
2-メルカプトベンツイミダゾール (CAS No. 583-39-1) のラットにおける
単回経口投与毒性試験

最 終 報 告 書

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

NBR-1

目 次

	頁
要 約	1
緒 言	2
試験材料および試験方法	
1. 被験物質および媒体	2
2. 投与検体	2
3. 使用動物および飼育条件	3
4. 投与経路、投与方法、群構成および投与量	4
5. 観察および検査項目	5
6. 統計学的方法	5
試験成績	
1. 一般状態および死亡状況	6
2. 体重推移	7
3. 剖検所見	7
4. 病理組織学的検査	8
考 察	8
資 料	8
Table (1~9)	11
Fig. (1~2)	24

Table および Fig. の目次

頁

Table 1	General sign of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	11
Table 2	General sign of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	12
Table 3	Mortality and LD50 value of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	13
Table 4	Mortality and LD50 value of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	14
Table 5-1~5-2	Body weight of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	15
Table 6-1~6-2	Body weight of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	17
Table 7-1	Necropsy finding of surviving male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	19
Table 7-2	Necropsy finding of dead male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	20
Table 8-1	Necropsy finding of surviving female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	21
Table 8-2	Necropsy finding of dead female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	22
Table 9	Histopathological finding of male and female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration ...	23
Fig. 1	Body weight of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	24
Fig. 2	Body weight of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration	25

要 約

2-メルカプトベンツイミダゾール (CAS No. 583-39-1) を雌雄ラットに 1 回経口投与し、その毒性について検討した。投与量は、600 mg/kgを最高用量とし、以下公比約 1.5 により 400、267、178、119 および 79 mg/kgとした。なお、対照として媒体 (0.5 % CMC) 投与群を設けた。

1. 一般状態および死亡状況

79 mg/kg群の雌雄では投与後 2 時間以降に流涎が、119 mg/kg群の雌では投与後 2 時間以降に流涎および自発運動の低下がみられた。178 mg/kg以上の群の雌雄では、投与後 20 分あるいは 2 時間以降に自発運動の低下、よろめき歩行、腹臥、流涎、表皮温下降、呼吸緩徐、鼻・口周囲の被毛汚染などの症状がみられ、投与後 1 日の生存例では前記症状に加えて流涙などの症状がみられた。投与後 1~2 日には 178 mg/kg群の雌雄各 1 例、267 mg/kg群の雄 4 例と雌 5 例、400 mg/kg以上の群の雌雄各 5 例が死亡した。当試験結果からのみでは、死亡原因は明らかではなかった。

2. LD₅₀ 値

LD₅₀ 値は、雄で 218 (166~287) mg/kg、雌で 208 mg/kgであった。

3. 体重推移

267 mg/kg以上の群の雌雄では、投与後 1 日の体重は投与前に比して減少し、雄では有意差が認められた。178 mg/kg以下の群の雌雄では、投与後にはやや増加抑制傾向であったが、剖検時には対照群とほぼ同程度の体重を示した。

4. 剖検所見

死亡例では、胸腺の暗赤色斑散在、腺胃粘膜の暗赤色化、膀胱内に緑色液体貯留、膀胱粘膜の暗赤色化、赤褐色腹水貯留などの変化がみられた。

5. 病理組織学的検査

死亡例で、胸腺 (皮質および髄質) の出血、膀胱粘膜および粘膜下組織の出血がみられた。

緒 言

2-メルカプトベンツイミダゾール (CAS No. 583-39-1) が人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD 毒性試験ガイドライン¹⁾に従って 2-メルカプトベンツイミダゾールを雌雄ラットに単回経口投与し、その毒性について検討した。

なお、当試験は化学物質 GLP 基準に従って実施した。

試験材料および試験方法

1. 被験物質および媒体

被験物質の 2-メルカプトベンツイミダゾール (CAS No. 583-39-1) は、分子量：150、融点：約 304 °C で水にほとんど溶けない淡黄色白色粉末である。当試験には、平成 5 年 9 月 10 日に

から提供されたものを用いた (Lot No. 純度 98.5 %)。入手後は少量ずつ分割し、

遮光・気密条件下で試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温下で保管した。なお、28 日間の反復投与毒性試験の投与期間の終了後に、残余被験物質の一部を製造元に送付して分析した結果、純度は 98.5 % であり、使用期間中は安定であったことが確認された。

