

最終報告書

3, 4-ジクロロ-1-ブテンの
ラットを用いる急性経口毒性試験

(試験番号 94-053)

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. 供試動物数および投与量	3
4. 被験物質調製および投与方法	3
5. 観察事項	3
試験成績	
1. LD ₅₀ 値	4
2. 一般状態	4
3. 体重の推移	4
4. 剖検所見	4
考察	5

添付資料

A. 群別平均値表

Figures	1, 2	用量—死亡率曲線
Table	1	死亡率および LD ₅₀ 値
Table	2	一般状態
Table	3	体重
Tables	4, 5	剖検所見

要 約

3, 4-ジクロロ-1-ブテンの急性経口毒性試験を、5週齢のSD系〔Crj:CD(SD)〕ラットを1用量群雌雄各5匹用い、0(対照), 670, 804, 965, 1158, 1389 および 1667mg/kg用量の単回投与により実施した。

その結果、雌雄とも死亡は804mg/kg以上の用量群で認められ、LD₅₀値(95%信頼限界)は雄で943(828~1068)mg/kg、雌で946(808~1085)mg/kgであった。中毒症状として、雌雄とも自発運動低下、呼吸深大、眼瞼下垂、流涎、筋弛緩、腹臥姿勢、立毛、鼻汁による鼻周囲被毛の汚染が認められ、死亡の多くは、投与翌日から2日に認められた。生存動物は投与後1時間以降回復傾向がみられ、概ね2日には回復した。体重は雌雄とも投与翌日に減少したが、症状の回復した3日以降順調な増加が認められた。剖検では、死亡動物に肺の含気したあるいは水腫性の膨化、膀胱の多量の尿貯留および緑色の結晶物が雌雄に、胃の腺胃部粘膜の黒色点散在が雌にみられた。生存動物には器官の肉眼的変化は認められなかった。

緒言

3, 4-ジクロロ-1-ブテンは、主にプラスチック産業で、合成ポリマーの製造等に用いられている。本物質の異性体である1, 4-ジクロロ-2-ブテンについて、ラットにおける経口LD₅₀値は89mg/kg¹⁾であるが、本物質の急性毒性については不明である。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。

試験目的

3, 4-ジクロロ-1-ブテンをラットに経口投与し、急性毒性を明らかにする。

試験材料および方法

1. 被験物質 (Appendices 1, 2)

被験物質の3, 4-ジクロロ-1-ブテン(CAS No. 760-23-6)は、分子量125.00, 融点 -61℃の無色透明の液体で、水に溶けにくく、エタノールに溶けやすく、ベンゼン、クロロホルムに極めて溶けやすい。試験には、の試
薬 (ロット番号 純度 99.7%) を入手し、冷暗所(4℃)で密栓保管し、使用した。本物質の詳細は、Appendix 1に示した。供試した被験物質は、東京化成工業株式会社分析センター(東京都北区豊島6-15-9)に委託して、投与後分析し、使用期間中安定であったことを確認した(Appendix 2)。

2. 供試動物および飼育条件 (Appendices 3~5)

SD系 (Crj:CD(SD)) SPF ラットを日本チャールス・リバー(株)(神奈川県厚木市下古沢795 番地)より4週齢(雄42匹, 雌42匹)で搬入し、7日間試験環境に馴化させた後、発育が順調で一般状態の良好な雌雄各35匹を5週齢で供試した。投与時の平均体重(体重の範囲)は、雄 133(125~138)g, 雌 115(110~122)gであった。

動物は、馴化期間および投与後の観察期間とも室温 22±3℃, 湿度 55±10% (温湿度の測定結果: Appendix 3), 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時点灯, 午後6時消灯)に設定されたバリアーシステム動物飼育室で、ステンレス製金網ケージ(276W×426D×200Hmm)に2~3匹ずつ雌雄別に収容して飼育した。飼料(日本農産工業(株))

