

Potassium clavulanate および BRL 28500 の
イヌにおける静脈内投与亜急性毒性試験

小結 明子・倉片 康雄・小柳 純子・西岡 佳隆・幸嶋 祥亘
ビーチャム薬品株式会社

永田 良一・大西 瑞男・小林 啓三
佐藤 堅・片山 輝久・永田 次雄
株式会社新日本科学

TERRY L. HARDY
Beecham Pharmaceuticals Research Division

Potassium clavulanate (CVA-K) (20, 40, 80, 150 mg/kg) および BRL 28500 (160, 320, 800, 1,600 mg/kg) のビーグル犬における5週間静脈内投与亜急性毒性試験および5週間回復試験を実施した。

死亡例は CVA-K 150 mg/kg 投与群の雄2例雌1例に見られた。

一般状態観察においては、CVA-K 80 mg/kg 以上の投与群で皮膚および粘膜の発赤、150 mg/kg 投与群で主に嘔吐、活気消失、削瘦、体重減少、摂餌量減少が、さらに死亡例では極度の衰弱が見られた。また、BRL 28500 800 mg/kg 以上の投与群で皮膚および粘膜の発赤、嘔吐、流涎、1,600 mg/kg 投与群で主に顔面浮腫、耳介丘疹、体重減少が見られた。

血液学的検査では、CVA-K 80 mg/kg 以上の投与群で赤血球数、ヘマトクリットおよびヘモグロビンの減少、150 mg/kg 投与群で網赤血球数および白血球数の増加が認められた。また、BRL 28500 320 mg/kg 以上の投与群で APTT の延長、1,600 mg/kg で赤血球数、ヘマトクリットおよびヘモグロビンの減少が認められた。血清生化学的検査では、CVA-K 80 mg/kg 以上の投与群で ALP および総ビリルビンの上昇、150 mg/kg 投与群で BUN およびクレアチニンの上昇などが認められた。BRL 28500 投与群では特に異常は認められなかった。

病理学的検査では、CVA-K 80 mg/kg 以上の投与群で肝重量増加および肝細胞内 PAS 陽性物質の偏在(光頭)、150 mg/kg 投与群で腎重量増加および尿管上皮の再生像(電頭)が見られた。また、BRL 28500 1,600 mg/kg 投与群で肝重量増加および投与部位の硬結が見られた。

上記の所見および変化はいずれも軽度で、投与期間あるいは休薬期間終了時には回復性を示した。

以上の結果から、本試験の最大無影響量は CVA-K では 40 mg/kg/日、BRL 28500 では 160 mg/kg/日 と推定された。

BRL 28500 は、 β -lactamase 阻害作用を有する clavulanic acid (CVA) のカリウム塩 (CVA-K) と ticarcillin (TIPC) を遊離酸重量として 1:15 に配合した抗生物質である。

今回、著者らは CVA-K および BRL 28500 を用いて、静脈内投与によるイヌでの5週間亜急性毒性試験を実施したので、その結果について報告する。

I. 実験材料および方法

1. 検体

CVA-K および BRL 28500 とともに投与量が 4 ml/kg

になるように注射用生理食塩液を用いて用時調製した。

2. 使用動物および飼育条件

(株)新日本科学で生産された7~8カ月齢ビーグル犬雄雌各60頭(体重雄6.9~10.4 kg, 雌7.0~10.6 kg)を使用した。

動物は検疫後室温 23±2°C, 相対湿度 55±10% の設定下で個別ケージに収容し、固型飼料 VE-10 (日本ペットフード(株)) を1日あたり 350 g 与え、水(水道法水質基準適合井戸水)は自由に摂取させた。

群編成は両検体とも、対照群を加えて5群とし、各群

雄雌それぞれ6頭（回復試験用雄雌各2頭を含む）とした。

3. 投与方法

投与は用時調製した検体溶液を前肢橈側皮静脈内へ7 ml/min. の投与速度で、1日1回5週間連続で行った。対照群には注射用生理食塩液 4 ml/kg を同様に投与した。また、休薬期間は5週間とした。

4. 投与量の設定

投与量は先に実施された用量設定試験を参考に、CVA-K では毒性変化が予想される量として 150 mg/kg, BRL 28500 では連続投与可能な量として 1,600 mg/kg をそれぞれ最高用量とした。以下の投与量は CVA-K については 80, 40 および 20 mg/kg を、BRL 28500 については 800, 320 および 160 mg/kg を設定した。なお、投与量は全て遊離酸表示とした。

5. 検査項目および検査方法

検査は一部を除き各群全例について行った。

(1) 一般状態、体重、摂餌量および摂水量

一般状態の観察および摂餌量の測定は毎日、体重および摂水量の測定は週1回行った。

(2) 眼科学的検査

投与開始前、投与5週目および休薬5週目にスリットランプおよび眼底カメラを用いて観察した。

(3) 心電図

投与開始前および投与5週目に各群雄雌それぞれ3頭、休薬5週目に各群雄雌それぞれ2頭について、心電計を用いて A-B 双極誘導および A-B 増高単極誘導心電図を記録した。

(4) 尿検査

投与開始前、投与2, 5週目および休薬5週目に、新鮮尿で pH, 蛋白, 糖, 潜血, ケトン体, ビリルビン, ウロビリノーゲン, 比重および尿沈渣を検査した。また、24時間蓄積尿で色調の検査および尿量, Na, K および Cl を測定した。

(5) 血液学的検査

投与開始前2回、投与2, 5週目および休薬5週目に EDTA 処理血液について赤血球数, 白血球数, ヘマトクリット, ヘモグロビン, 血小板数, 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球ヘモグロビン (MCH) および平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) を測定した。さらに末梢血液像および網赤血球数を検査した。また、クエン酸ナトリウム処理血液について、プロトロンビン時間 (PT) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) を測定した。

(6) 血清生化学的検査

(5) と同時期の血清について GOT, GPT, アルカリ

フォスファターゼ (ALP), クレアチンフォスフォキナーゼ (CPK), 総ビリルビン, 総蛋白, アルブミン, A/G, 総コレステロール, トリグリセリド, 血糖, BUN, クレアチニン, 尿酸, 無機リン, Ca, Na, K, Cl および蛋白分画を測定した。

(7) 剖検および器官重量

死亡例は発見後、生存例は投与期間あるいは休薬期間終了日の翌日 (24時間絶食後) にペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死後、速やかに剖検し肉眼的観察を行い、脳, 下垂体, 顎下腺, 甲状腺, 心臓, 胸腺, 肺, 肝臓, 副腎, 腎臓, 脾臓, 膵臓, 精巣, 前立腺, 精巣上体, 卵巣および子宮の重量を測定した。さらに、これらの器官の体重に対する相対重量も算出した。また、剖検時に胸骨の骨髓有核細胞数を検査した。

(8) 病理組織学的検査

重量を測定した器官に加え、脊髄, 坐骨神経, 喉頭, 気管, 気管支, 上皮小体, 舌, 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, 胆嚢, 膀胱, 大動脈, 腸間膜リンパ節, 顎下リンパ節, 大腿四頭筋, 骨髓, 皮膚 (非投与部位, 投与部位) および乳腺を 10% 中性ホルマリン固定し、さらに視神経を含む眼球を Bouin 固定した後、常法に従いそれぞれ切片を作製し H-E 染色後、それぞれ光学顕微鏡下で観察した。肝臓および腎臓については別に PAS 染色, Oil Red O 染色も実施し、同様に観察した。

(9) 電子顕微鏡検査

CVA-K, BRL 28500 とも、対照群および最高用量群の雄雌各2例について投与期間終了後および休薬期間終了後に肝臓および腎臓の電子顕微鏡検査を行った。

(10) 統計処理

尿沈渣および一般状態で Grade の無い項目については FISHER 検定, その他の項目については PITMAN 検定を行った。さらに用量相関性の検定として JONCKHEERE の方法を実施した。

II. 実験結果

1. 一般状態

CVA-K では、150 mg/kg 投与群の雌1例が投与5日目に死亡し、11日目には同群雌2例の死亡が発見された。これらの死亡例では死亡に至るまでに活気消失, 脱水徴候, 消瘦, 極度の衰弱が見られた。生存例では主に 150 mg/kg 投与群で投与期間前半に皮膚および粘膜の発赤, 嘔吐が、後半に活気消失, 眼脂, 流涙, 消瘦が観察された。

BRL 28500 では、死亡例は見られず、主に 1,600 mg/kg 投与群で投与期間全般にわたり皮膚および粘膜の発赤, 首振り, 前半に嘔吐, 顔面浮腫, 耳介丘疹が、後

半に流涎, 投与部位の硬結が見られた。

休薬期間中は, 初期に BRL 28500 の 1,600 mg/kg 投与群で投与部位の硬結が引き続き観察されたほかは, CVA-K, BRL 28500 投与群ともに著変は見られなかった。

2. 体重 (Fig. 1~4)

CVA-K では, 150 mg/kg 投与群の生存例の雄で軽度体重減少が投与1週目に認められ, その後もやや増加抑制傾向であった。同群の雌でも投与期間を通して減少傾向が見られた。

BRL 28500 では, 1,600 mg/kg 投与群で軽度体重減少が投与2週目まで認められたが, その後回復傾向を示した。

休薬期間中は CVA-K, BRL 28500 投与群ともに順調

に経過した。

3. 摂餌量

CVA-K では, 150 mg/kg 投与群の生存例で摂餌量の減少が投与2週目まで特に雄で強く認められたが, その後回復傾向を示した。死亡例では, 摂餌量の減少または食欲廃絶が雌で投与2日目から, 雄2例で5日目からいずれも死亡日まで見られた。

BRL 28500 では, 1,600 mg/kg 投与群の雌1例に軽度の摂餌量減少が投与3日目まで見られたほかは全例完全摂餌を示した。

休薬期間中は CVA-K, BRL 28500 投与群ともに全例完全摂餌した。

4. 摂水量

CVA-K, BRL 28500 投与群ともに検体投与の影響と

Fig. 1 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles

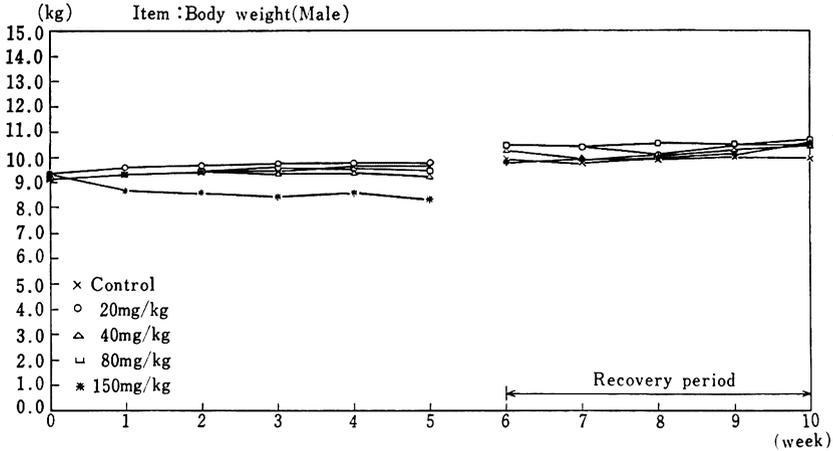


Fig. 2 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles

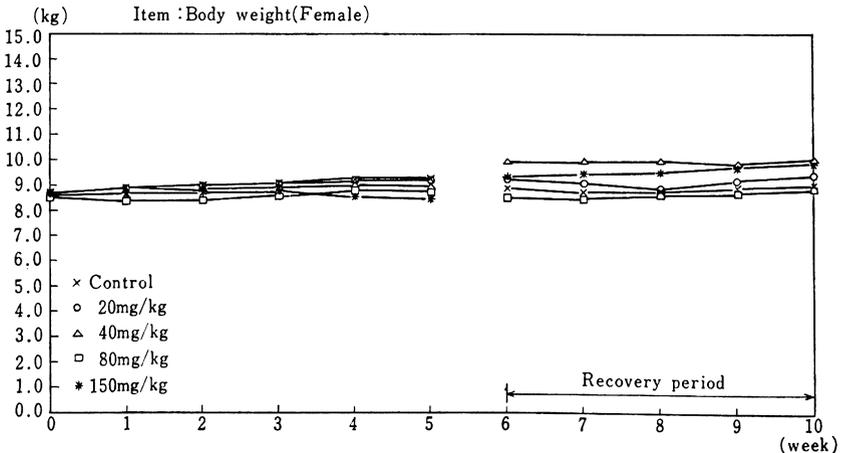


Fig. 3 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles

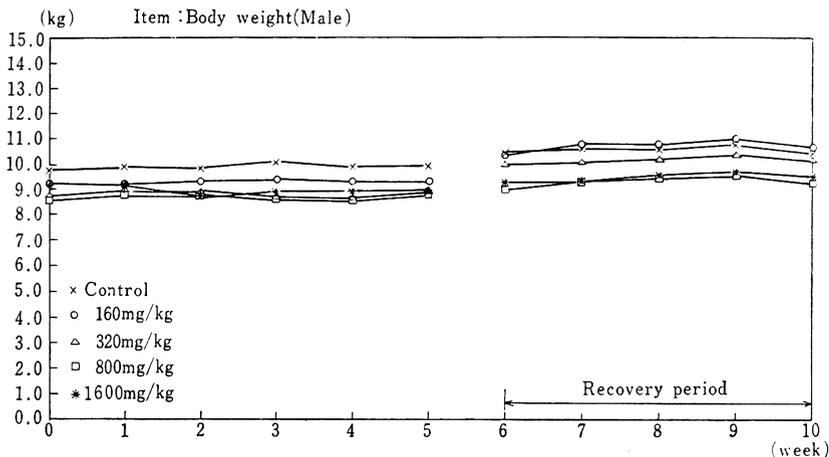
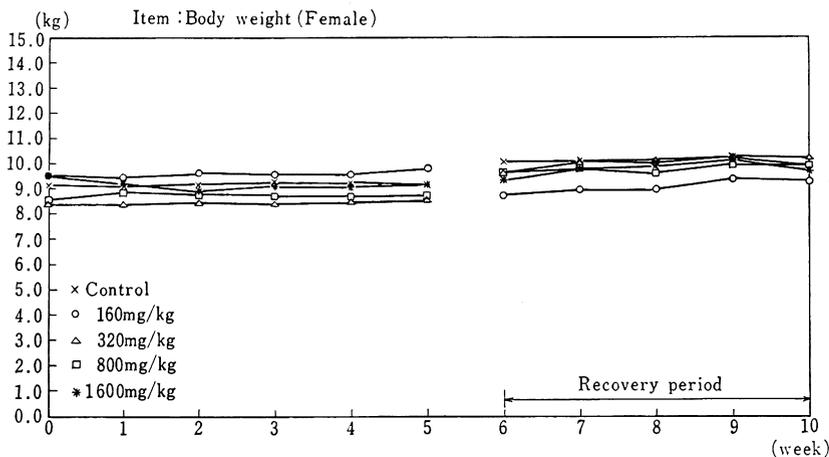


Fig. 4 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles



思われる変化は認められなかった。

5. 眼科学的検査, 心電図および尿検査

いずれの検査においても CVA-K, BRL 28500 投与群とも, 検体投与の影響と思われる変化は見られなかった。

6. 血液学的検査 (Table 1, 2)

CVA-K では, 150 mg/kg 投与群の雄で赤血球数, ヘマトクリットおよびヘモグロビンの軽度減少およびこれらの変化に伴ったと思われる赤血球平均恒数の軽度変動が投与2週目から, 網赤血球数および白血球数の軽度増加が投与5週目に認められた。80 mg/kg 以上の雌でも赤血球系で同傾向は認められたが, 極めて軽度であった。

BRL 28500 では, 1,600 mg/kg 投与群の雄で赤血球

数, ヘマトクリットおよびヘモグロビンの軽度減少が投与2週目から認められた。同傾向は同群の雌でも認められたが極めて軽度であった。この他, 320 mg/kg 以上の投与群の雄雌で APTT の軽度延長が投与2週目に認められたが, 5週目には回復した。

休薬期間終了時には, CVA-K, BRL 28500 投与群とも, 投与期間中に認められた変化は回復または回復傾向を示した。

7. 血清生化学的検査 (Table 3, 4)

CVA-K では, 80 mg/kg 以上の投与群の雄雌で, ALP の上昇, 総ビリルビンの軽度上昇, K の軽度減少が投与2週目から, あるいは5週目に認められた。また, GOT および GPT に軽度上昇を示した例が散見された。150 mg/kg 投与群の雄雌では, これらの変化のほか

Table 1-1 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Haematology

Sex	Male					Female					
	Day	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)		Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	
RBC (1.0 E10/L)	-5	780 ± 65	783 ± 51	723 ± 40	754 ± 49	731 ± 60	754 ± 27	779 ± 22	760 ± 45	715 ± 68	744 ± 38
	-1	741 ± 87	748 ± 51	715 ± 38	712 ± 58	732 ± 48	727 ± 19	755 ± 19*	746 ± 47	681 ± 40*	741 ± 59
	13	790 ± 46##	738 ± 54	694 ± 23**	691 ± 52*	619 ± 130**	722 ± 28	750 ± 34	708 ± 30	645 ± 83	707 ± 28
	34	780 ± 25##	746 ± 46	708 ± 27**	711 ± 34**	487 ± 124**	748 ± 29##	757 ± 29	741 ± 27	619 ± 91**	637 ± 83*
	69	790 ± 15##	744 ± 23	770 ± 9	690 ± 40	684 ± 45	773 ± 40#	745 ± 87	720 ± 13	592 ± 55	649 ± 1
WBC (1.0 E8/L)	-5	116 ± 29	102 ± 20	82 ± 23	126 ± 18	110 ± 35	135 ± 19	107 ± 15*	115 ± 18	106 ± 39	134 ± 28
	-1	114 ± 27	126 ± 25	96 ± 28	114 ± 32	117 ± 34	142 ± 15	130 ± 48	113 ± 16*	107 ± 22*	135 ± 26
	13	102 ± 19	101 ± 18	77 ± 19*	103 ± 15	111 ± 38	125 ± 21	108 ± 16	104 ± 22	97 ± 30	118 ± 22
	34	102 ± 19#	100 ± 21	90 ± 23	121 ± 9	161 ± 28*	130 ± 12	142 ± 32	128 ± 29	109 ± 38	154 ± 36
	69	127 ± 27	100 ± 31	85 ± 4	126 ± 3	145 ± 31	137 ± 13	106 ± 8	128 ± 26	93 ± 59	113 ± 18
Ht (%)	-5	50.0 ± 3.2	52.7 ± 4.4	49.0 ± 2.7	49.3 ± 3.0	47.5 ± 4.5	48.7 ± 2.6	53.3 ± 2.0*	50.8 ± 2.8	49.0 ± 3.6	49.5 ± 2.3
	-1	47.9 ± 4.6	50.5 ± 4.0	48.9 ± 2.4	46.8 ± 3.1	48.3 ± 3.8	47.1 ± 1.9	51.3 ± 1.6**	50.0 ± 4.0	46.6 ± 1.9	49.6 ± 3.6
	13	50.1 ± 2.3##	48.8 ± 3.6	46.5 ± 2.1*	45.5 ± 3.5*	42.1 ± 6.8*	46.2 ± 2.8	50.0 ± 1.8*	46.6 ± 2.5	45.1 ± 5.1	47.2 ± 1.2
	34	48.8 ± 2.1##	48.4 ± 3.1	46.8 ± 2.2	46.5 ± 2.4	36.1 ± 7.4**	47.3 ± 3.0#	49.8 ± 1.5	48.2 ± 1.7	42.7 ± 4.9	44.6 ± 4.6
	69	52.3 ± 0.4#	50.5 ± 2.1	52.0 ± 1.4	46.3 ± 1.8	46.0 ± 2.8	51.5 ± 4.2#	52.3 ± 2.5	49.8 ± 0.4	44.5 ± 4.2	46.8 ± 1.8
Hb (g/dl)	-5	17.3 ± 1.2#	17.8 ± 1.2	16.8 ± 1.0	16.6 ± 1.2	16.3 ± 1.7	16.3 ± 0.9	17.6 ± 1.1*	17.1 ± 0.7	16.6 ± 1.1	16.6 ± 0.8
	-1	16.6 ± 1.5	16.9 ± 1.3	16.4 ± 0.8	15.7 ± 1.1	16.3 ± 1.4	15.7 ± 0.6	17.1 ± 0.9*	16.8 ± 1.2	15.8 ± 0.8	16.7 ± 1.0
	13	17.6 ± 0.9##	16.7 ± 1.2	15.9 ± 0.6**	15.4 ± 1.0**	13.8 ± 2.6**	15.8 ± 1.0	17.0 ± 1.0	16.0 ± 0.5	15.4 ± 2.1	16.0 ± 0.4
	34	17.4 ± 0.7##	17.0 ± 1.0	16.3 ± 0.7*	16.0 ± 0.8**	11.6 ± 2.6**	16.4 ± 1.0##	17.1 ± 0.4	16.8 ± 0.3	14.8 ± 1.8	14.8 ± 1.5
	69	18.0 ± 0.1#	17.0 ± 0.6	18.1 ± 0.7	15.6 ± 0.9	15.4 ± 0.6	17.3 ± 1.5#	16.8 ± 1.3	17.0 ± 0.1	14.5 ± 1.9	15.7 ± 0.1

