厚生省生活衛生局　殿

# 最 終 報 告 書

1, 2-ベンゼンジカルボニトリルの

ラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験

（試験番号：8L649）

2000年 8月 4日

株式会社三菱化学安全科学研究所

# 目 次

要 約 …… 8
緒 言 …… 8
材料および方法 …… 9
1. 被験物質 …… 9
2. 試験動物 …… 9
3. 動物飼育 …… 10
4. 投与 …… 10
5. 群構成 …… 11
6. 観察・測定項目 …… 11
6.1 一般状態 …… 11
6.2 体重 …… 11
6.3 病理学的検査 …… 12
7. 半数致死量(LD $_{50}$値)の算出 …… 12
結果 …… 13
1. 死亡 …… 13
2. 一般状態 …… 13
3. 体重 …… 13
4. 剖検所見 …… 13
5. 半数致死量(LD $_{50}$値) …… 13
考察および結論 …… 14
参考文献 …… 15

Tables

# 要 約

1,2-ベンゼンジカルボニトリルを1群あたり雌雄各5匹のSD(IGS)系ラットに1回経口投与し，その急性毒性を検討した．投与用量は雌雄ともに 0, 30, 60, 120, 240 および 480 mg/kg，投与液量は 5 mL/kg とし，投与後 14 日間の観察を行った．

その結果，死亡動物では，痙攣および口周囲の汚れが 60 mg/kg 以上の群で認められ，240 mg/kg 以上の群では上記に加え自発運動の低下，腹臥位，異常発声，挙尾およびチアノーゼが認められた．雄の 60 mg/kg 群では自発運動の低下，歩行異常のみ認められた．

生存動物では，雌の 60 mg/kg 群で投与後 6 時間に自発運動の低下が認められ，そのうち 1 例は投与 2 日に自発運動の低下および不整呼吸が認められたが，それ以降は回復した．

生存動物の体重および剖検所見に異常は認められなかった．

以上の結果から，本被験物質の半数致死量($LD_{50}$値)は雌雄とも 85 mg/kg(95%信頼限界 50 ～ 143mg/kg)と結論した．

# 緒 言

1,2-ベンゼンジカルボニトリル(略称：OPN)は，フタロシアニン系染料，顔料の原料として用いられている[1]．

今回，既存化学物質の安全性点検調査事業の一環として，ラットを用いて急性毒性試験を実施し，生体への毒性学的影響について検討したので報告する．

# 材料および方法

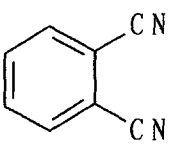
1. 被験物質

から提供された1,2-ベンゼンジカルボニトリル(略称：OPN，CAS No. 91-15-6，ロット番号　　純度 98.7 %）を使用した．被験物質は下記の化学名，構造式，示性式，分子量の融点 141 ℃，蒸気圧 0.04mbar(20 ℃)，水に 0.56g/L および有機溶剤に可溶の黄色粉末である．被験物質の安定性は，被験物質提供者より保証する資料を入手し，確認した．

化学名：　o-Phthalonitrile

[別名：1, 2-Benzenedicarbonitrile，略称：OPN]

構造式：




示性式：$C_6H_4(CN)_2$

分子量：128.13

不純物：Benzonitrile 0.1 %，o-Tolunitrile 0.9 %，Telephthalonitrile / Isophthalonitrile 0.3 %

2. 試験動物

日本チャールス・リバー㈱から 1999 年 6 月 16 日に Crj:CD(SD)IGS ラット雌雄各 31 匹(生産場所　厚木)を入手した．動物入荷後，6 日間検疫・馴化し，いずれの動物も健康状態が良好なことを確認した．投与前日に，入手した動物のうち雌雄各 30 匹を体重層別化無作為抽出法によって各群の体重がほぼ均一となるように群分けした．投与日の週齢は 5 週齢，体重範囲は雄が 124 ～ 145 g, 雌が 106 ～ 120 g であった．

動物は，尾に油性ペンによる番号付けを行い，個体識別した．ケージには試験番号，被験物質名，動物番号，性別，用量，投与日，動物種および系統を記載したラベルを付けた．

3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通して，温度 22 ± 2 ℃(目標値)，相対湿度 55 ± 15 %(目標値)，換気約 12 回／時(オールフレッシュエアー供給)，照明 12 時間／日(7:00 - 19:00)に自動調節した飼育室を使用した．試験期間中の飼育室温度および相対湿度の実測値は，22 ～ 24 ℃および 50 ～ 76 %であった．

