

最 終 報 告 書

N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド
のラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 95-046)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目次

要約	1
緒言	2
試験目的	2
試験材料および方法	
1. 被験物質	2
2. 供試動物および飼育条件	3
3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法	3
4. 観察および検査	
1) 一般状態観察	4
2) 体重および摂餌量測定	4
3) 尿検査	4
4) 血液学検査	5
5) 血液生化学検査	6
6) 病理学検査	
(1) 剖検および器官重量測定	7
(2) 病理組織学検査	7
5. 統計処理	7
試験結果	
1. 死亡および一般状態	8
2. 体重	8
3. 摂餌量	8
4. 尿所見	9
5. 血液学所見	9
6. 血液生化学所見	9
7. 剖検所見	9
8. 器官重量	10
9. 病理組織学所見	10

考察および結論	1 0
参考文献	1 2

添付資料

A. 図・群別平均値表

Figure	1	体重	1
Tables	1, 2	一般状態および死亡率	2
Tables	3, 4	体重	4
Tables	5, 6	摂餌量	6
Tables	7 ~ 10	尿所見	8
Tables	11 ~ 14	血液学所見	12
Tables	15 ~ 18	血液生化学所見	16
Tables	19, 20	剖検所見	20
Tables	21 ~ 24	器官重量	22
Tables	25, 26	病理組織学所見	26

要約

ゴムの加硫促進剤などに用いられている高生産量既存化学物質 N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドについて、28日間反復経口投与毒性試験をSD系[Crj:CD(SD)] ラットを用い、0（対照）、25、80、250および800mg/kg/day用量の投与により実施した。動物数は1群雌雄各6匹とし、7群を設け、5群は投与期間終了時に屠殺した。2群は0および800mg/kgの14日間回復群とした。

一般状態では、立毛および被毛の汚れが800mg/kg群の雌に認められた。体重増加の抑制および摂餌量の減少が、250mg/kg群の雌および800mg/kg群の雌雄に認められた。尿検査では、ケトン体の増加が250および800mg/kg群の雄に認められた。血液学検査では、プロトンビン時間の短縮が250および800mg/kg群の雄に、ヘマトクリット値、網状赤血球数および血小板数の減少が800mg/kg群の雌に認められた。血液生化学検査では、総タンパクの減少が250および800mg/kg群の雄、塩素の減少が800mg/kg群の雌雄、カルシウムの増加、ナトリウムの減少が800mg/kg群の雌に認められた。剖検では、盲腸の膨満が800mg/kg群の雌に認められた。病理組織学検査では、腎臓の近位尿細管上皮における硝子滴の増加が250および800mg/kg群の雄に認められ、800mg/kg群の雌雄の腎臓相対重量は増加した。

回復群においては、雄の腎臓の病理組織学的変化は回復傾向を示し、その他の変化はいずれも回復した。

以上の結果から、N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドのラットへの28日間反復経口投与により、主に腎臓に対し毒性影響が認められた。無影響量は、雌雄とも80mg/kg/dayと推定された。

緒言

N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドは、主にゴムの加硫促進剤として用いられている化学物質である。この物質の毒性について、ラットにおける急性経口LD₅₀値は5300mg/kgと報告¹⁾されている。Emaら²⁾による催奇形性試験の報告では、ラットに妊娠0日から20日まで0.001、0.01、0.1および0.5%濃度で混餌投与した結果、親動物において0.1および0.5%群で体重増加の抑制が、0.5%群で摂餌量の減少が認められている。胎児については、体重および胎盤重量の減少が0.5%群で認められているが、着床数や胎児数の変化および形態的な異常は認められていない。Innesら³⁾が行ったマウスを用いた18カ月間の催腫瘍性試験では、最高692ppmの混餌投与で腫瘍の増加は認められていない。ヒトに対しては、アレルギー性接触皮膚炎の原因物質となりうることが報告⁴⁾されている。しかしながら、N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドの反復投与による一般毒性学的影響については、明らかにされていない。この試験は、OECDにおける高生産量既存化学物質の安全性点検事業の一環として実施した。

試験目的

N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドをラットに28日間反復経口投与し、本物質の生体に対する一般毒性学的影響について検討する。

試験材料および方法

1. 被験物質 (Appendices 1~4)

被験物質N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド (CAS No. 95-33-0) は、分子量264.41、融点99.3℃の灰白色の粒状で、アセトン、クロロホルム、ベンゼン、トルエンに易溶、水に難溶である。試験には、

のもの (ロット番号 純度98.8%) を入手し、冷暗 (4℃) 条件下で密栓保管し、使用した。本物質の詳細は、Appendix 1に示した。用いた被験物質を投与終了後に分析し、使用期間中安定であったことを確認した (Appendix 2)。メルカプトベンゾチアゾール系化合物は、溶媒中においては不安定であることが知られており、N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドについても、pH6.5のリン酸緩衝液中で徐々に酸化され、ジベンゾチアジルスルフィドに変化することが報告されている⁵⁾。そこで、比較的酸化されにくい溶媒と考えられるゴマ油を用いた0.2%溶液および20%懸濁液について、冷所 (4℃) 遮光下での7日間の安定性試験を行ったところ、

安定であることが確認された (Appendix 3)。また、調製直後に3ヶ所から試料を採取して均一性を調べたところ、均一であった (Appendix 3)。したがって、投与液は、溶媒として局方ゴマ油 (宮澤薬品株式会社、ロット番号A113およびCK15) を用い、所定の投与用量になるような濃度の溶液あるいは懸濁液として調製した。投与液の使用期間は7日間とし、5回にわたって調製した。調製した投与液は1日の使用量ごとに小分けし、使用時まで冷所 (4℃) 遮光下で密栓保存した。1回目と5回目に調製した投与液については分析し、所定濃度で調製されていることを確認した (Appendix 4)。被験物質の分析のうち、原体の分析は に委託して実施した。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendices 5～7)

4週齢のSD系 [Crj:CD (SD)] SPFラットを日本チャールス・リバー株式会社 (茨城県新治郡八郷町大字上林955) から搬入 (雌雄各52匹) し、雄は6日、雌は7日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各42匹を、5週齢で試験に供した。投与開始時の平均体重 (体重範囲) は、雄159 (149～167) g、雌139 (131～148) gであった。

ラットは、温度 22 ± 3 ℃、湿度 $55 \pm 10\%$ (温度・湿度の測定結果: Appendix 5)、換気回数10回以上/時 (オールフレッシュエアー方式)、照明12時間 (午前6時～午後6時) に設定したバリアーシステム動物室 (9室) で、個体別にステンレス製金網ケージ [276W×426D×200H (mm)] に収容し、これをステンレス製5段のラックに配して飼育した。飼料 (日本農産工業株式会社、固型飼料ラボMRストック、ロット番号 95.09.63、95.09.78、95.11.57、汚染物質の分析結果: Appendix 6) および水 (1μmカートリッジフィルター濾過後紫外線照射した殺菌水道水、汚染物質の分析結果: Appendix 7) は、それぞれ給餌器および自動給水装置により自由摂取させた。動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札貼付と耳パンチ法により行った。

動物室の温度・湿度測定結果、飼料・水の汚染物質分析結果などから、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと考えられる環境要因の変化は、なかったものと判断された。

3. 投与量の設定 (添付資料C)、試験群の構成および投与方法

投与量設定試験は、ラットを1群雌雄各4匹とし、0、50、100、250、500および1000mg/kg/day用量の14日間反復経口投与により実施した。250mg/kg以上の群で血清GPT、塩素および胸腺重量の減少、

500mg/kg以上の群で体重増加の抑制、尿のアルカリ化傾向、血小板数および心臓重量の減少、1000mg/kg群で脱毛例の発現、摂餌量の減少、プロトロンビン時間の短縮、総ビリルビン、アルブミンおよび脾臓重量の減少、総コレステロールの増加が雌雄あるいはそのいずれかに認められた。

以上の結果から、本試験における投与量は、28日間の反復投与により確実に毒性影響の発現が予測される800mg/kg/dayを最高用量とし、以下250、80および25mg/kg/dayの4用量を設定した。

試験群の構成は、(1) 溶媒投与群(以下、対照群)、(2) N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド25mg/kg/day投与群(25mg/kg群)、(3) 同 80mg/kg/day投与群(80mg/kg群)、(4) 同 250mg/kg/day投与群(250mg/kg群)、(5) 同 800mg/kg/day投与群(800mg/kg群)の5群とし、1群雌雄各6匹を供した。ただし、対照群および800mg/kg群については、投与期間終了後14日間の回復試験を行うため、別に1群雌雄各6匹から成る回復群を設けた。各群への動物の割り付けは、投与開始日の体重に基づく層化無作為抽出法を用いて行った。

