3－メトキシベンゼナミン（CAS No.536903）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．試験物質および媒体 …… 2

2．投与検体および濃度確認 …… 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

試験実施日 …… 6

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 …… 8

4．病理組織学的検査 …… 8

考　察 …… 8

Table (1～12) …… 11

Fig.(1～4) …… 23

要　　約

3-メトキシベンゼナミン（CAS No.536903）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、コーンオイルを媒体とした場合には200、300、500、800、1300および2000mg/kg、蒸留水を媒体とした場合には200および300mg/kgとした。対照として、それぞれの媒体投与群を設けた。

１．一般状態および死亡状況：

媒体がコーンオイルの場合には、500mg/kg以上の投与群で投与後５～30分からよろめき歩行、流涎、流涙などを、その後腹臥、表皮温下降、呼吸緩徐、チアノーゼ、自発運動減少、うずくまりなどの症状を示し、2000mg/kg群の雌雄各１例は投与後６時間に、2000mg/kg群の雌雄各４例、1300および800mg/kg群の雌雄各５例および500mg/kg群の雌１例は投与後１日に、500mg/kg群の雄１例は投与後２日に死亡した。300mg/kg群および500mg/kg群では、投与後１日に下腹部（生殖器周囲）の汚れ、褐色尿が投与後３日まで、また500mg/kg群ではチアノーゼが投与後５日まで継続したが、以降には異常症状はみられなかった。

媒体が蒸留水の場合には、各投与群で投与直後～20分から腹臥、呼吸緩徐、流涎、流涙、よろめき歩行などが、その後自発運動減少、表皮温下降などがみられた。投与後１日には下腹部（生殖器周囲）の汚れ、褐色尿が観察されたが、投与後２日以降には異常症状はみられなかった。

２．LD_{50}（95%信頼限界）値

媒体がコーンオイルの場合は、雌雄とも526（385～686）mg/kgであった。

また、媒体が蒸留水の場合は雌雄とも300mg/kg以上であった。

３．体重推移：

媒体にコーンオイルを用いた場合は、500mg/kg群で投与７日頃までは体重増加抑制がみられ、投与後３日には雌雄とも有意差が認められた。投与後14日の体重は、各群とも対照群とほぼ同程度であった。

媒体に蒸留水を用いた場合は、各群とも対照群とほぼ同様の推移を示した。

４．剖検所見：

死亡例のほぼ全例で肺の暗赤色化がみられた。また、800mg/kg群と1300mg/kg群の多くの例で淡黄色の胸水貯留が観察された。投与後２日に死亡した500mg/kg群の雄１例の肺の病理組織学的検査では、ごく軽度の水腫がみられた。

一般状態、剖検所見および病理組織学的検査などから、死亡原因は循環障害と思われた。

緒　　言

3-メトキシベンゼナミン（CAS No.536903）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、3-メトキシベンゼナミンを雌雄ラットに１回経口投与し、その毒性について検討した。

試験材料および試験方法

１．被験物質および媒体

被験物質である3-メトキシベンゼナミン（CAS No.536903）は、融点0℃、沸点251℃、比重1.10で水に約20g/l溶解する黄褐色の液体である。当試験には、平成３年７月12日に　　から提供されたものを用いた（Lot No.　　純度98%以上）。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冷蔵下で保管した。なお、投与終了後に残余被験物質の一部を販売源に送付して分析した結果、純度は98.4%であり、保管期間中の安定が確認された。

媒体として、コーンオイルおよび注射用蒸留水を用いた。コーンオイル（Lot No.6144、片山化学工業株式会社）は平成３年６月14日に、注射用蒸留水（大塚蒸留水、Lot No.0D85N、株式会社大塚製薬工場、使用期限：1995年３月）は平成２年12月25日にそれぞれ購入し、入手後は試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温で保管した。

２．投与検体および濃度確認

被験物質を秤取し、コーンオイルあるいは蒸留水に溶解して必要濃度の投与検体を用時調製した。なお、被験物質は純度換算しないで、投与量は原体重量で表示した。投与後の残余検体は廃棄した。

