

最 終 報 告 書

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の
ラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 94-057)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目次

要約	1
緒言	2
試験目的	2
試験材料および方法	
1. 被験物質	2
2. 供試動物および飼育条件	2
3. 投与量の設定、試験群の構成および投与方法	3
4. 観察および検査	
1) 一般状態観察	4
2) 体重および摂餌量測定	4
3) 尿検査	4
4) 血液学検査	5
5) 血液生化学検査	6
6) 病理学検査	
(1) 剖検および器官重量測定	7
(2) 病理組織学検査	7
5. 統計処理	7
試験結果	
1. 死亡および一般状態	8
2. 体重	8
3. 摂餌量	8
4. 尿所見	8
5. 血液学所見	8
6. 血液生化学所見	9
7. 剖検所見	9
8. 器官重量	9
9. 病理組織学所見	9

考察および結論	-----	1 0
---------	-------	-----

参考文献	-----	1 1
------	-------	-----

添付資料

A. 図・群別平均値表

Figure	1	体重
Tables	1, 2	一般状態および死亡率
Tables	3, 4	体重
Tables	5, 6	摂餌量
Tables	7 ~ 10	尿所見
Tables	11 ~ 14	血液学所見
Tables	15 ~ 18	血液生化学所見
Tables	19 ~ 22	剖検所見
Tables	23 ~ 26	器官重量
Tables	27, 28	病理組織学所見

要約

赤色顔料の合成原料等に用いられている既存化学物質、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の28日間反復投与毒性試験を、SD系[Crj:CD(SD)] ラットを用い、0（対照）、100、300および1000mg/kg/day用量の経口投与により実施した。動物数は1群雌雄各6匹とし、6群を設け、4群は投与期間終了後屠殺群、2群は対照および1000mg/kgの14日間回復群とした。

動物の一般状態、体重および摂餌量においては、被験物質投与の影響は認められなかった。尿検査および血液学検査では、尿比重の増加、尿pHの低下および主にリンパ球の減少による白血球数の減少が、1000mg/kg群の雄に認められた。血液生化学検査では、いずれも1000mg/kg群で、総コレステロールの減少が雄に、GPTの増加および血糖の減少が雌に認められた。剖検では、軽度の盲腸の拡張が、1000mg/kg群の雌雄各1匹に認められた。器官重量および病理組織学検査においては、被験物質の投与に起因すると考えられる変化は、認められなかった。これらの被験物質投与による変化は、回復群においては認められず、可逆的であることが確認された。

以上の結果から、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットへの28日間反復投与により、軽度の臨床病理学的変化が認められた。無影響量は、300mg/kg/dayと推定された。

緒言

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸(CAS No. 88-44-8)は、赤系アゾ顔料の中間物であるブリリアントカーミン6Bの原料等に用いられており、*p*-トルイジンをスルホン化し、精製、濾過、結晶、乾燥して製造される。日本における年間生産量は、1000tを上回ると推定されている。しかし、本物質の毒性については、ラットに対する急性経口LD₅₀値が12g/kgと報告¹⁾されているが、毒性学的性質の詳細は明らかにされていない。この試験は、厚生省の既存化学物質安全性点検事業の一環として実施したものである。

試験目的

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸をラットに28日間反復経口投与し、その一般毒性学的性質について検討する。

試験材料および方法

1. 被験物質 (Appendices 1~4)

被験物質2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸は、分子量187.2、融点300℃以上の微黄白色の粉末である。試験には、のもの（ロット番号
純度99.957%）を入手し、冷暗（4℃）条件下で密栓保管し、使用した。本物質の詳細は、Appendix 1に示した。用いた被験物質を投与終了後に分析し、使用期間中安定であったことを確認した(Appendix 2)。本物質は水および油に溶けにくく、また均一な水性懸濁液の調製が困難であったので、溶媒として局方ゴマ油（宮澤薬品株式会社、ロット番号BK10）を用い、所定の投与用量になるような濃度の懸濁液として調製し、使用時まで冷所（4℃）遮光下で密栓保管した。投与液中の被験物質は、均一、かつ、冷暗条件下で少なくとも7日間は安定であることが確認されている(Appendix 3)ので、投与液の使用期間は7日以内とし、5回にわたって調製した。一回目と5回目に調製した投与液については分析し、所定濃度で調製されていることを確認した(Appendix 4)。被験物質の分析のうち、原体の分析はに委託して実施した。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendices 5~7)

4週齢のSD系〔Crj:CD(SD)〕SPFラットを日本チャールス・リバー株式会社（茨城県新治郡八郷

町大字上林955)から搬入(雌雄各47匹)し、雄は8日、雌は9日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般健康状態の良好な雌雄各36匹を、5週齢で試験に供した。投与開始時の平均体重(体重範囲)は、雄176(168~183)g、雌148(138~162)gであった。

ラットは、馴化、投与および回復期間とも、温度 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ (温湿度の測定結果: Appendix 5)、換気回数10回以上/時(オールフレッシュエアー方式)、照明12時間(午前6時~午後6時)に設定したバリアーシステム動物室で、個体別にステンレス製金網ケージ〔276W×426D×200H(mm)〕に収容し、これをステンレス製5段のラックに配して飼育した。飼料(日本農産工業株式会社、固型飼料ラボMRストック、ロット番号 94.10.77、汚染物質の分析結果: Appendix 6)および水(1 μm カートリッジフィルター濾過後紫外線照射した殺菌水道水、汚染物質の分析結果: Appendix 7)は、それぞれ給餌器および自動給水装置により自由摂取させた。動物の個体識別は、ラックおよびケージへの標識札貼付と耳パンチ法により行った。

動物室の温度・湿度測定結果、飼料・水の汚染物質分析結果などから、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと考えられる環境要因の変化は、なかったものと判断された。

3. 投与量の設定(別添資料D)、試験群の構成および投与方法

投与量設定試験は、5週齢のSD系ラットを1群雌雄各4匹とし、0、100、250、500、1000あるいは2000mg/kg/day用量の14日間反復経口投与により実施した。得られた結果は、別添資料Dに示した。一般状態、体重、摂餌量、尿検査、血液学検査、血液生化学検査および器官重量において、被験物質の毒性を示唆する変化は認められなかった。剖検においては、盲腸の拡張が2000mg/kg群の雌雄全例に認められた。

以上の結果から、本試験における投与量は、試験法ガイドラインで規定された上限量である1000mg/kg/dayを高用量とし、以下300および100mg/kg/dayの3用量を設定した。

試験群の構成は、(1)溶媒投与群(以下、対照群)、(2)2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸100mg/kg/day投与群(100mg/kg群)、(3)同 300mg/kg/day投与群(300mg/kg群)、(4)同 1000mg/kg/day投与群(1000mg/kg群)の4群とし、1群雌雄各6匹を供した。ただし、対照群および1000mg/kg群については、投与期間終了後14日間の回復試験を行うため、別に1群雌雄各6匹から成る回復群を設けた。各群への動物の割り付けは、投与開始日の体重に基づく層化無作為抽出法を用いて行った。

投与方法は、投与液量を体重1kg当たり5mlとし、胃ゾンデを装着した注射筒を用いて、被験物質の2w/v%液（100 mg/kg群）、6w/v%液（300 mg/kg群）あるいは20w/v%液（1000 mg/kg群）を、1日1回（午前中）、28日間にわたって経口投与した。各個体の投与液量は、至近日の測定体重に基づいて算出した。対照群には、溶媒を同様に投与した。

