

テレフタロニトリル

(CAS No. 623267)

試験番号 : SR - 9325

試験名 : 1,4-ジシアノベンゼンのラットにおける急性経口毒性試験

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
表題・試験番号	
-----	2
要 約	3
緒 言	4
材料及び方法	4
成 績	8
考 察	11
参 考 文 献	12
Figures and tables	別添

表 題 1,4-ジシアノベンゼンのラットにおける急性経口毒性試験

試験番号 SR-9325

要 約

1,4-ジシアノベンゼン (CAS No. 623-26-7) の 354、500、707、1000、1414及び 2000 mg/kgを5週齢の Crj:CD(SD) 系雌雄ラットに経口単回投与し、その毒性を試験し、以下の知見が得られた。

1. 死亡例は、雄で 500、1000及び 1414mg/kg群の各 1例、2000mg/kg群の 2例に、雌で 1414mg/kg群の 1例、2000mg/kg群の 2例に認められ、LD₅₀値は雌雄ともに約 2000 mg/kgと推察された。なお、死亡時期は投与後 2～4日であった。
2. 1,4-ジシアノベンゼン投与による症状として、死亡例で間代性痙攣、強直性痙攣、自発運動の減少、横臥及び呼吸緩徐が投与後 1あるいは 2日に認められた。生存例では、間代性痙攣、流涎、自発運動の減少及び被毛汚染が投与後 2～6日に認められた。
3. 1,4-ジシアノベンゼン投与群の投与後約 1週間の体重は対照群よりも有意に低く推移し、500mg/kg以上の群では投与後 1ないし 3日に投与日体重を下回る例も認められた。
4. 1,4-ジシアノベンゼンの刺激による反応性変化と考えられる所見として、前胃において、死亡例で粘膜の白色顆粒状がほぼ全例に認められ、病理組織学的には粘膜層の肥厚、潰瘍などが認められた。また、生存例では、前胃粘膜の一部肥厚が 500mg/kg 以上の群の雌の一部の例に認められ、病理組織学的には粘膜層の肥厚、過角化などが認められた。
5. 死亡例の病理組織学的検査では、上述の他、肝臓に中心性の肝細胞の空胞化、脾臓及び肺にうっ血などが認められた。

緒 言

1,4-ジシアノベンゼン (CAS No. 623-26-7) は、燻蒸剤、すなわち、ガス状あるいは揮発性の殺菌・殺虫用化学物質である¹⁾。今回、著者らは、日本における既存化学物質の安全性の点検事業の一環として、1,4-ジシアノベンゼンをラットに経口単回投与し、死亡状況、一般状態などを観察し、その毒性を試験したので、その成績を報告する。

なお、本試験は「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」(昭和59年3月31日環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号通達)並びに「OECD優良試験所指針C(81)30最終別添2」に従い、試験方法は「新規化学物質に係る試験の方法について」(昭和49年7月13日環保業第5号環境庁企画調整局長、薬発第615号厚生省薬務局長、49基局第392号通商産業省基礎産業局連名通知)及びOECDテストガイドラインに準拠した。

材料及び方法

1. 被験物質

被験物質は、より提供された1,4-ジシアノベンゼン (CAS No. 623-26-7、1,4-dichlorobenzene、以下、DCBと略す。Lot番号： 純度：99%以上) である。被験物質は、油溶性 (水溶解度：0.03g/100g) の白色結晶であり、室温で保存した (平成5年9月1日付書類)。また、被験物質の品質は本試験の実施期間を含め約1年間保証されている (1994年8月1日付試験表)。

2. 試験動物

生後4週齢のCrj:CD (SD) 系のSPFラット (雄：42匹、体重範囲77~91g、雌：42匹、体重範囲68~83g) を、1993年9月22日に日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、9日間の馴化飼育を行った。馴化期間中、一般状態観察を1日1回、体重測定を期間中3回、順調な発育を示した動物を試験に用いた。

3. 飼育環境条件

動物の飼育は、温度 $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、換気回数 10~15回/時間及び照明時間 12時間 (午前8時から午後8時まで点灯) に設定されたバリアシステムの飼育室

(301 及び 303号室)において、ブラケット式金属製金網床ケージ(260W×380D×180H, mm)を用いて行った。ケージ当たりの収容匹数は、群分け前は5匹以内、群分け後は3匹以内とした。ケージの交換は群分け時に1回行った。

飼育室内の清掃及び床の清拭消毒は1日1回行った。なお、消毒には塩素系消毒薬(ヤクラックス、ヤクハン製薬株式会社)及びヨウ素系消毒薬(ダイヤザン、旭硝子株式会社)を1週間単位で交互に使用した。