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 1-2 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Haematology

Sex	Male						Female								
	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Platelet (1.0E10/L)	-5	24.0±3.2	22.3±2.0	25.2±2.8	24.4±4.6	26.1±3.1	25.8±3.8	26.8±5.4	33.5±12.8	26.4±5.6	25.3±4.5	26.8±5.4	27.7±10.6	27.0±6.3	27.0±6.3
	-1	22.2±1.5	23.3±3.0	25.6±4.0	22.3±0.8	26.0±4.8	25.9±3.2	27.6±8.3	27.4±7.6	27.0±1.4*	25.4±3.9	27.6±8.3	27.4±7.6	27.0±1.4*	27.0±1.4*
	13	24.1±2.6#	22.8±1.3	25.4±4.5	22.2±0.7	21.7±0.6	27.4±3.1	26.0±6.7	27.6±7.1	22.8±1.4	24.9±4.2	26.0±6.7	27.4±7.6	22.0±1.4*	22.0±1.4*
	34	25.7±3.1#	23.8±2.8	24.0±4.1	23.2±4.6	22.0±2.0	24.7±4.2	25.2±6.1	21.4±1.0	22.8±1.4	25.8±4.2	25.2±6.1	27.6±7.1	22.8±1.4	22.8±1.4
	69	28.8±5.2	21.8±0.1	29.2±2.3	25.2±0.6	32.5±2.2	28.8±1.0	31.2±5.4	21.4±1.0	35.2±0.5	31.2±5.4	31.2±5.6	21.4±1.0	35.2±0.5	35.2±0.5
MCV (fL)	-5	64.2±2.1	67.2±1.3*	67.8±1.9*	65.5±2.3	65.0±1.8	64.5±1.8	67.0±2.7	68.7±3.4*	66.5±2.4	68.3±2.2**	67.0±2.7	68.7±3.4*	66.5±2.4	66.5±2.4
	-1	65.0±2.4	67.5±1.5	68.5±1.8*	66.0±2.3	66.2±2.3	64.8±2.1	66.8±3.3	68.5±3.4*	67.0±3.1	67.8±1.2*	66.8±3.3	68.5±3.4*	67.0±3.1	67.0±3.1
	13	63.5±1.9#	66.0±1.4*	67.2±1.6**	66.0±2.0	68.8±4.9*	63.8±2.1#	66.0±3.2	70.2±3.8**	66.8±2.6	66.7±1.6*	66.0±3.2	70.2±3.8**	66.8±2.6	66.8±2.6
	34	62.7±1.5##	65.0±1.3*	66.2±1.7**	65.3±2.3*	75.5±6.0**	63.3±2.0##	65.0±3.2	69.3±3.1**	70.4±3.4**	65.8±1.3*	65.0±3.2	69.3±3.1**	70.4±3.4**	70.4±3.4**
	69	66.5±0.7	67.5±0.7	67.5±0.7	67.0±1.4	67.0±0.0	66.5±2.1	69.5±0.7	75.0±0.0	72.0±2.8	70.5±4.9	69.5±0.7	75.0±0.0	72.0±2.8	72.0±2.8
MCH (pg)	-5	22.2±0.7	22.8±0.5	23.2±0.3*	22.0±0.7	22.3±0.7	21.6±0.7	22.6±1.3	23.3±1.2*	22.4±0.6	22.6±0.9	22.6±1.3	23.3±1.2*	22.4±0.6	22.4±0.6
	-1	22.4±0.9	22.6±0.8	23.0±0.9	22.1±0.7	22.2±0.7	21.6±0.7#	22.6±1.1	23.3±0.8**	22.6±0.9	22.6±0.7*	22.6±1.1	23.3±0.8**	22.6±0.9	22.6±0.9
	13	22.3±0.7	22.7±0.6	23.0±0.8	22.4±1.0	22.3±0.7	21.9±0.6#	22.6±1.2	23.8±1.1**	22.7±0.4*	22.6±0.5	22.6±1.2	23.8±1.1**	22.7±0.4*	22.7±0.4*
	34	22.4±0.8	22.8±0.6	23.0±0.6	22.4±0.5	24.0±1.3*	21.9±0.6##	22.7±1.0	24.0±1.1**	23.3±1.0*	22.6±0.7	22.7±1.0	24.0±1.1**	23.3±1.0*	23.3±1.0*
	69	22.8±0.6	22.8±0.1	23.5±0.7	22.7±0.1	22.5±0.6	22.3±0.7##	23.6±0.5	24.4±0.9	24.2±0.1	22.7±0.9	23.6±0.5	24.4±0.9	24.2±0.1	24.2±0.1

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 1-3 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Haematology

Sex	Male						Female					
	Day	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	
MCHC (%)	-5	34.7±0.5	33.9±0.5*	34.2±1.0	33.7±0.9*	34.3±0.3	33.5±0.8	33.0±1.1	33.8±1.3	33.9±0.7	33.6±0.6	
	-1	34.6±0.4	33.5±0.8*	33.5±1.1*	33.6±0.9*	33.6±0.6*	33.4±1.1	33.3±1.0	33.7±1.3	34.0±0.7	33.7±1.0	
	13	35.1±0.3##	34.3±0.4**	34.3±1.3	34.0±0.9*	32.5±1.6**	34.2±0.8	33.9±1.1	34.4±1.2	34.0±1.9	34.0±0.7	
	34	35.7±0.4##	35.1±0.7	34.9±1.0	34.3±0.7**	31.9±1.1**	34.7±1.2#	34.4±1.1	34.9±0.9	34.6±0.8	33.1±0.4*	
	69	34.5±0.5	33.6±0.1	34.8±0.4	33.7±0.6	33.4±0.7	33.5±0.1	32.2±0.9	34.1±0.4	32.5±1.2	33.5±1.4	
N-st. (%)	-5	12.0±3.8	14.2±3.4	15.0±4.1	10.8±4.3	15.2±2.5	15.0±2.7	14.2±2.6	15.5±2.8	16.7±1.5	14.8±3.7	
	-1	11.3±2.2	13.0±3.0	13.0±3.0	9.7±2.7	12.3±3.3	12.8±1.6	11.5±2.1	13.8±2.2	12.2±2.9	13.3±3.2	
	13	11.5±2.7	12.7±2.7	11.3±2.0	10.8±1.8	12.0±2.6	12.8±3.2	12.8±2.5	13.0±2.7	11.8±2.1	12.0±2.9	
	34	13.5±1.2	14.3±2.2	14.8±1.9	13.5±2.9	14.0±0.8	10.8±3.1	13.5±1.9	14.0±2.0	12.2±3.1	14.4±1.5	
	69	12.5±2.1	11.0±1.4	13.5±2.1	13.5±0.7	15.0±1.4	11.0±2.8	14.5±0.7	14.0±1.4	14.5±4.9	11.5±3.5	
N-seg. (%)	-5	51.2±3.8	42.5±4.8*	47.8±5.8	47.3±6.8	43.0±5.7*	42.7±5.1#	38.2±4.8	45.7±5.1	46.2±6.0	46.7±2.8	
	-1	51.5±2.9	47.8±3.1	49.3±1.6	51.3±3.8	48.7±5.0	47.8±2.6	45.0±3.3	47.7±4.8	50.5±3.1	47.8±3.9	
	13	50.7±3.3	48.7±2.3	50.8±4.1	51.2±3.3	50.3±5.2	49.2±3.8	47.3±3.3	48.5±3.2	49.3±4.0	48.4±4.2	
	34	50.7±4.2	45.5±2.9	47.5±4.9	47.0±5.1	50.5±10.1	49.5±6.7	45.8±4.4	48.7±3.0	49.8±2.5	51.4±7.2	
	69	49.0±1.4	52.0±0.0	52.5±3.5	50.5±2.1	47.5±6.4	52.0±4.2	49.5±3.5	48.0±5.7	51.0±2.8	51.0±4.2	
Eosino. (%)	-5	10.2±1.2#	6.7±3.2*	7.3±2.9*	8.0±3.2	6.8±1.9**	6.3±2.2	7.3±1.8	5.5±3.0	7.5±2.5	6.2±2.5	
	-1	8.2±1.5	6.2±1.8	6.0±0.9*	6.5±1.5	6.3±1.8	5.3±1.2	7.0±1.1	5.2±1.5	6.5±1.5	5.5±1.6	
	13	6.7±1.0	6.0±2.4	6.5±1.9	6.5±1.0	6.3±1.7	5.2±1.5	5.8±1.8	5.8±1.7	6.2±1.9	5.8±1.5	
	34	5.5±1.4	5.3±2.7	4.2±2.1	6.7±2.1	4.8±1.9	3.8±2.0	4.2±1.3	5.7±2.2	4.7±3.1	4.8±1.6	
	69	6.0±1.4	5.0±1.4	3.5±0.7	5.5±0.7	5.0±0.0	5.0±1.4	4.5±0.7	6.0±1.4	4.0±0.0	7.5±2.1	

Significance of treatment-control difference : *P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01 ; Dose response : #P ≤ 0.05, ##P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150 mg/kg is four for males and five for females.

Table 1-4 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Haematology

Sex	Male						Female					
	Day	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	
Baso. (%)	-5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	
	-1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	
	13	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	
	34	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	
	69	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	
Mono. (%)	-5	2.7±1.4	2.8±0.8	3.2±1.7	2.7±0.5	3.3±1.0	3.2±1.2	4.0±1.5	3.2±1.6	2.5±0.8	2.8±1.2	
	-1	2.3±1.0	2.2±0.8	2.8±1.2	3.0±1.3	2.2±0.8	2.8±1.2	3.0±0.6	2.3±1.0	1.8±1.0	2.7±0.8	
	13	2.3±1.0	2.7±1.2	2.2±1.2	2.3±1.0	1.8±1.0	2.5±1.0	2.7±1.5	2.5±1.4	2.5±1.0	2.8±1.3	
	34	1.3±1.0##	1.3±1.0	1.7±0.8	2.5±1.0	3.3±1.0*	2.5±1.4	2.0±0.9	1.5±1.4	2.8±1.0	3.2±1.3	
	69	1.5±0.7	1.0±0.0	1.5±0.7	2.0±0.0	2.0±1.4	1.0±0.0	2.0±0.0	1.5±0.7	1.5±0.7	2.0±1.4	
Lymph. (%)	-5	24.0±2.1#	33.8±3.9**	26.7±2.7	31.2±4.1**	31.7±3.7**	32.8±5.0#	36.3±2.7	30.2±5.4	27.2±3.2*	29.5±3.8	
	-1	26.7±2.9	30.8±3.5	28.8±2.3	29.5±2.8	30.5±2.4*	31.2±3.2	33.5±2.7	31.0±3.0	29.0±0.6	30.7±2.9	
	13	28.8±3.1	30.0±2.6	29.2±2.6	29.2±2.1	29.8±3.3	30.3±2.1	31.3±2.2	30.2±3.5	30.2±2.9	31.0±1.9	
	34	29.0±3.4	33.5±2.9*	31.8±2.1	30.3±4.2	27.5±9.4	33.3±4.2##	34.5±4.4	30.2±3.3	30.5±4.0	26.2±6.6	
	69	31.0±1.4	31.0±0.0	29.0±1.4	28.5±2.1	30.5±3.5	31.0±2.8	29.5±4.9	30.5±3.5	29.0±2.8	28.0±1.4	

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 1-5 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Haematology

Sex	Male						Female					
	Day	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	
Reticulocyte (1.0E-1%)	-5	7.0±1.7	7.8±2.1	6.0±1.4	6.2±1.0	6.2±1.2	6.7±1.5	6.8±1.5	6.8±1.3	7.5±1.6	6.3±0.8	
	-1	7.8±1.2	7.3±0.8	8.2±1.2	7.7±0.5	8.0±0.9	7.7±1.2	7.3±1.0	8.0±1.3	7.7±0.5	7.7±1.0	
	13	6.5±1.6	5.7±0.8	5.3±0.8	7.0±0.9	6.3±1.0	6.2±0.8	6.8±1.9	6.7±1.0	6.3±1.0	6.8±0.8	
	34	7.3±1.2	6.8±1.3	6.7±1.2	6.8±0.8	13.8±2.4**	7.3±0.8	7.0±1.3	7.0±0.9	7.8±1.5	9.0±1.6	
	69	8.0±0.0	7.5±0.7	6.0±1.4	7.5±0.7	6.0±0.0	6.5±0.7	7.0±1.4	7.0±1.4	6.5±2.1	7.0±0.0	
PT (Sec.)	-5	7.0±0.5	7.2±0.3	7.0±0.3	6.8±0.6	6.9±0.6	7.2±0.8	7.1±0.7	6.6±0.4	6.9±0.8	6.9±0.3	
	-1	7.2±0.8	7.0±0.7	7.5±0.6	6.8±0.3	7.0±0.3	7.1±0.3##	7.1±0.4	7.0±0.8	6.9±0.5	6.3±0.3**	
	13	6.7±0.4#	6.5±0.3	6.9±0.2	6.7±0.3	7.1±0.2	6.7±0.3	6.6±0.3	6.7±0.4	6.4±0.2	6.9±0.3	
	34	6.9±0.3	7.3±0.3*	7.0±0.4	7.0±0.4	7.1±0.4	7.3±0.4	7.1±0.3	6.7±0.3*	7.0±0.3	7.3±0.5	
	69	6.6±0.1	6.9±0.0	7.6±0.9	6.6±0.1	7.1±0.1	6.7±0.3	6.9±0.8	6.5±0.1	7.0±0.6	7.5±0.6	
APTT (Sec.)	-5	18.3±1.0	17.9±0.9	17.1±1.1	17.4±1.3	17.8±0.8	18.1±0.8	17.8±1.1	17.8±1.2	18.1±0.9	18.1±1.0	
	-1	18.3±1.6	17.5±1.4	16.4±0.4*	18.1±0.8	18.6±0.6	18.0±1.2	17.5±0.8	17.7±0.7	18.2±0.7	17.9±1.0	
	13	17.2±0.8	17.6±0.5	16.8±0.9	16.2±0.3*	17.2±1.3	17.3±1.2	17.5±0.5	17.0±0.5	17.0±1.0	17.1±0.6	
	34	17.6±0.4	17.8±0.4	17.9±0.5	17.5±0.6	17.5±0.9	17.7±0.4	17.9±0.7	17.8±0.8	17.7±0.5	17.6±0.9	
	69	17.0±1.7	17.2±2.1	18.9±0.1	17.3±2.1	18.2±0.1	18.2±0.3	17.3±0.9	19.2±0.4	19.3±0.2	17.3±2.1	

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 2-1 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on ERL 28500 in beagles
Item : Haematology

Sex	Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Male					Female				
			Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.	Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.
RBC (1.0 E 10/L)	-6		782±40	752±34	724±68	736±48	756±64	761±65	730±96	784±44	714±84	765±49
	-1		752±38	732±39	690±62	695±48	738±46	740±64	750±90	792±22	719±85	768±36
	13		720±18#	728±40	697±64	661±31**	682±37*	747±62	706±55	773±38	673±86	713±43
	34		734±22##	711±63	680±65	675±38*	625±42**	737±76#	716±40	760±38	669±70	661±52
	69		690±20	756±7	695±16	676±48	731±18	668±55	717±73	758±34	758±69	677±45
WBC (1.0 E 8/L)	-6		120±14	117±26	117±17	127±21	128±29	122±28	126±32	110±17	107±19	110±26
	-1		119±21	117±27	102±10	121±23	119±14	115±31	113±18	107±18	103±19	103±17
	13		112±12	108±24	104±7	111±13	127±30	102±17	115±25	104±26	105±8	107±18
	34		115±22	111±21	105±9	115±13	139±22	115±17	129±31	116±26	106±16	107±12
	69		144±0	129±11	127±2	122±1	125±2	125±23	136±38	125±26	89±9	124±1
Ht (%)	-6		50.4±3.0	48.9±2.3	47.6±4.5	48.3±2.5	48.8±4.6	50.1±3.7	48.3±6.3	51.3±3.0	46.4±5.3	49.4±3.7
	-1		49.6±1.6	48.7±3.5	45.8±4.1*	46.1±2.4*	48.8±2.0	49.3±3.6	50.2±5.9	52.6±1.6	47.5±6.0	50.0±2.3
	13		47.9±1.5	49.6±4.1	46.9±4.3	44.7±2.2*	46.3±2.8	50.4±4.0	47.9±4.1	51.9±1.3	45.1±6.0	48.3±2.9
	34		49.5±2.1##	48.4±4.6	46.2±4.5	46.0±2.2*	44.3±2.0**	50.0±4.9	49.3±4.1	51.1±2.0	45.8±4.6	46.7±3.4
	69		46.3±1.1	54.8±1.1	47.0±0.0	45.8±2.5	49.5±1.4	46.5±1.4	49.0±7.8	50.3±2.5	52.8±4.6	46.8±3.2
Hb (g/dl)	-6		17.5±0.9	16.8±0.8	16.1±1.6	16.3±0.9*	16.6±1.1	16.8±1.3	16.2±2.1	17.4±1.1	16.0±1.8	16.7±1.3
	-1		16.8±0.7	16.5±1.1	15.3±1.3*	15.4±0.9*	16.2±0.9	16.7±1.4	16.8±2.0	17.5±0.5	16.1±1.8	17.1±0.8
	13		16.3±0.5#	16.5±1.2	15.6±1.5	14.8±0.4**	15.3±0.8*	16.9±1.4	16.0±1.4	17.3±0.6	15.4±1.9	16.0±1.1
	34		16.7±0.7##	16.3±1.3	15.5±1.5	15.5±0.8*	14.4±0.8**	16.8±1.5	16.4±1.4	17.1±0.7	15.5±1.5	15.4±1.4
	69		15.6±0.1	17.9±0.4	15.6±0.2	15.2±0.6	16.3±0.4	15.4±0.4	16.5±2.6	17.0±0.7	17.6±0.9	15.7±0.8

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 2-2 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Haematology