4. 観察および検査

観察期間は投与期間の28日間および回復群ではさらにそれに続く回復期間の14日間とし、次の観察および検査を実施した。

1) 一般状態観察

毎日、動物の生死、外観、行動等を観察した。

2) 体重および摂餌量測定

体重は、投与1日（投与初日の投与直前）、3日およびその後は週2回、3あるいは4日ごと、ならびに屠殺日に測定した。摂餌量は、毎週1回（雄は投与5、12、19、26日および投与終了後5、12日、雌は投与4、11、18、25日および投与終了後4、11日）、1日（24時間）の飼料消費量を測定した。測定は、電子上皿天秤（PL3000：メトラー社）を用いて行った。

3) 尿検査

雄は投与22日および投与終了後13日、雌は投与26あるいは27日および投与終了後12日に、約3時間代謝ケージに収容して採尿し、外観の観察、比重の測定（屈折計：エルマ光学株式会社）、pH、潜血、タンパク、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン（以上、試験紙法：マイルス・三共株式会社、マルティスティックス®）および沈渣（ケンブリッジケミカルプロダクト社、URI-CEL® 液で染色）を検査した。

4) 血液学検査

供試血液の採取は、投与期間および回復期間終了翌日における屠殺剖検時に行った。動物は前日の午後5時より除餌し、水のみを給与した。採血は、エーテル麻酔下で開腹して腹大動脈より行い、以下の項目を検査した。なお、採取した血液は3分割し、その一部は3.8%クエン酸ナトリウム溶液で凝固阻止処理して血漿を得、プロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間の測定に、一部は、EDTA-2K処理してその他の血液学検査に供した。

項目（略号）	測定法	測定機器
①赤血球数（RBC）	電気抵抗検出方式	多項目自動血球計数 装置（E-4000：東亜 医用電子㈱）
②血色素量（Hb）	ラウリル硫酸ナトリウム- ヘモグロビン法	
③ヘマトクリット値（Ht）	パルス検出方式	
④平均赤血球容積（MCV）	計算値	
⑤平均赤血球血色素量（MCH）	計算値	
⑥平均赤血球血色素濃度（MCHC）	計算値	
⑦白血球数（WBC）	電気抵抗検出方式	
⑧血小板数（Plat.）	電気抵抗検出方式	
⑨網状赤血球数（Ret.）	Brilliant cresyl blue 染色した塗抹標本の鏡検	
⑩白血球百分率	May-Grünwald-Giemsa	血液凝固自動測定 装置（KC-10A： 米アメルング社）
好塩基球（Baso.）	染色した塗抹標本の鏡検	
好酸球（Eosin.）		
好中球（Neutro.）		
桿状核（Stab.）		
分節核（Seg.）		
リンパ球（Lymph.）		
単球（Mono.）		
⑪プロトロンビン時間（PT）	Quick一段法	
⑫活性化部分トロンボ プラスチン時間（APTT）	エラジン酸活性化法	

5) 血液生化学検査

採取した血液の一部から血清を分離し、次の項目を測定した。

項目 (略号)	測定法	測定機器
① 総タンパク (T.P.)	Biuret法	生化学自動分析 装置〔JCA-VX- 1000型クリナ ライザー：日本 電子㈱〕
② アルブミン (Alb.)	BCG法	
③ A/G比 (A/G)	計算値	
④ 血糖 (Glu.)	酵素法 (GK ¹⁾ -G6PDH ²⁾ -UV系)	
⑤ トリグリセライド (T.G.)	酵素法 (LPL ³⁾ -GPO ⁴⁾ -POD ⁵⁾ 系)	
⑥ 総コレステロール (T-Cho.)	酵素法 (CES ⁶⁾ -COD ⁷⁾ -POD系)	
⑦ 総ビリルビン (T-Bil.)	Jendrassik法	
⑧ 尿素窒素 (BUN)	Urease-UV法	
⑨ クレアチニン (Crea.)	Jaffé 法	
⑩ GOT (GOT)	SSCC ⁸⁾ 法	
⑪ GPT (GPT)	SSCC 法	
⑫ γ -GTP (γ -GTP)	SSCC 法	
⑬ ALP (ALP)	GSCC ⁹⁾ 法	
⑭ カルシウム (Ca)	OCPC 法	
⑮ 無機リン (P)	酵素法 (PNP ¹⁰⁾ -XOD ¹¹⁾ -POD系)	
⑯ ナトリウム (Na)	イオン電極法	電解質自動分析 装置〔NAKL-1: 東亜電波工業㈱〕
⑰ カリウム (K)	イオン電極法	
⑱ 塩素 (Cl)	イオン電極法	

1) グルコキナーゼ、2) グルコース6リン酸脱水素酵素、3) リポプロテインリパーゼ、
 4) グリセロリン酸酸化酵素、5) ペルオキシダーゼ、6) コレステロールエステラーゼ、
 7) コレステロールオキシダーゼ、8) スカンジナビア臨床化学会、9) ドイツ臨床化学会、
 10) プリンヌクレオシドホスフォリラーゼ、11) キサンチンオキシダーゼ

6) 病理学検査

(1) 剖検および器官重量測定

所定の投与期間あるいは回復期間終了翌日の採血に続いて放血屠殺し、剖検を行った。また、電子上皿天秤(AT200:メトラー社)を用いて、脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、精巣・精巣上体/卵巣を秤量(絶対重量)し、また対体重比(相対重量)を算出した。

(2) 病理組織学検査

次の器官を採取し、10%中性リン酸緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

脳、下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺(上皮小体を含む)、唾液腺、胸腺、気管、肺(気管支を含む)、心臓、舌、食道、胃、腸、肝臓、脾臓、膵臓、副腎、腎臓、膀胱、精巣・精巣上体・前立腺・精囊/卵巣・子宮・膣、大動脈(胸部)、脊髄(頸膨大部、腰膨大部)、坐骨神経、骨・骨髓(胸骨、大腿骨)、リンパ節(頸部リンパ節、腸間膜リンパ節)、骨格筋(下腿三頭筋)、皮膚(背部)、乳腺(腹部)

病理組織学検査は、対照群および1000mg/kg群については、脳、下垂体、眼球、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、心臓、気管、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、胃、小腸(十二指腸・空腸・回腸)、大腸(盲腸・結腸・直腸)、膵臓、精巣・精巣上体・精囊・前立腺/卵巣・子宮・膣、膀胱、リンパ節、脊髄、坐骨神経、骨髓を検査した。また、100mg/kg群の雌で胸腺重量の減少が認められたので、雌の胸腺については100および300mg/kg群も検査した。検査は、常法によりパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。なお、100および300mg/kg群の雄および回復群の雌雄については、1000mg/kg群で毒性影響が考えられる変化が認められなかったため、検査は実施しなかった。組織標本は、株式会社 組織科学研究所(東京都青梅市黒沢二丁目984番1号)に委託して作製した。

5. 統計処理

得られた平均値あるいは頻度について、対照群との間の有意差(危険率5%以下)を次の方法で検定した。3群以上の場合、定量的所見については Bartlett の分散検定を行い、分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行った。分散が一樣でない場合、白血球百分率および尿検査における定性的所見はKruskal-Wallisの順位検定を行った。それらの結果有意差を認めた場合、DunnettあるいはScheffé(群の大きさが異なる場合)の方法により対照群に対する各群の比較検

定を行った。また、剖検および病理組織学所見については、 χ^2 検定を用いた。一方、2群の場合、定量的所見についてはF検定を行い、その結果分散が一樣な場合はStudentのt検定を、一樣でない場合はAspin-Welchのt検定を行った。また、白血球百分率および尿検査における定性的所見についてはMann-WhitneyのU検定を、剖検および病理組織学所見についてはFisherの直接確率法を用いた。

試験結果

1. 死亡および一般状態(Tables 1, 2, Appendices 8, 9)

