



$N-(1,3\text{-ジメチルブチル})-N'$ -フェニル- α -
フェニレンジアミン のラットにおける
28日間反復経口投与毒性試験
(回復14日間)

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

【目 次】

	頁
要 約	1
緒 言	3
方 法	4
1. 被験物質および投与検体の調製	4
2. 動物および飼育方法	4
3. 群および群分け	5
4. 投与方法	5
5. 検査項目	6
6. 統計処理法	8
結 果	9
1. 一般状態	9
2. 体重	9
3. 摂餌量	9
4. 尿検査	9
5. 血液学的検査	10
6. 血液生化学的検査	10
7. 病理学的検査	10
考 察	13
文 献	15

Fig. 1, 2

Table 1~10

【要 約】

N-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンの28日間反復経口投与毒性試験（回復14日間）を雌雄の Sprague-Dawley 系（Crj:CD）ラットを用いて実施した。投与量は、雌雄とも 0（溶媒対照群）、4、20 および 100 mg/kg とした。雌雄とも溶媒対照群および 100 mg/kg 投与群では 1 群10匹、4 および 20 mg/kg 投与群では 1 群5匹を使用し、溶媒対照群および 100 mg/kg 投与群の雌雄各 5 匹については14日間の回復試験を行った。その結果、以下の成績を得た。

1. 投与期間中および回復試験期間中に、溶媒対照群および被験物質投与群のいずれにおいても死亡例は認められなかった。
2. 一般状態の変化として、20 mg/kg 以上の投与群の雄ならびに全ての投与群の雌で、投与直後に一過性の流涎が散見された。流涎は投与直後のきわめて早い時間から起こり、一部では反復投与中に保定の時点ですでに認められる例もあり、流涎の発現頻度は雌雄とも 100 mg/kg 投与群で高かったことから被験物質に起因した流涎であると判断された。
3. 摂餌量では、100 mg/kg 投与群の雌において投与第1日に有意な減少が認められたが、雌雄とも体重には、被験物質投与の影響は認められなかった。
4. 投与期間終了週に実施した尿検査では、100 mg/kg 投与群の雌雄で、蛋白が 100 mg/dL 以上の濃度で出現した強陽性例の発現頻度が増加した。また、100 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 3 例、20 mg/kg 投与群の雌 1 例がビリルビン陽性を示したが、腎臓の病理組織学的所見には被験物質投与によると推察される異常は認められなかった。回復試験期間終了週の検査では、溶媒対照群と被験物質投与群の間に差は認められなかった。
5. 血液学的検査では、投与期間終了時には 100 mg/kg 投与群の雌雄でヘマトクリット値ならびに平均赤血球容積の有意な減少、雄で平均赤血球血色素濃度の増加ならびに雌

で血色素量の減少がみられた。また、同投与群の雌雄では、血小板数の有意な増加が認められ、雌ではプロトロンビン時間と活性部分トロンボプラスチン時間が有意に短縮した。回復試験期間終了時では被験物質投与群の雌雄に血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量の減少が認められ、雄では網状赤血球比率が有意に増加した。

6. 投与期間終了時の血液生化学的検査では、20 mg/kg 投与群の雌および 100 mg/kg 投与群の雌雄において総蛋白濃度の有意な増加が認められた。また、100 mg/kg 投与群の雄で総コレステロール濃度の有意な増加がみられた。回復試験期間終了時の検査では、被験物質投与の影響と思われる変化は認められなかった。

7. 投与期間終了時屠殺例の 100 mg/kg 投与群の雌雄において肝臓の相対重量が有意に増加し、雌では絶対重量も有意に増加した。回復試験期間終了時屠殺例では、100 mg/kg 投与群の雌で肝臓の相対重量が有意に増加した。

8. 投与期間終了時屠殺例の病理学的検査において、門脈周囲性の肝細胞の脂肪化が 100 mg/kg 投与群の雌雄全例、20 mg/kg 投与群の雄 3 例、雌全例、4 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 2 例、溶媒対照群の雌雄各 1 例で認められた。この変化の程度は用量依存的に増強し、100 mg/kg 投与群の雌雄および 20 mg/kg 投与群の雌において統計学的に有意な差が認められた。4 mg/kg 投与群においては、病変の程度ならびに発現頻度に溶媒対照群との間で差は認められなかった。一方、回復試験期間終了時の屠殺例では、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上のことから、本試験条件下における *N*-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンの無影響量は、雌雄とも 4 mg/kg であると判断された。

【緒 言】

N-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンは、脱酸素剤やゴムの老化防止剤として使用されており、ラット単回経口投与時の 50%致死量は、2500～3340 mg/kg あるいは 3580 mg/kg¹⁾ であり、一般状態では自発運動の亢進や下痢が観察されている²⁾。一方、SD 系ラットに 250、1000 および 2500 ppm の濃度で 3 か月間混餌投与した場合（投与量は雄でそれぞれ 15.7、62.3 および 153.8 mg/kg、雌ではそれぞれ 18.5、75.0 および 172.1 mg/kg に相当する）には、体重の減少、貧血、リンパ球の減少、血小板の増加、血中総蛋白、アルブミン、グロブリン、カルシウム濃度の増加、肝臓重量の増加が雌雄で、雄ではさらに血中ビリルビン濃度の増加が認められ、無影響量は雌雄とも 250 ppm であることが明らかになっている³⁾。また、皮膚刺激性も認められている⁴⁾。今回、「OECD既存化学物質の安全性点検に係る毒性調査」事業の一環として、*N*-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンのラットにおける28日間反復投与毒性試験（回復14日間）を実施した。

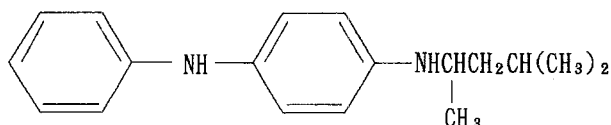
なお、本試験は、昭和61年12月5日付、環保業第700号、薬発第1039号、61基局第1014号通達「ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験」（化審法ガイドライン）および化学物質 GLP（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、改訂昭和63年11月18日、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に従って実施した。

【方 法】

1. 被験物質および投与検体の調製

被験物質として、より提供された *N*-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミン〔ロット番号：暗紫褐色粒状固体、比重：1.08、純度99wt%、分子量：268.40、分子式： $C_{18}H_{24}N_2$ 、構造式（図）、融点（凝固点）：49℃、沸点：380℃、蒸気圧：5 mmHg/208℃〕を用い、入手後、試験開始までは食品薬品安全センター秦野研究所被験物質保管室内で、試験期間中は検体調製室で、密栓、冷蔵、遮光下で保管した。

構造式



被験物質を 0.08、0.4、2 % (w/v) の各濃度ごとに秤量し、乳鉢で粉碎した後、コーンオイル〔ロット番号：V7P1509、ナカライテスク(株)〕に溶解した。これをガラス容器に分注し、投与時まで冷暗所（冷蔵庫）で保管した。投与検体の調製は7日に1回の頻度で行った。なお、秦野研究所において、*N*-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンの8日間の安定性試験（急性毒性試験、試験計画番号：A-97-034において実施）および含量試験を実施した結果、0.08 および 20 % (w/v) コーンオイル中の被験物質は、冷蔵遮光の条件で8日間安定であり（Appendix 11-1）、また、投与検体中の被験物質の含量は、所定濃度の 101~106 %であることが確認された（Appendix 11-2）。

2. 動物および飼育方法

生後4週で購入した雌雄の Sprague-Dawley 系ラット（Crj:CD;SPF、日本チャールス・リバー(株)、厚木飼育センター生産）（注1）を6日間予備飼育した後、一般状態に異常の認められなかった雌雄各30匹を試験に供した（注2）。