媒体として、0.5 % カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液を用いた。カルボキシメチルセルロースナトリウム (以下 CMC、Lot No. 2407、丸石製薬株式会社、平成 4 年 7 月 16 日購入) は、入手後は試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温下で保管した。

2. 投与検体

被験物質を秤取し、注射用水 (Lot No. 3E00N、株式会社大塚製薬工場、使用期限：1998 年 4 月) により 0.5 % 溶液とした CMC に懸濁して必要濃度の投与検体液を用時調製した。なお、投与終了後の残余検体液は廃棄した。また、被験物質は純度換算しないで原体重量で表示した。

投与に用いた投与検体液中の被験物質濃度を、試験施設内で滴定法により測定した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の 98.4~99.7 % であり、設定した適正範囲内 (表示濃度の ± 10 % 以内) を示した (Attached table 1)。

3. 使用動物および飼育条件

1) 動物種、系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかであり、集積データも揃っている Sprague-Dawley 系雌雄ラット [(SPF)、Crj:CD (SD)] を用いた。動物は、平成 5 年 12 月 28 日に日本チャールス・リバー株式会社 (日野飼育センター) から雌雄とも 4 週齢で各 47 匹を購入した。入手後 2 日の体重範囲は、雄が 83~98 g、雌が 69~85 g であった。

2) 検疫および馴化、群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、5 日間の検疫期間およびその後 5 日間の馴化期間を設けた。この間に、3 回の体重測定および毎日一般状態の観察を行って検疫・馴化とし、一般状態および体重推移に異常の認められない動物を群分けして試験に用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与日に行った。なお、動物の体重の変動幅は、平均体重から ± 20 % を越えないことを確認した。群分け後の残余動物は、最終剖検日にエーテルで麻酔致死させた後に廃棄処分した。

動物は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクおよび色素による染毛法により、群分け後は色素による染毛法および耳パンチ法を併用して識別した。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日、性別および馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、性別および動物番号を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

3) 環境条件および飼育管理

動物は、室温 20~24 °C、湿度 40~70 %、明暗各 12 時間 (照明: 午前 6 時~午後 6 時)、換気回数 12 回/時 (フィルターにより除菌した新鮮空気) に設定した飼育室 (E 棟 9 号室) で飼育した。

検疫・馴化期間中および絶食期間中はステンレス製懸垂式ケージ (W: 240 x D: 380 x H: 200 mm) を用いて 1 ケージあたり 5 匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ (W: 755 x D: 210 x H: 170 mm) を用いて個別飼育した。ケージの受け皿および給水瓶の交換は 1 週間に 2 回以上行った。なお、動物飼育室の清掃 (床の掃き掃除) および 500 倍希釈次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

4) 飼料および飲料水

飼料は、入手後 3 カ月以内の固型飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社) を給餌器に入れ、自由に摂取させた。ただし、投与前日の夕刻から投与までの約 19 時間と、投与後約 6 時間まで絶食させ、その後に飼料を与えた。使用した飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センターおよびオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。ただし、群分け時から投与後約 6 時間までは絶水させ、その後に飲料水を与えた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ 3 カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査の結果、いずれも検査結果は試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路、投与方法、群構成および投与量

1) 投与経路および投与方法

2-メルカプトベンツイミダゾールは、経口的に人に摂取される可能性が考えられたため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたプラスチック製ディスプレイ注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、投与直前に測定した体重を基準として 10 ml/kg で算出した。投与時刻は午前 10 時 40 分～11 時 2 分の間で、投与回数は 1 回とした。

投与時の体重範囲は、雄が 124～141 g、雌が 102～112 g であった。

2) 群構成および投与量

群構成は、以下の如くとした。

群	試験群	投与量 (濃度)	雄 (動物番号)	雌 (動物番号)
第 1 群	対照 (0.5 % CMC)	0 mg/kg (0 %)	5 (001～005)	5 (051～055)
第 2 群	2-メルカプトベンツイミダゾール	79 mg/kg (0.79 %)	5 (101～105)	5 (151～155)
第 3 群	2-メルカプトベンツイミダゾール	119 mg/kg (1.19 %)	5 (201～205)	5 (251～255)
第 4 群	2-メルカプトベンツイミダゾール	178 mg/kg (1.78 %)	5 (301～305)	5 (351～355)
第 5 群	2-メルカプトベンツイミダゾール	267 mg/kg (2.67 %)	5 (401～405)	5 (451～455)
第 6 群	2-メルカプトベンツイミダゾール	400 mg/kg (4 %)	5 (501～505)	5 (551～555)
第 7 群	2-メルカプトベンツイミダゾール	600 mg/kg (6 %)	5 (601～605)	5 (651～655)