各群の雌雄とも、投与および回復期間を通じて、一般状態の変化および死亡は認められなかった。

2. 体重(Figure 1, Tables 3, 4, Appendices 10, 11)

被験物質投与各群の体重は、雌雄とも対照群と類似した推移を示し、体重増加量においても対照群と比べ、有意な差は認められなかった。

3. 摂餌量(Tables 5, 6, Appendices 12, 13)

被験物質投与各群の摂餌量は、雌雄とも対照群と比べ、有意な差は認められなかった。

4. 尿所見(Tables 7~10, Appendices 14~17)

有意な比重の増加およびpHの低下が、1000mg/kg群の雄に認められた。1000mg/kgの回復群においては、各検査項目に有意な変化は認められなかった。

5. 血液学所見(Tables 11~14, Appendices 18~21, 背景データ: Appendices 38, 39)

白血球数の有意な減少が、1000mg/kg群の雄に認められた。白血球数の減少は、白血球百分率からみて、主にリンパ球の減少によるものであった。1000mg/kgの回復群においては、白血球数に有意な変化は認められなかった。

なお、1000mg/kgの回復群の雄の平均赤血球容積はやや低値、平均赤血球血色素濃度はやや高値を示し、対照群との間に有意差が認められた。しかし、これらの指数を計算するための基礎とな

る赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値には有意な変化は認められず、また、いずれの個体も当研究所における背景データ(Appendix 38)からみて、正常範囲内での変動であった。

6. 血液生化学所見(Tables 15~18, Appendices 22~25, 背景データ : Appendices 38, 39)

いずれも1000mg/kg群で、総コレステロールの有意な減少が雄に、GPTの有意な増加が雌に認められた。さらに、血糖の有意な減少が100および1000mg/kg群の雌に認められた。血糖の減少は300mg/kg群では認められず、用量相関性に欠ける所見であったが、1000mg/kg群の値は対照群と比べ明らかに低値であった。1000mg/kgの回復群においては、このような変化は認められず、いずれも回復していた。

なお、1000mg/kgの回復群において、いずれも対照群に比べて有意なアルカリホスファターゼの増加およびトリグリセライドの減少が雄に、総ビリルビンの減少が雌に認められた。これらの変化は、いずれも背景データ(Appendices 38, 39)からみて、正常範囲内の軽度なものであった。

7. 剖検所見(Tables 19~22, Appendices 26~29)

盲腸の内容物貯留による軽度な拡張が、1000mg/kg群の雌雄各1匹に認められた。1000mg/kgの回復群には、盲腸に変化は認められなかった。

なお、被験物質の投与と関連性がないと考えられる所見として、胸腺の赤色斑が対照の回復群の雌1匹に、左側精巣および精巣上体の萎縮が1000mg/kgの回復群の雄1匹に認められた。

8. 器官重量(Tables 23~26, Appendices 30~37)

被験物質の投与に起因すると考えられる器官重量の変化は、認められなかった。

いずれも有意な胸腺の絶対および相対重量の減少が100mg/kg群の雌に、脾臓の相対重量のみの増加が被験物質投与各群の雌に認められたが、両器官とも用量相関的な変化ではなかった。

9. 病理組織学所見(Tables 27, 28, Appendices 26~29, Photos 1~8)

被験物質の投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。肺、肝臓、脾臓、腎臓および前立腺に軽度な変化が対照群および1000mg/kg群に認められたが、散発的、かつ、用量相関性が認められず、偶発的な変化と判断される所見であった。

考察および結論

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の類縁化合物の毒性に関して、いずれもラットを用いた28日間の反復経口投与毒性試験で、2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸は明らかな毒性影響を示さず²⁾、3-アミノベンゼンスルホン酸は1000mg/kgで軽度な尿性状の変化を示す³⁾と報告されている。

今回実施した2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の28日間反復経口投与毒性試験においては、動物の一般状態、体重および摂餌量において、被験物質投与の影響は認められなかった。

尿検査、血液学検査、血液生化学検査においては、いずれも1000mg/kg群で、尿比重の増加、尿pHの低下、白血球数および総コレステロールの減少が雄に、GPTの増加、血糖の減少が雌に認められた。

尿比重の変化は、腎臓における尿の濃縮機能の障害がうたがわれる減少性の変化ではなく、尿pHの低下についても、アシドーシスの徴候が認められないことから、おそらく被験物質が酸性物質であることによる単純な変化と考えられる。いずれにしても、他の検査において、これらの尿所見と関連する変化は認められず、毒性学的意義は小さいものと判断される。

白血球数の減少については、主にリンパ球の減少によるものであった。用量相関的な変化ではなかったが、100mg/kg群の雌で胸腺重量の減少が認められ、リンパ系組織に対し何らかの影響を有する可能性も考えられた。しかし、骨髓造血細胞および胸腺、リンパ節、脾臓等のリンパ系組織には病理組織学的に異常は認められなかった。また、白血球数の減少の程度も、軽度なものであった。

血液生化学的影響については、主に肝機能に対する影響がうかがわれる所見であった。しかし、肝臓を含む全身諸器官に、被験物質の投与に起因する病理組織学的な変化は認められなかった。また血液生化学的変化の程度も、軽度なものであった。

剖検で、盲腸の拡張が1000mg/kg群に認められた。この盲腸の拡張は、軽度、かつ、雌雄各1匹の発現であったが、投与量設定試験において、2000mg/kg群の雌雄全例に認められていることから、被験物質の投与に起因するものと判断された。

盲腸の拡張は、ゲッ歯類への抗菌性物質投与時に一般的に認められ、腸内細菌叢の変化によるものと考えられている⁴⁾。本試験で認められた盲腸の拡張の発現機序は不明であるが、下痢などの消化管症状や発育に対する影響を伴っておらず、生体に対する影響としては軽度なものと考えられる。

このような、投与期間終了後屠殺動物で認められた変化は、回復期間終了後屠殺動物には認められず、可逆的な変化であることが確認された。

なお、投与期間終了後屠殺動物において、被験物質投与各群の雌の脾臓の相対重量は対照群と比べ全般的に高値を示したが、変化傾向に用量相関性が認められず、病理組織学的にも異常は認められなかったことから、偶発的な所見と判断された。また、1000mg/kgの回復期間終了後屠殺動物において、投与期間終了後屠殺動物で認められた変化とは異なる血液学および血液生化学的变化が発現したが、いずれも正常範囲内での変動で、相互の関連性も認められず、遅発的な毒性影響を示唆する所見ではないと判断された。

以上の結果から、2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸のラットへの28日間反復投与により、主な毒性影響として、いずれも軽度な白血球数の減少および主に肝機能に対する影響が示唆される血液生化学的变化が発現し、尿性状および盲腸に対する影響も認められた。無影響量は、300 mg/kg/dayと推定された。

参考文献

- 1) Registry of toxic effects of chemical substances, 1981-1982.
- 2) 化学物質毒性試験報告、1、339-350 (1994).
- 3) 化学物質毒性試験報告、2、379-389 (1995).
- 4) 小野寺威、" 毒性試験法講座 15 -医薬品"、福田英臣、秋元 健、坂口 孝編、地人書館、東京、1990, pp 37-38.

