最終報告書

表　　題：4-(1-メチルエテニル)フェノールのラットにおける急性経口投与毒性試験

試験番号：ＳＲ００１０６

株式会社 化合物安全性研究所

目　次

頁

要約 3
緒言 4
材料および方法 4
成績 9
考察 11
参考文献 11

Figures ..... 添付

1 Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

2 Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Tables ..... 添付

1 Experimental design for acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol in rats (SR00106)

2 Mortality of rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

3 General appearance of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

4 General appearance of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

5 Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

6 Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

7 Gross findings of rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl) phenol (SR00106)

要　約

4-(1-メチルエテニル)フェノールの0(対照群)、150、300、600および1200 mg/kgを1群につき雌雄各5匹のCrj:CD(SD)IGSラットに単回経口投与してその毒性を検討し、以下の成績を得た。

1. 死亡例は投与後6時間から3日までに、雌雄の600 mg/kg投与群で各3例、1200 mg/kg投与群で全例に認められた。
2. 一般状態では、雌雄とも600 mg/kg以上の投与群で投与後1時間から6時間までに呼吸緩徐、体温低下、横臥、自発運動の減少、外尿道口周囲被毛の汚れ等の毒性徴候が認められた。
3. 体重では、雌雄の600 mg/kg投与群の生存例で体重増加抑制が認められた。
4. 剖検では、雌の600および1200 mg/kg投与群の死亡例で腺胃または前胃粘膜の暗赤色斑が認められたが、雌雄とも生存例では変化は認められなかった。

以上のことから、4-(1-メチルエテニル)フェノールの本試験条件下での LD_{50} 値は雌雄とも585.8 mg/kgであった。

緒　言

OECD既存化学物質の安全性点検事業の一環として、4-(1-メチルエテニル)フェノールを雌雄ラットに単回経口投与して、その毒性を検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は、4-(1-メチルエテニル)フェノール[4-(1-methylethenyl)phenol、CAS No.：4286-23-1、ロット番号：　　純度：99wt%以上、提供者：　　]で、分子式$C_9H_{10}O$、分子量134.18、蒸気圧3333 Pa(142℃)、融点80～83℃、比重0.35～0.4、引火点120～125℃(セタ密閉式)の水に難溶、メチルアルコールおよびアセトンに可溶の白～淡黄色の粉体である。4-(1-メチルエテニル)フェノールは室温ではゆるやかに2量化することから、遮光気密容器に入れ、-10℃以下に設定された冷凍庫(実測範囲-34～-28℃)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1g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を、　　から残余被験物質を用いた純度の分析成績を入手し確認した(Appendix 1-1～2-2)。

2. 対照物質

カルメロースナトリウム(日本薬局方カルメロースナトリウム、ロット番号 9318、丸石製薬株式会社)を精秤し、精製水(日本薬局方精製水、ロット番号 07F1、ヤクハン製薬株式会社)に溶解し調製した0.5%カルメロースナトリウム水溶液(以下0.5%CMCと略す)を対照物質として投与および投与液の調製に使用した。

0.5%CMCは遮光気密容器に入れ、冷暗所に保存し、調製後1週間以内に使用した。

3. 投与液の調製および化学分析

(1) 投与液の調製

用時に、投与量ごとに4-(1-メチルエテニル)フェノールを精秤し、乳鉢で細砕後、所定の濃度となるように対照物質を用いて懸濁し、スターラーを用いて分散させた。調製の際にはマスクおよび手袋を着用し、作業をクリーンベンチ内で行った。調製液は調製後速やかに遮光気密容器に入れ投与に用いた。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1および120 mg/mLの濃度の調製液中の4-(1-メチルエテニル)フェノールの均一性および安定性の分析を(3)濃度分析方法にしたがって実施した。その結果、4-(1-メチルエテニル)フェノールは1 および120 mg/mL調製液について調製液中で均一、かつ冷暗所保存7日で安定であることが確認された。1 mg/mL調製液については遮光・室温の保存条件下で24時間後の安定性が確認されたものの、120 mg/mL調製液については同条件下では調製液の流動性が乏しくなっており、サンプリングできないことから安定であることの確認ができなかった。そのため15および120 mg/mL調製液の遮光・室温の保存条件下における1時間までの安定性の分析を実施したところ、いずれも安定であることが確認された。(Appendix 3-1～3-2-2)。