動物は，滅菌済の実験動物用床敷(ベータチップ，日本チャールス・リバー㈱)を敷いたポリカーボネート製ケージ(265W × 426D × 200H mm，トキワ科学器械㈱)に，群分け前はケージあたり 5 匹以下(同性)，群分け後はケージあたり 5 匹(同性)収容し，スチール製架台(トキワ科学器械㈱)上に配置して飼育した．給餌には滅菌済ステンレス製固型飼料用給餌器(トキワ科学器械㈱)を，給水には滅菌済ポリカーボネート製給水瓶(700mL，トキワ科学器械㈱)を使用した．ケージ(含床敷)，給餌器および給水瓶は週 1 回交換した．

動物には，実験動物用固型飼料(MF，オリエンタル酵母工業㈱)と，5 μ m のフィルター濾過後，紫外線照射した水道水を自由に摂取させ，飼料および飲用水は週 1 回交換した．

床敷と飼料中の残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所で定めた基準に適合していることを確認した．また，飲用水は水道法に準拠した水質検査を定期的に実施し，分析値が基準範囲内にあることを確認している．

4. 投与

投与経路は OECD ガイドライン(No.401，1987)に従い経口，投与回数は 1 回とした．

投与前日より約 17 時間絶食させたラットにゾンデを用いて強制経口投与し，投与後約 3 時間は飼料を与えなかった．

予備試験として 0，3，10，30 および 100 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 2 匹の SD(IGS)系ラットに単回経口投与し，投与後 7 日間観察した．その結果，投与日に 100 mg/kg 群の雌雄および 30 mg/kg 群の雌で自発運動の減少が認められた．体重および剖検所見に異常は認められなかった．また，300 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 3 匹の SD(IGS)系ラットに単回経口投与した結果，雌雄で自発運動の低下，腹臥位，痙攣，歩行失調が，雌で流涎，異常発声，チアノーゼ，側臥位が認められ，投与後 4 時間までに雌雄全例が死亡した．剖検で胃または腸管の出血が認められた．これらの結果から，本試験の用量は雌雄ともに 30 mg/kg を最低用量とし，以下公比 2 で 60，120，240 および 480 mg/kg の計 5 用量を設

定した．また，溶媒(0.5% CMC-Na 水溶液)のみ投与する対照群を設けた．投与液量は5 mL/kg とし，投与直前の体重に基づいて算出した．

投与液の調製は投与前日に行った．被験物質を 0.5%CMC-Na 水溶液(CMC-Na；岩井化学薬品㈱，ロット番号 110810)に懸濁調製し，投与に供するまで冷蔵保存した．投与液中の被験物質の均一性および冷蔵保存条件下での 8 日間の安定性は，投与前に 0.1 および 200mg/mL の範囲で確認した．また，各用量群の投与液を分析し，設定濃度の± 10%以内であることを確認した．(添付資料)

5. 群構成　　：

| 群　名 | 動物数<br>(匹) | 動物番号 |
|---|---|---|
| 0mg/kg<br>(対照群) | 雄 5<br>雌 5 | 10101 ～ 10105<br>50101 ～ 50105 |
| 30mg/kg | 雄 5<br>雌 5 | 10201 ～ 10205<br>50201 ～ 50205 |
| 60mg/kg | 雄 5<br>雌 5 | 10301 ～ 10305<br>50301 ～ 50305 |
| 120mg/kg | 雄 5<br>雌 5 | 10401 ～ 10405<br>50401 ～ 50405 |
| 240mg/kg | 雄 5<br>雌 5 | 10501 ～ 10505<br>50501 ～ 50505 |
| 480mg/kg | 雄 5<br>雌 5 | 10601 ～ 10605<br>50601 ～ 50605 |

6. 観察・測定項目

次の項目を検査した．なお，日の表記は投与日を第 1 日とした．

6.1 一般状態

投与日は 10 分，30 分，1，3 および 6 時間の 5 回，以後は 1 日 1 回 14 日間にわたって各動物の生死および一般状態を観察した．

6.2 体重

生存動物について投与直前，第 4，8 および 15 日に上皿電子天秤(EB-5000，㈱島津製作所)を用いて測定した．

6.3 病理学的検査

死亡動物については発見後(第1日)に速やかに剖検し，生存動物は観察終了後(第15日)にチオペンタール・ナトリウム(ラボナール：田辺製薬㈱)の腹腔内投与により麻酔し，腹大動脈を切断・放血し，安楽死させた後剖検した．剖検時に異常は認められなかったため，器官の採取および固定保存は実施しなかった．