投与量は、雄ラットを用いた予備試験 (投与段階: 0、2、20、200、2000 mg/kg) の結果、最高用量の 2000 mg/kg では投与後 2 日までに全例が死亡した。200 mg/kg では投与後 1 日に有意な体重増加抑制が認められたものの、20 mg/kg 以下の群と同様に死亡例はみられなかった²⁾。また、雌雄ラットを用いた予備試験 (II) (投与段階: 0、191、305、488、781、1250、2000 mg/kg) では、雌は 191 mg/kg 以上の全例が死亡し、雄は 191 mg/kg 群および 305 mg/kg 群の各 2 例以外は 488 mg/kg 以上の全例が死亡した³⁾。

これらの結果を考慮して、今回の試験では 600 mg/kg を最高用量とし、以下公比約 1.5 により 400、267、178、119 および 79 mg/kg 群を設定した。なお、対照として同一液量の

媒体 (0.5 % CMC) 投与群を設けた。

5. 観察および検査項目

1) 観察期間

観察期間は、投与後 14 日間とした。

2) 一般状態

投与日は投与前および投与後 6 時間 (投与後 30 分まで、投与後 2、4 および 6 時間) まで、投与翌日からの観察期間中は 1 日 1 回、一般状態および死亡の有無を観察した。

3) 体重測定

投与日 (投与直前) および投与後 1、3、7、10 日ならびに 14 日 (剖検日) の午前中に測定した。

4) 剖 検

死亡動物は発見後速やかに剖検した。生存動物は観察期間終了時にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、所見を記録した。剖検で異常の認められた器官・組織およびその比較対照となる同部位の器官・組織 (対照群の代表例) は、写真撮影 (必要と認められたもののみ) 後、10 % 中性緩衝ホルマリン液で固定し保存した。

5) 病理組織学的検査

投与後 24 時間以上生存した動物について、剖検で所見が得られた器官・組織 (胃、胸腺および膀胱) の代表例 (雄 2 例、雌 3 例) および対照群の同一部位の代表例 (雌雄各 2 例) について、常法に従ってパラフィン包埋後に Hematoxylin-Eosin 染色組織標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

6. 統計学的方法

1) LD₅₀ 値

観察期間中の死亡率から、Probit 法 (95 % 信頼限界値を含む) あるいは Behrens-Kärber 法により LD₅₀ 値を算出した。

2) 体 重

体重は、各群で平均値および標準偏差を算出した。

有意差検定は対照群と被験物質各投与群の間で多重比較検定を用いて行い、危険率 5 %

未満を有意とし、5 %未満 ($p < 0.05$) と 1 %未満 ($p < 0.01$) とに分けて表示した。

すなわち、Bartlett 法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならば対照群との群間比較を Dunnett 法 (例数が等しい場合) または Scheffé 法 (例数が等しくない場合) により行った。一方、等分散と認められなかった場合は順位を利用した一元配置法による分析 (Kruskal-Wallis の検定) を行い、有意ならば対照群との群間比較は順位を利用した Dunnett 法または Scheffé 法を用いて行った。

試 験 成 績

1. 一般状態および死亡状況

一般状態観察成績を Table 1 (Appendix 1-1~1-7) および Table 2 (Appendix 2-1~2-7) に示した。

対照群では、雌雄とも一般状態の観察で異常症状はみられなかった。

267 mg/kg以下の群では、雌雄とも投与後 30 分以内には異常症状は観察されなかった。79 mg/kg群の雌雄では投与後 2 時間以降に流涎が各 1 例にみられたが、雄では投与後 6 時間には消失し、雌では投与後 1 日には消失していた。119 mg/kg群では、雌で投与後 2 時間以降に流涎および自発運動の低下が 2~3 例にみられ、自発運動の低下は投与後 1 日にも 1 例にみられたが、投与後 2 日以降には異常症状は観察されなかった。178 mg/kg群および 267 mg/kg群の雌雄では、投与後 2 時間以降に自発運動の低下、腹臥、流涎、表皮温下降、呼吸緩徐などの症状が 1~5 例にみられた。両群の雌雄では投与後 1 日には自発