製、固型飼料ラボMRストック, Lot No.94.10.77, 汚染物質の分析結果: Appendix 4)と水(1 μmカートリッジフィルター濾過後紫外線照射による殺菌水道水, 汚染物質の分析結果: Appendix 5)は自由に摂取させた。

なお、温湿度の測定結果、飼料および飲水の汚染物質の分析結果から、動物の飼育期間を通じて、試験成績に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかったと判断された。

3. 供試動物数および投与量

供試動物数は、1群雌雄各5匹とし、各用量群への振り分けは、投与直前の体重に基づく層別化無作為抽出法により行った。投与用量については、1用量群雌雄各3匹を用いた投与量設定試験の結果を参考にして設定した。すなわち、雌雄とも372, 521, 729, 1020, 1429および2000mg/kg用量を単回経口投与した結果、1020mg/kg用量群の雌雄各1匹および1429mg/kg以上の用量群の雌雄各3匹が死亡した。したがって、本試験の用量は、用量-死亡率曲線およびLD₅₀値が求められると判断された670, 804, 965, 1158, 1389 および1667mg/kg(公比1.2)の6用量を設定し、他に媒体(局方ゴマ油)のみ投与の対照を設けた。

4. 被験物質調製および投与方法

3, 4-ジクロロ-1-ブテンは、油溶性であるため局方ゴマ油(宮澤薬品株式会社製, ロット番号BK10)を媒体にして、所定の投与用量になるような濃度の溶液(670mg/kg:6.70w/v%; 804mg/kg:8.04w/v%; 965mg/kg:9.65w/v%; 1158mg/kg:11.58w/v%; 1389mg/kg:13.89w/v%; 1667mg/kg:16.67w/v%)に調製した。調製は投与直前に行った。投与液量は体重1kg当たり10mlとした。

投与方法は、胃ゾンデを用いて強制的に動物の胃内に単回経口投与(投与時刻:午前10:21~10:55)した。動物は投与前日午後5時より投与後3時間まで除餌し、水のみを給与した。

5. 観察事項

観察期間は投与後14日間とし、その間の一般状態の観察と生死の確認は、投与日においては投与後1時間までと投与後約3時間および6時間までにそれぞれ1回ずつ行い、これを投与0日とした。また、翌日(投与後1日)以降は、前日の午後5時から当日の午後5時までを1日とし、実際の観察は午前9時から午後5時までの間に、1回以上行った。

体重は、投与直前（投与0日）、投与後1、3、7および14日に、また死亡動物については投与日を除く死亡発見日にも測定し、測定日間の体重増加量を算出した。

剖検は、死亡例については発見後速やかに、生存例については観察期間終了後にエーテル麻酔死させて行った。

LD₅₀値および用量-死亡率曲線は、投与後14日間の観察期間終了時における死亡率を基に、プロビット法を用いて求めた。

試験成績

1. LD₅₀値 (Table 1)

投与後14日間の死亡率は、0、670、804、965、1158、1389 および 1667mg/kg用量群において、それぞれ雄では 0、0、20、40、100、100 および100%、雌では 0、0、40、40、80、100 および100%であった。死亡率から計算されたLD₅₀値（95%信頼限界）は、雄で 943(828~1068)mg/kg、雌で 946(808~1085)mg/kgであった。用量-死亡率曲線はFigures 1 および 2 に示した。

2. 一般状態 (Table 2, Appendices 6, 7)

被験物質投与の全用量群の雌雄に共通して投与後 5~15分より自発運動の低下、呼吸深大、眼瞼下垂、流涎、筋弛緩および腹臥姿勢がみられ、投与後 1~3 時間から立毛が認められた。さらに、投与後 1~3 時間から鼻汁による鼻周囲被毛の汚染を呈する例が用量依存的に認められた。その他に、雄 1 例に赤色尿が投与翌日に認められた。死亡は、投与後 1 時間以降からみられ、多くは投与翌日（1日）から 2 日に認められた。死亡直前には、呼吸が微弱となった。一方、生存動物では、これらの症状は投与後 1~3 時間から回復傾向がみられ、概ね 2 日には回復した。

