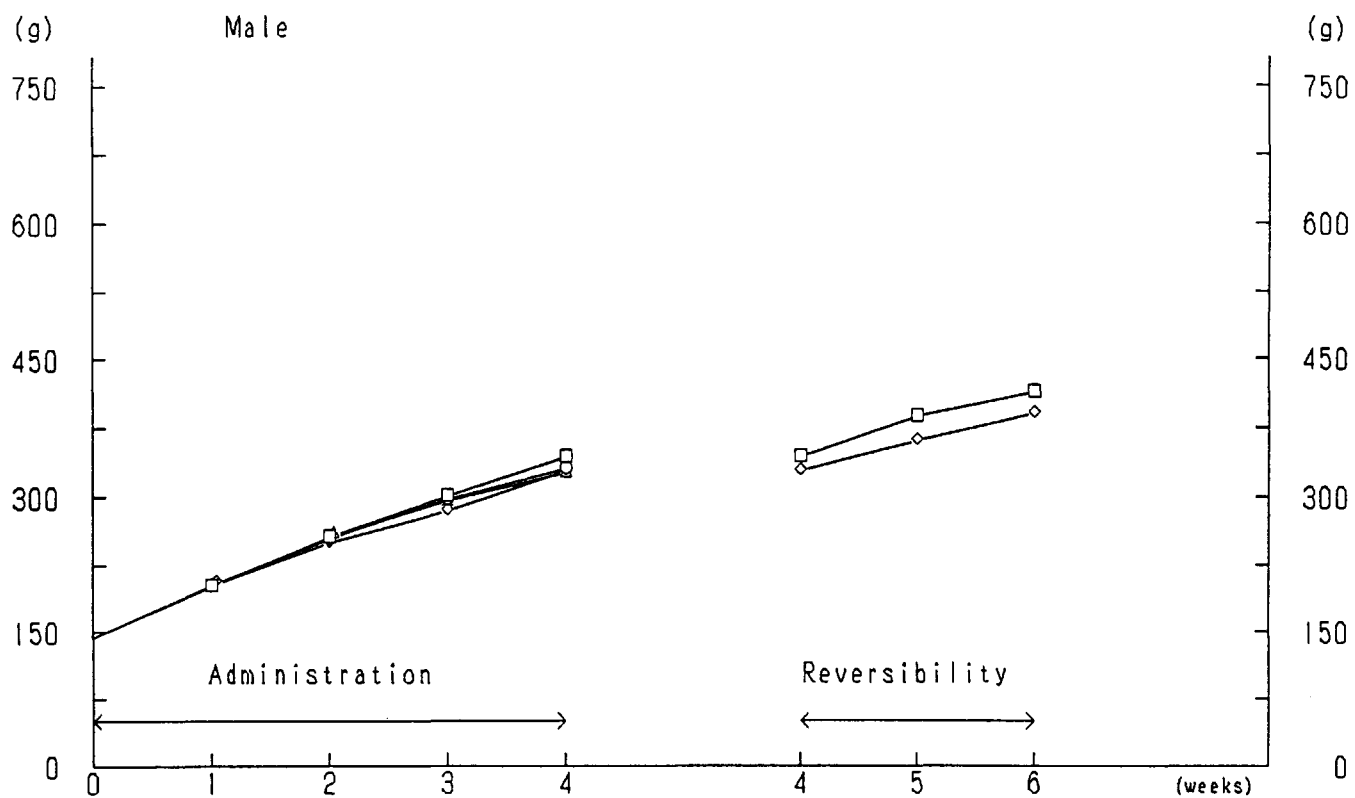
Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment				Total (1 → 4)
		1	2	3	4	
normal/Number per group	0	10/10	10/10	10/10	10/10	10
	100	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	300	5/5	5/5	5/5	5/5	5
	1,000	10/10	10/10	10/10	10/10	10
sacrificed	0	0	0	0	5	5
	100	0	0	0	5	5
	300	0	0	0	5	5
	1,000	0	0	0	5	5

Table 2. -continued Clinical observation

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Female

Signs	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment		Total (5 → 6)
		5	6	
normal/Number per group	0	5/5	5/5	5
	1,000	5/5	5/5	5
sacrificed	0	0	5	5
	1,000	0	5	5



Exp. No : 1838(115-009)

Dose level (mg/kg)

—□— 0
 —○— 100
 —△— 300
 —◇— 1,000

Figure 2. Body weight

Table 3. Body weight

Exp. No. 1838 (115-009)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 0	1	2	3	4
Male	0	144 ± 3	202 ± 8	256 ± 10	301 ± 9	343 ± 19N
	100	144 ± 4	201 ± 5	254 ± 10	297 ± 18	330 ± 20
	300	144 ± 6	203 ± 7	256 ± 7	295 ± 8	326 ± 8
	1,000	144 ± 4	202 ± 5	250 ± 6	285 ± 10**	327 ± 7
Female	0	119 ± 5	150 ± 9	174 ± 13	196 ± 21	213 ± 15
	100	119 ± 5	157 ± 4	180 ± 6	203 ± 5	223 ± 5
	300	119 ± 4	153 ± 9	172 ± 12	191 ± 19	208 ± 21
	1,000	119 ± 4	154 ± 7	176 ± 11	193 ± 14	214 ± 19

