

19	無機リン (P)	mg/dL	リンモリブデン酸法
20	カルシウム (Ca)	mg/dL	アルセナゾⅢ法

## 測定機器

No. 1~11, 13~20: 臨床化学自動分析装置 (シンクロン CX7, ベックマン株式会社)  
 ・TP, Alb. 及び A/G 比に変化がみられなかったため, タンパク分画については測定しなかった。

## 15.8.6. 病理学的検査

## 15.8.6.1. 剖検

毒性群全例を剖検前日の夕刻から絶食させ, 翌日, イソフルラン麻酔下で腹大動脈から採血安楽死させて剖検した。

## 15.8.6.2. 器官重量

剖検した動物について, 電子天秤 (ザルトリウス株式会社) を用いて以下の器官重量を測定し, 剖検日の体重から体重比重量を算出した。両側性器官は両側を合わせた重量を測定した。

脳\*, 心臓, 胸腺, 脾臓, 肺 (気管支を含む)\*, 顎下腺 (舌下腺を含む), 肝臓\*, 腎臓\*, 精巣\*, 精巣上部, 前立腺, 精囊, 卵巣, 子宮, 下垂体, 甲状腺 (上皮小体を含む) 及び副腎。なお, 下垂体及び甲状腺は 10%中性緩衝ホルマリン液で固定後, 剖検翌日に測定した。その他の重量測定器官は剖検時に測定した。\*印の器官の単位は g, 他の器官は mg 単位とした。

## 15.8.6.3. 病理組織学的検査

全剖検例について以下の器官, 組織を 10%中性緩衝ホルマリン液で固定し, 包埋, 薄切の後, ヘマトキシリン・エオジン (H・E) 染色を施して鏡検した。骨組織は 10%硝酸ホルマリン液で脱灰した。

大脳, 小脳, 延髄, 心臓, 胸腺, 脾臓, 腸間膜リンパ節, 顎下リンパ節, 腋窩リンパ節, 肺, 顎下腺, 肝臓, 腎臓, 膀胱, 精巣, 精巣上部, 前立腺, 精囊, 卵巣, 子宮, 膣, 下垂体, 甲状腺, 上皮小体, 副腎, 胸骨 (骨髄を含む) 及び投与部位

## 15.8.7. トキシコキネティクス (TK)

## 15.8.7.1. TK 測定群

トキシコキネティクス (TK) は TK 測定群の各群 3 例 (01~03) を用いて実施した。なお,

80 mg/kg群 No. 1502の持続投与終了直後の採血時間が、採血許容時間内に入らなかったため、予備動物 No. 1504 を用いて実施した。

TK 測定群は、最終採血が終了した後、二酸化炭素ガス吸入により安楽死させた。

#### 15.8.7.2. 採血

採血動物：動物番号下 2 桁 01～03（予備動物 04）

投与及び採血日：2008 年 12 月 19 日

採血時点：投与終了直後，投与終了 30 分，1，2，4 時間後の計 5 時点。

採血方法：ディスポーザブルシリンジ及び針を用いて、無麻酔下で頸静脈から約 0.5 mL 採血した。試験管に予め氷冷した 100 mmol/L の EDTA-2Na 水溶液 100  $\mu$ L を入れておき、採血後、直ちに 0.5 mL の血液を試験管に入れた。軽く攪拌した後、遠心分離して、血漿を採取した。なお、凍結保存までの間、採取した血液及び血漿は可能な限り氷冷下で保存した。

血漿分離：3000 rpm, 4°C, 15 分間遠心分離し、得られた血漿を 0.1 mL ずつサンプルチューブに分注後、研究本館 分析室 (4) のメディカルフリーザー（設定温度：-30°C, 許容範囲：-40～-20°C, 実測値：2008 年 12 月 19 日～24 日, -30～-26°C, MDF-U536, 三洋電機バイオメディカ株式会社）で凍結保存した。2008 年 12 月 24 日、凍結血漿を下記住所へ送付した。

#### 15.8.7.3. 試料の送付

採取した血漿は、ドライアイスと共に梱包し、凍結状態（冷凍便）で下記の送付先に送付した。後日、測定結果を入手し、報告書に反映させた。

送付先：名古屋市立大学大学院薬学研究科 感染症制御学分野

〒467-8603 愛知県名古屋市瑞穂区田辺通 3-1

前田 康博 様

TEL&FAX 052-836-3413

#### 15.9. 統計学的処理

定量データについて Microsoft® EXCEL 2000 Windows 版（Version 9）を用いて平均値と標準偏差の算出を行った。

統計解析は、Windows 版 SAS® 9.1.3 を用いて行った。すなわち、Bartlett 法による等分散性の検定を行い、等分散ならば Dunnett 法による多重比較検定を行った。一方、等分散でない場合には対照群と投与群との間で Steel 法による多重比較検定を行った。有意水準は Bartlett

法では5%、その他の検定では両側5%とし、5%及び1%を分けて表示した。

なお、TK群については、統計学的解析を実施しなかった。

## 16. 試験結果

### 16.1. 一般状態

Table 1, Appendix 2-1, 2-2, 2-3に成績を示した。

毒性群及びTK群の雌雄ともに死亡動物はみられず、一般状態においても異常は認められなかった。

### 16.2. 体重測定

Fig. 1, Table 2, Appendix 3-1, 3-2に成績を示した。

投与期間中、各投与群の雌雄とも対照群と比較して変化は認められなかった。

### 16.3. 摂餌量測定

Fig. 2, Table 3, Appendix 4に成績を示した。

投与期間中、各投与群の雌雄とも対照群と比較して変化は認められなかった。

### 16.4. 血液学的検査

Table 4, Appendix 5-1, 5-2, 5-3に成績を示した。

剖検時の検査において、雄では、40及び80 mg/kg群でヘマトクリット値の有意な低下、80 mg/kg群でヘモグロビン量の有意な減少、血小板量の有意な増加、40 mg/kg群で平均赤血球容積の有意な低下が認められた。