（注1）動物入荷日	：	1998年1月7日
入荷匹数	：	雌； 35匹、雄； 35匹
入荷時体重	：	雌； 69.6~77.9 g（平均 73.3g）
		雄； 70.7~82.8 g（平均 76.6g）
（注2）投与開始日	：	1998年1月13日（雌・雄）
投与開始時体重	：	雌； 110.9~128.2 g（平均 121.6 g）
		雄； 124.1~141.5 g（平均 132.6 g）

各動物は、基準温度 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、基準湿度50～65%、換気回数約15回/時、照明12時間（午前7時～午後7時）に制御された飼育室で、金属製金網床ケージ（ $220 \times 270 \times 190\text{ mm}$ ）に1匹ずつ収容し、固型飼料（CE-2、日本クレア(株)）および水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取させた。なお、動物飼育期間中、飼育室の温度の実測値は、基準値の範囲内にあり、湿度の実測値は、日常的湿式清掃等による1時間以内の逸脱を除いて基準値内にあった（注3）。また、供給した飼料および水には試験に支障を来す可能性のある混入物はなかった。なお、各動物の耳介に耳パンチを用いて個体番号を標識し、また、各群ごとに色の異なる動物カードに試験計画番号、性、群および動物番号等を記入して飼育ケージに掛け、個体識別の補助とした。

3. 群および群分け

本試験における投与量は、本試験開始前に秦野研究所で *N*-(1, 3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンのラットにおける7日間反復経口投与毒性試験を実施し、その成績を参考にして決定した。即ち、雄の Sprague-Dawley 系ラット1群5匹に、*N*-(1, 3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンを、100、300 および 1000 mg/kg の用量で7日間反復投与した結果、1000 mg/kg 投与群で4例が死亡した。剖検では 1000 mg/kg 投与群で黄疸、100 および 300 mg/kg 投与群で肝臓の腫大が5例に認められ、パイエル板の腫大も4例にみられた。従って、化審法ガイドライン「ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験」に準拠して、本試験における用量は雌雄とも 100 mg/kg を最高用量とし、以下公比5で除して 20 mg/kg および 4 mg/kg を設定した。なお、雌雄とも対照群として溶媒（コーンオイル）投与群を設けた。

群分けは、投与開始前日の体重に基づいて、体重別層化無作為抽出法により行った。各群の匹数および動物番号を以下に示した。

群	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	動物番号	
			雄	雌
溶媒対照群（コーンオイル）	0	5	1～10	31～40
低用量群	4	5	11～15	41～45
中用量群	20	5	16～20	46～50
高用量群	100	5	21～30	51～60

4. 投与方法

本試験の投与経路は、化審法ガイドライン「ほ乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験」

（注3）動物飼育期間中の温湿度の実測値
 温度 $23.0 \sim 24.5^{\circ}\text{C}$
 湿度 55～68%

に従い経口投与とした。

投与は、1日1回、28日間（投与開始日を投与第1日、投与開始週を投与第1週として起算）、ラット用胃管を用いて強制的に行い、投与容量は、雌雄とも5 mL/kg として、各投与時に最も近い時点で測定された体重を基にして個体別に算出した。なお、雌雄とも溶媒対照群および 100 mg/kg 投与群の各5匹を投与期間終了後、14日間の回復試験に用いた。

5. 検査項目

1) 一般状態の観察

投与期間および回復試験期間を通じて、死亡例の有無を調べたほか、生存例全例について、一般状態を投与期間中は毎日、投与前および投与後の2回（回復試験期間中は1回）観察した。

2) 体重および摂餌量の測定

投与開始第1週では、投与開始直前と投与第4日、第2週以降の投与期間および回復試験期間中は、生存例全例について1週に2回の頻度で体重を測定し、投与期間あるいは回復試験期間終了日および剖検日にも体重の測定を行った。また、投与開始週では、投与開始日に、第2週以降の投与期間および回復試験期間中は、生存例全例について1週に1回の頻度で1日当たりの摂餌量を測定した。

3) 尿検査

投与期間終了週（投与第23日）に各群とも動物番号の若い方から5匹を選択し、また回復試験期間終了週（回復第9日）には回復試験を行った全例を、いずれも約24時間代謝ケージに収容して採尿し、以下の項目について検査した。なお、pH、潜血、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲンおよび沈渣の検査には、動物を代謝ケージに収容して約4時間以内に採取した尿を用いた。

項	目	測定法および使用器具・製品
尿量	計量	天秤
色調、混濁	視診	
比重	重量法	天秤
pH、潜血、蛋白質、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン	試験紙法	クリニテック200+（バイエル・三共）
沈渣	鏡検	光学顕微鏡

4) 血液学的検査

投与期間終了時および回復試験期間終了時の剖検に先立ち、全例を約18ないし24時間絶食させたのち、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で腹部後大静脈より EDTA 2K を抗凝固剤として採血し、以下の項目を検査した。なお、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間の測定には、クエン酸ナトリウムを抗凝固剤として採血した血液を用いた。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
赤血球数 (RBC)	自動 (電気抵抗法)	Coulter Counter Model S-PLUS IV (コルター エレクトロニクス)
白血球数 (WBC)	" (")	"
血色素量 (Hb)	" (吸光度法)	"
平均赤血球容積 (MCV)	" (電気抵抗法)	"
血小板数	" (")	"
ヘマトクリット値 (Ht)	計算 ($0.001 \times \text{RBC} \times \text{MCV}$)	
平均赤血球血色素量	" ($1000 \times \text{Hb} / \text{RBC}$)	
平均赤血球血色素濃度	" ($100 \times \text{Hb} / \text{Ht}$)	
白血球分類	視算 (静脈血塗抹標本, Wright-Giemsa 染色)	光学顕微鏡
網状赤血球比率	Brecher 法	"
プロトロンビン時間	光散乱検出法	CA-1000 (東亜医用電子)
活性部分トロンボプラスチン時間	"	"

5) 血液生化学的検査

前述の血液学的検査のための採血に引き続き、ヘパリンを抗凝固剤として採血し、それぞれ血漿を分離して以下の項目について検査を行った。

項 目	測 定 法	使 用 機 器
総蛋白濃度	ビウレット法	遠心方式生化学自動分析装置 COBAS-FARA (ロシュ)
アルブミン濃度	BCG 法	"
総コレステロール濃度	COD・DAOS 法	"
ブドウ糖濃度	グルコキナーゼ・G6PDH 法	"
尿素窒素濃度	ウレアーゼ・G.DH 法	"
クレアチニン濃度	Jaffé 法 (Rate)	"
アルカリフォスファターゼ活性	GSCC法	"
GOT 活性	IFCC法	"
GPT 活性	"	"
LDH 活性	Wróblewski-La Due 法	"
カルシウム濃度	OCPC法	"
無機リン濃度	モリブデン酸直接法	"
トリグリセリド濃度	GPO・DAOS法	"
γ -GTP 活性	γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロニリド基質法	"
A/G 比	計算	
ナトリウム濃度	イオン電極法	全自動電解質分析装置EA05 (A&T)
カリウム濃度	"	"
塩素濃度	"	"