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 1838 (115-009)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Gain (0 → 4)
Male	0	199 ± 18N
	100	187 ± 23
	300	182 ± 5*
	1,000	183 ± 7*
Female	0	94 ± 16
	100	104 ± 6
	300	89 ± 18
	1,000	95 ± 18

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 3. -continued Body weight

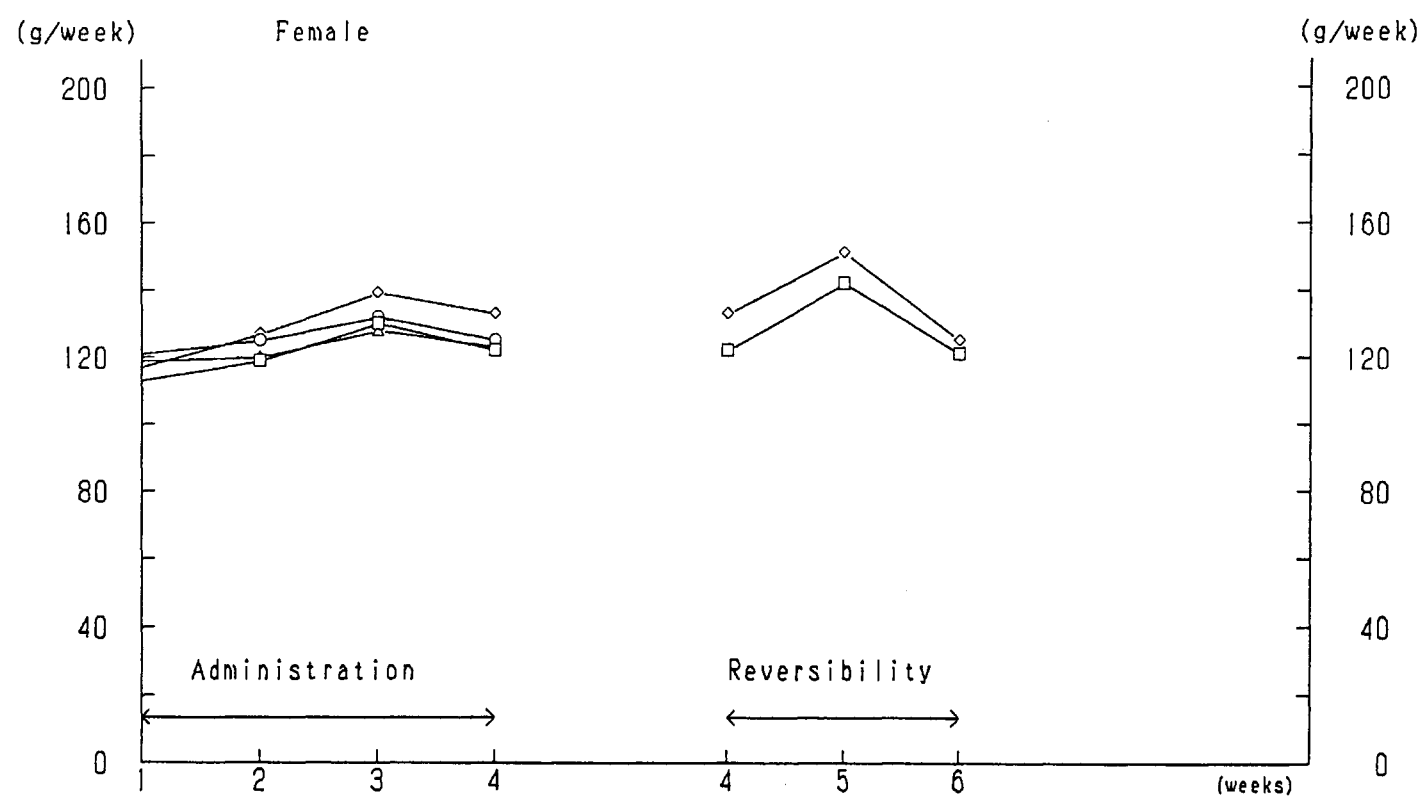
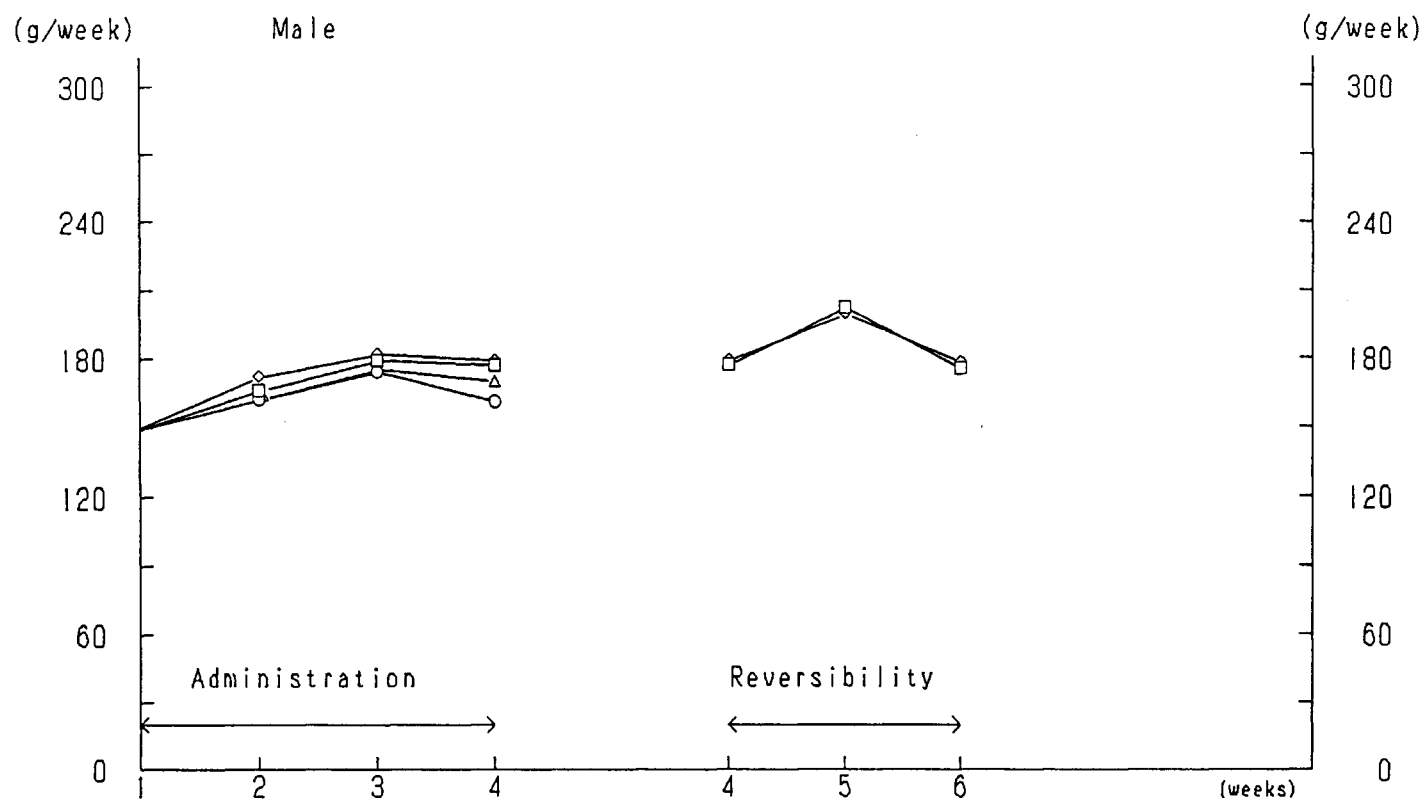
Exp. No. 1838 (115-009)

