

2003年 9月30日

4-エチルモルホリンのラットを用いる 急性経口投与毒性試験

厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

【目 次】

要 約.....	1
試験目的	2
材料および方法	3
1. 被験物質	3
2. 使用動物および飼育条件.....	3
3. 群分けおよび個体識別	4
4. 投与検体の調製.....	4
5. 投与量、群構成および投与方法	5
6. 観察方法	5
7. データの解析	6
結 果.....	7
1. 死亡の発生状況.....	7
2. 一般状態	7
3. 体重推移	7
4. 病理学検査	7
考 察.....	8
文 献.....	9

Figs. 1~2

Tables 1~4

【要 約】

Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットの雌雄 (各 5 匹/群) に、4-エチルモルホリンの 500、1000、1500 および 2000 mg/kg を単回経口投与し (観察第 1 日)、観察第 15 日まで生死および一般状態を観察した。

観察第 1 日から第 2 日にかけて、雄では、1500 および 2000 mg/kg 投与群のそれぞれ 5 例中 1 および 3 例が死亡し、雌では、1000 および 2000 mg/kg 投与群のそれぞれ 5 例中 1 および 2 例が死亡した。

一般状態の観察では、1000 mg/kg 以上の投与群で、投与直後から間代性ないし強直性痙攣が観察され、その後、すみやかに活動性が低下した。生存例では、一部の動物で観察第 2 日に排便量の減少が観察されたが、観察第 3 日には回復した。

観察第 2 日に雌雄ともに 1500 mg/kg 以上の投与群で、体重減少または増加抑制が認められたが、観察第 4 日以降は順調に増加した。

剖検時には、死亡例では腺胃粘膜の浮腫ならびに赤色部が観察されたが、生存動物では、肉眼的異常は観察されなかった。

以上の結果から、本試験条件下での LD₅₀ 値は、雄で 1500~2000 mg/kg の間、雌で 2000 mg/kg 付近と推定された。

【試験目的】

OECD による既存化学物質の安全性点検に係わる毒性調査事業の一環として、4-エチルモルホリンのラットを用いる急性経口投与毒性試験を実施したので、その結果を報告する。

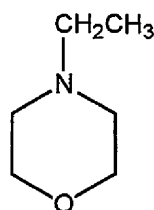
本試験は、OECD 化学物質試験法ガイドライン「[401]急性経口毒性試験」(1987年2月24日採択)および「化学物質 GLP」(平成12年3月1日改正、環保安第41号、生衛発第268号、平成12・02・14 基局第1号)に準拠して実施した。

【材料および方法】

1. 被験物質

4-エチルモルホリン（英名 Morpholine, 4-ethyl-、略称 EM）は、別名 *N*-エチルモルホリン、CAS No. 100-74-3、分子量 115.18、分子式 $C_6H_{13}NO$ 、凝固点 $-70^{\circ}C$ 以下、沸点 $138.3^{\circ}C$ (760 mmHg)、比重 0.914 (20/ $20^{\circ}C$)、蒸気圧 6 mmHg ($20^{\circ}C$) のアンモニア臭を有する無色の液体である（構造式については下図参照）。本試験には、ロット番号 純度 99 wt%以上、不純物として水分を 0.05 wt%含む被験物質を、 から 提供され、使用した。受領した被験物質は窒素充填し、使用時まで密閉して冷暗所（冷蔵庫内）保管した。なお、動物試験終了後、被験物質を返却し、 にて品質試験を再度実施して、試験期間中の安定性を確認した（Appendix A）。