飼料は固型飼料(CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社)を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水(札幌市水道水)を自動給水装置を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は群分け時に1回、自動給水装置の水抜きは週1回の頻度で実施した。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センターで実施(分析試験成績書:第46080360-001及び46090462-001号)し、各混入物質について当社SOPの許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査はカンエイ実業株式会社及び福田水文センターで実施(水質検査結果書:第330261、330262及び05520号)し、当社SOPの水質基準の範囲内であることを確認した。

4. 試験群の設定、群分け及び個体識別

本試験の投与量設定のために実施した限界試験(Appendix 1)では、DCBの500、1000及び2000mg/kgを1群雌雄各5匹のラットに投与し、投与後5日間観察した。その結果、2000mg/kg群の雄4例、1000mg/kg群の雄2例雌1例で投与後2~4日に死亡が認められた。500mg/kg群では死亡はみられなかったが、投与後の体重に減少あるいは増加抑制が認められ、死亡する可能性も考えられた。以上のことから、本試験では、雌雄ともに投与(調製)可能な最大量である2000mg/kgを最高用量とし、以下、公比 $\sqrt{2}$ で1414、1000、707、500及び354mg/kg、さらに1%メチルセルロース溶液(以下、1%MC溶液と略す。)を投与する対照を設け、計7群とした(Table1)。

動物数は、1群当たり雌雄各5匹とした。群分けは、馴化期間の最終日(投与前日)に各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法により行った。

動物の識別は、群分け時に油性フェルトペンを用いて尾部に行った。ケージには性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群及び動物番号を明記して標示した。

5. 被験物質の調製、投与経路及び投与方法

被験物質の調製は、用時に次の通り行った。被験物質を精秤し、3.54、5.00、7.07、10.00、14.14、及び20.00w/v%となるように1%MC溶液(MC:品名メトロース、SM-15、

Lot No.305029、信越化学工業株式会社、日本薬局方精製水：Lot 37D、ヤクハン製薬株式会社)で懸濁した。なお、2及び20%のDCB調製液が規定の濃度であり、かつ均一であることが、昭和電工株式会社により確認されている(平成5年10月12日付書類)。

投与経路は、被験物質が人体に経口的に曝露される可能性があることから、経口投与とした。投与は、動物を約17~18時間絶食させた後、胃ゾンデを用いて強制的に胃内に1回行った。投与容量は、体重1kg当り10mlとして投与日に測定した体重に基づいて算出した。

投与時の週齢は雌雄ともに5週齢で、その平均体重(体重範囲)は雄で129.4g(118~141g)、雌で109.9g(105~114g)であった。投与時刻は午前10時から午前11時の間であった。

6. 観察、測定及び検査項目

(1) 一般状態観察

全例について、投与日は投与後6時間までは頻繁に、投与後1日以降は1日1回以上の頻度で投与後14日まで観察した。発現した症状については、その種類、開始及び消失時間を記録した。

(2) 体重測定

全例について、投与日を0日と起算し、0、1、3、5、7、10及び14日に電子天秤(ザルトリウス 1407 MP8-1、カールツァイス株式会社)を用いて測定した。

(3) 剖検

死亡例は発見後直ちに剖検した。生存例は、投与後14日に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。

(4) 病理組織学的検査

全例について、剖検時に肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳(大脳・小脳)、胃(前胃・腺胃)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸及び異常所見部位を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、保存した。

摘出器官のうち、死亡例は全例(500及び1000mg/kg群の雄各1例、1414mg/kg群の雌雄各1例、2000mg/kg群の雌雄各2例)について、生存例は対照群及びDCB投与各群の雌雄各2例について、固定・保存した器官・組織をパラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色あるいは特殊染色[PAS染色、 α -アミラーゼ消化試験、PTAH染色、GFAP免疫染色、エラスチカ・ワンギーソン染色及び鍍銀(Naoumenko & Feiginの

渡辺変法) 染色] 標本を作製し、病理組織学的検査を行った。また、500及び1000mg/kg群の雌各1例の前胃、1414mg/kg群の雄1例の皮膚及び骨格筋について同様に検査した。

7. 統計処理

死亡率を算出した。

体重値について次の流れで検定を行った。すなわち、Bartlettの検定法により分散を検定し、その結果、等分散 ($p > 0.05$) を示した項目については一元配置分散分析法により解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Dunnett の検定法 (各試料の大きさが違う場合は有効反復数を用いた) により対照群と DCB投与群との比較を行った。一方、不等分散 ($p < 0.05$) を示した項目については Kruskal-Wallis 法により解析し、有意な場合 ($p < 0.10$)、Mann-WhitneyのU-検定法により対照群と DCB 投与群との比較を行った。なお、対照群との検定については、危険率5%以下を統計学的に有意とした。

成 績

1. 死亡状況及びLD₅₀値

死亡状況及びLD₅₀値を Table 2 に示した。

雄では、死亡が 500、1000 及び 1414mg/kg群の各 1 例、2000mg/kg群の 2 例で投与後 2～4 日に認められ、LD₅₀値は約 2000mg/kgと推察された。