(unit : g)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Gain (4 → 6)
Male	0	387 ± 27	414 ± 25	64 ± 6
	1,000	360 ± 10	391 ± 18	66 ± 14
Female	0	234 ± 14	243 ± 13	25 ± 7
	1,000	223 ± 23	231 ± 25	24 ± 7

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$



Exp. No : 1838(115-009)

Dose level (mg/kg)

—□— 0
 —○— 100
 —△— 300
 —◇— 1,000

Figure 3. Food consumption

Table 4. Food consumption

Exp. No. 1838 (115-009)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 1	2	3	4	Total (0 → 4)
Male	0	149 ± 10	166 ± 11	179 ± 9	177 ± 16	670 ± 39
	100	149 ± 4	162 ± 8	174 ± 10	161 ± 9	646 ± 21
	300	149 ± 5	162 ± 5	175 ± 8	170 ± 17	657 ± 33
	1,000	150 ± 10	172 ± 10	182 ± 5	179 ± 16	684 ± 34
Female	0	113 ± 8	119 ± 11	130 ± 18	122 ± 13	485 ± 45
	100	121 ± 9	125 ± 8	132 ± 10	125 ± 4	503 ± 28
	300	119 ± 4	120 ± 9	128 ± 12	123 ± 9	491 ± 30
	1,000	117 ± 8	127 ± 8	139 ± 9	133 ± 10	517 ± 30

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 4. -continued Food consumption

Exp. No. 1838 (115-009)

(unit : g/week)

Sex	Dose level (mg/kg)	Weeks of experiment 5	6	Total (5 → 6)
Male	0	202 ± 16	175 ± 8	377 ± 21
	1,000	199 ± 11	178 ± 16	377 ± 23
Female	0	142 ± 11	121 ± 17	263 ± 27
	1,000	151 ± 10	125 ± 6	276 ± 15