<構造式>



2. 使用動物および飼育条件

4 週齢の Sprague-Dawley (SD) 系 [Crj:CD(SD)IGS、SPF] 雌雄ラット（日本チャールス・リバー(株)、厚木飼育センター生産）を購入し、入荷日を含む 8 日間、検疫と馴化を兼ねて飼育した。試験には、検疫・馴化期間中、外観および一般状態に異常が認められなかった動物を使用した（注 1）。動物は、許容温湿度各 $21.0\sim 25.0^{\circ}C$ および $40.0\sim 75.0\%$ 、換気回数約 15 回/時間、照明 12 時間（7 時～19 時点灯）に制御された飼育室で、金属製金網床ケージ（220w×270d×190h mm）に個別に収容して飼育し、飲料水（水道水、秦野市水道局給水）を自由に摂取させた。固型飼料（CE-2、日本クレア(株)）は、投与前日の 16 時以降、投与後 3 時間までの絶食時間以外は、自由に摂取させた。飼育期間中、飼育室の温度は許容範囲内であったが、湿度は湿式清掃によると考えられる一時的な上昇がみられた（注 2）。

(注 1) 動物入荷日： 2002 年 7 月 15 日 入荷匹数：雄 24 匹、雌 24 匹
入荷時体重： 雄 74.3～84.8 g (平均 79.4 g)
雌 65.3～74.7 g (平均 69.9 g)

投与日： 2002 年 7 月 23 日 使用動物数：雄 20 匹、雌 20 匹
投与時体重： 雄 120.4～141.4 g (平均 128.8 g)
雌 103.3～113.4 g (平均 108.6 g)

(注 2) 動物飼育期間中における温湿度の実測値
温度 $22.5\sim 24.5^{\circ}C$ 相対湿度：51.5～77.5%

使用した飼料および水道水の分析結果では、試験に支障を来す可能性のある混入物はなかった。

3. 群分けおよび個体識別

群分けは、投与前日（2002年7月22日）に雌雄とも、検疫終了時の測定体重をもとに体重別層化無作為抽出法により行った。群分けした動物には一連の動物番号を割り当て、フェルトペンで尾に動物番号を標識して個体を識別した。また、飼育ケージには、群ごとに色彩の異なった動物カードを掛け、これに試験計画番号、性別、群（投与量）および動物番号を記入して識別した。

4. 投与検体の調製

投与検体は、被験物質を秤量して、日局注射用水（製造元 光製薬㈱、製造番号 A106AA）を加えて、最高濃度液（20 w/v%）を調製してから、日局注射用水で段階希釈して、各濃度（15、10および5 w/v%）の投与検体を調製した。

投与検体の安定性については、投与に先立ち、0.1 および 20 w/v%の調製検体について、冷蔵、遮光条件下における8日間の安定性を確認した（Appendix B）。また、投与前日に調製した投与検体については、各濃度の投与検体に含まれる被験物質の含量を測定し、所定量のEMが含まれていることを確認した（Appendix C）。なお、投与検体は溶液なので均一性試験は実施しなかった。

調製検体中の濃度測定法は、以下の通りに実施した。各調製検体の1 mL を採取し、メタノールで一定量とした後、メタノールで適宜希釈して、試料溶液を調製した。別に、被験物質を必要量秤量し、メタノールに溶解して標準溶液（5~100 µg/mL）を調製した。試料溶液および標準溶液をガスクロマトグラフ（GC）法により測定して、標準溶液から作成した検量線を用いて濃度を求めた。

GC条件

分析カラム： Pora PLOT Q
（内径 0.53 mm、長さ 10 m、膜厚 20 µm、CHROMPACK）
昇温条件： 50°C（1分間）→15°C/分→250°C
キャリアーガス： ヘリウム、約 12 cm/sec
水素： 60 kPa
空気： 50 kPa
注入口温度： 250°C
検出器温度： 250°C
試料注入量： 1 µL