6) 病理学的検査

上記の採血に引き続き、必要に応じて腋窩動脈を切断して放血屠殺したのち、器官および組織の肉眼的観察を行った。また、各動物の脳、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣または精巣、精巣上体の重量測定を行い、各器官重量を剖検日の体重で除して、それぞれの相対重量を算出した。さらに、脳、脊髄、下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺（上皮小体を含む）、顎下腺（舌下腺を含む）、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、副腎、胃、十二指腸、空腸、回腸、結腸、直腸、卵巣または精巣、精囊、精巣上体、膀胱、前立腺、大腿骨骨髓、坐骨神経、下腿部骨格筋は、0.1 M リン酸緩衝10%ホルマリン液（pH 7.2）で固定した。病理組織学的検査は、脳、脊髄、胸腺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、回腸、膀胱、大腿骨骨髓、坐骨神経のほか、剖検時に肉眼的変化の認められた一部の例の肺、皮膚、甲状腺についてパラフィン包埋後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本作製し、実施した。

6. 統計処理法

体重、摂餌量、半定量検査を除く尿検査および定期解剖例の血液学的検査、血液生化学的検査ならびに器官重量について、各群ごとに平均値および標準偏差を求めた。また、試験群の構成が溶媒対照群を含め3群以上ある場合は、Bartlettの方法による分散の1様性の検定（有意水準：5%）を行い、ついで、分散が1様な場合は、一元配置型の分散分析を行い、有意（有意水準：5%）の時はDunnettの方法で多重比較を行った。一方、分散が1様でない場合はKruskal-Wallisの順位検定を行い、有意（有意水準：5%）ならばDunnett型の検定法で多重比較を行った。また、試験群が溶媒対照群を含め2群となる場合には、溶媒対照群と被験物質投与群の各平均値の差の検定は、等分散であればStudentのt検定、不等分散であればAspin-Welchのt検定を行った。さらに、病理組織学的検査所見については、グレード分けしたデータはMann-Whitney U検定（両側検定）により、また、陽性グレードの合計値はFisher直接確率の片側検定により、溶媒対照群および被験物質投与群との間の有意差検定を行った（有意水準：5%）。

【結 果】

1. 一般状態 (Table 1, Appendix 1-1~1-2)

一般状態の変化として一過性の流涎が、投与第8日から 100 mg/kg 投与群の雄7例および雌4例で投与直後に観察され、投与期間終了日までに雄の計9例および雌の計10例に認められた。流涎は全ての例で3時間以内に消失した。また、これらのうちで雄5例、雌3例では投与の為に保定した時点から流涎の認められる場合もあった。その他の群でも、溶媒対照群の雌1例、4 mg/kg 投与群の雌2例、20 mg/kg 投与群の雌雄各2例に投与直後の一過性の流涎が同様に認められた。これらの流涎は、回復試験期間中は認められなかった。

その他の一般状態の変化として、頸部皮膚の痂皮または脱毛が 100 mg/kg 投与群の雄1例および雌2例、20 mg/kg 投与群の雌1例に認められた。

2. 体重 (Fig. 1, Table 2-1~2-2, Appendix 2-1~2-2)

雌雄共に、投与期間および回復試験期間を通して、溶媒対照群と被験物質投与群の平均体重の間に有意差は認められなかった。

3. 摂餌量 (Fig. 2, Table 3-1~3-2, Appendix 3-1~3-2)

100 mg/kg 投与群において、投与第1日の雌で有意な摂餌量の減少が認められた。また、回復第1日に雄で有意な増加が認められた。

4. 尿検査 (Table 4-1~4-2, Appendix 4-1-1~4-2-2)

投与期間終了週の検査では、雌の4および20 mg/kg 投与群の各2例、100 mg/kg 投与群の4例で蛋白が疑陽性または陽性を示し、100 mg/kg 投与群ではその程度が強かった。また、20 mg/kg 投与群の雌1例および100 mg/kg 投与群の雄1例、雌3例にビリルビン陽性が認められた。なお、投与期間終了週の20 mg/kg 投与群の雌1例および回復試験期間終了週の100 mg/kg 投与群の雌1例に潜血反応陽性が認められたが、これらは頸部皮膚の痂皮部位からの出血によるものと判断された。その他の検査項目については、溶媒対照群と被験物質投与群との間に差は認められなかった。

5. 血液学的検査 (Table 5-1-1~5-2-2, Appendix 5-1-1~5-2-2)

投与期間終了時の検査では、100 mg/kg 投与群の雌雄においてヘマトクリット値および平均赤血球容積の有意な減少ならびに血小板数の有意な増加が認められ、さらに、雄では平均赤血球血色素濃度の有意な増加、雌では血色素量の有意な減少およびプロトロンビン時間と活性部分トロンボプラスチン時間の有意な短縮がみられた。

回復試験期間終了時の検査では、100 mg/kg 投与群の雌雄において血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積ならびに平均赤血球血色素量の有意な減少が認められた。さらに、雄では網状赤血球比率の有意な増加もみられた。

6. 血液生化学的検査 (Table 6-1-1~6-2-2, Appendix 6-1-1~6-2-2)

投与期間終了時の検査では、100 mg/kg 投与群の雌雄において総蛋白濃度が有意に増加し、雌では 20 mg/kg 投与群においても有意な増加がみられた。また、100 mg/kg 投与群の雄では総コレステロール濃度も有意に増加した。その他、100 mg/kg 投与群の雄ではクレアチニン濃度およびカルシウム濃度の有意な増加と A/G 比の有意な減少、雌ではアルブミン濃度の増加と無機リン濃度の減少に有意差が認められ、20 mg/kg 投与群の雌では無機リン濃度の減少に有意差が認められた。しかし、これらはいずれも生理的変動範囲を越えるものではなかった。その他の検査項目では、溶媒対照群と被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

回復試験期間終了時の検査では、100 mg/kg 投与群の雄においてトリグリセライド濃度が有意に増加したが、これも生理的変動範囲を越えるものではなかった。

7. 病理学的検査

1) 器官重量 (Table 7-1-1~8-2-2, Appendix 7-1-1~8-2-2)

投与期間終了時剖検例では、100 mg/kg 投与群の雌雄において、肝臓の相対重量が有意に増加し、雌では絶対重量も増加した。なお、4 mg/kg 投与群の雌において脳の絶対重量が有意に増加したが、他の被験物質投与群には変化が認められなかったことから偶発的な有意差と判断した。その他には溶媒対照群と被験物質投与群との間に有意差は認められなかった。

回復試験期間終了時剖検例では、100 mg/kg 投与群の雌の肝臓で相対重量が有意に増加した。

2) 剖検所見 (Table 9-1-1~9-2-2, Appendix 9-1-1~9-2-2)

投与期間終了時剖検例では、肺の暗色点あるいは暗色部が 100 mg/kg 投与群の雄 2 例、20 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例、溶媒対照群の雌 1 例に観察された。肝臓では腫大が 100 mg/kg 投与群の雄 2 例、雌 1 例に、小葉構造の明瞭化が 100 mg/kg 投与群の雌 2 例、20 mg/kg 投与群の雄 1 例に、黄色化が 100 mg/kg 投与群の雌 1 例、20 mg/kg 投与群の雄 1 例に、暗色化が 100 mg/kg 投与群の雌 3 例に観察された。腎臓ではシストおよび陥没部が、4 mg/kg 投与群の雌 1 例に観察された。皮膚の痂皮形成および脾臓の小型化が 20 mg/kg 投与群の雌各 1 例に、回腸の憩室が 4 mg/kg 投与群の雌 1 例に観察された。

回復試験期間終了時剖検例では、肺の暗色点あるいは暗色部が溶媒対照群の雄および 100 mg/kg 投与群の雄の各 1 例に、肺の褐色結節が溶媒対照群の雄 1 例に観察され、肝臓の黄色化が 100 mg/kg 投与群の雄 1 例、横隔膜結節が 100 mg/kg 投与群の雌 1 例に観察された。腎臓では、腎盂の拡張、尿細管の明瞭化が溶媒対照群の雄の各 1 例に、脾臓では、形状の異常が 100 mg/kg 投与群の雌 1 例に観察された。また、皮膚に痂皮が 100 mg/kg 投与群の雌 1 例に認められた。