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 5. Hematology

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	46.6 $\pm$ 0.7	14.3 $\pm$ 0.2	7.57 $\pm$ 0.29	61.6 $\pm$ 2.2	19.0 $\pm$ 0.7	30.8 $\pm$ 0.1N
	100	5	47.4 $\pm$ 1.1	14.3 $\pm$ 0.3	7.69 $\pm$ 0.19	61.6 $\pm$ 1.3	18.6 $\pm$ 0.4	30.2 $\pm$ 0.2
	300	5	47.6 $\pm$ 1.7	14.2 $\pm$ 0.5	7.68 $\pm$ 0.43	62.1 $\pm$ 2.0	18.5 $\pm$ 0.7	29.8 $\pm$ 0.6**
	1,000	5	48.1 $\pm$ 1.2	14.4 $\pm$ 0.3	7.89 $\pm$ 0.15	60.9 $\pm$ 1.6	18.2 $\pm$ 0.5	29.9 $\pm$ 0.2**
Female	0	5	46.2 $\pm$ 1.1	13.8 $\pm$ 0.5	7.42 $\pm$ 0.28	62.3 $\pm$ 1.3	18.6 $\pm$ 0.3	29.9 $\pm$ 0.4
	100	5	47.3 $\pm$ 2.7	13.9 $\pm$ 0.7	7.51 $\pm$ 0.29	63.0 $\pm$ 1.9	18.5 $\pm$ 0.5	29.4 $\pm$ 0.3
	300	5	46.6 $\pm$ 0.7	13.8 $\pm$ 0.3	7.44 $\pm$ 0.34	62.7 $\pm$ 2.5	18.5 $\pm$ 0.9	29.6 $\pm$ 0.5
	1,000	5	46.3 $\pm$ 1.2	13.7 $\pm$ 0.5	7.46 $\pm$ 0.21	62.1 $\pm$ 1.9	18.4 $\pm$ 0.6	29.6 $\pm$ 0.4

Mean $\pm$ S.D.Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 5. -continued Hematology

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential NEUT	leukocyte counts LYMPH	(%) MONO	EOSN	BASO	LUC
Male	0	5	1199 $\pm$ 63	12.3 $\pm$ 2.7	12 $\pm$ 3	84 $\pm$ 3	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	100	5	1221 $\pm$ 62	13.6 $\pm$ 1.8	12 $\pm$ 2	84 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	300	5	1180 $\pm$ 118	12.7 $\pm$ 3.4	9 $\pm$ 1	89 $\pm$ 2	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1
	1,000	5	1107 $\pm$ 48	12.2 $\pm$ 2.3	13 $\pm$ 3	84 $\pm$ 3	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Female	0	5	1190 $\pm$ 164	6.5 $\pm$ 2.1	11 $\pm$ 2N	86 $\pm$ 2N	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1
	100	5	1205 $\pm$ 110	6.3 $\pm$ 1.9	12 $\pm$ 3	86 $\pm$ 3	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	300	5	1117 $\pm$ 88	6.1 $\pm$ 1.3	13 $\pm$ 8	85 $\pm$ 10	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
	1,000	5	1110 $\pm$ 112	8.3 $\pm$ 2.4	10 $\pm$ 1	87 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1

LUC: Large unstained cells

Mean $\pm$ S.D.Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 5. -continued Hematology

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dl)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	5	46.7 $\pm$ 0.6	14.9 $\pm$ 0.1	8.08 $\pm$ 0.21	57.9 $\pm$ 0.9	18.5 $\pm$ 0.4	31.9 $\pm$ 0.3
	1,000	5	45.4 $\pm$ 1.2	14.4 $\pm$ 0.3**	7.87 $\pm$ 0.44	57.8 $\pm$ 2.3	18.3 $\pm$ 0.7	31.7 $\pm$ 0.2
Female	0	5	44.9 $\pm$ 1.3	14.3 $\pm$ 0.4	7.75 $\pm$ 0.32	57.9 $\pm$ 1.3	18.4 $\pm$ 0.6	31.7 $\pm$ 0.3
	1,000	5	43.8 $\pm$ 1.0	14.0 $\pm$ 0.2	7.42 $\pm$ 0.14	59.1 $\pm$ 1.4	18.9 $\pm$ 0.3	32.0 $\pm$ 0.9

Mean $\pm$ S.D.Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 5. -continued Hematology

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)			EOSN	BASO	LUC
					NEUT	LYMPH	MONO			
Male	0	5	1238 $\pm$ 60	12.4 $\pm$ 3.3	11 $\pm$ 4	85 $\pm$ 5	2 $\pm$ 2	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1,000	5	1093 $\pm$ 94**	14.5 $\pm$ 2.4	12 $\pm$ 4	85 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
Female	0	5	1196 $\pm$ 156	10.7 $\pm$ 2.4	8 $\pm$ 2	89 $\pm$ 2	1 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0
	1,000	5	1107 $\pm$ 75	6.9 $\pm$ 2.1*	12 $\pm$ 4	84 $\pm$ 5	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1

LUC: Large unstained cells

Mean $\pm$ S.D.Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6. Coagulation

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)
Male	0	5	14.8 ± 0.6	23.0 ± 1.4
	100	5	14.5 ± 0.4	21.8 ± 0.6
	300	5	14.5 ± 0.7	24.0 ± 1.8
	1,000	5	14.5 ± 0.4	22.6 ± 2.0
Female	0	5	16.0 ± 0.4	21.2 ± 2.1
	100	5	15.7 ± 0.5	21.1 ± 1.4
	300	5	15.5 ± 0.3	19.2 ± 1.2
	1,000	5	15.4 ± 0.4	18.9 ± 1.4

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 6. -continued Coagulation

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	PT (sec.)	APTT (sec.)
Male	0	5	15.4 ± 0.5	27.1 ± 2.3
	1,000	5	15.2 ± 0.6	26.9 ± 1.8
Female	0	5	15.5 ± 0.5	22.1 ± 1.4
	1,000	5	16.3 ± 0.5*	25.2 ± 4.2