5. 投与量、群構成および投与方法

本試験の投与量は、4-エチルモルホリンのラットを用いる急性経口投与毒性試験予備試験（試験計画番号 A-01-070）の結果に基づいて決定した。すなわち、文献検索の結果、被験物質のラット経口投与時の 50%致死量は 1780 mg/kg であった¹⁾ことから、本試験に使用するのと同系統および同週齢の雌雄ラット各 2 匹に、絶食下で 1000、1500、および 2000 mg/kg を単回投与し（観察第 1 日）、観察第 8 日まで生死および一般状態を観察し、体重を測定した。その結果、1000 mg/kg 投与群の雌 1 例を除く全例で、投与後約 5 分に間代性ないし強直性痙攣が観察され、投与後約 2 時間までに 2000 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例が死亡して、生存全例で活動性の低下が観察された。2000 mg/kg 投与群は、投与翌日までに全例が死亡した。また、生存例では、1500 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌全例で排便量の減少および体重増加抑制が認められたが、一般状態は観察第 3 日に回復し、体重は観察第 4 日以降、順調に増加した。これらのことから、本試験では、高用量には 2000 mg/kg を設定し、以下、1500、1000 および 500 mg/kg を設定した。

投与経路は経口とし、動物をあらかじめ約 18 時間絶食させた後、ラット用胃管を用いて強制的に単回投与した。投与容量は 10 mL/kg とし、投与直前の体重をもとに個体別に投与液量を算出した。

各群の投与物質、投与量、濃度、投与容量および動物番号は以下の通りである。

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	濃度 (w/v%)	投与容量 (mL/kg)	動物番号	
					雄	雌
1	EM	500	5	10	1～5	21～25
2	EM	1000	10	10	6～10	26～30
3	EM	1500	15	10	11～15	31～35
4	EM	2000	20	10	16～20	36～40

6. 観察方法

1) 一般状態の観察

全例について、投与日（観察第 1 日）は投与後約 1 時間にわたり継続的に観察し、その後は約 1 時間毎に投与後 6 時間まで観察した。観察第 2 日以降は、毎日 1 回観察した。

2) 体重測定

全例について、投与日の投与直前、観察第 2、4、8、11 および 15 日に測定したほか、死亡例については死亡発見時に測定した。

3) 病理学検査

死亡例は発見後速やかに剖検した。生存例については、観察第 15 日にペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血・致死させてから剖検し、脳、下垂体、眼球、甲状腺、心臓、気管、

肺、肝臓、腎臓、胸腺、脾臓、副腎、消化管、生殖器、乳腺、膀胱、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、大腿骨骨髓、膵臓、顎下腺、舌、食道、大動脈、ハーダー腺、皮膚および病変部の肉眼的観察を実施した。また、死亡例の全例、ならびに生存例のうち各群で動物番号の若い雌雄のそれぞれ1例ずつについて、主要器官・組織（脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、消化管）を0.1 M リン酸緩衝10%ホルマリン溶液に固定保存した。なお、固定保存器官の組織学検査は実施しなかった。

7. データの解析

体重については、各群の平均値および標準偏差値を雌雄別に算出した。

【結 果】

1. 死亡の発生状況 (Table 1)

1000 mg/kg 投与群の雌 1 例、1500 mg/kg 投与群の雄 1 例、2000 mg/kg 投与群の雄 3 例および雌 2 例が投与後 1 時間から観察第 2 日までに死亡した。500 mg/kg 投与群では、死亡例は認められなかった。

2. 一般状態 (Tables 2-1~2-3)

500 mg/kg 投与群では、雌雄とも一般状態に異常は認められなかった。1000 mg/kg 以上の投与群では、1000 mg/kg 投与群の雌 1 例を除く全例で、投与後約 5 分から間代性ないし強直性痙攣が観察され、その後、腹臥、自発運動減少、振戦、流涎、閉眼および歩行異常が投与後 6 時間までに観察された。投与翌日には、1500 mg/kg 投与群の雄 1 例および雌 2 例、2000 mg/kg 投与群の雌 3 例で排便量の減少が観察されたが、投与日にみられた症状はいずれも消失し、観察第 3 日以降には、異常は認められなかった。

3. 体重推移 (Figs. 1~2, Tables 3-1~3-2)