Sex	Male						Female								
	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Platelet (1.0E10/L)	-6	29.5±7.0	28.2±6.1	31.5±8.4	29.9±7.1	28.3±4.5	27.3±7.3	25.7±5.0	30.4±8.6	26.4±4.2	28.1±6.1	27.1±8.4	25.7±5.6	30.4±8.6	26.4±4.2
	-1	27.2±6.8	27.5±6.6	30.4±9.4	29.2±6.6	27.8±4.3	27.0±5.4	27.1±8.4	25.7±5.6	30.9±8.6	29.1±6.1	27.0±5.4	25.9±5.4	30.9±8.6	29.1±6.1
	13	29.3±4.9	27.7±6.4	30.3±4.7	30.9±7.8	27.2±6.4	30.4±6.4	27.8±9.6	25.9±5.4	32.3±7.9	28.3±6.7	30.4±6.4	29.6±4.3	32.3±7.9	28.3±6.7
	34	31.1±7.3	35.7±7.5	34.3±7.2	33.2±6.9	35.0±9.2	34.3±5.4	32.0±5.5	29.6±4.3	34.5±5.6	33.0±8.9	34.3±5.4	29.6±4.3	34.5±5.6	33.0±8.9
	69	41.1±1.1	27.1±5.8	34.1±6.2	29.5±8.1	41.0±1.7	37.2±8.3	35.6±7.8	30.2±1.0	30.3±2.3	35.8±7.4	37.2±8.3	35.6±7.8	30.2±1.0	30.3±2.3
MCV (fL)	-6	64.5±2.1	65.0±3.6	66.0±1.7	66.0±1.5	64.7±2.9	66.0±2.5	66.0±2.8	64.8±1.5	64.7±2.1	66.0±2.5	66.0±2.8	65.5±1.5	64.8±1.5	64.7±2.1
	-1	66.2±2.0	66.5±3.9	66.5±1.2	66.3±1.8	66.2±2.4	66.7±2.1	67.0±2.6	66.5±2.1	66.0±2.4	66.7±2.1	67.0±2.6	66.5±2.1	66.0±1.8	65.0±2.4
	13	66.7±1.6	68.2±3.8	67.2±1.5	67.5±1.2	68.0±3.0	67.7±2.1	68.0±2.4	67.3±2.1	67.0±1.7	67.7±2.1	68.0±2.4	67.3±2.1	67.0±1.7	67.8±2.1
	34	67.3±1.6#	68.2±2.8	68.0±2.2	68.3±1.4	71.0±2.8*	68.0±2.4	68.8±2.6	67.2±2.1	68.5±1.2	68.0±2.4	68.8±2.6	67.2±2.1	68.5±1.2	70.7±1.5
	69	67.0±0.0	72.5±0.7	68.0±1.4	68.0±1.4	68.0±0.0	69.5±3.5	68.0±4.2	66.0±0.0	69.5±0.7	69.0±0.0	68.0±4.2	66.0±0.0	69.5±0.7	69.0±0.0
MCH (pg)	-6	22.4±0.6	22.4±1.0	22.2±0.5	22.1±0.4	21.9±0.8	22.1±0.6	22.2±0.7	22.4±0.7	21.9±0.6	22.1±0.6	22.2±0.7	22.2±0.6	22.4±0.7	21.9±0.6
	-1	22.3±0.6	22.5±0.9	22.2±0.7	22.2±0.5	22.0±0.5	22.6±0.7	22.4±0.6	22.0±0.5	22.3±0.7	22.6±0.7	22.4±0.6	22.0±0.5	22.4±0.5	22.3±0.7
	13	22.7±0.5	22.6±0.9	22.4±0.4	22.4±0.5	22.4±0.3	22.6±0.6	22.6±0.7	22.4±0.6	22.9±0.5	22.6±0.6	22.6±0.7	22.4±0.6	22.9±0.5	22.5±0.8
	34	22.8±0.4	23.0±0.8	22.8±0.6	23.0±0.4	23.0±0.6	22.8±0.8	22.9±0.9	22.6±0.5	23.2±0.5	22.8±0.8	22.9±0.9	22.6±0.5	23.2±0.5	23.2±0.5
	69	22.6±0.4	23.6±0.3	22.4±0.2	22.5±0.6	22.3±0.1	23.1±1.3	23.0±1.2	22.5±0.1	23.3±1.0	23.1±1.3	23.0±1.2	22.5±0.1	23.3±1.0	23.1±0.4

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 2-3 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Haematology

Sex	Dose (mg/kg) I.o. of animals Item (Unit)	Day	Male					Female				
			Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.	Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.
MCHC (%)	-6		34.7±0.5	34.4±0.6	33.8±0.5*	33.7±1.0	34.0±1.4	33.6±0.6	33.8±0.4	34.5±1.1	33.9±0.6	
	-1		33.9±0.6	33.8±0.8	33.4±0.6	33.4±1.1	33.2±1.2	33.8±0.8	33.2±0.5	33.8±1.0	34.2±0.6	
	13		34.0±0.3#	33.3±0.7*	33.3±0.7*	33.2±1.0	33.0±1.1**	33.5±0.5	33.4±0.4	34.1±0.9	33.2±0.6	
	34		33.8±0.3##	33.8±0.7	33.5±0.4	33.7±0.6	32.4±0.7**	33.5±0.2	33.6±0.3	33.8±0.6	32.9±0.8	
	69		33.8±0.5	32.6±0.0	33.1±0.4	33.1±0.4	32.9±0.2	33.2±0.1	33.9±0.2	33.4±1.3	33.5±0.6	
N-st. (%)	-6		10.3±1.8	8.8±1.8	9.3±3.3	9.3±2.1	11.0±2.7	9.0±2.5	9.3±2.3	9.2±2.6	8.7±2.4	
	-1		8.7±2.4	11.0±1.8	9.3±1.2	8.8±3.1	8.8±1.9	9.3±2.0	8.7±2.4	9.0±1.9	10.2±3.3	
	13		9.0±2.2	10.7±3.1	8.8±2.3	9.3±1.2	8.5±2.3	9.0±2.3	9.8±1.2	8.5±1.4	9.0±2.2	
	34		8.0±1.5	6.2±1.2	6.7±1.8	7.7±1.5	8.2±1.2	7.7±2.0	8.2±1.0	6.3±1.0	8.0±2.0	
	69		9.5±0.7	8.5±2.1	7.0±1.4	7.5±0.7	6.5±0.7	7.5±0.7	7.0±1.4	7.5±0.7	8.5±2.1	
N-seg. (%)	-6		51.0±3.2	51.0±2.8	53.2±3.6	51.7±2.4	50.7±5.2	53.8±3.1	50.3±3.2	54.0±5.1	50.5±4.2	
	-1		50.0±2.9#	48.7±3.1	52.0±3.5	52.8±6.6	54.0±4.4	51.3±4.4	53.0±2.3	53.7±1.6	51.0±3.8	
	13		52.7±3.3	49.0±3.5	52.5±3.9	52.7±2.2	52.7±2.1	52.8±3.7	52.5±3.3	54.2±1.6	53.2±3.9	
	34		52.2±4.4	50.8±3.6	54.2±5.9	51.2±3.1	51.7±2.3	52.2±4.1	52.0±3.3	52.5±1.6	53.5±2.4	
	69		51.5±4.9	52.0±7.1	54.5±0.7	53.0±1.4	55.0±2.8	53.0±1.4	55.0±7.1	53.5±0.7	52.0±0.0	
Eosino. (%)	-6		5.2±1.6	5.0±2.4	4.8±1.2	5.5±1.9	5.8±1.5	4.8±1.0	5.0±1.4	4.5±1.0	6.2±1.6	
	-1		5.3±1.9	4.7±1.5	4.7±1.5	5.3±1.5	5.2±1.7	5.2±1.2	5.5±0.5	4.7±1.0	5.0±0.9	
	13		4.8±1.0	5.2±1.6	4.8±1.2	5.3±1.6	4.2±1.3	4.8±1.0	5.3±1.2	4.5±1.0	4.8±1.5	
	34		5.3±2.2	5.7±2.3	5.8±2.1	5.3±1.5	6.2±1.7	5.8±2.1	4.7±2.2	5.2±0.8	4.5±1.0	
	69		5.0±1.4	6.0±2.8	5.5±0.7	4.5±2.1	5.5±0.7	5.5±0.7	5.0±1.4	4.5±0.7	6.0±0.0	

Significance of treatment-control difference : * P ≤0.05, ** P ≤0.01; Dose response : # P ≤0.05, ## P ≤0.01
Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 2 1 5 week intravenous subacute toxicity study followed by 5 week recovery test on BRL 28560 in beagles.
Item: Hematology

Sex	Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Male					Female							
			Control 6 Mean ± S.D.	160 6 Mean ± S.D.	320 6 Mean ± S.D.	800 6 Mean ± S.D.	1600 6 Mean ± S.D.	Control 6 Mean ± S.D.	160 6 Mean ± S.D.	320 6 Mean ± S.D.	800 6 Mean ± S.D.	1600 6 Mean ± S.D.			
Baso. (%)		-6	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		-1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		13	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		34	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
		69	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
Mono. (%)		-6	3.2±1.2	3.8±0.4	3.5±1.2	3.8±1.2	3.7±1.0	3.3±0.5	3.7±0.8	4.0±0.6	3.5±0.5	4.2±0.8	3.5±0.5	4.2±0.8	3.7±0.8
		-1	4.5±0.8	3.7±1.5	4.0±1.1	3.8±0.8	3.7±1.2	3.7±1.0	3.8±1.0	3.5±0.8	3.7±1.0	3.8±1.0	4.2±0.8	3.5±0.8	4.2±0.8
		13	3.8±1.0	4.2±1.0	3.7±1.0	4.0±1.4	3.5±0.5	3.7±0.5	3.3±0.5	3.7±0.5	3.3±0.5	3.7±0.5	3.8±0.8	3.7±0.5	3.2±0.8
		34	4.5±1.5	4.8±0.8	4.3±0.5	5.3±1.2	4.3±1.4	4.5±1.0	4.5±1.0	5.0±0.9	4.5±1.0	4.7±0.8	4.7±0.8	4.5±0.8	4.5±0.8
		69	3.5±0.7	3.5±0.7	3.5±0.7	3.5±0.7	3.5±0.7	3.5±0.7	3.0±0.0	3.5±0.7	3.0±0.0	3.5±0.7	3.5±0.7	3.0±0.0	3.0±0.0
Lymph. (%)		-6	30.3±2.2	31.3±3.5	29.2±2.3	29.7±2.7	28.8±2.3	29.0±2.8	30.3±3.5	31.3±2.0	28.8±2.8	30.5±3.3	31.3±2.0	28.8±2.8	30.5±3.3
		-1	31.5±3.7#	32.0±3.1	30.0±2.4	29.2±2.6	28.3±3.7	30.5±2.3	29.5±3.2	29.3±2.7	28.5±1.8	30.2±1.5	29.3±2.7	28.5±1.8	30.2±1.5
		13	29.7±3.0	31.0±2.6	30.2±2.6	28.7±1.9	31.2±2.5	29.7±2.5	30.5±3.6	28.7±2.7	29.0±1.9	29.8±2.4	28.7±2.7	29.0±1.9	29.8±2.4
		34	30.0±3.6	32.5±3.4	29.0±3.9	30.5±3.4	29.7±2.6	29.8±3.7	30.2±2.6	30.2±2.3	31.3±2.2	29.5±2.7	30.2±2.3	31.3±2.2	29.5±2.7
		69	30.5±4.9	30.0±2.8	29.5±2.1	31.5±0.7	29.5±3.5	30.5±0.7	30.5±0.7	28.5±3.5	29.5±3.5	31.0±2.8	29.5±3.5	31.0±2.8	30.5±2.1

Significance of treatment control difference: * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01; Dose response: # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01
Note: On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 2-5 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Haematology

Sex	Male						Female					
	Day	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.		
Reticulocyte (1.0E-1%)	-6	5.7±1.8	5.8±0.8	6.8±1.7	5.7±1.6	7.2±1.5	4.5±0.5	6.0±1.1*	5.5±1.4	4.7±1.0	5.0±0.9	
	-1	6.8±1.3	6.3±1.4	7.7±1.9	5.7±1.0	6.2±1.2	6.3±0.8	6.7±1.2	5.8±1.0	6.0±0.6	5.8±0.4	
	13	5.2±1.2	5.2±1.0	6.2±1.0	5.0±1.1	6.7±0.8*	5.0±0.9	4.8±1.0	4.3±0.5	5.3±0.5	5.3±0.5	
	34	5.8±0.8	5.3±0.8	6.2±1.2	5.2±0.8	6.2±0.8	5.8±0.8	5.0±1.1	5.0±0.9	5.3±0.8	5.2±0.8	
	69	5.5±0.7	6.0±0.0	6.0±1.4	5.5±0.7	5.0±1.4	6.0±1.4	5.0±1.4	5.5±0.7	6.0±1.4	6.0±1.4	
PT (Sec.)	-6	7.4±0.4	7.1±0.3	6.8±0.3*	6.9±0.5	7.2±0.5	6.6±0.3	6.6±0.3	6.8±0.3	6.8±0.5	6.8±0.2	
	-1	7.3±0.5##	7.0±0.5	6.7±0.4	6.4±0.5*	6.6±0.5	6.8±0.4	6.4±0.5	6.8±0.4	6.5±0.9	6.7±0.4	
	13	6.9±0.3#	6.7±0.2	6.4±0.2*	6.5±0.2*	6.5±0.3	6.7±0.2	6.6±0.3	6.6±0.2	6.8±0.6	6.6±0.3	
	34	6.9±0.3#	6.7±0.6	6.5±0.3*	7.4±0.6	7.5±0.5*	6.8±0.2	6.8±0.9	7.1±0.5	7.5±0.6*	7.0±0.5	
	69	7.1±0.6	7.2±0.1	7.3±0.3	7.5±0.5	7.2±0.1	7.3±0.2	7.1±0.0	7.4±0.4	7.8±0.9	7.3±0.0	
APTT (Sec.)	-6	15.7±1.7	15.1±1.1	16.6±2.4	14.6±1.4	14.9±1.8	18.1±1.6	17.7±2.2	19.1±0.8	18.7±1.1	19.0±0.5	
	-1	16.1±1.2	15.9±1.1	16.8±2.0	15.6±1.2	15.7±1.0	17.4±1.6	17.7±1.8	18.0±1.0	18.2±0.8	18.1±1.0	
	13	17.6±0.5##	18.6±0.9*	20.8±0.4*	23.1±1.5**	22.4±1.3**	17.9±0.8##	18.4±0.7	21.7±1.6**	22.9±0.8**	22.7±2.0**	
	64	17.6±0.8#	17.4±1.1	18.3±1.2	18.4±1.7	18.7±1.3	16.8±1.0#	16.5±1.1	19.2±0.7**	19.1±1.2**	18.0±0.5*	
	69	17.5±1.6	17.8±0.9	17.7±0.6	17.9±0.7	18.0±0.2	16.4±0.3	17.1±0.9	18.2±0.6	18.4±0.4	17.3±1.2	

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01
Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 3-1 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Male					Female						
			Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6		
			Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
	GOT (IU/L)	-5	26.3±6.8	25.5±4.0	28.8±2.7	24.8±2.6	25.8±2.5	27.8±4.2	23.3±4.5	27.7±4.2	26.2±6.1	29.3±5.5	29.3±5.5	29.3±5.5
		-1	28.5±2.4	28.3±3.9	25.5±2.6	28.2±4.8	28.0±6.3	28.7±2.6	26.3±2.8	28.7±2.6	27.8±6.3	30.3±5.2	30.3±5.2	30.3±5.2
		13	26.5±4.8	22.3±3.3	21.8±1.2*	23.3±3.7	26.3±3.0	24.0±4.0	20.5±2.9**	24.0±4.0	22.8±6.6	27.8±6.7	27.8±6.7	27.8±6.7
		34	23.3±2.3	20.7±3.0	20.3±2.0*	19.0±3.3*	32.3±11.3	21.5±1.6	19.5±3.3*	21.5±1.6	18.7±4.8*	29.8±6.3	29.8±6.3	29.8±6.3
		69	29.0±1.4	20.5±0.7	26.0±4.2	20.5±2.1	34.5±7.8	22.5±4.9	23.5±3.5	22.5±4.9	24.5±9.2	29.0±5.7	29.0±5.7	29.0±5.7
	GPT (IU/L)	-5	29.0±7.5	34.7±3.5	31.3±5.9	28.3±7.2	27.2±7.9	27.5±5.4	27.8±3.7	27.5±5.4	31.2±6.7	26.5±8.5	26.5±8.5	26.5±8.5
		-1	29.5±6.5	34.2±4.5	29.2±5.3	30.0±6.8	24.3±5.4	24.0±5.9	27.8±5.1	24.0±5.9	29.2±6.2	28.0±7.2	28.0±7.2	28.0±7.2
		13	28.5±6.1	28.5±5.2	22.2±2.6*	30.2±9.0	37.0±18.5	21.3±5.5	21.2±3.8	21.3±5.5	23.2±3.6	31.0±15.1	31.0±15.1	31.0±15.1
		34	24.3±2.3	27.5±2.3	20.3±4.4	29.8±19.7	35.0±19.9	20.7±5.8	18.7±2.7**	20.7±5.8	22.2±2.5	37.6±16.4	37.6±16.4	37.6±16.4
		69	30.0±5.7	29.0±2.8	25.5±6.4	22.5±0.7	47.5±26.2	18.5±3.5	21.5±0.7	18.5±3.5	20.0±5.7	34.0±11.3	34.0±11.3	34.0±11.3
	ALP (IU/L)	-5	157±64	193±68	120±29	179±84	139±32	231±82	186±70	231±82	149±27	172±40	172±40	172±40
		-1	165±65	202±69	160±36	187±87	151±33	263±95	185±70	263±95	151±27	185±51	185±51	185±51
		13	145±63	182±57	146±35	195±80	239±83	236±82	178±77	236±82	156±20	304±86*	304±86*	304±86*
		34	135±53##	172±54	155±58	262±95*	395±114**	249±87*	180±70	249±87*	194±30	471±189*	471±189*	471±189*
		69	95±1#	136±33	95±1	155±40	210±21	304±12	84±35	304±12	123±13	215±42	215±42	215±42
	CPK (IU/L)	-5	153±44	187±73	152±17	148±22	146±38	169±66	152±26	169±66	209±84	169±37	169±37	169±37
		-1	206±76	179±39	144±25*	221±91	166±59	223±68	166±29	223±68	198±87	210±77	210±77	210±77
		13	165±68	110±19*	123±19	145±35	120±20	140±31	109±27	140±31	151±44	117±32	117±32	117±32
		34	134±44	118±17	104±7*	134±36	198±77	148±38	115±16	148±38	133±19	195±34	195±34	195±34
		69	238±37	142±39	116±8	94±22	152±18	135±41	116±12	135±41	106±0	129±33	129±33	129±33

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 3-2 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Male						Female								
	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
T. Bilirubin (mg/dl)	-5	0.19±0.05	0.18±0.04	0.21±0.05	0.20±0.05	0.18±0.07	0.16±0.04	0.18±0.04	0.18±0.04	0.17±0.03	0.16±0.04	0.21±0.04	0.18±0.03	0.18±0.03	0.17±0.03
	-1	0.20±0.06	0.17±0.03	0.14±0.02	0.15±0.04	0.16±0.05	0.16±0.02	0.16±0.02	0.16±0.02	0.19±0.04	0.16±0.04	0.16±0.04	0.16±0.04	0.19±0.04	0.19±0.05
	13	0.20±0.05	0.19±0.05	0.19±0.05	0.20±0.03	0.26±0.04	0.17±0.02##	0.20±0.04	0.18±0.02	0.20±0.03*	0.20±0.04**	0.20±0.04	0.18±0.02	0.20±0.03*	0.26±0.04**
	34	0.19±0.03##	0.22±0.05	0.21±0.03	0.27±0.07*	0.35±0.11**	0.21±0.04##	0.21±0.01	0.21±0.03	0.28±0.10	0.21±0.01	0.21±0.03	0.21±0.03	0.28±0.10	0.35±0.07**
	69	0.19±0.02	0.20±0.01	0.19±0.03	0.14±0.00	0.15±0.04	0.16±0.06	0.16±0.04	0.19±0.02	0.20±0.06	0.16±0.04	0.19±0.02	0.19±0.02	0.20±0.06	0.16±0.01
T. Protein (g/dl)	-5	6.47±0.54	6.08±0.66	5.67±0.27*	6.10±0.84	5.97±0.29	5.77±0.38#	5.77±0.19	5.80±0.40	5.73±0.45	5.77±0.38#	5.77±0.19	5.80±0.40	5.73±0.45	5.35±0.24
	-1	6.18±0.44	5.70±0.62	5.60±0.36*	5.90±0.79	5.82±0.30	5.67±0.31	5.62±0.32	5.72±0.19	5.62±0.48	5.67±0.31	5.62±0.32	5.72±0.19	5.62±0.48	5.35±0.12
	13	6.23±0.44	5.70±0.66	5.45±0.30**	5.78±0.57	5.90±0.18	5.50±0.37	5.52±0.21	5.60±0.28	5.48±0.47	5.50±0.37	5.52±0.21	5.60±0.28	5.48±0.47	5.42±0.11
	34	5.97±0.42	5.62±0.60	5.25±0.21**	5.68±0.68	5.58±0.61	5.50±0.33#	5.38±0.10	5.40±0.25	5.08±0.27*	5.50±0.33#	5.38±0.10	5.40±0.25	5.08±0.27*	5.28±0.19
	69	6.45±0.49	6.50±1.70	5.65±0.21	5.40±0.28	5.35±0.35	5.55±0.78	6.00±0.14	5.55±0.07	5.55±0.07	5.55±0.78	6.00±0.14	5.55±0.07	5.55±0.07	4.95±0.07
Albumin (g/dl)	-5	3.28±0.13	3.40±0.24	3.25±0.21	3.33±0.15	3.28±0.18	3.38±0.21	3.50±0.14	3.40±0.11	3.40±0.18	3.38±0.21	3.50±0.14	3.40±0.11	3.40±0.18	3.25±0.27
	-1	3.17±0.10	3.23±0.21	3.17±0.21	3.22±0.13	3.32±0.15	3.33±0.18	3.38±0.17	3.37±0.23	3.32±0.13	3.33±0.18	3.38±0.17	3.37±0.23	3.32±0.13	3.27±0.21
	13	3.37±0.19	3.33±0.21	3.25±0.27	3.27±0.16	2.98±0.30*	3.35±0.27	3.48±0.16	3.43±0.10	3.40±0.09	3.35±0.27	3.48±0.16	3.43±0.10	3.40±0.09	3.26±0.09
	34	3.20±0.15#	3.32±0.21	3.13±0.21	3.17±0.12	2.78±0.19**	3.30±0.21##	3.40±0.22	3.38±0.10	3.15±0.22	3.30±0.21##	3.40±0.22	3.38±0.10	3.15±0.22	2.90±0.10**
	69	3.20±0.14	3.35±0.21	3.45±0.21	2.90±0.00	2.85±0.07	3.35±0.35##	3.45±0.07	3.35±0.07	3.10±0.14	3.35±0.35##	3.45±0.07	3.35±0.07	3.10±0.14	2.75±0.07