投与方法は、投与液量を体重1kg当たり5mlとし、テフロン製胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、被験物質の0.5w/v%溶液(25 mg/kg群)、1.6w/v%溶液(80 mg/kg群)、5w/v%懸濁液(250 mg/kg群)あるいは16w/v%懸濁液(800 mg/kg群)を、1日1回(午前中)、28日間にわたって経口投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重に基づいて算出した。対照群には、溶媒として用いた局方ゴマ油を同様に投与した。

4. 観察および検査

観察期間は投与期間の28日間および回復群ではさらにそれに続く回復期間の14日間とし、次の観察および検査を実施した。

1) 一般状態観察

毎日、動物の生死、外観、行動等を観察した。

2) 体重および摂餌量測定

体重は、投与1日(投与初日の投与直前)、3日およびその後は週2回、3あるいは4日ごと、ならびに屠殺日に測定した。摂餌量は、毎週1回(雄は投与6、13、20、27日および投与終了後6、13日、雌は投与5、12、19、26日および投与終了後5、12日)、翌日までの24時間飼料消費量を測定した。測定は、電子上皿天秤(PL3000: メトラー社)を用いて行った。

3) 尿検査

雄は投与22日および投与終了後13日、雌は投与22日および投与終了後12日に、腰部を刺激して排尿させ、外観の観察およびpH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン(以上、試験紙法: マイルス・三共株式会社、マルティスティックス®)を検査した。

4) 血液学検査

供試血液の採取は、投与期間および回復期間終了翌日における屠殺剖検時に行った。動物は前日の午後5時より除餌し、水のみを給与した。採血は、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より行い、以下の項目を検査した。なお、採取した血液は3分割し、その一部は3.8%クエン酸ナトリウム溶液で凝固阻止処理して血漿を得、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の測定に、一部は、EDTA-2K処理してその他の血液学検査に供した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
①赤血球数 (RBC)	電気抵抗検出方式	多項目自動血球計数 装置 [E-4000 : 東亜 医用電子(株)]
②血色素量 (Hb)	ラウリル硫酸ナトリウム- ヘモグロビン法	
③ヘマトクリット値 (Ht)	パルス検出方式	
④平均赤血球容積 (MCV)	計算値	
⑤平均赤血球血色素量 (MCH)	計算値	
⑥平均赤血球血色素濃度 (MCHC)	計算値	
⑦白血球数 (WBC)	電気抵抗検出方式	
⑧血小板数 (Plat.)	電気抵抗検出方式	
⑨網状赤血球数 (Ret.)	Brilliant cresyl blue 染色した塗抹標本の鏡検	
⑩白血球百分率	May-Grünwald-Giemsa	
好塩基球 (Baso.)	染色した塗抹標本の鏡検	血液凝固自動測定 装置 (KC-10A : 米アメルング社)
好酸球 (Eosin.)		
好中球 (Neutro.)		
桿状核 (Stab.)		
分節核 (Seg.)		
リンパ球 (Lymph.)		
単球 (Mono.)		
⑪プロトロンビン時間 (PT)	Quick一段法	
⑫活性化部分トロンボ プラスチン時間 (APTT)	エラジン酸活性化法	

5) 血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
① 総タンパク (T.P.)	Biuret法	生化学自動分析 装置 [JCA-VX- 1000型クリナ ライザー：日本 電子(株)]
② アルブミン (Alb.)	BCG法	
③ A/G比 (A/G)	計算値	
④ 血糖 (Glu.)	酵素法 (GK ¹⁾ -G6PDH ²⁾ -UV系)	
⑤ トリグリセライド (T.G.)	酵素法 (LPL ³⁾ -GPO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
⑥ 総コレステロール (T-Cho.)	酵素法 (CES ⁶⁾ -COD ⁷⁾ -POD系)	
⑦ 総ビリルビン (T-Bil.)	Jendrassik法	
⑧ 尿素窒素 (BUN)	Urease-UV法	
⑨ クレアチニン (Crea.)	Jaffé 法	
⑩ GOT (GOT)	SSCC ⁸⁾ 法	
⑪ GPT (GPT)	SSCC 法	
⑫ γ -GTP (γ -GTP)	SSCC 法	
⑬ ALP (ALP)	GSCC ⁹⁾ 法	
⑭ カルシウム (Ca)	OCPC 法	
⑮ 無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹⁰⁾ -XOD ¹¹⁾ -POD系)	
⑯ ナトリウム (Na)	イオン電極法	電解質自動分析 装置 [NAKL-1： 東亜電波工業(株)]
⑰ カリウム (K)	イオン電極法	
⑱ 塩素 (Cl)	イオン電極法	

1) グルコキナーゼ、2) グルコース-6リン酸脱水素酵素、3) リボプロテインリパーゼ、
 4) グリセロリン酸酸化酵素、5) ペルオキシダーゼ、6) コレステロールエステラーゼ、
 7) コレステロールオキシダーゼ、8) スカンジナビア臨床化学会、9) ドイツ臨床化学会、
 10) プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、11) キサンチンオキシダーゼ

6) 病理学検査

(1) 剖検および器官重量測定

所定の投与期間あるいは回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し、剖検を行った。また、電子上皿天秤(AT200:メトラ社)を用いて、脳、下垂体、甲状腺、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣を秤量(絶対重量)し、対体重比(相対重量)を算出した。腎臓、副腎、精巣、精巣上体、卵巣は左右を一括して、下垂体、甲状腺は固定後に秤量した。

(2) 病理組織学検査

次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

脳、下垂体、眼球、ハート腺、甲状腺(上皮小体を含む)、唾液腺、胸腺、気管、肺(気管支を含む)、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、膵臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精、卵巣、子宮、膣、大動脈(胸部)、脊髄(頸膨大部、腰膨大部)、坐骨神経、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部リンパ節、腸間膜リンパ節)、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚(背部)、乳腺(腹部)

病理組織学検査は、対照群および800mg/kg群については、脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胃、小腸(十二指腸・空腸・回腸)、大腸(盲腸・結腸・直腸)、膵臓、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、卵巣、膀胱、リンパ節、骨髓を検査した。25、80、250mg/kgおよび回復群については、800mg/kg群で被験物質の投与による変化が認められた雄の腎臓を検査した。さらに、剖検で、800mg/kgの回復群に精巣の萎縮例が認められたため回復群の精巣および精巣上体も検査した。その他の肉眼的変化を示した器官については、当該個体についてのみ検査した。検査は、常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。また、沈着物を同定するため、雄の一部の例の腎臓についてはPAS染色を行った。組織標本は、株式会社 組織科学研究所(東京都青梅市黒沢二丁目984番1号)に委託して作製した。

5. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との間の有意差(危険率5%以下)を次の方法で検定した。3群以上の場合、定量的所見についてはBartlettの分散検定を行い、分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行った。分散が一樣でない場合、白血球百分率および尿検査における定性的所見はKruskal-Wallisの順位検定を行った。それらの結果有意差を認めた場合、

Dunnettの方法により対照群に対する各群の比較検定を行った。また、剖検および病理組織学所見については、 χ^2 検定を用いた。一方、2群の場合、定量的所見についてはF検定を行い、その結果分散が一樣な場合はStudentのt検定を、一樣でない場合はAspin-Welchのt検定を行った。また、白血球百分率および尿検査における定性的所見についてはMann-WhitneyのU検定を、剖検および病理組織学所見についてはFisherの直接確率法を用いた。なお、剖検および病理組織学所見で、変化が対照群にも認められ、被験物質の影響が変化の程度の分布の差として現れる所見については、データを適宜併合して2つのカテゴリーとし、検定した。

試験結果

1. 死亡および一般状態(Tables 1, 2, Appendices 8, 9)

死亡は認められなかった。一般状態については、800mg/kg群の雌の半数に立毛および下腹部等に被毛の汚れが認められた。立毛は800mg/kg群の雄にも認められたが、1匹のみの発現であった。また、自発運動の低下が800mg/kg群の雌の1匹に認められた。250mg/kg以下の群では、被験物質の投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。投与とは無関係と考えられる変化として、25mg/kg群の雄の1匹で投与23日以降に赤色尿の排泄、自発運動低下、胸腹部被毛の尿による汚染が、また800mg/kg群の雌で皮膚の痂皮形成が1匹に、舌の創傷が1匹に認められた。回復期間においては、800mg/kgの回復群の雌で投与終了翌日まで立毛が2匹、被毛の汚れが1匹に残存していたが、その後はいずれの個体にも異常は認められなかった。

2. 体重(Figure 1, Tables 3, 4, Appendices 10, 11)

800mg/kg群の雌雄で、投与期間を通じての有意な体重増加の抑制が認められ、投与期間中の体重増加量は雄で対照群の78%、雌で65%の値であった。250mg/kg群では、雌において、体重には有意差は認められなかったが体重増加量は対照群の80%の値で、有意に減少した。回復期間においては、800mg/kg群の体重は回復傾向を示し、雄で投与終了後7日以降、雌で14日に対照群と比べ有意差は認められなくなった。