投与に用いた各投与検体液中の被験物質濃度を、試験施設内で高速液体クロマトグラフィーにより測定した。その結果、被験物質濃度は媒体がコーンオイルの場合には表示濃度の96.9～100.1%、媒体が蒸留水の場合には表示濃度の98.1～101.6%であり、濃度に問題はなかった（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［Crj:CD(SD)］を用いた。動物は、平成３年９月４日に日本チャールス・リバー株式会社から４週齢で雌雄各73匹を購入した。入手後２日の体重範囲は、雄が84～106g、雌が78～95g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２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、動物の体重変動範囲は、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、投与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℃、湿度40～70%、明暗各12時間（蛍光灯による照明：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（Ｃ棟６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:240xD:380xH:200mm）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:755xD:210xH:170mm）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、ケージおよび給餌器の交換は２週間に１回以上行った。なお、動物飼育室の清掃（床の拭き掃除）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（午後３時45分）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。使用した飼料中の微

量金属および汚染物質の分析結果は、財団法人日本食品分析センターで実施した成績を、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り、問題はないと思われた。

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

3-メトキシベンゼナミンは、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ポーザブル注射筒を用いて、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、媒体がコーンオイルの場合は10ml/kgで、媒体が蒸留水の場合は20ml/kgで算出した。投与時刻は午前10時22分～10時56分の間で、投与回数は1回とした。

投与開始時の体重範囲は、雄が117～128g、雌が101～110g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（ｺｰﾝｵｲﾙ）	0mg/kg	(0 %)	5 (001～005)	5 (051～055)
第2群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	200mg/kg	(2 %)	5 (101～105)	5 (151～155)
第3群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	300mg/kg	(3 %)	5 (201～205)	5 (251～255)
第4群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	500mg/kg	(5 %)	5 (301～305)	5 (351～355)
第5群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	800mg/kg	(8 %)	5 (401～405)	5 (451～455)
第6群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	1300mg/kg	(13 %)	5 (501～505)	5 (551～555)
第7群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	2000mg/kg	(20 %)	5 (601～605)	5 (651～655)
第8群	対照（蒸留水）	0mg/kg	(0 %)	5 (701～705)	5 (751～755)
第9群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	200mg/kg	(1 %)	5 (801～805)	5 (851～855)
第10群	3-ﾒﾄｷｼﾍﾞﾝｾﾞﾅﾐﾝ	300mg/kg	(1.5%)	5 (901～905)	5 (951～955)

投与量設定の理由：予備試験（投与段階；コーンオイルを媒体とした場合：2000、200

および20mg/kg、蒸留水を媒体とした場合：200および20mg/kg）の結果、2000mg/kg群で３例中３例が死亡したが、200mg/kg以下の群ではいずれの媒体の場合も死亡例はみられなかった。そこで、当試験の投与量はコーンオイルを媒体として2000mg/kgを最高用量とし、以下公比約1.6により1300、800、500、300および200mg/kg群を設定した。また、蒸留水を媒体として300および200mg/kg群を設定した。なお、対照として同一液量のそれぞれの媒体を投与する群を設けた。

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ならびに14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。剖検で異常が認められた肺およびその比較対照となる対照群の肺は、代表例について写真を撮影した後、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の内、剖検で肺の異常がみられた500mg/kg群の雄１例および対照群の代表例の肺について、常法に従ってパラフィン包埋後にH-E染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

６．統計学的方法

(1) LD_{50}値

観察期間中の死亡率から、Behrens-Kärber法によりLD_{50}値およびその95%信頼限界値を算出した。

(2) 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投与各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（例数が等しい場合）またはScheffé法（例数が等しくない場合）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)、Table 2 (Appendix:2-1～2-7)、Table 3 (Appendix:3-1～3-6) に示した。

媒体がコーンオイルの場合：

対照群では、雌雄とも観察期間中に異常症状は観察されなかった。

200mg/kg群では、雌の1例で投与後1日に下腹部（生殖器周囲）の汚れがみられたが、

投与後２日以降には雌雄のいずれの例とも異常症状は観察されなかった。

300mg/kg群では、投与後約30分に雌雄各３例で流涎がみられたが、投与後２時間には消失した。投与後１日には雌の全例で下腹部（生殖器周囲）の汚れおよび褐色尿が観察されたが、投与後２日以降には雌雄のいずれの例とも異常症状は観察されなかった。

500mg/kg群では、雌の１例で投与後約25分に流涎が（投与後２時間には消失）、投与後約４時間には自発運動減少がみられた（投与後６時間には消失）。投与後１日には雌の１例が死亡しており、その他の例では自発運動減少、チアノーゼ、褐色尿、下腹部（生殖器周囲）の汚れなどが観察された。雄でも、チアノーゼ、褐色尿などがみられた。なお、投与後１日の観察時に自発運動減少、強直性痙攣、チアノーゼ、褐色尿がみられた１例は、投与後２日に死亡した。褐色尿は投与後２～３日まで、チアノーゼは投与後５日まで継続したが、投与後６日以降にはいずれの例とも異常症状は観察されなかった。