2-アミノ-5-メチルベンゼンスルホン酸の
ラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

(試験番号 94-057)

最終報告書 添付資料A

(図・群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

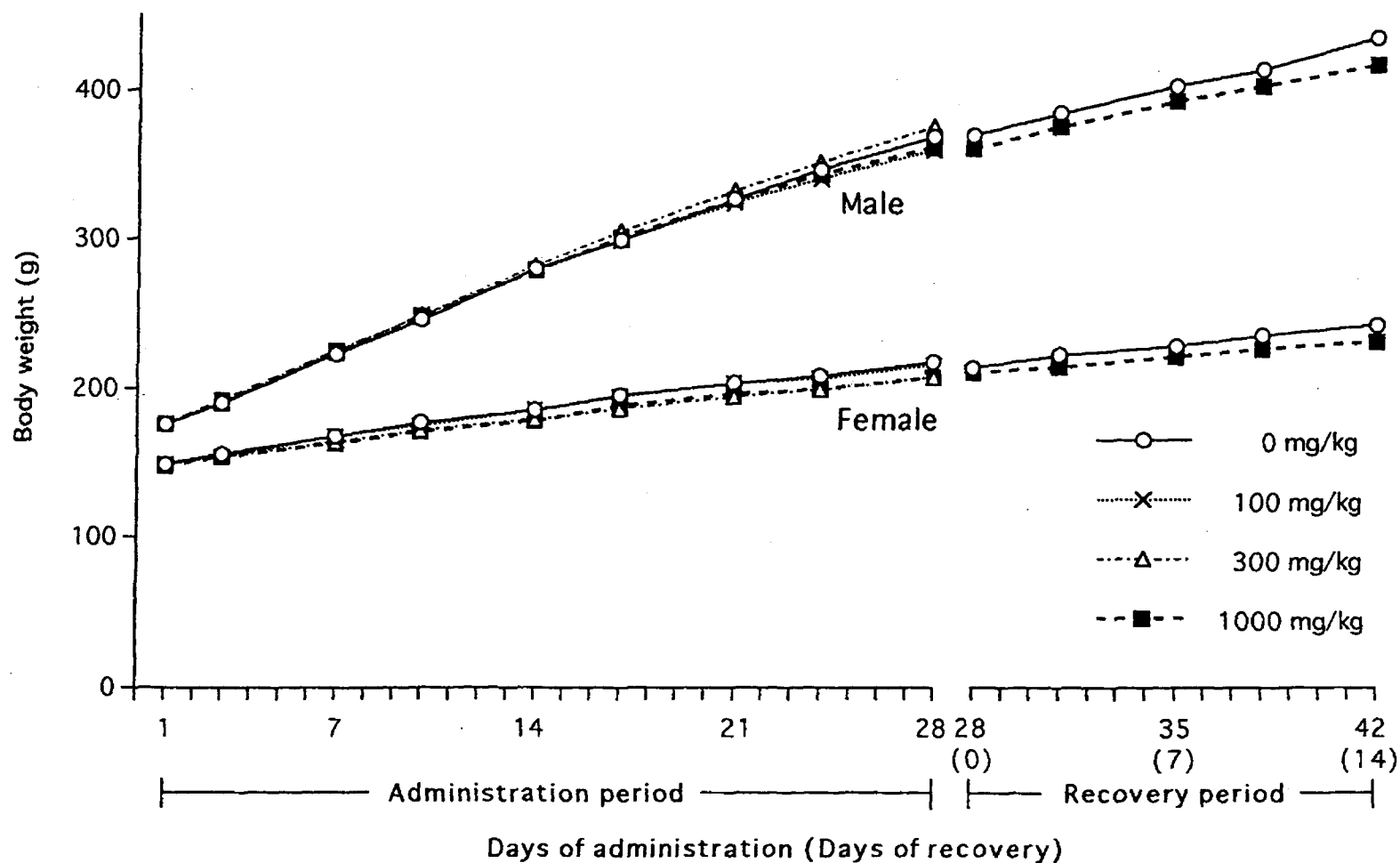


Fig. 1 Body weight changes of rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

Table 1 Incidence of clinical signs and death of male rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

Clinical signs	Dose(mg/kg)	Treatment period				Recovery period	
		0	100	300	1000	0	1000
	No. of animals examined	12	6	6	12	6	6
Abnormalities		0	0	0	0	0	0
Death		0	0	0	0	0	0

Table 2 Incidence of clinical signs and death of female rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

Clinical signs	Dose(mg/kg) No. of animals examined	Treatment period				Recovery period	
		0	100	300	1000	0	1000
		12	6	6	12	6	6
Abnormalities		0	0	0	0	0	0
Death		0	0	0	0	0	0

Table 3

Body weights of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid
in the 28-day repeat dose toxicity test

(g)																
Dose (mg/kg)	Day of treatment									Gain (Day of recovery)						Gain
	1	3	7	10	14	17	21	24	28	1~28	28(0)	31(3)	35(7)	38(10)	42(14)	28~42
0	176 ± 5 (12)	190 ± 6 (12)	223 ± 8 (12)	246 ± 10 (12)	280 ± 14 (12)	299 ± 18 (12)	326 ± 20 (12)	346 ± 24 (12)	368 ± 29 (12)	192 ± 27 (12)	369 ± 39 (6)	384 ± 41 (6)	402 ± 41 (6)	413 ± 44 (6)	434 ± 45 (6)	64 ± 7 (6)
100	176 ± 4 (6)	191 ± 3 (6)	225 ± 7 (6)	249 ± 8 (6)	279 ± 9 (6)	299 ± 12 (6)	324 ± 15 (6)	340 ± 16 (6)	359 ± 17 (6)	184 ± 16 (6)						
300	176 ± 5 (6)	190 ± 6 (6)	224 ± 7 (6)	249 ± 7 (6)	282 ± 9 (6)	305 ± 9 (6)	332 ± 13 (6)	351 ± 13 (6)	375 ± 13 (6)	199 ± 10 (6)						
1000	176 ± 4 (12)	192 ± 4 (12)	225 ± 7 (12)	248 ± 9 (12)	279 ± 11 (12)	301 ± 14 (12)	326 ± 16 (12)	343 ± 18 (12)	361 ± 22 (12)	184 ± 24 (12)	360 ± 12 (6)	375 ± 14 (6)	392 ± 17 (6)	402 ± 18 (6)	416 ± 23 (6)	57 ± 12 (6)

Each value is expressed as mean±S. D.

(n): No. of animals

Table 4

Body weights of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid
in the 28-day repeat dose toxicity test

Dose (mg/kg)	Day of treatment									Gain (Day of recovery)						Gain
	1	3	7	10	14	17	21	24	28	1~28	28(0)	31(3)	35(7)	38(10)	42(14)	28~42
0	149 ± 7 (12)	156 ± 7 (12)	168 ± 9 (12)	177 ± 10 (12)	185 ± 12 (12)	195 ± 13 (12)	203 ± 13 (12)	208 ± 16 (12)	217 ± 17 (12)	68 ± 15 (12)	213 ± 15 (6)	222 ± 16 (6)	228 ± 14 (6)	235 ± 13 (6)	242 ± 15 (6)	28 ± 6 (6)
100	149 ± 8 (6)	154 ± 8 (6)	168 ± 10 (6)	175 ± 12 (6)	185 ± 13 (6)	194 ± 13 (6)	203 ± 16 (6)	206 ± 14 (6)	215 ± 16 (6)	67 ± 9 (6)						
300	149 ± 8 (6)	154 ± 9 (6)	164 ± 9 (6)	172 ± 11 (6)	179 ± 13 (6)	186 ± 12 (6)	194 ± 14 (6)	199 ± 14 (6)	207 ± 14 (6)	58 ± 9 (6)						
1000	148 ± 6 (12)	154 ± 6 (12)	163 ± 9 (12)	171 ± 11 (12)	178 ± 13 (12)	188 ± 14 (12)	196 ± 13 (12)	199 ± 15 (12)	207 ± 15 (12)	59 ± 13 (12)	210 ± 15 (6)	214 ± 14 (6)	221 ± 16 (6)	226 ± 19 (6)	231 ± 19 (6)	21 ± 7 (6)

Each value is expressed as mean±S. D.