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01 ; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 3-3 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Male					Female				
	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
A/G	-5	1.07±0.23	1.35±0.37	1.36±0.17*	1.31±0.41	1.25±0.19	1.42±0.17	1.47±0.27	1.52±0.36	1.55±0.22
	-1	1.08±0.20	1.39±0.34	1.32±0.18	1.28±0.37	1.32±0.17	1.43±0.17	1.47±0.28	1.54±0.34	1.60±0.28
	13	1.19±0.18	1.53±0.41	1.49±0.22*	1.39±0.39	1.03±0.24	1.55±0.18	1.60±0.30	1.67±0.31	1.52±0.13
	34	1.19±0.16	1.54±0.41	1.49±0.22*	1.34±0.38	1.02±0.19	1.52±0.23	1.70±0.26	1.69±0.34	1.23±0.08*
	69	1.02±0.26	1.36±0.92	1.62±0.09	1.19±0.13	1.15±0.20	1.53±0.16	1.56±0.01	1.38±0.55	1.26±0.11
T. Cholesterol (mg/dl)	-5	121±26	162±34*	137±29	130±16	148±18	122±15	153±41	159±29*	139±38
	-1	117±22	153±27*	139±28	128±22	150±20*	115±17	150±43	151±21*	137±31
	13	127±21##	156±23	146±23	145±22	244±44**	121±20#	160±40	158±16**	174±27**
	34	127±24##	148±19	147±16	145±18	198±33**	114±11	169±46*	162±21**	145±42
	69	120±1	169±2	143±23	138±18	106±10	106±21	164±11	133±17	99±21
Triglyceride (mg/dl)	-5	29.3±3.2	35.5±10.1	30.0±7.0	27.7±8.0	31.7±4.3	24.2±7.6	30.8±5.3	31.2±4.4	27.8±5.4
	-1	32.7±3.7	37.8±6.9	33.2±5.1	30.5±6.3	33.5±4.4	29.5±6.7	34.5±6.3	38.2±5.0*	33.2±6.0
	13	33.3±7.3	33.3±4.5	29.3±4.0	27.0±8.4	54.0±15.6*	24.8±5.9##	30.3±5.4	31.8±3.4*	41.4±4.0**
	34	31.5±5.8	34.5±8.8	30.3±3.7	28.7±9.0	49.8±13.6*	26.5±4.3##	29.5±7.4	33.3±5.5	40.4±11.3*
	69	33.5±2.1	41.5±6.4	31.5±2.1	43.0±8.5	34.5±4.9	31.5±3.5	40.5±4.9	34.5±0.7	29.5±0.7
Glucose (mg/dl)	-5	89.0±6.4	82.7±7.1	90.0±6.9	89.0±9.8	88.7±5.6	86.0±5.6	86.5±4.6	84.2±8.8	89.7±7.3
	-1	78.5±7.4##	85.0±6.5	85.5±5.2	89.2±7.2*	88.8±2.9*	79.0±8.0#	78.8±4.3	86.2±4.4	84.7±4.8
	13	82.8±3.3#	86.0±8.2	87.8±4.9	90.8±5.7*	89.0±3.2*	88.5±3.8	86.3±5.6	89.3±3.8	84.0±6.3
	34	91.0±3.2#	88.7±5.6	87.5±5.8	86.7±4.5	80.8±5.6*	87.8±3.2	88.7±3.3	85.8±7.0	84.2±5.4
	69	85.5±7.8	91.0±0.0	93.5±3.5	88.0±2.8	91.0±7.1	93.5±4.9	85.5±0.7	92.5±0.7	84.5±3.5

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01 ; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

; On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 3-4 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Male					Female				
			Control 6 Mean±S.D.	20 6 Mean±S.D.	40 6 Mean±S.D.	80 6 Mean±S.D.	150 6 Mean±S.D.	Control 6 Mean±S.D.	20 6 Mean±S.D.	40 6 Mean±S.D.	80 6 Mean±S.D.	150 6 Mean±S.D.
BUN (mg/dl)	-5	-5	9.7±2.7	10.9±2.2	11.3±1.9	10.9±1.8	9.5±1.1	11.2±2.2	10.9±1.1	11.5±1.5	11.3±1.4	11.6±2.8
	-1	-1	11.0±2.4	11.9±1.9	11.2±1.7	12.2±1.9	10.7±1.8	11.2±2.8	11.4±2.3	11.8±2.4	12.1±2.4	11.7±1.6
	13	13	10.9±2.2##	12.0±3.4	12.0±2.0	13.5±2.0	24.0±10.6**	11.9±2.4	12.0±0.9	11.6±1.8	12.3±2.0	14.1±2.1
	34	34	10.8±2.6##	11.5±3.5	10.4±1.8	13.7±2.8	16.2±3.7*	11.2±1.7	11.3±1.3	10.6±2.0	13.2±3.5	12.4±1.0
	69	69	10.4±1.7	13.1±1.2	11.4±2.6	13.0±3.4	13.0±2.3	15.2±1.8	11.5±0.8	14.5±1.9	13.0±6.0	11.7±1.4
Creatinine (mg/dl)	-5	-5	0.78±0.11	0.81±0.09	0.77±0.10	0.78±0.10	0.73±0.09	0.73±0.04	0.75±0.07	0.75±0.06	0.78±0.08	0.73±0.10
	-1	-1	0.74±0.10	0.76±0.09	0.74±0.10	0.76±0.08	0.71±0.06	0.68±0.07	0.69±0.09	0.72±0.07	0.75±0.07	0.69±0.08
	13	13	0.72±0.07##	0.72±0.10	0.70±0.07	0.79±0.09	1.18±0.14**	0.69±0.06##	0.67±0.07	0.63±0.04	0.75±0.09	0.87±0.04**
	34	34	0.75±0.09#	0.76±0.12	0.71±0.07	0.86±0.11	0.87±0.10	0.71±0.06#	0.72±0.11	0.66±0.04	0.80±0.09	0.82±0.07*
	69	69	0.79±0.16	0.83±0.04	0.74±0.11	0.74±0.06	0.94±0.12	0.68±0.05	0.65±0.09	0.73±0.08	0.75±0.18	0.76±0.09
Uric acid (mg/dl)	-5	-5	0.49±0.09	0.42±0.10	0.53±0.15	0.53±0.12	0.46±0.10	0.43±0.09	0.44±0.13	0.53±0.15	0.43±0.10	0.45±0.11
	-1	-1	0.48±0.21	0.38±0.09	0.36±0.04	0.37±0.11	0.47±0.24	0.36±0.05	0.51±0.07**	0.39±0.10	0.38±0.07	0.48±0.15*
	13	13	0.48±0.09	0.37±0.06*	0.42±0.07	0.43±0.10	0.74±0.21*	0.35±0.03##	0.42±0.09	0.37±0.04	0.44±0.10	0.52±0.07**
	34	34	0.44±0.07##	0.43±0.07	0.44±0.08	0.57±0.14	0.59±0.05**	0.46±0.10	0.46±0.06	0.44±0.08	0.45±0.05	0.69±0.17*
	69	69	0.49±0.13	0.48±0.04	0.43±0.06	0.46±0.06	0.46±0.13	0.46±0.11	0.67±0.07	0.41±0.01	0.42±0.05	0.49±0.01

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 3-5 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Male						Female									
	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	
IP (mg/dl)	-5	4.23±0.76	4.64±0.54	3.46±0.79	4.30±0.74	4.24±0.96	4.55±0.79	4.04±0.67	3.94±0.32	4.08±0.81	4.05±0.63	4.28±0.55	3.54±0.30	4.15±0.92	3.91±0.90	4.23±0.81
	-1	4.05±0.63	4.28±0.55	3.54±0.30	4.15±0.50	4.24±0.81	4.51±0.92	3.91±0.90	3.76±0.42	4.23±0.81	4.01±0.77	4.12±0.50	3.25±0.34	4.07±0.88	3.72±0.64	3.57±0.55
	13	4.01±0.77	4.12±0.50	3.25±0.34	3.58±0.70	4.03±0.87	4.53±0.76#	3.72±0.64	3.22±0.42**	3.57±0.55	4.02±0.69	4.21±0.78	3.09±0.56*	3.92±0.63	3.82±0.60	3.31±0.41*
	34	4.02±0.69	4.21±0.78	3.09±0.56*	3.29±0.53	3.94±0.14	4.03±0.51##	3.82±0.60	3.25±0.36*	3.31±0.41*	4.50±1.08	3.68±0.76	3.55±0.26	3.65±0.63	3.81±0.16	4.26±1.31
	69	4.50±1.08	3.68±0.76	3.55±0.26	3.29±0.08	4.71±0.14	4.54±0.66	3.81±0.16	2.90±0.13	4.26±1.31	10.5 ± 0.3	10.7 ± 0.2	10.1 ± 0.5	10.8 ± 0.3	10.6 ± 0.2*	10.7 ± 0.2
Ca (mg/dl)	-5	10.5 ± 0.3	10.7 ± 0.2	10.1 ± 0.5	10.5 ± 0.2	10.5 ± 0.3	10.9 ± 0.2	10.6 ± 0.2*	10.6 ± 0.3	10.7 ± 0.2	10.2 ± 0.2	10.4 ± 0.2	10.0 ± 0.6	10.4 ± 0.4	10.2 ± 0.4	10.2 ± 0.2
	-1	10.2 ± 0.2	10.4 ± 0.2	10.0 ± 0.6	10.3 ± 0.3	10.2 ± 0.3	10.5 ± 0.5	10.2 ± 0.4	10.2 ± 0.3	10.3 ± 0.3	10.8 ± 0.4	10.8 ± 0.4	10.4 ± 0.5	11.0 ± 0.4	10.6 ± 0.2*	11.2 ± 0.1
	13	10.8 ± 0.4	10.8 ± 0.4	10.4 ± 0.5	10.9 ± 0.4	10.8 ± 0.6	11.1 ± 0.5	10.6 ± 0.2*	10.9 ± 0.3	11.2 ± 0.1	10.4 ± 0.2	10.4 ± 0.3	10.0 ± 0.4	10.4 ± 0.4	10.2 ± 0.2*	10.0 ± 0.4*
	34	10.4 ± 0.2	10.4 ± 0.3	10.0 ± 0.4	10.2 ± 0.4	10.2 ± 0.5	10.7 ± 0.5#	10.2 ± 0.2*	10.0 ± 0.3*	10.0 ± 0.4*	10.8 ± 0.0	10.8 ± 0.1	10.7 ± 0.7	10.5 ± 0.1	10.4 ± 0.3	10.5 ± 0.3
	69	10.8 ± 0.0	10.8 ± 0.1	10.7 ± 0.7	10.3 ± 0.2	10.8 ± 0.3	11.2 ± 0.6	10.4 ± 0.3	10.3 ± 0.3	10.5 ± 0.3	149±1	148±3	149±1	151±1	149±2	150±1
Na (mEq/L)	-5	149±1	148±3	149±1	149±1	149±2	149±1	149±2	149±1	149±1	148±1	148±1	148±1	149±1	148±1	148±2
	-1	148±1	148±1	149±1	148±1	147±1	148±1	148±1	149±2	148±2	146±2##	146±1	146±1	146±1	149±1**	153±3**
	13	146±2##	146±1	146±1	150±1*	150±2*	146±1##	149±1**	150±2**	153±3**	146±3	151±2*	152±1*	150±3	150±2	150±2
	34	146±3	151±2*	152±4*	151±2**	148±5	147±3	149±3	148±5	150±2	151±2*	151±2	152±1*	150±3	150±2	150±2
	69	151±2	150±1	151±0	151±6	147±1	152±1#	154±6	148±4	147±1	149±1	148±0	148±0	148±4	147±1	147±1
K (mEq/L)	-5	4.53±0.23	4.75±0.16	4.77±0.39	4.63±0.19	4.72±0.29	4.77±0.34	4.67±0.23	4.87±0.30	4.62±0.28	4.53±0.30	4.67±0.23	4.73±0.31	4.58±0.23	4.58±0.28	4.58±0.28
	-1	4.53±0.30	4.67±0.21	4.82±0.34	4.63±0.10	4.58±0.24	4.72±0.31	4.73±0.31	4.58±0.23	4.58±0.28	4.45±0.24##	4.48±0.20	4.43±0.10	4.43±0.52	4.43±0.27*	4.43±0.27*
	13	4.45±0.24##	4.48±0.20	4.20±0.21	3.98±0.19**	3.65±0.33**	4.45±0.23#	4.22±0.24	4.43±0.52	4.43±0.27*	4.60±0.20##	4.68±0.23	4.45±0.30	4.28±0.24*	4.20±0.38	4.20±0.38
	34	4.60±0.20##	4.68±0.23	4.45±0.30	4.18±0.32*	3.65±0.47**	4.62±0.20##	4.35±0.25	4.28±0.24*	4.20±0.38	4.95±0.21	5.00±0.42	5.00±0.14	4.75±0.07	4.40±0.14	4.80±0.28
	69	4.95±0.21	5.00±0.42	5.00±0.14	4.55±0.07	4.65±0.21	4.80±0.14	4.75±0.07	4.40±0.14	4.80±0.28	102±2	104±4	106±3	105±2	105±2	105±3
Cl (mEq/L)	-5	102±2	104±4	106±3*	102±2	103±4	103±2	106±3	105±2	105±3	102±1	103±3	103±2	103±2	102±2	102±2
	-1	102±1	103±3	104±3	105±3	104±4	102±2	103±2	103±2	103±2	101±2	103±2	101±3	103±3	103±3	103±3
	13	101±2	102±3	103±2	102±4	103±3	102±5	102±5	103±3	103±3	101±2	103±2	101±3	103±3	103±3	103±3
	34	101±2	102±1	106±5	105±2*	102±3	102±3	101±1	103±2	103±3	101±2	102±3	102±3	103±2	104±3	104±3
	69	109±2	108±3	111±1	112±3	109±0	109±1	113±4	112±3	109±0	109±2	108±1	108±1	112±2	109±1	109±1

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 3-6 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Electrophoresis

Sex		Male						Female					
		Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6	Control 6	20 6	40 6	80 6	150 6		
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	
Albumin (%)	-5	52.1 ±6.8	57.9 ±6.8	55.8 ±4.8	55.2 ±7.9	54.9 ±4.1	60.1 ±2.8	55.7 ±6.8	57.5 ±4.7	59.2 ±3.7	58.1 ±4.6		
	-1	49.5 ±5.4	56.0 ±6.3	56.7 ±3.4*	54.1 ±6.1	56.2 ±3.7*	57.7 ±2.9	58.6 ±3.3	58.2 ±4.6	58.9 ±5.5	62.0 ±3.8		
	13	51.6 ±2.3	58.8 ±6.7*	52.0 ±3.3	54.3 ±7.7	49.0 ±6.3	58.4 ±2.6	56.9 ±3.0	55.0 ±4.2	61.6 ±4.8	56.7 ±3.0		
	34	51.6 ±3.3	58.5 ±6.7	58.5 ±3.7*	52.6 ±7.6	49.1 ±4.7	58.6 ±4.4	59.0 ±2.0	55.0 ±4.2	60.8 ±4.7	52.3 ±2.2*		
	69	51.7 ±5.0	57.0 ±16.0	62.9 ±0.9	53.3 ±2.7	51.1 ±4.7	61.3 ±3.3	60.2 ±1.1	62.3 ±1.6	56.2 ±9.3	52.7 ±2.2		
α_1 -globulin (%)	-5	3.6 ±0.9	4.0 ±1.0	4.2 ±0.5	4.1 ±0.7	4.1 ±0.7	4.2 ±0.7	4.6 ±0.5	4.6 ±0.7	5.0 ±0.6	4.4 ±0.4		
	-1	4.0 ±0.4	4.4 ±0.4	4.2 ±0.5	3.9 ±0.5	4.5 ±0.7	4.6 ±0.7	4.7 ±0.5	4.8 ±0.7	4.5 ±0.4	4.8 ±0.5		
	13	3.6 ±0.4##	4.0 ±0.4	8.3 ±1.0**	5.7 ±1.9**	4.7 ±0.6*	4.8 ±0.3	6.7 ±2.8	9.1 ±2.6**	5.0 ±0.5	5.2 ±0.7		
	34	3.9 ±0.4##	4.5 ±0.7	4.0 ±0.2	5.2 ±0.7**	6.2 ±0.8**	4.7 ±0.5#	4.7 ±0.7	4.8 ±0.8	4.8 ±0.2	6.6 ±0.8**		
	69	3.3 ±0.6#	3.0 ±0.4	3.2 ±0.1	3.6 ±0.0	5.2 ±0.5	3.4 ±0.4#	4.1 ±0.4	3.4 ±0.4	4.3 ±0.1	5.4 ±0.5		
α_2 -globulin (%)	-5	6.6 ±1.6#	7.4 ±1.8	8.9 ±1.4*	8.0 ±1.0	8.6 ±0.9*	8.6 ±1.2	7.9 ±0.9	8.8 ±3.1	8.4 ±1.3	8.5 ±0.9		
	-1	8.3 ±1.3	8.4 ±0.8	9.8 ±0.8*	8.7 ±2.4	8.2 ±0.8	8.2 ±1.0	9.2 ±1.5	7.8 ±1.0	8.5 ±2.2	8.8 ±1.0		
	13	7.6 ±1.4#	7.8 ±1.2	9.4 ±0.9*	8.2 ±1.1	11.2 ±2.2**	7.4 ±0.9	7.8 ±1.7	8.1 ±1.2	6.5 ±0.8	8.8 ±1.3*		
	34	7.0 ±1.8	7.2 ±1.2	8.8 ±1.9	8.1 ±1.7	7.2 ±1.4	6.8 ±0.8	7.2 ±2.4	7.7 ±1.6	6.0 ±1.0	6.5 ±0.9		
	69	5.8 ±0.7	5.4 ±1.6	6.7 ±0.5	9.4 ±2.3	6.4 ±0.6	5.7 ±0.9	6.9 ±1.1	5.1 ±0.9	5.1 ±0.7	6.3 ±1.4		
β -globulin (%)	-5	29.7 ±5.5	25.5 ±7.7	23.4 ±3.3*	25.4 ±9.0	24.5 ±2.8	21.6 ±2.7	23.5 ±5.5	20.7 ±2.0	20.7 ±2.5	23.3 ±3.0		
	-1	29.8 ±5.9	25.8 ±6.0	23.3 ±2.3*	25.9 ±9.4	23.9 ±3.8	23.8 ±2.4#	21.4 ±2.4	22.9 ±3.8	21.2 ±5.0	20.4 ±3.0		
	13	29.9 ±2.3	24.8 ±7.3	23.9 ±1.7**	26.1 ±6.7	29.7 ±7.2	24.1 ±2.3	23.4 ±1.9	22.9 ±2.5	21.5 ±4.4	23.2 ±1.2		
	34	30.2 ±2.1	25.3 ±7.1	23.0 ±1.4**	27.8 ±6.3	31.6 ±4.3	24.6 ±3.0	22.8 ±1.8	24.4 ±3.4	23.8 ±4.6	28.3 ±1.2*		
	69	33.0 ±6.2	31.5 ±16.0	22.8 ±0.3	26.8 ±0.1	30.1 ±5.0	25.6 ±3.0	22.7 ±0.9	24.2 ±0.2	28.6 ±9.1	28.5 ±1.3		
γ -globulin (%)	-5	7.7 ±1.9	5.0 ±2.4	7.6 ±1.2	7.0 ±2.0	7.7 ±1.8	5.2 ±0.6	8.0 ±2.1**	8.2 ±1.1**	6.5 ±1.9	5.5 ±1.6		
	-1	8.0 ±1.1	5.2 ±1.8**	5.7 ±0.9**	7.1 ±3.6	6.9 ±1.6	5.3 ±0.7	5.9 ±1.3	6.1 ±1.5	6.6 ±1.4	3.7 ±0.9*		
	13	6.9 ±1.6	4.3 ±1.2**	6.2 ±1.4	5.5 ±0.9	5.1 ±1.9	5.2 ±1.4	5.1 ±1.7	4.7 ±1.7	5.2 ±1.0	5.9 ±1.8		
	34	7.0 ±3.7	4.4 ±1.6	5.6 ±1.4	6.1 ±2.5	5.7 ±0.3	5.0 ±1.7	6.0 ±1.9	7.9 ±1.0**	4.3 ±0.9	6.1 ±1.3		
	69	6.1 ±0.1	2.8 ±1.8	4.2 ±0.1	6.7 ±0.5	7.0 ±0.4	3.9 ±0.2#	6.0 ±1.3	4.9 ±0.0	5.6 ±0.5	7.0 ±0.1		
A/G	-5	1.14±0.34	1.43±0.38	1.29±0.22	1.30±0.37	1.24±0.20	1.53±0.18	1.31±0.34	1.38±0.25	1.48±0.25	1.42±0.27		
	-1	1.01±0.22	1.32±0.31	1.33±0.17*	1.22±0.27	1.30±0.19*	1.38±0.16	1.43±0.20	1.43±0.25	1.48±0.30	1.67±0.30		
	13	1.08±0.10	1.48±0.35*	1.10±0.14	1.24±0.35	0.99±0.25	1.42±0.15	1.34±0.17	1.24±0.19	1.64±0.29	1.33±0.16		
	34	1.08±0.14	1.46±0.35*	1.44±0.20**	1.16±0.35	0.98±0.19	1.45±0.25	1.45±0.11	1.25±0.21	1.59±0.29	1.11±0.10*		
	69	1.09±0.22	1.51±0.93	1.71±0.06	1.15±0.13	1.06±0.20	1.60±0.23	1.52±0.07	1.67±0.11	1.35±0.50	1.12±0.10		

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

: On Day 13, 34 the number of animals at 150mg/kg is four for males and five for females.

