

最終報告書

表 題：2-メチル-2-プロペンニトリルのラットにおける急性経口投与毒性試験
試験番号：SR-9875

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
要約	2
緒言	3
材料および方法	3
成績	7
考察	8
参考文献	9

Figures 添付

1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Tables 添付

1. Experimental design for acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) in rats (SR-9875)
2. Mortality and LD₅₀ of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) in rats (SR-9875)
3. General appearance of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
4. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
5. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
6. Gross findings of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

要 約

2-メチル-2-プロペンニトリルを1群当たり雌雄各5匹のCrj:CD (SD) IGSラットの雄に0 (対照群)、50、60、70、85および100 mg/kg、雌に0 (対照群)、60、70、85、100および120 mg/kgの投与量で単回経口投与して、その急性毒性を検討し、以下の成績を得た。

1. 死亡は、雄では50、60、70、85および100 mg/kg群において、各々1、2、3、4および5例に、雌では60、70、85、100および120 mg/kg群において、各々2、1、4、4および5例に、投与後1時間以降1日までの間に認められた。LD₅₀値 (95%信頼限界) は、雄で64 (49~76) mg/kg、雌で73 (49~87) mg/kgであった。
2. 一般状態の観察では、投与日に雌雄の各投与群で自発運動の減少、腹臥または横臥ならびに呼吸促迫が投与後数分から2時間の間に発現した。その他に、間代性痙攣、流涎、下痢ならびに外尿道口周囲、肛門周囲および口周囲の被毛の汚れが各投与群の雌雄で少数例に観察された。投与後1日には雌の70 mg/kg群の生存例1例に外尿道口周囲に被毛の汚れが観察されたが、投与後2日以降は雌雄の生存例に異常な症状はみられなかった。
3. 体重では、投与後1日に雌の70 mg/kg群で増加抑制がみられ、雌の85 mg/kg群の生存例1例でも体重が減少したが、投与後3日以降は対照群と同様な増加がみられた。投与日から投与後14日までの体重増加量および体重増加率では、雌雄の各投与群とも対照群と比較して有意差はみられなかった。
4. 剖検では、雌雄の各投与群の死亡例において肺の明橙色化および右心房の拡張がみられ、雄の60 mg/kg以上の群および雌の70 mg/kg以上の群で腺胃粘膜の暗赤色斑、雄の50、85および100 mg/kg群ならびに雌の70、100および120 mg/kg群で小腸の淡赤色化がみられた。投与後14日の剖検日まで生存した動物には、雌雄のいずれの投与群においても異常は認められなかった。

緒言

この試験は、OECD 既存化学物質の安全性点検事業の一環として、2-メチル-2-プロペンニトリルをラットに単回経口投与して、死亡状況、一般状態などを観察し、その急性毒性を検討するために実施した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、2-メチル-2-プロペンニトリル (2-methyl-2-propenenitrile、以下 MAN と略す、CAS No. : 126-98-7、ロット番号： 純度：99wt%、提供者：) で、常温において無色透明の液体である。MAN は遮光気密容器に入れ、冷暗所 (実測範囲 4~10°C) に保存した。被験物質サンプルとして、上記ロットについて約 1 g を採取し、試験施設の検体保存室に保存した。試験期間中の被験物質の安定性については、残余被験物質を用いて提供者である が純度の分析を行ない確認した (Appendix 1 および 2)。

2. 対照物質

対照物質として日本薬局方オリブ油 (ロット番号：807089、ヤクハン製薬株式会社) を室温で保存し、投与に使用した。また、MAN の溶媒として投与液の調製にも使用した。

3. 投与液の調製および化学分析

(1) 投与液の調製

投与前日に、投与量ごとに MAN を精秤し、所定の濃度となるように溶媒である対照物質を加えて溶解した。調製の際にはマスクおよび手袋を着用し、作業をドラフト内で行なった。調製液は遮光気密容器に入れ、使用時まで冷蔵庫 (5~6°C) に保存した。残余調製液は焼却処分とした。

(2) 投与液の化学分析

投与に先立って 0.2 mg/mL および 200 mg/mL の濃度の調製液中の被験物質の安定性の分析を実施した結果、MAN は調製液中で室温で 3 時間、冷暗所 (実測範囲 1~3°C) 保存条件下で 8 日間安定であることが確認された (Appendix 3)。