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 7. Blood chemistry

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	T. cholesterol (mg/dl)	T. protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G
Male	0	5	12.4 ± 1.9	0.59 ± 0.03	49 ± 16	5.34 ± 0.13	2.98 ± 0.07	1.27 ± 0.08
	100	5	11.5 ± 1.9	0.56 ± 0.07	48 ± 5	5.24 ± 0.08	2.93 ± 0.07	1.27 ± 0.03
	300	5	13.1 ± 2.3	0.55 ± 0.10	44 ± 15	5.10 ± 0.21	2.83 ± 0.09*	1.25 ± 0.04
	1,000	5	11.3 ± 1.5	0.59 ± 0.06	47 ± 9	5.25 ± 0.06	2.94 ± 0.09	1.28 ± 0.08
Female	0	5	14.5 ± 2.9	0.60 ± 0.03	44 ± 10	5.55 ± 0.27	3.24 ± 0.20	1.40 ± 0.06
	100	5	16.0 ± 1.2	0.54 ± 0.11	52 ± 20	5.73 ± 0.24	3.32 ± 0.20	1.38 ± 0.10
	300	5	16.1 ± 3.7	0.63 ± 0.06	56 ± 14	5.43 ± 0.13	3.14 ± 0.05	1.37 ± 0.03
	1,000	5	14.3 ± 4.8	0.58 ± 0.06	61 ± 11	5.52 ± 0.26	3.22 ± 0.21	1.40 ± 0.09

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 7. -continued Blood chemistry

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	ALP (U/l)	Gamma-GTP (U/l)
Male	0	5	134 ± 19	56.4 ± 13.2	61 ± 6	13 ± 1	151 ± 23	0.0 ± 0.0N
	100	5	138 ± 14	51.3 ± 14.5	65 ± 2	12 ± 3	176 ± 48	0.1 ± 0.2
	300	5	146 ± 11	52.2 ± 24.7	57 ± 6	13 ± 3	154 ± 21	0.2 ± 0.3
	1,000	5	137 ± 11	36.3 ± 6.1	56 ± 7	15 ± 4	153 ± 22	0.2 ± 0.2
Female	0	5	112 ± 14	27.8 ± 5.3	56 ± 8	13 ± 1	102 ± 16	0.9 ± 0.5
	100	5	150 ± 30**	34.6 ± 15.9	54 ± 6	15 ± 4	105 ± 20	0.2 ± 0.2**
	300	5	133 ± 8	26.2 ± 5.1	55 ± 4	13 ± 3	91 ± 17	0.3 ± 0.3*
	1,000	5	120 ± 14	42.1 ± 13.1	51 ± 10	14 ± 6	112 ± 23	0.4 ± 0.3*

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 7. -continued Blood chemistry

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (m mol/l)	Potassium (m mol/l)	Chloride (m mol/l)	Calcium (mg/dl)	I. phosphate (mg/dl)
Male	0	5	141.3 $\pm$ 0.8	4.97 $\pm$ 0.23	106.6 $\pm$ 1.6	9.52 $\pm$ 0.14	8.09 $\pm$ 0.53
	100	5	141.1 $\pm$ 0.7	4.95 $\pm$ 0.29	106.4 $\pm$ 0.7	9.11 $\pm$ 0.12**	7.60 $\pm$ 0.34
	300	5	140.6 $\pm$ 1.3	4.89 $\pm$ 0.38	107.4 $\pm$ 1.0	9.17 $\pm$ 0.16**	7.72 $\pm$ 0.62
	1,000	5	139.7 $\pm$ 1.4	4.94 $\pm$ 0.34	105.4 $\pm$ 1.0	9.40 $\pm$ 0.14	7.58 $\pm$ 0.35
Female	0	5	142.2 $\pm$ 0.8	4.86 $\pm$ 0.13	108.8 $\pm$ 1.8	9.23 $\pm$ 0.08	6.29 $\pm$ 0.15
	100	5	141.7 $\pm$ 0.5	4.54 $\pm$ 0.21	109.1 $\pm$ 2.0	9.56 $\pm$ 0.21**	6.37 $\pm$ 0.26
	300	5	141.4 $\pm$ 1.4	4.64 $\pm$ 0.28	109.8 $\pm$ 1.5	9.51 $\pm$ 0.14*	6.05 $\pm$ 0.49
	1,000	5	140.8 $\pm$ 1.2	4.53 $\pm$ 0.30	106.8 $\pm$ 1.2	9.66 $\pm$ 0.19**	6.27 $\pm$ 0.28

Mean $\pm$ S.D.Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 7. -continued Blood chemistry

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	T.cholesterol (mg/dl)	T.protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G
Male	0	5	11.2 ± 2.2	0.58 ± 0.03	51 ± 21	5.65 ± 0.21	3.02 ± 0.08	1.15 ± 0.04
	1,000	5	13.0 ± 1.9	0.63 ± 0.02**	43 ± 8	5.33 ± 0.09**	2.86 ± 0.09**	1.16 ± 0.07
Female	0	5	13.7 ± 0.9	0.65 ± 0.05	64 ± 13	5.84 ± 0.17	3.38 ± 0.22N	1.37 ± 0.12
	1,000	5	15.2 ± 1.5	0.63 ± 0.03	56 ± 7	5.69 ± 0.09	3.27 ± 0.04	1.36 ± 0.06

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 7. -continued Blood chemistry