(n): No. of animals

Table 5

Food consumption of male rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid
in the 28-day repeat dose toxicity test

Dose (mg/kg)	No. of cages	(g/rat/day)						
		Week of treatment		(Week of recovery)				
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	12	25 ± 2 (12)	26 ± 2 (12)	26 ± 3 (12)	27 ± 3 (12)	27 ± 4 (6)	31 ± 3 (6)	32 ± 3 (6)
100	6	25 ± 1 (6)	27 ± 2 (6)	26 ± 4 (6)	26 ± 2 (6)			
300	6	24 ± 1 (6)	27 ± 1 (6)	28 ± 2 (6)	28 ± 2 (6)			
1000	12	25 ± 2 (12)	27 ± 3 (12)	28 ± 2 (12)	26 ± 3 (12)	27 ± 2 (6)	31 ± 4 (6)	31 ± 3 (6)

Each value is expressed as mean±S.D.
(n): No. of animals

Table 6

Food consumption of female rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid
in the 28-day repeat dose toxicity test

(g/rat/day)

Dose (mg/kg)	No. of cages	Week of treatment				(Week of recovery)		
		1	2	3	4	4(0)	5(1)	6(2)
0	12	17	17	18	20	19	22	21
		± 2	± 2	± 2	± 3	± 2	± 3	± 4
		(12)	(12)	(12)	(12)	(6)	(6)	(6)
100	6	19	18	18	17			
		± 2	± 3	± 1	± 2			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
300	6	17	16	16	17			
		± 1	± 2	± 2	± 1			
		(6)	(6)	(6)	(6)			
1000	12	18	17	18	19	19	20	21
		± 2	± 3	± 2	± 3	± 2	± 2	± 2
		(12)	(12)	(12)	(12)	(6)	(6)	(6)

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

(n): No. of animals

Table 7 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color				Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		C	PY	Y	PB	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	12		8	4		8	4	1.037 _{a)} ± 0.014				3		3	6		3	8	1		
100	6		3	3		3	3	1.044 ± 0.014				3	1	1	1		1	4	1		
300	6			6		2	4	1.046 ± 0.017			1	2		1	2		1	4	1		
1000	12		7	4	1	7	5	1.057* ± 0.019		2	4	4	1	1**				9	3		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	12	12					3	7		2		8	4				12						12	
100	6	6					2	2	2			6					6						6	
300	6	6					1	2	3			5	1				6						6	
1000	12	12						8	1	3		9	3				12						12	

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 7 - 2

Urinary findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	Mg		Ca		-		+	
0	12	12				12				3	4	2	3	12			12
100	6	6				6				1		4	1	6			6
300	6	6				6				1	2	1	2	6			6
1000	12	12				12				3	3	4	2	12			12

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells						Casts						Fat globules		
		Sq		R		S		G		H		W		-		
0	12		12		12		12		12		12		12			12
100	6		4	2	6		6		6		6		6			6
300	6	1	5		6		6		6		6		6			6
1000	12		11	1	12		12		12		12		12			12

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals Epithelial cells Casts

Mg(ammonium magnesium phosphate) Sq(squamous) G(granule)

Ca(calcium phosphate) R(round) H(hyaline)

Ams(amorphous) S(spindle) W(waxy)

Table 8 - 1 Urinary findings of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color				Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		C	PY	Y	PB	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	12		5	5	2	4	8	1.067 _{a)} ± 0.019		4	2	1	1		4		3	8	1		
100	6		4	1	1	4	2	1.068 ± 0.008		2	3		1				1	2	3		
300	6		3	3		3	3	1.059 ± 0.018		3	2				1		2	3	1		
1000	12		5	7		10	2	1.074 ± 0.029	3	5	2				2	1	1	4	6		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	12	12					5	7				10	2				12						12	
100	6	6					1	5				6					6						6	
300	6	6					3	3				6					6						6	
1000	12	12					8	4				12					12						12	

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 8 - 2

Urinary findings of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< Treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals											
										Mg				Ca				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
0	12	12				11	1			5	3	4		12				12			
100	6	6				6				1	2	3		6				6			
300	6	6				6				3		2	1	6				6			
1000	12	12				12				5	6	1		12				12			

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells									Casts						Fat globules		
		Sq			R			S			G		H		W				
		-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	-	+	-	+	-	+	++
0	12		11	1	12			12			12		12		12		12		
100	6		6		6			6			6		6		6		6		
300	6		6		6			6			6		6		6		6		
1000	12		12		12			12			12		12		12		12		

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals Epithelial cells Casts

Mg(ammonium magnesium phosphate) Sq(squamous) G(granule)

Ca(calcium phosphate) R(round) H(hyaline)

Ams(amorphous) S(spindle) W(waxy)

Table 9 - 1 Urinary findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color				Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		C	PY	Y	PB	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	6		2	3	1	2	4	1.045 a) ± 0.015			1	1		2	2		1	4	1		
1000	6		1	5		4	2	1.047 ± 0.006				1	2	3				5	1		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	6	6							4	2				6					6				6	
1000	6	6							3	3				6					6				6	

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 9 - 2

Urinary findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++	Mg				Ca			
0	6	6				6				1	2	3	6			6	
1000	6	6				6				1	3	2	6			6	

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells						Casts						Fat globules		
		Sq			R			S			G			H		
0	6	6			6			6			6			6		
1000	6	6			6			6			6			6		

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields
 Crystals Epithelial cells Casts
 Mg(ammonium magnesium phosphate) Sq(squamous) G(granule)
 Ca(calcium phosphate) R(round) H(hyaline)
 Ams(amorphous) S(spindle) W(waxy)

Table 10 - 1 Urinary findings of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Color				Cloudy		Specific gravity	pH							Protein					
		C	PY	Y	PB	-	+		5.0	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	-	±	+	++	+++	++++
0	6	1	2	3		6		1.068 ^{a)} ± 0.025		2	2		1		1	1		4	1		
1000	6		1	4	1	5	1	1.056 ± 0.016		3	1		1	1			2	3	1		

Dose (mg/kg)	No. of animals	Glucose					Ketone body					Occult blood					Urobilinogen				Bilirubin			
		-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	-	±	+	++	+++	0.1	1	2	4	-	+	++	+++
0	6	6					5	1				6					6				6			
1000	6	6					5	1				6					6				6			

a) : Mean ± S.D.

Color : C(colorless), PY(pale yellow), Y(yellow), PB(pale brown)

Cloudy : - (negligible), + (cloudy)

Protein : - (negligible), ± (15~30mg/dl), + (30mg/dl), ++ (100mg/dl), +++ (300mg/dl), ++++ (1000mg/dl)

Glucose : - (negligible), ± (0.1g/dl), + (0.25g/dl), ++ (0.5g/dl), +++ (1g/dl)

Ketone body : - (negligible), ± (5mg/dl), + (15mg/dl), ++ (40mg/dl), +++ (80mg/dl)

Occult blood : - (negligible), ± (trace), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Urobilinogen : Ehrlich unit/dl

Bilirubin : - (negligible), + (slight), ++ (moderate), +++ (marked)

Table 10 - 2

Urinary findings of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid
in the 28-day repeat dose toxicity test

< Recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	Erythrocytes				Leukocytes				Crystals				Ams			
		-	+	++	+++	-	+	++	+++								
0	6	6				6				4	2			6			6
1000	6	6				6				3	2	1		6			6

Dose (mg/kg)	No. of animals	Epithelial cells						Casts						Fat globules		
		Sq			R			S			G			H		
		-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++	-	+	++
0	6		6		6			6			6			6		
1000	6		4	2	6			6			6			6		