運動の低下、腹臥、表皮温下降、呼吸緩徐などの症状に加えて流涙が 1~5 例に、さらに 178 mg/kg および 267 mg/kg 群の雄では鼻・口周囲の被毛汚染が 1~2 例にみられた。178 mg/kg 群の雄 1 例は投与後 1 日の午後に、雌の 1 例は投与後 2 日に死亡した。また、267 mg/kg 群の雄 1 例は投与後 1 日の午後に死亡し、投与後 2 日にも腹臥、表皮温下降、呼吸緩徐を示した 1 例を含む 3 例は当日の午後に死亡した。267 mg/kg 群の雌では、投与後 2 日に 5 例が死亡した。

400 mg/kg 以上の群の雌雄では、投与後 20 分以降に自発運動の低下、よろめき歩行、腹臥、流涎、表皮温下降、呼吸緩徐、鼻・口周囲の被毛汚染、流涙などの症状が 1~5 例にみられ、投与後 1 日には 600 mg/kg 群の雌 1 例が死亡した。投与後 1 日には、両群の雌雄で腹臥、鼻・口周囲の被毛汚染、表皮温下降、呼吸緩徐、流涎などの症状が 1~5 例にみられ、400 mg/kg 群および 600 mg/kg 群の雌雄各 1 例が当日の午後に死亡した。投与後 2 日には、400 mg/kg 以上の群の雌雄の残る全例が死亡した。

死亡経過を Table 3 および Table 4 に示した。

178 mg/kg 群では、雄は投与後 1 日に、雌は投与後 2 日に各 1 例が死亡した。267 mg/kg 群では、雄は投与後 1 日に 1 例、投与後 2 日に 3 例が、雌は投与後 2 日に 5 例が死亡した。400 mg/kg 以上の群では、雌雄とも投与後 2 日までに全例が死亡した。死亡例は、投与後 1 日より投与後 2 日に多くみられた。

LD₅₀ 値は、雄で 218 (95 % 信頼限界: 166~287) mg/kg、雌で 208 mg/kg であった。

2. 体重推移

体重推移を Table 5-1~5-2 (Appendix 3-1~3-7) および Table 6-1~6-2 (Appendix 4-1~4-7) ならびに Fig.1 および Fig.2 に示した。

267 mg/kg 以上の群では、雌雄とも投与後 1 日の体重は投与前に比して減少し、雄では対照群に比して有意差が認められた。178 mg/kg 以下の群では、雌雄とも投与後 1~7 日頃までは増加抑制傾向であったが有意差は認められず、剖検時には対照群とほぼ同程度の値を示した。

3. 剖検所見

生存例の剖検所見を Table 7-1 (Appendix 5-1~5-5) および Table 8-1 (Appendix 6-1~6-4) に示した。

生存例では、対照群および被験物質各投与群の雌雄のいずれの例とも著変はみられなかった。

死亡例の剖検所見を Table 7-2 (Appendix 5-6~5-9) および Table 8-2 (Appendix 6-5~6-8) に示した。

投与後 2 日の死亡例の雌雄のほぼ全例で膀胱内に緑色液体貯留が、投与後 1、2 日の死亡例の雌雄の半数例以上で腺胃粘膜の暗赤色化および胸腺に暗赤色斑散在がみられた。その他に、投与後 1、2 日の死亡例の雌雄の少数例で膀胱粘膜の暗赤色化が、投与後 1 日の死亡例の雄 1 例で赤褐色の腹水貯留がみられた。