投与に用いる各濃度の調製液について MAN の濃度を分析した結果、含有率は所定の濃度の 98.3~101% であり、調製状態は良好であると判断した (Appendix 4)。

以上の分析は、保土谷コントラクトラボ株式会社において実施された。

4. 試験方法

(1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センター生産の SPF Crj:CD(SD) IGS ラットを用いた。ラットはこの種の試験で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

雌雄各 34 匹を 1999 年 2 月 17 日に 4 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 81 ~92 g、雌で 67~77 g であった。

(2) 検疫および馴化

受入後、個々の動物について 7 日間、一般状態を 1 日 1 回、観察した。さらに、期間中に体重測定を 2 回行なった。検疫および馴化期間中、動物に異常はみられなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間終了後、健康な動物を雌雄各 30 匹選抜して、5 週齢で試験に供した。検疫および馴化期間終了日（投与前日）の体重に基づいて層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行なった。これらの動物の体重範囲は、雄で 140~153 g、雌で 110~125 g であり、平均体重（雄 146.4 g、雌 117.5 g）の $\pm 20\%$ 以内であった。選抜から外れた動物は試験から除外した。

(4) 動物およびケージの識別

動物は、油性フェルトペンで尾部に印を付け、個体識別を行なった。飼育ケージは、群分け前は性別毎に色分けしたラベルに、試験番号および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。群分け後は性別毎に色分けしたラベルに、試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

動物を温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ （実測範囲 21~23 $^{\circ}\text{C}$ ）、湿度 $55 \pm 10\%$ （実測範囲 52~59%）、換気回数 10~15 回/時間、照明時間 12 時間（午前 8 時点灯、午後 8 時消灯の人工照明）の動物飼育室（301 号室）で飼育した。動物飼育室の温度および湿度を毎日監視したが、動物の健康に影響を及ぼすと考えられるような設定範囲からの逸脱は認められなかった。

2) 飼育器材および飼育方法

雌雄別にブラケット式金属製金網床ケージ（260W×380D×180H, mm）に、検疫および馴化期間中は 4 ないし 5 匹、群分け後は 1 匹収容した。ケージおよび給餌器は群分け時に 1 回、受皿は週 2 回以上洗浄滅菌済のものと交換した。自動給水装置の水抜きは週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、1 日 1 回の頻度で実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用した。

3) 飼料

オリエンタル酵母工業株式会社製 γ 線照射固型飼料 CRF-1 を、金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット (980904、981209) の飼料について分析した。汚染物質の分析は財団法人日本食品分析センターにおいて、微生物検査は飼料製造業者がそれぞれ行なった。分析項目と許容基準値は株式会社化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった (Appendix 5~8)。

4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、1999年1月12日および1999年4月6日に試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社において行なった。分析項目と許容基準値は株式会社化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容基準値を超える値は認められなかった (Appendix 9 および 10)。

(6) 試験群の構成

試験群の構成と各群の動物番号を Table 1 に示す。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

MAN の投与量は予備試験 (試験番号 S R - 9 8 7 4) の結果¹⁾に基づいて設定した。予備試験では、50、60、70、85、100、150、200、300 および 400 mg/kg の投与量で1群雌雄各3匹のSD系ラットに1回経口投与した結果、雄では85 mg/kg 以上の群で全例が死亡し、70 mg/kg 群で2/3例、60 mg/kg 群で1/3例が死亡し、50 mg/kg 群では死亡はみられなかった。雌では、150 mg/kg 以上の群で全例が死亡し、100、85 および 70 mg/kg 群で各2/3例が死亡し、60 mg/kg 以下の群では死亡はみられなかった。以上のことから、雄については最低用量を50 mg/kg、最高用量を100 mg/kg とし、公比約1.2で50、60、70、85 および 100 mg/kg を設定した。雌については、最低用量を60 mg/kg、最高用量を120 mg/kg とし、公比約1.2で60、70、85、100 および 120 mg/kg を設定した。その他に溶媒であるオリーブ油のみを同様の方法で投与する対照群を設けた。

2) 投与

MAN がヒトに経口的に曝露される可能性を考慮し、OECD 試験法ガイドライン (401) に従って、一晚 (約16~18時間) の絶食後、午前9時~午前11時の間に胃ゾンデを用いて1回強制的に胃内に経口投与した。投与後約4時間経過した時点で給餌を再開した。