雌では、80 mg/kg群でプロトロンビン時間の短縮が認められた。

### 16.5. 血液生化学的検査

Table 5, Appendix 6-1, 6-2, 6-3に成績を示した。

各投与群の雌雄とも対照群と比較して、各検査項目に異常は認められなかった。

### 16.6. 病理学的検査

#### 16.6.1. 剖検

Table 6に成績を示した。

剖検時、40 mg/kg群の雌1例 (No. 2201) に卵巣の嚢胞 (片側) が認められた。

### 16.6.2. 器官重量

Table 7-1, 7-2, Appendix 7-1~7-6 に成績を示した。

各投与群の雌雄とも対照群と比較して、各臓器重量に変化は認められなかった。

### 16.6.3. 病理組織学的検査

Table 8, Appendix 8 に成績を示した。

胸腺：対照群の雌 1 例 (No. 2101)，40 mg/kg 群の雌 1 例 (No. 2203) に中等度の可染小体大食細胞増加が認められた。

腎臓：腎臓皮質において、40 mg/kg 群の雌 1 例 (No. 2201) に軽度の限局的な尿細管拡張及び線維化が認められた。80 mg/kg 群の雌雄各 1 例 (No. 1305, 2301) に単発性の嚢胞が、雄 2 例 (No. 1302, 1305) に軽度の線維化が認められた。腎臓髄質において、対照群の雌 1 例 (No. 1105) に単発性の嚢胞が認められた。

精巣：対照群及び 40 mg/kg 群の各 1 例 (No. 1107, 1202) に軽度の多核巨細胞形成が認められた。

精巣上部：対照群の 5 例，40 mg/kg 群の 5 例及び 80 mg/kg 群の 4 例に軽度の管内細胞残屑が認められた。各群 2 例ずつに間質単核細胞の軽度の浸潤が認められた。

前立腺：対照群の 1 例 (No. 1107) に間質における軽度の単核細胞浸潤が認められた。

卵巣：40 mg/kg 群の 1 例 (No. 2201) に卵管に嚢胞が認められた。

投与部位：雌雄各群 1~3 例に軽度~高度の血栓及び血管壁の限局性壊死が認められた。血管周囲における軽度~中等度の炎症細胞浸潤が各群ほぼ全例に認められた。軽度~高度の血管周囲出血が対照群の雄 3 例，雌 4 例，40 mg/kg 群雄 4 例，雌 6 例，80 mg/kg 群雄 3 例，雌 4 例に認められた。血管周囲における軽度のフィブリノイド滲出物が各投与群の雌雄各 3~5 例に認められた。

### 16.7. トキシコキネティクス (TK)

Table 9 に成績を示した。

持続投与終了直後の血中濃度は 40 mg/kg 群雌雄とも 1.02 µg/mL，80 mg/kg 群雄 3.39 µg/mL，雌 3.96 µg/mL であった。投与終了後 30 分以降の血中濃度はいずれの時点においても検出限界以下であった。

### 17. 考察及び結論

AcPepA の 3 日間反復静脈内投与による毒性及び全身への暴露を評価するため、CD (SD) ラットに 40 mg/kg (10 mg/kg の急速投与及び 30 mg/kg の 1 時間持続投与) 及び物理的に投与可能

な 80 mg/kg (20 mg/kg の急速投与及び 60 mg/kg の 1 時間持続投与) の AcPepA を尾静脈投与した。一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理学的検査を行った。さらに、投与開始日に経時的に採血を行い、TK 測定を実施した。

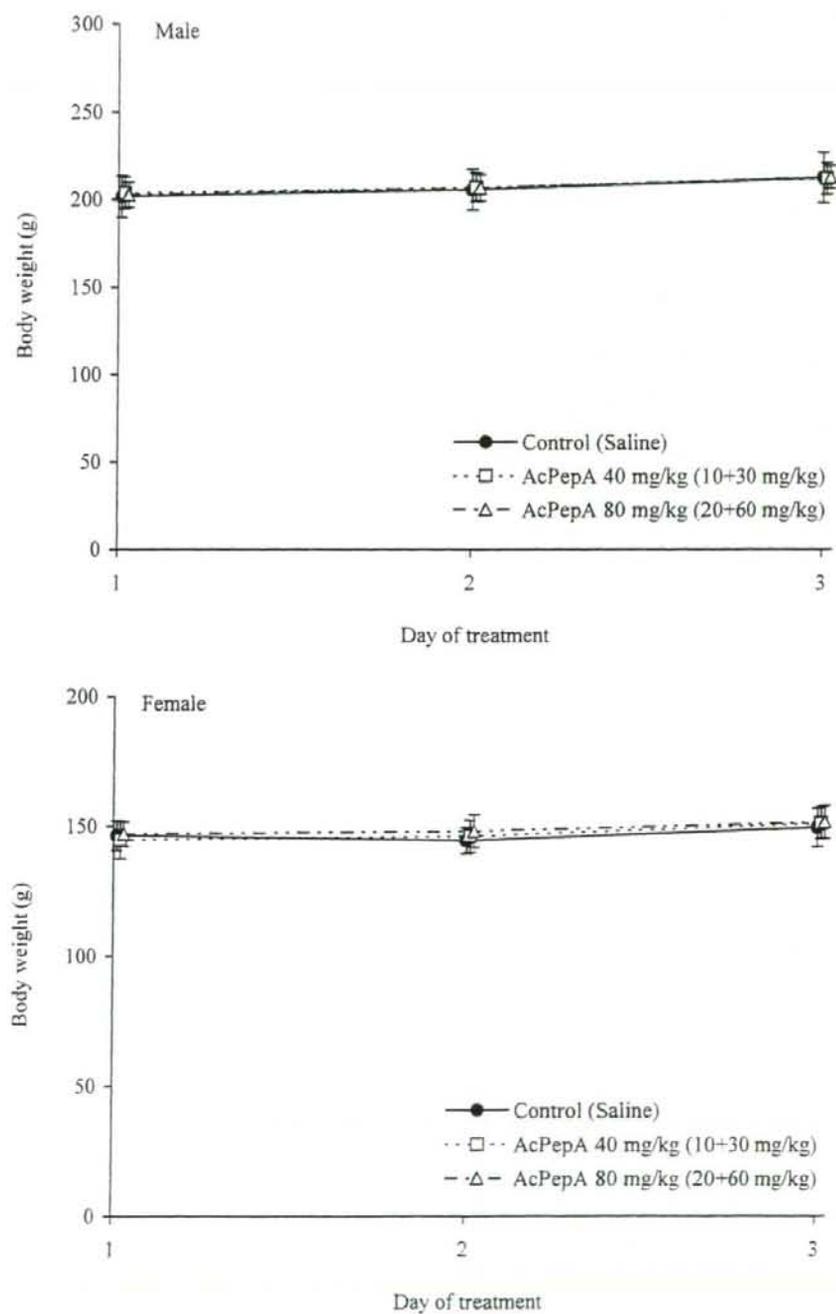
3 日間の投与期間中、死亡例はなく、一般状態観察、体重、摂餌量、血液生化学的検査及び器官重量では対照群と比較して有意な差はみられなかった。血液学的検査において、雄 40 及び 80 mg/kg 群で対照群と比較してヘマトクリット値の有意な低下、雄 80 mg/kg 群でヘモグロビン量の有意な減少及び血小板量の有意な増加、雄 40 mg/kg 群で平均赤血球容積の有意な低下、雌 80 mg/kg 群でプロトロンビン時間の有意な短縮が認められたが、これらの変動は小さく、生理学的変動範囲内であった。病理学的検査では、剖検で雌 40 mg/kg 群 1 例で卵巣に嚢胞、組織学的検査で幾つかの所見が認められたが、これらは正常ラットで散見される自然発生病変または少数例であることから偶発性病変であり、被験物質に関連した変化ではないと判断された。また投与部位に認められた、血栓、血管壁の限局性壊死、血管周囲における炎症細胞浸潤、フィブリノイド滲出物及び出血の程度及び頻度は、対照群とほぼ同程度であったことから、AcPepA による局所刺激性はないものと判断された。