800mg/kg以上の群では、投与後約５～30分からよろめき歩行、流涎、流涙、自発運動減少などが、投与後約２時間以降には腹臥、表皮温下降、呼吸緩徐、チアノーゼ、うずくまりなどの症状がみられた。投与後約６時間に、2000mg/kg群の雌雄各１例が死亡した。投与後１日には、その他の全例が死亡した。

死亡状況をTable 4に示した。

LD_{50}値およびその95%信頼限界値は、雌雄とも526（385～686）mg/kgであった。

<u>媒体が蒸留水の場合</u>：

対照群では、いずれの例とも異常症状は観察されなかった。

200mg/kg群では、投与後約15分からよろめき歩行、流涎、流涙などがみられたが、投与後２時間には雄の１例で自発運動減少がみられたのみで、その他の症状は消失した。投与後１日には雌の２例で下腹部（生殖器周囲）の汚れがみられたが、投与後２日以降には雌雄のいずれの例とも異常症状は観察されなかった。

300mg/kg群では、投与直後から腹臥、呼吸緩徐が、投与後約５～20分から流涎、よろめき歩行などがみられたが、投与後２時間には消失した。投与後２時間以降には自発運動減少および表皮温下降がみられ、自発運動減少は投与後６時間でも継続していた。投与後１日には、雌で下腹部（生殖器周囲）の汚れと褐色尿がみられたが、投与後２日以降には雌雄のいずれの例とも異常症状は観察されなかった。

死亡状況をTable 5に示した。

雌雄とも最高投与量群で死亡はみられず、LD_{50}値は300mg/kg以上であった。

２．体重推移

体重推移をTable 6（Appendix:4-1～4-7）、Table 7（Appendix:5-1～5-7）、Table 8（Appendix:6-1～6-3）、Table 9（Appendix:7-1～7-3）およびFig.1～Fig.4に示した。

コーンオイルを媒体とした場合：

雌雄とも500mg/kg群で投与後７日頃までは体重増加抑制がみられ、投与後３日の体重は対照群に比して有意差が認められた。剖検時の体重は、雌雄の各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。なお、投与後２日に死亡した500mg/kg群の雄の投与後１日の体重は、投与時とほとんど変化がなかった。

蒸留水を媒体とした場合：雌雄各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示し、有意差は認められなかった。

３．剖検所見

剖検所見をTable 10およびTable 11に示した。

死亡例では、ほぼ全例で肺の暗赤色化がみられた。また、淡黄色の胸水貯留が500mg/kg群の雌１例、800mg/kgおよび1300mg/kg群で雌雄の３～５例、2000mg/kg群の雄１例にみられた。

生存例では、著変はみられなかった。

４．病理組織学的検査

病理組織学的検査成績を、Table 12に示した。

投与後２日に死亡した500mg/kg群の雄の肺では、ごく軽度の水腫がみられた。

考　　察

3-メトキシベンゼナミンの、雌雄ラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験を実施した。当被験物質は水にやや溶けやすいため、コーンオイルを媒体とした群（200、300、500、800、1300、2000mg/kg）の他に蒸留水を媒体とした群（200、300mg/kg）を設けた。

死亡例は、コーンオイルを媒体とした場合の500mg/kg以上の群でみられた。死亡発現は、2000mg/kg群の雌雄各１例では投与後約６時間であった。一方、2000mg/kg群のその他の例、1300および800mg/kg群の雌雄ならびに500mg/kg群の雌１例では投与後１日であった。500mg/kg群の雄１例のみ、投与後２日の死亡であった。当例では、投与後１日に体重増加はほとんどなかった。死亡例では、死亡までに当初よろめき歩行、流涎、稀に流涙が、その後腹臥、表皮温下降、呼吸緩徐、チアノーゼなどの症状がみられた。剖検では、ほぼ全