3) 病理組織学的所見 (Table 10-1-1~10-2-2, Appendix 10-1-1~10-2-2, Photo 1, 2)

投与期間終了時剖検例では、門脈周囲性の肝細胞の脂肪が 100 mg/kg 投与群の雌雄全例、20 mg/kg 投与群の雄 3 例、雌全例、4 mg/kg 投与群の雄 1 例、雌 2 例、溶媒対照群の雌雄各 1 例に認められ、その発現頻度は 100 mg/kg 投与群の雌雄および 20 mg/kg 投与群の雌で溶媒対照群に比較して有意に増加し、病変の程度も強い傾向がみられた (Photo 1, 2)。この他、単細胞壊死が溶媒対照群の雄 1 例、雌 2 例、4 mg/kg 投与群の雌雄各 1 例、20 mg/kg 投与群の雄 3 例、雌 2 例、100 mg/kg 投与群の雄 2 例、雌 1 例に、少数あるいはごく少数の微小肉芽腫が、雌雄の溶媒対照群を含む各投与群の多くの例に観察された。

腎臓では、軽微あるいは軽度のリンパ球浸潤が雄の溶媒対照群の 4 例、4 mg/kg 投与群の 1 例、20 mg/kg 投与群の 4 例に認められたが、100 mg/kg 投与群では 1 例も認められず、発現頻度は、溶媒対照群に比較して有意な減少がみられた。このほか、遠位尿細管上皮の核濃縮、好塩基性尿細管が雌雄の溶媒対照群を含む各群の多くの例に観察された。

脾臓では、軽微あるいは軽度の髄外造血が、雌雄の溶媒対照群を含む各群の多くの例に

認められた。

副腎では、皮質の空胞化が雄の全例に認められた。

胸腺では、微小出血が雄の溶媒対照群および 4 mg/kg 投与群の各 2 例、20 および 100 mg/kg 投与群の各 1 例、雌の溶媒対照群および 20 mg/kg 投与群の各 1 例にみられた。

その他にも表に示すような所見が観察された。

回復試験期間終了時剖検例では、肝臓において、門脈周囲性の肝細胞の脂肪化が溶媒対照群の雄 1 例、100 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例に、微小肉芽腫が雌雄の全例に、単細胞壊死が溶媒対照群の雄 3 例、雌 2 例、100 mg/kg 投与群の雄 2 例、雌全例に観察された。

腎臓では、軽微あるいは軽度の鉍質沈着が雌の 100 mg/kg 投与群の 4 例に観察され、溶媒対照群に比較して有意に発現頻度が高かった。また、遠位尿細管上皮の核濃縮が溶媒対照群および 100 mg/kg 投与群の雌雄全例に、好塩基性尿細管が溶媒対照群の雄 3 例、雌 1 例、100 mg/kg 投与群の雌雄各 3 例に観察された。

脾臓では、髄外造血が溶媒対照群の雄全例、雌 3 例、100 mg/kg 投与群の雌雄各全例に観察されたほか、雌の 100 mg/kg 投与群の 1 例には、線維化と褐色色素の沈着がみられた。

副腎では、皮質の空胞化が、雄の溶媒対照群および 100 mg/kg 投与群の全例に観察された。その他にも表に示すような所見が認められた。

N-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンを4、20 および 100 mg/kg の用量で、雌雄の Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラットに1日1回、28日間にわたって反復経口投与した。

その結果、一般状態の変化として、投与第8日以降 100 mg/kg 投与群の雌雄で投与直後に一過性の流涎が認められ、投与期間終了日までに、ほぼ全例で観察された。これらの一部の例では、流涎は投与前の保定時から認められた。*N*-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンは刺激性を有することが報告されていることから⁴⁾、本試験で観察された流涎は、被験物質の粘膜刺激性に対する反応であり、また、連続投与による条件反射であると考えられた。

摂餌量では、投与第1日の 100 mg/kg 投与群の雌において認められた減少は、投与を継続してもそれ以後は認められず、体重の増加も正常であったため、被験物質投与による一時的な食欲の抑制と判断した。回復試験期間第1日の 100 mg/kg 投与群の雄において認められた摂餌量の増加は、その後認められないことから偶発的なものと考えた。雌雄とも体重には、被験物質投与の影響は認められなかった。

尿検査では、100 mg/kg 投与群の雌雄において溶媒対照群と比較し、蛋白質陽性あるいは疑陽性例の発現頻度が高く、100 mg/dL 以上の蛋白が認められた強陽性も雄で2例、雌で3例みられた。これらの例では血液生化学的検査においても血漿中の総蛋白濃度が増加しており、被験物質の影響である可能性が示唆される。雌においては、4 および 20 mg/kg 投与群で各2例の蛋白陽性あるいは疑陽性が認められたが、これらの発現頻度を「既存化学物質の安全点検事業」の一環として過去3年間に当研究所で実施された7試験の28日間反復投与毒性試験の成績(30例中に5例で陽性)と比較すると差は認められないことから被験物質投与による影響ではないと判断される。100 mg/kg 投与群においても病理組織学的検査において腎臓でこれらに関係する明らかな変化は認められず、血液生化学的検査において尿素窒素やクレアチニン濃度に変化はみられなかった。

血液学的検査では、100 mg/kg 投与群で投与期間終了時にヘマトクリット値や平均赤血球容積、血色素量の減少が認められ、貧血傾向を示していると推察された。また、回復試験期間終了時には網状赤血球比率の増加が認められた。さらに、血小板数の増加ならびにプロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間の短縮がみられた。こうした変化

は、*N*-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンの3か月間混餌投与による毒性試験³⁾においても、1000 ppm以上の投与群において認められることから、被験物質投与による影響であると考えられる。混餌投与での1000 ppm投与群は、摂餌量から雄で62.3 mg/kg/day、雌で75.0 mg/kg/dayの投与量に換算できることから、本試験においても用量的に混餌投与試験の成績を再現したと考えられる。病理組織学的には、骨髓に異常所見を認めないことから貧血の機序は造血系への影響とは考えられず、尿中ビリルビン陽性例が増加したことから溶血性である可能性が示唆されたが詳細な機序は不明である。

病理学的検査では、投与期間終了時屠殺例の肝臓において、100 mg/kg投与群の雌雄で相対重量が増加し、雌では絶対重量の増加も認められ、雌雄ともに、20 mg/kg以上の投与群で門脈周囲性の肝細胞の脂肪化の発現頻度あるいは程度が増強する傾向が認められた。これらの結果から、本被験物質の投与により肝臓に影響が認められる可能性が示唆されたが血液生化学的検査では、雄で総コレステロール濃度に変化はあったものの血中トリグリセライド濃度には変化はみられないことから、本試験でその機序を明らかにすることは出来なかった。回復期間終了時屠殺例の肝臓でも、100 mg/kg投与群の雌での相対重量の増加は有意であった。しかし、門脈周囲性の肝細胞の脂肪化の程度は軽度であり、回復傾向が認められた。その他の器官においても、変化が認められたが、発現頻度も少なく、用量依存性も認められなかったことから、被験物質投与に起因した変化ではないと判断した。

以上の結果、20 mg/kg以上の投与群では雌で血中総蛋白濃度の増加、門脈周囲性の肝細胞の脂肪化が認められることから、本試験条件下における*N*-(1,3-ジメチルブチル)-*N'*-フェニル-*p*-フェニレンジアミンの無影響量は、雌雄とも4 mg/kgであると判断された。