- : Not observed; + : A few in some fields; ++ : A few in all fields; +++ : Many in all fields

Crystals Epithelial cells Casts

Mg(ammonium magnesium phosphate) Sq(squamous) G(granule)

Ca(calcium phosphate) R(round) H(hyaline)

Ams(amorphous) S(spindle) W(waxy)

Table 11 Hematological findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	761 ± 29	15.4 ± 0.3	45.0 ± 0.9	59 ± 2	20.3 ± 0.6	34.2 ± 0.5	42 ± 15	12.7 ± 0.4	16.8 ± 0.9
100	6	775 ± 35	15.6 ± 0.4	44.8 ± 1.3	58 ± 1	20.2 ± 1.1	34.9 ± 1.1	29 ± 4	13.1 ± 0.4	17.1 ± 0.9
300	6	755 ± 36	15.4 ± 0.4	44.3 ± 1.7	59 ± 2	20.4 ± 0.5	34.7 ± 0.8	35 ± 7	12.9 ± 0.3	17.0 ± 0.9
1000	6	787 ± 35	15.6 ± 0.6	45.5 ± 1.9	58 ± 1	19.8 ± 0.4	34.3 ± 0.4	29 ± 9	13.1 ± 0.2	17.8 ± 0.8

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	6	76 ± 16	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	10 ± 3	89 ± 2	1 ± 1	0 ± 0	154 ± 21
100	6	67 ± 9	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	14 ± 4	85 ± 4	1 ± 1	0 ± 0	140 ± 14
300	6	73 ± 26	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	14 ± 6	84 ± 7	2 ± 1	0 ± 0	158 ± 16
1000	6	49* ± 11	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 1	16 ± 4	82 ± 3	1 ± 0	0 ± 0	149 ± 12

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 12

Hematological findings of female rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	766 $\pm$ 29	15.0 $\pm$ 0.2	43.1 $\pm$ 0.4	56 $\pm$ 2	19.6 $\pm$ 0.8	34.8 $\pm$ 0.5	26 $\pm$ 7	12.8 $\pm$ 0.5	16.0 $\pm$ 0.8
100	6	769 $\pm$ 34	15.1 $\pm$ 0.6	43.1 $\pm$ 1.2	56 $\pm$ 2	19.6 $\pm$ 0.6	35.0 $\pm$ 0.4	28 $\pm$ 7	13.0 $\pm$ 0.4	16.5 $\pm$ 0.6
300	6	775 $\pm$ 42	15.2 $\pm$ 0.7	43.4 $\pm$ 1.8	56 $\pm$ 1	19.6 $\pm$ 0.6	35.0 $\pm$ 0.5	26 $\pm$ 6	12.9 $\pm$ 0.2	16.5 $\pm$ 1.0
1000	6	772 $\pm$ 25	15.4 $\pm$ 0.3	43.7 $\pm$ 0.9	57 $\pm$ 1	19.9 $\pm$ 0.6	35.1 $\pm$ 0.5	24 $\pm$ 7	13.0 $\pm$ 0.4	16.8 $\pm$ 1.0
Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. ($10^4/\mu\text{l}$)
			Neutro.							
			Baso.	Eosin.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	6	41 $\pm$ 7	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	11 $\pm$ 6	88 $\pm$ 6	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	145 $\pm$ 17
100	6	39 $\pm$ 13	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 1	11 $\pm$ 2	88 $\pm$ 3	1 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	140 $\pm$ 17
300	6	49 $\pm$ 19	0 $\pm$ 0	1 $\pm$ 2	0 $\pm$ 0	11 $\pm$ 5	88 $\pm$ 5	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	136 $\pm$ 13
1000	6	43 $\pm$ 7	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	13 $\pm$ 3	86 $\pm$ 3	0 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0	138 $\pm$ 5

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

Table 13

Hematological findings of male rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC (10 ⁴ /μl)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (‰)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	817 ± 30	15.5 ± 0.5	45.6 ± 1.4	56 ± 1	18.9 ± 0.6	33.9 ± 0.2	31 ± 5	12.6 ± 0.3	18.5 ± 1.0
1000	6	829 ± 26	15.3 ± 0.6	44.6 ± 1.3	54* ± 2	18.5 ± 0.7	34.3* ± 0.4	34 ± 5	12.6 ± 0.3	18.6 ± 1.1

Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC (10 ² /μl)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. (10 ⁴ /μl)
			Baso.	Eosin.	Neutro.		Lymph.	Mono.	Other	
					Stab.	Seg.				
0	6	88 ± 28	0 ± 0	0 ± 1	0 ± 0	8 ± 3	91 ± 3	1 ± 1	0 ± 0	141 ± 16
1000	6	85 ± 17	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	9 ± 2	89 ± 1	1 ± 1	0 ± 0	146 ± 9

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 14

Hematological findings of female rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)	Ret. (%)	PT (sec)	APTT (sec)
0	6	819 ± 30	15.4 ± 0.6	44.7 ± 1.7	55 ± 2	18.9 ± 0.7	34.5 ± 0.5	32 ± 7	13.0 ± 0.3	16.5 ± 0.4
1000	6	803 ± 14	15.2 ± 0.4	43.6 ± 0.9	55 ± 1	18.9 ± 0.4	34.8 ± 0.8	28 ± 8	13.2 ± 0.3	17.0 ± 0.7
Dose (mg/kg)	No. of animals	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Differential leukocyte counts (%)							Plat. ($10^4/\mu\text{l}$)
			Neutro.							
			Baso.	Eosin.	Stab.	Seg.	Lymph.	Mono.	Other	
0	6	45 ± 21	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	11 ± 5	88 ± 5	1 ± 1	0 ± 0	146 ± 12
1000	6	51 ± 18	0 ± 0	1 ± 1	0 ± 0	14 ± 7	86 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	140 ± 21

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

Table 15 Biochemical findings of male rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	61 $\pm$ 6	32 $\pm$ 6	428 $\pm$ 50	0.19 $\pm$ 0.12	6.03 $\pm$ 0.12	2.96 $\pm$ 0.16	0.97 $\pm$ 0.09	90 $\pm$ 10	83 $\pm$ 44
100	6	59 $\pm$ 6	27 $\pm$ 3	399 $\pm$ 70	0.24 $\pm$ 0.15	6.10 $\pm$ 0.22	3.05 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.04	77 $\pm$ 9	80 $\pm$ 29
300	6	63 $\pm$ 5	31 $\pm$ 3	506 $\pm$ 77	0.35 $\pm$ 0.14	6.30 $\pm$ 0.22	3.04 $\pm$ 0.13	0.93 $\pm$ 0.07	85 $\pm$ 9	87 $\pm$ 28
1000	6	59 $\pm$ 2	30 $\pm$ 6	441 $\pm$ 77	0.36 $\pm$ 0.21	6.14 $\pm$ 0.09	2.99 $\pm$ 0.12	0.95 $\pm$ 0.07	74* $\pm$ 10	50 $\pm$ 15
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	138 $\pm$ 11	0.34 $\pm$ 0.04	15.1 $\pm$ 1.9	0.51 $\pm$ 0.02	10.0 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 0.8	141 $\pm$ 1	4.73 $\pm$ 0.13	103 $\pm$ 1
100	6	145 $\pm$ 11	0.35 $\pm$ 0.04	14.7 $\pm$ 1.8	0.52 $\pm$ 0.04	10.1 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.7	143 $\pm$ 0	4.39 $\pm$ 0.27	104 $\pm$ 1
300	6	148 $\pm$ 16	0.34 $\pm$ 0.03	15.9 $\pm$ 2.2	0.56 $\pm$ 0.06	10.0 $\pm$ 0.2	7.5 $\pm$ 0.3	142 $\pm$ 1	4.65 $\pm$ 0.31	104 $\pm$ 2
1000	6	137 $\pm$ 10	0.32 $\pm$ 0.02	14.9 $\pm$ 1.3	0.52 $\pm$ 0.04	9.8 $\pm$ 0.2	7.3 $\pm$ 0.3	142 $\pm$ 1	4.58 $\pm$ 0.13	105 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 16