例で肺の暗赤色化がみられたことから、死亡原因は循環障害によるものと思われた。また、剖検では800および1300mg/kg群で胸水貯留例が多くみられ、2000mg/kg群では少なかったが、死亡発現状況から2000mg/kg群の死亡時間が他の群に比して短いことが予想されるため、死亡に至るまでの時間の差による影響と考えられた。媒体による差は、同量投与群間で比較した場合、コーンオイルに比して蒸留水の方が異常症状が多くみられ、また発現時間が短かったことから、水溶液の方が吸収率が高く、代謝・排泄時間が早いことが予想された。投与後２～３日までみられた褐色尿は被験物質の排泄に関連した変化で、下腹部（生殖器周囲）の汚れは褐色尿に伴った変化と思われた。異常症状の内のチアノーゼは死亡例がみられた500mg/kg群で投与後５日まで継続し、体重も投与後７日頃までは増加抑制傾向であったが、その後には異常症状は消失し、体重も対照群とほぼ同程度まで増加することから、死亡を免れた後の回復性は良好であると考えられた。

3-メトキシベンゼナミンのLD_{50}値はコーンオイルを媒体とした場合雌雄とも526（95%信頼限界値 385～686）mg/kgであり、雌雄差はないものと思われた。

また、蒸留水を媒体とした場合のLD_{50}値は、雌雄とも300mg/kg以上と考えられた。

Table 1 General sign of male rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Group	Number of animals	General sign	Hours after administration				Days after administration													
			0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control (Corn oil)	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	Normal	2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Salivation(transparency)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Methoxybenzenamine 500 mg/kg	5	Normal	5	5	5	5	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Tonic convulsion	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Cyanosis	0	0	0	0	5	4	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Brown urine	0	0	0	0	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Death	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Methoxybenzenamine 800 mg/kg	5	Decrease in locomotor activity	5	5	5	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation(transparency)	3	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in skin temperature	0	5	5	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Death	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methoxybenzenamine 1300 mg/kg	5	Decrease in locomotor activity	5	5	4	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Staggering gait	3	5	4	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation(transparency)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	0	0	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in skin temperature	0	5	5	3	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradypnea	0	0	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Cyanosis	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Death	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methoxybenzenamine 2000 mg/kg	5	Decrease in locomotor activity	5	3	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Staggering gait	5	3	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation(transparency)	2	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	0	2	4	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in skin temperature	0	5	5	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradypnea	0	2	4	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Cyanosis	0	0	0	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lacrimation(transparency)	0	2	3	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Crouching	0	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Death	0	0	0	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 2 General sign of female rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Group	Number of animals	General sign	Hours after administration				Days after administration													
			0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Control (Corn oil)	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	Normal	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Soil in fur of peri-urinary organ	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	Normal	2	5	5	5	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
		Salivation(transparency)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soil in fur of peri-urinary organ	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Brown urine	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3-Methoxybenzenamine 500 mg/kg		Normal	4	5	4	5	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Decrease in locomotor activity	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Salivation(transparency)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Cyanosis	0	0	0	0	4	4	4	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Brown urine	0	0	0	0	4	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soil in fur of peri-urinary organ	0	0	0	0	3	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
3-Methoxybenzenamine 800 mg/kg	5	Decrease in locomotor activity	5	5	5	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Staggering gait	5	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation(transparency)	3	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in skin temperature	0	5	5	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradypnea	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Death	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methoxybenzenamine 1300 mg/kg	5	Decrease in locomotor activity	5	5	4	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Staggering gait	5	5	4	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation(transparency)	1	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in skin temperature	0	5	5	5	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Cyanosis	0	0	0	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Crouching	0	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Death	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methoxybenzenamine 2000 mg/kg	5	Decrease in locomotor activity	5	2	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Staggering gait	5	2	2	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Salivation(transparency)	3	1	1	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Prone position	0	2	3	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Decrease in skin temperature	0	5	5	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Bradypnea	0	3	3	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Cyanosis	0	0	0	4	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Lacrimation(transparency)	1	1	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Crouching	0	1	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Death	0	0	0	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 3 General sign of male and female rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Sex	Group	Number of animals	General sign	Hours after administration				Days after administration													
				0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Male	Control (Distilled water)	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	Normal	0	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Decrease in locomotor activity	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Staggering gait	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Salivation(transparency)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Lacrimation(transparency)	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	Normal	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Decrease in locomotor activity	0	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Staggering gait	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Salivation(transparency)	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Prone position	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Bradypnea	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Decrease in skin temperature	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	Control (Distilled water)	5	Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	Normal	1	5	5	5	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Staggering gait	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Salivation(transparency)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Soil in fur of peri-urinary organ	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	Normal	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
			Decrease in locomotor activity	0	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Staggering gait	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Salivation(transparency)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Brown urine	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Soil in fur of peri-urinary organ	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			Decrease in skin temperature	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 4 Mortality and LD_{50} value of rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Sex	Group	No.	Hours after administration				Days after administration														Total No. of deaths	LD_{50}[b] (mg/kg)
			0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	Control (Corn oil)	5	0[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	525 (385～686)
	3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3-Methoxybenzenamine 500 mg/kg	5	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	3-Methoxybenzenamine 800 mg/kg	5	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
	3-Methoxybenzenamine 1300 mg/kg	5	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
	3-Methoxybenzenamine 2000 mg/kg	5	0	0	0	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
Female	Control (Corn oil)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	525 (385～686)
	3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3-Methoxybenzenamine 500 mg/kg	5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	3-Methoxybenzenamine 800 mg/kg	5	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
	3-Methoxybenzenamine 1300 mg/kg	5	0	0	0	0	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	
	3-Methoxybenzenamine 2000 mg/kg	5	0	0	0	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	

