

N-メチルアニリンのラットを用いる急性経口毒性試験

試験番号：2259（115-019）

財 団 法 人  
食 品 農 医 薬 品 安 全 性 評 価 セ ン タ ー

## 目 次

1. 要 約	1	頁
2. 試 験 題 目	2	
3. 試 験 目 的	2	
4. 試 験 番 号	2	
9. 被 験 物 質	3	
10. 試 験 材 料 お よ び 方 法	5	
11. 試 験 結 果	8	
12. 考 察	11	
13. 参 考 文 献	12	

### Figures and Tables

Figure 1	Dosage-mortality curve in male rats	14
Figure 2	Dosage-mortality curve in female rats	15
Table 1	Mortality	16
Table 2	Clinical sign	17
Table 3	Body weight	27
Table 4	Gross finding	31

## 1. 要 約 :

1群につき雌雄各5匹のCD (SD) 系ラットを用いてN-メチルアニリンの急性経口毒性試験を実施した。

N-メチルアニリンはコーンオイルに溶解し、512、640、800、1,000 および 1,250 mg/kg を単回強制経口投与した。

観察期間は14日間とし、生死、中毒症状およびその発現時期について観察した。その結果は次の通り要約される。

### 1) LD<sub>50</sub>値

死亡動物は雌雄ともに 640 mg/kg群からみられ、雄では 1,250 mg/kg群、雌では 1,000 mg/kg 群で全例が死亡した。LD<sub>50</sub>値は雄で 782 mg/kg (95%信頼限界 648~945 mg/kg)、雌で 716 mg/kg (95%信頼限界 638~803 mg/kg) であった。

### 2) 一般状態

雌雄ともに、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から4ないし6日に見られ、さらに流涎が投与後1から2時間に観察された。また、褐色尿が投与後6時間から3日に認められた。

死亡例では、雌雄ともに側臥位、腹臥位、全身のひきつり、流涙および体温低下が投与後3時間から認められた。

### 3) 体 重

生存動物の体重は、雌雄ともに観察期間終了時まで順調に増加した。

### 4) 病理学的検査

#### a. 肉眼所見

死亡動物では胸水の貯留、胸腺の黒色斑点、心臓の黒色斑点、膀胱の内腔拡大、食道の赤色斑点、前胃の赤色あるいは黒色斑点ならびに小腸の赤色あるいは白色斑点が認められた。一方、観察期間終了時の生存動物では、胸腺の黒色斑点が認められた。

#### b. 組織所見

肉眼所見で異常がみられた胸腺について組織学的検査を実施した結果、胸腺皮髄境界部に出血が認められた。

2. 試験題目： N-メチルアニリンのラットを用いる急性経口毒性試験

3. 試験目的： N-メチルアニリンの安全性を評価するため、OECDテストガイドライン401（1987年2月24日）に従って、ラットを用いる急性毒性試験を実施した。

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

4. 試験番号： 2259（115-019）

9. 被 験 物 質 :

- 1) 被験物質名 N-メチルアニリン
- 2) Cas No. 100-61-8
- 3) ロット番号
- 4) 純 度 99.4 wt %、(その他、不純物としてN, N-ジメチルアニリンを 0.5 wt %含む)
- 5) 提 供 先
- 6) 保管条件 冷暗所
- 7) 別 名 メチルフェニルアミン
- 8) 化 学 名 N-メチルアニリン
- 9) 化学構造
- The image shows the chemical structure of N-methylaniline. It consists of a benzene ring with a substituent group attached to the top carbon atom. The substituent group is labeled 'NHCH<sub>3</sub>'.
- 10) 分子式  $C_6H_5NHCH_3$
- 11) 分子量 107.16
- 12) 物質の状態 液体
- 13) 色 無色あるいは微黄色
- 14) 臭 刺激性の臭気

15) 融 点	-57℃
16) 沸 点	194 ~ 196℃
17) 溶 解 性	アルコール、エーテルに可溶、水にわずかに溶ける。
18) 安 定 性	比較的安定
19) 分配係数 (Octanol/Water)	Log Pow = 1.71 (20℃)
20) 比 重	0.99 (20℃)
21) 蒸 気 圧	0.5 mmHg
22) 取り扱い上の注意	わずかの加熱により発火する危険性がある。 取り扱い中は適切な保護眼鏡、保護手袋、有毒ガス用防毒マスクを着用し、取り扱い後は手洗いおよびうがいを充分行う。
23) 被験物質保管および 残余被験物質の処理	投与終了後、約 2 gを安評センターに保管し、残りは廃棄した。

## 10. 試験材料および方法：

### 1) 供試動物

供試した Crj: CD (SD) 系ラット [SPF] は日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県厚木市）から生後5週齢で雌雄各30匹購入した。