雌では、死亡が 1414mg/kg群の 1 例、2000mg/kg群の 2 例で投与後 2 あるいは 3 日に認められ、LD₅₀値は約 2000mg/kgと推察された。

2. 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 3、INDIVIDUAL DATA 1-1-1～1-2-7に示した。

死亡例では、1414mg/kg 群の雄 1 例で投与後 2 日に間代性痙攣、呼吸緩徐、自発運動の減少がみられ、その日に死亡が認められた。2000mg/kg 群の雌 1 例では、投与後 1 日に強直性痙攣、横臥及び呼吸緩徐が認められ、投与後 2 日に死亡が認められた。その他の例では症状はみられず、投与後 3 あるいは 4 日に死亡が認められたのみであった。

生存例では、1000mg/kg 群の雄 1 例で投与後 4～6 日に間代性痙攣、流涎、自発運動の減少、口周囲の被毛汚染が、同群の雌 1 例で投与後 2～5 日に外尿道口周囲及び腹部の被毛汚染、腹部に外傷及び痂皮が認められた。1414mg/kg 群の雌 1 例で投与後 4 日に外尿道口周囲の被毛汚染が認められた。その他の例では症状は認められなかった。

3. 体重推移

体重推移を Figure 1、2、Table 4、5、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-2-7に示した。

雌雄ともに、DCB 投与群の投与後約 1 週間の体重は対照群よりも低く推移し、雄の 500mg/kg以上の群で投与後 1～7 日、雌の 354mg/kg 以上の群で投与後 1～5 日に有意な差が認められた。また、雌雄ともに 500mg/kg 以上の群で投与後 1 ないし 3 日に投与日体重を下回る例も認められ、その程度は生存例よりも死亡例で重度であった。一方、DCB 投与群の生存した例では、ほぼ全例で投与後 14 日には対照群と同程度にまで回復が認められた。

4. 剖検

剖検の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-2-7、Photo. M-1、M-2に示した。

(1) 死亡例

肺：全葉の赤色あるいは暗赤色化が 1000mg/kg群の雄 1 例、1414mg/kg群の雌 1 例、

2000mg/kg群の雄2例、雌1例に認められた。

前胃：粘膜の白色顆粒状が 500及び 1000mg/kg群の雄各1例、1414mg/kg群の雌雄各1例、2000mg/kg群の雄2例、雌1例に認められた。

腺胃：粘膜に暗赤色斑が 2000mg/kg群の雄1例に、粘膜の赤色化が 2000mg/kg群の雌1例に、粘膜に暗赤色物の付着が 1414mg/kg群の雄1例に認められた。

消化管：内容物の暗赤色化が 1000mg/kg群の雄1例、2000mg/kg群の雌2例に認められた。

皮膚：頸部及び背部の皮下に暗赤色斑が 1414mg/kg群の雄1例に認められた。

骨格筋：肩甲部の暗赤色化が 1414mg/kg群の雄1例に認められた。

外表：口周囲の被毛汚染が 500及び 1000mg/kg群の雄各1例、1414mg/kg群の雌1例、2000mg/kg群の雄2例、雌1例に、捕喰による眼球の欠損が 2000mg/kg群の雄2例に認められた。

その他に異常は認められなかった。

(2) 生存例

前胃：粘膜の一部肥厚が 500mg/kg群の雌2例、707mg/kg群の雌1例、1000mg/kg群の雌2例、1414及び 2000mg/kg群の雌各1例に認められた。

その他に異常は認められなかった。

5. 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 4-1~4-2、Photo. H-1~H-6 に示した。

(1) 死亡例

肝臓：小葉中心性の肝細胞の空胞化（軽度、PAS陽性、 α -アミラーゼで消化されず）が 500及び 1414mg/kg群の雄各1例、2000mg/kg群の雌雄各2例に認められた。

腎臓（右）：尿円柱（軽度）が 1414mg/kg群の雄1例に認められた。

脾臓：うっ血（軽度）が 500、1000及び 1414mg/kg群の雄各1例、2000mg/kg群の雌1例に認められた。

肺：うっ血（限局性を含む）が 500、1000及び 1414mg/kg群の雄各1例、2000mg/kg群の雄2例（軽度）、1414及び 2000mg/kg群の雌各1例（中等度）に認められた。

前胃：粘膜層の肥厚（軽度）が 500及び 1000mg/kg群の雄各1例、1414mg/kg群の雌雄各1例、2000mg/kg群の雄2例、雌1例に、潰瘍（中等度）が 500及び 1000mg/kg群