4. 病理組織学的検査

病理組織学的検査成績を Table 9 に示した。

胸腺：剖検で暗赤色斑散在がみられた雌雄の被験物質投与群の死亡例では、皮質および髄質部位に中等度～強度の出血が観察された。

膀胱：剖検で粘膜の暗赤色化がみられた雌の被験物質投与群の死亡例では、粘膜および粘膜下組織に中等度の出血が観察された。

胃では、いずれの例とも著変はみられなかった。

考 察

2-メルカプトベンツイミダゾールのラットを用いた単回経口投与毒性試験を行った。

LD₅₀ 値は、雄で 218 (166~287) mg/kg、雌で 208 mg/kgであり、雌雄差は認められなかった。

死亡例は、投与後 6 時間まではみられず、投与後 1 日よりも投与後 2 日に多くみられた。投与後 3 日以降の生存例では一般状態に異常は観察されず、投与後 10 日頃からの体重は対照群とほぼ同程度であることから、死を逃れた例の回復は早いものと思われた。剖検では、投与後 2 日の死亡例の半数例以上で膀胱内に緑色液体貯留がみられた。これは、被験物質あるいはその代謝物の尿中排泄に関連した変化と思われたが、生存例の尿の色調および外部生殖器周囲の被毛の異常は観察されなかった。さらに、投与後 1、2 日の死亡例の少数例に膀胱粘膜の暗赤色化がみられ、病理組織学的検査で粘膜および粘膜下組織に出血が観察されたことから、尿中排泄物は膀胱粘膜刺激性を有する可能性が考えられた。また、投与後 1、2 日の死亡例のほとんどの例に腺胃の暗赤色化がみられたが、病理組織学的検査で著変は見られず、胃粘膜に対しては膀胱粘膜に及ぼす程の影響はないものと思われた。その他に、死亡例の胸腺の暗赤色斑（病理組織学的検査における出血）は死因よりもむしろ死戦期の変化の一つと考えられ、当試験のみからでは死亡原因は明らかではなかった。

資 料

- 1) OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS、SECTION 4、HEALTH EFFECTS、SHORT TERM TOXICOLOGY、401 Acute Oral Toxicity [(厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修、OECD 毒性試験ガイドライン、薬業時報社、平成 3 年 12 月 25 日) から引用]

- 2) 「2-メルカプトベンツイミダゾール (CAS No. 583-39-1) のラットにおける単回経口投与毒性試験の予備試験」の最終報告書 (試験番号: 4093P) (株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所、平成 6 年 10 月 12 日)

- 3) 「2-メルカプトベンツイミダゾール (CAS No. 583-39-1) のラットにおける単回経口投与毒性試験の予備試験 (II)」の最終報告書 (試験番号: 4093) (株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所、平成 6 年 10 月 20 日)

Table 1. General sign of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Number of males and general sign	Hours after administration						Days after administration																				
		0-0.5	2	4	6	8	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14							
Control	0	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	79	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Normal	5	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	119	Salivation	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	178	Normal	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Normal	5	2	2	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Decrease in locomotor activity	Number of males	0	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Prone position	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation	Number of males	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Lacrimation	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
		Perinose and mouth stain	Number of males	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
			Decrease in skin temperature	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
Hypopnea		Number of males	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	
		Death	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	
267		Normal	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Normal	5	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Decrease in locomotor activity	Number of males	0	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Prone position	0	0	2	4	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	Number of males	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Lacrimation	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Perinose and mouth stain	Number of males	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Decrease in skin temperature	0	0	0	2	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Hypopnea	Number of males	0	0	0	2	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Death	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	400	Normal	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Normal	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
		Decrease in locomotor activity	Number of males	0	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Prone position	0	1	1	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salivation		Number of males	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Lacrimation	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Perinose and mouth stain		Number of males	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Decrease in skin temperature	0	0	1	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Hypopnea		Number of males	0	0	0	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Death	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
600		Normal	Number of males	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Normal	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Decrease in locomotor activity	Number of males	0	3	4	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Prone position	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation	Number of males	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Lacrimation	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Perinose and mouth stain	Number of males	0	1	2	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Decrease in skin temperature	0	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Hypopnea	Number of males	0	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Death	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Table 2. General sign of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Number of females and general sign	Hours after administration					Days after administration															
		0-0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14						
Control	0	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
		Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	79	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Normal	5	4	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	119	Salivation	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	178	Normal	5	3	2	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
		Decrease in locomotor activity	0	0	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2-Mercaptobenzimidazole	267	Salivation	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Number of females	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
400		Normal	5	3	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
		Decrease in locomotor activity	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
600		Prone position	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Salivation	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
267		Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Decrease in skin temperature	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
400		Hypopnea	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
600	Number of females	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
	Normal	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
267	Decrease in locomotor activity	0	4	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Slagging gait	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
400	Prone position	0	1	2	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Salivation	3	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
600	Lacrimation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Perinose and mouth stain	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
267	Decrease in skin temperature	0	0	1	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Hypopnea	0	0	0	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
400	Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Number of females	5	5	5	5	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
600	Normal	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Decrease in locomotor activity	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
267	Prone position	0	4	4	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Salivation	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
400	Lacrimation	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Perinose and mouth stain	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
600	Decrease in skin temperature	0	3	4	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Hypopnea	0	0	0	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
267	Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Number of females	5	5	5	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Table 3. Mortality and LD50 value of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Number of males	Hours after administration											Days after administration							Total number of deaths	LD 50 (mg/kg)				
		0-0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14						
Control	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
2-Mercaptobenzimidazole	79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Mercaptobenzimidazole	119	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Mercaptobenzimidazole	178	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
2-Mercaptobenzimidazole	267	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
2-Mercaptobenzimidazole	400	0	0	0	0	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
2-Mercaptobenzimidazole	600	0	0	0	0	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5