動物は検収後、試験環境に馴化し、6週齢で投与した。

動物はあらかじめ体重によって層別化し、無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした。

動物の識別は、ピクリン酸エチルアルコール飽和溶液によるマーキング法を用いるとともに、飼育ケージに動物標識番号 (Animal ID-No. ) を明記したラベルを付けて行った。

投与時の体重は、雄で 143~162 g、雌で 110~133 g であった。

### 2) 試験系の選択理由

感染性疾患に対する抵抗性、遺伝的安定性等を考慮して選んだ。

### 3) 飼 育

動物は飼育室 (W 3.6 × D 10.0 × H 2.5 m、90 m<sup>3</sup>) で飼育し、環境調節の目標値は温度 23 ± 2℃、相対湿度 55 ± 10%、換気回数 1 時間 20 回、照明 12 時間 (150~300 lux、午前 7 時点灯、午後 7 時消灯) とした。

株式会社 東京技研サービス (東京都府中市) 製の水洗式飼育機 (W 745.0 × D 50.0 × H 182.0 cm) を使用し、金属製網目飼育ケージ (W 21.5 × D 27.5 × H 19.5 cm、飼育ケージ・スペース 11,529 cm<sup>3</sup>) に動物を 5 匹ずつ収容した。

飼育ケージおよび給餌器は週 1 回取り換えた。

飼料はオリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造の固型飼料 MF を使用し、飼育期間中、自由に摂取させた。

また、動物には水道水を自動給水ノズルから自由に摂取させた。

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

4) 試験群の構成

試験群の構成は次表に示した。

性	試験群	用量 (mg/kg)	動物数	動物番号
雄	1	512	5	1101~1105
	2	640	5	1201~1205
	3	800	5	1301~1305
	4	1,000	5	1401~1405
	5	1,250	5	1501~1505
雌	6	512	5	2101~2105
	7	640	5	2201~2205
	8	800	5	2301~2305
	9	1,000	5	2401~2405
	10	1,250	5	2501~2505

[用量設定理由]

Crj: CD (SD)系ラットを用い、500、1,000 および 2,000 mg/kgの用量を雌雄各3匹に経口投与した予備試験の結果、雌雄ともに 500 mg/kgでは死亡例が認められなかったが、1,000 mg/kg および 2,000 mg/kgで全例が死亡した。

従って、本試験の用量は予備試験の結果を参考にして、雌雄とも公比1.25で 512~1,250 mg/kg の5用量をそれぞれ設定した。



5) 投与液の調製

被験物質は、所定量を電子上皿天秤で秤量し、コーンオイル（ナカライテスク株式会社、京都府京都市）に溶解した。溶液の濃度は、512、640、800、1,000 および 1,250 mg/kg 群でそれぞれ10.2、12.8、16.0、20.0および25.0 (w/v) %であった。

6) 投与方法

被験物質の投与経路は経口投与とした。コーンオイルに溶解した被験物質を、投与前16時間絶食させた動物の胃内に金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。

投与容量は体重 100 g あたり 0.5 ml の割合とした。

給餌は被験物質投与後約 3 時間に行った。

7) 観 察

中毒症状および生死の観察は、投与後 6 時間までは 1 時間間隔、その後 14 日までは 1 日 2 回午前と午後（休日は午前のみ）実施した。観察された中毒症状は、観察所見記録用紙に記録した。

8) 体 重

体重は投与直前、投与後 7 および 14 日に測定した。

また、死亡動物については死亡発見時に測定した。

9) 50%致死量 (LD<sub>50</sub>) の計算方法

LD<sub>50</sub>値は、投与後14日の死亡率から Litchfield-Wilcoxon (1949) の方法で算出した。

10) 病理学的検査

a. 肉眼的観察

観察期間中の死亡例については死亡発見時に、また生存動物については観察終了日にエーテル麻酔後放血安楽死させ解剖した。肉眼的異常については病理解剖所見記録用紙に記録した。

b. 病理組織学検査

異常の認められた器官、組織については、10%中性緩衝ホルマリン液に保存し、その一部を病理組織学検査に供した。

組織標本の作製および鏡検を行い、病変の種類および程度について記録した。

11) 余剰動物の処分

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた。

## 1 1. 試 験 結 果 :

試験結果は、Table 1 に観察期間中の経日死亡状況およびLD<sub>50</sub>値を、Table 2 に中毒症状およびその発現時期を示した。また、Table 3 に体重推移を、Table 4 に剖検所見を示した。さらに、Figure 1 および 2 に用量死亡率曲線を示した。