7. 半数致死量($LD_{50}$値)の算出

観察終了時の死亡率から雌雄ともにProbit法(Yukms統計ライブラリーⅡ)を用いて算出した．

# 結 果

1. 死亡（Table 1）

投与後30分から6時間までに，雌雄ともに，240および480 mg/kg群の全例，120 mg/kg群の4例，60 mg/kg群の1例が死亡した．

死亡率は，雌雄ともに240および480 mg/kg群では100 %，120 mg/kg群では80 %，60 mg/kg群では20 %であった．

2. 一般状態（Table 2, Appendix 1）

投与日に死亡した動物では，自発運動の低下，痙攣，および口周囲の汚れが雌雄の120，240および480 mg/kg群で認められ，この症状に加えて腹臥位，異常発声，挙尾およびチアノーゼが雌雄の240および480 mg/kg群で認められた．雄の60 mg/kg群では，自発運動の低下および歩行異常のみ認められた．雌の60 mg/kg群では，痙攣と口周囲の汚れのみ認められた．

生存動物では，雌の60 mg/kg群の4例で投与後6時間に自発運動の低下が認められ，そのうち1例は投与2日に自発運動の低下および不整呼吸が認められたが，それ以降は回復した．

3. 体重（Table 3, Appendix 2）

生存動物は対照群と同様に体重が推移した．

4. 剖検所見（Table 4, 5, Appendix 3）

異常は認められなかった．

5. 半数致死量

半数致死量（$LD_{50}$値）は雌雄ともに85mg/kg（95%信頼限界50 ～ 143mg/kg）と算出された．

# 考 察 お よ び 結 論

1, 2-ベンゼンジカルボニトリルを雌雄のSD系(Crj:CD(SD)IGS)ラットに0, 30, 60, 120, 240および480 mg/kgの用量を1回経口投与した結果，投与日に雌雄とも480および240 mg/kg群で全例が死亡し，以下60 mg/kg群まで死亡個体が認められた.

死亡動物では，痙攣および口周囲の汚れが60 mg/kg以上の群で認められ，240および480 mg/kg以上の群では上記に加え自発運動の低下，腹臥位，異常発声，挙尾およびチアノーゼが認められた．雄の60 mg/kg群では自発運動の低下，歩行異常のみ認められた.

生存動物では，雌の60 mg/kg群で投与後6時間に自発運動の低下が認められ，そのうち1例は投与2日に自発運動の低下および不整呼吸が認められたが，それ以降は回復した.

以上の結果から，本被験物質の半数致死量($LD_{50}$値)は雌雄とも85 mg/kg(95%信頼限界50～143 mg/kg)と結論した.

# 参 考 文 献

1) 橋本和夫(1984)：オルトフタロジニトリル，XXXV シアン化合物およびニトリル類，"産業中毒便覧　増補版"，後藤稠，池田正之，原一郎編集，東京，1984，医歯薬出版株式会社，pp.1169-1170.

# Tables

Table 1 Cumulative Mortality - Summary ····· 1

Table 2 Clinical Sign - Summary ····· 3

Table 3 Body Weight - Summary ····· 7

Table 4 Necropsy Findings - Summary Death or Moribund Sacrifice ····· 9

Table 5 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice ····· 11

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 1 Cumulative Mortality - Summary Male

| Test Substance | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dose(mg/kg) | 0 | 30 | 60 | 120 | 240 | 480 |
| Number of Animals | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Day | | | | | | |
| 1 | 0/5 | 0/5 | 1/5 | 4/5 | 5/5 | 5/5 |
| Final | 0/5 | 0/5 | 1/5 | 4/5 | 5/5 | 5/5 |
| % | 0.0 | 0.0 | 20.0 | 80.0 | 100.0 | 100.0 |
| Mean Survival(Days) | 15.0 | 15.0 | 12.0 | 3.0 | 0.0 | 0.0 |

Single Dose Oral Toxicity Test of 1, 2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 1 Cumulative Mortality - Summary Female

| Test Substance | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Dose (mg/kg) | 0 | 30 | 60 | 120 | 240 | 480 |
| Number of Animals | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Day | | | | | | |
| 1 | 0/5 | 0/5 | 1/5 | 4/5 | 5/5 | 5/5 |
| Final | 0/5 | 0/5 | 1/5 | 4/5 | 5/5 | 5/5 |
| % | 0.0 | 0.0 | 20.0 | 80.0 | 100.0 | 100.0 |
| Mean Survival (Days) | 15.0 | 15.0 | 12.0 | 3.0 | 0.0 | 0.0 |