*: Number of deaths. aj: Probit method.

Figures in parenthesis indicate 95% confidence limit.

Table 4. Mortality and LD₅₀ value of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Number of females	Hours after administration											Days after administration											Total number of deaths	LD ₅₀ (mg/kg)
		0-0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14						
Control	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
2-Mercaptobenzimidazole	79	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Mercaptobenzimidazole	119	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Mercaptobenzimidazole	178	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-Mercaptobenzimidazole	267	0	0	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
2-Mercaptobenzimidazole	400	0	0	0	0	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
2-Mercaptobenzimidazole	600	0	0	0	0	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5

*: Number of deaths. a): Behrens-kärber method.

Table 5-1. Body weight of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Control		2-Mercaptobenzimidazole	
	0	79	119	178
Number of males	5	5	5	5
Days after administration	0	5.7	133.8 ± 4.5	132.6 ± 6.1
1	6.6	151.2 ± 6.6	144.8 ± 11.1	143.6 ± 12.4
3	6.4	174.2 ± 6.4	172.4 ± 9.3	169.2 ± 10.7
7	5.5	209.0 ± 5.5	208.2 ± 14.2	205.0 ± 13.3
10	7.4	234.4 ± 7.4	232.6 ± 14.4	232.2 ± 17.3
14	11.7	265.6 ± 11.7	266.0 ± 19.1	268.0 ± 20.2
				133.8 ± 5.9
				138.8 ± 13.4
				169.2 ± 11.9 (4)
				203.7 ± 14.4 (4)
				230.0 ± 19.4 (4)
				262.0 ± 21.7 (4)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

Table S-2. Body weight of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Control		2-Mercaptobenzimidazole			
	0	5	267	400	600	600
Number of males		5	5	5	5	5
Days after admin- istration	0	5.7	132.6 ± 5.8	132.8 ± 5.7	133.4 ± 4.4	133.4 ± 4.4
	1	6.6	129.0 ± 7.6**	126.8 ± 6.2**	127.4 ± 3.9**	127.4 ± 3.9**
	3	6.4	158.0 —	—	—	—
	7	5.5	196.0 —	—	—	—
	10	7.4	219.0 —	—	—	—
	14	11.7	256.0 —	—	—	—

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of males.

Significantly different from control (**: P<0.01).

Table 6-1. Body weight of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Control		2-Mercaptobenzimidazole	
	0	79	119	178
Number of females	5	5	5	5
Days after administration	0	3.9	4.3	3.2
	107.4 ± 3.4	107.0 ± 3.6	107.4 ± 4.3	108.0 ± 3.2
	122.6 ± 4.8	119.6 ± 3.6	108.6 ± 10.2	111.0 ± 10.2
	137.0 ± 7.1	135.8 ± 8.1	132.4 ± 7.6	130.5 ± 7.0 (4)
	149.0 ± 9.8	154.0 ± 12.8	153.8 ± 9.4	151.2 ± 8.3 (4)
	158.2 ± 8.8	165.2 ± 17.1	163.4 ± 12.3	157.7 ± 10.2 (4)
	171.4 ± 12.2	177.8 ± 13.4	179.8 ± 17.3	171.0 ± 11.0 (4)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Table 6-2. Body weight of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Control		2-Mercaptobenzimidazole	
	0	267	400	600
Number of females	5	5	5	5
Days after administration	0	3.4	3.4	3.7
	1	4.8	3.4	3.7
	3	7.1	3.4	(4)
	7	9.8	—	—
	10	8.8	—	—
	14	12.2	—	—
		107.4 ± 3.4	107.6 ± 3.4	107.4 ± 3.7
		122.6 ± 4.8	103.4 ± 3.4	103.0 ± 3.7
		137.0 ± 7.1	—	—
		149.0 ± 9.8	—	—
		158.2 ± 8.8	—	—
		171.4 ± 12.2	—	—

Each value shows mean (g) ± S.D.
 Figures in parentheses indicate number of females.