TK では、持続投与終了直後の血中濃度は 40 mg/kg 群雌雄とも 1.02 µg/mL、80 mg/kg 群雄 3.39 µg/mL、雌 3.96 µg/mL で、投与による暴露が確認された。投与終了後 30 分以降の血中濃度はいずれの時点においても検出限界以下であったことから、投与終了後は速やかに血中濃度が減少すると考えられた。

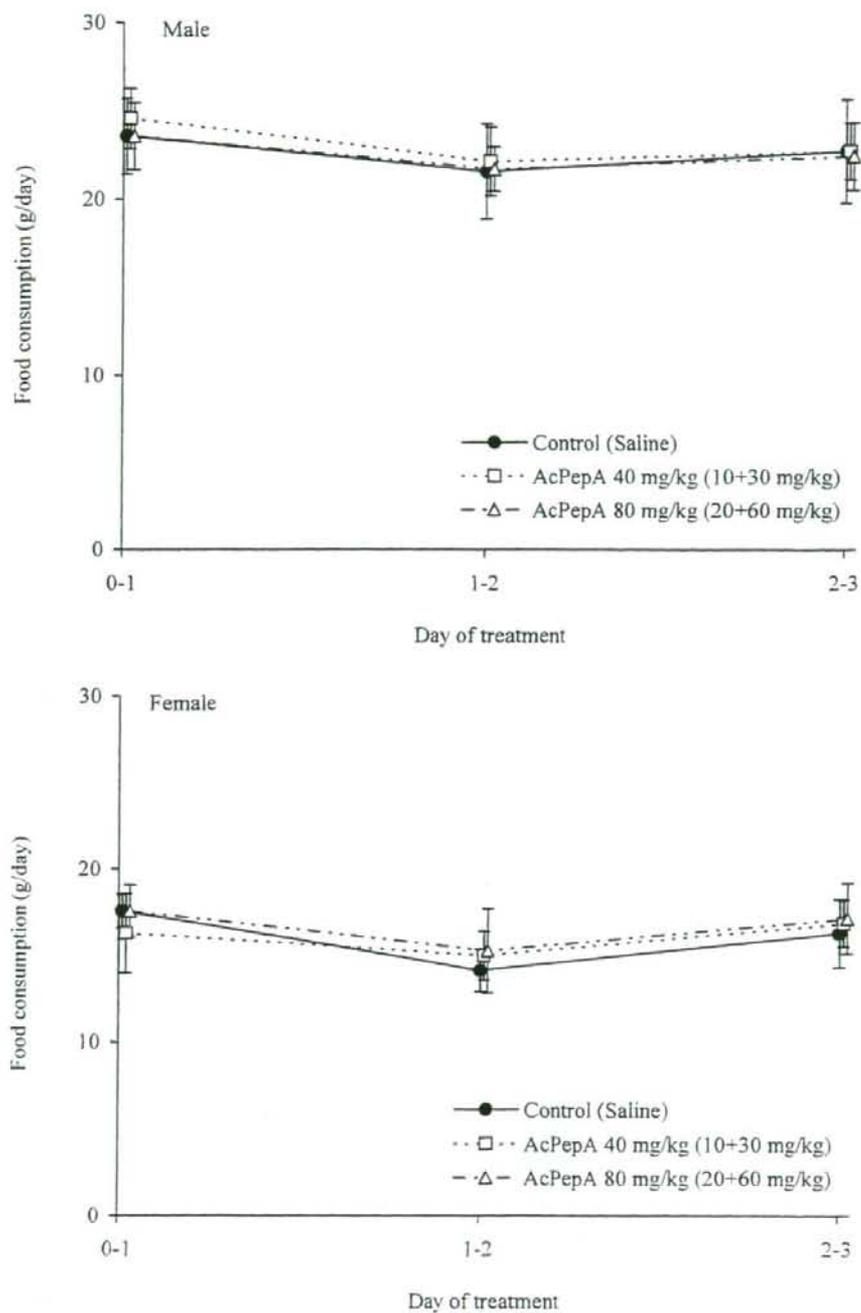
以上の結果、推定する臨床投与方法に準じた投与方法での物理的投与可能な最大用量の 80 mg/kg では毒性は認められなかった。したがって、本試験条件下では、AcPepA の毒性徴候は把握できなかった。