【文 献】

- 1) International Working Group on the Toxicology of Rubber Additives :
Safety data and handling precautions (1984)
- 2) Journal of the American College of Toxicology, Part B. 1 : 67 (1990)
- 3) EPA/OTS ; Doc #88-920007092
Initial Submission : 3-month Feeding Study with SANTOFLEX 13 in Sprague-
Dawley Rats with Cover Letter Dated 080792 and Attachment (1992)
- 4) P.J. Moseley : International Polymer and Technology, 7 : 12 (1980)

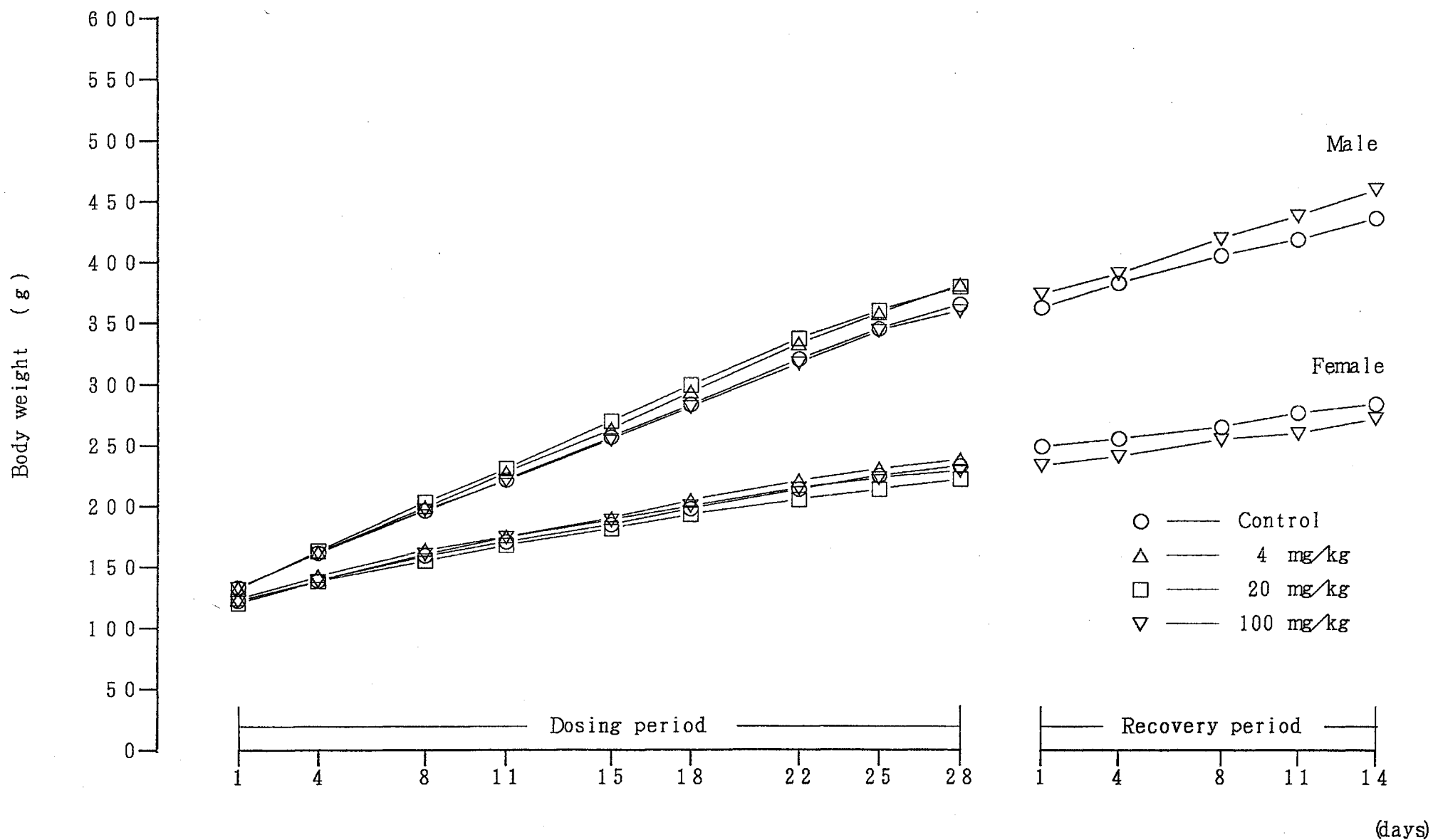


Fig 1 Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1, 3-dimethylbutyl) - N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
Body weight changes

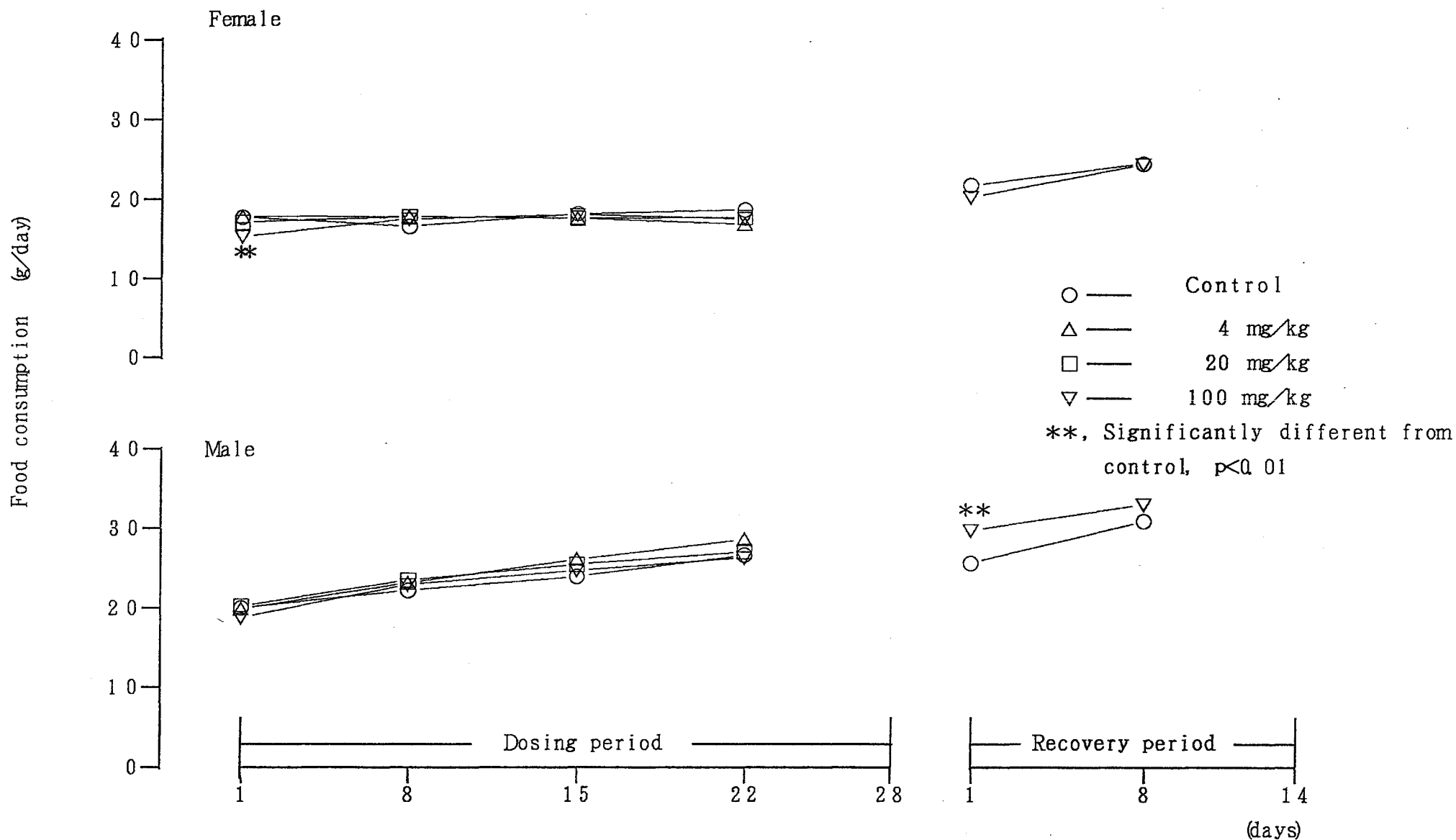


Fig 2 Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
Food consumption

Table 1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Number of animals with transient salivation