投与容量を5 mL/kg とし、各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。

(8) 観察、測定および検査項目

1) 一般状態観察

個々の動物の生死、外観、行動等について、投与日（0日）の投与直後から投与後1時間までは連続して観察し、投与後2時間から6時間までは約1時間間隔で観察した。投与後1日から14日の剖検日までは、1日1回観察した。異常が認められる場合は、その症状ならびに症状の発現および消失が観察された時刻を記録した。死亡した動物は発見後速やかに剖検した。

2) 体重測定

個々の動物の体重を、0（投与日の投与前）、投与後1、3、5、7、10および14日（剖検日）に、電子天秤（ザルトリウス1407MP8-1、カールツァイス株式会社）を用いて測定した。死亡例については、死亡発見時の体重を記録した。

体重増加量および体重増加率を以下の計算式により算出した。

$$\text{体重増加量} = (\text{投与後14日体重}) - (0\text{日体重})$$

$$\text{体重増加率} = [(\text{体重増加量}) / (0\text{日体重})] \times 100$$

3) 剖検

死亡例は発見後速やかに剖検し、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。投与後14日の剖検日まで生存した例は、体外表を観察した後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。以下の器官・組織を10%中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。なお、精巣および精巣上体の固定にはブアン液を、保存には70%エタノールを使用した。

脳（大脳および小脳）、肝臓、腎臓（左右）、脾臓、心臓、肺（気管支含む）、胃（前胃および腺胃）、十二指腸、空腸、回腸（パイエル板含む）、盲腸、結腸、直腸、精巣（左右）、精巣上体（左右）、卵巣（左右）。

4) 病理組織学的検査

病理組織学的検査は実施しなかった。

5. 統計学的方法

LD₅₀値および95%信頼限界をprobit法を用いて算出した。

体重、体重増加量および体重増加率についてBartlettの検定法を行ない、等分散性を解析した。等分散の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散の場合はKruskal-Wallisの検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合はDunnnettの検定法を用いて対照群との比較を行なった。Kruskal-Wallis法の解析の結果、有意差がみられた場合はMann-WhitneyのU-検定法を用いて対照群との比較を行なった。なお、対照群との比較検定については、群平均および標準偏差を用い、危険率5%以下を統計学的に有意とした。

成績

1. 死亡状況およびLD₅₀値

死亡状況およびLD₅₀値をTable 2に示す。

死亡は、雄で50、60、70、85および100 mg/kg群において、各々1、2、3、4および5例に、雌で60、70、85、100および120 mg/kg群において、各々2、1、4、4および5例に、投与後約1時間以降1日までの間に認められた。probit法を用いて算出したLD₅₀値(95%信頼限界)は雄で64(49~76) mg/kg、雌で73(49~87) mg/kgであった。

2. 一般状態

一般状態の成績をTable 3、INDIVIDUAL DATA 1-1-1~1-2-6に示す。

投与日には、雄の50、60、70、85および100 mg/kg群で自発運動の減少が各々4、3、4、2および2例に、腹臥または横臥が各々5、4、3、5および5例に、同時に呼吸促進が各群の5例全例に、投与後数分から2時間の間に発現した。これらのうち、各々1、2、2、4および5例が投与後約1時間から約6時間の間に死亡した。雌の60、70、85、100および120 mg/kg群では、自発運動の減少が各々2、5、5、3および5例に、腹臥または横臥が各々1、1、4、3および4例に、呼吸促進が各々3、5、5、4および5例に、投与後数分から4時間の間に発現した。これらのうち、各々1、1、4、3および2例が投与後約1時間から約6時間の間に死亡した。その他に、間代性痙攣が雄の100 mg/kg群および雌の60 mg/kg群の各1例に、流涎が雄の60および100 mg/kg群の各1例、雌の100 mg/kg群の2例に、下痢が雌雄の70 mg/kg群の各1例に、口周囲の被毛の汚れが雄の70および85 mg/kg群の各1例、雌の120 mg/kg群の2例に、外尿道口周囲の被毛の汚れが雄の70 mg/kg群の1例、雌の70、85および120 mg/kg群で各々1、3および2例に、肛門周囲の被毛の汚れが雄の50、70および85 mg/kg群で各1例に観察された。投与後1日には、雄の70 mg/kg群の1例、雌の60、100および120 mg/kg群で各々1、1および3例が死亡した。投与後1日死亡例のうち雌の120 mg/kg群の2例ならびに生存例のうち雌の70 mg/kg群の1例に外尿道口周囲の被毛の汚れが観察された。