雌雄ともに 1500 mg/kg 以上の投与群で、観察第 2 日に体重減少ないし体重増加抑制が認められたが、観察第 4 日以降はいずれも順調な体重増加を示した。

4. 病理学検査 (Tables 4-1~4-2)

死亡した雄 4 例、雌 3 例では、腺胃粘膜の浮腫様肥厚が雄 2 例、雌 3 例、腺胃粘膜の赤色部が全例に観察されたが、その他の器官には肉眼的異常は認められなかった。観察 15 日に剖検した動物には、雌雄とも肉眼的異常は観察されなかった。

【考 察】

死亡動物は、1000 mg/kg 投与群で雌 1 例、1500 mg/kg 投与群で雄 1 例、2000 mg/kg 投与群で雄 3 例および雌 2 例に認められた。

一般状態の観察では、投与直後に強直または間代性痙攣が観察され、その後すみやかに活動性が低下したことから、これら神経症状の発現は、被験物質の直接的な作用によるものと考えられた。また、死亡例の剖検の結果、ほぼ全例に腺胃粘膜の浮腫様肥厚および腺胃粘膜の赤色部が観察されたことから、本被験物質は粘膜刺激性を有すると推察された。しかし、1000 mg/kg 以上の投与群において、ほぼ全例に重篤な神経症状が発現したものの死亡例は少なく、生存例では投与翌日に排便量の減少が数例観察された以外、異常は認められなかった。また、体重についても、1000 mg/kg 以上の投与群で、減少または増加抑制が投与翌日に認められ、被験物質の影響が示唆されたが、観察第 4 日以降の体重は順調に増加した。

以上のことから、4-エチルモルホリンの 1000~2000 mg/kg の投与量では、投与直後に重篤な痙攣を誘発するが、死亡率は低く、本被験物質の LD₅₀ 値は、雄で 1500~2000 mg/kg の間、雌で 2000 mg/kg 付近と推定された。

【文 献】

1) NIOSH: RTECS , 2001-4: RTECS No.QE4025000 (2001)