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Glucose (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	GOT (U/l)	GPT (U/l)	ALP (U/l)	Gamma-GTP (U/l)
Male	0	5	146 ± 19	48.2 ± 17.2	45 ± 7	17 ± 4	126 ± 24	0.0 ± 0.0
	1,000	5	151 ± 21	45.0 ± 14.7	42 ± 7	18 ± 5	141 ± 30	0.1 ± 0.1
Female	0	5	131 ± 21	42.5 ± 12.0N	48 ± 8	15 ± 5	72 ± 17	0.3 ± 0.4
	1,000	5	125 ± 9	34.8 ± 3.7	46 ± 4	13 ± 3	85 ± 30	0.3 ± 0.4

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 7. -continued Blood chemistry

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Sodium (m mol/l)	Potassium (m mol/l)	Chloride (m mol/l)	Calcium (mg/dl)	I. phosphate (mg/dl)
Male	0	5	142.2 ± 1.5	4.94 ± 0.35	106.8 ± 1.7	9.52 ± 0.29	7.35 ± 0.58
	1,000	5	142.4 ± 0.7	4.49 ± 0.24*	107.7 ± 1.5	9.47 ± 0.14	6.73 ± 0.32
Female	0	5	141.6 ± 0.8	4.46 ± 0.18	108.2 ± 2.1	9.45 ± 0.17	6.02 ± 0.38
	1,000	5	142.3 ± 1.5	4.47 ± 0.30	109.6 ± 1.8	9.37 ± 0.17	5.36 ± 0.63

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 8. Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	8 ± 2	1.053 ± 0.013
	100	5	8 ± 2	1.061 ± 0.016
	300	5	7 ± 2	1.070 ± 0.017
	1,000	5	6 ± 1	1.067 ± 0.006
Female	0	5	5 ± 2	1.065 ± 0.015
	100	5	5 ± 2	1.070 ± 0.025
	300	5	5 ± 1	1.077 ± 0.011
	1,000	5	6 ± 2	1.069 ± 0.017

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 8. -continued Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											Turbidity		pH												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Clear	Muddy	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9				
Male	0	5	5												5		4				1							
	100	5	4	1											5		1		4									
	300	5	4	1											5		1	1	2	1								
	1,000	5	4	1											5		2	3										
Female	0	5	5												5		1				4							
	100	5	4	1											5		1	2	1	1								
	300	5	4	1											5		3	2										
	1,000	5	4	1											5		4	1										

Color : 1= Colorless, 2= Slight yellow, 3= Yellow-brown, 4= Red, 5= Red-brown, 6= Dark red, 7= Dark brown,
8= Brown-black 9= Milky white, 10= Fluorescent green, 11= Blue.

Table 8. -continued Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Occult Blood					Ketones						Glucose (g/dl)				
			-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0
Male	0	5	5					1	4					5				
	100	5	5					3	2					5				
	300	5	5					1	3	1				5				
	1,000	5	5					2	3					5				
Female	0	5	4	1				3	2					5				
	100	5	5					4	1					5				
	300	5	5					3	2					5				
	1,000	5	5					4	1					5				

Table 8. -continued Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Protein (mg/dl)					Bilirubin				Urobilinogen (E. U. /dl)						
			-	+/-	30	100	≥300	-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12	
Male	0	5			4	1		1	4			5						
	100	5			4	1		3	2			2	3					
	300	5			2	2	1		5				5					
	1,000	5			1	4			5				2	3				
Female	0	5			3	2		2	3			5						
	100	5			4	1		2	3			2	3					
	300	5			5				5				5					
	1,000	5			1	4		1	4				1	1	3			

Table 8. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes - 1+ 2+ 3+	Leukocytes - 1+ 2+ 3+	Epith. Cells - 1+ 2+ 3+	Casts - 1+ 2+ 3+	Fat glob. - +	M. threads - +
Male	0	5	5	5	5	5	5	5
	100	5	5	3 2	5	5	5	5
	300	5	5	3 2	5	5	5	5
	1,000	5	5	4 1	5	5	5	5
Female	0	5	5	5	5	5	5	5
	100	5	5	3 1 1	5	5	5	5
	300	5	5	1 3 1	5	5	5	5
	1,000	5	5	3 2	4 1	5	5	5

Table 8. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	others	
			-	+
Male	0	5		5
	100	5		5
	300	5		5
	1,000	5		5
Female	0	5		5
	100	5		5
	300	5	1	4
	1,000	5		5

Table 8. -continued Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Volume (ml)	Specific Gravity
Male	0	5	8 ± 1N	1.062 ± 0.004N
	1,000	5	7 ± 2	1.072 ± 0.018
Female	0	5	6 ± 2	1.068 ± 0.021
	1,000	5	3 ± 1	1.101 ± 0.014**

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 8. -continued Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Color											Turbidity		pH										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Clear	Muddy	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	≥9		
Male	0	5	5											5		5										
	1,000	5	5											5		2 3										
Female	0	5	5											5		1 3 1										
	1,000	5	5											5		5										

Color : 1= Colorless, 2= Slight yellow, 3= Yellow-brown, 4= Red, 5= Red-brown, 6= Dark red, 7= Dark brown,
8= Brown-black 9= Milky white, 10= Fluorescent green, 11= Blue.