Table 4-1 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Male						Female					
	Day	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)		Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.		
GOT (IU/L)	-6	28.8±1.3	28.8±3.1	31.8±4.0	29.5±2.2	29.8±3.1	26.3±4.9	28.0±8.2	28.7±4.7	26.5±6.9	27.5±5.4	
	-1	29.5±3.6	26.7±3.1	31.7±6.0	28.3±4.9	29.3±2.0	29.2±5.8	30.8±8.6	30.0±5.2	26.2±6.0	26.0±2.1	
	13	32.5±2.4##	29.8±3.1	29.7±4.7	26.7±3.4**	25.2±5.7*	33.0±3.2##	30.5±5.5	29.0±6.6	26.0±7.8	24.5±3.6**	
	34	25.8±1.9	27.3±1.4	26.2±2.8	23.3±4.1	23.7±5.2	27.7±1.6	24.5±3.6	26.8±4.4	23.3±5.8	25.2±7.0	
	69	27.5±0.7	28.0±0.0	26.5±3.5	25.5±2.1	24.5±0.7	26.5±6.4#	29.5±0.7	26.5±3.5	23.0±5.7	20.0±2.8	
GPT (IU/L)	-6	29.7±3.5	30.5±3.4	30.0±3.6	26.7±5.8	33.0±3.3	31.2±5.9	21.7±5.6*	29.5±4.6	25.3±5.9	25.5±3.4	
	-1	33.7±5.0	28.3±5.9	31.2±7.0	28.2±6.7	35.5±4.7	32.5±5.1	25.0±7.4	31.8±3.5	27.3±5.9	28.0±3.0	
	13	35.3±2.4##	31.8±5.4	29.5±5.0*	25.5±6.7*	25.3±5.6**	35.2±3.4	26.3±5.8*	32.0±4.5	27.3±8.6	26.3±6.9*	
	34	24.7±2.0#	26.3±2.4	29.0±3.2*	23.5±3.8	17.0±2.3**	28.3±1.5#	23.3±3.5*	31.8±6.2	21.5±6.2*	21.7±3.8**	
	69	31.0±11.3	31.5±3.5	28.0±7.1	27.5±0.7	27.5±0.7	29.0±2.8	25.5±2.1	32.5±0.7	28.5±2.1	27.0±5.7	
ALP (IU/L)	-6	145±50#	173±53	176±49	206±96	213±57	168±61	172±65	157±36	136±21	162±66	
	-1	141±52#	155±45	159±42	176±62	192±50	171±59	174±73	149±31	138±21	155±61	
	13	154±45	179±50	176±58	165±39	187±50	197±62#	208±100	191±63	139±19*	163±42	
	34	149±42	225±96	199±65	201±55	209±59	228±106	261±105	247±86	172±36	202±52	
	69	124±33	191±139	150±2	141±32	260±1	186±53	199±67	225±48	157±16	204±1	
CPK (IU/L)	-6	178±31	195±61	207±38	168±30	204±45	169±48	174±60	175±39	155±56	164±67	
	-1	176±19	186±44	250±92	162±31	217±79	183±31	203±62	183±36	136±19**	169±50	
	13	185±32	221±78	198±37	187±51	198±35	214±22#	177±31*	189±42	143±18**	175±54	
	34	181±30	217±74	202±86	172±47	225±76	228±52#	170±26*	158±17**	117±8**	206±79	
	69	216±76	211±86	187±62	135±14	169±1	286±122	179±57	162±4	180±57	139±50	

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01
Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 4-2 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Male					Female					
	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	
T. Bilirubin (mg/dl)	-6 -1 13 34 69	0.20±0.02 0.17±0.02 0.15±0.02 0.23±0.03 0.17±0.01	0.21±0.04 0.18±0.02 0.15±0.03 0.19±0.02* 0.18±0.05	0.21±0.05 0.18±0.03 0.15±0.02 0.18±0.03* 0.11±0.01	0.21±0.04 0.17±0.03 0.15±0.02 0.20±0.03 0.16±0.06	0.20±0.03 0.17±0.02 0.18±0.02* 0.22±0.01 0.13±0.00	0.22±0.02 0.19±0.03 0.18±0.02 0.22±0.03 0.14±0.00	0.23±0.04 0.24±0.06 0.16±0.03 0.20±0.04 0.18±0.04	0.21±0.02 0.19±0.02 0.16±0.03 0.20±0.03 0.15±0.01	0.22±0.06 0.20±0.04 0.16±0.03 0.21±0.03 0.19±0.05	0.23±0.02 0.21±0.03 0.19±0.01 0.24±0.03 0.14±0.01
T. Protein (g/dl)	-6 -1 13 34 69	5.80±0.44 5.60±0.20 5.10±0.17## 5.28±0.21# 5.35±0.21	5.72±0.25 5.60±0.17 5.12±0.16 5.23±0.08 5.50±0.14	5.88±0.29 5.45±0.26 5.23±0.29 5.32±0.20 5.50±0.42	5.77±0.37 5.40±0.32 5.27±0.40 5.40±0.25 4.95±0.07	5.98±0.34 5.63±0.40 5.77±0.23** 5.50±0.21 5.65±0.07	5.63±0.12 5.57±0.16 5.25±0.19# 5.43±0.22 5.65±0.07	5.58±0.36 5.67±0.23 4.97±0.10* 5.32±0.15 5.15±0.07	5.52±0.21 5.47±0.18 5.13±0.14 5.20±0.11* 5.15±0.07	5.78±0.27 5.55±0.34 5.22±0.33 5.27±0.24 5.55±0.07	5.62±0.23 5.52±0.10 5.65±0.24* 5.30±0.18 5.40±0.14
Albumin (g/dl)	-6 -1 13 34 69	3.67±0.28 3.57±0.15## 3.37±0.15 3.15±0.18 3.05±0.21#	3.50±0.15 3.43±0.19 3.37±0.21 3.12±0.17 3.25±0.07	3.43±0.26 3.28±0.32 3.32±0.26 3.10±0.24 3.00±0.14	3.40±0.17 3.18±0.18* 3.33±0.18 3.27±0.20 2.85±0.07	3.47±0.12 3.28±0.12* 3.67±0.22* 3.25±0.14 2.80±0.00	3.57±0.12 3.50±0.19 3.42±0.12# 3.13±0.05## 3.05±0.07	3.40±0.20 3.43±0.19 3.28±0.08* 3.05±0.08 3.10±0.00	3.45±0.05 3.47±0.12 3.45±0.08 3.17±0.08 3.05±0.07	3.45±0.23 3.32±0.24 3.50±0.34 3.17±0.12 3.40±0.00	3.50±0.18 3.45±0.19 3.73±0.21** 3.32±0.08** 2.80±0.00

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 4-3 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Male						Female					
	Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.	Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.		
A/G	Day -6	1.75±0.21##	1.57±0.21	1.42±0.21*	1.47±0.23	1.39±0.15**	1.72±0.22	1.58±0.22	1.67±0.12	1.50±0.27	1.66±0.17	
	-1	1.78±0.21##	1.59±0.27	1.54±0.29	1.57±0.33	1.46±0.22*	1.69±0.19	1.57±0.25	1.76±0.17	1.54±0.31	1.67±0.19	
	13	1.97±0.25	1.97±0.22	1.76±0.29	1.79±0.21	1.77±0.17	1.86±0.24	1.95±0.21	2.04±0.23	2.03±0.33	1.93±0.17	
	34	1.47±0.16	1.46±0.19	1.43±0.22	1.53±0.09	1.42±0.13	1.36±0.15##	1.36±0.12	1.55±0.10*	1.53±0.13	1.67±0.16**	
	69	1.36±0.29	1.41±0.18	1.22±0.36	1.35±0.14	1.00±0.02	1.18±0.12	1.52±0.08	1.44±0.01	1.59±0.06	1.06±0.09	
T. Cholesterol (mg/dl)	Day -6	141±24	147±14	150±33	140±22	138±19	170±51	165±44	144±30	144±29	146±32	
	-1	137±15	154±16	146±23	137±18	137±19	170±43	172±29	151±31	148±36	148±24	
	13	161±18	188±20*	194±23*	180±28	179±10	208±42	210±22	204±39	163±32	193±22	
	34	150±19##	182±16**	184±19*	191±20**	190±12**	192±21	202±26	198±39	171±37	192±18	
	69	151±19	158±23	147±15	151±10	143±1	169±45	193±31	211±9	175±43	191±1	
Triglyceride (mg/dl)	Day -6	31.5±6.2	38.7±9.4	29.8±8.4	28.7±4.6	33.5±4.9	32.3±6.2	35.7±11.0	34.3±8.3	29.5±7.4	29.5±7.6	
	-1	30.5±5.6#	32.5±10.9	28.8±3.8	26.8±3.1	25.2±6.1	35.3±3.1	38.3±9.8	33.5±9.5	32.8±14.3	32.8±4.5	
	13	29.2±6.7#	35.3±10.3	32.8±4.3	35.2±4.9	35.2±3.7	36.0±3.6	38.7±7.4	45.5±11.7	35.0±8.1	43.7±10.7	
	34	31.5±4.4	38.3±10.2	34.3±6.3	42.3±9.9*	35.3±8.8	36.7±5.8	40.3±8.2	43.3±11.7	31.5±6.0	37.0±4.8	
	69	25.5±2.1	27.5±3.5	25.5±6.4	28.5±0.7	32.0±0.0	25.5±3.5	34.0±4.2	33.0±7.1	28.5±3.5	28.5±2.1	
Glucose (mg/dl)	Day -6	85.5±7.5	89.5±1.9	86.5±9.4	87.3±5.4	87.0±7.9	95.8±3.8	89.5±9.7	93.7±6.4	93.2±6.1	94.3±3.6	
	-1	84.2±4.6##	86.3±4.3	85.7±10.5	90.7±2.6*	92.0±4.1*	87.8±3.5	88.7±5.8	85.7±4.9	89.5±6.9	91.2±6.7	
	13	79.2±4.1	85.2±5.6	83.7±7.9	86.5±6.0*	83.7±8.8	85.3±6.0	83.5±8.4	84.8±5.1	89.8±7.8	87.2±5.5	
	34	85.5±6.9	88.5±5.8	83.2±10.6	85.5±4.8	81.3±4.6	88.2±8.2	84.2±8.9	88.8±2.6	87.0±9.2	82.7±4.5	
	69	77.0±8.5	79.0±0.0	73.0±2.8	78.0±2.8	84.5±0.7	77.5±2.1	75.5±10.6	81.5±0.7	78.5±7.8	83.5±3.5	

Significance of treatment-control difference : *P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01 ; Dose response : #P ≤ 0.05, ##P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 4-4 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Male					Female				
			Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.	Control 6 Mean±S.D.	160 6 Mean±S.D.	320 6 Mean±S.D.	800 6 Mean±S.D.	1600 6 Mean±S.D.
BUN (mg/dl)	-6		13.6 ±4.5	13.1 ±2.3	12.9 ±4.2	15.2 ±2.5	14.6 ±2.6	12.5 ±1.3	15.4 ±3.7	12.4 ±1.7	12.9 ±2.8	13.0 ±2.7
	-1		11.5 ±4.6	11.1 ±2.0	11.7 ±4.0	12.0 ±2.9	12.9 ±2.3	11.9 ±2.2	12.6 ±1.8	11.6 ±1.1	10.8 ±2.4	11.1 ±2.2
	13		12.4 ±4.2#	11.4 ±1.6	13.6 ±5.4	13.7 ±1.9	15.5 ±4.8	13.0 ±1.8	14.1 ±3.7	11.8 ±1.7	11.6 ±2.9	13.0 ±4.1
	34		13.3 ±3.4	12.6 ±1.4	14.1 ±4.7	13.6 ±1.8	14.4 ±4.3	11.9 ±1.5	14.7 ±3.5	12.0 ±1.2	12.5 ±2.3	14.0 ±2.4
	69		12.5 ±5.9	10.7 ±2.2	10.6 ±1.1	11.8 ±0.2	9.0 ±0.2	9.9 ±2.7	13.3 ±0.0	10.3 ±0.4	10.5 ±3.4	9.4 ±0.9
Creatinine (mg/dl)	-6		0.85±0.11	0.88±0.05	0.89±0.05	0.88±0.06	0.89±0.07	0.85±0.09	0.91±0.04	0.84±0.08	0.83±0.10	0.85±0.10
	-1		0.72±0.11	0.72±0.07	0.70±0.04	0.71±0.05	0.76±0.07	0.70±0.05	0.76±0.08	0.68±0.06	0.68±0.06	0.71±0.10
	13		0.70±0.11	0.74±0.05	0.70±0.03	0.73±0.05	0.79±0.10	0.73±0.09	0.78±0.07	0.70±0.08	0.68±0.06	0.78±0.11
	34		0.69±0.11#	0.72±0.08	0.71±0.03	0.72±0.05	0.78±0.09	0.72±0.08	0.78±0.07	0.69±0.05	0.66±0.06	0.76±0.09
	69		0.63±0.23	0.65±0.01	0.53±0.01	0.52±0.02	0.50±0.03	0.56±0.06	0.64±0.11	0.56±0.04	0.53±0.11	0.45±0.11
Uric acid (mg/dl)	-6		0.42±0.05	0.45±0.06	0.49±0.06	0.47±0.06	0.47±0.09	0.46±0.06	0.52±0.19	0.44±0.04	0.44±0.04	0.63±0.42
	-1		0.30±0.06	0.32±0.06	0.34±0.05	0.32±0.03	0.34±0.06	0.33±0.05	0.43±0.18	0.34±0.06	0.32±0.06	0.34±0.07
	13		0.49±0.06#	0.52±0.07	0.52±0.08	0.52±0.04	0.62±0.09*	0.52±0.07	0.51±0.13	0.54±0.07	0.48±0.06	0.70±0.17*
	34		0.52±0.10	0.46±0.06	0.50±0.07	0.50±0.11	0.56±0.06	0.54±0.09	0.50±0.08	0.50±0.09	0.49±0.04	0.54±0.07
	69		0.61±0.14	0.50±0.24	0.46±0.09	0.48±0.20	0.55±0.01	0.27±0.08	0.54±0.12	0.45±0.06	0.42±0.25	0.30±0.04

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 4-5 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Blood chemistry

Sex	Male						Female								
	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
IP* (mg/dl)	-6	4.76±0.47	4.66±0.95	4.73±0.53	4.78±0.75	4.70±0.32	4.40±0.78	4.26±0.47	4.10±0.38	4.04±0.52	4.21±0.71	4.26±0.47	4.10±0.38	4.04±0.52	
	-1	4.68±0.42	4.31±0.47	4.44±0.50	4.59±0.41	4.48±0.39	4.25±0.45	4.09±0.44	4.00±0.45	4.32±0.52	4.05±0.49	4.09±0.44	4.00±0.45	4.32±0.52	
	13	4.55±0.49#	4.42±0.65	4.21±0.34	4.17±0.73	4.21±0.35*	4.16±0.26	3.91±0.27	3.95±0.37	3.85±0.30	4.13±0.67	3.91±0.27	3.95±0.37	3.85±0.30	
	34	4.54±0.43##	3.99±0.49	3.88±0.39*	3.85±0.41*	3.43±0.27**	4.16±0.48	3.68±0.41	3.47±0.36*	3.69±0.49	3.89±0.82	3.68±0.41	3.47±0.36*	3.69±0.49	
	69	4.20±0.04	3.71±0.33	3.38±0.14	4.49±1.04	3.33±0.03	3.71±0.01	2.97±0.27	3.44±0.08	3.94±0.86	3.78±1.13	2.97±0.27	3.44±0.08	3.94±0.86	
Ca (mg/dl)	-6	11.5±0.5	11.2±0.5	11.3±0.4	11.4±0.2	11.4±0.3	11.7±0.2	11.4±0.2	11.3±0.4	11.5±0.5	11.5±0.2	11.4±0.2	11.3±0.4	11.5±0.5	
	-1	11.1±0.5	10.9±0.6	10.9±0.5	11.0±0.3	11.2±0.4	11.3±0.2#	11.3±0.3	10.9±0.5	11.0±0.3	11.3±0.2	11.3±0.3	10.9±0.5	11.0±0.3	
	13	11.2±0.3##	11.2±0.5	11.6±0.5	11.6±0.3*	12.3±0.6**	11.4±0.3#	11.9±0.2*	11.7±0.6	12.0±0.3*	11.3±0.4	11.9±0.2*	11.7±0.6	12.0±0.3*	
	34	10.4±0.3	10.1±0.5	10.0±0.6	10.3±0.4	10.5±0.4	10.4±0.3	10.2±0.2	10.1±0.5	10.5±0.6	10.1±0.1	10.2±0.2	10.1±0.5	10.5±0.6	
	69	10.1±0.3	10.6±0.0	10.1±0.1	10.0±0.5	10.4±0.1	10.5±0.2	9.8±0.1	10.5±0.1	10.5±0.3	10.2±0.3	9.8±0.1	10.5±0.1	10.5±0.3	
Na (mEq/L)	-6	150±1	150±1	151±1	150±2	150±2	149±1	150±1	149±2	150±1	151±1	150±1	149±2	150±1	
	-1	146±0	145±1*	145±0*	147±2	147±1	146±2	146±1**	146±1	145±0	145±1	149±1**	146±1	145±0	
	13	149±1	149±2	149±1	148±2	149±2	149±1#	149±1	147±2	147±1	149±1	149±1	147±2	147±1	
	34	149±2	148±3	148±1	150±2	148±1	149±2	150±2	147±2	149±1	149±1	150±2	147±2	149±1	
	69	147±1	151±1	149±1	149±4	149±2	148±1	148±1	150±1	148±2	148±1	150±1	150±1	148±2	
K (mEq/L)	-6	5.03±0.26	5.02±0.17	5.15±0.12	5.07±0.15	5.07±0.14	4.83±0.14	4.88±0.12	4.78±0.33	4.73±0.28	4.82±0.37	4.88±0.12	4.78±0.33	4.73±0.28	
	-1	4.67±0.35	4.77±0.29	5.05±0.20	4.85±0.26	4.87±0.37	4.72±0.29	4.93±0.16	4.73±0.37	4.58±0.22	4.68±0.15	4.93±0.16	4.73±0.37	4.58±0.22	
	13	4.80±0.20	4.88±0.21	5.07±0.12*	4.78±0.37	4.65±0.29	4.65±0.24	4.77±0.29	4.80±0.19	4.55±0.14	4.73±0.23	4.77±0.29	4.80±0.19	4.55±0.14	
	34	4.77±0.35	4.73±0.18	4.83±0.18	4.78±0.25	4.50±0.33	4.82±0.35##	4.52±0.16	4.42±0.08*	4.48±0.10	4.75±0.12	4.52±0.16	4.42±0.08*	4.48±0.10	
	69	4.75±0.07	4.80±0.14	4.75±0.21	4.95±0.21	4.65±0.07	4.45±0.07	4.85±0.07	4.40±0.00	4.75±0.07	4.65±0.35	4.85±0.07	4.40±0.00	4.75±0.07	
Cl (mEq/L)	-6	113±2	112±3	112±3	113±1	111±2	111±2	113±2	112±2	112±2	111±1	113±2	112±2	112±2	
	-1	109±5	111±3	114±2	113±2	112±3	109±2	111±3	111±3	112±2*	111±3	110±3	111±3	112±2*	
	13	109±2	109±2	109±2	109±4	109±2	107±2	109±1	108±2	109±2	107±3	109±1	108±2	109±2	
	34	113±2#	111±2	111±2	110±3	110±3*	111±2#	110±2	108±4	108±2	110±3	110±2	108±4	108±2	
	69	108±1	107±1	106±1	110±2	104±1	106±1	108±1	106±1	104±1	106±2	108±1	106±1	104±1	

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Note : On Day 69 the number of animals per group is two for males and two for females.