#### 18. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事能及び試験計画書に従わなかったこと

試験計画書では、動物飼育室の温度は 22°C (許容範囲 19~25°C) としているが、温度制御不良による温度の許容範囲からの逸脱が 2008 年 12 月 11 日 (逸脱温度 25.1°C, 逸脱時間 10 分) 及び 2008 年 12 月 16 日 (逸脱温度 25.1°C, 逸脱時間 32 分) に認められた。しかし、これら逸脱後に、全例とも一般状態及び体重に明らかな変化はなく、本試験に対する影響はないと判断した。



**Fig. 1** Body weights of rats treated intravenously with AcPepA for 3 days  
Values are the mean  $\pm$  standard deviations of 7 animals.  
No significant difference from the control was noted.



**Fig. 2** Food consumption of rats treated intravenously with AcPepA for 3 days  
Values are the mean  $\pm$  standard deviations of 7 animals.  
No significant difference from the control was noted.

Table 1 Clinical signs of rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

Sex	Test substance	Dose (mg/kg)	Day	-1	1	2	3	Necro-psy	
		rapid (2min) infusion (1h)	Time	pre admin. 1h	pre admin. 1h	pre admin. 1h	pre admin. 1h		
Male	Control (Saline)	0	Number of animals	7	7	7	7	7	
			Abnormalities	0	0	0	0	0	
AcPepA	10	30	Number of animals	7	7	7	7	7	
			Abnormalities	0	0	0	0	0	
		20	60	Number of animals	7	7	7	7	
				Abnormalities	0	0	0	0	0
Female	Control (Saline)	0	Number of animals	7	7	7	7	7	
			Abnormalities	0	0	0	0	0	
AcPepA	10	30	Number of animals	7	7	7	7	7	
			Abnormalities	0	0	0	0	0	
		20	60	Number of animals	7	7	7	7	
				Abnormalities	0	0	0	0	0

Numerals represent the number of animals with the finding.

Time pre: pre-administration, admin.: during administration, 1h: from finish of administration to 1 hour after administration.

Table 2 Body weights of rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

	Day	Test substance		
		Control (Saline) n=7	AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>	
			40 (10+30) n=7	80 (20+60) n=7
Male	1	202 ± 12	204 ± 9	203 ± 7
	2	206 ± 12	207 ± 8	207 ± 8
	3	213 ± 14	212 ± 9	213 ± 7
	Necropsy	180 ± 11	182 ± 7	184 ± 6
Female	1	146 ± 6	145 ± 7	147 ± 5
	2	144 ± 5	146 ± 6	148 ± 6
	3	149 ± 7	151 ± 6	152 ± 6
	Necropsy	129 ± 5	129 ± 5	130 ± 5

Unit: g.

Values are the mean ± standard deviations.

1) AcPepA 40 mg/kg group: 10 mg/kg lipid (2min) dosing + 30 mg infusion (1h) dosing.

80 mg/kg group: 20 mg/kg lipid (2min) dosing + 60 mg infusion (1h) dosing.

No significant difference from the control was noted.

Table 3 Food consumption of rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

	Day	Test substance		
		Control (Saline) n=7	AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>	
			40 (10+30) n=7	80 (20+60) n=7
Male	0-1	23.6 ± 2.1	24.6 ± 1.7	23.6 ± 1.9
	1-2	21.6 ± 2.7	22.1 ± 2.0	21.7 ± 1.3
	2-3	22.7 ± 2.9	22.7 ± 1.6	22.4 ± 1.9
Female	0-1	17.6 ± 1.0	16.3 ± 2.3	17.6 ± 1.5
	1-2	14.1 ± 1.2	15.0 ± 1.4	15.3 ± 2.4
	2-3	16.3 ± 2.0	16.9 ± 1.3	17.1 ± 2.0

Unit: g/day.

Values are the mean ± standard deviations.

1) AcPepA 40 mg/kg group: 10 mg/kg lipid (2min) dosing + 30 mg infusion (1h) dosing.

80 mg/kg group: 20 mg/kg lipid (2min) dosing + 60 mg infusion (1h) dosing.

No significant difference from the control was noted.