No. : Number of animals
a) No. of deaths
b) 95% confidence limits

Table 5 Mortality and LD_{50} value of rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Sex	Group	No.	Hours after administration				Days after administration														Total No. of deaths	LD_{50}[b] (mg/kg)
			0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	Control (Distilled water)	5	0[a]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300<
	3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Female	Control (Distilled water)	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	300<
	3-Methoxybenzenamine 200 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	3-Methoxybenzenamine 300 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

No. : Number of animals
a) No. of deaths
b) 95% confidence limits

Table 6 Body weight of male rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Group	Control-C #	3-Methoxybenzenamine					
Dose(mg/kg)	0	200	300	500	800	1300	2000
Number of males	5	5	5	5	5	5	5
Days after administration Day 0	121.6 ± 3.4	121.8 ± 3.1	121.6 ± 3.4	121.0 ± 3.4	122.2 ± 3.3	121.6 ± 3.4	122.4 ± 3.6
1	135.0 ± 6.4	130.6 ± 4.6	129.2 ± 7.3	125.2 ± 4.4	—	—	—
3	157.2 ± 6.3	154.2 ± 5.8	151.8 ± 9.3	139.0 ± 8.9* (4)	—	—	—
7	192.2 ± 6.3	189.2 ± 8.1	190.2 ± 11.1	176.7 ± 4.0 (4)	—	—	—
10	217.4 ± 8.6	215.6 ± 9.7	217.4 ± 14.2	208.7 ± 8.5 (4)	—	—	—
14	249.4 ± 9.1	250.6 ± 10.9	250.0 ± 16.2	243.5 ± 13.8 (4)	—	—	—

Each value shows mean(g) ± S.D..
Figures in parentheses indicate number of animals.
Significantly different from control (corn oil) (*:P<0.05, **:P<0.01)
: Control (Corn oil)

Table 7 Body weight of female rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Group	Control-C #	3-Methoxybenzenamine					
Dose(mg/kg)	0	200	300	500	800	1300	2000
Number of females	5	5	5	5	5	5	5
Days after administration Day 0	105.0 ± 2.5	105.0 ± 2.5	106.0 ± 2.2	106.0 ± 2.9	106.0 ± 2.7	105.8 ± 2.3	105.4 ± 3.3
1	117.6 ± 4.2	114.8 ± 5.1	112.0 ± 6.3	111.7 ± 6.0 (4)	—	—	—
3	135.8 ± 3.6	135.2 ± 4.4	134.2 ± 3.9	119.2 ± 11.3* (4)	—	—	—
7	155.2 ± 6.7	155.4 ± 3.6	154.0 ± 5.5	150.2 ± 8.5 (4)	—	—	—
10	166.8 ± 5.6	165.4 ± 3.9	166.2 ± 7.1	167.0 ± 8.6 (4)	—	—	—
14	181.4 ± 6.6	178.6 ± 4.2	181.0 ± 7.9	181.5 ± 9.8 (4)	—	—	—

Each value shows mean(g) ± S.D..
Figures in parentheses indicate number of animals.
Significantly different from control (corn oil) (*:P<0.05, **:P<0.01)
: Control (Corn oil)