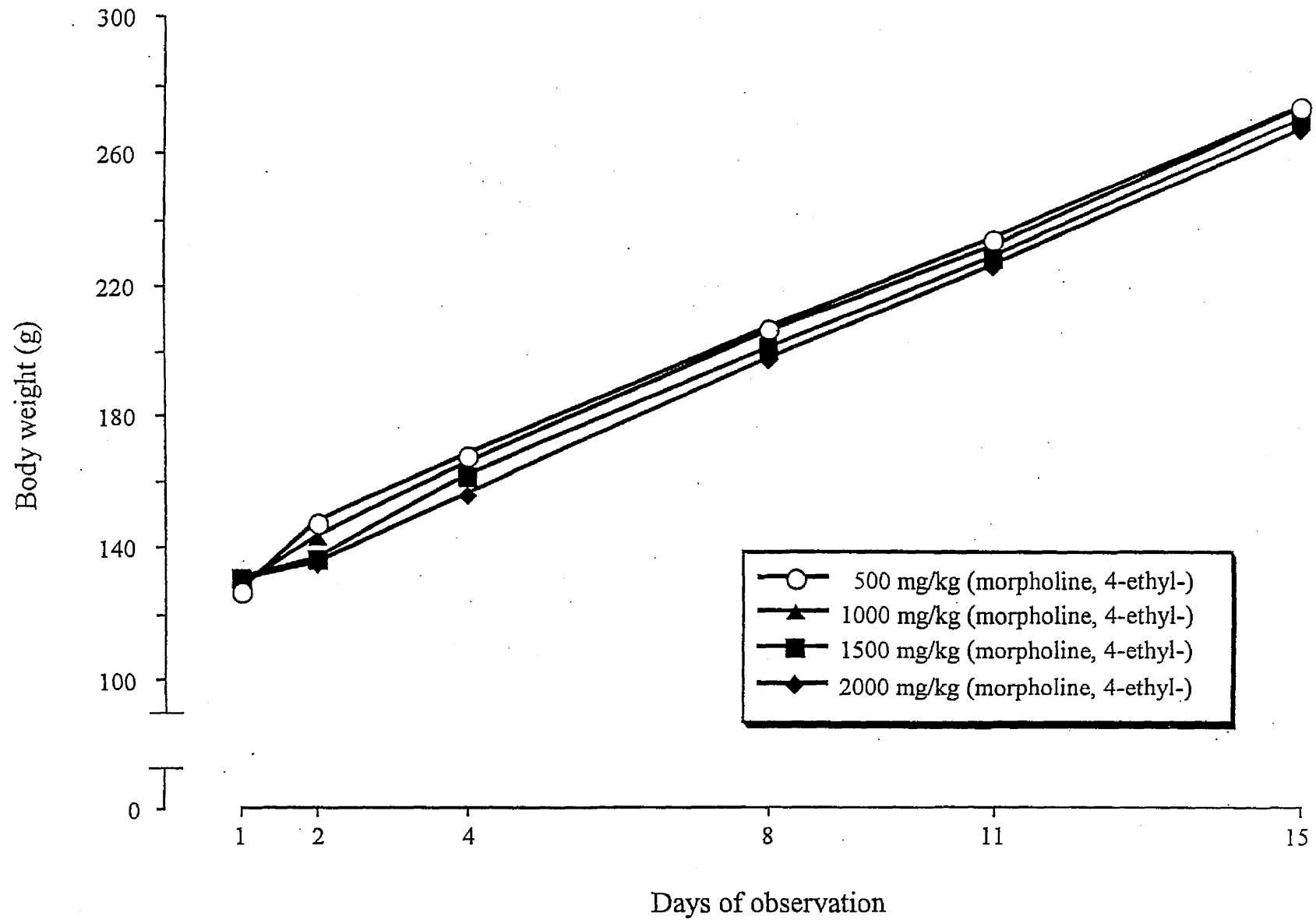


Fig. 1 Body weight changes in males

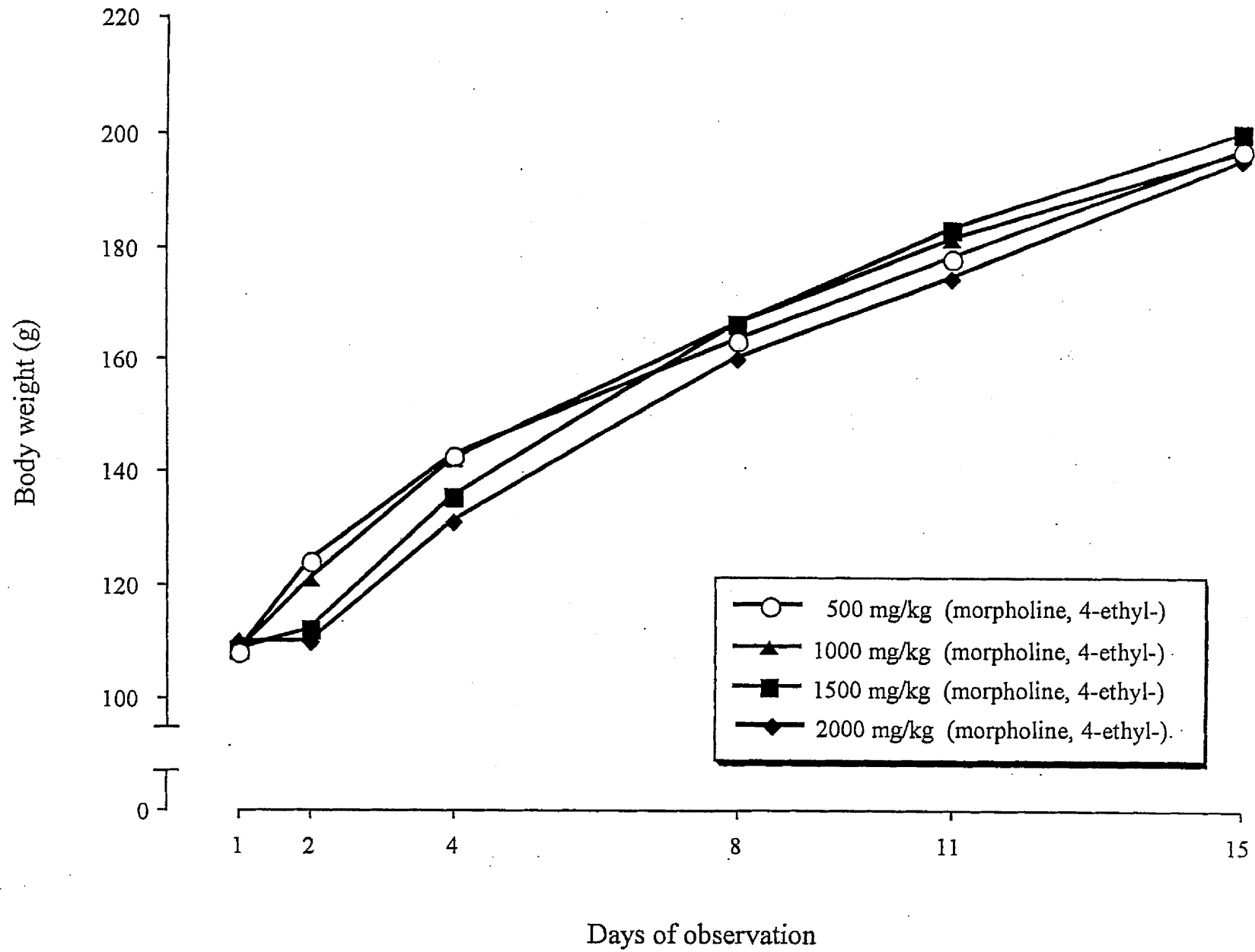


Fig. 2 Body weight changes in females

Table 1

Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats
Mortality of males and females until day 15 of observation

Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals examined	Number of dead animals on day 1 (Hours after administration)						Number of dead animals (Days of observation)						Mortality until day 15 of observation	
			1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	7		8-15
Male	500	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/5
	1000	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/5
	1500	5	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/5
	2000	5	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3/5
Female	500	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/5
	1000	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/5
	1500	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/5
	2000	5	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2/5

Day 1, the day of administration

Table 2-1
 Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats
 Clinical findings in males and females

Sex	Dose (mg/kg)	Clinical findings	Number of animals ^{a)} with clinical findings											Total			
			Hours after administration						Days of observation								
			1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6		7	8-15	
	500	No abnormality															
Male	1000	Tonic convulsion	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
		Prone position	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
		Decrease in locomotor activity	4	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
		Eyelid closure	5	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
	1500	Tonic convulsion	5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
		Clonic convulsion	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
		Prone position	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
		Decrease in locomotor activity	5	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
		Eyelid closure	5	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
		Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	2000	Tonic convulsion	5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
		Clonic convulsion	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
		Tremor	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
		Prone position	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Decrease in locomotor activity		2	3	2	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	3	
Eyelid closure		5	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
	500	No abnormality															
Female	1000	Tonic convulsion	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	
		Clonic convulsion	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
		Prone position	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	
		Salivation	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
		Decrease in locomotor activity	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
		Eyelid closure	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	
	1500	Tonic convulsion	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
		Clonic convulsion	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
		Tremor	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	
		Salivation	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
		Prone position	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
		Decrease in locomotor activity	-	2	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
		Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	
	2000	Tonic convulsion	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
Clonic convulsion		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
Tremor		4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
Abnormal gait		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
Salivation		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
Prone position		3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
Decrease in locomotor activity		-	2	2	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	2		
Eyelid closure		-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3		
Decrease of fecal volume		-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3		