の雄各1例、1414mg/kg群の雌雄各1例、2000mg/kg群の雄2例に、粘膜下織における好中球を主とする細胞浸潤（軽度）及び水腫（軽度）が500及び1000mg/kg群の雄各1例、1414mg/kg群の雌雄各1例、2000mg/kg群の雄2例、雌1例に認められた。

頸部あるいは背部の皮膚：筋層における筋線維の巣状壊死（軽度）、皮下織における限局性の出血（軽度）、真皮の限局性の線維化（軽度）及び限局性のうっ血（軽度）、痂皮形成（軽度）が1414mg/kg群の雄1例に認められた。

肩甲部骨格筋：筋線維の壊死（軽度）が1414mg/kg群の雄1例に認められた。

その他に異常は認められなかった。なお、剖検で腺胃に異常がみられたが、病理組織学的に異常は認められなかった。

(2)生存例

腎臓（右/左）：近位尿細管を主とする尿細管上皮における硝子滴沈着（軽度）が対照群の雄1例、354、500及び707mg/kg群の雄各2例、1000mg/kg群の雄1例、1414及び2000mg/kg群の雄各2例に、限局性の線維化（軽度）及びリンパ球を主とする限局性の細胞浸潤（軽度）が707mg/kg群の雄1例に認められた。

前胃：粘膜層の肥厚（限局性を含む）が707mg/kg群の雌雄各1例、1000mg/kg群の雄1例、1000及び1414mg/kg群の雌各1例（以上、軽度）、500mg/kg群の雌2例、1000及び2000mg/kg群の雌各1例（以上、中等度）に、過角化（限局性を含む、軽度）が500mg/kg群の雌2例、707mg/kg群の雌雄各1例、1000mg/kg群の雄1例、雌2例、1414及び2000mg/kg群の雌各1例に、限局性の粘膜下織の肉芽形成が707mg/kg群の雄1例に認められた。

その他に異常は認められなかった。

考 察

DCBの 354、500、707、1000、1414及び2000mg/kgを5週齢の Crj:CD (SD) 系雌雄ラットに経口単回投与し、その毒性を試験した。

死亡例は、雄で 500、1000及び 1414mg/kg群の各1例、2000mg/kg群の2例に、雌で 1414mg/kg群の1例、2000mg/kg群の2例に認められ、LD₅₀値は雌雄ともに約 2000mg/kgと推察された。なお、死亡時期は投与後2～4日であり、遅延死する傾向が認められた。

DCB 投与による症状として、死亡例で間代性痙攣、強直性痙攣、自発運動の減少、横臥及び呼吸緩徐が投与後1あるいは2日に認められた。生存例では、間代性痙攣、流涎、自発運動の減少及び被毛汚染が投与後2～6日に認められた。

DCB 投与群の投与後約1週間の体重は対照群よりも有意に低く推移した。また、500 mg/kg以上の群では投与後1ないし3日に投与日体重を下回る例も認められ、その程度は生存例よりも死亡例で重度であった。

DCB の刺激による反応性変化と考えられる所見が前胃に認められた。すなわち、死亡例で粘膜の白色顆粒状がほぼ全例に認められ、病理組織学的には粘膜層の肥厚、潰瘍などが認められた。また、生存例では、粘膜の一部肥厚が 500mg/kg 以上の群の雌の一部の例に認められ、病理組織学的には粘膜層の肥厚、過角化などが認められた。

死亡例の病理組織学的検査では、上述の他、肝臓に中心性の肝細胞の空胞化が認められた。本所見は通常酸素欠乏時に認められる変性変化であり、本試験では死亡までの経過が長いことに伴った変化と考えられた。また、脾臓及び肺にうっ血、頸部あるいは背部の皮膚に筋層における筋線維の巣状壊死、皮下織における出血、真皮の線維化及びうっ血、肩甲部骨格筋に筋線維の壊死などが認められた。このうち、皮膚や骨格筋における所見については死亡当日に間代性痙攣のみられた例に認められた。本所見は、DCBの 500mg/kgを14日間反復投与し、剖検当日に痙攣のためケージに衝突した例で認められており²⁾、本例も痙攣の際の衝撃によることが予想された。なお、腎臓でみられた種々の病理組織学的所見については背景データ (Appendix 2) あるいは本試験の対照群で認められる変化であり、DCB投与との関連はないと考えられた。

以上のことから、死亡例については、体重推移や肝臓における所見を考慮すると DCBの前胃に対する障害が継続したことにより一般状態が悪化し、死亡に致ったものと推測された。

参考文献

- 1) N.Irving Sax : p-Benzenedinitrile. In N.Irving Sax (Ed.) Dangerous Properties of Industrial Materials. Sixth Edition. p364, Van Nostrand Reinhold Company Inc., New York, 1984.
- 2) 1,4-ジシアノベンゼンのラットにおける14日間反復投与経口毒性試験(SR-9326), 1994.