Sex	Group	Initial number of animals	Number of animals with salivation ^{a)}					Total
			— Days of dosing period —				— Days of recovery period —	
			1 ~ 7	8 ~ 14	15 ~ 21	22 ~ 28	0 ~ 14	
Male	Control	10	0	0	0	0	0	0
	4 mg/kg	5	0	0	0	0	0	0
	20 mg/kg	5	0	2	1	1	0	2
	100 mg/kg	10	0	8	9	9	0	9
Female	Control	10	0	1	0	0	0	1
	4 mg/kg	5	0	2	1	0	0	2
	20 mg/kg	5	0	2	1	0	0	2
	100 mg/kg	10	0	9	8	8	0	10

a), recovery test was performed in 5 animals of the vehicle control and 100 mg/kg groups of both sexes.

Table 2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Body weight changes in males

Group	Day of dosing period									Day of recovery period				
	1	4	8	11	15	18	22	25	28	1	4	8	11	14
Control	(10) 133.1 ±5.5	(10) 160.9 ±8.2	(10) 195.4 ±12.4	(10) 220.5 ±15.7	(10) 255.4 ±19.6	(10) 282.2 ±22.3	(10) 318.9 ±25.0	(10) 343.4 ±26.3	(10) 363.6 ±28.7	(5) 361.0 ±24.1	(5) 380.8 ±25.1	(5) 403.2 ±25.7	(5) 416.4 ±25.8	(5) 433.4 ±27.6
4 mg/kg	(5) 132.2 ±3.2	(5) 161.2 ±4.4	(5) 198.2 ±7.2	(5) 226.7 ±9.7	(5) 262.2 ±10.0	(5) 292.3 ±11.0	(5) 331.4 ±12.4	(5) 356.3 ±12.1	(5) 379.6 ±19.0					
20 mg/kg	(5) 131.7 ±3.7	(5) 162.7 ±4.1	(5) 202.4 ±5.1	(5) 229.9 ±8.9	(5) 268.6 ±11.4	(5) 297.7 ±14.1	(5) 335.5 ±19.1	(5) 358.5 ±23.9	(5) 378.3 ±29.5					
100 mg/kg	(10) 132.6 ±4.3	(10) 160.8 ±7.6	(10) 196.4 ±11.6	(10) 220.2 ±16.2	(10) 253.6 ±20.8	(10) 280.0 ±24.8	(10) 315.5 ±29.9	(10) 342.1 ±32.4	(10) 358.6 ±36.4	(5) 371.9 ±35.6	(5) 388.9 ±34.6	(5) 417.4 ±37.8	(5) 436.0 ±36.5	(5) 457.5 ±40.4

Parameter, mean(g)±S.D.
(), number of animals

Table 2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Body weight changes in females

Group	Day of dosing period									Day of recovery period				
	1	4	8	11	15	18	22	25	28	1	4	8	11	14
Control	(10) 121.9 ±4.3	(10) 137.8 ±6.1	(10) 158.3 ±8.8	(10) 169.7 ±9.2	(10) 183.5 ±10.8	(10) 196.9 ±12.6	(10) 212.8 ±14.8	(10) 223.6 ±16.4	(10) 231.7 ±20.5	(5) 247.7 ±15.5	(5) 254.0 ±11.8	(5) 263.5 ±12.6	(5) 274.9 ±16.6	(5) 281.9 ±15.3
4 mg/kg	(5) 123.2 ±4.7	(5) 141.8 ±7.3	(5) 163.0 ±10.6	(5) 174.1 ±11.9	(5) 189.0 ±14.2	(5) 203.8 ±15.5	(5) 219.7 ±17.5	(5) 229.3 ±17.0	(5) 237.0 ±23.2					
20 mg/kg	(5) 119.8 ±6.1	(5) 137.7 ±6.6	(5) 154.4 ±8.3	(5) 167.0 ±11.6	(5) 180.6 ±10.2	(5) 192.0 ±10.1	(5) 204.0 ±9.3	(5) 212.7 ±12.0	(5) 221.1 ±15.2					
100 mg/kg	(10) 121.4 ±4.3	(10) 138.2 ±6.3	(10) 160.1 ±8.9	(10) 173.3 ±9.5	(10) 187.3 ±12.0	(10) 199.0 ±12.7	(10) 213.4 ±16.7	(10) 222.1 ±17.2	(10) 228.2 ±15.2	(5) 232.4 ±16.6	(5) 239.4 ±20.0	(5) 253.2 ±21.0	(5) 258.2 ±22.1	(5) 270.6 ±19.8

Parameter, mean(g)±S.D.

(), number of animals

Table 3-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Food consumption in males

Group	Day of dosing period				Day of recovery period	
	1	8	15	22	1	8
Control	(10) 19.9 ±2.0	(10) 22.1 ±2.2	(10) 23.8 ±2.6	(10) 26.5 ±3.1	(5) 25.5 ±1.7	(5) 30.7 ±2.6
4 mg/kg	(5) 19.8 ±2.3	(5) 23.0 ±1.9	(5) 26.0 ±2.5	(5) 28.4 ±4.2		
20 mg/kg	(5) 20.1 ±1.0	(5) 23.4 ±1.7	(5) 25.3 ±1.3	(5) 26.9 ±1.5		
100 mg/kg	(10) 18.7 ±1.1	(10) 22.8 ±2.6	(10) 24.6 ±2.8	(10) 26.1 ±4.0	(5) 29.6 ** ±1.7	(5) 32.8 ±2.4

Parameter, mean(g)±S.D.
(), number of animals

**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 3-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Food consumption in females

Group	Day of dosing period				Day of recovery period	
	1	8	15	22	1	8
Control	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
	17.6	16.4	18.0	18.4	21.5	24.2
	±1.3	±1.9	±1.7	±2.3	±2.7	±2.6
4 mg/kg	(5)	(5)	(5)	(5)		
	17.7	17.6	17.4	16.6		
	±1.2	±2.0	±2.4	±3.2		
20 mg/kg	(5)	(5)	(5)	(5)		
	17.0	17.6	17.4	17.5		
	±1.9	±1.2	±2.4	±2.4		
100 mg/kg	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(5)
	15.2**	17.3	17.8	17.3	20.0	24.1
	±1.7	±1.9	±1.8	±3.2	±3.2	±2.3

Parameter, mean(g)±S.D.
(), number of animals

**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 4-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Urinalysis in males and females on day 23 of dosing period