1群につき雌雄各5匹のCD (SD) 系ラットを用いてN-メチルアニリンの急性経口毒性試験を実施した。その結果は次の通りである。

### 1) 死亡率およびLD<sub>50</sub>値 (Table 1)

死亡率は、512、640、800、1,000 および 1,250 mg/kg群の雄で0、20、60、80および100%、雌で0、20、80、100 および 100%であった。

したがって、LD<sub>50</sub>値は雄で782 mg/kg (95%信頼限界 648~945 mg/kg)、雌で716 mg/kg (95%信頼限界 638~803 mg/kg)であった。

### 2) 一般状態 (Table 2)

雄では、512 mg/kg 投与群で、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、投与後4または6日まで継続した。また、褐色尿が投与後6時間以降3例、2日には全例に観察され、投与後3日まで継続した。これらの症状は重篤なものではなく、死亡動物は認められなかった。

640 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、生存例の症状は投与後4または6日まで継続した。また、褐色尿が投与後6時間以降3例、2日には4例、腹臥位が2日から1例に観察され、これらの症状は投与後3日まで継続した。死亡動物は、投与後3日に1例認められた。

800 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、生存動物の症状は投与後6日まで継続した。また、流涎が投与後1時間から2例に観察され、2時間まで継続した。さらに、褐色尿が投与後6時間から2例、6~24時間には全例に観察され、生存動物の症状は投与後3日まで継続した。そのほか、腹臥位が投与後6~24時間に3例に観察された。死亡動物は、投与後6~24時間に3例認められた。

1,000 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、生存動物の症状は投与後4または6日まで継続した。また、流涎が投与後1時間から4例に観察され、投与後2時間まで継続した。さらに、側臥位が投与後3時間から1例、全身のひきつりが投与後3時間から1例、4時間には2例に観察され、側臥位は投与後4時間、全身のひきつりは6~24時間まで継続した。次いで、腹臥位が投与後4時間から1例、6~24時間には4例中2例に観察され、投与後3日の死亡時まで継続した。そのほか、褐色尿が投与後6時間から4例中2例、6~24時間には全例に観察され、投与後3日まで継続し、体温低下が投与後2日から3例中2例、3日には2例中1例に観察された。死亡動物は、投与後4、6~24時間、2および3日に各1例ずつ計4例認められた。

1, 250 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、投与後2日の死亡時まで継続した。また、流涎が投与後1時間から3例に観察され、投与後2時間まで継続した。さらに、褐色尿が投与後6時間から3例、6時間以降全例に観察され、死亡時まで継続した。次いで、側臥位、腹臥位および全身のひきつりが投与後6時間以降2～3例に観察され、死亡時まで継続した。そのほか、流涙が投与後6時間以降2日まで1例、体温低下が投与後2日に4例観察された。これらの症状を示した動物は、投与後2日に全例が死亡した。

雌では 512 mg/kg 投与群で、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、投与後4または6時間まで継続した。また、流涎が投与後1時間から1例に観察され、投与後2時間まで継続した。さらに、褐色尿が投与後6時間以降4例、2日には全例に観察され、投与後3日まで継続した。これらの症状は重篤なものではなく、死亡動物は認められなかった。

640 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、生存動物の症状は投与後4または6時間まで継続した。また、腹臥位が投与後4時間から1例に観察され、投与後6～24時間の死亡時まで継続した。さらに、褐色尿が投与後6時間から2例、6時間以降は4例に観察され、投与後3日まで継続した。死亡動物は、投与後6～24時間に1例認められた。

800 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、生存動物の症状は、投与後4または6日まで継続した。また、流涎が投与後1時間から1例に観察され、2時間まで継続した。さらに、褐色尿が投与後6時間から2例、6～24時間には全例に観察され、生存例で投与後3日まで継続した。そのほか、腹臥位が投与後6時間以降3例に観察され、投与後6～24時間または2日の死亡時まで継続した。死亡動物は、投与後6～24時間に2例、2日に2例認められた。

1, 000 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、投与後6～24時間または2日の死亡時まで継続した。また、流涎が投与後1時間から1例に観察され、投与後2時間まで継続した。さらに、腹臥位が投与後4時間から1例、2日には4例中3例、全身のひきつりが投与後4時間から5例中1例、6～24時間には2例に観察され、これらの症状は死亡時まで継続した。次いで、褐色尿が投与後6時間から4例、6～24時間には全例に観察され、死亡時まで継続した。そのほか、側臥位および流涙が投与後6時間以降1～3例に観察され、死亡時まで継続した。加えて、体温低下が投与後2日に4例中2例に観察された。これらの症状を示した動物は、投与後6時間以降2日の間に全例が死亡した。