Table 8 Body weight of male rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Group	Control-W #	3-Methoxybenzenamine	
Dose(mg/kg)	0	200	300
Number of males	5	5	5
Days after administration Day 0	121.8 ± 3.4	122.0 ± 3.7	122.2 ± 3.4
1	132.8 ± 5.4	134.6 ± 4.2	133.8 ± 5.2
3	158.0 ± 7.1	155.0 ± 4.1	154.6 ± 6.0
7	192.2 ± 10.0	186.0 ± 7.8	194.4 ± 5.2
10	215.6 ± 10.8	211.6 ± 7.9	225.0 ± 10.4
14	249.2 ± 16.3	243.2 ± 9.1	261.4 ± 9.6

Each value shows mean(g) ± S.D..
: Control (Distilled water)

Table 9 Body weight of female rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Group	Control-W #	3-Methoxybenzenamine	
Dose(mg/kg)	0	200	300
Number of females	5	5	5
Days after administration Day 0	105.8 ± 2.6	105.6 ± 3.6	106.0 ± 2.7
1	115.6 ± 4.5	117.0 ± 4.4	116.2 ± 3.9
3	136.6 ± 5.3	134.4 ± 4.8	133.2 ± 3.3
7	156.8 ± 4.5	154.8 ± 7.2	155.0 ± 4.8
10	168.4 ± 3.5	164.2 ± 9.7	163.8 ± 4.4
14	183.4 ± 4.3	181.0 ± 10.7	176.4 ± 7.0

Each value shows mean(g) ± S.D..
: Control (Distilled water)

Table 10 Necropsy finding of male rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Findings	Group	3-Methoxybenzenamine 500 mg/kg	3-Methoxybenzenamine 800 mg/kg	3-Methoxybenzenamine 1300 mg/kg	3-Methoxybenzenamine 2000 mg/kg
	Number of animals	1	5	5	5
Lung					
Dark red		1 (301)	5	5	5
Pleural cavity					
Pleural effusion (faint yellow)		0	5	4[a]	1 (605)

Figures in parentheses indicates animal number.
a) : Animal number (502,503,504,505)

Table 11 Necropsy finding of female rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Findings	Group	3-Methoxybenzenamine 500 mg/kg	3-Methoxybenzenamine 800 mg/kg	3-Methoxybenzenamine 1300 mg/kg	3-Methoxybenzenamine 2000 mg/kg
	Number of animals	1	5	5	5
Lung					
Dark red		1 (355)	5	5	4[a)]
Pleural cavity					
Pleural effusion (faint yellow)		1 (355)	4[b)]	3[c)]	0

Figures in parentheses indicates animal number.
a) : Animal number (651,653,654,655)
b) : Animal number (452,453,454,455)
c) : Animal number (552,553,554)

Table 12 Histopathological finding of male rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

Finding	Group	Control (Corn oil)	3-Methoxybenzenamine 500 mg/kg
	Number of animals	1 [a]	1 [b]
Lung			
Edema		−	±

a) : Animal number (001)
b) : Animal number (301)