Table 4 Hematology in rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

		Test substance			
		Control	AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>		
		(Saline)	40 (10+30)	80 (20+60)	
		n=7	n=7	n=7	
Male	RBC (10 <sup>4</sup> /μL)	730 ± 28	731 ± 37	689 ± 31	
	WBC (10 <sup>2</sup> /μL)	77.5 ± 14.7	65.0 ± 11.7	80.4 ± 21.5	
	Ht (%)	45.2 ± 1.0	43.2 ± 1.0 *	42.6 ± 1.6 **	
	Hb (g/dL)	15.4 ± 0.3	14.9 ± 0.5	14.6 ± 0.5 **	
	MCH (pg)	21.1 ± 0.8	20.4 ± 0.5	21.2 ± 0.7	
	MCV (fL)	61.9 ± 2.4	59.2 ± 2.0 *	61.9 ± 1.6	
	MCHC (g/dL)	34.1 ± 0.1	34.4 ± 0.5	34.3 ± 0.5	
	Ret (%)	9.67 ± 0.79	10.12 ± 1.85	10.00 ± 0.84	
	Ret (10 <sup>4</sup> /μL)	70.51 ± 4.41	73.65 ± 11.77	69.05 ± 7.64	
	Plt (10 <sup>4</sup> /μL)	117.3 ± 9.5	131.5 ± 17.3	132.1 ± 5.5 †	
	PT (sec)	13.3 ± 0.4	13.2 ± 0.8	13.0 ± 0.8	
	APTT (sec)	19.8 ± 1.3	19.5 ± 1.1	19.7 ± 1.5	
	Differential leukocyte counts				
		Baso (%)	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.1	0.0 ± 0.1
		Eosi (%)	1.0 ± 0.4	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.3
	Neut (%)	14.2 ± 5.5	15.8 ± 6.8	15.3 ± 6.2	
	Lym (%)	82.7 ± 5.9	80.8 ± 7.3	81.0 ± 6.8	
	Mono (%)	2.1 ± 0.9	2.4 ± 0.9	2.6 ± 0.8	
	Baso (10 <sup>2</sup> /μL)	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.1	
	Eosi (10 <sup>2</sup> /μL)	0.8 ± 0.4	0.6 ± 0.2	0.9 ± 0.4	
	Neut (10 <sup>2</sup> /μL)	10.9 ± 5.0	10.5 ± 5.3	11.9 ± 5.0	
	Lym (10 <sup>2</sup> /μL)	64.1 ± 13.5	52.2 ± 8.6	65.5 ± 19.9	
	Mono (10 <sup>2</sup> /μL)	1.6 ± 0.8	1.6 ± 0.8	2.1 ± 0.9	
Female	RBC (10 <sup>4</sup> /μL)	725 ± 21	701 ± 25	719 ± 40	
	WBC (10 <sup>2</sup> /μL)	71.8 ± 8.3	77.8 ± 14.3	74.0 ± 11.9	
	Ht (%)	43.2 ± 1.2	42.8 ± 1.0	43.2 ± 1.6	
	Hb (g/dL)	15.1 ± 0.5	15.0 ± 0.4	15.1 ± 0.6	
	MCH (pg)	20.8 ± 0.5	21.4 ± 0.6	21.1 ± 0.6	
	MCV (fL)	59.6 ± 1.2	61.1 ± 1.7	60.1 ± 1.6	
	MCHC (g/dL)	35.0 ± 0.4	35.0 ± 0.3	35.0 ± 0.4	
	Ret (%)	7.83 ± 1.12	8.12 ± 0.83	8.16 ± 1.00	
	Ret (10 <sup>4</sup> /μL)	56.60 ± 6.82	56.80 ± 5.14	58.39 ± 5.11	
	Plt (10 <sup>4</sup> /μL)	132.8 ± 18.3	145.6 ± 30.7	124.5 ± 44.8	
	PT (sec)	12.2 ± 0.4	12.0 ± 0.3	11.7 ± 0.3 *	
	APTT (sec)	18.2 ± 4.1	16.3 ± 1.4	16.1 ± 0.9	
	Differential leukocyte counts				
		Baso (%)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
		Eosi (%)	0.8 ± 0.4	1.1 ± 0.5	0.9 ± 0.3
	Neut (%)	11.5 ± 3.7	10.5 ± 4.3	10.5 ± 2.8	
	Lym (%)	86.1 ± 3.9	86.6 ± 4.7	86.9 ± 3.0	
	Mono (%)	1.6 ± 0.4	1.7 ± 0.4	1.7 ± 0.4	
	Baso (10 <sup>2</sup> /μL)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.0 ± 0.1	
	Eosi (10 <sup>2</sup> /μL)	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.4	0.6 ± 0.2	
	Neut (10 <sup>2</sup> /μL)	8.2 ± 2.5	7.7 ± 2.1	7.5 ± 1.3	
	Lym (10 <sup>2</sup> /μL)	61.9 ± 8.5	67.9 ± 15.0	64.6 ± 12.0	
	Mono (10 <sup>2</sup> /μL)	1.1 ± 0.2	1.3 ± 0.4	1.2 ± 0.3	

Values are the mean ± standard deviations.

1) AcPepA 40 mg/kg group: 10 mg/kg lipid (2min) dosing + 30 mg infusion (1h) dosing.

80 mg/kg group: 20 mg/kg lipid (2min) dosing + 60 mg infusion (1h) dosing.

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ : Significantly different from the control by Dunnett's test.

†  $p < 0.05$ : Significantly different from the control by Steel's test.

Table 5 Blood chemistry in rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