Table 4-6 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Electrophoresis

Sex	Male						Female					
	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	1600 6	Control 6	160 6	320 6	800 6	1600 6	1600 6
Dose (mg/kg) No. of animals Item (Unit)	Day	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Albumin (%)	-6	60.0±4.6##	58.5±4.0	56.8±5.2	55.2±3.8	54.1±3.3*	61.6±2.5	60.1±2.2	60.1±3.4	60.7±6.0	59.5±6.0	59.5±6.0
	-1	61.3±2.7#	56.1±3.6*	54.4±3.4**	56.8±3.4*	55.0±3.4**	58.9±2.3	58.2±3.8	58.9±2.5	58.3±5.3	58.4±2.6	58.4±2.6
	13	56.6±3.5	56.0±2.7	56.6±3.1	55.8±3.1	53.8±1.7	58.5±3.1	58.4±3.0	61.0±2.5	57.0±4.2	57.2±2.5	57.2±2.5
	34	59.6±2.5##	60.1±2.1	58.8±2.0	59.3±1.5	54.8±2.8*	58.6±3.5	59.8±3.3	59.9±1.7	58.5±2.4	58.6±2.3	58.6±2.3
	69	55.7±5.5	58.1±7.1	52.3±8.3	54.1±3.3	48.1±0.5	53.6±2.8	59.1±3.7	57.6±2.4	59.7±0.9	54.5±5.7	54.5±5.7
			5.1±0.8	5.6±1.1*	5.4±0.8*	5.5±0.5*	5.0±0.5	5.8±0.6*	5.2±0.8	5.2±1.2	5.3±0.4	5.3±0.4
α_1 -globulin (%)	-6	4.4±0.5#	5.1±0.8	5.6±1.1*	5.4±0.8*	5.5±0.5*	5.0±0.5	5.8±0.6*	5.2±0.8	5.2±1.2	5.3±0.4	5.3±0.4
	-1	5.6±0.3#	5.6±0.6	5.3±0.6	5.7±0.9	4.7±0.8*	5.7±0.8	5.7±0.8	5.6±0.7	5.0±0.6	5.3±0.6	5.3±0.6
	13	5.3±0.5	5.5±0.4	5.1±0.4	5.2±0.2	6.5±0.7*	5.6±1.0	5.4±0.4	5.6±0.5	5.7±0.4	6.1±0.9	6.1±0.9
	34	5.0±0.4	5.5±0.1*	5.1±0.7	5.3±1.1	6.1±0.8*	5.5±0.3#	5.7±0.7	5.2±0.4	5.7±0.5	6.8±0.6**	6.8±0.6**
	69	4.5±0.4	4.2±0.8	4.7±0.6	4.2±0.2	4.0±0.2	4.5±0.4	5.1±1.0	4.2±0.1	4.2±0.4	4.4±1.1	4.4±1.1
			9.6±1.3	10.2±1.3	10.1±0.6	10.2±0.9	7.8±0.6#	8.8±0.7*	9.5±1.4*	8.6±1.2	8.6±1.2	9.6±1.7*
α_2 -globulin (%)	-6	9.8±1.7	9.6±1.3	10.2±1.3	10.1±0.6	10.2±0.9	7.8±0.6#	8.8±0.7*	9.5±1.4*	8.6±1.2	8.6±1.2	9.6±1.7*
	-1	7.9±1.3	9.2±1.2	10.4±1.2**	8.8±1.3	9.9±1.3*	8.3±0.7	8.4±1.9	9.4±1.1	8.7±1.0	8.8±1.6	8.8±1.6
	13	9.6±1.6#	10.2±1.1	10.8±0.7	9.2±1.2	7.6±1.2*	9.1±2.1	9.3±0.4	9.8±2.1	8.2±0.9	8.4±2.1	8.4±2.1
	34	10.5±1.5	11.4±1.8	10.2±1.9	10.2±1.2	9.7±1.1	10.8±1.5	9.6±1.3	10.0±0.9	10.3±0.8	9.5±1.0	9.5±1.0
	69	11.3±2.7	11.7±1.3	11.7±3.2	13.7±0.4	13.7±3.0	9.4±1.7	10.7±2.3	11.5±2.2	9.6±0.1	10.2±0.4	10.2±0.4
			21.7±2.5	22.4±2.7	23.5±2.8	23.2±2.9*	24.3±2.7*	20.4±1.3	21.2±1.5	20.6±1.2	21.1±2.5	19.7±2.9
β -globulin (%)	-6	20.6±2.2##	21.7±1.7	22.2±2.6	23.2±2.9*	23.1±2.3*	21.0±0.9	21.4±2.2	20.0±1.1	21.5±2.9	20.1±1.4	20.1±1.4
	-1	20.2±1.3#	21.8±1.5	20.9±1.3*	23.2±3.1	23.4±0.9	21.5±1.3	20.5±1.8	19.2±1.6*	21.6±2.2	21.3±0.8	21.3±0.8
	13	22.5±1.1	19.3±0.9	21.7±1.8*	21.2±1.5*	22.7±0.7**	20.3±2.9	20.1±1.6	21.4±0.4	19.1±1.4	20.1±2.3	20.1±2.3
	34	19.7±0.5##	19.8±3.8	22.4±1.3	21.6±1.5	24.8±1.6	23.7±0.1	19.7±0.8	20.6±0.6	18.7±2.0	23.1±3.3	23.1±3.3
	69	21.6±0.1	19.8±3.8	22.4±1.3	21.6±1.5	24.8±1.6	23.7±0.1	19.7±0.8	20.6±0.6	18.7±2.0	23.1±3.3	23.1±3.3
			4.9±1.4	4.8±1.3	5.6±1.3	5.6±1.3	5.7±1.3	3.9±1.3	4.3±1.7	4.2±1.6	4.2±1.6	5.7±2.6
γ -globulin (%)	-6	5.0±1.4	4.9±1.2	4.8±1.3	5.6±1.3	5.7±1.3	4.9±1.7	3.9±1.3	4.3±1.7	4.2±1.6	4.2±1.6	5.7±2.6
	-1	4.7±1.0	7.1±1.6*	7.4±0.3**	5.2±0.7	7.0±2.5*	5.9±1.5	6.1±1.5	6.0±1.8	6.3±2.0	7.2±1.0	7.2±1.0
	13	5.8±1.3##	6.2±1.1	6.4±1.0	6.2±0.7	8.4±1.5**	5.1±1.2	6.1±1.9	4.1±2.2	7.2±2.7	6.7±1.7	6.7±1.7
	34	5.0±0.7	3.5±0.5**	3.8±1.1*	3.7±1.2*	6.4±2.9	4.6±1.2	4.5±1.8	3.2±1.4	6.2±1.7	4.7±1.2	4.7±1.2
	69	6.6±2.4	6.1±1.2	8.7±4.6	6.2±2.4	9.2±1.8	8.6±1.3	5.3±0.5	6.0±0.2	7.7±0.6	7.7±1.7	7.7±1.7
			1.44±0.24	1.35±0.26	1.26±0.19	1.26±0.19	1.20±0.17*	1.62±0.17	1.52±0.14	1.53±0.21	1.60±0.39	1.53±0.39
A/G	-6	1.53±0.28##	1.44±0.24	1.35±0.26	1.26±0.19	1.20±0.17*	1.62±0.17	1.52±0.14	1.53±0.21	1.60±0.39	1.53±0.39	1.53±0.39
	-1	1.60±0.18#	1.30±0.19*	1.21±0.16**	1.34±0.18*	1.24±0.18**	1.45±0.14	1.42±0.21	1.45±0.15	1.44±0.33	1.42±0.15	1.42±0.15
	13	1.32±0.19	1.29±0.14	1.32±0.17	1.28±0.16	1.17±0.08	1.43±0.19	1.42±0.16	1.58±0.17	1.35±0.23	1.35±0.14	1.35±0.14
	34	1.49±0.15##	1.52±0.13	1.44±0.12	1.47±0.09	1.23±0.13*	1.44±0.21	1.51±0.20	1.51±0.11	1.43±0.14	1.43±0.13	1.43±0.13
	69	1.28±0.28	1.43±0.41	1.14±0.38	1.19±0.16	0.94±0.02	1.17±0.13	1.47±0.22	1.37±0.13	1.49±0.06	1.22±0.28	1.22±0.28
			1.19±0.16	1.19±0.16	1.19±0.16	1.19±0.16	0.94±0.02	1.47±0.22	1.37±0.13	1.49±0.06	1.22±0.28	1.22±0.28

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01
Note : On Day 60 the number of animals per group is two for males and two for females.

かに、クレアチニン、総コレステロール、トリグリセリドおよび尿酸の軽度上昇、アルブミンおよび A/G の軽度減少、アルブミン分画の減少傾向、 α グロブリン分画の増加傾向が、また、同群の雄で BUN の軽度上昇が投与 2 週目から認められた。以上の変化はいずれも投与 5 週目あるいは休薬期間終了時には回復または回復傾向を示した。

BRL 28500 投与群では、主に 1,600 mg/kg 投与群で総蛋白、総コレステロール、尿酸、無機リン、Ca などの項目に軽度な変動が認められた。休薬期間終了時には特に変化は認められなかった。

8. 剖検

CVA-K では、死亡例で主に被毛粗剛、皮下脂肪の減少、胸腺の退縮または赤色化、胃および大腸粘膜の暗赤色化、投与部位皮下の軽度赤色化が観察された。生存例では対照群を含む全例で投与部位皮下の軽度赤色化が見られた。

BRL 28500 では、対照群を含む全例で投与部位皮下の軽度赤色化が見られた。さらに 1,600 mg/kg 投与群では軽度～重度の硬結も観察された。

休薬期間終了時には、BRL 28500 の 800 mg/kg 以上の投与群で投与部位皮下の極く軽度の硬結が見られたが、投与期間終了時と比較し回復傾向が見られた。

その他、CVA-K、BRL 28500 投与群ともに特に著変は見られなかった。

9. 器官重量 (Table 5, 6)

CVA-K では、80 mg/kg 投与群の雌で肝臓の絶対および相対重量の軽度増加、150 mg/kg 投与群の雄で肝臓および腎臓の絶対および相対重量の軽度増加が認められた。また、150 mg/kg 投与群の雌で肝臓の相対重量の増加傾向が認められた。

BRL 28500 では、1,600 mg/kg 投与群の雌で肝臓の絶対および相対重量の軽度増加が、320 mg/kg 以上の投与群の雄で肝臓の相対重量の軽度増加が認められた。

休薬期間終了時には、CVA-K、BRL 28500 投与群ともに投与期間終了時に認められた変化はいずれも回復または回復傾向を示した。

10. 病理組織学的検査 (Table 7)

CVA-K では、死亡例で腎尿細管内の好酸性物質の貯留、肝臓のうっ血、肺または腎臓のうっ血が見られた。生存例では 80 mg/kg 以上の投与群で、肝細胞内に極く軽度の PAS 陽性物質の偏在が見られた。休薬期間終了時には PAS 陽性物質の偏在は回復傾向が見られた。

BRL 28500 投与群では、検体投与と関連すると思われる所見は見られなかった。

11. 電子顕微鏡検査

CVA-K では、150 mg/kg 投与群の全観察例の腎臓で尿細管上皮の再生像が観察された。肝臓では特記すべき所見は見られなかった。休薬期間終了時には 150 mg/kg 投与群の 1 例で尿細管上皮の再生像が観察されたのみであった。

BRL 28500 投与群では、肝臓および腎臓に検体投与に関連すると思われる変化は観察されなかった。

III. 考 察

CVA-K (20, 40, 80, 150 mg/kg/日) および BRL 28500 (160, 320, 800, 1,600 mg/kg/日) を雄雌ビーグル犬に 5 週間連続静脈内投与し重急性毒性試験を行った。さらに、5 週間の休薬期間を設け、検体投与による影響の回復性についても検討した。

死亡例は CVA-K の 150 mg/kg 投与群の雄 2 例雌 1 例で見られ、BRL 28500 では見られなかった。

CVA-K の死亡例は、死亡前に活気消失、脱水徴候、削瘦、極度の衰弱を示し、剖検により被毛粗剛、皮下脂肪の減少、胸腺の退縮などが見られた。また、病理組織学的検査では腎尿細管内の好酸性物質の軽度貯留が見られたが、そのほかには著変は観察されなかった。以上の所見から、これらの死亡例は食欲廃絶を含む一般状態の悪化により衰弱死したものと考えられた。

生存例の一般状態の主な変化として、CVA-K 投与群では皮膚および粘膜の発赤、嘔吐、BRL 28500 投与群では発赤、嘔吐、流涎、首振り、顔面浮腫、耳介丘疹が観察された。これらはいずれも軽微なもので投与期間後半あるいは終了後には消失しており、他の抗生剤をイヌに静脈内投与した時にも見られている¹⁻³⁾ことから、CVA-K および BRL 28500 に特異的な所見とは思われなかった。

その他、一般状態の変化として CVA-K 投与群では摂餌量の減少に伴ったと思われる体重の軽度減少、さらに活気消失、削瘦等を示す例も散見されたが、いずれも投与期間中あるいは休薬期間中に回復または回復傾向を示した。BRL 28500 投与群でも体重の軽度減少が見られたが、摂餌量には大きな変化は認められず、嘔吐が頻回であった例に体重減少の程度が比較的強い傾向が見られた。これらのことから、体重の軽度減少は嘔吐による影響と思われた。

CVA-K 投与群では、血清生化学的検査で ALP の上昇、総ビリルビン、BUN およびクレアチニンの軽度上昇が認められ、GOT および GPT の軽度上昇を示す例も散見された。また、肝臓および腎臓の絶対および相対重量の軽度増加、光顕では肝細胞内 PAS 陽性物質の軽度偏在、電顕では腎尿細管上皮の再生像が観察された。

Table 5-1 5-week intravenous subcutaneous toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Absolute organ weight (Day 34)

Sex	Male					Female				
	Control 4	20 4	40 4	80 4	150 2	Control 4	20 4	40 4	80 4	150 3
Dose (mg/kg) No. of animals Item	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.	Mean ± S.D.
Pituitary	57 ± 17	50 ± 11	58 ± 15	57 ± 7	57 ± 10	57 ± 14	63 ± 11	59 ± 18	54 ± 16	51 ± 13
Thyroid-R	0.31 ± 0.08	0.31 ± 0.06	0.23 ± 0.04	0.28 ± 0.06	0.40 ± 0.04	0.34 ± 0.13	0.26 ± 0.03	0.29 ± 0.05	0.33 ± 0.06	0.26 ± 0.03
Thyroid-L	0.33 ± 0.09	0.31 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.41 ± 0.15	0.33 ± 0.07	0.24 ± 0.03*	0.25 ± 0.05	0.29 ± 0.07	0.26 ± 0.04
Adrenal-R	0.63 ± 0.13	0.55 ± 0.19	0.59 ± 0.13	0.58 ± 0.11	0.85 ± 0.11	0.56 ± 0.09	0.59 ± 0.11	0.63 ± 0.08	0.68 ± 0.10	0.64 ± 0.08
Adrenal-L	0.68 ± 0.17	0.54 ± 0.14	0.60 ± 0.10	0.58 ± 0.10	0.87 ± 0.16	0.62 ± 0.03	0.64 ± 0.03	0.63 ± 0.14	0.64 ± 0.03	0.60 ± 0.11
Pancreas	23.7 ± 6.4	26.6 ± 3.0	27.6 ± 4.9	27.2 ± 3.1	25.2 ± 3.0	27.6 ± 3.3	22.1 ± 5.5	26.5 ± 3.9	27.4 ± 3.5	21.6 ± 1.3
Thymus	7.5 ± 3.9	8.1 ± 3.1	8.3 ± 3.2	8.6 ± 4.2	6.5 ± 1.8	9.4 ± 5.0	6.4 ± 2.2	5.9 ± 1.4	8.1 ± 3.1	6.2 ± 3.6
Submandib.-R	5.8 ± 0.8	4.9 ± 0.6	5.0 ± 0.6	5.3 ± 0.5	5.1 ± 0.8	4.1 ± 0.8	4.5 ± 0.6	4.9 ± 0.8	4.3 ± 0.7	3.3 ± 0.6
Submandib.-L	6.0 ± 1.1	4.9 ± 0.9	5.4 ± 0.9	5.0 ± 0.1	5.3 ± 0.8	4.3 ± 0.7	4.6 ± 0.8	4.5 ± 1.0	4.3 ± 0.7	3.4 ± 0.7
Spleen	25.0 ± 3.7	28.8 ± 6.4	26.8 ± 6.1	25.3 ± 4.8	40.4 ± 15.1	29.4 ± 10.2	26.6 ± 2.3	26.2 ± 8.1	28.7 ± 5.9	42.9 ± 16.9
Brain	77.6 ± 12.8	74.9 ± 3.9	81.4 ± 6.8	74.7 ± 8.3	74.5 ± 10.8	72.6 ± 3.3	68.5 ± 5.9	72.4 ± 1.3	70.6 ± 5.1	72.8 ± 5.9
Heart	78.3 ± 9.0	79.0 ± 5.8	79.3 ± 10.8	72.4 ± 8.4	72.1 ± 1.3	70.7 ± 3.8	74.0 ± 10.4	64.4 ± 7.4	71.5 ± 18.2	70.6 ± 7.9
Lung	80.8 ± 8.6	71.4 ± 8.3	74.8 ± 17.0	83.8 ± 11.9	68.3 ± 9.1	75.2 ± 12.6	74.5 ± 7.7	66.9 ± 7.8	75.6 ± 4.8	65.0 ± 13.5
Liver	233 ± 7##	258 ± 12	258 ± 23	264 ± 30	307 ± 21	233 ± 12	223 ± 18	220 ± 22	286 ± 11*	249 ± 13
Kidney-R	22.4 ± 1.6#	24.7 ± 2.1	22.4 ± 1.3	24.9 ± 1.4	27.6 ± 2.5	20.5 ± 2.9	21.2 ± 3.0	20.7 ± 3.1	22.6 ± 3.1	21.8 ± 1.0
Kidney-L	23.0 ± 2.3	24.5 ± 3.3	20.7 ± 1.5	22.0 ± 1.0	26.8 ± 0.7	20.4 ± 3.6	20.1 ± 2.6	22.0 ± 3.8	23.3 ± 2.1	22.0 ± 2.3
Testis-R	7.0 ± 1.7	7.5 ± 3.3	7.1 ± 2.0	6.8 ± 1.4	5.2 ± 0.9					
Testis-L	7.4 ± 1.5	7.1 ± 2.5	6.8 ± 1.3	6.9 ± 1.4	4.9 ± 0.4					
Epididymis-R	1.7 ± 0.1	2.0 ± 0.6	2.3 ± 0.1*	1.5 ± 0.4	2.0 ± 0.1					
Epididymis-L	1.8 ± 0.3	2.2 ± 0.7	2.3 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.9 ± 0.4					
Prostate	4.8 ± 1.5	4.5 ± 1.9	5.1 ± 4.6	3.2 ± 2.0	3.1 ± 1.0					
Ovary-R						0.35 ± 0.07	0.45 ± 0.10	0.38 ± 0.05	0.74 ± 0.23*	0.41 ± 0.10
Ovary-L						0.39 ± 0.04	0.38 ± 0.06	0.44 ± 0.10	0.67 ± 0.29	0.50 ± 0.21
Uterus						4.3 ± 1.3	5.3 ± 0.8	4.3 ± 1.9	13.7 ± 8.5	3.9 ± 1.7