3. 摂餌量(Tables 5, 6, Appendices 12, 13)

800mg/kg群の雌雄および250mg/kg群の雌の摂餌量は、対照群に比べて少ない傾向にあり、統計学的には800mg/kg群で雌雄の投与1週および4週、250mg/kg群で雌の2週に有意差が認められた。回

復期間においては、800mg/kg群の雌雄の摂餌量は対照群を上回る傾向にあったが、有意な変化ではなかった。

4. 尿所見 (Tables 7~10, Appendices 14~17)

250および800mg/kg群の雄で、ケトン体の有意な増加が認められた。回復期間中の検査では、800mg/kgの回復群において、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

5. 血液学所見 (Tables 11~14, Appendices 18~21, 背景データ : Appendices 38, 39)

250および800mg/kg群の雄でプロトロンビン時間の有意な短縮が、800mg/kg群の雌でヘマトクリット値、網状赤血球数および血小板数の有意な減少が認められた。800mg/kgの回復群においては、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

6. 血液生化学所見 (Tables 15~18, Appendices 22~25, 背景データ : Appendices 38, 39)

全ての被験物質投与群の雄ならびに80、250および800mg/kg群の雌でGPT、250および800mg/kg群の雄で総タンパク、800mg/kg群の雌雄で塩素のいずれも有意な減少が認められた。また、800mg/kg群の雌でカルシウムの有意な増加およびナトリウムの有意な減少が認められた。なお、塩素の有意な減少は80mg/kg群の雄にも認められたが、250mg/kg群の雄では有意な変化は認められず、またその値も背景データにおける正常範囲内のものであった。800mg/kgの回復群においては、雄で総コレステロールの有意な減少が、雌でアルブミンの有意な減少が認められた。しかし、投与期間終了時に認められた変化は認められなかった。

7. 剖検所見 (Tables 19~22, Appendices 26~29)

800mg/kg群の雌の半数で盲腸の軽度な膨満が認められた。800mg/kgの回復群では、盲腸に変化は認められなかった。散発的に認められた変化としては、一般状態の観察で赤色尿の排泄などを認めた25mg/kg群の雄の1匹で、膀胱の膨満および腎臓の腫大、退色が認められた。また、80mg/kg群の雄の1匹で肺の赤色斑、対照群および800mg/kgの回復群のいずれも雌の1匹で胸腺の赤色斑／領域、800mg/kgの回復群の雄の1匹で精巣の萎縮、軟化が認められた。

8. 器官重量 (Tables 23～26, Appendices 30～37)

最終体重が有意に減少した800mg/kg群において、絶対重量の有意な減少が雌雄の心臓、胸腺および雌の脾臓に、相対重量の有意な増加が雌雄の脳、腎臓、雄の下垂体、精巣および雌の肝臓に認められた。また、最終体重が減少傾向にあった250mg/kg群の雌においても、脾臓の絶対重量の有意な減少が認められた。しかし、絶対および相対重量に共通して一定の変化傾向を示す器官は認められなかった。これらの変化は、800mg/kgの回復群においては、雄の胸腺の絶対重量減少および下垂体の相対重量増加、雌の心臓の絶対重量減少および脳の相対重量増加に有意差が残るもののいずれも変化の程度は減少し、その他の器官の重量は回復した。

9. 病理組織学所見 (Tables 27, 28, Appendices 26～29, Photos 1～8)

被験物質の投与と関連性がみられる変化が、雄の腎臓に認められた。雄の腎臓の近位尿細管上皮にはPAS陽性硝子滴が対照群においても認められたが、250mg/kg群の2匹および800mg/kg群の全例で、硝子滴の数が明らかに増加し、また大きさもやや大型化する傾向にあった。雌の腎臓および重量変化の認められた器官を含む雌雄のその他の器官には、被験物質の投与と関連性のみられる変化は認められなかった。25mg/kg群の雄で、被験物質の投与とは無関係に膀胱の膨満、腎臓の腫大・退色を認めた例では、膀胱に移行上皮の過形成およびびらんが、腎臓に腎盂および尿管の拡張が認められた。800mg/kgの回復群においては、雄の腎臓の変化は明かな回復傾向を示した。800mg/kgの回復群で精巣が肉眼的に萎縮、軟化していた1例では、精巣に精細管の萎縮および間細胞の過形成、精巣上体に精巣上体管中精子の減少が認められた。しかし、精巣および精巣上体の変化は回復群のその他の例には認められなかった。

以上の所見のほかにも、検査した各器官に変化が認められたが、いずれも散発的あるいは用量相関性がみられず、自然発生病変と考えられる所見であった。

考察および結論

N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験を実施した。

体重増加の抑制および摂餌量の減少が、250mg/kg群の雌および800mg/kg群の雌雄に認められた。特に800mg/kg群の雌では一般状態の観察で立毛および被毛の汚れが半数に認められ、体重変化は顕著なものであった。800mg/kg群の雄においても立毛が認められたが、12匹中1匹と発現率は低か

った。

血液学検査で、ヘマトクリット値、網状赤血球数および血小板数の減少が800mg/kg群の雌に認められた。しかしこれらの変化はいずれも軽度なもので、骨髓、脾臓などに造血能低下あるいは血球破壊亢進を示唆する病理組織学的変化は認められなかった。したがって、おそらく低栄養状態に伴う二次的な変化と推察された。

腎臓に対する影響として、病理組織学検査で、近位尿細管上皮における硝子滴の増加が、250および800mg/kg群の雄で用量依存的に認められた。雌の腎臓には病理組織学的変化は認められなかったが、800mg/kg群の雌雄の腎臓相対重量は有意に増加した。血液生化学検査において、800mg/kg群で認められた雌雄の塩素および雌のナトリウムの減少も、腎機能に対する影響を示唆する変化と推察される。

盲腸の膨満が800mg/kg群の雌に認められた。盲腸の膨満は抗菌性物質のラットへの投与によりしばしば認められ、腸内細菌叢の変化によるものと考えられている⁹⁾。本被験物質による発現機序は不明であるが、膨満の程度は軽度で、盲腸には病理組織学的変化は認められず、糞便性状の変化も認められなかった。

以上の変化に加えて、250および800mg/kg群の雄でケトン体の増加、プロトンピン時間の短縮および総タンパクの減少が、800mg/kg群の雌でカルシウムの増加が認められたが、これらの変化はいずれも軽度なものであった。

被験物質投与各群の雌雄に認められたGPTの減少については、毒性学的意義は小さく、特に問題とすべき変化ではないと判断された。また、器官重量において、絶対重量の減少が250および800mg/kg群の雌で脾臓に、800mg/kg群の雌雄で心臓、胸腺に、相対重量の増加が800mg/kg群の雌雄で脳、雄で下垂体、精巣、雌で肝臓に認められた。しかしながら、これらの器官には病理組織学的変化は認められず、他に関連する変化も認められなかったことから、当該器官に対する毒性影響を示唆するものではなく、体重増加の抑制に伴う変化と考えられた。

800mg/kgの回復群においては、これら投与期間中あるいは投与期間終了時の検査で認められた変化のうち、雄の腎臓の病理組織学的変化は回復傾向を示し、その他の変化はいずれも回復した。したがって、本被験物質の投与による毒性変化は、可逆的であると判断される。

なお、800mg/kgの回復群の雄で総コレステロールの減少、雌でアルブミンの減少が認められたが、これらは背景データからみて正常範囲内の変化で、他に関連する変化も認められなかった。また、800mg/kgの回復群の雄で精巣に精細管の萎縮および間細胞の過形成、精巣上体に精巣上体

管中精子の減少を認める1匹があったが、同群の他の例の精巣および精巣上体には異常が認められなかった。したがって、回復群で認められた変化は、遅発的な毒性の発現を示唆するものではないと考えられた。

以上の結果から、N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドのラットへの28日間反復経口投与により、体重、摂餌量、腎臓等に対する毒性影響が認められた。無影響量は、雌雄とも80mg/kg/dayと推定された。

参考文献

- 1) A. R. Nutt, "Toxic hazards of rubber chemicals," Elsevier Applied Science Publishers LTD, 1984, p. 81.
- 2) M. Ema, T. Murai, T. Itami, H. Kawasaki, S. Kanoh, *J. Appl. Toxicol.*, **9**(3), 187 (1989).
- 3) J. R. M. Innes, B. M. Vlland, M. G. Valerio, L. Petrucelli, L. Fishbein, E. R. Hart, A. J. Pallotta, R. R. Bates, H. L. Falk, J. J. Gart, M. Klein, I. Mitchell, J. Peters, *J. Natl. Cancer Inst.*, **42**, 1101 (1969).
- 4) 鹿庭正昭, 五十嵐良明, 小嶋茂雄, 中村晃忠, 関東裕美, 伊藤正俊, 石原勝, "衛生化学", **33**(2), 140 (1987).
- 5) C. Hanson, G. Agrup, *Contact Dermatitis*, **28**, 29 (1993).
- 6) 小野寺威, "毒性試験講座15・医薬品", 福田英臣, 秋元健, 坂口孝編, 地人書館, 東京, 1990, pp. 37-38.