1, 250 mg/kg 投与群では、自発運動低下およびチアノーゼが投与後1時間から5例全例に観察され、投与後6～24時間または2日の死亡時まで継続した。また、褐色尿が投与後6時間から全例に観察され、死亡時まで継続した。さらに、腹臥位が投与後6時間以降3例に観察され、死亡時まで継続した。そのほか、側臥位および全身のひきつりが投与後6時間以降1～2例に観察され、死亡時まで継続した。これらの症状を示した動物は、投与後

6時間以降2日の間に全例が死亡した。

3) 体重 (Table 3)

死亡動物では、雌雄ともに多くの動物で投与直前の測定値と比較して死亡時の減少が認められた。一方、生存動物では雌雄ともに投与後7および14日の測定で順調な増加が認められた。

4) 病理学的検査

a. 肉眼所見 (Table 4)

死亡動物では雌雄ともに胸水の貯留、胸腺の黒色斑点および小腸の赤色斑点が見られ、さらに雄で膀胱の内腔拡大、食道の赤色斑点、前胃の赤色あるいは黒色斑点ならびに小腸の白色斑点が、雌で心臓の黒色斑点が認められた。一方、観察期間終了時の生存動物では、雌で胸腺の黒色斑点が認められた。

b. 組織所見

肉眼所見で比較的多数例に異常がみられた胸腺について組織学的検査を実施した結果、胸腺皮髄境界部に出血が認められた。

## 12. 考 察：

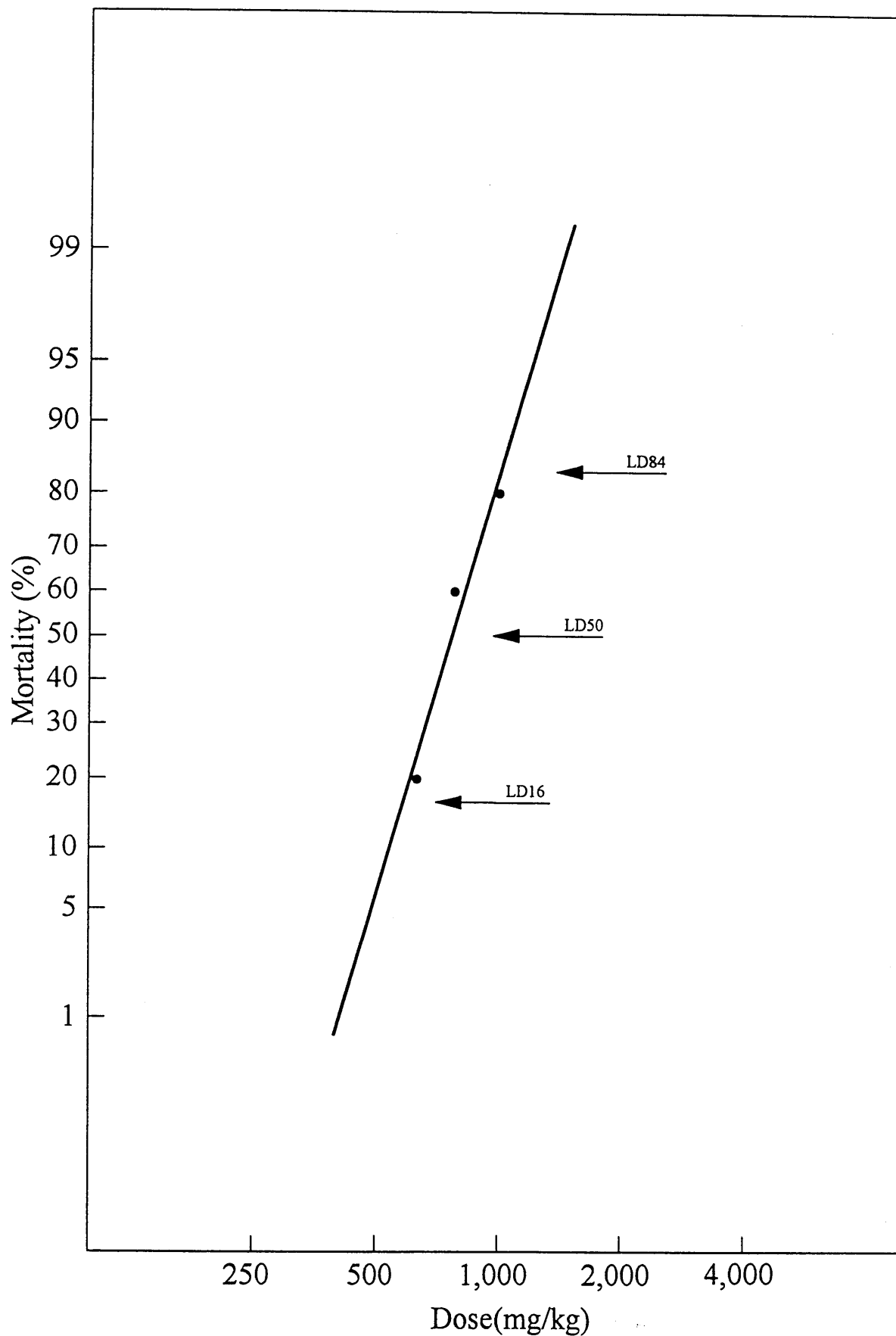
1群につき雌雄各5匹のCD (SD) 系ラットを用いてN-メチルアニリンの急性経口毒性試験を実施した。投与用量は、雌雄ともに 512、640、800、1,000 および 1,250 mg/kgとした。