		Test substance		
		Control (Saline) n=7	AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>	
			40 (10+30) n=7	80 (20+60) n=7
Male	AST (IU/L)	77.1 ± 8.7	76.9 ± 4.5	80.3 ± 4.7
	ALT (IU/L)	29.7 ± 4.9	29.3 ± 2.2	30.1 ± 4.7
	ALP (IU/L)	362.1 ± 46.8	303.2 ± 51.7	311.7 ± 72.6
	LDH (IU/L)	245.1 ± 141.0	198.4 ± 37.0	207.1 ± 13.1
	γ-GTP (IU/L)	4.84 ± 0.74	4.79 ± 1.30	5.35 ± 0.67
	Glu. (mg/dL)	117 ± 9	111 ± 9	117 ± 15
	T.Cho. (mg/dL)	75 ± 16	76 ± 13	83 ± 21
	TG (mg/dL)	26.7 ± 7.8	23.7 ± 4.3	29.4 ± 9.8
	PL (mg/dL)	111 ± 17	114 ± 14	123 ± 24
	TP (g/dL)	5.5 ± 0.2	5.4 ± 0.2	5.4 ± 0.3
	Alb. (g/dL)	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.1
	A/G	0.79 ± 0.05	0.81 ± 0.05	0.79 ± 0.05
	BUN (mg/dL)	15.6 ± 2.4	13.7 ± 2.1	15.3 ± 2.8
	Crea. (mg/dL)	0.39 ± 0.07	0.35 ± 0.06	0.36 ± 0.06
	T.Bil. (mg/dL)	0.52 ± 0.19	0.49 ± 0.08	0.48 ± 0.09
	Na (mEq/L)	140 ± 2	140 ± 1	140 ± 1
	K (mEq/L)	4.4 ± 0.2	4.6 ± 0.2	4.6 ± 0.4
	Cl (mEq/L)	111 ± 2	111 ± 2	110 ± 1
	P (mg/dL)	9.0 ± 0.7	9.5 ± 0.4	9.6 ± 0.7
	Ca (mg/dL)	9.6 ± 0.3	9.5 ± 0.2	9.7 ± 0.4
Female	AST (IU/L)	85.2 ± 11.4	77.7 ± 8.1	75.0 ± 4.1
	ALT (IU/L)	25.1 ± 4.2	26.1 ± 3.3	23.3 ± 3.9
	ALP (IU/L)	193.3 ± 47.6	184.1 ± 54.3	185.3 ± 57.5
	LDH (IU/L)	377.6 ± 436.3	206.4 ± 70.3	187.2 ± 40.1
	γ-GTP (IU/L)	5.55 ± 0.71	5.54 ± 0.58	5.81 ± 0.71
	Glu. (mg/dL)	120 ± 12	119 ± 14	118 ± 14
	T.Cho. (mg/dL)	53 ± 11	59 ± 6	63 ± 12
	TG (mg/dL)	14.4 ± 4.8	15.3 ± 3.9	16.6 ± 4.7
	PL (mg/dL)	87 ± 13	92 ± 10	101 ± 13
	TP (g/dL)	5.5 ± 0.2	5.5 ± 0.2	5.6 ± 0.2
	Alb. (g/dL)	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.5 ± 0.1
	A/G	0.79 ± 0.06	0.83 ± 0.03	0.80 ± 0.04
	BUN (mg/dL)	20.3 ± 2.1	19.4 ± 1.6	20.1 ± 2.2
	Crea. (mg/dL)	0.45 ± 0.12	0.34 ± 0.08	0.44 ± 0.06
	T.Bil. (mg/dL)	0.43 ± 0.12	0.33 ± 0.06	0.43 ± 0.17
	Na (mEq/L)	139 ± 1	139 ± 1	139 ± 1
	K (mEq/L)	4.6 ± 0.2	4.7 ± 0.4	4.2 ± 0.4
	Cl (mEq/L)	111 ± 2	111 ± 1	111 ± 2
	P (mg/dL)	9.4 ± 0.5	9.7 ± 0.5	9.0 ± 0.6
	Ca (mg/dL)	9.5 ± 0.2	9.5 ± 0.4	9.7 ± 0.2

Values are the mean ± standard deviations.

1) AcPepA 40 mg/kg group: 10 mg/kg lipid (2min) dosing + 30 mg infusion (1h) dosing.

80 mg/kg group: 20 mg/kg lipid (2min) dosing + 60 mg infusion (1h) dosing.

No significant difference from the control was noted.

Table 6 Gross pathological findings in rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

Test substance	Dose (mg/kg)		Male		Female	
	rapid (2min)	infusion (1h)	Animal No.	Findings	Animal No.	Findings
Control (Saline)	0	0	1101	N	2101	N
			1102	N	2102	N
			1103	N	2103	N
			1104	N	2104	N
			1105	N	2105	N
			1106	N	2106	N
			1107	N	2107	N
AcPepA	10	30	1201	N	2201	Ovary: Cyst, Imm, unilateral
			1202	N	2202	N
			1203	N	2203	N
			1204	N	2204	N
			1205	N	2205	N
			1206	N	2206	N
			1207	N	2207	N
	20	60	1301	N	2301	N
			1302	N	2302	N
			1303	N	2303	N
			1304	N	2304	N
			1305	N	2305	N
			1306	N	2306	N
			1307	N	2307	N

N: No abnormalities.

Table 7-1 Organ weights of rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

		Test substance		
		Control (Saline) n=7	AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>	
			40 (10+30) n=7	80 (20+60) n=7
Male	Brain (g)	1.83 ± 0.05	1.88 ± 0.05	1.80 ± 0.07
	Pituitary gland (mg)	8.4 ± 1.0	8.7 ± 0.5	8.7 ± 0.4
	Thyroid glands (mg) <sup>a)</sup>	13.4 ± 1.9	14.6 ± 1.3	14.5 ± 1.7
	Submandibular glands (mg) <sup>b)</sup>	400 ± 54	408 ± 36	391 ± 29
	Thymus (mg)	539 ± 53	534 ± 89	512 ± 127
	Heart (mg)	779 ± 78	799 ± 50	791 ± 30
	Lung (g) <sup>c)</sup>	0.91 ± 0.07	0.91 ± 0.06	0.93 ± 0.08
	Liver (g)	5.90 ± 0.40	5.93 ± 0.36	6.17 ± 0.25
	Spleen (mg)	489 ± 82	449 ± 74	450 ± 54
	Kidneys (g)	1.70 ± 0.09	1.70 ± 0.11	1.78 ± 0.12
	Adrenal glands (mg)	45 ± 8	44 ± 5	42 ± 6
	Testes (g)	1.88 ± 0.22	2.15 ± 0.26	1.98 ± 0.05
	Epididymides (mg)	271 ± 34	286 ± 39	298 ± 30
	Seminal vesicles (mg)	174 ± 59	184 ± 75	229 ± 38
Prostate (mg)	221 ± 50	225 ± 36	245 ± 29	
Female	Brain (g)	1.71 ± 0.08	1.66 ± 0.06	1.71 ± 0.07
	Pituitary gland (mg)	9.2 ± 0.9	9.0 ± 1.3	9.8 ± 1.1
	Thyroid glands (mg) <sup>a)</sup>	13.9 ± 1.0	13.2 ± 1.8	13.9 ± 1.5
	Submandibular glands (mg) <sup>b)</sup>	321 ± 36	303 ± 21	295 ± 18
	Thymus (mg)	497 ± 76	446 ± 81	460 ± 75
	Heart (mg)	583 ± 17	565 ± 28	583 ± 24
	Lung (g) <sup>c)</sup>	0.74 ± 0.05	0.73 ± 0.04	0.73 ± 0.04
	Liver (g)	4.59 ± 0.23	4.44 ± 0.22	4.58 ± 0.29
	Spleen (mg)	327 ± 70	305 ± 37	310 ± 41
	Kidneys (g)	1.29 ± 0.11	1.26 ± 0.06	1.29 ± 0.06
	Adrenal glands (mg)	42 ± 7	40 ± 5	40 ± 5
	Ovaries (mg)	78 ± 9	72 ± 8	73 ± 10
	Uterus (mg)	231 ± 51	274 ± 71	266 ± 82

a) with parathyroid gland. b) with sublingual gland. c) with bronchus.