Figures

Figure 1. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DCB

Figure 2. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DCB

Tables

Table 1. Experimental design for the acute oral toxicity study of DCB in rats

Table 2. Mortality and LD₅₀ values of rats in the acute oral toxicity study of DCB

Table 3. General appearance of rats in the acute oral toxicity study of DCB

Table 4. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DCB

Table 5. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DCB

Table 6. Gross findings of rats in the acute oral toxicity study of DCB

Table 7. Histopathological findings of rats in the acute oral toxicity study of DCB

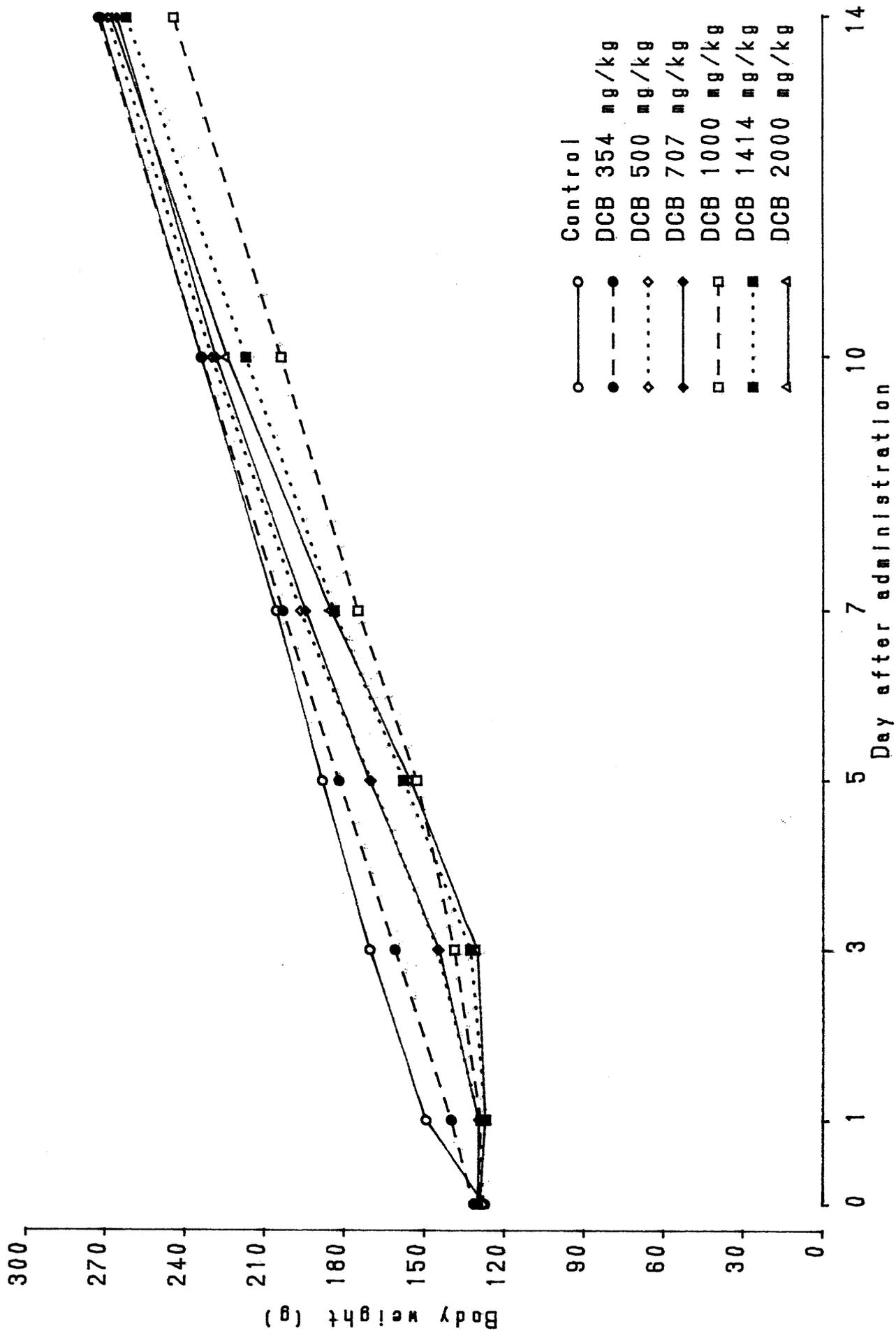


Figure 1. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DCB