N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド
のラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 95-046)

最終報告書 添付資料 A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

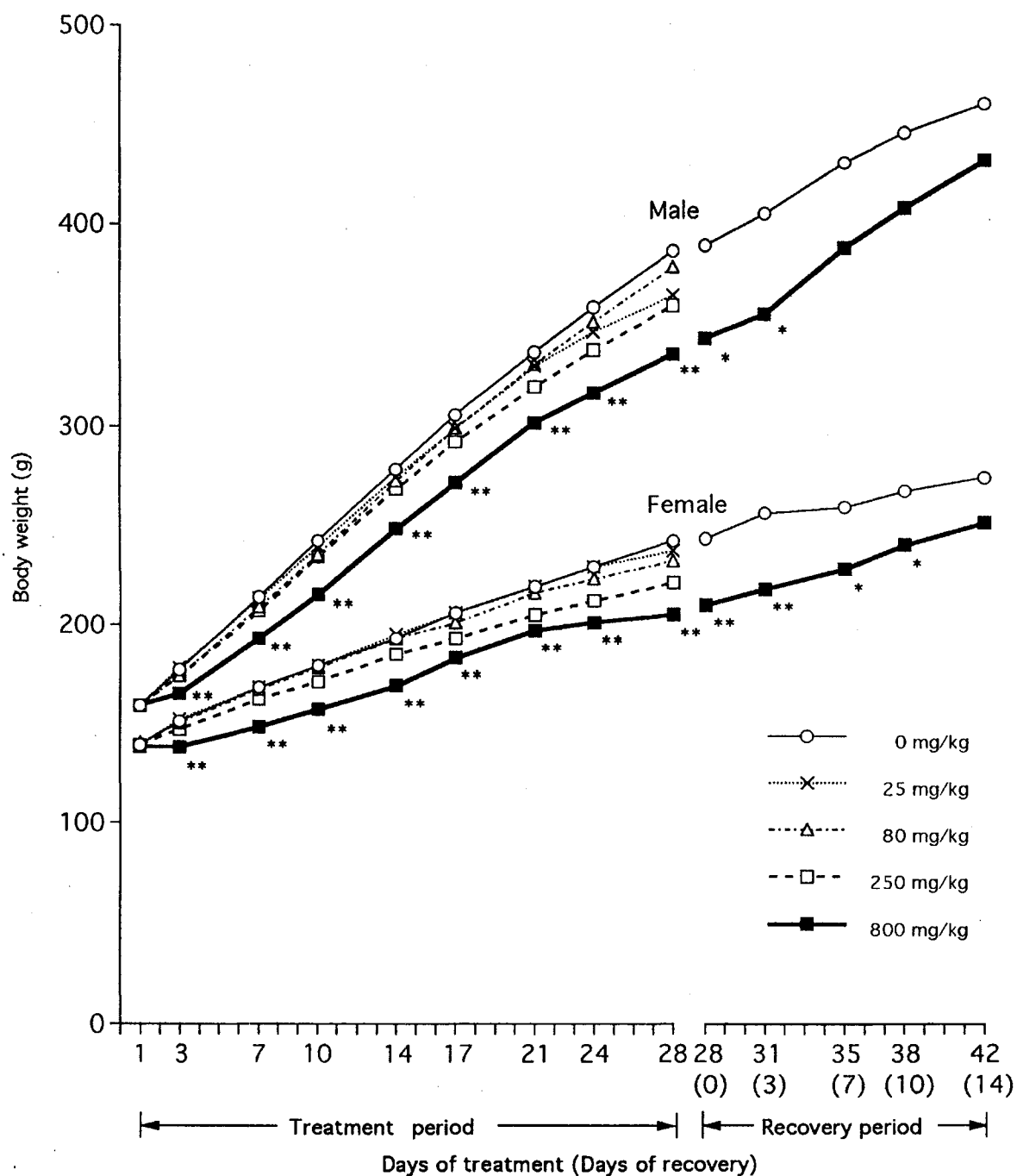


Fig. 1 Body weight changes of rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

Significantly different from control(* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$)

Table 1 Incidence of clinical signs and death of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

Clinical signs	Dose (mg/kg) No. of animals examined	Treatment period					Recovery period	
		0 12	25 6	80 6	250 6	800 12	0 6	800 6
No abnormalities detected		12	5	6	6	11	0	0
Decrease in locomotor activity		0	1	0	0	0	0	0
Piloerection		0	0	0	0	1	0	0
Soiled fur		0	1	0	0	0	0	0
Reddish urine		0	1	0	0	0	0	0
Death		0	0	0	0	0	0	0

Table 2 Incidence of clinical signs and death of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

Clinical signs	Dose (mg/kg) No. of animals examined	Treatment period					Recovery period	
		0	25	80	250	800	0	800
		12	6	6	6	12	6	6
No abnormalities detected		12	6	6	6	6	0	4
Decrease in locomotor activity		0	0	0	0	1	0	0
Soiled fur		0	0	0	0	6	0	1 ^a
Piloerection		0	0	0	0	6	0	2 ^a
Crust formation		0	0	0	0	1	0	0
Wound of tongue		0	0	0	0	1	0	0
Death		0	0	0	0	0	0	0

a : Observed until the next day of final dosing.

Table 3

Body weights of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

(g)

Dose (mg/kg)	Day of treatment									Gain (Day of recovery)					Gain	
	1	3	7	10	14	17	21	24	28	1~28	28(0)	31(3)	35(7)	38(10)	42(14)	28~42
0	159 ± 6 (12)	177 ± 6 (12)	214 ± 8 (12)	242 ± 10 (12)	278 ± 13 (12)	306 ± 15 (12)	337 ± 17 (12)	359 ± 19 (12)	387 ± 21 (12)	228 ± 19 (12)	390 ± 24 (6)	406 ± 26 (6)	432 ± 30 (6)	447 ± 29 (6)	462 ± 31 (6)	72 ± 11 (6)
25	159 ± 6 (6)	178 ± 6 (6)	213 ± 10 (6)	239 ± 11 (6)	274 ± 16 (6)	299 ± 16 (6)	330 ± 18 (6)	347 ± 11 (6)	365 ± 7 (6)	207 ± 9 (6)						
80	159 ± 6 (6)	174 ± 6 (6)	209 ± 7 (6)	235 ± 8 (6)	272 ± 11 (6)	299 ± 13 (6)	331 ± 19 (6)	352 ± 26 (6)	379 ± 31 (6)	220 ± 32 (6)						
250	159 ± 5 (6)	174 ± 7 (6)	207 ± 10 (6)	234 ± 11 (6)	268 ± 12 (6)	292 ± 11 (6)	320 ± 11 (6)	338 ± 11 (6)	360 ± 12 (6)	201 ± 10 (6)						
800	159 ± 5 (12)	165** ± 6 (12)	193** ± 9 (12)	215** ± 10 (12)	248** ± 13 (12)	271** ± 17 (12)	302** ± 21 (12)	317** ± 24 (12)	336** ± 27 (12)	177** ± 25 (12)	344* ± 31 (6)	356* ± 31 (6)	389 ± 39 (6)	409 ± 42 (6)	433 ± 45 (6)	89* ± 15 (6)

Each value is expressed as mean±S. D.

(n): No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 4

Body weights of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

(g)

Dose (mg/kg)	Day of treatment									Gain (Day of recovery)						Gain 28~42
	1	3	7	10	14	17	21	24	28	1~28	28(0)	31(3)	35(7)	38(10)	42(14)	
0	139 ± 5 (12)	151 ± 5 (12)	168 ± 7 (12)	179 ± 7 (12)	193 ± 9 (12)	206 ± 12 (12)	219 ± 12 (12)	229 ± 14 (12)	242 ± 17 (12)	103 ± 14 (12)	243 ± 17 (6)	256 ± 20 (6)	259 ± 20 (6)	267 ± 20 (6)	274 ± 22 (6)	30 ± 6 (6)
25	139 ± 5 (6)	152 ± 6 (6)	168 ± 5 (6)	179 ± 6 (6)	195 ± 10 (6)	206 ± 11 (6)	219 ± 14 (6)	229 ± 12 (6)	237 ± 13 (6)	98 ± 13 (6)						
80	140 ± 5 (6)	150 ± 6 (6)	167 ± 8 (6)	178 ± 8 (6)	193 ± 9 (6)	201 ± 12 (6)	216 ± 14 (6)	223 ± 13 (6)	232 ± 16 (6)	93 ± 13 (6)						
250	139 ± 5 (6)	147 ± 6 (6)	162 ± 8 (6)	171 ± 8 (6)	185 ± 9 (6)	193 ± 10 (6)	205 ± 11 (6)	212 ± 11 (6)	221 ± 11 (6)	82* ± 9 (6)						
800	138 ± 5 (12)	138** ± 6 (12)	148** ± 6 (12)	157** ± 7 (12)	169** ± 10 (12)	183** ± 9 (12)	197** ± 10 (12)	201** ± 11 (12)	205** ± 13 (12)	67** ± 11 (12)	210** ± 13 (6)	218** ± 11 (6)	228* ± 15 (6)	240* ± 18 (6)	251 ± 19 (6)	41 ± 10 (6)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n): No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 5