Sex	Group	Number of animals	Volume (mL)	Specific gravity	Color ^{b)}		Turbidity ^{c)}		pH										Protein ^{d)}				Glucose ^{e)}		Ketone ^{e)}				Bilirubin ^{e)}				Occult blood ^{e)}				Urobilinogen ^{f)}			
					ly	y	—	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	—	±	+	++	—	—	±	+	—	+	++	—	±	+	—	±	+	±	+						
Male	Control	5	16.3± 7.7 ^{a)}	1.034± 0.012 ^{a)}	3	2	5	0	0	0	1	0	1	1	2	0	0	5	0	5	2	3	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0								
	4 mg/kg	5	16.7± 1.5	1.026± 0.007	5	0	5	0	0	0	2	2	1	0	0	0	0	5	0	5	4	0	1	5	0	0	5	0	0	5	0	0								
	20 mg/kg	5	19.3± 3.9	1.022± 0.012	5	0	5	0	0	0	1	2	0	0	2	0	1	4	0	5	3	2	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0								
	100 mg/kg	5	13.2± 1.2	1.028± 0.010	2	3	5	0	0	0	2	0	0	0	3	0	1	2	2	5	2	3	0	4	1	0	5	0	0	5	0	0								
Female	Control	5	11.8± 1.8	1.027± 0.007	5	0	5	0	0	2	1	1	0	1	0	5	0	0	0	5	4	1	0	5	0	0	5	0	0	5	0	0								
	4 mg/kg	5	8.3± 3.9	1.025± 0.009	4	1	5	0	1	1	1	0	1	0	1	3	1	1	0	5	4	1	0	5	0	0	5	0	0	4	0	1								
	20 mg/kg	5	10.7± 5.6	1.021± 0.010	4	1	5	0	1	1	1	2	0	0	0	3	1	1	0	5	4	1	0	4	1	0	4	0	1	5	0	0								
	100 mg/kg	5	6.9± 3.7	1.041± 0.013	1	4	5	2	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	3	5	2	3	0	2	2	1	5	0	0	2	0	3								

a) mean± S.D.

b) ly, light yellow; y, yellow

c) -, negative; ±, trace; +, slight; ++, moderate

d) -, negative; ±, trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL

e) -, negative

f) ±, 0.1 EU/dL; +, 1.0 EU/dL

(continued)

Table 4-1 (continued)

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Urinalysis(sediment) in males and females on day 23 of dosing period

Sex	Group	Number of animals	Red blood cell ^{a)}	Crystal ^{b)}			Cast ^{a)}	White blood cell ^{a)}	Epithelial cell ^{b)}	
			—	—	±	+	—	—	—	±
Male	Control	5	5	0	5	0	5	5	3	2
	4 mg/kg	5	5	1	4	0	5	5	3	2
	20 mg/kg	5	5	0	5	0	5	5	3	2
	100 mg/kg	5	5	0	4	1	5	5	4	1
Female	Control	5	5	1	4	0	5	5	3	2
	4 mg/kg	5	5	0	5	0	5	5	4	1
	20 mg/kg	5	5	1	4	0	5	5	4	1
	100 mg/kg	5	5	1	4	0	5	5	3	2

a) —, not observed

b) —, not observed; ±, a few; +, abundant

Table 4-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Urinalysis in males and females on day 9 of recovery period

Sex	Group	Number of animals	Volume (mL)	Specific gravity	Color ^{b)}		Turbidity ^{c)}		pH								Protein ^{d)}				Glucose ^{e)}				Ketone ^{e)}				Bilirubin ^{e)}				Occult blood ^{e)}				Urobilinogen ^{f)}																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																											
					ly	—	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	≥9.0	—	±	+	++	—	—	±	+	—	—	±	+	—	—	±	+	—	—	±	+	±																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																														
Male	Control	5	18.7± 5.5 ^{a)}	1.047± 0.013 ^{a)}	5	5	0	2	1	2	0	0	0	0	0	0	3	2	5	1	2	2	5	5	0	0	5																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					

a) mean ± S.D.

b) ly, light yellow

c) -, negative; ±, trace; +, slight

d) -, negative; ±, trace; +, 30 mg/dL; ++, 100 mg/dL

e) -, negative

f) ±, 0.1 EU/dL

(continued)

Table 4-2 (continued)

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Urinalysis(sediment) in males and females on day 9 of recovery period

Sex	Group	Number of animals	Red blood cell ^{a)}	Crystal ^{b)}			Cast ^{a)}	White blood cell ^{a)}	Epithelial cell ^{b)}	
			—	—	±	+	—	—	—	±
Male	Control	5	5	0	4	1	5	5	3	2
	100 mg/kg	5	5	0	5	0	5	5	5	0
Female	Control	5	5	3	2	0	5	5	5	0
	100 mg/kg	5	5	2	3	0	5	5	3	2

a) —, not observed

b) —, not observed; ±, a few; +, abundant

Table 5-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Hematological findings in males at the end of the dosing period

Group	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
Control	(5) 656 ± 24	(5) 14.0 ± 0.5	(5) 41.8 ± 1.1	(5) 63.7 ± 1.7	(5) 21.4 ± 0.6	(5) 33.6 ± 0.6	(5) 5.7 ± 1.1	(5) 100.4 ± 8.0	(5) 19.5 ± 3.0	(5) 22.9 ± 1.6
4 mg/kg	(5) 658 ± 12	(5) 14.2 ± 0.3	(5) 41.5 ± 0.7	(5) 63.1 ± 2.0	(5) 21.6 ± 0.8	(5) 34.2 ± 0.8	(5) 5.9 ± 0.4	(5) 103.3 ± 6.9	(5) 20.3 ± 3.7	(5) 24.0 ± 2.9
20 mg/kg	(5) 656 ± 19	(5) 14.1 ± 0.6	(5) 41.0 ± 1.6	(5) 62.6 ± 2.2	(5) 21.6 ± 0.8	(5) 34.4 ± 0.5	(5) 5.1 ± 0.8	(5) 106.4 ± 9.2	(5) 19.6 ± 3.8	(5) 24.2 ± 2.0
100 mg/kg	(5) 642 ± 32	(5) 13.3 ± 0.5	(5) 38.1** ± 1.4	(5) 59.4** ± 0.8	(5) 20.8 ± 0.4	(5) 35.0** ± 0.4	(5) 6.1 ± 1.2	(5) 116.6* ± 10.3	(5) 17.5 ± 2.7	(5) 24.2 ± 2.4

Group	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
Control	(5) 99 ± 36	(5) 0 ± 0	(5) 6 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 3	(5) 92 ± 4
4 mg/kg	(5) 84 ± 16	(5) 0 ± 0	(5) 8 ± 2	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 4 ± 1	(5) 88 ± 3
20 mg/kg	(5) 98 ± 26	(5) 0 ± 0	(5) 4 ± 2	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 3	(5) 92 ± 4
100 mg/kg	(5) 119 ± 41	(5) 0 ± 0	(5) 4 ± 2	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 93 ± 3

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals* significantly different from control, $p < 0.05$
* significantly different from control, $p < 0.01$

Table 5-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Hematological findings in females at the end of the dosing period