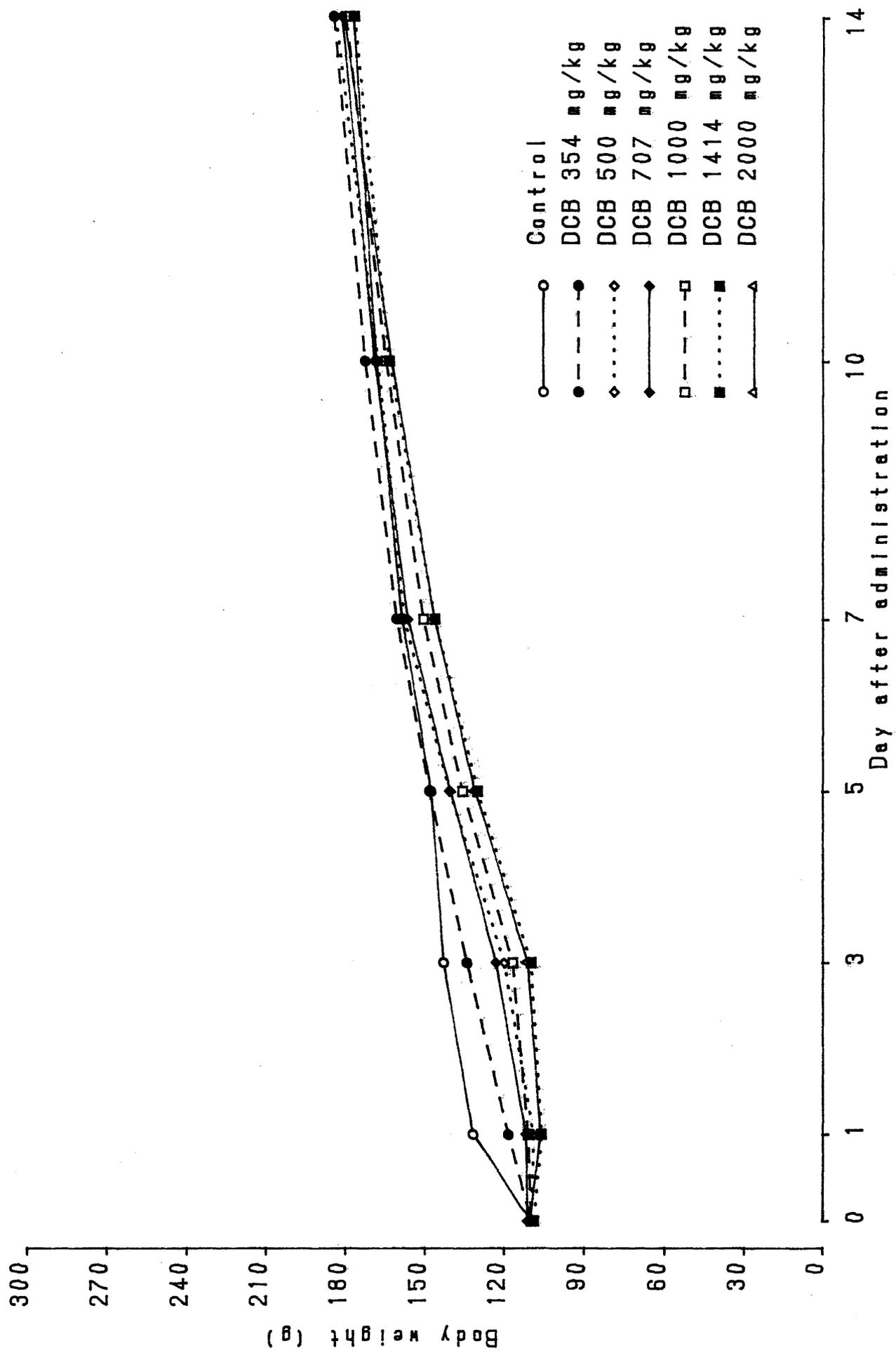


Figure 2. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DCB

Table 1. Experimental design for the acute oral toxicity study of DCB in rats

Sex	Group	Concentration of DCB (w/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals ^a
	^b			
	Control	0	10	5
	^c			
	DCB 354 mg/kg	3.54	10	5
	DCB 500 mg/kg	5.00	10	5
	DCB 707 mg/kg	7.07	10	5
	DCB 1000 mg/kg	10.00	10	5
	DCB 1414 mg/kg	14.14	10	5
	DCB 2000 mg/kg	20.00	10	5
	^b			
	Control	0	10	5
	DCB 354 mg/kg	3.54	10	5
	DCB 500 mg/kg	5.00	10	5
	DCB 707 mg/kg	7.07	10	5
	DCB 1000 mg/kg	10.00	10	5
	DCB 1414 mg/kg	14.14	10	5
	DCB 2000 mg/kg	20.00	10	5

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

b: Control was 1% methylcellulose dissolved in purified water.

c: DCB (1,4-dicyanobenzene) was suspended in control solution.