Biochemical findings of female rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T. P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T. G. (mg/dl)
0	6	57 $\pm$ 7	24 $\pm$ 4	237 $\pm$ 82	0.41 $\pm$ 0.27	6.47 $\pm$ 0.29	3.27 $\pm$ 0.27	1.02 $\pm$ 0.10	101 $\pm$ 20	51 $\pm$ 37
100	6	60 $\pm$ 4	27 $\pm$ 2	280 $\pm$ 50	0.20 $\pm$ 0.14	6.31 $\pm$ 0.19	3.23 $\pm$ 0.13	1.05 $\pm$ 0.05	80 $\pm$ 9	43 $\pm$ 11
300	6	62 $\pm$ 5	24 $\pm$ 5	271 $\pm$ 53	0.25 $\pm$ 0.19	6.31 $\pm$ 0.20	3.22 $\pm$ 0.14	1.05 $\pm$ 0.06	84 $\pm$ 14	59 $\pm$ 24
1000	6	66 $\pm$ 10	32** $\pm$ 5	225 $\pm$ 62	0.33 $\pm$ 0.28	6.51 $\pm$ 0.18	3.19 $\pm$ 0.11	0.96 $\pm$ 0.08	86 $\pm$ 24	36 $\pm$ 12
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	138 $\pm$ 6	0.24 $\pm$ 0.04	17.0 $\pm$ 1.6	0.58 $\pm$ 0.05	10.2 $\pm$ 0.4	6.6 $\pm$ 0.7	142 $\pm$ 1	4.27 $\pm$ 0.26	107 $\pm$ 2
100	6	121* $\pm$ 14	0.24 $\pm$ 0.03	19.0 $\pm$ 2.7	0.57 $\pm$ 0.04	10.1 $\pm$ 0.2	6.6 $\pm$ 0.6	142 $\pm$ 1	4.30 $\pm$ 0.23	107 $\pm$ 2
300	6	126 $\pm$ 11	0.23 $\pm$ 0.03	17.3 $\pm$ 1.4	0.57 $\pm$ 0.04	9.9 $\pm$ 0.2	6.0 $\pm$ 0.4	142 $\pm$ 1	4.38 $\pm$ 0.31	108 $\pm$ 1
1000	6	116** $\pm$ 9	0.23 $\pm$ 0.03	17.4 $\pm$ 2.6	0.56 $\pm$ 0.04	10.1 $\pm$ 0.3	6.3 $\pm$ 0.6	142 $\pm$ 0	4.33 $\pm$ 0.19	108 $\pm$ 2

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 17 Biochemical findings of male rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T.P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T.G. (mg/dl)
0	6	58 $\pm$ 9	26 $\pm$ 5	270 $\pm$ 32	0.29 $\pm$ 0.31	6.34 $\pm$ 0.15	2.98 $\pm$ 0.09	0.89 $\pm$ 0.06	101 $\pm$ 14	125 $\pm$ 36
1000	6	61 $\pm$ 6	33 $\pm$ 6	332* $\pm$ 57	0.28 $\pm$ 0.19	6.32 $\pm$ 0.20	2.95 $\pm$ 0.15	0.88 $\pm$ 0.09	91 $\pm$ 10	76* $\pm$ 33
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	174 $\pm$ 19	0.26 $\pm$ 0.02	17.1 $\pm$ 2.0	0.61 $\pm$ 0.03	10.1 $\pm$ 0.3	8.0 $\pm$ 0.9	141 $\pm$ 1	4.53 $\pm$ 0.35	104 $\pm$ 2
1000	6	161 $\pm$ 17	0.28 $\pm$ 0.02	18.0 $\pm$ 1.4	0.61 $\pm$ 0.09	9.9 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.3	141 $\pm$ 1	4.41 $\pm$ 0.19	105 $\pm$ 1

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 18

Biochemical findings of female rats treated orally with
2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

Dose (mg/kg)	No. of animals	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T. P. (g/dl)	Alb. (g/dl)	A/G	T-Cho. (mg/dl)	T. G. (mg/dl)
0	6	65 $\pm$ 9	25 $\pm$ 4	202 $\pm$ 30	0.46 $\pm$ 0.43	6.59 $\pm$ 0.25	3.39 $\pm$ 0.27	1.07 $\pm$ 0.15	111 $\pm$ 19	51 $\pm$ 24
1000	6	65 $\pm$ 12	26 $\pm$ 6	189 $\pm$ 36	0.31 $\pm$ 0.28	6.65 $\pm$ 0.23	3.36 $\pm$ 0.30	1.03 $\pm$ 0.13	92 $\pm$ 18	52 $\pm$ 15
Dose (mg/kg)	No. of animals	Glu. (mg/dl)	T-Bil. (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Crea. (mg/dl)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)
0	6	137 $\pm$ 15	0.29 $\pm$ 0.04	20.5 $\pm$ 1.7	0.64 $\pm$ 0.06	10.0 $\pm$ 0.4	6.0 $\pm$ 0.9	142 $\pm$ 1	4.39 $\pm$ 0.11	107 $\pm$ 2
1000	6	130 $\pm$ 11	0.24* $\pm$ 0.03	20.8 $\pm$ 1.4	0.62 $\pm$ 0.07	10.2 $\pm$ 0.1	5.8 $\pm$ 0.8	142 $\pm$ 1	4.31 $\pm$ 0.25	107 $\pm$ 2

Each value is expressed as mean $\pm$ S. D.

* : Significantly different from control at 5% level of probability

Table 19 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
Organ : Findings	Grade	No. of animals	6	6	6	6
Cecum : Distention	+		0	0	0	1

+ : Slight

Table 20 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
Organ : Findings	Grade	No. of animals	6	6	6	6
Cecum : Distention	+		0	0	0	1

+ : Slight

Table 21 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

		Dose (mg/kg)	0	1000
Organ : Findings	Grade	No. of animals	6	6
Testis and epididymis : Unilateral atrophy	+		0	1

+ : Slight

Table 22 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

		Dose (mg/kg)	0	1000
Organ : Findings	Grade	No. of animals	6	6
Thymus : Red spots	+		1	0