投与に用いる15、30、60および120 mg/mLの各濃度の調製液について4-(1-メチルエテニル)フェノールの濃度を分析した結果、含有率は所定の濃度の 92.7～98.3%であった(Appendix 3-3)。

(3)濃度分析方法

4-(1-メチルエテニル)フェノールをメタノールに溶解し、標準溶液を調製した。また、アセトニトリル1容に対して蒸留水1容を加え、十分に混合したものを移動相とした。

被験物質調製液の一定量を正確に採取し、メタノールを加えて被験物質濃度が 0.2 mg/mL以下となるように調製後、この液に被験物質の最終濃度が0.01～0.1 mg/mLの範囲内となるようにメタノールを加え、十分に撹拌後高速液体クロマトグラフ(HPLC)に注入した。

安定性および濃度確認試験では、被験物質調製液の中層から 3 回採取し、各1回調製後、HPLCへ各1回注入した。均一性試験では、被験物質調製液の上、中および下層から各3回採取し、各1回調製後、各1回HPLCへ注入した。

HPLCシステム(株式会社 日立製作所)の測定条件は以下のとおりである。

カラム	: CAPCELLPAK C18 UG80、5 μm、3.0 mmφ×150 mm、株式会社 資生堂
移動相	: アセトニトリル・蒸留水(5 : 5)
測定波長	: 254 nm
カラム温度	: 40 ℃
流量	: 0.7 mL/min
注入量	: 10 μL
ｵｰﾄｻﾝﾌﾟﾗ温度	: 約10 ℃
感度	: 0.4 V
分析時間	: 7分
ｵｰﾄｻﾝﾌﾟﾗ洗浄液	: 50%アセトニトリル溶液

標準溶液および試料溶液のクロマトグラムのピーク面積から、調製液の被験物質の濃度(mg/mL)を求め、含有率、残存率および変動係数を算出した。

被験物質濃度(mg/mL)= {(試料溶液のピーク面積/標準溶液のピーク面積平均値)×標準溶液濃度(0.05 mg/mL)}×希釈係数

含有率(%) = (被験物質濃度平均値/調製液の表示濃度)×100

残存率(%) = (保存後の被験物質濃度平均値/調製当日の被験物質濃度平均値)×100

変動係数(%) = (被験物質濃度標準偏差/被験物質濃度平均値)×100

以上の分析は、株式会社 化合物安全性研究所において行った。

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 28 匹を 2001 年 5 月 30 日に 4 週齢で購入した。受入時の動物の体重範囲は、雄で 81～91 g、雌で 72～84 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 25 匹を選抜して、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った。これらの動物の体重範囲は、雄で 138～152 g、雌で 116～134 g であり、平均体重(雄 145.9 g、雌 123.9 g)の±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 22±3℃(実測範囲 22～25℃)、湿度 50±20%(実測範囲 53～63%)、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(302 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1あるいは3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回洗浄滅菌済みのものと交換した。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(010307)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った。分析項目と許容値は(株)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値を超える値は認められなかった(Appendix 4-1 および 4-2)。

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の有無を、2001 年 4 月 20 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った。分析項目と許容値は(株)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値を超える値は認められなかった(Appendix 5)。

(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。

雌雄とも 4-(1-メチルエテニル)フェノールの 150、300、600 および 1200 mg/kg 投与群および 0.5%CMC のみを投与する対照群の計 5 群を設定した。

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

致死量の概要を検索するために、1 群につき雌雄各 3 匹の SD 系ラット[Crj:CD(SD)IGS]に 0.5 %CMC に懸濁した 4-(1-メチルエテニル)フェノールの 60、200、600 および 2000 mg/kg を、10 mL/kg の投与容量で単回経口投与した予備試験[1)]の結果、60 および 200 mg/kg 投与群では死亡は認められず、600 mg/kg 投与群では雄 2 例、雌 1 例、2000 mg/kg 投与群では雌雄各 3 例が投与後 2 日までに死亡し、50%致死量は約 600 mg/kg と考えられた。このことから、本試験では 600 を中心に公比 2 で 150、300、600 および 1200 mg/kg 投与群を設定し、これに対照として 0.5%CMC を投与する群を加え計 5 群を設定した。