Table 2. Mortality and LD₅₀ values of rats in the acute oral toxicity study of DCB

Sex	Group	Distribution of dead animals										Approximately LD ₅₀ value (mg/kg)	
		0	1	2	3	4	5-14	a	b	Mortality			
Male	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	2000
	DCB 354 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DCB 500 mg/kg	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1/5	
	DCB 707 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DCB 1000 mg/kg	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1/5	
	DCB 1414 mg/kg	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1/5	
	DCB 2000 mg/kg	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2/5	
Female	Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	2000
	DCB 354 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DCB 500 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DCB 707 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DCB 1000 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	DCB 1414 mg/kg	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1/5	
	DCB 2000 mg/kg	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2/5	

a: Day after administration.

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

Table 3. General appearance of rats in the acute oral toxicity study of DCB

Item	Male										Female				
	DCB (mg/kg)										DCB (mg/kg)				
	Control	354	500	707	1000	1414	2000	Control	354	500	707	1000	1414	2000	
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
Findings of dead animals	0	0	1	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1	2	
No. of animals examined	a		b												
Clonic convulsion	-	-	0	-	0	1	0	-	-	-	-	-	0	0	
Tonic convulsion	-	-	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	1	
Decrease in spontaneous activity	-	-	0	-	0	1	0	-	-	-	-	-	0	0	
Lateral position	-	-	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	1	
Bradypnea	-	-	0	-	0	1	0	-	-	-	-	-	0	1	
Findings of surviving animals	5	5	4	5	4	4	3	5	5	5	5	4	4	3	
No. of animals examined															
Clonic convulsion	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Decrease in spontaneous activity	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Salivation	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Soiling of perioral hair	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Soiling of perigenital hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
Soiling of abdominal hair	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Trauma and scab in abdominal region	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	

a: - = blank value.

b: Values are no. of animals with findings.

Table 4. Body weight changes of male rats in the acute oral toxicity study of DCB

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	127.2 5.8	149.4 4.8	170.6 7.0	188.4 8.0	205.8 11.5	234.0 14.9	271.6 17.5
DCB 354 mg/kg	5	131.4 5.6	139.8 8.1	161.2 9.9	182.2 12.1	203.4 14.4	233.8 18.4	272.4 21.0
DCB 500 mg/kg	5	127.8 6.2	129.4** 7.4	(4)b 145.3** 4.4	(4) 170.3 8.4	(4) 196.8 10.2	(4) 230.0 12.7	(4) 268.8 13.7
DCB 707 mg/kg	5	129.8 7.7	129.6** 6.7	144.6** 8.6	170.8 9.4	194.8 8.9	228.4 9.4	265.4 15.3
DCB 1000 mg/kg	5	130.0 6.1	128.8** 8.9	(4) 138.8** 14.3	(4) 153.3** 27.4	(4) 175.3* 31.9	(4) 204.0 33.2	(4) 244.3 35.2
DCB 1414 mg/kg	5	130.2 4.0	127.0** 6.1	(4) 132.8** 16.3	(4) 158.3* 13.7	(4) 184.0 14.4	(4) 217.3 14.1	(4) 262.0 15.9
DCB 2000 mg/kg	5	129.2 4.9	127.2** 7.5	130.2** 5.0	155.7* 3.5	185.3 4.0	224.3 4.9	(3) 267.7 4.0

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

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

*: Differs from control, $p < 0.05$.

** : Differs from control, $p < 0.01$.

Table 5. Body weight changes of female rats in the acute oral toxicity study of DCB

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	109.8	131.8	143.0	147.8	159.0	168.6	177.4
		3.4	5.5	4.9	5.4	5.2	6.1	5.8
DCB 354 mg/kg	5	109.8	118.4**	134.2	148.4	161.0	172.8	184.8
		2.7	6.2	7.5	8.1	10.2	9.0	14.2
DCB 500 mg/kg	5	109.8	109.0**	120.0**	140.8	158.2	168.0	184.2
		3.1	4.6	8.9	7.5	10.3	9.7	7.8
DCB 707 mg/kg	5	111.2	111.8**	123.2**	140.4	156.8	169.2	181.8
		3.3	5.3	5.1	3.6	1.6	2.8	2.3
DCB 1000 mg/kg	5	109.8	111.0**	116.8**	135.8*	150.8	165.0	180.2
		3.0	6.2	6.2	7.5	8.1	10.1	14.3
DCB 1414 mg/kg	5	108.8	106.0**	110.0**	130.3**	146.5	163.8	177.0
		2.4	3.3	6.6	8.5	6.9	7.6	6.7
DCB 2000 mg/kg	5	110.4	106.4**	111.3**	131.3*	146.7	163.0	181.0
		1.3	4.9	3.1	5.7	4.5	2.6	1.7

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

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

*: Differs from control, p<0.05.