Table 8. -continued Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Occult Blood					Ketones					Glucose (g/dl)					
			-	+/-	1+	2+	3+	-	+/-	1+	2+	3+	4+	-	0.1	0.25	0.5	≥1.0
Male	0	5	5							5				5				
	1,000	5	5					1	2	2				5				
Female	0	5	4	1				3	2					5				
	1,000	5	5					3	2					5				

Table 8. -continued Urinalysis

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Protein(mg/dl)					Bilirubin				Urobilinogen (E. U. /dl)						
			-	+/-	30	100	≥300	-	1+	2+	3+	0.1	1.0	2.0	4.0	8.0	≥12	
Male	0	5			2	3		1	4							5		
	1,000	5			2	2	1		5							5		
Female	0	5		1	1	3		2	3							5		
	1,000	5				3	2		5							5		

Table 8. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes			Leukocytes			Epith. Cells			Casts			Fat glob.		M. threads	
			-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	1+	2+	3+	-	+	-	+
Male	0	5	5				3	2			5				5		5	
	1,000	5	5				3	2			5				5		5	
Female	0	5	5				4	1			5				5		5	
	1,000	5	5				5				5				5		5	

Table 8. -continued Urinalysis : Microscopic examination of sediment

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	others	
			-	+
Male	0	5		5
	1,000	5		5
Female	0	5	1	4
	1,000	5		5

Table 9. Organ weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body Weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	336 ± 17	2.01 ± 0.07	9.58 ± 0.77	2.56 ± 0.11	0.54 ± 0.10
	100	5	330 ± 20	2.03 ± 0.06	9.61 ± 0.60	2.50 ± 0.17	0.58 ± 0.08
	300	5	326 ± 8	2.06 ± 0.10	9.61 ± 0.54	2.65 ± 0.15	0.57 ± 0.08
	1,000	5	329 ± 7	2.03 ± 0.08	9.12 ± 0.64	2.62 ± 0.24	0.56 ± 0.10
Female	0	5	207 ± 14	1.88 ± 0.08	5.89 ± 0.57	1.69 ± 0.13	0.41 ± 0.09
	100	5	223 ± 5	1.90 ± 0.06	6.76 ± 0.62	1.80 ± 0.11	0.39 ± 0.06
	300	5	208 ± 21	1.88 ± 0.06	6.22 ± 0.48	1.70 ± 0.09	0.39 ± 0.03
	1,000	5	220 ± 15	1.92 ± 0.03	6.56 ± 0.64	1.91 ± 0.17	0.44 ± 0.04

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 9. -continued Organ weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)
Male	0	5	51 ± 3	2.82 ± 0.20	
	100	5	54 ± 6	2.92 ± 0.05	
	300	5	51 ± 4	2.91 ± 0.15	
	1,000	5	47 ± 8	2.85 ± 0.20	
Female	0	5	66 ± 4		78 ± 5
	100	5	70 ± 7		88 ± 11
	300	5	68 ± 3		85 ± 11
	1,000	5	63 ± 9		86 ± 10

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 9. -continued Organ weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body Weight (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidneys (g)	Spleen (g)
Male	0	5	414 ± 25	2.14 ± 0.06	11.78 ± 1.36	3.00 ± 0.35	0.75 ± 0.12
	1,000	5	391 ± 18	2.11 ± 0.06	10.29 ± 1.34	2.74 ± 0.19	0.66 ± 0.10
Female	0	5	243 ± 13	1.96 ± 0.05	6.72 ± 0.57	1.80 ± 0.10	0.50 ± 0.07
	1,000	5	231 ± 25	1.90 ± 0.07	6.07 ± 0.43	1.82 ± 0.16	0.43 ± 0.08

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 9. -continued Organ weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (mg)	Testes (g)	Ovaries (mg)
Male	0	5	52 ± 6N	2.92 ± 0.22	
	1,000	5	57 ± 1	3.01 ± 0.25	
Female	0	5	64 ± 3		85 ± 5
	1,000	5	63 ± 7		84 ± 12

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 10. Organ weight per body weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body Weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	336 ± 17	0.600 ± 0.029	2.851 ± 0.174	0.762 ± 0.045	0.160 ± 0.024
	100	5	330 ± 20	0.618 ± 0.047	2.909 ± 0.051	0.757 ± 0.032	0.176 ± 0.016
	300	5	326 ± 8	0.631 ± 0.036	2.947 ± 0.166	0.812 ± 0.052	0.174 ± 0.021
	1,000	5	329 ± 7	0.617 ± 0.021	2.771 ± 0.211	0.796 ± 0.071	0.169 ± 0.030
Female	0	5	207 ± 14	0.908 ± 0.068	2.841 ± 0.188	0.817 ± 0.068	0.197 ± 0.039
	100	5	223 ± 5	0.851 ± 0.041	3.025 ± 0.253	0.805 ± 0.059	0.176 ± 0.024
	300	5	208 ± 21	0.913 ± 0.081	3.001 ± 0.197	0.823 ± 0.052	0.191 ± 0.030
	1,000	5	220 ± 15	0.873 ± 0.049	2.971 ± 0.103	0.866 ± 0.030	0.202 ± 0.031

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 10. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 4