その結果、一般状態の観察で、重篤な中毒症状を示した動物では側臥位、腹臥位、全身のひきつり、体温低下および流涙が観察された。また、投与後1時間から6日の間にチアノーゼがほぼ雌雄の全例に、さらに投与後6時間から3日の間には褐色尿が雌雄のほぼ全例に認められた。アニリン系の化合物では、メトヘモグロビン血症<sup>1)、2)</sup>を誘起したり、メトヘモグロビン尿<sup>3)</sup>を呈することが知られていることから、これらの症状は被験物質投与による影響と考えられた。

雌雄の動物の肉眼所見で、比較的多数例にみられた胸腺の黒色斑点は、組織学的検査の結果、出血性の変化であると認められた。しかしながら、このような出血性変化は死戦期に発現している可能性も否定できないことから、被験物質投与に起因する変化とは考えられなかった。

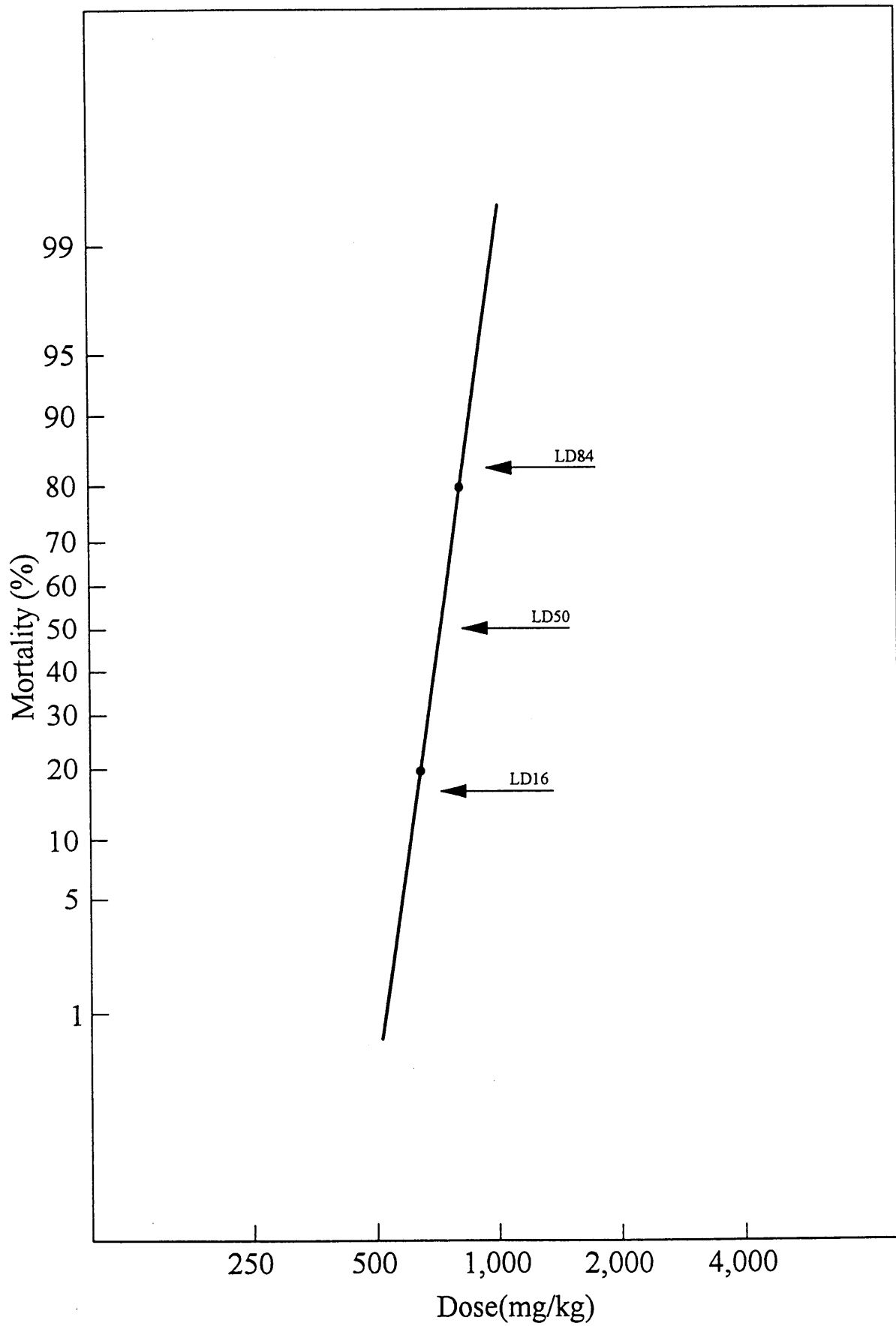
13. 参 考 文 献 :