Day 1, the day of administration; -, no animal showed the sign
 a), initial number of animals was 5 per group

Table 2-2
Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats
Clinical findings in individual males

Dose (mg/kg)	Animal No.	Clinical findings	Days of observation															
			1						2	3	4	5	6	7	8-15			
			1	2	3	4	5	6								hrs		
500	1~5	No abnormality																
1000	6	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	Decrease in locomotor activity	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1500	11	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	Tonic convulsion	+	-	+	D												
		Clonic convulsion	-	-	+													
		Prone position	+	-	-													
		Decrease in locomotor activity	+	+	-													
		Eyelid closure	+	-	-													
2000	16	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	17	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	D								
		Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-									
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-									
		Decrease in locomotor activity	-	+	+	+	+	+	+									
		Eyelid closure	+	-	+	-	-	-	-									
	18	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	19	Tonic convulsion	+	-	+	D												
		Clonic convulsion	+	-	+													
		Tremor	+	+	-													
		Prone position	+	+	-													
		Eyelid closure	+	+	-													
	20	Tonic convulsion	+															
		Clonic convulsion	+															
		Tremor	+															
		Prone position	+															
		Eyelid closure	+															

Day 1, the day of administration; -, not observed; +, observed; D, death

Table 2-3
 Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats
 Clinical findings in individual females

Dose (mg/kg)	Animal No.	Clinical findings	Days of observation												
			1						2	3	4	5	6	7	8-15
			1	2	3	4	5	6							
500	21~25	No abnormality													
1000	26	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	27	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prona position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	28	Tonic convulsion	+												
		Prone position	+												
29	Prone position		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	No abnormality														
1500	31	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Tremor	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	32	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in locomotor activity	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	33	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Tremor	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	34	Tonic convulsion		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2000	36	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Tremor	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Decrease in locomotor activity	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		Eyelid closure	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	37	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Tremor	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Salivation	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Prona position	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Eyelid closure		-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
38	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-		
39	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Tremor	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Abnormal gait	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Decrease in locomotor activity	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
	Eyelid closure	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Decrease of fecal volume	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-		
40	Tonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Clonic convulsion	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Tremor	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Prone position	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Day 1, the day of administration: -, not observed; +, observed; D, death

Table 3-1
 Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats
 Body weight changes in males (g)

Dose (mg/kg)	Animal No.	Days of observation					
		1	2	4	8	11	15
500	1	122.5	141.5	160.5	201.0	229.8	275.6
	2	133.8	155.4	177.5	221.7	248.8	291.2
	3	126.2	147.1	164.8	198.4	224.8	263.8
	4	120.4	137.8	156.9	195.6	219.6	257.9
	5	131.8	153.3	175.9	217.1	246.9	283.0
	Mean ±S.D.		126.9 5.8	147.0 7.5	167.1 9.2	206.8 11.8	234.0 13.2
1000	6	127.4	145.9	160.2	202.4	224.7	268.1
	7	125.0	137.0	160.1	196.2	221.8	257.1
	8	135.9	153.4	180.6	228.0	257.0	305.6
	9	126.2	139.9	163.5	199.9	224.8	263.4
	10	125.2	137.0	160.9	199.8	228.8	271.2
	Mean ±S.D.		127.9 4.6	142.6 7.0	165.1 8.8	205.3 12.9	231.4 14.5
1500	11	131.6	127.7	154.4	194.9	219.0	256.9
	12	126.1	131.5	156.6	191.1	216.4	251.2
	13	124.9	128.6	154.0	194.9	224.4	271.4
	14	138.8	157.7	180.1	221.4	252.4	302.1
	15	130.8	Died				
	Mean ±S.D.		130.4 5.5	136.4 14.3	161.3 12.6	200.6 14.0	228.1 16.6
2000	16	123.8	127.2	147.3	183.5	205.3	240.1
	17	129.1	Died				
	18	131.4	143.2	163.0	211.4	245.8	294.4
	19	123.1	Died				
	20	141.4	Died				
	Mean ±S.D.		129.8 7.4	135.2 11.3	155.2 11.1	197.5 19.7	225.6 28.6