Values are the mean ± standard deviation.

1) AcPepA 40 mg/kg group: 10 mg/kg lipid (2min) dosing + 30 mg infusion (1h) dosing.

80 mg/kg group: 20 mg/kg lipid (2min) dosing + 60 mg infusion (1h) dosing.

No significant difference from the control was noted.

Table 7-2 Relative organ weights of rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

		Test substance		
		Control (Saline) n=7	AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>	
			40 (10+30) n=7	80 (20+60) n=7
Male	Brain (g%)	1.02 ± 0.06	1.04 ± 0.06	0.98 ± 0.02
	Pituitary gland (mg%)	4.7 ± 0.5	4.8 ± 0.2	4.7 ± 0.1
	Thyroid glands (mg%) <sup>a)</sup>	7.4 ± 0.9	8.0 ± 0.8	7.9 ± 1.0
	Submandibular glands (mg%) <sup>b)</sup>	222 ± 24	224 ± 14	213 ± 16
	Thymus (mg%)	301 ± 39	293 ± 41	279 ± 68
	Heart (mg%)	432 ± 20	439 ± 23	430 ± 20
	Lung (g%) <sup>c)</sup>	0.51 ± 0.03	0.50 ± 0.02	0.50 ± 0.04
	Liver (g%)	3.28 ± 0.06	3.26 ± 0.10	3.36 ± 0.13
	Spleen (mg%)	270 ± 34	247 ± 38	245 ± 25
	Kidneys (g%)	0.94 ± 0.04	0.93 ± 0.05	0.97 ± 0.05
	Adrenal glands (mg%)	24.9 ± 5.1	24.3 ± 2.5	22.9 ± 3.5
	Testes (g%)	1.04 ± 0.11	1.18 ± 0.15	1.08 ± 0.05
	Epididymides (mg%)	150 ± 17	157 ± 20	162 ± 15
	Seminal vesicles (mg%)	95 ± 27	101 ± 41	125 ± 19
	Prostate (mg%)	122 ± 24	123 ± 19	134 ± 20
Body weight (g)	180 ± 11	182 ± 7	184 ± 6	
Female	Brain (g%)	1.32 ± 0.07	1.28 ± 0.07	1.32 ± 0.07
	Pituitary gland (mg%)	7.1 ± 0.8	6.9 ± 0.9	7.5 ± 0.7
	Thyroid glands (mg%) <sup>a)</sup>	10.8 ± 1.1	10.2 ± 1.2	10.7 ± 1.1
	Submandibular glands (mg%) <sup>b)</sup>	248 ± 30	234 ± 12	227 ± 16
	Thymus (mg%)	383 ± 52	343 ± 49	352 ± 45
	Heart (mg%)	451 ± 15	437 ± 25	448 ± 19
	Lung (g%) <sup>c)</sup>	0.57 ± 0.03	0.56 ± 0.01	0.56 ± 0.02
	Liver (g%)	3.55 ± 0.17	3.43 ± 0.08	3.51 ± 0.11
	Spleen (mg%)	252 ± 51	236 ± 24	237 ± 23
	Kidneys (g%)	0.99 ± 0.07	0.98 ± 0.05	0.99 ± 0.04
	Adrenal glands (mg%)	32.4 ± 4.7	30.7 ± 4.7	30.8 ± 3.2
	Ovaries (mg%)	60 ± 7	56 ± 6	56 ± 6
	Uterus (mg%)	178 ± 35	213 ± 59	203 ± 56
	Body weight (g)	129 ± 5	129 ± 5	130 ± 5

a) with parathyroid gland. b) with sublingual gland. c) with bronchus.

Values are the mean ± standard deviation for the percentage relative to the 100 g body weight.

1) AcPepA 40 mg/kg group: 10 mg/kg lapid (2min) dosing + 30 mg infusion (1h) dosing.

80 mg/kg group: 20 mg/kg lapid (2min) dosing + 60 mg infusion (1h) dosing.

No significant difference from the control was noted.

Table 8 Histopathological findings in rats treated intravenously with AcPepA for 3 days

Findings	Sex		Male				Female			
	Test substance	No. of animals	Control (Saline)		AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>		Control (Saline)		AcPepA (mg/kg) <sup>1)</sup>	
			n=7	n=7	40 (10+30)	80 (20+60)	n=7	n=7	40 (10+30)	80 (20+60)
Grade			0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3	0 1 2 3
Thymus			7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	6 0 1 0	6 0 1 0	7 0 0 0	7 0 0 0
Increased tingible macrophage										
Kidney										
Tubular dilatation, cortex, focal			7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	6 1 0 0	7 0 0 0
Cyst, single, cortex			7 0 0 0	7 0 0 0	6 1 0 0	6 1 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	6 1 0 0
Fibrosis, cortex, focal			7 0 0 0	7 0 0 0	5 2 0 0	5 2 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	6 1 0 0	7 0 0 0
Cyst, single, medulla			6 1 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0
Testis										
Multinucleated giant cell formation			6 1 0 0	6 1 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0				
Epididymis										
Debris, duct			2 5 0 0	2 5 0 0	3 4 0 0	3 4 0 0				
Mononuclear cell infiltration, interstitium			5 2 0 0	5 2 0 0	5 2 0 0	5 2 0 0				
Prostate										
Mononuclear cell infiltration, interstitium			6 1 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0				
Ovary										
Cyst, oviduct							7 0 0 0	6 1 0 0	7 0 0 0	7 0 0 0
Injection site										
Necrosis, focal, wall of injected vein			5 1 1 0	5 1 1 0	6 1 0 0	6 1 0 0	6 0 0 1	5 1 1 0	6 1 0 0	6 1 0 0
Haemorrhage, perivascular tissue			4 3 0 0	3 3 1 0	4 3 0 0	4 3 0 0	3 2 1 1	1 5 0 1	3 0 0 4	3 0 0 4
Inflammatory cell infiltration, perivascular tissue <sup>a)</sup>			1 6 0 0	1 4 2 0	0 7 0 0	0 7 0 0	0 3 4 0	0 6 1 0	1 5 1 0	1 5 1 0
Thrombus			4 1 2 0	6 0 1 0	6 1 0 0	6 1 0 0	6 0 1 0	6 1 0 0	6 0 1 0	6 0 1 0
Fibrinoid exudation, perivascular tissue			2 5 0 0	2 5 0 0	3 4 0 0	3 4 0 0	4 3 0 0	2 5 0 0	3 4 0 0	3 4 0 0

Numerals represent the number of animals with the findings.