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)
Male	0	5	0.015 ± 0.001	0.841 ± 0.080	
	100	5	0.016 ± 0.002	0.887 ± 0.072	
	300	5	0.016 ± 0.001	0.891 ± 0.052	
	1,000	5	0.014 ± 0.002	0.864 ± 0.052	
Female	0	5	0.032 ± 0.001		0.038 ± 0.005
	100	5	0.031 ± 0.004		0.039 ± 0.005
	300	5	0.033 ± 0.003		0.041 ± 0.005
	1,000	5	0.029 ± 0.002		0.039 ± 0.002

Mean ± S. D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 10. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Body Weight (g)	Brain (%)	Liver (%)	Kidneys (%)	Spleen (%)
Male	0	5	414 ± 25	0.519 ± 0.031	2.841 ± 0.180	0.723 ± 0.052	0.180 ± 0.019
	1,000	5	391 ± 18	0.541 ± 0.028	2.625 ± 0.237	0.700 ± 0.025	0.168 ± 0.017
Female	0	5	243 ± 13	0.808 ± 0.029N	2.762 ± 0.185	0.741 ± 0.025	0.204 ± 0.025
	1,000	5	231 ± 25	0.831 ± 0.094	2.636 ± 0.168	0.789 ± 0.050	0.187 ± 0.030

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 10. -continued Organ weight per body weight

Exp. No. 1838 (115-009)

Week: 6

Sex	Dose level (mg/kg)	No. of animals	Adrenals (%)	Testes (%)	Ovaries (%)
Male	0	5	0.012 ± 0.001	0.707 ± 0.056	
	1,000	5	0.015 ± 0.001**	0.772 ± 0.079	
Female	0	5	0.027 ± 0.002		0.035 ± 0.002
	1,000	5	0.028 ± 0.003		0.036 ± 0.002

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

Table 11. Summary of gross findings (sacrificed at 4 Week)

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)		0	100	300	1,000
No. of animals necropsied		5	5	5	5
Organ	Findings				
RESPIRATORY SYSTEM					
lung	red patch/zone	0	0	0	1

Table 11. -continued Summary of gross findings (sacrificed at 4 Week)

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	5	5	5
Organ Findings				
RESPIRATORY SYSTEM				
lung edema	0	1	0	0
URINARY SYSTEM				
kidney scarred	0	0	1	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
ovary cyst	0	0	0	1

Table 11. -continued Summary of gross findings (sacrificed at 6 Week)

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals necropsied	5	0	0	5
Organ Findings				
HEMATOPOIETIC SYSTEM				
spleen nodule	1	-	-	0
RESPIRATORY SYSTEM				
lung nodule	1	-	-	0
REPRODUCTIVE SYSTEM				
uterus dilated lumen	1	-	-	1

Table 12. Summary of histological findings (sacrificed at 4 Week)

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Male

Dose level (mg/kg)	0			100			300			1,000		
No. of animals initially in study	5			5			5			5		
No. of animals necropsied	5			5			5			5		
No. of animals examined histologically	5			0			0			5		
Organ Findings	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
CARDIOVASCULAR SYSTEM												
heart	(5)			(0)			(0)			(5)		
degeneration		0	0		-	-		-	-		1	0
infiltration/cellular		0	0		-	-		-	-		1	0
DIGESTIVE SYSTEM												
liver	(5)			(0)			(0)			(5)		
cytological alteration		1	0		-	-		-	-		0	0
fatty change		5	0		-	-		-	-		3	0
single cell necrosis		1	0		-	-		-	-		0	0
granulation		4	0		-	-		-	-		4	0
infiltration/cellular		1	0		-	-		-	-		0	0
extramedullary hematopoiesis		2	0		-	-		-	-		0	0
URINARY SYSTEM												
kidney	(5)			(0)			(0)			(5)		
basophilic change		3	0		-	-		-	-		4	0
deposit of calcium		1	0		-	-		-	-		1	0
eosinophilic body		0	0		-	-		-	-		2	0
vacuolic change		1	0		-	-		-	-		0	0
fibrosis		0	0		-	-		-	-		1	0
ENDOCRINE SYSTEM												
adrenal gland	(5)			(0)			(0)			(5)		
vacuolic change		5	0		-	-		-	-		5	0

1: slight 2: moderate 3: marked

(): No. of animals examined microscopically at this site.

Table 12. -continued Summary of histological findings (sacrificed at 4 Week)

Exp. No. 1838 (115-009)

Sex: Female

Dose level (mg/kg)	0	100	300	1,000
No. of animals initially in study	5	5	5	5
No. of animals necropsied	5	5	5	5
No. of animals examined histologically	5	0	0	5
Organ Findings	1 2 3	1 2 3	1 2 3	1 2 3
CARDIOVASCULAR SYSTEM				
heart	(5)	(0)	(0)	(5)
infiltration/cellular	0 0 0	- - -	- - -	1 0 0
DIGESTIVE SYSTEM				
liver	(5)	(0)	(0)	(5)
eosinophilic body	1 0 0	- - -	- - -	0 0 0
fatty change	3 0 0	- - -	- - -	4 0 0
granulation	5 0 0	- - -	- - -	4 0 0
URINARY SYSTEM				
kidney	(5)	(0)	(0)	(5)
basophilic change	3 0 0	- - -	- - -	3 0 0
deposit of calcium	2 0 0	- - -	- - -	1 0 0

1: slight 2: moderate 3: marked

(): No. of animals examined microscopically at this site.