Significance of treatment-control difference : * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01 ; Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Unit : g ; except for pituitary (mg)

Table 5-2 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Relative organ weight (Day 34)

Sex	Male						Female								
	Control 4	20 4	40 4	80 4	150 2	Control 4	20 4	40 4	80 4	150 3	Control 4	20 4	40 4	80 4	150 3
Dose (mg/kg) No. of animals Item	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Pituitary	6.0±2.2	5.3±0.8	6.6±2.0	6.3±1.5	7.7±1.8	5.9±1.3	6.7±1.2	6.8±1.7	5.9±1.2	6.4±1.2	5.9±1.3	6.7±1.2	6.8±1.7	5.9±1.2	6.4±1.2
Thyroid-R	0.033±0.009	0.033±0.008	0.026±0.006	0.031±0.005	0.053±0.002	0.036±0.014	0.028±0.004	0.034±0.006	0.037±0.010	0.032±0.003	0.036±0.014	0.028±0.004	0.034±0.006	0.037±0.010	0.032±0.003
Thyroid-L	0.035±0.012	0.033±0.003	0.035±0.006	0.032±0.003	0.055±0.023	0.035±0.007	0.026±0.004	0.029±0.006	0.033±0.010	0.032±0.002	0.035±0.007	0.026±0.004	0.029±0.006	0.033±0.010	0.032±0.002
Adrenal-R	0.067±0.024	0.059±0.023	0.067±0.015	0.065±0.020	0.113±0.009	0.058±0.008#	0.064±0.013	0.074±0.008	0.076±0.012	0.083±0.019	0.058±0.008#	0.064±0.013	0.074±0.008	0.076±0.012	0.083±0.019
Adrenal-L	0.073±0.028	0.057±0.014	0.068±0.011	0.065±0.017	0.115±0.016	0.065±0.005	0.069±0.004	0.074±0.015	0.071±0.010	0.077±0.024	0.065±0.005	0.069±0.004	0.074±0.015	0.071±0.010	0.077±0.024
Pancreas	2.52±0.96	2.84±0.48	3.10±0.40	3.02±0.60	3.35±0.22	2.88±0.33	2.38±0.58	3.11±0.35	3.08±0.66	2.76±0.46	2.88±0.33	2.38±0.58	3.11±0.35	3.08±0.66	2.76±0.46
Thymus	0.79±0.41	0.88±0.37	0.92±0.27	0.94±0.44	0.86±0.20	0.96±0.45	0.69±0.23	0.70±0.20	0.90±0.32	0.77±0.41	0.96±0.45	0.69±0.23	0.70±0.20	0.90±0.32	0.77±0.41
Submandib.-R	0.61±0.07	0.52±0.05	0.56±0.08	0.59±0.11	0.68±0.14	0.43±0.07	0.49±0.08	0.58±0.12	0.49±0.12	0.43±0.14	0.43±0.07	0.49±0.08	0.58±0.12	0.49±0.12	0.43±0.14
Submandib.-L	0.63±0.07	0.51±0.06	0.60±0.07	0.55±0.06	0.71±0.15	0.45±0.09	0.50±0.09	0.54±0.14	0.49±0.11	0.43±0.14	0.45±0.09	0.50±0.09	0.54±0.14	0.49±0.11	0.43±0.14
Spleen	2.67±0.78	3.05±0.69	2.99±0.30	2.76±0.32	5.46±2.33	3.03±0.87	2.87±0.20	3.03±0.77	3.17±0.47	5.47±2.14	3.03±0.87	2.87±0.20	3.03±0.77	3.17±0.47	5.47±2.14
Brain	8.24±2.37	7.97±0.76	9.28±1.54	8.29±1.64	9.98±2.01	7.58±0.43#	7.39±0.62	8.53±0.79	7.87±0.78	9.31±1.81	7.58±0.43#	7.39±0.62	8.53±0.79	7.87±0.78	9.31±1.81
Heart	8.13±0.34	8.39±0.67	8.93±0.61	7.95±0.72	9.63±0.72	7.39±0.71	7.98±1.06	7.54±0.45	7.87±1.35	9.06±2.09	7.39±0.71	7.98±1.06	7.54±0.45	7.87±1.35	9.06±2.09
Lung	8.52±1.78	7.65±1.51	8.38±1.29	9.18±0.86	9.08±0.71	7.80±0.83	8.03±0.68	7.85±0.57	8.45±0.98	8.23±1.67	7.80±0.83	8.03±0.68	7.85±0.57	8.45±0.98	8.23±1.67
Liver	24.5±4.3##	27.4±2.1	29.1±2.3	29.1±3.3	41.1±5.1	24.3±1.6##	24.0±1.5	25.8±0.5	32.0±4.1*	31.8±4.7	24.3±1.6##	24.0±1.5	25.8±0.5	32.0±4.1*	31.8±4.7
Kidney-R	2.35±0.32#	2.61±0.14	2.55±0.28	2.75±0.29	3.67±0.13	2.14±0.29##	2.29±0.29	2.42±0.19	2.52±0.36	2.77±0.38	2.14±0.29##	2.29±0.29	2.42±0.19	2.52±0.36	2.77±0.38
Kidney-L	2.43±0.50	2.59±0.11	2.35±0.30	2.43±0.32	3.58±0.11	2.12±0.31##	2.17±0.25	2.57±0.31	2.62±0.48	2.79±0.32	2.12±0.31##	2.17±0.25	2.57±0.31	2.62±0.48	2.79±0.32
Testis-R	0.74±0.22	0.78±0.29	0.79±0.13	0.75±0.18	0.70±0.16	0.036±0.005##	0.048±0.011	0.045±0.004	0.084±0.032*	0.053±0.019	0.036±0.005##	0.048±0.011	0.045±0.004	0.084±0.032*	0.053±0.019
Testis-L	0.78±0.22	0.75±0.22	0.76±0.08	0.77±0.17	0.66±0.09	0.041±0.005#	0.041±0.007	0.051±0.011	0.078±0.042	0.066±0.036	0.041±0.005#	0.041±0.007	0.051±0.011	0.078±0.042	0.066±0.036
Epididymis-R	0.18±0.03	0.21±0.06	0.26±0.02*	0.17±0.06	0.26±0.00	0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28	0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28
Epididymis-L	0.19±0.06	0.23±0.07	0.27±0.05	0.17±0.03	0.25±0.04	0.036±0.005##	0.048±0.011	0.045±0.004	0.084±0.032*	0.053±0.019	0.036±0.005##	0.048±0.011	0.045±0.004	0.084±0.032*	0.053±0.019
Prostate	0.51±0.20	0.46±0.15	0.58±0.50	0.34±0.21	0.42±0.16	0.041±0.005#	0.041±0.007	0.051±0.011	0.078±0.042	0.066±0.036	0.041±0.005#	0.041±0.007	0.051±0.011	0.078±0.042	0.066±0.036
Ovary-R						0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28	0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28
Ovary-L						0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28	0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28
Uterus						0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28	0.44±0.10	0.58±0.09	0.51±0.22	1.62±1.14	0.51±0.28

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Unit : g/kg b.w.; except for pituitary (mg/kg b.w.)

Table 5-3 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Absolute organ weight (Day 69)

Sex	Male					Female				
	Control 2	20 2	40 2	80 2	150 2	Control 2	20 2	40 2	80 2	150 2
Dose (mg/kg) No. of animals Item	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Pituitary	62±11	65±8	62±1	49±6	60±4	56±6	49±12	66±11	40±11	48±12
Thyroid-R	0.31±0.05	0.41±0.18	0.35±0.02	0.29±0.04	0.30±0.02	0.33±0.11	0.37±0.09	0.43±0.04	0.30±0.04	0.38±0.15
Thyroid-L	0.33±0.04	0.36±0.18	0.36±0.02	0.35±0.01	0.28±0.05	0.32±0.06	0.29±0.13	0.33±0.06	0.27±0.07	0.32±0.06
Adrenal-R	0.61±0.02	0.49±0.02	0.59±0.07	0.58±0.04	0.65±0.11	0.61±0.11	0.68±0.03	0.60±0.09	0.55±0.15	0.54±0.09
Adrenal-L	0.58±0.01	0.49±0.03	0.60±0.09	0.57±0.02	0.61±0.02	0.51±0.03	0.68±0.02	0.66±0.18	0.58±0.13	0.56±0.13
Pancreas	30.4±6.4	28.6±5.5	27.2±2.6	26.9±2.2	23.7±3.8	25.5±8.3	27.4±2.8	25.5±1.7	25.0±6.9	22.6±3.9
Thymus	9.5±2.9	6.6±3.0	8.4±5.0	6.7±0.8	13.0±1.3	6.8±1.3	9.5±4.2	7.4±3.0	7.0±3.2	7.7±4.4
Submandib.-R	4.6±0.6	5.9±1.0	5.5±0.3	7.4±1.2	5.5±0.6	4.3±1.3	5.1±0.3	5.1±0.1	4.4±1.5	6.2±0.5
Submandib.-L	4.4±0.9	5.8±0.8	5.4±0.4	7.2±0.7	5.3±0.8	4.1±1.3	5.2±0.6	5.0±0.1	4.1±1.7	6.3±0.3
Spleen	26.6±4.4	26.0±2.8	27.4±9.6	25.5±3.9	22.9±9.5	23.8±3.8	22.8±0.1	30.5±2.6	27.9±10.4	27.4±5.9
Brain	66.3±12.0	79.6±0.0	76.2±0.1	71.8±1.5	77.8±2.5	73.6±9.3	72.0±5.8	65.3±2.1	69.4±5.1	68.0±2.5
Heart	70.2±13.7	84.4±17.0	83.1±0.0	81.1±0.7	71.6±0.8	71.1±13.9	70.4±8.4	80.3±12.3	79.0±7.1	87.6±7.4
Lung	72.6±31.0	84.3±8.8	88.7±13.8	69.3±3.0	76.3±11.8	62.3±14.2	73.9±15.0	86.8±19.0	80.4±2.2	82.0±9.8
Liver	238±38	275±44	223±49	282±10	245±14	205±43	266±62	279±26	238±3	243±41
Kidney-R	21.7±1.3	24.9±1.6	25.4±3.1	24.2±1.2	23.5±1.7	19.4±2.8	19.9±3.0	24.0±0.4	21.3±5.4	22.9±2.3
Kidney-L	22.0±2.8	23.3±0.1	25.2±0.8	23.3±1.6	22.1±1.7	19.9±4.2	21.0±4.3	23.5±0.2	22.4±3.2	23.5±1.3
Testis-R	7.9±1.6	6.1±1.1	8.0±1.9	5.6±1.1	7.7±1.8					
Testis-L	8.1±1.9	6.5±1.5	8.5±1.9	5.4±0.3	7.4±1.4					
Epididymis-R	2.1±0.2	1.6±0.2	2.1±0.2	1.9±0.4	1.7±0.6					
Epididymis-L	1.9±0.1	1.4±0.4	2.5±0.5	1.8±0.0	1.7±0.2					
Prostate	4.6±1.1	5.7±2.4	7.4±2.3	5.5±2.1	2.5±0.4					
Ovary-R						0.33±0.06	0.49±0.04	0.71±0.25	0.34±0.06	0.34±0.11
Ovary-L						0.26±0.03	0.65±0.13	0.68±0.45	0.37±0.01	0.34±0.12
Uterus						2.3±1.6	8.2±6.7	9.9±8.1	3.5±0.1	3.8±0.4

Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Unit : g ; except for pituitary (mg)

Table 5-4 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on CVA-K in beagles
Item : Relative organ weight (Day 69)

Sex	Male					Female				
	Control 2 Mean ± S.D.	20 2 Mean ± S.D.	40 2 Mean ± S.D.	80 2 Mean ± S.D.	150 2 Mean ± S.D.	Control 2 Mean ± S.D.	20 2 Mean ± S.D.	40 2 Mean ± S.D.	80 2 Mean ± S.D.	150 2 Mean ± S.D.
Pituitary	6.2±0.0	6.2±0.9	6.0±0.1	4.6±0.4	5.7±0.7	6.2±0.3	5.1±1.1	6.5±0.6	4.5±1.1	4.8±1.1
Thyroid-R	0.032±0.011	0.039±0.018	0.033±0.003	0.028±0.005	0.028±0.003	0.036±0.006	0.039±0.009	0.042±0.000	0.034±0.004	0.038±0.016
Thyroid-L	0.034±0.009	0.035±0.018	0.034±0.003	0.033±0.003	0.026±0.006	0.036±0.001	0.031±0.013	0.032±0.004	0.030±0.007	0.032±0.007
Adrenal-R	0.062±0.013	0.047±0.001	0.057±0.009	0.054±0.001	0.062±0.008	0.067±0.001	0.073±0.001	0.059±0.004	0.061±0.014	0.055±0.008
Adrenal-L	0.059±0.010	0.047±0.004	0.058±0.011	0.053±0.004	0.058±0.001	0.057±0.006	0.072±0.000	0.065±0.013	0.065±0.013	0.057±0.012
Pancreas	3.05±0.10	2.75±0.59	2.60±0.34	2.53±0.29	2.24±0.25	2.80±0.49	2.91±0.21	2.54±0.03	2.83±0.87	2.28±0.42
Thymus	0.94±0.13	0.63±0.28	0.80±0.45	0.63±0.09	1.24±0.06	0.76±0.02	1.01±0.42	0.75±0.36	0.79±0.38	0.78±0.43
Submandib.-R	0.46±0.01	0.56±0.09	0.53±0.01	0.69±0.09	0.52±0.04	0.48±0.06	0.54±0.01	0.51±0.06	0.49±0.15	0.62±0.06
Submandib.-L	0.45±0.01	0.55±0.06	0.51±0.01	0.68±0.05	0.50±0.05	0.45±0.07	0.55±0.04	0.50±0.04	0.46±0.18	0.64±0.04
Spleen	2.68±0.04	2.49±0.33	2.61±0.83	2.40±0.45	2.16±0.80	2.65±0.01	2.43±0.06	3.05±0.50	3.12±1.07	2.76±0.55
Brain	6.66±0.03	7.62±0.16	7.30±0.26	6.75±0.36	7.37±0.11	8.36±2.34	7.67±0.85	6.51±0.30	7.81±0.82	6.87±0.15
Heart	7.04±0.13	8.09±1.80	7.96±0.27	7.62±0.18	6.79±0.25	7.88±0.30	7.50±1.12	7.97±0.61	8.87±0.51	8.85±0.88
Lung	7.14±1.85	8.08±1.01	8.47±1.03	6.50±0.07	7.21±0.78	6.88±0.50	7.84±1.36	8.59±1.22	9.04±0.53	8.29±1.10
Liver	23.9±0.5	26.4±4.7	21.3±4.0	26.5±0.0	23.2±0.3	22.7±1.2	28.3±5.8	27.8±0.4	26.7±1.2	24.6±3.8
Kidney-R	2.20±0.26	2.38±0.20	2.44±0.38	2.27±0.04	2.23±0.06	2.16±0.03	2.11±0.26	2.39±0.15	2.41±0.69	2.31±0.27
Kidney-L	2.22±0.11	2.23±0.04	2.41±0.16	2.19±0.23	2.10±0.06	2.20±0.13	2.23±0.39	2.34±0.20	2.52±0.44	2.37±0.17
Testis-R	0.79±0.01	0.58±0.10	0.77±0.21	0.53±0.13	0.73±0.14					
Testis-L	0.81±0.05	0.62±0.13	0.81±0.21	0.51±0.04	0.70±0.10					
Epididymis-R	0.21±0.01	0.15±0.03	0.20±0.01	0.18±0.04	0.16±0.04					
Epididymis-L	0.20±0.02	0.13±0.04	0.24±0.04	0.17±0.00	0.16±0.01					
Prostate	0.48±0.20	0.55±0.24	0.70±0.20	0.51±0.18	0.24±0.02					
Ovary-R						0.036±0.001	0.052±0.003	0.070±0.019	0.039±0.008	0.034±0.011
Ovary-L						0.029±0.001	0.069±0.011	0.066±0.040	0.041±0.000	0.034±0.013
Uterus						0.24±0.14	0.86±0.68	0.95±0.74	0.40±0.01	0.39±0.04

Dose response : # P ≤ 0.05, ## P ≤ 0.01

Unit : g/kg b.w. ; except for pituitary (mg/kg b.w.)

Table 6-1 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Absolute organ weight (Day 34)

Sex	Male					Female				
	Control 4 Mean±S.D.	160 4 Mean±S.D.	320 4 Mean±S.D.	800 4 Mean±S.D.	1600 4 Mean±S.D.	Control 4 Mean±S.D.	160 4 Mean±S.D.	320 4 Mean±S.D.	800 4 Mean±S.D.	1600 4 Mean±S.D.
Pituitary	61±19	53±7	54±10	61±12	58±7	65±25	56±17	61±12	55±9	59±7
Thyroid-R	0.32±0.07	0.45±0.04	0.30±0.05	0.40±0.11	0.35±0.05	0.29±0.05	0.34±0.07	0.35±0.05	0.38±0.04*	0.36±0.10
Thyroid-L	0.34±0.03	0.48±0.07*	0.31±0.05	0.41±0.11	0.36±0.07	0.29±0.07	0.33±0.04	0.32±0.10	0.31±0.06	0.40±0.11
Adrenal-R	0.58±0.07	0.57±0.10	0.62±0.11	0.54±0.14	0.59±0.10	0.51±0.13	0.57±0.08	0.57±0.09	0.50±0.07	0.58±0.08
Adrenal-L	0.54±0.03	0.56±0.07	0.65±0.12	0.54±0.14	0.56±0.10	0.46±0.09	0.58±0.08	0.60±0.11	0.51±0.05	0.56±0.07
Pancreas	21.9±6.3	25.4±5.3	21.1±5.6	25.6±0.9	23.1±1.5	23.5±7.4#	23.2±2.5	20.5±3.4	25.3±1.3	27.0±1.8
Thymus	10.4±2.7	8.7±3.6	5.5±1.4*	8.1±2.3	6.0±3.0	7.3±1.6	12.2±4.0	9.2±2.5	8.0±3.9	6.6±2.3
Submandib.-R	4.6±1.3	4.2±0.9	4.7±0.9	4.8±2.1	4.3±0.9	4.1±0.8	4.7±0.1	3.5±0.4	4.1±0.3	4.4±1.2
Submandib.-L	4.6±1.3	4.4±0.9	4.5±0.9	4.7±2.2	4.5±1.0	3.9±0.7	4.5±0.3	3.7±0.6	4.0±0.3	4.7±0.8
Spleen	24.3±4.6	19.8±4.7	18.3±3.8	20.0±4.4	26.3±8.1	21.2±4.6	26.9±2.9	21.2±3.1	19.3±1.7	36.9±6.9*
Brain	75.5±5.0	71.2±5.8	81.0±4.6	71.8±5.7	73.3±4.9	71.3±4.2	75.4±4.1	70.3±1.5	70.4±7.4	74.3±6.2
Heart	74.7±7.9	70.6±6.5	64.5±11.0	66.8±9.5	71.2±2.7	64.7±13.9	66.4±8.6	58.9±5.2	72.9±11.2	71.6±9.8
Lung	69.7±10.3	71.7±7.7	74.6±7.5	73.4±12.5	70.8±8.3	59.5±6.4	71.5±8.4	63.2±5.9	66.2±7.0	70.8±12.7
Liver	235±39##	232±22	252±26	296±26	302±39	202±6##	252±17*	234±16*	256±29*	332±25*
Kidney-R	21.1±3.2	21.5±0.9	21.6±3.1	21.2±2.9	22.4±2.4	16.9±1.9#	19.8±1.1	18.3±2.1	22.9±2.2*	20.4±1.9
Kidney-L	21.2±3.0	21.1±1.1	21.7±3.7	23.5±4.1	21.1±1.3	17.4±2.4#	19.5±1.4	18.7±1.3	21.5±2.0	20.9±1.5
Testis-R	9.2±1.5	6.4±0.6	7.5±2.0	7.5±1.3	6.4±1.5					
Testis-L	8.7±1.4	6.6±0.8	7.0±1.8	7.1±1.3	6.6±1.7					
Epididymis-R	1.8±0.1	1.6±0.5	1.6±0.8	1.8±0.3	1.8±0.2					
Epididymis-L	1.7±0.3	1.8±0.6	1.8±0.9	1.9±0.3	1.8±0.3					
Prostate	4.7±2.3	3.4±0.7	2.9±2.4	3.6±0.5	3.1±0.9					
Ovary-R						0.41±0.07	0.49±0.31	0.29±0.08	0.36±0.07	0.42±0.13
Ovary-L						0.37±0.16	0.48±0.18	0.30±0.05	0.34±0.08	0.40±0.13
Uterus						5.6±3.3	5.4±3.2	2.8±0.9	2.3±0.4	3.7±1.0