Day 1, the day of administration

Table 3-2
 Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats
 Body weight changes in females (g)

Dose (mg/kg)	Animal No.	Days of observation					
		1	2	4	8	11	15
500	21	113.0	129.8	151.4	167.2	178.1	193.3
	22	105.9	121.7	139.8	160.4	174.8	197.1
	23	103.6	119.5	134.5	153.2	163.0	174.2
	24	111.4	128.1	147.6	173.6	193.1	219.2
	25	107.2	120.5	140.3	162.6	182.2	204.1
	Mean	108.2	123.9	142.7	163.4	178.2	197.6
	±S.D.	3.9	4.7	6.7	7.6	11.0	16.4
1000	26	103.3	117.0	137.0	157.4	172.4	190.0
	27	112.9	130.6	152.9	186.2	209.5	222.4
	28	106.3	Died				
	29	106.2	116.8	137.6	160.3	171.9	188.8
	30	111.5	119.2	140.4	160.7	171.2	186.9
	Mean	108.0	120.9	142.0	166.2	181.3	197.0
	±S.D.	4.0	6.6	7.4	13.4	18.8	17.0
1500	31	105.8	107.9	132.8	158.5	171.4	195.9
	32	107.8	111.5	129.5	163.9	181.6	196.4
	33	109.1	112.0	137.8	166.1	177.3	191.8
	34	109.2	114.9	140.5	168.2	188.6	204.5
	35	109.5	113.3	136.1	173.9	197.9	213.8
	Mean	108.3	111.9	135.3	166.1	183.4	200.5
	±S.D.	1.5	2.6	4.3	5.7	10.3	8.8
2000	36	113.4	110.8	129.1	162.7	173.6	197.3
	37	109.4	Died				
	38	107.7	104.7	131.5	157.4	177.2	199.5
	39	111.9	114.3	131.7	160.0	172.8	190.7
	40	106.3	Died				
	Mean	109.7	109.9	130.8	160.0	174.5	195.8
	±S.D.	2.9	4.9	1.4	2.7	2.3	4.6

Day 1, the day of administration

Table 4-1
 Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats
 Macroscopic findings in dead animals during the observation period

Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	Macroscopic findings
Male	1500	15	(Glandular stomach) Area, red, mucosa
		17	(Glandular stomach) Area, red, mucosa
	2000	19	(Glandular stomach) Thickening, mucosa, edematous Area, red, mucosa
		20	(Glandular stomach) Thickening, mucosa, edematous Area, red, mucosa
Female	1000	28	(Glandular stomach) Thickening, mucosa, edematous Area, red, mucosa
	2000	37	(Glandular stomach) Thickening, mucosa, edematous Area, red, mucosa
		40	(Glandular stomach) Thickening, mucosa, edematous Area, red, mucosa

Table 4-2

Acute oral toxicity test of morpholine, 4-ethyl- in rats

Macroscopic findings in males and females at the end of the observation period

Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	Macroscopic findings
Male	500	1	No abnormality
		2	No abnormality
		3	No abnormality
		4	No abnormality
		5	No abnormality
	1000	6	No abnormality
		7	No abnormality
		8	No abnormality
		9	No abnormality
		10	No abnormality
	1500	11	No abnormality
		12	No abnormality
		13	No abnormality
		14	No abnormality
	2000	16	No abnormality
18		No abnormality	
Female	500	21	No abnormality
		22	No abnormality
		23	No abnormality
		24	No abnormality
		25	No abnormality
	1000	26	No abnormality
		27	No abnormality
		29	No abnormality
		30	No abnormality
	1500	31	No abnormality
		32	No abnormality
		33	No abnormality
		34	No abnormality
		35	No abnormality
	2000	36	No abnormality
38		No abnormality	
39		No abnormality	