** : Differs from control, p<0.01.

Table 6. Gross findings of rats in the acute oral toxicity study of DCB

Item	Male						Female							
	DCB (mg/kg)						DCB (mg/kg)							
	Control	354	500	707	1000	1414	2000	Control	354	500	707	1000	1414	2000
Total no. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Findings of dead animals	0	0	1	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1	2
No. of animals examined														
Organ : Findings														
Lung : Red or dark red discoloration of all lobes	a		b											
Fore stomach : White granular mucosa	-	-	0	-	1	0	2	-	-	-	-	-	1	1
Glandular stomach : Dark red patches on mucosa	-	-	1	-	1	1	2	-	-	-	-	-	1	1
Red discoloration of mucosa	-	-	0	-	0	0	1	-	-	-	-	-	0	0
Attachment of dark red substance on mucosa	-	-	0	-	0	0	0	-	-	-	-	-	0	1
Digestive tract : Dark red discoloration of contents	-	-	0	-	0	1	0	-	-	-	-	-	0	0
Skin : Dark red patches on subcutaneous tissue in cervical and dorsal regions	-	-	0	-	1	0	0	-	-	-	-	-	0	2
Skeletal muscle : Dark red discoloration in scapular region	-	-	0	-	0	1	0	-	-	-	-	-	0	0
External : Soiling of perioral hair	-	-	1	-	1	0	2	-	-	-	-	-	1	1
Defect of eyeballs by cannibalism	-	-	0	-	0	0	2	-	-	-	-	-	0	0
Findings of surviving animals														
No. of animals examined	5	5	4	5	4	4	3	5	5	5	5	5	4	3
Organ : Findings														
Fore stomach : Partial thickening of mucosa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	1

a: - = not examined.

b: Values are no. of animals with findings.

Table 7. Histopathological findings of rats in the acute oral toxicity study of DCB

Item	Male										Female											
	DCB (mg/kg)					DCB (mg/kg)					DCB (mg/kg)					DCB (mg/kg)						
	Control	354	500	707	1000	1414	2000	Control	354	500	707	1000	1414	2000	Control	354	500	707	1000	1414	2000	
Total no. of animals examined	2	2	3	2	3	3	4	2	2	3	2	3	3	4	2	2	3	2	3	3	4	
Findings of dead animals																						
No. of animals examined	0	0	1	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	1	2	
Organ : Findings	a																					
	b																					
	c																					
Liver : Centrilobular vacuolar change of hepatocytes			1	-	0	1	2															
Kidney(right) : Urinary cast																						
Spleen : Congestion			1		1	1																
Lung : Congestion			1		1	1f	2															
Forestomach : Thickening of mucosal layer			0		0	0	0															
Ulcer			1		1	1	2															
Infiltration of cells, mainly neutrophils in submucosal tissue																						
Edema in submucosal tissue																						
Skin of cervical or dorsal region :																						
Focal necrosis of muscle fibers in muscular layer					*	1(1)	*							*						*	*	
Focal hemorrhage in subcutaneous tissue					*	1(1)	*							*						*	*	
Focal fibrosis in dermis					*	1(1)	*							*						*	*	
Focal congestion in dermis					*	1(1)	*							*						*	*	
Scab formation					*	1(1)	*							*						*	*	
Skeletal muscle of scapular region : Necrosis of muscle fibers					*	1(1)	*							*						*	*	

(cont inued)

Table 7. (continued)

Item	Male										Female				
	DCB (mg/kg)										DCB (mg/kg)				
	Control	354	500	707	1000	1414	2000	Control	354	500	707	1000	1414	2000	
Total no. of animals examined	2	2	3	2	3	3	4	2	2	3	2	3	3	4	
Findings of surviving animals	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	3	2	2	
No. of animals examined	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	3	2	2	
Organ : Findings															
Kidney(right/left) :															
Hyaline droplets deposition in tubular epithelium,															
mainly proximal tubules	(+)	1	2	2	2	1	2	0	0	0(2)	0	0(2)	0	0	
Focal fibrosis	(+)	0	0	0	1	0	0	0	0	0(2)	0	0(2)	0	0	
Focal infiltration of cells, mainly lymphocytes	(+)	0	0	0	1	0	0	0	0	0(2)	0	0(2)	0	0	
Forestomach : Thickening of mucosal layer	(+)	0	0	0	1f	1	0	0	0	0	1	1	1	0	
Hyperkeratosis	(++)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1f	0	
Focal granulation in submucosal tissue	(+)	0	0	0	1f	1	0	0	0	0	1	2i	1	1	
Focal granulation in submucosal tissue	(+)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

a: There were no abnormal findings in the heart, cerebrum, cerebellum, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon or rectum.

b: + = slight change and ++ = moderate change.

c: - = blank value.

d: Values are no. of animals with findings.

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

f: Focal.

g: * = not examined.

h: There were no abnormal findings in the liver, spleen, heart, lung, cerebrum, cerebellum, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon or rectum.

i: Focal in one animal.