3. 体重の推移 (Table 3, Appendices 8, 9)

被験物質投与群の雌雄とも投与翌日に、投与直前に比べ減少がみられたが、3日には増加に転じ、以降順調な増加が認められた。

4. 剖検所見 (Tables 4, 5, Appendices 10, 11)

死亡動物の剖検において、肺の含気したあるいは水腫性の膨化が投与日の死亡の雌雄の多くに

認められた。また、膀胱に多量の尿の貯留が投与翌日以降の例に比較的高頻度でみられ、緑色で最大2mm程度の板状結晶を多数含む例もあった。貯留した尿は、わずかに緑色を呈していた。雌の投与後2ないし3日の死亡例では、胃の腺胃部粘膜の黒色点散在が高頻度で認められた。生存動物では、器官の肉眼的異常は認められなかった。

考 察

3, 4-ジクロロ-1-ブテンについて、ラットを用いる急性経口毒性試験を実施した。

その結果、雌雄とも死亡は804mg/kg以上の用量群で認められ、LD₅₀値は雄で943mg/kg、雌で946mg/kgであった。

中毒症状としては、雌雄とも自発運動低下、呼吸深大、眼瞼下垂、流涎、筋弛緩、腹臥姿勢、立毛および鼻汁による鼻周囲被毛の汚染が認められ、死亡の多くは、投与翌日から2日にかけてみられた。体重は投与翌日に減少したが、症状が回復した3日以降は順調な増加を示した。剖検においては、投与後短時間の死亡例で、肺の含気したあるいは水腫性の膨化が、投与翌日以降の例では膀胱の多量の尿貯留が認められた。また、膀胱内に緑色の結晶を認める例があったが、これは被験物質のおそらく代謝物が析出したものと推察される。さらに、1例ながら赤色尿の排泄がみとめられ、析出した結晶の物理的刺激による尿路系からの出血がうかがわれた。また、投与後2日以降の死亡動物の雌で、胃の腺胃部粘膜に黒色点が散在性に認められたが、出血性の粘膜障害を示唆する変化と判断された。

以上の結果より、3, 4-ジクロロ-1-ブテンはラットにおけるLD₅₀値が雄943mg/kg、雌946mg/kgであった。

参考文献

- 1) H.F.Smyth Jr., C.P.Carpenter and C.S.Weil, *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 4, 119-122(1951)

3, 4-ジクロロ-1-ブテンの
ラットを用いる急性経口毒性試験
(試験番号 94-053)