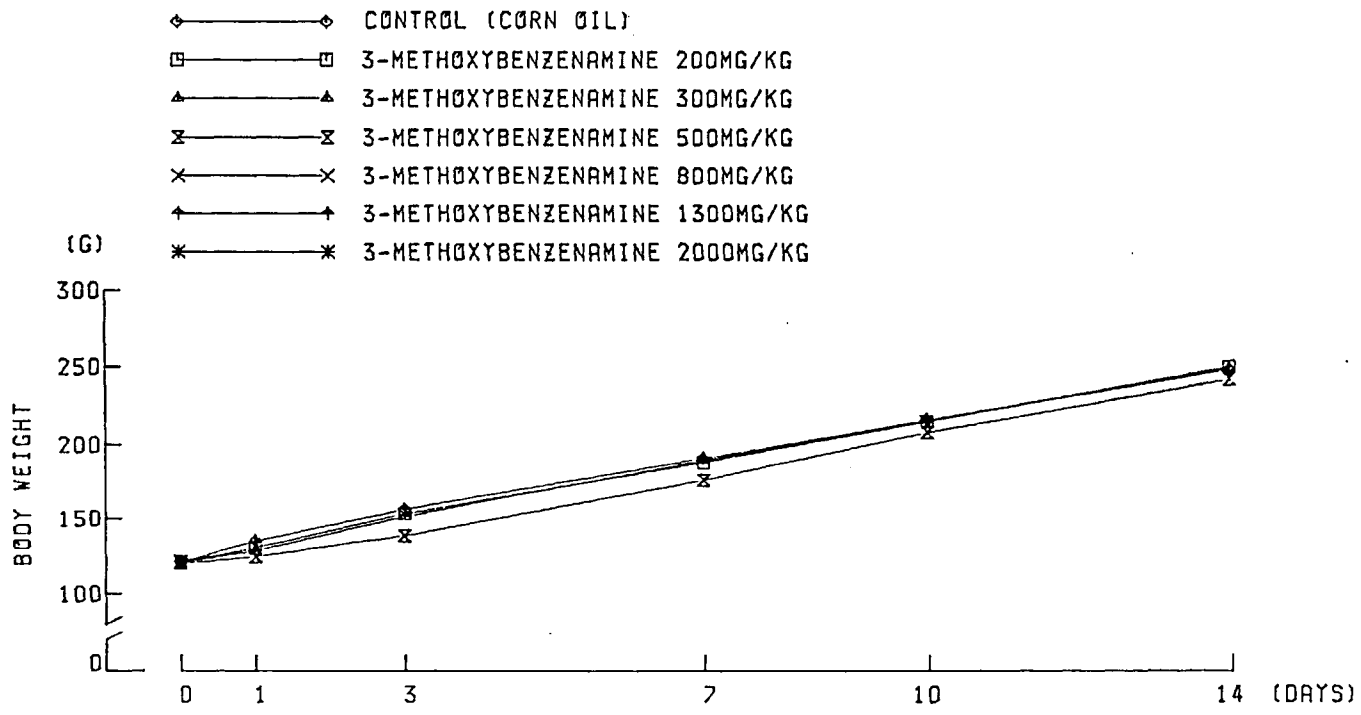

Fig. 1 Body weight of male rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

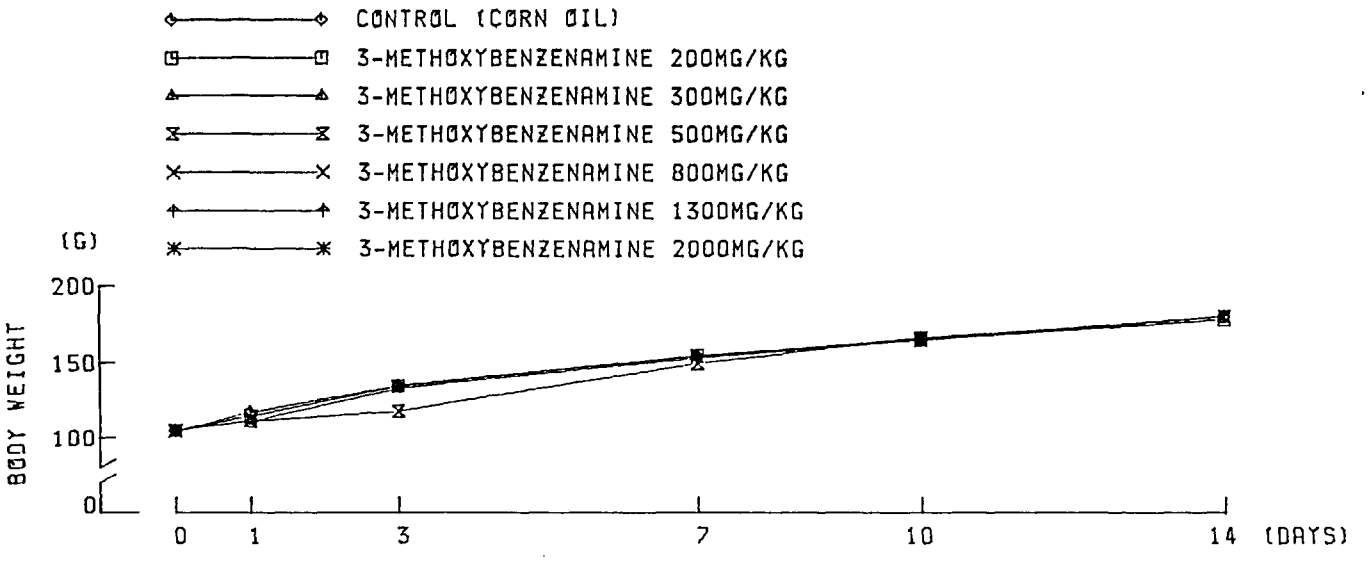

Fig. 2 Body weight of female rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