投与後2日以降は、生存した雄の50、60、70および85 mg/kg群ならびに雌の60、70、85および100 mg/kg群の動物に、剖検日の投与後14日まで異常な症状または死亡はみられなかった。

3. 体重

体重推移をTable 4および5、INDIVIDUAL DATA 2-1-1~2-2-6ならびにFigure 1および2に示す。

生存動物の体重では、投与後1日に雌の70 mg/kg群で対照群と比較して有意な低値がみられ、雌の85 mg/kg群の生存例1例(No. 553)で投与日と比較して体重が減少したが、投与後3

日以降、対照群と同様な体重推移を示した。その他の雌雄の群では投与後 1 日に投与日と比較して体重増加がみられた。投与日から投与後 14 日までの体重増加量および体重増加率では、雌雄の各投与群とも対照群と比較して有意差は認められなかった。

4. 剖検

剖検所見を Table 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1~3-2-6 ならびに Photo. M-1~M-3 に示す。

死亡例では、雄で肺の明橙色化が 50、60、70、85 および 100 mg/kg 群で各々 1、2、3、2 および 4 例に、腺胃粘膜の暗赤色斑が 60、70、85 および 100 mg/kg 群で各々 2、3、2 および 1 例に、小腸の淡赤色化が 50、85 および 100 mg/kg 群で各々 1、1 および 3 例に、右心房の拡張が 50、60、70、85 および 100 mg/kg 群で各々 1、2、3、4 および 3 例にみられた。雌では肺の明橙色化が 60、70、85、100 および 120 mg/kg 群で各々 1、1、3、3 および 2 例に、腺胃粘膜の暗赤色斑が 70、85、100 および 120 mg/kg 群で各々 1、3、3 および 5 例に、小腸の淡赤色化が 70、100 および 120 mg/kg 群で各 1 例に、右心房の拡張が 60、70、85、100 および 120 mg/kg 群で各々 2、1、3、4 および 4 例にみられた。

投与後 14 日の剖検日まで生存した例では、いずれの投与群の雌雄にも異常は認められなかった。

考 察

OECD 既存化学物質の安全性点検事業の一環として、MAN を 1 群当たり雌雄各 5 匹の Crj:CD (SD) IGS ラットの雄に 0、50、60、70、85 および 100 mg/kg、雌に 0、60、70、85、100 および 120 mg/kg の投与量で単回経口投与して、その急性毒性を検討した。

その結果、雌雄の各投与群で自発運動の減少、腹臥または横臥が発現し、同時に呼吸促迫が雄の全例および雌の多数例にみられた。その他に、間代性痙攣、流涎および下痢が散見された。これらの症状は、MAN をラットに単回経口投与した際に認められる所見として報告されており^{2, 3)}、いずれも被験物質投与による影響と考えられた。死亡動物の剖検の結果、雄の 60 mg/kg 以上の群および雌の 70 mg/kg 以上の群で腺胃粘膜の暗赤色斑、雄の 50、85 および 100 mg/kg 群ならびに雌の 70、100 および 120 mg/kg 群で小腸の淡赤色化がみられた。これらの変化は、被験物質に皮膚腐食性があること⁴⁾から、消化管粘膜に対しても腐食作用を起こしたものと考えられた。また、全群の死亡例で肺の明橙色化および右心房の拡張がみられ、臨床症状として呼吸促迫が認められた。肺の明橙色化および呼吸促迫については、MAN をラットに経口投与した場合にその多くが呼気中に排泄されること^{5, 6)}から、本被験物質またはその代謝物が肺および呼吸へ影響を及ぼしたものと考えられた。また、肺の明橙色化については、被験物質投与により赤血球およびヘモグロビンの減少などの溶血性変化がみられること⁷⁾との関連も考えられた。右心房の拡張につい