+ : Slight

Table 23

Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	6	340 ± 18	1.98 ± 0.08	10.44 ± 1.11	2.48 ± 0.14	0.69 ± 0.09	1.21 ± 0.08	0.61 ± 0.07	53.7 ± 7.1	3.03 ± 0.18	0.87 ± 0.15
	100	6	333 ± 14	2.00 ± 0.08	10.23 ± 0.88	2.36 ± 0.11	0.65 ± 0.10	1.12 ± 0.11	0.51 ± 0.07	53.5 ± 2.8	3.27 ± 0.32	0.90 ± 0.13
	300	6	346 ± 13	1.96 ± 0.07	10.95 ± 0.76	2.58 ± 0.25	0.67 ± 0.04	1.21 ± 0.08	0.64 ± 0.12	53.5 ± 5.8	3.22 ± 0.20	0.87 ± 0.14
	1000	6	335 ± 26	2.02 ± 0.08	9.89 ± 1.51	2.51 ± 0.31	0.65 ± 0.12	1.12 ± 0.10	0.57 ± 0.14	56.8 ± 8.9	3.23 ± 0.21	0.87 ± 0.10
Relative@	0	6	340 ± 18	0.58 ± 0.03	3.06 ± 0.18	0.73 ± 0.04	0.20 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.18 ± 0.02	15.79 ± 1.90	0.89 ± 0.08	0.26 ± 0.05
	100	6	333 ± 14	0.60 ± 0.03	3.07 ± 0.15	0.71 ± 0.01	0.20 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.16 ± 0.03	16.08 ± 1.03	0.98 ± 0.11	0.27 ± 0.04
	300	6	346 ± 13	0.57 ± 0.03	3.17 ± 0.20	0.75 ± 0.06	0.19 ± 0.01	0.35 ± 0.02	0.19 ± 0.03	15.54 ± 2.07	0.93 ± 0.07	0.25 ± 0.04
	1000	6	335 ± 26	0.61 ± 0.05	2.94 ± 0.24	0.75 ± 0.07	0.19 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.17 ± 0.03	17.03 ± 2.71	0.97 ± 0.10	0.26 ± 0.03

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

Table 24

Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	205 ± 16	1.78 ± 0.08	6.33 ± 0.89	1.55 ± 0.12	0.40 ± 0.06	0.80 ± 0.05	0.50 ± 0.08	57.3 ± 7.0	78.6 ± 5.4
	100	6	200 ± 16	1.84 ± 0.09	5.86 ± 0.50	1.49 ± 0.21	0.43 ± 0.04	0.75 ± 0.05	0.37* ± 0.05	60.2 ± 10.8	77.1 ± 11.1
	300	6	192 ± 13	1.85 ± 0.07	5.75 ± 0.57	1.50 ± 0.14	0.43 ± 0.03	0.74 ± 0.05	0.47 ± 0.09	64.7 ± 11.5	83.8 ± 10.5
	1000	6	191 ± 15	1.80 ± 0.03	5.49 ± 0.73	1.52 ± 0.17	0.43 ± 0.05	0.75 ± 0.10	0.43 ± 0.04	55.2 ± 8.3	83.8 ± 20.2
Relative@	0	6	205 ± 16	0.88 ± 0.06	3.09 ± 0.25	0.76 ± 0.04	0.19 ± 0.02	0.39 ± 0.01	0.24 ± 0.02	28.00 ± 2.67	38.4 ± 1.4
	100	6	200 ± 16	0.92 ± 0.08	2.94 ± 0.15	0.74 ± 0.06	0.22* ± 0.02	0.38 ± 0.03	0.19** ± 0.02	29.95 ± 3.39	38.8 ± 6.2
	300	6	192 ± 13	0.96 ± 0.05	2.99 ± 0.14	0.78 ± 0.06	0.23** ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.24 ± 0.04	33.70 ± 5.51	43.6 ± 2.6
	1000	6	191 ± 15	0.95 ± 0.08	2.86 ± 0.19	0.80 ± 0.04	0.22** ± 0.01	0.39 ± 0.03	0.23 ± 0.02	28.82 ± 3.76	43.8 ± 9.8

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

* : Significantly different from control at 5% level of probability

** : Significantly different from control at 1% level of probability

Table 25 Absolute and relative organ weights of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Testis (g)	Epidid. (g)
Absolute	0	6	399 ± 41	2.05 ± 0.10	12.01 ± 1.71	2.66 ± 0.29	0.71 ± 0.08	1.41 ± 0.17	0.49 ± 0.08	57.6 ± 6.7	3.22 ± 0.18	1.11 ± 0.09
	1000	6	386 ± 22	2.01 ± 0.09	11.42 ± 1.11	2.67 ± 0.34	0.76 ± 0.11	1.24 ± 0.09	0.47 ± 0.04	51.1 ± 7.1	3.11 ± 0.41	1.08 ± 0.18
Relative@	0	6	399 ± 41	0.52 ± 0.04	3.00 ± 0.15	0.67 ± 0.02	0.18 ± 0.01	0.36 ± 0.07	0.13 ± 0.03	14.50 ± 1.50	0.82 ± 0.10	0.28 ± 0.04
	1000	6	386 ± 22	0.52 ± 0.04	2.95 ± 0.18	0.69 ± 0.07	0.20 ± 0.03	0.32 ± 0.02	0.12 ± 0.02	13.28 ± 1.93	0.81 ± 0.10	0.28 ± 0.05

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

Table 26 Absolute and relative organ weights of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After recovery period >

	Dose (mg/kg)	No. of animals	B.W. (g)	Brain (g)	Liver (g)	Kidney (g)	Spleen (g)	Heart (g)	Thymus (g)	Adrenal (mg)	Ovary (mg)
Absolute	0	6	218 ± 15	1.82 ± 0.10	5.98 ± 0.60	1.58 ± 0.13	0.47 ± 0.05	0.80 ± 0.07	0.37 ± 0.10	56.1 ± 5.7	78.0 ± 13.7
	1000	6	214 ± 16	1.86 ± 0.07	5.91 ± 0.55	1.51 ± 0.06	0.47 ± 0.04	0.79 ± 0.04	0.33 ± 0.06	58.2 ± 6.6	78.2 ± 14.6
Relative@	0	6	218 ± 15	0.83 ± 0.04	2.74 ± 0.25	0.72 ± 0.06	0.22 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.17 ± 0.04	25.64 ± 1.46	35.6 ± 5.3
	1000	6	214 ± 16	0.88 ± 0.06	2.77 ± 0.05	0.71 ± 0.07	0.22 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.16 ± 0.02	27.24 ± 2.32	36.9 ± 7.9

Each value is expressed as mean ± S.D.

@ : Relative organ weight per 100g body weight

Table 27 Incidence of histopathological findings of male rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

		Dose (mg/kg)	0	100	300	1000
Organ	Findings	Grade	No. of animals	6	6	6
Pancreas:	Atrophy of parenchymal cell and ductal proliferation	+	0	—	—	1
Kidney	Tubular basophilic change	+	3	—	—	2
	Eosinophilic bodies in proximal tubule	+	0	—	—	1
	Interstitial cell infiltration	+	2	—	—	0
Prostate:	Interstitial cell infiltration	+	1	—	—	0

+ : Slight; — : Not examined

No abnormalities detected in the heart, lung, trachea, liver, stomach, small intestine, large intestine, urinary bladder, testis, epididymis, seminal vesicle, pituitary, thyroid, parathyroid, adrenal, brain, spinal cord, sciatic nerve, thymus, spleen, lymph node, bone marrow and eye ball from animals of control and 1000 mg/kg groups.

Table 28 Incidence of histopathological findings of female rats treated orally with 2-amino-5-methylbenzenesulfonic acid in the 28-day repeat dose toxicity test

< After treatment period >

		Dose (mg/kg)				
			0	100	300	1000
Organ	Findings	Grade	No. of animals	6	6	6
Lung	Foam cell accumulation in alveolar space	+	2	—	—	0
Liver	Hepatocellular fatty change	+	1	—	—	0
	Microgranuloma	+	0	—	—	1
Kidney	Tubular basophilic change	+	3	—	—	3
	Interstitial cell infiltration	+	1	—	—	0
	Tubular dilatation with hyaline casts	+	0	—	—	1

+ : Slight; — : Not examined

No abnormalities detected in the heart, trachea, pancreas, stomach, small intestine, large intestine, urinary bladder, ovary, uterus, vagina, pituitary, thyroid, parathyroid, adrenal, brain, spinal cord, sciatic nerve, spleen, lymph node, bone marrow and eye ball from animals of control and 1000 mg/kg groups and in thymus from animals of control and all treated groups.