Food consumption of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment		3	4	(Week of recovery)		
		1	2			4 (0)	5 (1)	6 (2)
0	12	28 ± 1 (12)	31 ± 2 (12)	32 ± 2 (12)	32 ± 2 (12)	33 ± 1 (6)	36 ± 2 (6)	34 ± 3 (6)
25	6	27 ± 3 (6)	30 ± 4 (6)	30 ± 3 (6)	28 ± 2 (6)			
80	6	27 ± 1 (6)	31 ± 3 (6)	32 ± 4 (6)	31 ± 6 (6)			
250	6	27 ± 2 (6)	30 ± 2 (6)	31 ± 3 (6)	29 ± 2 (6)			
800	12	24** ± 2 (12)	28 ± 2 (12)	29 ± 3 (12)	26** ± 4 (12)	28** ± 3 (6)	38 ± 5 (6)	39 ± 5 (6)

Each value is expressed as mean±S.D.

(n): No. of animals

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 6

Food consumption of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment		(Week of recovery)				
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	12	19	22	22	21	21	25	24
		± 2 (12)	± 2 (12)	± 3 (12)	± 3 (12)	± 3 (6)	± 2 (6)	± 4 (6)
25	6	21	23	21	21			
		± 2 (6)	± 2 (6)	± 1 (6)	± 2 (6)			
80	6	20	21	21	20			
		± 1 (6)	± 2 (6)	± 4 (6)	± 3 (6)			
250	6	18	18*	18	18			
		± 2 (6)	± 2 (6)	± 2 (6)	± 1 (6)			
800	12	16*	20	20	18*	19	28	24
		± 3 (12)	± 2 (12)	± 3 (12)	± 2 (12)	± 1 (6)	± 3 (6)	± 3 (6)

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

(n): No. of animals

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 7 Urinary findings of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH								Protein					Glucose				
		C	PY	PR	—	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++	
0	12		12		12			8	2	2					1	7	4			12				
25	6		5	1	6			2	3	1						4	2			6				
80	6		6		6			3		3					1	5				6				
250	6	1	5		6			1	2	3					3	3				6				
800	12	1	11		12			4	2	5	1				6	5	1			12				

Dose (mg/kg)	No. of animals	Ketone body					Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	8	-	+	++	+++
0	12	11		1			10	1		1						12				12
25	6	4	2				5				1					6				6
80	6	1	5				6									6				6
250	6		6*				6									6				6
800	12	1	11*				12									12				12

Color : C(colorless), PY(pale yellow), PR(pale red)

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dl), +(30mg/dl), ++(100mg/dl), +++(300mg/dl)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dl), +(0.25g/dl), ++(0.5g/dl), +++(1g/dl)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dl), +(15mg/dl), ++(40mg/dl), +++(80mg/dl)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : -(negligible), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 8 Urinary findings of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH								Protein					Glucose				
		C	PY	PR	—	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++	
0	12		12		12			10	2					1	8	3			12					
25	6		6		6			5		1				1	1	4			6					
80	6		6		6			2	3		1				4	2			6					
250	6		6		6			4	1	1					4	2			6					
800	12		12		12			5	2	4	1				4	8			12					

Dose (mg/kg)	No. of animals	Ketone body					Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	8	-	+	++	+++
0	12	12					12					12					12			
25	6	6					6					6					6			
80	6	5	1				6					6					6			
250	6	4	2				5	1				6					6			
800	12	7	5				11	1				12					12			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), PR(pale red)

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dl), +(30mg/dl), ++(100mg/dl), +++(300mg/dl)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dl), +(0.25g/dl), ++(0.5g/dl), +++(1g/dl)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dl), +(15mg/dl), ++(40mg/dl), +++(80mg/dl)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : -(negligible), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Table 9

Urinary findings of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH								Protein					Glucose				
		C	PY	PR	—	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++	
0	6		6		6					1	1	4				2	4			6				
800	6		6		6					2		4				6				6				

Dose (mg/kg)	No. of animals	Ketone body					Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin			
		—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	8	—	+	++	+++
0	6	1	5				6					6					6			
800	6	4	2				6					6					6			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), PR(pale red)

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dl), +(30mg/dl), ++(100mg/dl), +++(300mg/dl)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dl), +(0.25g/dl), ++(0.5g/dl), +++(1g/dl)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dl), +(15mg/dl), ++(40mg/dl), +++(80mg/dl)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : -(negligible), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Table 10

Urinary findings of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color			Cloudy		pH								Protein					Glucose				
		C	PY	PR	—	+	5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++	
0	6		6		6					1		4	1			3	3				6			
800	6		6		6						1	4	1		2	1	3				6			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Ketone body					Occult blood					Urobilinogen					Bilirubin			
		—	±	+	++	+++	—	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	8	—	+	++	+++
0	6	6					6					6					6			
800	6	6					6					6					6			

Color : C(colorless), PY(pale yellow), PR(pale red)

Cloudy : -(negligible), +(cloudy)

Protein : -(negligible), ±(15~30mg/dl), +(30mg/dl), ++(100mg/dl), +++(300mg/dl)

Glucose : -(negligible), ±(0.1g/dl), +(0.25g/dl), ++(0.5g/dl), +++(1g/dl)

Ketone body : -(negligible), ±(5mg/dl), +(15mg/dl), ++(40mg/dl), +++(80mg/dl)

Occult blood : -(negligible), ±(trace), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : -(negligible), +(slight), ++(moderate), +++(marked)

Table 11

Hematological findings of male rats treated orally with
N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%.)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	765 ± 27	15.7 ± 0.4	45.8 ± 1.5	60 ± 1	20.5 ± 0.5	34.2 ± 0.3	34 ± 5	13.5 ± 0.2	16.2 ± 0.5
25	6	748 ± 32	15.4 ± 0.6	44.4 ± 1.9	59 ± 1	20.5 ± 0.3	34.6 ± 0.4	29 ± 9	13.4 ± 0.6	16.7 ± 1.3
80	6	754 ± 46	15.5 ± 0.4	44.8 ± 1.3	60 ± 3	20.6 ± 1.0	34.6 ± 0.6	38 ± 7	13.1 ± 0.3	16.6 ± 0.9
250	6	768 ± 29	15.5 ± 0.4	45.3 ± 1.2	59 ± 2	20.1 ± 0.6	34.1 ± 0.2	34 ± 5	12.7* ± 0.8	15.8 ± 0.9
800	6	752 ± 29	15.2 ± 0.6	44.5 ± 1.5	59 ± 1	20.2 ± 0.4	34.1 ± 0.4	25 ± 7	12.8* ± 0.3	15.5 ± 0.7

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
Stab.	Seg.									
0	6	69 ± 20	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	15 ± 5	82 ± 6	3 ± 2	0 ± 0	149 ± 11
25	6	90 ± 25	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	17 ± 12	82 ± 13	2 ± 2	0 ± 0	170 ± 17
80	6	73 ± 23	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	15 ± 4	83 ± 5	2 ± 1	0 ± 0	150 ± 7
250	6	64 ± 13	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	14 ± 2	85 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	152 ± 14
800	6	64 ± 14	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	15 ± 6	83 ± 6	2 ± 0	0 ± 0	154 ± 16

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 12

Hematological findings of female rats treated orally with
N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μ l)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%.)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	749 ± 17	15.1 ± 0.4	43.0 ± 1.2	58 ± 2	20.1 ± 0.7	35.0 ± 0.2	29 ± 7	13.7 ± 0.2	15.7 ± 0.8
25	6	759 ± 37	15.1 ± 0.4	42.9 ± 0.9	57 ± 2	19.9 ± 0.7	35.1 ± 0.4	21 ± 8	13.4 ± 0.4	16.1 ± 0.6
80	6	745 ± 21	14.7 ± 0.6	42.1 ± 1.2	57 ± 1	19.8 ± 0.3	34.9 ± 0.4	27 ± 7	13.4 ± 0.3	16.1 ± 0.7
250	6	727 ± 26	14.5 ± 0.2	41.4 ± 0.7	57 ± 1	19.9 ± 0.6	35.0 ± 0.5	27 ± 7	13.4 ± 0.2	16.3 ± 0.8
800	6	722 ± 28	14.3 ± 0.7	40.5** ± 1.9	56 ± 1	19.9 ± 0.4	35.4 ± 0.5	18* ± 5	13.5 ± 0.3	15.5 ± 0.6
Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μ l)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μ l)
					Neutro.					
			Baso.	Eosin.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	6	53 ± 13	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	11 ± 4	87 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	152 ± 12
25	6	49 ± 12	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	11 ± 4	88 ± 5	1 ± 1	0 ± 0	154 ± 13
80	6	37 ± 9	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	11 ± 4	86 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	155 ± 16
250	6	38 ± 4	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	12 ± 6	85 ± 4	2 ± 2	0 ± 0	152 ± 10
800	6	63 ± 19	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	13 ± 5	85 ± 6	2 ± 2	0 ± 0	130* ± 17