最終報告書 添付資料 A
(群別平均値表)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

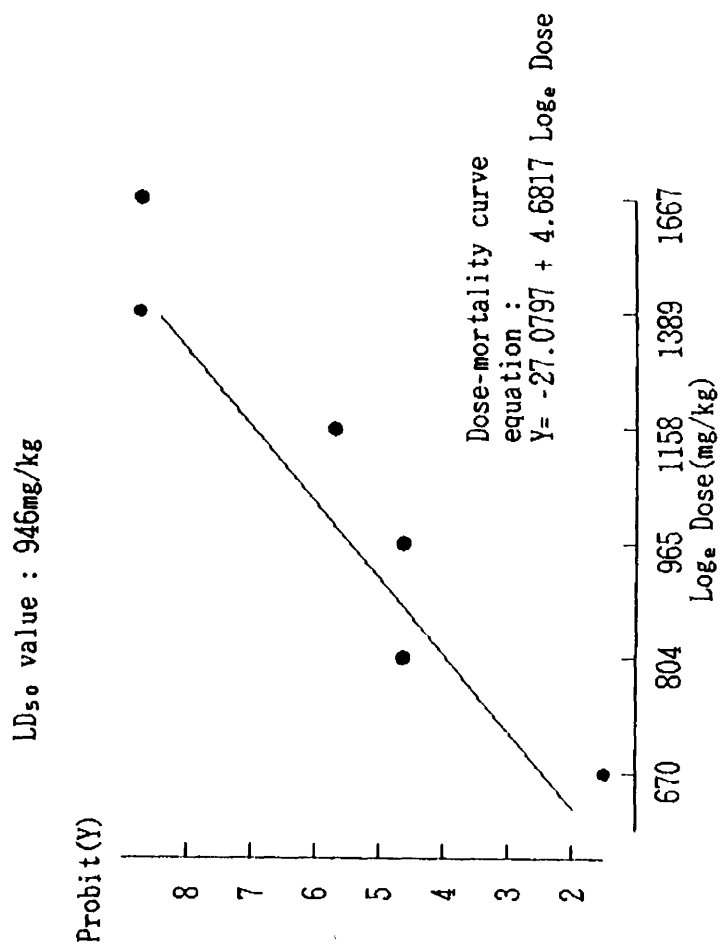


Fig. 2 Dose-mortality curve of acute toxicity in female rats

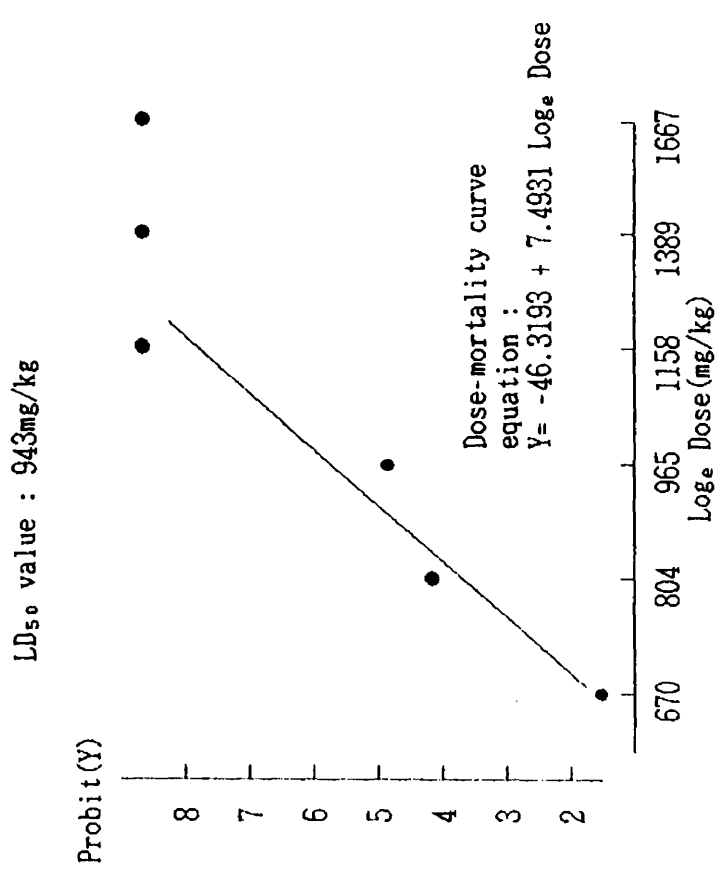


Fig. 1 Dose-mortality curve of acute toxicity in male rats

Table 1 Mortality and LD₅₀ value of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Number of animals that died						Mortality	LD ₅₀ value (95% Confidence limit) (mg/kg)									
			Day 1	3	6	hrs. 1	2	3			4	5	6	7	8	9	14		
Male	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ^a /5 ^b	
	670	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	804	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5	943mg/kg
	965	5	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/5	(828 - 1068)
	1158	5	0	1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5	
	1389	5	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5	
	1667	5	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5	
Female	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	670	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	804	5	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/5	946mg/kg
	965	5	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2/5	(808 - 1085)
	1158	5	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4/5	
	1389	5	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5	
	1667	5	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5/5	

a : Number of animals that died; b : Number of animals examined

Table 2-1 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day															
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Decrease in locomotor activity	Male	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		670	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5
		804	5/5	5/5	5/5	5/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	5/5	4/4	3/3	3/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	4/4	4/4	2/2												
	1389	5/5	5/5	4/4														
	1667	5/5	5/5	4/4	1/1													
Decrease in locomotor activity	Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		670	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		804	5/5	5/5	5/5	5/5	2/4	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	
		965	5/5	5/5	5/5	5/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	
		1158	5/5	5/5	5/5	4/4	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	
	1389	5/5	5/5	5/5	1/1													
	1667	5/5	4/4	3/3														