- 1) 藤沢繁彦 : 薬物投与による動物のメトヘモグロビン血症に関する研究. 熊本医学会雑誌, 34, 1750 (1960)。
- 2) Smith, R. P., Olson, M.V. : Drug-induced methemoglobinemia. Semin Hematol, 10, 253 (1973).
- 3) 米山良昌 : Encyclopedia of Medical Sciences, 46, 128 (1984)。



Exp.No. 2259 (115-019)

Figure 1. Dosage-mortality curve in male rats



Exp.No. 2259 (115-019)

Figure 2. Dosage-mortality curve in female rats



Table 1. Mortality

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex	Group	Dose level (mg/kg)	Number of animals	Number of deaths on the day														Mortality (%)
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	1	512	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	640	5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
	3	800	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60
	4	1,000	5	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80
	5	1,250	5	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Female	6	512	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7	640	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20
	8	800	5	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	80
	9	1,000	5	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
	10	1,250	5	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

LD50 (mg/kg) 95% Confidence limit

Male 782 ( 648 - 945 )

Female 716 ( 638 - 803 )

Table 2. Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Male	Dose level : 512 (mg/kg)	Number of animals : 5																			
		Hours						Days													
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5
Movement																					
hypoactivity		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5							
Posture																					
lateral position																					
prone position																					
General condition																					
twitch																					
subnormal temperature																					
cyanosis		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5							
salivation																					
lacrimation																					
brownish urine								3													
Death																					
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 5														Mortality : 0/5					

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Male	Dose level : 640 (mg/kg)	Number of animals : 5																				
		Hours						Days														
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4
Movement																						
hypoactivity		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4								
Posture																						
lateral position																						
prone position									1	1												
General condition																						
twitch																						
subnormal temperature																						
cyanosis		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4
salivation																						
lacrimation																						
brownish urine								3	4	4	4	4	4									
Death																						
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 4														Mortality : 1/5						

|  
1  
∞

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Male	Dose level : 800 (mg/kg)	Number of animals : 5																				
		Hours						Days														
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
Movement																						
hypoactivity		5	5	5	5	5	5	5	2	2	2	2	2	2								
Posture																						
lateral position																						
prone position								3														
General condition																						
twitch																						
subnormal temperature																						
cyanosis		5	5	5	5	5	5	5	2	2	2	2	2	2								
salivation		2	2																			
lacrimation																						
brownish urine									2	5	2	2	2									
Death																						
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 2														Mortality : 3/5						

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Male	Dose level : 1.000 (mg/kg)	Number of animals : 5																			
		Hours						Days													
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
Movement																					
hypoactivity		5	5	5	5	4	4	4	4	3	2	1									
Posture																					
lateral position		1	1																		
prone position		1	1	1	1	2	1	1													
General condition																					
twitch		1	2	1	1	1	1														
subnormal temperature									2	1											
cyanosis		5	5	5	5	4	4	4	3	2	1	1	1								
salivation		4	4																		
lacrimation																					
brownish urine							2	4	3	2											
Death									1	1	1	1									
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 1														Mortality : 4/5					

1  
20  
1

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Signs	Hours						Days						Number of animals : 5							
	1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6		7	8	9	10	11	12	13
Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
Movement																				
hypoactivity	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5							
Posture																				
lateral position							3							3						
prone position							2							2						
General condition																				
twitch							2							2						
subnormal temperature														4						
cyanosis	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5							
salivation	3	3																		
lacrimation												1		1						
brownish urine											3		5	5						
Death																				5
Number of affected animals : 5																				
Number of recovered animals : 0																				
Mortality : 5/5																				