ては、本被験物質の肺に対する影響との関連性も考えられたが、その機序は明らかではなかった。生存動物の体重では、投与後1日に雌の70 mg/kg 群で増加抑制がみられ、雌の85 mg/kg 群の生存例1例でも体重が減少したが、投与後3日以降は対照群と同様な増加がみられた。投与日から投与後14日までの体重増加量および体重増加率では、雌雄の各投与群とも対照群と比較して有意差はみられなかった。

以上のことから、MANのラットにおける単回経口投与では、急性の中毒症状として自発運動の減少、腹臥または横臥ならびに呼吸促迫を呈した後死亡に至り、本試験条件下でのLD₅₀値(95%信頼限界)は雄で64(49~76) mg/kg、雌で73(49~87) mg/kgであった。

参考文献

- 1) 2-メチル-2-プロペンニトリルのラットにおける急性経口投与毒性試験の予備試験
(SR-9874) : 最終報告書、株式会社 化合物安全性研究所 (1999)
- 2) Farooqui, M.Y.H., Cavazos, R., Villarreal, M.I. and Massa, E. Toxicity and tissue distribution of methacrylonitrile in rats. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 20, pp.185-196 (1990)
- 3) Farooqui, M.Y.H., Diaz, R.G. and Deleon, J.H. Methacrylonitrile : *IN VIVO* metabolism to cyanide in rats, mice, and gerbils. *Drug Metab. Dispos.* 20, pp.156-160 (1992)
- 4) 製品安全データシート : 旭化成工業株式会社 (1998)
- 5) Burka, L.T., Sanchez, I.M., Ahmed, A.E. and Ghanayem, B.I. Comparative metabolism and disposition of acrylonitrile and methacrylonitrile in rats. *Arch. Toxicol.* 68, pp.611-618 (1994)
- 6) Ghanayem, B.I., Sanchez, I.M. and Burka, L.T. Investigation of methacrylonitrile metabolism and the metabolic basis for the differences in its toxicity in rats and mice. *J. Pharm. Exp. Ther.* 269, pp.581-588 (1994)
- 7) Samikkannu, T., Vasanthakumari, V. and Devaraj, S.N. Haematological and erythrocyte membrane changes induced by methacrylonitrile. *Toxicol. Letters* 92, pp.15-20 (1997)

Figures

Figure 1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Figure 2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