Table 7-1. Necropsy finding of surviving male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Control	2-Mercaptobenzimidazole					
		79	119	178	267	400	600
Number of males	5	5	5	4	1	0	0
Normal	5	5	5	4	1	-	-

Table 7-2. Necropsy finding of dead male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Control	2-Mercaptobenzimidazole					
		79	119	178	267	400	600
Number of males	0	0	0	1	4	5	5
Normal	-	-	-	0	1	0	0
Thymus	-	-	-	1	0	3	2
Scattered dark red spots	-	-	-	0	3	5	4
Stomach(glandular)	-	-	-	0	2	3	3
Dark red mucosa	-	-	-	0	0	0	1
Urinary bladder	-	-	-	0	0	0	0
Accumulation of green liquid	-	-	-	0	2	3	3
Dark red mucosa	-	-	-	0	0	0	1
Abdominal cavity	-	-	-	0	0	0	0
Ascites(reddish brown)	-	-	-	0	0	1	0

Table 8-1. Necropsy finding of surviving female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group	Control	2-Mercaptobenzimidazole						
		79	119	178	267	400	600	
(mg/kg)	0							
Number of females	5	5	5	4	0	0	0	0
Normal	5	5	5	4	-	-	-	-

Table 8-2. Necropsy finding of dead female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Group (mg/kg)	Control	2-Mercaptobenzimidazole					
		79	119	178	267	400	600
Number of females	0	0	0	1	5	5	5
Normal Thymus	-	-	-	0	0	0	1
Scattered dark red spots Stomach(glandular)	-	-	-	1	3	3	3
Dark red mucosa Urinary bladder	-	-	-	1	3	5	3
Accumulation of green liquid	-	-	-	1	5	4	2
Dark red mucosa	-	-	-	0	0	0	2

Table 9. Histopathological finding of male and female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration

Sex	Male		Female	
	Control	2-Mercaptobenzimidazole	Control	2-Mercaptobenzimidazole
Group				
(mg/kg)	0	400	0	400
Number of animals (animal number)	2(001, 002)	2(502, 503)	2(051, 052)	2(551, 553)
Finding	— ± + + ##	— ± + + ##	— ± + + ##	— ± + + ##
Thymus	2 0 0 0 0	0 0 0 0 2	2 0 0 0 0	0 0 0 0 2
Hemorrhage in cortex and medulla				
Urinary bladder	NE	NE	2 0 0 0 0	NE
Hemorrhage in mucosa and submucosa				0 0 0 0 1 0

Grade of histopathological finding: —; no abnormal detect, ±; very slight, +; slight, ##; moderate, ###; marked.
NE: Not examined.

No remarkable changes are observed in the stomach.