2) 投与

4-(1-メチルエテニル)フェノールがヒトに経口的に暴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、一晩(17～18時間)の絶食後、午前10時から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時間を経過した時点で給餌を再開した。

投与容量は10 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

全例について動物の生死、外観、行動等を、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、以降は投与後2、4および6時間に観察した。投与後1日から投与後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。

2) 体重測定

全例について動物の体重を、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、電子式上皿天秤(ザルトリウス1401B MP8-1およびLA4200、カールツァイス株式会社およびザルトリウス株式会社)を用いて測定し、1gまで記録した。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。

体重増加量＝(投与後14日体重)－(0日体重)

体重増加率＝[(体重増加量)／(0日体重)]×100

3) 剖検

全例について死亡例は発見後速やかに、生存例は投与後14日の剖検日に体外表を観察後、エーテル麻酔下で放血致死させ、いずれも全身の器官・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で固定・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(パイエル板を含む)、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

probit法を用いてLD_{50}値の算出を行った。95%信頼限界は算出されなかった。

体重、体重増加量および体重増加率について、Bartlettの検定法によって等分散性を解析し

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、Dunnett の検定法を用いて対照群との比較を行った。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った。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 LD_{50} 値

死亡状況および LD_{50} 値を Table 2 に示す。

投与後 6 時間から 3 日までに雌雄の 600 mg/kg 投与群で各 3 例、1200 mg/kg 投与群で全例が死亡した。LD_{50} 値は雌雄とも 585.8 mg/kg であった。

2. 一般状態

一般状態の成績を Table 3 および 4、INDIVIDUAL DATA 1-1-1～1-2-5 に示す。

150 および 300 mg/kg 群では、150 mg/kg 投与群の雌 1 例で投与後 1 日に外尿道口周囲被毛の汚れがみられたが、他には雌雄とも変化は認められなかった。

600 mg/kg 投与群の雄では、投与後 2 時間から 4 時間までに自発運動の減少を示し投与後 6 時間に 1 例の死亡がみられ、投与後 2 時間から 6 時間までに自発運動の減少および血尿を示した 1 例、また自発運動の減少、呼吸緩徐、体温低下および腹臥を示した 1 例は、いずれも投与後 1 日に死亡した。なお、投与後 14 日間を生存した 2 例は投与日も含め観察期間中に変化は認められなかった。

雌でも、投与後 2 時間から 6 時間までに自発運動の減少、呼吸緩徐、腹臥および血尿を示した 1 例、また投与後 6 時間に呼吸緩徐、腹臥および体温低下を示した 1 例は、いずれも投与後 1 日に死亡した。さらに投与日には変化がみられなかったが、投与後 1 日から 2 日までに呼吸促迫および外尿道口周囲被毛の汚れを示した 1 例は投与後 3 日に死亡した。なお、投与後 14 日間を生存した 2 例では、投与日には変化がみられなかったが投与後 1 日に外尿道口周囲被毛の汚れを示した 1 例は投与後 2 日以降に回復した。また、投与後 6 時間から 4 日までに外尿道口周囲被毛の汚れ、肛門周囲被毛の汚れ、呼吸促迫および呼吸緩徐を示した 1 例は投与後 5 日以降に回復した。

1200 mg/kg 投与群の雄では、投与後 1 時間から 6 時間までに、よろめき歩行、腹臥、横臥、呼吸促迫、呼吸緩徐および体温低下を示した 1 例、また、投与後 2 時間から 6 時間までに自発運動の減少、呼吸緩徐、体温低下、横臥、ないし、よろめき歩行または血尿もみられた 2 例、

投与後6時間に呼吸緩徐および腹臥を示した1例、投与後6時間に呼吸緩徐、体温低下、横臥を示した1例は、いずれも投与後1日に死亡した。

雌でも、投与後2時間から6時間までに腹臥、呼吸緩徐および横臥を示した1例は、投与後6時間で死亡した。また、投与後1時間から6時間までに、よろめき歩行、自発運動の減少、横臥、呼吸緩徐または呼吸促迫を示した2例、投与後2時間から6時間までに自発運動の減少、呼吸緩徐、体温低下および横臥を示した1例、さらに、投与後4時間から6時間までに自発運動の減少、呼吸緩徐、血尿を示した1例は、いずれも投与後1日に死亡した。