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 13 Hematological findings of male rats treated orally with
N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%.)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	777 ± 27	15.4 ± 0.4	43.9 ± 1.3	57 ± 1	19.8 ± 0.6	35.0 ± 0.4	33 ± 4	13.1 ± 0.2	18.2 ± 1.5
800	6	761 ± 16	15.0 ± 0.7	43.0 ± 1.8	56 ± 2	19.7 ± 0.7	35.0 ± 0.6	41 ± 11	13.2 ± 0.3	18.7 ± 0.8
Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Neutro.							
			Baso.	Eosin.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	6	68 ± 13	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	16 ± 7	82 ± 7	1 ± 1	0 ± 0	147 ± 24
800	6	82 ± 24	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	12 ± 5	88 ± 4	0 ± 1	0 ± 0	168 ± 23

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 14

Hematological findings of female rats treated orally with
N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC ($10^4/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	757 $\pm$ 38	14.9 $\pm$ 0.7	41.9 $\pm$ 1.6	56 $\pm$ 1	19.7 $\pm$ 0.2	35.6 $\pm$ 0.5	33 $\pm$ 9	13.3 $\pm$ 0.3	16.9 $\pm$ 1.7
800	6	743 $\pm$ 30	14.6 $\pm$ 0.4	41.3 $\pm$ 1.0	56 $\pm$ 1	19.7 $\pm$ 0.3	35.4 $\pm$ 0.5	40 $\pm$ 3	13.5 $\pm$ 0.4	17.4 $\pm$ 0.9
Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC ($10^2/\mu\text{l}$)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. ($10^4/\mu\text{l}$)
			Neutro.							
			Baso.	Eosin.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	6	56 $\pm$ 19	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	12 $\pm$ 6	87 $\pm$ 6	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	145 $\pm$ 19
800	6	54 $\pm$ 11	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	11 $\pm$ 3	88 $\pm$ 4	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	149 $\pm$ 20

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 15 Blood biochemical findings of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	61 $\pm$ 6	29 $\pm$ 5	534 $\pm$ 137	0.29 $\pm$ 0.29	6.26 $\pm$ 0.12	3.39 $\pm$ 0.08	1.19 $\pm$ 0.07	86 $\pm$ 13	115 $\pm$ 71
25	6	62 $\pm$ 14	21** $\pm$ 4	476 $\pm$ 52	0.30 $\pm$ 0.27	6.10 $\pm$ 0.14	3.20 $\pm$ 0.24	1.12 $\pm$ 0.17	87 $\pm$ 31	65 $\pm$ 19
80	6	61 $\pm$ 6	21** $\pm$ 4	459 $\pm$ 76	0.42 $\pm$ 0.16	6.10 $\pm$ 0.23	3.28 $\pm$ 0.14	1.17 $\pm$ 0.11	95 $\pm$ 27	107 $\pm$ 17
250	6	61 $\pm$ 9	15** $\pm$ 3	486 $\pm$ 73	0.41 $\pm$ 0.27	5.91* $\pm$ 0.21	3.26 $\pm$ 0.10	1.24 $\pm$ 0.15	91 $\pm$ 13	81 $\pm$ 24
800	6	59 $\pm$ 4	11** $\pm$ 2	459 $\pm$ 132	0.47 $\pm$ 0.15	5.78** $\pm$ 0.23	3.25 $\pm$ 0.14	1.30 $\pm$ 0.15	109 $\pm$ 7	72 $\pm$ 26
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	163 $\pm$ 15	0.31 $\pm$ 0.03	15.3 $\pm$ 1.5	0.55 $\pm$ 0.06	10.4 $\pm$ 0.5	9.7 $\pm$ 0.5	142 $\pm$ 1	4.76 $\pm$ 0.32	101 $\pm$ 1
25	6	146 $\pm$ 25	0.29 $\pm$ 0.02	16.5 $\pm$ 3.7	0.57 $\pm$ 0.06	10.2 $\pm$ 0.2	9.1 $\pm$ 0.8	142 $\pm$ 1	4.77 $\pm$ 0.23	101 $\pm$ 1
80	6	156 $\pm$ 25	0.29 $\pm$ 0.04	14.5 $\pm$ 0.8	0.55 $\pm$ 0.06	10.8 $\pm$ 0.4	9.7 $\pm$ 0.8	143 $\pm$ 2	4.75 $\pm$ 0.39	99* $\pm$ 1
250	6	133 $\pm$ 11	0.28 $\pm$ 0.02	13.9 $\pm$ 1.3	0.50 $\pm$ 0.05	10.7 $\pm$ 0.2	9.6 $\pm$ 0.5	142 $\pm$ 1	4.64 $\pm$ 0.22	99 $\pm$ 2
800	6	138 $\pm$ 10	0.30 $\pm$ 0.03	15.3 $\pm$ 1.4	0.49 $\pm$ 0.04	10.6 $\pm$ 0.3	9.4 $\pm$ 0.3	140 $\pm$ 1	4.51 $\pm$ 0.16	95** $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 16

Blood biochemical findings of female rats treated orally with
N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	63 $\pm$ 3	25 $\pm$ 3	320 $\pm$ 71	1.43 $\pm$ 1.18	6.05 $\pm$ 0.14	3.45 $\pm$ 0.12	1.34 $\pm$ 0.16	81 $\pm$ 8	37 $\pm$ 16
25	6	57 $\pm$ 2	24 $\pm$ 3	259 $\pm$ 69	0.90 $\pm$ 0.66	6.24 $\pm$ 0.21	3.45 $\pm$ 0.09	1.25 $\pm$ 0.13	92 $\pm$ 11	66 $\pm$ 23
80	6	56 $\pm$ 7	19* $\pm$ 5	248 $\pm$ 65	0.32 $\pm$ 0.19	6.18 $\pm$ 0.22	3.36 $\pm$ 0.11	1.20 $\pm$ 0.10	93 $\pm$ 9	54 $\pm$ 23
250	6	55 $\pm$ 8	17** $\pm$ 4	247 $\pm$ 47	0.40 $\pm$ 0.30	6.09 $\pm$ 0.24	3.33 $\pm$ 0.19	1.21 $\pm$ 0.13	90 $\pm$ 13	45 $\pm$ 8
800	6	65 $\pm$ 12	13** $\pm$ 4	249 $\pm$ 72	1.09 $\pm$ 0.84	6.11 $\pm$ 0.33	3.37 $\pm$ 0.33	1.25 $\pm$ 0.20	87 $\pm$ 10	47 $\pm$ 14
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	136 $\pm$ 17	0.23 $\pm$ 0.03	17.3 $\pm$ 2.3	0.58 $\pm$ 0.14	10.0 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.5	142 $\pm$ 2	4.39 $\pm$ 0.30	102 $\pm$ 2
25	6	128 $\pm$ 10	0.22 $\pm$ 0.04	18.6 $\pm$ 2.3	0.53 $\pm$ 0.05	10.3 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.4	142 $\pm$ 1	4.36 $\pm$ 0.19	102 $\pm$ 1
80	6	125 $\pm$ 14	0.26 $\pm$ 0.04	19.2 $\pm$ 2.0	0.50 $\pm$ 0.06	10.1 $\pm$ 0.3	7.9 $\pm$ 0.5	142 $\pm$ 1	4.56 $\pm$ 0.29	101 $\pm$ 2
250	6	134 $\pm$ 20	0.25 $\pm$ 0.06	18.2 $\pm$ 2.2	0.49 $\pm$ 0.02	10.3 $\pm$ 0.4	7.6 $\pm$ 1.1	142 $\pm$ 1	4.46 $\pm$ 0.24	101 $\pm$ 1
800	6	122 $\pm$ 9	0.20 $\pm$ 0.04	18.1 $\pm$ 2.5	0.51 $\pm$ 0.06	10.6** $\pm$ 0.5	8.2 $\pm$ 0.4	140* $\pm$ 2	4.57 $\pm$ 0.33	98** $\pm$ 2