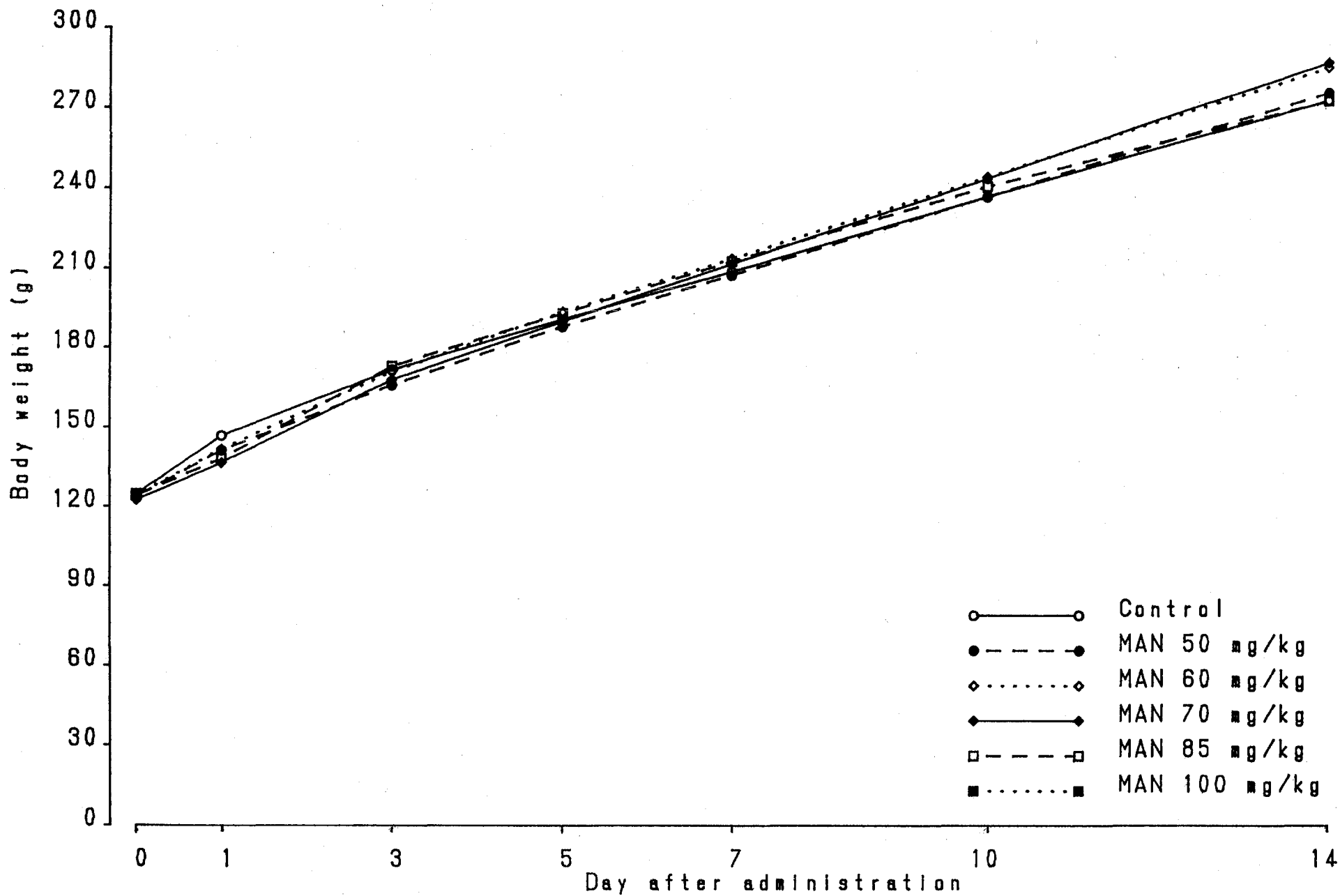


Figure 1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

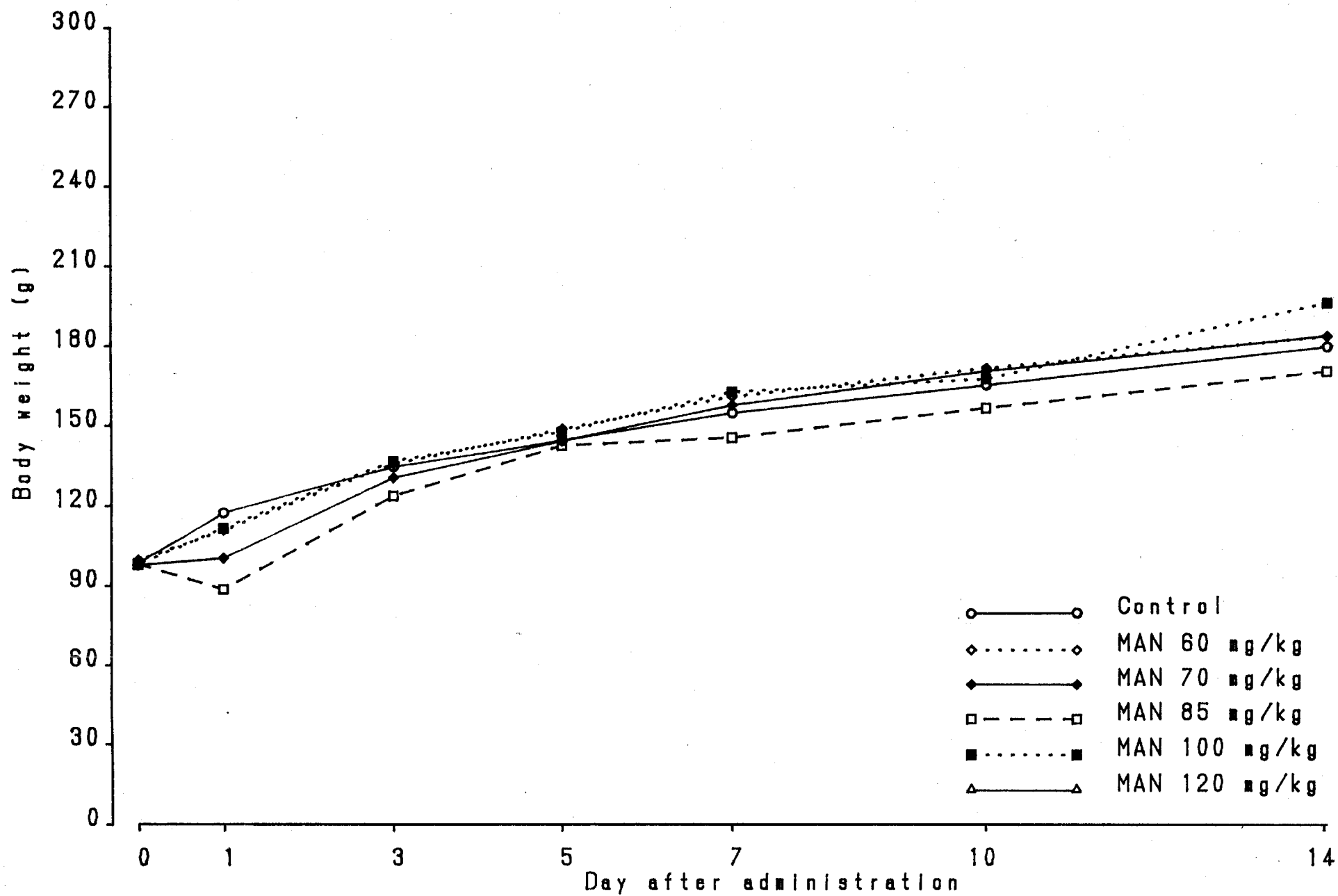


Figure 2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Tables

- Table 1. Experimental design for acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) in rats (SR-9875)
- Table 2. Mortality and LD₅₀ of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
- Table 3. General appearance of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
- Table 4. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
- Table 5. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)
- Table 6. Gross findings of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Table 1. Experimental design for acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) in rats (SR-9875)

Group	Concentration		No. of animals ^a (Animal No.)	
	of MAN mg/mL	Volume mL/kg	Male	Female
Control ^b	0	5	5 (101~105)	5 (151~155)
MAN ^c 50 mg/kg	10	5	5 (201~205)	-
MAN 60 mg/kg	12	5	5 (301~305)	5 (351~355)
MAN 70 mg/kg	14	5	5 (401~405)	5 (451~455)
MAN 85 mg/kg	17	5	5 (501~505)	5 (551~555)
MAN 100 mg/kg	20	5	5 (601~605)	5 (651~655)
MAN 120 mg/kg	24	5	-	5 (751~755)

a: Crj:CD(SD)IGS rats were dosed orally at the age of 5 weeks.

b: Rats in the control were dosed with olive oil.

c: MAN was dissolved in olive oil.

Table 2. Mortality and LD₅₀ of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Sex	Group	Distribution of dead animals			Mortality ^b	LD ₅₀ value (95% confidence limit)
		0 ^a	1	2-14		
Male	Control	0	0	0	0/5	64 mg/kg (49 ~ 76 mg/kg)