1  
2  
1  
1

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Signs	Hours						Days													
	1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Sex : Female													Number of animals : 5							
Dose level : 512 (mg/kg)																				
Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Movement																				
hypoactivity	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Posture																				
lateral position																				
prone position																				
General condition																				
twitch																				
subnormal temperature																				
cyanosis	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
salivation	1	1																		
lacrimation																				
brownish urine					4															
Death																				
Number of affected animals : 5												Number of recovered animals : 5						Mortality : 0/5		

1  
2 2  
1

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

	Hours						Days														
	1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Sex : Female	Dose level : 640 (mg/kg)						Number of animals : 5														
Signs	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Movement																					
hypoactivity	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Posture																					
lateral position							1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
prone position																					
General condition																					
twitch																					
subnormal temperature	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
cyanosis																					
salivation																					
lacrimation																					
brownish urine							2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Death																					
	1																				
Number of affected animals : 5    Number of recovered animals : 4    Mortality : 1/5																					

1  
2  
3  
4



Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Signs	Sex : Female		Dose level : 800 (mg/kg)		Number of animals : 5																	
	Hours							Days														
	1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Normal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1		
Movement																						
hypoactivity	5	5	5	5	5	5	5	3	1	1												
Posture																						
lateral position								3														
prone position									2													
General condition																						
twitch																						
subnormal temperature																						
cyanosis	5	5	5	5	5	5	5	3	1	1	1	1	1	1								
salivation	1	1																				
lacrimation																						
brownish urine								2	5	3	1											
Death								2	2													
Number of affected animals : 5    Number of recovered animals : 1    Mortality : 4/5																						

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Female	Dose level : 1,000 (mg/kg)	Number of animals : 5																			
		Hours						Days													
Signs		1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						
Movement																					
hypoactivity		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4						
Posture																					
lateral position															1						
prone position					i	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3						
General condition																					
twitch					1	1	1	2	1												
subnormal temperature									2												
cyanosis		5	5	5	5	5	5	5	4												
salivation		1	1																		
lacrimation									3	3	3	3	3	3							
brownish urine									4	5	4	5	4	4							
Death									1	4											
Number of affected animals : 5		Number of recovered animals : 0														Mortality : 5/5					

Table 2. -continued Clinical sign

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Female	Dose level : 1,250 (mg/kg)	Number of animals : 5	Hours						Days													
			1	2	3	4	5	6	6→24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Signs																						
Normal																						
Movement																						
hypoactivity																						
Posture																						
lateral position																						
prone position																						
General condition																						
twitch																						
subnormal temperature																						
cyanosis																						
salivation																						
lacrimation																						
brownish urine																						
Death																						
Number of affected animals : 5																						
Number of recovered animals : 0																						
Mortality : 5/5																						

1  
2  
3  
1

Table 3. Body weight

Exp. No. 2259 (115-019)  
(unit:g)

Sex : Male

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			
			0	7	14	
1	512	1101	150	198	269	
		1102	161	209	278	
		1103	162	204	276	
		1104	155	208	278	
		1105	144	206	265	
		Mean $\pm$ S. D.	154 $\pm$ 8	205 $\pm$ 4	273 $\pm$ 6	
2	640	1201	150	187	263	
		1202	148	199	262	
		1203	152	(135)	-	
		1204	158	191	268	
		1205	149	200	268	
		Mean $\pm$ S. D.	151 $\pm$ 4	194 $\pm$ 6	265 $\pm$ 3	
3	800	1301	155	(141)	-	
		1302	158	183	278	
		1303	149	(144)	-	
		1304	159	197	282	
		1305	144	(142)	-	
		Mean $\pm$ S. D.	153 $\pm$ 6	190 $\pm$ 10	280 $\pm$ 3	

( ): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2259 (115-019)  
(unit:g)

Sex : Male

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			
			0	7	14	14
4	1000	1401	157	(153)	-	-
		1402	156	(153)	-	-
		1403	149	(146)	-	-
		1404	152	(141)	-	-
		1405	143	173	241	241
Mean ± S. D.			151 ± 6	173	241	241
5	1250	1501	160	(160)	-	-
		1502	152	(148)	-	-
		1503	152	(149)	-	-
		1504	145	(137)	-	-
		1505	158	(156)	-	-
Mean ± S. D.			153 ± 6	-	-	-

( ): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2259 (115-019)  
(unit:g)

Sex : Female

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration			
			0	7	14	14
6	512	2101	123	160	212	
		2102	129	160	192	
		2103	110	144	174	
		2104	125	173	206	
		2105	121	152	188	
Mean ± S.D.			122 ± 7	158 ± 11	194 ± 15	
7	640	2201	132	165	213	
		2202	122	155	181	
		2203	113	(108)	-	
		2204	127	148	208	
		2205	117	140	175	
Mean ± S.D.			122 ± 8	152 ± 11	194 ± 19	
8	800	2301	124	(119)	-	
		2302	124	148	186	
		2303	121	(117)	-	
		2304	111	(113)	-	
		2305	130	(128)	-	
Mean ± S.D.			122 ± 7	148	186	

( ): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 3. -continued Body weight

Exp. No. 2259 (115-019)  
(unit:g)

Sex : Female

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration		
			0	7	14
9	1000	2401	121	(116)	-
		2402	127	(131)	-
		2403	120	(121)	-
		2404	120	(121)	-
		2405	129	(120)	-
Mean ± S. D.			123 ± 4	-	-
10	1250	2501	126	(125)	-
		2502	125	(127)	-
		2503	133	(128)	-
		2504	114	(114)	-
		2505	122	(124)	-
Mean ± S. D.			124 ± 7	-	-

( ): Body weight at death; not included in calculation of mean body weight

Table 4. Gross finding

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Male Dose level : 512 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1101	Sacrificed	14		Normal
1102	Sacrificed	14		Normal
1103	Sacrificed	14		Normal
1104	Sacrificed	14		Normal
1105	Sacrificed	14		Normal



Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Male    Dose level : 640 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1201	Sacrificed	14		Normal
1202	Sacrificed	14		Normal
1203	Dead	2	Thoracic cavity Esophagus Forestomach Small intestine	Hydrothorax, brownish, transparent Red patch/zone, single Red patch/zone, multiple Red patch/zone, multiple
1204	Sacrificed	14		Normal
1205	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Male    Dose level : 800 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1301	Dead	1	Thoracic cavity	Hydrothorax, transparent
1302	Sacrificed	14		Normal
1303	Dead	1	Thoracic cavity	Hydrothorax, transparent
1304	Sacrificed	14		Normal
1305	Dead	1	Thoracic cavity Thymus	Hydrothorax, transparent Black patch/zone, multiple

Table 4. -continued Gross finding

Exp.No. 2259 (115-019)

Sex : Male    Dose level : 1,000 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1401	Dead	3	Forestomach	Autolysis Black patch/zone, multiple
1402	Dead	1	Thymus	Autolysis Black patch/zone, multiple
1403	Dead	1	Small intestine	White patch/zone, multiple
1404	Dead	2		Autolysis
1405	Sacrificed	14		Normal

|

3 4

|

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male Dose level : 1.250 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1501	Dead	2	Thymus	Black patch/zone, multiple
1502	Dead	2	Urinary bladder	Dilated lumen
1503	Dead	2		Autolysis
1504	Dead	2	Thoracic cavity Thymus	Hydrothorax, transparent Black patch/zone, a few
1505	Dead	2	Thoracic cavity Thymus	Hydrothorax, transparent Black patch/zone, multiple

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female      Dose level : 512 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2101	Sacrificed	14		Normal
2102	Sacrificed	14		Normal
2103	Sacrificed	14		Normal
2104	Sacrificed	14		Normal
2105	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Exp. No. 2259 (115-019)

Sex : Female Dose level : 640 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2201	Sacrificed	14		Normal
2202	Sacrificed	14		Normal
2203	Dead	1	Thymus	Black patch/zone, multiple
2204	Sacrificed	14	Thymus	Black patch/zone, multiple
2205	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Exp.No. 2259 (115-019)

Sex : Female Dose level : 800 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2301	Dead	2	Heart	Autolysis Black patch/zone, multiple
2302	Sacrificed	14		Normal
2303	Dead	1	Thymus Small intestine	Black patch/zone, multiple Red patch/zone, multiple
2304	Dead	2	Thoracic cavity	Hydrothorax, transparent
2305	Dead	1		Autolysis

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female    Dose level : 1,000 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2401	Dead	1	Thymus	Autolysis Black patch/zone, multiple
2402	Dead	2	Thoracic cavity Thymus Heart	Autolysis Hydrothorax, transparent Black patch/zone, multiple Black patch/zone, multiple
2403	Dead	2	Thoracic cavity	Hydrothorax, transparent
2404	Dead	2	Thoracic cavity Thymus	Autolysis Hydrothorax, transparent Black patch/zone, multiple
2405	Dead	2		Normal



Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female    Dose level : 1,250 (mg/kg)

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2501	Dead	2	Thymus	Black patch/zone, multiple
2502	Dead	1		Autolysis
2503	Dead	1	Thymus	Autolysis Black patch/zone, multiple
2504	Dead	2	Thoracic cavity Thymus	Autolysis Hydrothorax, reddish, transparent Black patch/zone, multiple
2505	Dead	2		Normal