なお、対照群では雌雄とも観察期間中に変化は認められなかった。

3. 体重

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

150および300 mg/kg投与群では、雌雄とも有意な変化は認められなかった。

600 mg/kg投与群の生存例では、雌雄とも投与後に低値傾向を示し、雄では投与後3および5日に、雌では投与後1から10日まで対照群と比較して有意な低値が認められた。また、投与後14日間の体重増加量および体重増加率にも低値傾向がみられ、雄の体重増加率では有意な低値が認められた。

4. 剖検

剖検所見を Table 7、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-2-5に示す。

死亡例では、600 mg/kg投与群の雄3例、1200 mg/kg投与群の雄5例で変化は認められなかった。600 mg/kg投与群の投与後3日の雌の死亡例1例(No. 452)で、脾臓の萎縮と前胃粘膜の多巣性の微細暗赤色斑および腺胃粘膜の暗赤色斑がみられ、また1200 mg/kg投与群の投与後6時間の雌の死亡例1例(No. 553)でも腺胃粘膜の暗赤色斑が認められた。

なお、生存例では、各投与群の雌雄ともに全例で変化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、4-(1-メチルエテニル)フェノールを 1 群雌雄各 5 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットにそれぞれ 0(対照群)、150、300、600 および 1200 mg/kg の投与量で単回経口投与して、その毒性を検討した。

その結果、600 mg/kg 以上の投与群で毒性徴候が観察され、雌雄とも投与後 1 時間から 6 時間までに呼吸緩徐、血尿、体温低下、腹臥、自発運動の減少、よろめき歩行、呼吸促迫および口周囲または外尿道口周囲被毛の汚れ等を示し、死亡例も認められた。この死亡は投与後 6 時間から 3 日までの間に、600 mg/kg 投与群で雌雄各 3 例、1200 mg/kg 投与群で雌雄全例に認められた。しかし、雌雄とも 300 mg/kg 以下の投与群では死亡例はなく、最大耐量は 300 mg/kg、LD_{50} 値は 585.8 mg/kg であった。

体重では、雌雄の 600 mg/kg 投与群の生存例で体重増加抑制が認められたが、300 mg/kg 以下の投与群で変化は認められなかった。

剖検では、雌の 600 mg/kg 投与群および 1200 mg/kg 投与群の各 1 例で腺胃粘膜の暗赤色斑がみられ、600 mg/kg 投与群の 1 例では前胃粘膜の暗赤色斑と脾臓の萎縮も伴っていた。腺胃または前胃の暗赤色斑は被験物質による傷害性変化あるいは循環障害によると考えられたが、脾臓の萎縮は発現した毒性徴候等に付随した二次的な消耗性の変化と考えられた。

以上のことから、4-(1-メチルエテニル)フェノールの本試験条件下での LD_{50} 値は雌雄とも 585.8 mg/kg であった。

参考文献

1) 4-(1-メチルエテニル)フェノールのラットにおける単回経口投与毒性試験(予備試験)(SR00106P):最終報告書、株式会社 化合物安全性研究所(2001)

Figures

Figure 1 Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Figure 2 Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Tables

Table 1 Experimental design for acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol in rats (SR00106)

Table 2 Mortality of rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Table 3 General appearance of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Table 4 General appearance of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Table 5 Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Table 6 Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Table 7 Gross findings of rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