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-2 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day						10	11	12	13	14	
			0	1	2	3	4	5						6
Deep respiration	Male	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		670	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	5/5	1/5	1/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	5/5	1/4	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	2/4	2/4	2/2								
	Female	670	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	5/5	0/5	0/5	1/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		965	5/5	2/5	2/5	2/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	5/5	5/5	4/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		1389	5/5	5/5	5/5	1/1								
1667	5/5	4/4	3/3											

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-3 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day																		
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
					1 3 6 hrs.																
Ptosis	Male	0	0*/5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
		670	5/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		804	5/5	1/5	1/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	5/5	2/4	2/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	3/4	3/4	2/2															
		1389	5/5	3/5	3/4																
		1667	5/5	5/5	4/4	1/1															
	Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		670	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	5/5	0/5	0/5	1/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		965	5/5	2/5	2/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	5/5	5/5	4/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		1389	5/5	5/5	5/5	1/1															
		1667	5/5	4/4	3/3																

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-4 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
			0	1															3	6 hrs.
Male	0	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	670	670	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
	804	804	5/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	965	965	5/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	1158	1158	5/5	0/4	0/4	0/2														
Salivation	Female	0*	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	670	670	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	804	804	5/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	Female	965	5/5	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	1158	1158	5/5	0/5	0/5	0/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
	1389	1389	5/5	0/5	0/5	0/1														
	Female	1667	5/5	0/4	0/3															

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-5 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
			0	3															6 hrs.		
Flaccidity	Male	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
		670	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		804	5/5	2/5	1/5	1/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	5/5	2/4	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	2/4	2/4	2/2															
		1389	5/5	5/5	4/4																
		1667	5/5	5/5	4/4	1/1															
Flaccidity	Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		670	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	5/5	0/5	0/5	1/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		965	5/5	5/5	4/5	2/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	5/5	5/5	4/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		1389	5/5	5/5	5/5	1/1															
		1667	5/5	4/4	3/3																

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-6 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
			0	1	3															6 hrs.		
Prone position	Male	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
		670	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		804	5/5	1/5	1/5	1/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	5/5	1/4	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	5/5	2/4	2/4	2/2																
	1389	5/5	2/5	2/4																		
	1667	5/5	5/5	4/4	1/1																	
	Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		670	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	5/5	0/5	0/5	1/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
965		5/5	2/5	2/5	2/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	
1158		5/5	5/5	1/5	3/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	
1389	5/5	5/5	5/5	1/1																		
1667	5/5	5/5	4/4	3/3																		

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-7 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day																
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
			1 3 6 hrs.																
Male			0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		670	0/5	5/5	1/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	0/5	5/5	5/5	2/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	0/5	4/4	3/3	2/3	1/3	1/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	0/5	4/4	4/4	2/2													
		1389	0/5	5/5	4/4														
		1667	0/5	5/5	4/4	1/1													
Piloerection																			
Female			0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		670	0/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	0/5	5/5	5/5	4/5	2/4	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		965	0/5	5/5	5/5	5/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	0/5	5/5	5/5	4/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		1389	0/5	5/5	5/5	1/1													
		1667	0/5	4/4	3/3														

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-8 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
			0	3															6 hrs.		
Smudge of perinasal area	Male	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		
		670	0/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		804	0/5	1/5	1/5	1/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	0/5	1/4	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	0/5	3/4	2/4	2/2															
	1389	0/5	4/5	2/4																	
	1667	0/5	5/5	4/4	1/1																
	Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		670	0/5	0/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	0/5	0/5	0/5	1/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
965		0/5	2/5	2/5	1/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	
1158		0/5	5/5	1/5	3/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	
1389	0/5	5/5	5/5	1/1																	
1667	0/5	4/4	3/3																		