Grade 0: No change, 1: Slight, 2: Moderate, 3: Marked.

a) neutrophil, mononuclear cell.

No significant changes were detected: Cerebrum, Cerebellum, Medulla oblongata, Heart, Lung, Spleen, Mesenteric lymph node, Submaxillary lymph node, Axillary lymph node, Submaxillary gland, Liver, Urinary bladder, Seminal vesicles, Uterus, Vagina, Pituitary gland, Thyroid gland, Parathyroid gland, Adrenal gland, Sternum and bone marrow.

1) AcPepA 40 mg/kg group: 10 mg/kg lapid (2min) dosing + 30 mg infusion (1h) dosing.  
80 mg/kg group: 20 mg/kg lapid (2min) dosing + 60 mg infusion (1h) dosing.

Table 9 Plasma concentration of AcPepA in rats after intravenous administration of AcPepA

Sex	Test substance	Dose (mg/kg)		Animal No.	Time after end of infusion dosing	
		rapid (2min)	infusion (1h)		0 (just after)	0.5 h
Male	AcPepA	10	30	1401	0.857	Bld
				1402	1.22	Bld
				1403	0.973	Bld
				Mean	1.02	-
				SD	0.19	
		20	60	1501	1.59	Bld
				1502	-	Bld
				1503	6.46	Bld
				1504	2.11	-
				Mean	3.39	-
Female	AcPepA	10	30	2401	0.556	Bld
				2402	1.12	Bld
				2403	1.38	Bld
				Mean	1.02	-
				SD	0.42	
		20	60	2501	Biq	Bld
				2502	5.83	Bld
				2503	6.05	Bld
				Mean	3.96	-
				SD	3.43	

Biq: Below the limited of quantitation (<0.40 µg/mL), calculated as 0 µg/mL.

Bld: Below the limited of detection (<0.15 µg/mL).

unit: µg/mL

Appendix 1-1 Clinical signs during quarantine period

Sex	Individual No.	Animal <sup>1)</sup> No.	Day 1 (Receipt day)					Quarantine day			
			Behavior	Fur	Nose, ear, eye, oral	Tail, limbs	Others	2	3	4	5
Male	1	1105	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	1302	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	1205	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	1403	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	1207	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	1307	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	1502	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	1303	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11	1301	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	1202	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	1503	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	17	1203	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	1404	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	19	1206	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	1306	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	1104	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22	1304	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24	1402	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	1204	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26	1504	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	27	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	1106	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	29	1107	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	1101	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	31	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	33	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	34	1401	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	35	1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	36	1201	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	37	1103	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	38	1501	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	39	1305	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: No abnormalities.

1) Identification numbers after allocation to treatment groups (exc.: excluded from the study system).

Appendix 1-2 Clinical signs during quarantine period

Sex	Individual No.	Animal <sup>1)</sup> No.	Day 1 (Receipt day)				Quarantine day				
			Behavior	Fur	Nose, ear, eye, oral	Tail, limbs	Others	2	3	4	5
Female	1	2305	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	2401	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	2105	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	2304	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	6	2504	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	2303	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	2107	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	2204	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	2403	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	11	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	2203	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	2301	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	2205	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	2307	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	17	2206	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	2104	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	19	2201	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	2207	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21	2502	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22	2202	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	23	2106	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26	2102	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	27	2503	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	2402	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	29	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	31	2306	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	32	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	33	2404	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	34	2302	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	35	2501	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	36	2101	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	37	2103	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	38	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	39	exc.	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: No abnormalities.

1) Identification numbers after allocation to treatment groups (exc.: excluded from the study system).

Appendix 1-3 Body weights during quarantine period

Sex	Individual No.	Animal <sup>1)</sup> No.	Receipt day (Day 1)	Final day of quarantine (Day 5)	Body weight gain
Male	1	1105	124	160	36
	2	exc.	135	182	47
	3	1302	135	175	40
	4	1205	132	175	43
	5	exc.	134	181	47
	6	1403	122	160	38
	7	1207	138	179	41
	8	1307	124	161	37
	9	1502	137	180	43
	10	1303	142	183	41
	11	1301	138	176	38
	12	1202	127	167	40
	13	exc.	116	152	36
	14	1503	135	176	41
	15	exc.	122	159	37
	16	exc.	123	163	40
	17	1203	124	160	36
	18	1404	137	180	43
	19	1206	133	173	40
	20	1306	127	168	41
	21	1104	135	174	39
	22	1304	134	173	39
	23	exc.	123	165	42
	24	1402	132	171	39
	25	1204	141	181	40
	26	1504	126	162	36
	27	exc.	140	185	45
	28	1106	136	173	37
	29	1107	134	178	44
	30	1101	127	164	37
	31	exc.	131	166	35
	32	exc.	139	184	45
	33	exc.	142	179	37
	34	1401	137	177	40
	35	1102	139	183	44
	36	1201	134	175	41
	37	1103	139	179	40
	38	1501	133	171	38
	39	1305	137	178	41
	Mean		132	173	40
	SD		7	8	3

Unit: g

Body weight gain = Body weight difference of allocation day and receipt day during 5 days.

1) Identification numbers after allocation to treatment groups (exc.: excluded from the study system).