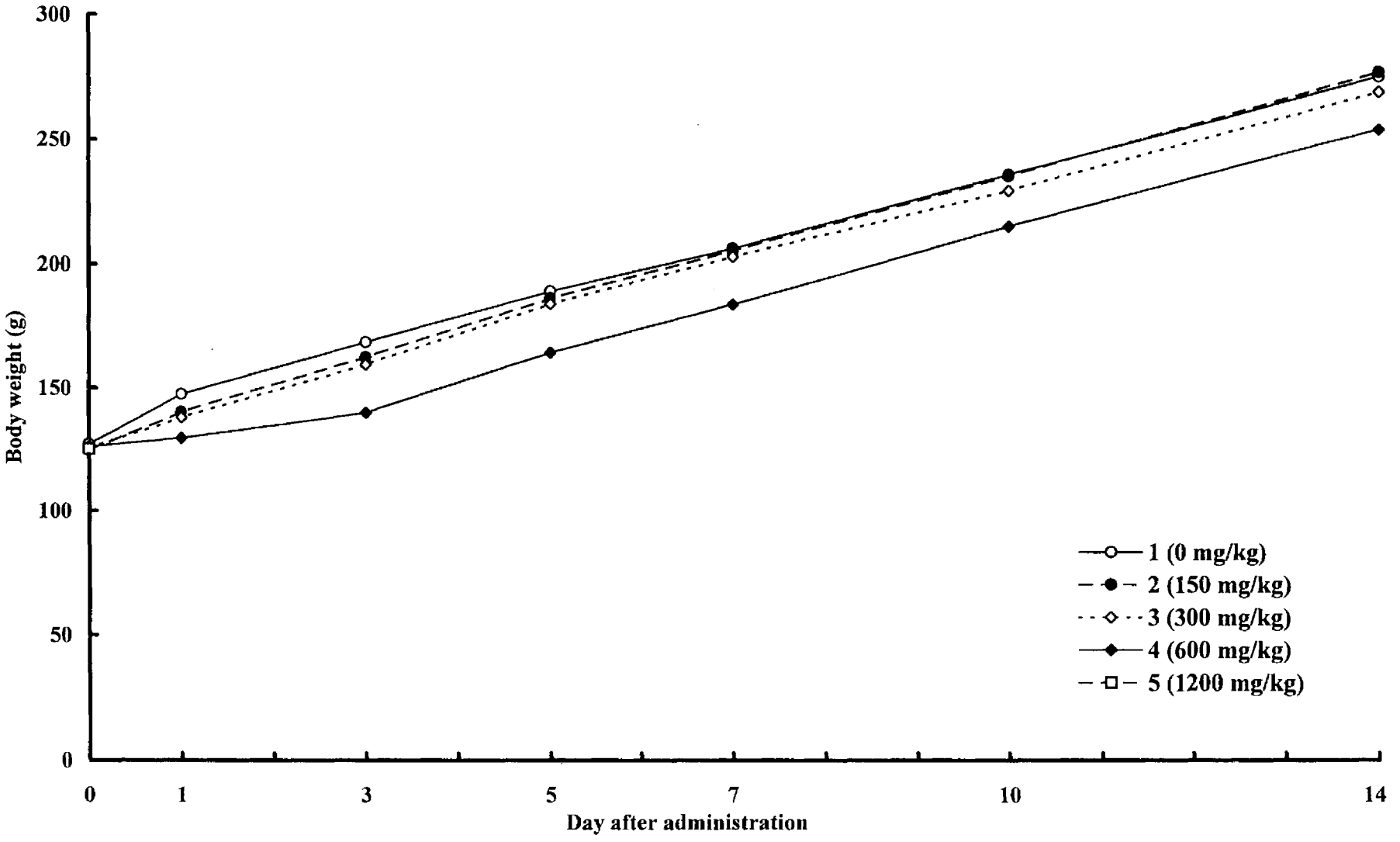

Figure 1 Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

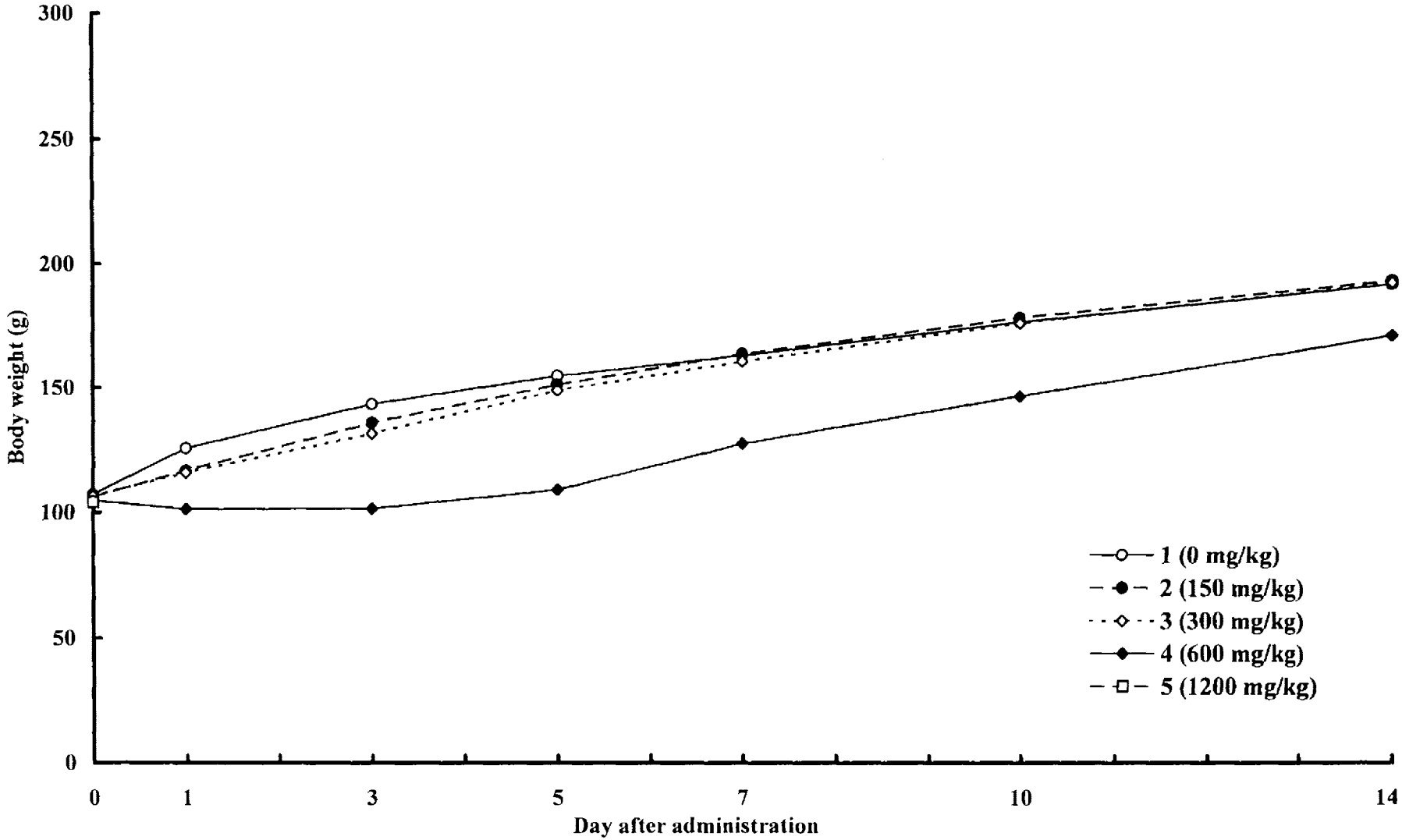

Figure 2 Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Table 1 Experimental design for acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol in rats (SR00106)

Group	Dose (mg/kg)	Concentration[a] (mg/mL)	Administration volume (mL/kg)	Number of animals[b] (Animal No.) Male	Female
1	0	0	10	5 (101～105)	5 (151～155)
2	150	15	10	5 (201～205)	5 (251～255)
3	300	30	10	5 (301～305)	5 (351～355)
4	600	60	10	5 (401～405)	5 (451～455)
5	1200	120	10	5 (501～505)	5 (551～555)

a : 4-(1-Methylethenyl)phenol were suspended in 0.5% carmellose sodium.