	MAN 50 mg/kg	1	0	0	1/5	
	MAN 60 mg/kg	2	0	0	2/5	
	MAN 70 mg/kg	2	1	0	3/5	
	MAN 85 mg/kg	4	0	0	4/5	
	MAN 100 mg/kg	5	0	0	5/5	
Female	Control	0	0	0	0/5	73 mg/kg (49 ~ 87 mg/kg)
	MAN 60 mg/kg	1	1	0	2/5	
	MAN 70 mg/kg	1	0	0	1/5	
	MAN 85 mg/kg	4	0	0	4/5	
	MAN 100 mg/kg	3	1	0	4/5	
	MAN 120 mg/kg	2	3	0	5/5	

a: Days after administration.

b: No. of dead animals / no. of animals dosed.

Table 3. General appearance of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Item	Male						Female					
	Control	MAN (mg/kg)					Control	MAN (mg/kg)				
		50	60	70	85	100		60	70	85	100	120
Administration day												
No. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormal findings	5 ^a	0	0	0	0	0	5	2	0	0	0	0
Decrease in locomotor activity	0	4	3	4	2	2	0	2	5	5	3	5
Prone / side position	0	5	4	3	5	5	0	1	1	4	3	4
Hyperpnea	0	5	5	5	5	5	0	3	5	5	4	5
Clonic convulsion	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
Salivation	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2	0
Diarrhea	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Soiled of perioral fur	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
Soiled of perigenital fur	0	0	0	1	0	0	0	0	1	3	0	2
Soiled of perianal fur	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Dead	0	1	2	2	4	5	0	1	1	4	3	2
1-14 days after administration												
No. of animals examined	5	4	3	3	1	0	5	4	4	1	2	3
No abnormal findings	5	4	3	2	1	- ^b	5	3	3	1	1	0
Soiled of perigenital fur	0	0	0	0	0	-	0	0	1	0	0	2
Dead	0	0	0	1	0	-	0	1	0	0	1	3

a: Values are no. of animals with findings.

b: - = blank value.