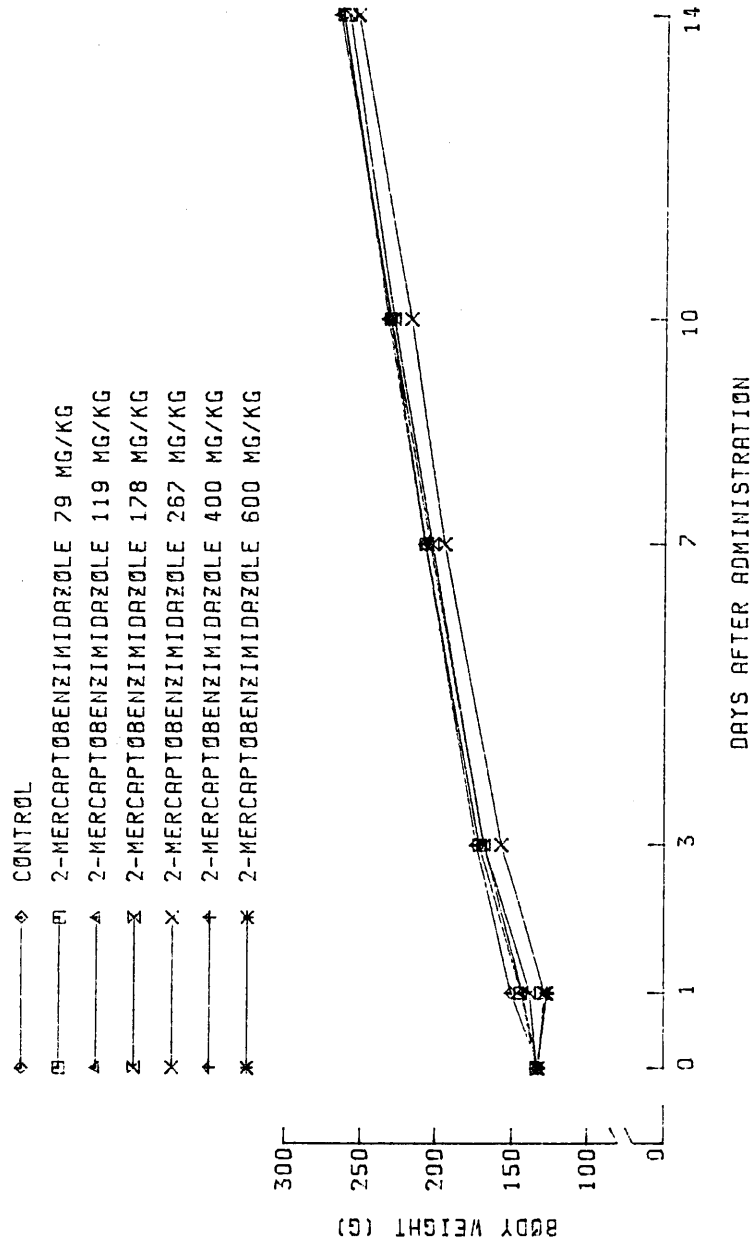


Fig. 1. Body weight of male rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration.

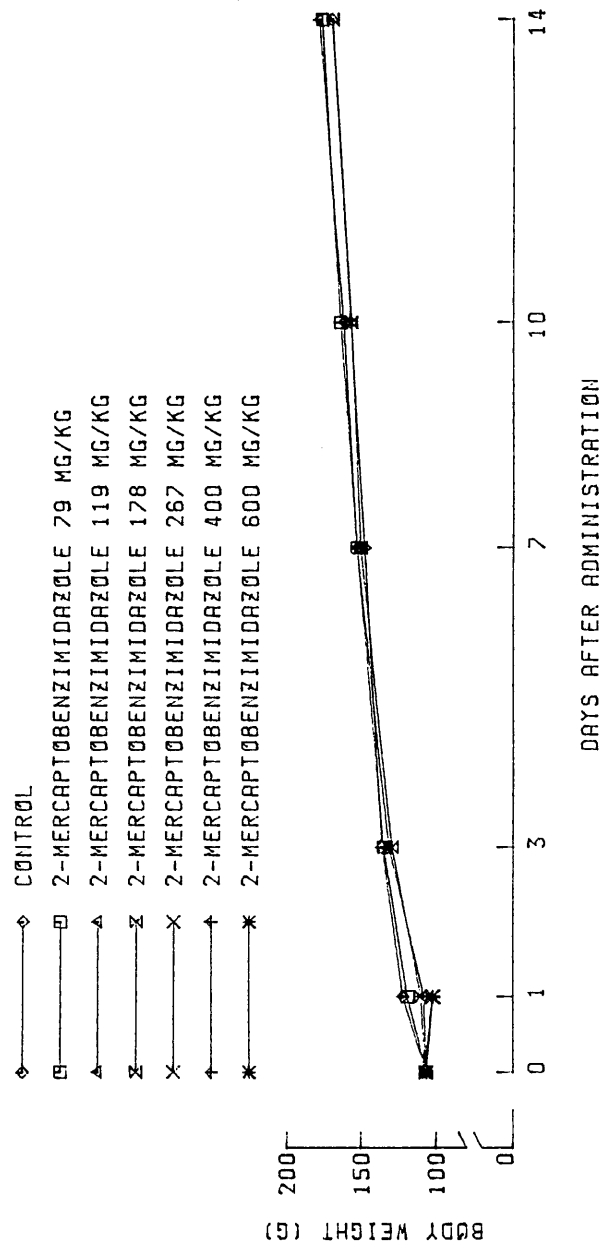


Fig. 2. Body weight of female rats in single dose toxicity study of 2-Mercaptobenzimidazole by oral administration.