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

Table 2 Mortality of rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Sex	Group; Dose	Number of dead animals					Mortality [a]	LD_{50} (mg/kg) [b]
		Day of the administration	1 day after the administration	2 days after the administration	3 days after the administration	4-14 days after the administration		
Male	1 (0 mg/kg)	0	0	0	0	0	0 / 5	
	2 (150 mg/kg)	0	0	0	0	0	0 / 5	
	3 (300 mg/kg)	0	0	0	0	0	0 / 5	585.8
	4 (600 mg/kg)	1	2	0	0	0	3 / 5	
	5 (1200 mg/kg)	0	5	-	-	-	5 / 5	
Female	1 (0 mg/kg)	0	0	0	0	0	0 / 5	
	2 (150 mg/kg)	0	0	0	0	0	0 / 5	
	3 (300 mg/kg)	0	0	0	0	0	0 / 5	585.8
	4 (600 mg/kg)	0	2	0	1	0	3 / 5	
	5 (1200 mg/kg)	1	4	-	-	-	5 / 5	

a: Number of dead animals / number of animals dosed.
b: 95% confidence limits were not calculable.
-: Blank value.

Table 3 General appearance of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Group	Day of the administration						Days after the administration	
	Pre-administration	30 minutes after the administration	Hours after the administration					
			1	2	4	6	1	2 - 14
1 (0 mg/kg)								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormal findings	5	5	5	5	5	5	5	5
2 (150 mg/kg)								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormal findings	5	5	5	5	5	5	5	5
3 (300 mg/kg)								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormal findings	5	5	5	5	5	5	5	5
4 (600 mg/kg)								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	4	2
No abnormal findings	5	5	5	2	3	2	2	2
Bradypnea	0	0	0	0	0	1	0	0
Decrease in locomotor activity	0	0	0	3	2	1	0	0
Hematuria	0	0	0	0	0	1	0	0
Hypothermia	0	0	0	0	0	1	0	0
Prone position	0	0	0	0	0	1	0	0
Soil of perigenital fur	0	0	0	0	0	0	1	0
Dead	0	0	0	0	0	1	2	0

(To be continued)

Table 3 (Continued)

Group	Day of the administration						Days after the administration	
	Pre-administration	30 minutes after the administration	Hours after the administration					
			1	2	4	6	1	2 - 14
5 (1200 mg/kg)								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	0
No abnormal findings	5	5	4	2	2	0	0	-
Bradypnea	0	0	0	0	0	5	0	-
Decrease in locomotor activity	0	0	0	1	2	0	0	-
Hematuria	0	0	0	0	0	1	0	-
Hypothermia	0	0	0	0	0	4	0	-
Lateral position	0	0	0	0	1	4	0	-
Prone position	0	0	0	1	0	1	0	-
Staggering gait	0	0	1	1	0	0	0	-
Tachypnea	0	0	0	0	1	0	0	-
Dead	0	0	0	0	0	0	5	-

- : Blank value

Table 4 General appearance of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Group	Day of the administration						Days after the administration				
	Pre-administration	30 minutes after the administration	Hours after the administration								
			1	2	4	6	1	2	3	4	5 - 14
1 (0 mg/kg)											
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormal findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2 (150 mg/kg)											
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormal findings	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5
Soil of perigenital fur	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
3 (300 mg/kg)											
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
No abnormal findings	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
4 (600 mg/kg)											
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	3	3	2	2
No abnormal findings	5	5	5	4	4	2	0	1	1	1	2
Bradypnea	0	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0
Decrease in locomotor activity	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Hematuria	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hypothermia	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Prone position	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Soil of perianal fur	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Soil of perigenital fur	0	0	0	0	0	1	5	2	0	0	0
Soil of perioral fur	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Tachypnea	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Dead	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0

(To be continued)

Table 4 (Continued)

Group	Day of the administration						Days after the administration				
	Pre-administration	30 minutes after the administration	Hours after the administration								
			1	2	4	6	1	2	3	4	5 - 14
5 (1200 mg/kg)											
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	4	0	0	0	0
No abnormal findings	5	5	3	1	0	0	0	-	-	-	-
Bradypnea	0	0	0	0	1	3	0	-	-	-	-
Decrease in locomotor activity	0	0	0	3	4	1	0	-	-	-	-
Hematuria	0	0	0	0	0	1	0	-	-	-	-
Hypothermia	0	0	0	0	0	1	0	-	-	-	-
Lateral position	0	0	0	0	1	3	0	-	-	-	-
Prone position	0	0	0	1	0	0	0	-	-	-	-
Soil of perigenital fur	0	0	0	0	0	0	1	-	-	-	-
Soil of perioral fur	0	0	0	0	0	0	1	-	-	-	-
Staggering gait	0	0	2	0	0	0	0	-	-	-	-
Tachypnea	0	0	0	0	0	1	0	-	-	-	-
Dead	0	0	0	0	0	1	4	-	-	-	-