Table 4. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Group	No. of animals	Day after administration							Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	Day 0-14	% ^a
Control	5	b								
		124.6	146.8	171.8	191.0	209.2	237.4	273.4	148.8	119.516
		3.4	3.3	5.8	5.3	5.5	7.8	11.0	10.9	9.688
MAN 50 mg/kg	5	c								
		123.6	141.3	166.0	188.3	207.8	237.5	276.3	153.0	124.108
		1.5	4.7	3.5	5.1	7.3	7.6	11.2	10.2	7.487
MAN 60 mg/kg	5	c								
		124.0	141.7	171.0	193.7	214.0	244.7	285.7	159.7	126.790
		3.8	4.9	2.6	2.5	2.6	3.1	8.6	7.8	7.135
MAN 70 mg/kg	5	c								
		122.2	136.5	168.0	190.0	212.0	244.0	287.5	167.5	139.585
		3.0	9.2	5.7	8.5	4.2	7.1	7.8	7.8	6.484
MAN 85 mg/kg	5	c								
		124.0	138.0	173.0	193.0	213.0	241.0	273.0	146.0	114.960
		5.2								
MAN 100 mg/kg	5	d								
		124.6	-	-	-	-	-	-	-	-
		3.4								

a: (Body weight gain / body weight on day 0) × 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

c: Values in parentheses are no. of animals examined.

d: - = blank value.

Table 5. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Group	No. of animals	Day after administration							Body weight gain	
		0	1	3	5	7	10	14	Day 0-14	^a %
Control	5	^b 98.8	117.6	134.8	144.8	155.0	165.6	180.2	81.4	82.486
		4.0	4.6	6.4	5.3	5.4	9.2	8.8	7.8	8.184
MAN 60 mg/kg	5		^c (3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
		100.0	111.3	136.0	149.0	161.3	172.0	184.0	84.7	85.197
		3.9	5.5	2.0	5.6	4.5	5.6	6.6	4.5	2.830
MAN 70 mg/kg	5		(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
		98.2	100.8*	130.8	144.8	158.0	171.0	184.5	86.3	87.828
		4.8	7.9	11.4	9.0	12.6	13.3	13.1	9.9	9.812
MAN 85 mg/kg	5		(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
		98.6	89.0	124.0	143.0	146.0	157.0	171.0	72.0	72.730
		2.7								
MAN 100 mg/kg	5		(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
		98.4	112.0	137.0	148.0	163.0	168.0	197.0	94.0	91.260
		3.8								
MAN 120 mg/kg	5		^d	-	-	-	-	-	-	-
		98.8	-	-	-	-	-	-	-	-
		4.1								

a: (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.

b: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

c: Values in parentheses are no. of animals examined.

d: - = blank value.

*: Differs from control, $p \leq 0.05$.

Table 6. Gross findings of rats in acute oral toxicity test of 2-methyl-2-propenenitrile (MAN) (SR-9875)

Item	Male						Female					
	Control	MAN (mg/kg)					Control	MAN (mg/kg)				
		50	60	70	85	100		60	70	85	100	120
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Findings of dead animals												
No. of animals examined	0	1	2	3	4	5	0	2	1	4	4	5
Organ : Findings												
Lung : Bright orange discoloration	- ^a	1 ^b	2	3	2	4	-	1	1	3	3	2
Glandular stomach : Dark red patch, mucosa	-	0	2	3	2	1	-	0	1	3	3	5
Small intestine : Pale red discoloration	-	1	0	0	1	3	-	0	1	0	1	1
Heart : Dilatation, right atrium	-	1	2	3	4	3	-	2	1	3	4	4
Findings of surviving animals												
No. of animals examined	5	4	3	2	1	0	5	3	4	1	1	0
Abnormal findings	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	-

a: - = blank value.

b: Values are no. of animals with findings.