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 2 Clinical Sign - Summary

Male

| Test Substance Dose(mg/kg) | Findings | Day Time | 1 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 2 10 | 3 10 | 4 10 | 5 10 | 6 10 | 7 10 | 8 10 | 9 10 | 10 10 | 11 10 | 12 10 | 13 10 | 14 10 | 15 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 0 | No Abnormality | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 30 | No Abnormality | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 60 | No Abnormality | | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | Death | + | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Decrease in locomotor activity | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Abnormal gait | + | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 120 | No Abnormality | | 5 | 5 | 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Death | + | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Decrease in locomotor activity | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Convulsion | + | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Perioral smudge | + | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 4 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 240 | No Abnormality | | 4 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Death | + | 0 | 1 | 1 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Decrease in | 1 | 0 | 1 | 3 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | locomotor activity | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Vocalization | + | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Straub tail | + | 0 | 1 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Convulsion | + | 1 | 4 | 2 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Perioral smudge | + | 0 | 2 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Time10, Day1, 10minutes after dose; Day2-15, observation in morning. Time20, 30minutes after dose. Time30, 1hour after dose. Time40, 3hour after dose. Time50, 6hour after dose.

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 2 Clinical Sign - Summary

Male

| Test Substance Dose(mg/kg) | Findings | Day Time | 1 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 2 10 | 3 10 | 4 10 | 5 10 | 6 10 | 7 10 | 8 10 | 9 10 | 10 10 | 11 10 | 12 10 | 13 10 | 14 10 | 15 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 480 | No Abnormality | | 2 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Death | + | 0 | 0 | 3 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Decrease in | 1 | 2 | 2 | 2 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | locomotor activity | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Convulsion | + | 3 | 3 | 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Cyanosis | + | 0 | 1 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Perioral smudge | + | 0 | 1 | 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |

+ , Present; 1 , Slight; 2 , Moderate; 3 , Severe;
Time10, Day1, 10minutes after dose: Day2-15, observation in morning. Time20, 30minutes after dose. Time30, 1hour after dose. Time40, 3hour after dose. Time50, 6hour after dose.

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 2 Clinical Sign - Summary

Female

| Test Substance Dose(mg/kg) | Findings | Day Time | 1 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 2 10 | 3 10 | 4 10 | 5 10 | 6 10 | 7 10 | 8 10 | 9 10 | 10 10 | 11 10 | 12 10 | 13 10 | 14 10 | 15 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 0 | No Abnormality | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 30 | No Abnormality | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 60 | No Abnormality | | 5 | 5 | 5 | 4 | 0 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | Death | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Decrease in locomotor activity | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Convulsion | + | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Irregular respiration | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Perioral smudge | + | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 120 | No Abnormality | | 5 | 5 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | Death | + | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Decrease in locomotor activity | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Convulsion | + | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Perioral smudge | + | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 240 | No Abnormality | | 1 | 3 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Death | + | 0 | 0 | 3 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Prone position | + | 4 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Decrease in | 1 | 0 | 1 | 3 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | locomotor activity | 2 | 4 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Convulsion | + | 0 | 1 | 2 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Perioral smudge | + | 0 | 0 | 1 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time10, Day1, 10minutes after dose: Day2-15, observation in morning. Time20, 30minutes after dose. Time30, 1hour after dose. Time40, 3hour after dose. Time50, 6hour after dose.

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 2 Clinical Sign - Summary

Female

| Test Substance Dose(mg/kg) | Findings | Day Time | 1 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 2 10 | 3 10 | 4 10 | 5 10 | 6 10 | 7 10 | 8 10 | 9 10 | 10 10 | 11 10 | 12 10 | 13 10 | 14 10 | 15 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OPN | Number of Animals | | 5 | 5 | 5 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 480 | No Abnormality | | 2 | 0 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Death | + | 0 | 0 | 3 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Prone position | + | 0 | 1 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Decrease in locomotor activity | 1 | 2 | 3 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Vocalization | + | 0 | 1 | 3 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Straub tail | + | 0 | 1 | 0 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Convulsion | + | 2 | 4 | 4 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Cyanosis | + | 0 | 0 | 1 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Perioral smudge | + | 0 | 1 | 2 | 0 | | | | | | | | | | | | | | | |

+, Present; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;
Time10, Day1, 10minutes after dose: Day2-15, observation in morning. Time20, 30minutes after dose. Time30, 1hour after dose. Time40, 3hour after dose. Time50, 6hour after dose.