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 2-9 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day																							
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14									
			1	3	6 hrs.																					
	Male	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		670	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
		965	0/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	0/5	0/4	0/4	1/2																				
		1389	0/5	0/5	0/4																					
		1667	0/5	0/5	0/4	0/1																				
Red urine	Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		670	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		804	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		965	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		1158	0/5	0/5	0/5	0/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		1389	0/5	0/5	0/5	0/1																				
		1667	0/5	0/4	0/3																					

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 3 Body weights of rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test (g)

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Day 0	1	3	7	14
Male	0	5	133 ± 4	154 ± 7 +21 ^a	180 ± 8 +26	214 ± 9 +34	276 ± 16 +62
	670	5	133 ± 4	125 ± 4 -8	149 ± 9 +24	191 ± 10 +42	255 ± 19 +64
	804	5	132 ± 5	127 ± 8 -5	145 ± 7(4) +18	191 ± 4(4) +46	259 ± 7(4) +68
	965	5	133 ± 4	125 ± 10(3) -8	137 ± 22(3) +12	179 ± 22(3) +42	239 ± 28(3) +60
	1158	5	132 ± 5	126 ± 1(2) -6			
	1389	5	133 ± 5				
	1667	5	132 ± 5	121(1) -11			
Female	0	5	116 ± 3	133 ± 3 +17	150 ± 5 +17	165 ± 8 +15	185 ± 8 +20
	670	5	116 ± 4	112 ± 7 -4	132 ± 6 +20	154 ± 8 +22	176 ± 8 +22
	804	5	116 ± 3	112 ± 4 -4	131 ± 3(3) +19	155 ± 9(3) +24	177 ± 13(3) +22
	965	5	115 ± 2	110 ± 3 -5	127 ± 3(3) +17	153 ± 4(3) +26	184 ± 5(3) +31
	1158	5	116 ± 3	108 ± 6(4) -8	123(1) +15	157(1) +34	186(1) +29
	1389	5	115 ± 3	111(1) -4			
	1667	5	115 ± 3				

Each value is expressed as mean ± S.D.; (N) : Number of animals examined
a : Increase from last mean body weight measured (g)

Table 4 Incidence of necropsy findings of male rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Organ : Findings	Dose (mg/kg)	0	670	804	965	1158	1389	1667
No. of animals	5 ^a (0) ^b	5 (0)	5 (0)	4 (1)	3 (2)	0 (5)	0 (5)	0 (5)
NAD		5 (0)	5 (0)	4 (0)	3 (0)	0 (1)	0 (3)	0 (1)
Lung : Enlargement		0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (2)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
Urinary bladder : (Green-colored) crystalline materials		0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
: Retention of urine		0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (3)	0 (0)	0 (3)

a : Number of animals that survived; b : Number of animals that died; NAD : No abnormalities detected

Table 5 Incidence of necropsy findings of female rats treated orally with 3,4-dichloro-1-butene in the single dose toxicity test

Organ :	Findings	Dose(mg/kg)	0	670	804	965	1158	1389	1667
		No. of animals	5 ^a (0) ^b	5(0)	3(2)	3(2)	1(4)	0(5)	0(5)
	NAD		5(0)	5(0)	3(0)	3(0)	1(2)	0(1)	0(2)
Lung :	Enlargement		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(1)	0(2)
Urinary bladder :	(Green-colored)crystalline materials		0(0)	0(0)	0(1)	0(0)	0(2)	0(2)	0(0)
	: Retention of urine		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(1)	0(3)	0(1)
Stomach :	Black spots in glandular portion		0(0)	0(0)	0(1)	0(2)	0(1)	0(1)	0(0)

a : Number of animals that survived; b : Number of animals that died; NAD : No abnormalities detected