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 17

Blood biochemical findings of male rats treated orally with
N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	57 $\pm$ 6	28 $\pm$ 5	318 $\pm$ 66	0.57 $\pm$ 0.40	6.34 $\pm$ 0.22	3.20 $\pm$ 0.18	1.03 $\pm$ 0.13	101 $\pm$ 13	154 $\pm$ 36
800	6	57 $\pm$ 5	30 $\pm$ 5	370 $\pm$ 126	0.82 $\pm$ 0.39	6.13 $\pm$ 0.19	3.06 $\pm$ 0.16	1.00 $\pm$ 0.11	84* $\pm$ 12	113 $\pm$ 32
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	165 $\pm$ 14	0.32 $\pm$ 0.03	17.7 $\pm$ 1.8	0.56 $\pm$ 0.04	10.6 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.8	142 $\pm$ 1	4.70 $\pm$ 0.15	101 $\pm$ 1
800	6	157 $\pm$ 21	0.28 $\pm$ 0.04	18.1 $\pm$ 1.5	0.55 $\pm$ 0.07	10.6 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 1.0	142 $\pm$ 1	4.72 $\pm$ 0.29	101 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 18 Blood biochemical findings of female rats treated orally with
N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	56 $\pm$ 5	25 $\pm$ 6	201 $\pm$ 38	0.36 $\pm$ 0.28	6.64 $\pm$ 0.17	3.76 $\pm$ 0.16	1.31 $\pm$ 0.16	113 $\pm$ 7	90 $\pm$ 51
800	6	56 $\pm$ 7	27 $\pm$ 3	192 $\pm$ 44	0.71 $\pm$ 0.65	6.42 $\pm$ 0.18	3.52* $\pm$ 0.19	1.22 $\pm$ 0.12	108 $\pm$ 22	76 $\pm$ 28
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	144 $\pm$ 10	0.26 $\pm$ 0.03	18.9 $\pm$ 1.6	0.58 $\pm$ 0.04	10.5 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 1.2	141 $\pm$ 1	4.41 $\pm$ 0.33	102 $\pm$ 2
800	6	132 $\pm$ 11	0.27 $\pm$ 0.05	19.9 $\pm$ 0.6	0.59 $\pm$ 0.04	10.4 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.5	141 $\pm$ 1	4.69 $\pm$ 0.21	103 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 19 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

			After treatment period					After recovery period	
			Dose (mg/kg)						
			0	25	80	250	800	0	800
Organ : Findings	Grade	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6
Lung : Red mottle	-		6	6	5	6	6	6	6
	+		0	0	1	0	0	0	0
Kidney : Enlargement/pale	-		6	5	6	6	6	6	6
	++		0	1	0	0	0	0	0
Testis : Atrophy/soft	-		6	6	6	6	6	6	5
	++		0	0	0	0	0	0	1
Urinary bladder : Distention	-		6	5	6	6	6	6	6
	++		0	1	0	0	0	0	0

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate

Table 20 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

Organ : Findings	Grade	Dose (mg/kg)	After treatment period					After recovery period	
			0	25	80	250	800	0	800
	No. of animals		6	6	6	6	6	6	6
Cecum : Distention	-		6	6	6	6	3	6	6
	+		0	0	0	0	3	0	0
Thymus : Red mottle/area	-		5	6	6	6	6	6	5
	+		0	0	0	0	0	0	1
	++		1	0	0	0	0	0	0

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate
Numbers in parenthesis indicate the total number.

Table 21 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	6	353 ± 14	1.95 ± 0.06	11.76 ± 1.17	2.61 ± 0.17	0.61 ± 0.05	1.20 ± 0.08	0.67 ± 0.11	24.2 ± 5.5	11.1 ± 1.4	53.2 ± 10.8	3.17 ± 0.23	0.88 ± 0.14
	25	6	335 ± 5	2.00 ± 0.07	10.65 ± 0.57	2.77 ± 0.59	0.65 ± 0.06	1.19 ± 0.05	0.63 ± 0.17	25.7 ± 2.6	10.4 ± 0.5	55.6 ± 6.7	3.17 ± 0.15	0.81 ± 0.08
	80	6	347 ± 25	1.97 ± 0.07	12.14 ± 2.02	2.51 ± 0.33	0.69 ± 0.09	1.12 ± 0.05	0.63 ± 0.06	25.4 ± 4.2	11.0 ± 0.9	59.1 ± 4.7	3.13 ± 0.17	0.84 ± 0.09
	250	6	328 ± 12	1.98 ± 0.06	10.64 ± 0.44	2.63 ± 0.18	0.65 ± 0.09	1.11 ± 0.03	0.66 ± 0.12	22.7 ± 3.6	11.5 ± 1.1	58.6 ± 4.2	3.21 ± 0.26	0.83 ± 0.07
	800	6	302** ± 23	1.96 ± 0.07	10.85 ± 1.45	2.71 ± 0.27	0.55 ± 0.08	0.98** ± 0.06	0.48* ± 0.08	26.3 ± 4.2	11.6 ± 0.8	52.9 ± 7.3	3.10 ± 0.16	0.80 ± 0.07
Relative@	0	6	353 ± 14	0.55 ± 0.02	3.33 ± 0.22	0.74 ± 0.06	0.17 ± 0.01	0.34 ± 0.03	0.19 ± 0.03	6.84 ± 1.55	3.14 ± 0.39	14.99 ± 2.52	0.90 ± 0.08	0.25 ± 0.04
	25	6	335 ± 5	0.60 ± 0.03	3.18 ± 0.15	0.83 ± 0.18	0.19 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.19 ± 0.05	7.68 ± 0.69	3.10 ± 0.13	16.64 ± 2.16	0.95 ± 0.04	0.24 ± 0.02
	80	6	347 ± 25	0.57 ± 0.04	3.49 ± 0.43	0.72 ± 0.06	0.20 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.18 ± 0.03	7.40 ± 1.53	3.18 ± 0.42	17.08 ± 1.61	0.90 ± 0.05	0.25 ± 0.04
	250	6	328 ± 12	0.61 ± 0.02	3.25 ± 0.15	0.80 ± 0.05	0.20 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.20 ± 0.04	6.95 ± 1.29	3.52 ± 0.32	17.93 ± 1.76	0.98 ± 0.11	0.25 ± 0.02
	800	6	302** ± 23	0.65** ± 0.06	3.58 ± 0.26	0.89** ± 0.05	0.18 ± 0.03	0.32 ± 0.01	0.16 ± 0.02	8.77 ± 1.77	3.84** ± 0.29	17.47 ± 1.59	1.03* ± 0.09	0.27 ± 0.03

Each value is expressed as mean ± S. D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 22

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	219 ± 15	1.85 ± 0.04	6.54 ± 0.69	1.65 ± 0.12	0.47 ± 0.07	0.84 ± 0.07	0.57 ± 0.14	17.5 ± 3.7	10.8 ± 1.2	63.5 ± 9.6	84.3 ± 12.6
	25	6	219 ± 12	1.86 ± 0.05	6.80 ± 0.43	1.68 ± 0.12	0.41 ± 0.04	0.82 ± 0.07	0.47 ± 0.05	14.9 ± 2.4	11.0 ± 2.5	62.2 ± 5.2	83.3 ± 11.0
	80	6	214 ± 15	1.84 ± 0.05	6.61 ± 0.65	1.76 ± 0.14	0.44 ± 0.03	0.81 ± 0.11	0.50 ± 0.08	14.8 ± 2.9	11.7 ± 1.8	58.1 ± 5.4	84.8 ± 12.9
	250	6	203 ± 9	1.82 ± 0.06	6.52 ± 0.70	1.70 ± 0.16	0.39* ± 0.04	0.76 ± 0.05	0.46 ± 0.08	15.8 ± 3.1	11.3 ± 1.7	56.6 ± 8.3	78.8 ± 11.3
	800	6	186** ± 7	1.92 ± 0.08	6.70 ± 0.60	1.65 ± 0.16	0.37** ± 0.05	0.65** ± 0.05	0.39** ± 0.11	16.7 ± 2.4	11.0 ± 2.0	56.0 ± 13.0	71.3 ± 20.1
Relative@	0	6	219 ± 15	0.85 ± 0.06	2.98 ± 0.15	0.75 ± 0.05	0.22 ± 0.02	0.39 ± 0.02	0.26 ± 0.05	8.02 ± 1.87	4.93 ± 0.26	28.97 ± 3.43	38.5 ± 4.7
	25	6	219 ± 12	0.85 ± 0.05	3.10 ± 0.11	0.77 ± 0.04	0.19 ± 0.02	0.38 ± 0.03	0.21 ± 0.03	6.81 ± 1.08	4.98 ± 0.93	28.35 ± 1.41	38.0 ± 4.7
	80	6	214 ± 15	0.86 ± 0.05	3.09 ± 0.12	0.83 ± 0.05	0.21 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.23 ± 0.03	6.96 ± 1.59	5.50 ± 1.08	27.16 ± 1.25	39.6 ± 4.4
	250	6	203 ± 9	0.89 ± 0.05	3.20 ± 0.20	0.84 ± 0.05	0.19 ± 0.02	0.37 ± 0.01	0.23 ± 0.04	7.81 ± 1.74	5.53 ± 0.57	27.75 ± 2.72	38.6 ± 3.8
	800	6	186** ± 7	1.03** ± 0.05	3.61** ± 0.26	0.89** ± 0.09	0.20 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.21 ± 0.05	9.02 ± 1.40	5.92 ± 1.16	30.25 ± 7.48	38.3 ± 10.1