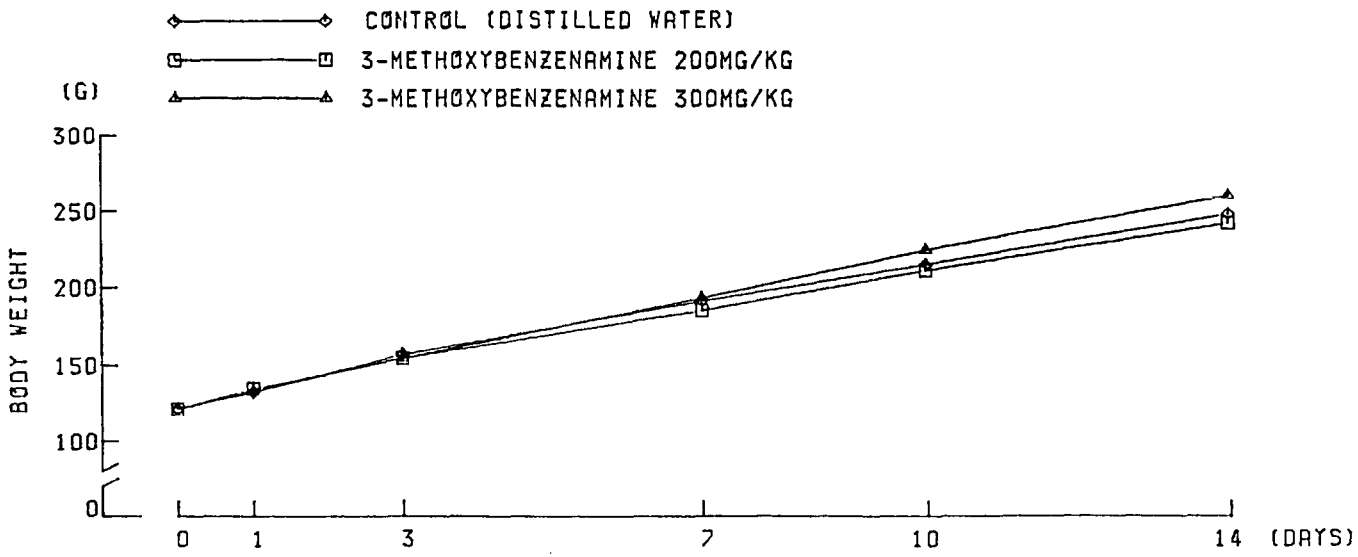

Fig. 3 Body weight of male rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study

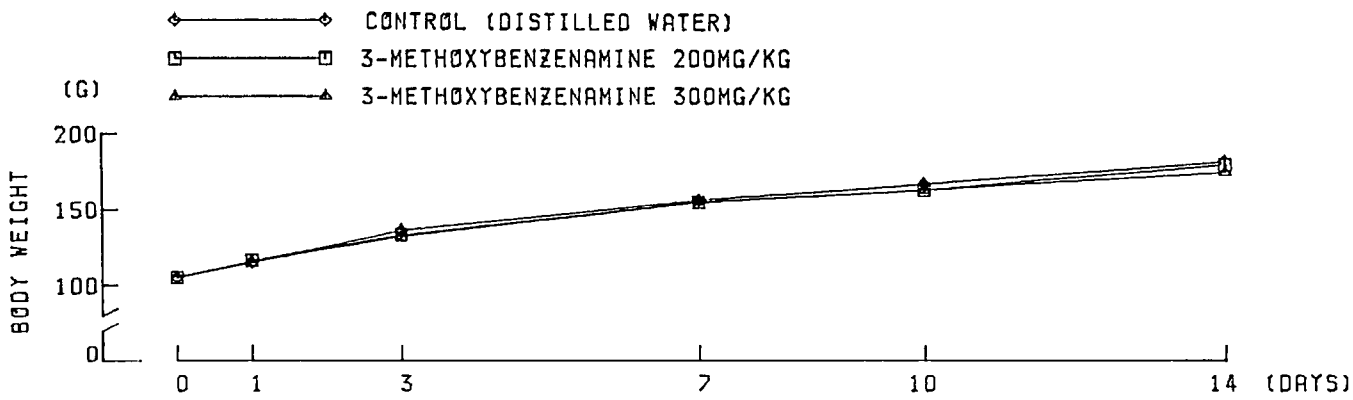

Fig. 4 Body weight of female rats treated orally with 3-Methoxybenzenamine in single dose toxicity study