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01, Dose response : #P≤0.05, ##P≤0.01
Unit : g ; except for pituitary (mg)

Table 6-2 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Relative organ weight (Day 34)

Sex	Male					Female				
	Control 4 Mean±S.D.	160 4 Mean±S.D.	320 4 Mean±S.D.	800 4 Mean±S.D.	1600 4 Mean±S.D.	Control 4 Mean±S.D.	160 4 Mean±S.D.	320 4 Mean±S.D.	800 4 Mean±S.D.	1600 4 Mean±S.D.
Pituitary	6.4±2.2	6.1±1.1	6.5±1.8	7.0±0.5	6.5±0.5	7.2±1.4	5.4±1.4*	7.7±1.1	6.5±0.7	6.6±0.5
Thyroid-R	0.034±0.009	0.051±0.004	0.086±0.003	0.046±0.007	0.039±0.006	0.035±0.011	0.034±0.008	0.045±0.012	0.045±0.002	0.040±0.012
Thyroid-L	0.035±0.003	0.054±0.003*	0.038±0.004	0.047±0.006	0.040±0.008	0.033±0.006	0.032±0.006	0.042±0.017	0.037±0.006	0.044±0.010
Adrenal-R	0.060±0.001	0.064±0.006	0.074±0.002*	0.062±0.009	0.065±0.009	0.058±0.013	0.055±0.006	0.073±0.019	0.060±0.008	0.064±0.006
Adrenal-L	0.056±0.005	0.063±0.005	0.077±0.004*	0.062±0.010	0.063±0.009	0.054±0.012	0.056±0.005	0.077±0.024	0.062±0.006	0.062±0.007
Pancreas	2.23±0.42	2.87±0.55	2.57±0.85	2.98±0.37	2.58±0.13	2.67±0.49	2.28±0.31	2.59±0.46	3.07±0.43	3.00±0.33
Thymus	1.10±0.39	0.97±0.38	0.65±0.09	0.92±0.14	0.67±0.34	0.85±0.16	1.19±0.37	1.16±0.29	0.94±0.36	0.73±0.24
Submandib.-R	0.47±0.09	0.49±0.15	0.57±0.16	0.54±0.17	0.48±0.11	0.47±0.09	0.46±0.03	0.44±0.06	0.49±0.02	0.48±0.11
Submandib.-L	0.47±0.09	0.51±0.14	0.55±0.14	0.53±0.18	0.50±0.13	0.45±0.05#	0.44±0.03	0.47±0.10	0.48±0.02	0.51±0.05
Spleen	2.50±0.27	2.22±0.32	2.16±0.15	2.29±0.25	2.95±0.98	2.43±0.40	2.64±0.32	2.65±0.20	2.32±0.07	4.11±0.94
Brain	7.86±0.85	8.12±1.16	9.86±1.90	8.34±0.81	8.19±0.55	8.43±1.95	7.39±0.46	8.87±0.97	8.46±0.45	8.21±0.24
Heart	7.74±0.52	7.99±0.61	7.69±0.81	7.71±0.52	7.98±0.62	7.38±0.42	6.48±0.56	7.39±0.44	8.78±1.21	7.89±0.60
Lung	7.19±0.58	8.11±0.54	9.00±1.26	8.53±1.53	7.91±0.87	6.91±0.95	7.00±0.79	7.94±0.76	7.94±0.16	7.79±0.91
Liver	24.1±1.5##	26.3±0.7	30.3±2.4*	34.3±1.9*	33.8±4.7*	23.8±5.0##	24.7±1.7	29.5±2.5	30.8±3.7	36.9±4.9*
Kidney-R	2.19±0.22	2.45±0.33	2.58±0.31	2.44±0.18	2.51±0.29	2.01±0.55	1.95±0.15	2.31±0.35	2.77±0.37	2.26±0.20
Kidney-L	2.19±0.24	2.41±0.30	2.59±0.27	2.69±0.12*	2.36±0.19	2.07±0.58	1.90±0.05	2.36±0.25	2.59±0.24	2.31±0.11
Testis-R	0.95±0.12	0.72±0.06*	0.88±0.12	0.86±0.06	0.72±0.19					
Testis-L	0.89±0.06	0.75±0.10	0.83±0.09	0.82±0.06	0.75±0.21					
Epididymis-R	0.19±0.03	0.18±0.07	0.18±0.06	0.21±0.03	0.20±0.02					
Epididymis-L	0.18±0.02	0.21±0.09	0.21±0.08	0.22±0.03	0.19±0.03					
Prostate	0.49±0.22	0.39±0.11	0.32±0.25	0.41±0.06	0.34±0.09					
Ovary-R						0.048±0.012	0.048±0.029	0.036±0.009	0.043±0.009	0.046±0.012
Ovary-L						0.046±0.030	0.047±0.016	0.038±0.010	0.041±0.008	0.044±0.011
Uterus						0.67±0.47	0.53±0.30	0.34±0.09	0.27±0.05	0.41±0.10

Significance of treatment-control difference : * P≤0.05, ** P≤0.01; Dose response : # P≤0.05, ## P≤0.01

Unit : g/kg b.w. ; except for pituitary (mg/kg b.w.)

Table 6-3 5-week intravenous subcutaneous toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Absolute organ weight (Day 69)

Sex	Male					Female				
	Control 2	160 2	320 2	800 2	1600 2	Control 2	160 2	320 2	800 2	1600 2
Dose (mg/kg) No. of animals Item	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
Pituitary	60±4	63±1	61±16	64±5	58±16	57±9	51±22	64±1	68±4	44±10
Thyroid-R	0.32±0.13	0.33±0.02	0.36±0.03	0.32±0.01	0.39±0.11	0.36±0.10	0.34±0.01	0.31±0.06	0.28±0.12	0.37±0.13
Thyroid-L	0.33±0.13	0.30±0.00	0.37±0.02	0.29±0.03	0.37±0.01	0.35±0.11	0.37±0.06	0.31±0.02	0.33±0.14	0.37±0.09
Adrenal-R	0.55±0.10	0.50±0.05	0.54±0.03	0.60±0.13	0.47±0.10	0.67±0.07	0.57±0.10	0.50±0.04	0.56±0.03	0.59±0.04
Adrenal-L	0.56±0.08	0.55±0.02	0.54±0.04	0.61±0.15	0.49±0.10	0.66±0.09	0.56±0.06	0.53±0.00	0.57±0.01	0.60±0.10
Pancreas	26.2±3.6	26.8±2.0	26.5±0.6	26.8±10.7	24.7±0.9	29.8±5.5	22.7±0.6	23.3±3.1	25.2±1.0	25.9±0.1
Thymus	7.4±1.3	8.8±0.7	9.0±0.9	6.6±0.6	6.0±0.1	5.5±4.2	5.4±0.6	6.1±1.3	6.4±0.1	10.2±0.5
Submandib.-R	7.8±2.8	5.4±0.9	4.4±0.1	6.0±2.0	4.7±0.0	4.3±1.2	4.2±0.9	4.4±0.1	3.1±0.0	4.5±1.2
Submandib.-L	7.6±2.8	5.4±1.1	4.2±0.1	6.0±2.1	4.7±0.5	4.5±1.1	4.4±0.7	4.9±0.1	3.4±0.2	4.0±1.0
Spleen	24.3±0.8	22.8±1.2	21.8±0.4	20.9±6.0	22.6±0.5	21.2±1.6	22.1±3.0	20.6±1.3	21.9±0.9	24.3±8.6
Brain	78.5±6.0	84.2±1.8	72.0±4.5	79.3±10.5	74.7±0.9	75.4±2.1	73.4±0.9	70.8±3.0	82.2±7.6	67.2±4.6
Heart	85.3±2.3	77.6±1.9	68.6±1.3	71.0±11.2	76.0±4.3	67.7±1.4	70.9±5.4	68.2±6.2	75.9±11.1	64.1±0.0
Lung	78.9±7.2	74.4±0.6	69.2±7.1	69.1±8.6	72.8±4.2	73.4±5.7	78.3±13.4	71.3±11.0	73.3±5.7	77.5±15.1
Liver	269±12	248±9	239±7	256±36	276±30	225±15	254±10	270±10	245±10	275±0
Kidney-R	24.0±6.2	25.7±0.9	21.5±2.9	19.8±0.1	21.8±2.0	22.5±2.1	18.6±1.6	19.2±0.7	21.3±4.9	20.9±0.3
Kidney-L	23.7±5.9	25.6±0.7	21.6±3.5	20.2±0.6	22.9±4.0	21.7±1.6	18.9±0.9	18.7±0.4	21.5±5.6	20.1±0.8
Testis-R	9.4±0.2	8.4±0.3	8.7±0.3	7.0±0.6	7.6±2.2					
Testis-L	9.2±0.1#	8.7±0.2	8.6±0.6	7.2±0.9	7.6±2.1					
Epididymis-R	2.2±0.1	2.4±0.6	2.0±0.2	1.6±0.4	2.1±0.6					
Epididymis-L	2.1±0.1	2.7±0.9	2.0±0.3	1.7±0.5	2.2±0.6					
Prostate	2.8±1.4	5.5±0.1	3.6±1.5	3.9±2.5	4.5±0.4					
Ovary-R						0.54±0.05	0.87±0.71	0.40±0.04	0.49±0.28	0.62±0.20
Ovary-L						0.49±0.11	1.05±0.86	0.40±0.01	0.37±0.10	0.58±0.26
Uterus						4.0±0.2	7.6±2.7	3.2±1.1	2.2±0.9	6.3±5.2

Dose response : # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$

Unit : g ; except for pituitary (mg)

Table 6-4 5-week intravenous subacute toxicity study followed by 5-week recovery test on BRL 28500 in beagles
Item : Relative organ weight (Day 69)

Sex	Male					Female				
	Control 2	160 2	320 2	800 2	1600 2	Control 2	160 2	320 2	800 2	1600 2
Dose (mg/kg) No. of animals Item	Control Mean±S.D.	160 Mean±S.D.	320 Mean±S.D.	800 Mean±S.D.	1600 Mean±S.D.	Control Mean±S.D.	160 Mean±S.D.	320 Mean±S.D.	800 Mean±S.D.	1600 Mean±S.D.
Pituitary	5.8±0.9	5.9±0.1	6.0±1.3	7.0±1.5	6.0±1.6	5.9±1.3	5.4±2.2	6.3±0.2	6.9±0.6	4.6±1.2
Thyroid-R	0.031±0.014	0.031±0.002	0.036±0.005	0.035±0.006	0.041±0.011	0.037±0.013	0.036±0.001	0.031±0.006	0.028±0.011	0.037±0.013
Thyroid-L	0.032±0.015	0.028±0.000	0.036±0.004	0.032±0.007	0.039±0.002	0.036±0.014	0.040±0.007	0.030±0.003	0.034±0.013	0.038±0.007
Adrenal-R	0.054±0.013	0.047±0.005	0.054±0.005	0.064±0.006	0.050±0.009	0.068±0.013	0.061±0.009	0.049±0.003	0.057±0.005	0.061±0.005
Adrenal-L	0.054±0.011	0.052±0.002	0.053±0.006	0.065±0.007	0.052±0.009	0.067±0.015	0.060±0.005	0.052±0.001	0.058±0.004	0.063±0.012
Pancreas	2.54±0.52	2.52±0.21	2.62±0.18	2.85±0.79	2.60±0.17	3.05±0.81	2.44±0.14	2.29±0.33	2.55±0.02	2.68±0.09
Thymus	0.72±0.17	0.83±0.06	0.89±0.13	0.72±0.16	0.64±0.04	0.54±0.38	0.59±0.08	0.60±0.12	0.65±0.04	1.05±0.09
Submandib.-R	0.76±0.32	0.51±0.08	0.44±0.01	0.64±0.13	0.50±0.02	0.44±0.16	0.45±0.09	0.44±0.02	0.32±0.01	0.46±0.14
Submandib.-L	0.74±0.32	0.51±0.11	0.42±0.01	0.64±0.13	0.49±0.07	0.46±0.15	0.48±0.06	0.48±0.00	0.34±0.03	0.41±0.11
Spleen	2.34±0.24	2.14±0.13	2.15±0.06	2.24±0.36	2.38±0.12	2.15±0.35	2.38±0.25	2.02±0.16	2.22±0.15	2.50±0.81
Brain	7.58±1.09	7.90±0.11	7.09±0.09	8.57±0.02	7.87±0.33	7.63±0.45	7.89±0.34	6.95±0.39	8.29±0.52	6.92±0.27
Heart	8.21±0.33	7.28±0.13	6.77±0.21	7.66±0.22	7.99±0.21	6.87±0.74	7.62±0.35	6.69±0.70	7.65±0.91	6.61±0.20
Lung	7.58±0.18	6.99±0.01	6.81±0.37	7.48±0.04	7.66±0.21	7.47±1.21	8.45±1.70	7.00±1.17	7.41±0.79	7.97±1.32
Liver	26.0±2.9	23.3±1.0	23.5±0.5	27.6±0.3	29.0±2.3	22.7±0.5	27.4±2.0	26.5±0.6	24.8±0.3	28.3±0.9
Kidney-R	2.29±0.44	2.42±0.09	2.11±0.18	2.16±0.30	2.29±0.14	2.29±0.41	2.00±0.23	1.88±0.04	2.15±0.43	2.16±0.09
Kidney-L	2.27±0.42	2.41±0.08	2.12±0.24	2.20±0.23	2.41±0.35	2.20±0.35	2.04±0.15	1.83±0.01	2.16±0.50	2.07±0.14
Testis-R	0.90±0.04	0.79±0.02	0.86±0.07	0.76±0.04	0.80±0.21					
Testis-L	0.89±0.05	0.81±0.03	0.85±0.10	0.77±0.00	0.80±0.20					
Epididymis-R	0.21±0.03	0.23±0.05	0.19±0.03	0.17±0.02	0.22±0.06					
Epididymis-L	0.20±0.01	0.26±0.08	0.20±0.04	0.18±0.04	0.23±0.06					
Prostate	0.27±0.12	0.52±0.02	0.36±0.16	0.40±0.21	0.47±0.03					
Ovary-R						0.055±0.009	0.095±0.079	0.040±0.005	0.050±0.030	0.064±0.023
Ovary-L						0.050±0.015	0.114±0.096	0.039±0.001	0.038±0.011	0.060±0.028
Uterus						0.40±0.06	0.82±0.31	0.31±0.11	0.22±0.10	0.65±0.55

Dose response : # $P \leq 0.05$, ## $P \leq 0.01$

Unit : g/kg b.w. ; except for pituitary (mg/kg b.w.)

Table 7 5-week intravenous toxicity study followed by 5-week recovery test of CVA-K in beagles
Item : Histopathology

Findings	Sex	Male					Female				
	Dose (mg/kg)	Control	20	40	80	150	Control	20	40	80	150
Liver (PAS stain) : Altered distribution of PAS positive material within hepatocytes	At the end of the dosing period	0/4	0/4	0/4	4/4	2/2	0/4	0/4	0/4	4/4	3/3
	At the end of the recovery period	0/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2

これらの所見は肝臓、腎臓に対する CVA-K の何らかの影響を示唆しているものと思われるが、いずれも軽度の変化で休薬期間終了時にはほとんど回復が見られた。さらに、肝臓については光顕で細胞構造自体の変化はなく、電顕でも著変は全く見られず、腎臓についても光顕で著変は見られなかった。これらのことから、CVA-K の肝臓、腎臓に対する影響は可逆的でしかも軽微なものと思われた。

BRL 28500 投与群では、肝臓の絶対および相対重量の軽度増加が認められたほかは、肝臓あるいは腎臓に対する変化は全く見られなかった。

その他、CVA-K 投与群では血液学的検査および血清生化学的検査で、BRL 28500 投与群では血液学的検査で変化の見られた項目があったが、いずれも投与期間終了時あるいは休薬期間終了時には回復傾向が認められていることから、軽度で可逆的な変化で、毒性学的に特に重要な所見とは思われなかった。

なお、有意差の認められた項目が他にもあったが、いずれも対照群の値の変動によるか、用量相関性に乏しいものか、または投与開始前の検査値と比べ特に問題にすべき変動とは思われないものであるため、検体投与に起因する変化とは判断し得なかった。

投与部位に対する影響は、CVA-K 投与群では対照群との間に差は認められなかったが、BRL 28500 投与群では、剖検において軽度から重度の硬結が観察された。しかし、病理組織学的には著変は見られず、BRL 28500 の投与部位に対する刺激性は弱いと考えられた。

以上の所見は、CVA-K では主に 150 mg/kg 投与群、BRL 28500 では 1,600 mg/kg 投与群で見られた。しかし、CVA-K では 80 mg/kg 投与群、BRL 28500 では血液学的検査に関して 320 mg/kg 投与群まで同傾向が認められていることから、本試験における最大無影響量は、CVA-K については 40 mg/kg/日、BRL 28500 については 160 mg/kg/日 と推定された。

文 献

- 1) 高野喜一：Cefotiam (SCE-963) の亜急性および慢性毒性試験。Chemotherapy 27 (S-3) : 163~171, 1979
- 2) 齊藤知一、鈴木 弘、吉田俊夫、堺 俊治、尾崎 浩：Cefotetan Disodium のビーグル犬における静脈内投与 5 週間毒性試験。基礎と臨床 16 : 15~38, 1982
- 3) 齊藤知一、鈴木 弘、吉田俊夫、尾崎 浩、三木寿雄、塩原有一：Cefpiramide (SM-1652) のビーグル犬における静脈内投与 6 週間毒性試験。基礎と臨床 17 : 7~31, 1983

SUBACUTE INTRAVENOUS TOXICITY STUDIES OF POTASSIUM CLAVULANATE AND BRL 28500 IN DOGS

AKIKO KOYU, YASUO KURAKATA, JUNKO KOYANAGI,
YOSHITAKA NISHIOKA and YOSHINOBU KOSHIMA
Beecham Yakuhin K. K.

RYOICHI NAGATA, MIZUO ONISHI, KEIZO KOBAYASHI, MITSURU SATO,
TERUHISA KATAYAMA and TSUGIO NAGATA
Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

TERRY L. HARDY
Beecham Pharmaceuticals Research Division

The subacute toxicity of potassium clavulanate (CVA-K) and BRL 28500 were evaluated by a 5-week intravenous administration study followed by a 5-week off-dose period. The doses for CVA-K and BRL 28500 were 20, 40, 80 and 150 mg/kg and 160, 320, 800 and 1,600 mg/kg respectively.

Two male dogs and one female dog in the CVA-K 150 mg/kg group died.

Observations on the general condition of dogs in the CVA-K treatment group revealed reddening of the skin and mucous membranes at 80 mg/kg and above. At 150 mg/kg there was also vomiting, decreased spontaneous activity and emaciation. There was a decreased food intake and reduction in body weight, but this was only in the 150 mg/kg group. In addition the animals which were found dead showed severe weakness before death. In the BRL 28500 treatment groups there was reddening of the skin and mucous membranes, vomiting and salivation at 800 mg/kg and 1,600 mg/kg. At 1600 mg/kg there was also facial oedema, papules within the pinnae and a reduction in body weight.

Haematological examinations of dogs dosed with CVA-K revealed decreases in RBC, Ht and Hb at 80 mg/kg and above, and increases in reticulocyte count and WBC at 150 mg/kg. In the BRL 28500 treatment groups, there was a prolongation of APTT at 320 mg/kg and above, and decreases in RBC, Ht and Hb at 1,600 mg/kg. Serum biochemical studies of the CVA-K groups revealed increases in ALP and total bilirubin at a dose of 80 mg/kg and above, and increases in BUN and creatinine in the 150 mg/kg group. No abnormalities were noted in any of the BRL 28500 groups.

Pathology studies of dogs dosed with CVA-K revealed an increase in liver weight and altered distribution of PAS positive material within the hepatocytes (light microscopy) at 80 mg/kg and above. There was increased kidney weight with regenerating renal tubular epithelium (electron microscopy) in the 150 mg/kg group. In the BRL 28500 group, increased liver weight and firmness at the injection site were observed in the 1,600 mg/kg group.

All the above findings and changes were slight and showed reversibility either at the end of the dosing period or at the end of the off-dose period.

In view of the above results, the maximum non-effect dose levels in the present studies were considered to be 40 mg/kg/day for CVA-K and 160 mg/kg/day for BRL 28500.