Each value is expressed as mean ± S. D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 23

Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolsulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	6	429 ± 28	2.07 ± 0.06	13.15 ± 1.36	2.77 ± 0.21	0.79 ± 0.10	1.33 ± 0.08	0.66 ± 0.08	22.0 ± 4.5	10.5 ± 1.3	62.0 ± 6.6	3.41 ± 0.27	1.11 ± 0.05
	800	6	395 ± 39	2.04 ± 0.04	12.58 ± 1.86	2.74 ± 0.26	0.76 ± 0.18	1.29 ± 0.13	0.54* ± 0.06	22.6 ± 1.7	12.2 ± 1.5	57.4 ± 5.2	2.79 ± 0.79	1.02 ± 0.15
Relative@	0	6	429 ± 28	0.48 ± 0.02	3.06 ± 0.18	0.65 ± 0.05	0.18 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.15 ± 0.02	5.12 ± 0.97	2.46 ± 0.43	14.54 ± 2.28	0.79 ± 0.04	0.26 ± 0.02
	800	6	395 ± 39	0.52 ± 0.04	3.17 ± 0.18	0.70 ± 0.07	0.19 ± 0.04	0.33 ± 0.02	0.14 ± 0.02	5.76 ± 0.55	3.10* ± 0.44	14.70 ± 2.41	0.70 ± 0.19	0.26 ± 0.02

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 24

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Thyr. (mg)	Pitui. (mg)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	252 ± 19	1.87 ± 0.13	7.57 ± 0.94	1.78 ± 0.15	0.51 ± 0.06	0.93 ± 0.06	0.47 ± 0.05	19.7 ± 2.8	11.8 ± 1.7	59.7 ± 6.1	93.3 ± 14.7
	800	6	231 ± 15	1.88 ± 0.04	6.69 ± 0.61	1.70 ± 0.09	0.50 ± 0.04	0.82* ± 0.07	0.46 ± 0.07	21.0 ± 3.5	12.0 ± 2.1	56.2 ± 2.8	84.7 ± 16.6
Relative@	0	6	252 ± 19	0.74 ± 0.06	3.00 ± 0.24	0.71 ± 0.07	0.20 ± 0.03	0.37 ± 0.01	0.19 ± 0.02	7.79 ± 0.93	4.65 ± 0.48	23.80 ± 3.10	37.2 ± 6.3
	800	6	231 ± 15	0.82* ± 0.05	2.89 ± 0.11	0.74 ± 0.05	0.22 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.20 ± 0.04	9.13 ± 1.68	5.19 ± 0.86	24.44 ± 2.36	37.0 ± 8.0

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 25 - 1 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

			After treatment period					After recovery period		
			Dose (mg/kg)	0	25	80	250	800	0	800
Organ	: Findings	Grade	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6
Lung	Mineralization, artery	-	5	-	0	-	6	-	-	
		+	1	-	1 [*]	-	0	-	-	
	Accumulation, foam cell	-	5	-	0	-	5	-	-	
		+	1	-	1 [*]	-	1	-	-	
	Hemorrhage	-	6	-	0	-	6	-	-	
		+	0	-	1 [*]	-	0	-	-	
Heart	Myocardial degeneration/fibrosis, focal	-	4	-	-	-	6	-	-	
		+	2	-	-	-	0	-	-	
Liver	Microgranuloma	-	5	-	-	-	5	-	-	
		+	1	-	-	-	1	-	-	
Kidney	Eosinophilic body, proximal tubular epithelium	-	5	5	6	4	5	3	2	
		+	1) (1)	1) (1)	0) (0)	2) (2)	1) (1)	2) (3)	3) (4)	
		++	0	0	0	0	0	1	1	
	Hyaline droplet, proximal tubular epithelium	-	2) (6)	2) (6)	1) (6)	0) (4)	0) (0)	0) (6)	0) (5)	
		+	4	4	5	4	0	6	5	
		++	0	0	0	2	6**	0	1	
	Basophilic tubules, cortex	-	2	2	2	2	3	1	0	
		+	4	4	4	4	3	5	6	
	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex /corticomedullary junction, focal	-	5	5	4	6	4	4	2	
		+	1	1	2	0	2	2	4	
	Dilatation, renal tubule, diffuse	-	6	5	6	6	6	6	6	
		++	0	1	0	0	0	0	0	
	Dilatation, renal pelvis	-	6	5	6	6	6	6	6	
		+	0	1	0	0	0	0	0	

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; - : Not examined;
^{*} : Examined the animal with macroscopical abnormality in the lung
 ** : Significantly different from control at 1% level of probability
 Numbers in parenthesis indicate the total number.

Table 25 - 2 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

			After treatment period					After recovery period		
			Dose (mg/kg)	0	25	80	250	800	0	800
Organ	: Findings	Grade	No. of animals	6	6	6	6	6	6	6
Kidney	: Dilatation, collecting tubule/ distal tubule, focal	-		6	6	5	5	6	6	6
		+		0	0	1	1	0	0	0
	Cast, hyaline, collecting tubule	-		6	6	5	6	6	6	5
		+		0	0	1	0	0	0	1
Testis	: Atrophy, seminiferous tubule, diffuse	-		6	—	—	—	6	6	5
		++		0	—	—	—	0	0	1
	Hyperplasia, interstitial cell, diffuse	-		6	—	—	—	6	6	5
		+		0	—	—	—	0	0	1
Epididymis: Decreased, sperm	-		6	—	—	—	6	6	5	
	+++		0	—	—	—	0	0	1	
Thymus : Hemorrhage	-		6	—	—	—	6	—	—	
	+		0	—	—	—	0	—	—	
Pituitary: Cyst, anterior/intermediate, solitary	-		6	—	—	—	5	—	—	
	+		0	—	—	—	1	—	—	
Urinary bladder: Hyperplasia, transitional cell, simple		-		6	0	—	—	6	—	—
		+		0	1 ^b	—	—	0	—	—
	Erosion	-		6	0	—	—	6	—	—
		+		0	1 ^b	—	—	0	—	—

- : Negative; + : Slight; ++ : Moderate; +++ : Marked; — : Not examined;

b : Examined the animal with macroscopical abnormality in the urinary bladder

No abnormalities detected in the pancreas, stomach, small intestine, large intestine, thyroid, parathyroid, adrenal, spleen, lymph node, bone marrow and brain from animals of control and 800 mg/kg groups killed by design after treatment period.

Table 26 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with N-cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide in the 28-day repeat dose toxicity test

Organ	Findings	Grade	Dose (mg/kg)	After treatment period					After recovery period	
				0	25	80	250	800	0	800
			No. of animals	6	6	6	6	6	6	6
Lung	Mineralization, artery	-	5	-	-	-	-	6	-	-
		+	1	-	-	-	-	0	-	-
	Accumulation, foam cell	-	4	-	-	-	-	5	-	-
		+	2	-	-	-	-	1	-	-
Liver	Microgranuloma	-	5	-	-	-	-	5	-	-
		+	1	-	-	-	-	1	-	-
Kidney	Mineralization, cortico-medullary junction	-	5	-	-	-	-	6	-	-
		+	1	-	-	-	-	0	-	-
	Basophilic tubules, cortex	-	3	-	-	-	-	4	-	-
		+	3	-	-	-	-	2	-	-
	Cellular infiltration, lymphocyte, cortex, focal	-	5	-	-	-	-	4	-	-
		+	1	-	-	-	-	2	-	-
	Dilatation, collecting tubule, focal	-	5	-	-	-	-	6	-	-
		+	1	-	-	-	-	0	-	-
Thymus	Hemorrhage	-	5	-	-	-	-	6	-	0
		+	1	-	-	-	-	0	-	1*
Adrenal	Metaplasia, osseous, zona glomerulosa	-	5	-	-	-	-	6	-	-
		+	1	-	-	-	-	0	-	-
Tongue	Ulcer	-	-	-	-	-	-	0	-	-
		+	-	-	-	-	-	1*	-	-

- : Negative; + : Slight; - : Not examined

* : Examined the animal with macroscopical abnormality in the thymus or tongue

No abnormalities detected in the heart, pancreas, stomach, small intestine, large intestine, urinary bladder, ovary, pituitary, thyroid, parathyroid, spleen, lymph node, bone marrow and brain from animals of control and 800 mg/kg groups killed by design after treatment period.