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 3 Body Weight - Summary Male Unit : g

| Test Substance Dose(mg/kg) | Day | 1 | 4 | 8 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|
| OPN | Mean | 136.2 | 179.0 | 220.8 | 283.4 |
| 0 | S.D. | 7.5 | 11.0 | 14.9 | 23.0 |
| | n | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Mean | 134.0 | 175.4 | 217.0 | 280.6 |
| 30 | S.D. | 5.7 | 6.0 | 7.8 | 14.6 |
| | n | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Mean | 137.4 | 178.3 | 223.5 | 290.8 |
| 60 | S.D. | 5.3 | 7.4 | 11.0 | 11.3 |
| | n | 5 | 4 | 4 | 4 |
| OPN | Mean | 137.6 | 154.0 | 195.0 | 265.0 |
| 120 | S.D. | 4.2 | | | |
| | n | 5 | 1 | 1 | 1 |
| OPN | Mean | 136.2 | | | |
| 240 | S.D. | 5.5 | | | |
| | n | 5 | 0 | 0 | 0 |
| OPN | Mean | 135.6 | | | |
| 480 | S.D. | 4.2 | | | |
| | n | 5 | 0 | 0 | 0 |

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 3 Body Weight - Summary Female Unit : g

| Test Substance Dose (mg/kg) | Day | 1 | 4 | 8 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|
| OPN | Mean | 113.6 | 141.4 | 159.2 | 186.4 |
| 0 | S.D. | 4.1 | 6.1 | 7.4 | 4.6 |
| | n | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Mean | 114.2 | 141.0 | 160.8 | 189.6 |
| 30 | S.D. | 5.4 | 8.8 | 13.4 | 14.0 |
| | n | 5 | 5 | 5 | 5 |
| OPN | Mean | 114.2 | 140.0 | 160.0 | 186.0 |
| 60 | S.D. | 3.3 | 6.7 | 8.4 | 6.9 |
| | n | 5 | 4 | 4 | 4 |
| OPN | Mean | 113.8 | 132.0 | 162.0 | 198.0 |
| 120 | S.D. | 3.6 | | | |
| | n | 5 | 1 | 1 | 1 |
| OPN | Mean | 114.0 | | | |
| 240 | S.D. | 4.0 | | | |
| | n | 5 | 0 | 0 | 0 |
| OPN | Mean | 112.8 | | | |
| 480 | S.D. | 1.5 | | | |
| | n | 5 | 0 | 0 | 0 |

Table 4 Necropsy Findings - Summary Death or Moribund Sacrifice

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sex : | Male | | | | | |
| | Test Substance : | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN |
| Organ | Dose (mg/kg) : | 0 | 30 | 60 | 120 | 240 | 480 |
| Findings | Number of Animals : | 0 | 0 | 1 | 4 | 5 | 5 |
| | Number of Animals Examined : | 〈0〉 | 〈0〉 | 〈1〉 | 〈4〉 | 〈5〉 | 〈5〉 |

No abnormalities were detected.

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 4 Necropsy Findings - Summary Death or Moribund Sacrifice

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sex : | Female | | | | | |
| | Test Substance : | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN |
| Organ | Dose (mg/kg) : | 0 | 30 | 60 | 120 | 240 | 480 |
| Findings | Number of Animals : | 0 | 0 | 1 | 4 | 5 | 5 |
| | Number of Animals Examined : | <0> | <0> | <1> | <4> | <5> | <5> |

No abnormalities were detected.

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 5 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 3)

| | Sex : | Male | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Test Substance : | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN |
| Organ | Dose (mg/kg) : | 0 | 30 | 60 | 120 | 240 | 480 |
| Findings | Number of Animals : | 5 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| | Number of Animals Examined : | 〈5〉 | 〈5〉 | 〈4〉 | 〈1〉 | 〈0〉 | 〈0〉 |

No abnormalities were detected.

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,2-Benzenedicarbonitrile in Rats

Study No. 8L649

Table 5 Necropsy Findings - Summary Scheduled Sacrifice (Week 3)

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sex : | Female | | | | | |
| | Test Substance : | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN | OPN |
| Organ | Dose (mg/kg) : | 0 | 30 | 60 | 120 | 240 | 480 |
| Findings | Number of Animals : | 5 | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| | Number of Animals Examined : | 〈5〉 | 〈5〉 | 〈4〉 | 〈1〉 | 〈0〉 | 〈0〉 |

No abnormalities were detected.