- : Blank value

Table 5 Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Group	Number of animals		Body weight (g) on day after administration							Body weight gain Day 0-14	
			0	1	3	5	7	10	14	g	%
1 (0 mg/kg)	5	Mean	127.0	147.4	168.8	189.2	206.2	235.6	275.2	148.2	116.700
		S.D.	3.5	5.9	5.0	4.1	5.5	7.7	11.0	9.1	6.434
2 (150 mg/kg)	5	Mean	124.6	140.2	162.6	186.4	205.4	235.0	277.0	152.4	122.240
		S.D.	1.7	9.4	11.5	9.4	13.2	12.2	16.6	15.4	11.302
3 (300 mg/kg)	5	Mean	125.4	138.0	159.6	184.2	203.0	229.2	269.2	143.8	114.586
		S.D.	3.4	6.7	8.5	8.9	9.9	10.5	12.8	9.5	4.957
				(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)
4 (600 mg/kg)	5	Mean	126.0	129.5	140.0*	164.5*	184.0	215.0	254.0	125.0	96.800*
		S.D.	4.0	16.3	28.3	26.2	22.6	22.6	17.0	14.1	8.839
5 (1200 mg/kg)	5	Mean	125.0	-	-	-	-	-	-	-	-
		S.D.	3.9								

Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.
Values in parentheses are number of animals examined.
-: Blank value.
*: Significantly different from the control at $p \leqq 0.05$.

Table 6 *Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)*

Group	Number of animals		Body weight (g) on day after administration							Body weight gain Day 0-14	
			0	1	3	5	7	10	14	g	%
1 (0 mg/kg)	5	Mean	107.0	125.6	143.2	154.8	163.0	176.4	191.8	84.8	79.352
		S.D.	4.6	6.5	7.6	8.0	9.3	10.6	11.6	10.3	9.883
2 (150 mg/kg)	5	Mean	106.0	116.6	135.6	151.2	163.6	178.2	193.4	87.4	82.392
		S.D.	3.7	7.4	8.8	11.4	12.9	16.7	17.0	15.3	13.945
3 (300 mg/kg)	5	Mean	106.4	115.8	131.4	148.8	160.6	176.0	192.4	86.0	80.906
		S.D.	2.7	5.6	7.9	6.8	5.3	2.9	5.7	6.0	6.709
				(3)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)
4 (600 mg/kg)	5	Mean	104.6	101.3**	101.5**	109.0**	127.5**	146.5*	171.0	64.5	60.130
		S.D.	5.1	11.8	21.9	18.4	23.3	21.9	25.5	16.3	10.083
5 (1200 mg/kg)	5	Mean	104.0	-	-	-	-	-	-	-	-
		S.D.	3.7								

Body weight gain (%) = (Body weight gain / body weight on day 0) x 100.
Values in parentheses are number of animals examined.
-: Blank value.
*: Significantly different from the control at $p \leqq 0.05$.
**: Significantly different from the control at $p \leqq 0.01$.

Table 7 Gross findings of rats in acute oral toxicity test of 4-(1-methylethenyl)phenol (SR00106)

Item	Sex	Male					Female				
	Group	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
	Dose (mg/kg)	0	150	300	600	1200	0	150	300	600	1200
Number of animals examined		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Findings of dead animals											
Number of dead animals		0	0	0	3	5	0	0	0	3	5
No abnormal findings		-	-	-	3	5	-	-	-	2	4
Organ : Findings											
Forestomach : Dark red patch, mucosa		-	-	-	0	0	-	-	-	1	0
Glandular stomach : Dark red patch, mucosa		-	-	-	0	0	-	-	-	1	1
Spleen : Atrophy		-	-	-	0	0	-	-	-	1	0
Findings of surviving animals											
Number of surviving animals		5	5	5	2	0	5	5	5	2	0
No abnormal findings		5	5	5	2	-	5	5	5	2	-

- : Blank value