Group	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
Control	(5) 670 ± 25	(5) 14.4 ± 0.7	(5) 41.9 ± 1.8	(5) 62.5 ± 1.2	(5) 21.6 ± 0.9	(5) 34.5 ± 1.0	(5) 3.0 ± 1.0	(5) 99.6 ± 6.1	(5) 14.9 ± 1.0	(5) 20.6 ± 0.8
4 mg/kg	(5) 667 ± 23	(5) 14.1 ± 0.6	(5) 41.1 ± 2.5	(5) 61.5 ± 1.9	(5) 21.2 ± 0.4	(5) 34.4 ± 0.6	(5) 3.2 ± 0.8	(5) 98.8 ± 3.8	(5) 14.8 ± 0.5	(5) 20.9 ± 0.6
20 mg/kg	(5) 651 ± 23	(5) 13.7 ± 0.4	(5) 39.8 ± 1.6	(5) 61.2 ± 0.4	(5) 21.1 ± 0.3	(5) 34.5 ± 0.6	(5) 4.1 ± 1.1	(5) 102.8 ± 3.8	(5) 14.6 ± 0.7	(5) 20.6 ± 0.8
100 mg/kg	(5) 635 ± 32	(5) 13.2** ± 0.5	(5) 37.5** ± 1.4	(5) 59.1** ± 1.5	(5) 20.8 ± 0.5	(5) 35.2 ± 0.3	(5) 4.8 ± 1.7	(5) 115.9** ± 8.0	(5) 13.4* ± 0.5	(5) 18.4** ± 1.0

Group	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
Control	(5) 41 ± 9	(5) 0 ± 0	(5) 12 ± 5	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 1	(5) 87 ± 7
4 mg/kg	(5) 43 ± 7	(5) 0 ± 0	(5) 7 ± 5	(5) 0 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 91 ± 4
20 mg/kg	(5) 67 ± 38	(5) 0 ± 0	(5) 16 ± 20	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 2 ± 2	(5) 82 ± 20
100 mg/kg	(5) 51 ± 12	(5) 0 ± 0	(5) 9 ± 4	(5) 0 ± 0	(5) 0 ± 0	(5) 1 ± 1	(5) 90 ± 4

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$
**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 5-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
Hematological findings in males at the end of the recovery period

Group	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
Control	(5) 744 ± 15	(5) 15.0 ± 0.3	(5) 45.2 ± 0.9	(5) 60.8 ± 0.4	(5) 20.2 ± 0.3	(5) 33.3 ± 0.4	(5) 4.0 ± 0.8	(5) 100.2 ± 5.1	(5) 26.3 ± 4.9	(5) 24.8 ± 1.8
100 mg/kg	(5) 737 ± 40	(5) 14.3* ± 0.5	(5) 42.6** ± 1.0	(5) 57.9* ± 2.3	(5) 19.4* ± 0.7	(5) 33.5 ± 0.5	(5) 5.6* ± 1.3	(5) 107.6* ± 5.0	(5) 23.9 ± 2.8	(5) 25.9 ± 1.3

Group	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
Control	(5) 65 ± 18	(5) 0 ± 0	(5) 14 ± 2	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 4 ± 3	(5) 81 ± 4
100 mg/kg	(5) 77 ± 17	(5) 0 ± 0	(5) 17 ± 10	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 4 ± 2	(5) 79 ± 11

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$
**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 5-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-Phenylenediamine in rats

Hematological findings in females at the end of the recovery period

Group	R B C ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	M C V (μm^3)	M C H (pg)	M C H C (%)	Reticulocyte (%)	Platelet ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	P T (sec)	A P T T (sec)
Control	(5) 732 ± 26	(5) 15.1 ± 0.7	(5) 44.1 ± 1.9	(5) 60.2 ± 0.5	(5) 20.7 ± 0.2	(5) 34.3 ± 0.3	(5) 3.6 ± 1.0	(5) 99.8 ± 4.5	(5) 16.8 ± 0.4	(5) 21.7 ± 0.9
100 mg/kg	(5) 690 ± 43	(5) 13.5** ± 0.8	(5) 39.7* ± 2.5	(5) 57.5* ± 2.0	(5) 19.6** ± 0.6	(5) 34.1 ± 0.4	(5) 6.2 ± 2.2	(5) 107.4 ± 9.8	(5) 15.9 ± 1.4	(5) 20.5 ± 1.2

Group	W B C ($\times 100/\text{mm}^3$)	Band neutrophil (%)	Segmented neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)
Control	(5) 47 ± 13	(5) 0 ± 0	(5) 14 ± 5	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 2	(5) 83 ± 5
100 mg/kg	(5) 56 ± 24	(5) 0 ± 0	(5) 11 ± 7	(5) 1 ± 1	(5) 0 ± 0	(5) 3 ± 2	(5) 85 ± 8

Parameter, mean $\pm$ S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$
**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 6-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
 Biochemical findings in males at the end of the dosing period

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Inorg. phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.1 ±0.1	(5) 2.9 ±0.0	(5) 1.34 ±0.08	(5) 138 ±22	(5) 45 ±11	(5) 74 ±24	(5) 12 ±2	(5) 0.5 ±0.0	(5) 7.3 ±0.5	(5) 9.0 ±0.1
4 mg/kg	(5) 5.0 ±0.3	(5) 2.8 ±0.2	(5) 1.23 ±0.06	(5) 141 ±11	(5) 52 ±5	(5) 85 ±19	(5) 10 ±2	(5) 0.5 ±0.1	(5) 7.4 ±0.7	(5) 9.2 ±0.3
20 mg/kg	(5) 5.2 ±0.2	(5) 2.9 ±0.1	(5) 1.28 ±0.14	(5) 138 ±1	(5) 59 ±19	(5) 76 ±28	(5) 12 ±3	(5) 0.6 ±0.1	(5) 7.3 ±0.6	(5) 9.3 ±0.2
100 mg/kg	(5) 5.6** ±0.1	(5) 3.0 ±0.1	(5) 1.15** ±0.02	(5) 133 ±7	(5) 82** ±18	(5) 40 ±21	(5) 11 ±2	(5) 0.6** ±0.0	(5) 7.0 ±0.4	(5) 9.6** ±0.2

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 141.2 ±1.3	(5) 3.59 ±0.15	(5) 103.9 ±1.3	(5) 377 ±74	(5) 186 ±119	(5) 30 ±6	(5) 65 ±3	(5) 0 ±0
4 mg/kg	(5) 140.3 ±1.2	(5) 3.57 ±0.39	(5) 104.0 ±1.0	(5) 385 ±75	(5) 157 ±29	(5) 26 ±2	(5) 65 ±6	(5) 0 ±0
20 mg/kg	(5) 139.9 ±0.8	(5) 3.55 ±0.34	(5) 103.2 ±1.6	(5) 385 ±42	(5) 189 ±41	(5) 25 ±5	(5) 63 ±5	(5) 0 ±0
100 mg/kg	(5) 140.6 ±1.3	(5) 3.74 ±0.35	(5) 103.5 ±0.8	(5) 305 ±48	(5) 190 ±106	(5) 27 ±5	(5) 57 ±6	(5) 1 ±1

Parameter, mean±S.D.
 (), number of animals

significantly different from control, $p < 0.05$

Table 6-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Biochemical findings in females at the end of the dosing period

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Inorg. Phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.0 ±0.2	(5) 3.1 ±0.2	(5) 1.65 ±0.21	(5) 112 ±5	(5) 56 ±14	(5) 44 ±20	(5) 19 ±3	(5) 0.6 ±0.0	(5) 8.1 ±0.5	(5) 8.8 ±0.3
4 mg/kg	(5) 5.2 ±0.1	(5) 3.2 ±0.2	(5) 1.59 ±0.22	(5) 117 ±10	(5) 47 ±8	(5) 34 ±7	(5) 18 ±2	(5) 0.6 ±0.0	(5) 7.6 ±0.6	(5) 7.7 ±2.5
20 mg/kg	(5) 5.4* ±0.1	(5) 3.2 ±0.2	(5) 1.45 ±0.16	(5) 111 ±11	(5) 56 ±11	(5) 31 ±4	(5) 17 ±4	(5) 0.7 ±0.1	(5) 7.0** ±0.4	(5) 9.0 ±0.2
100 mg/kg	(5) 5.8** ±0.3	(5) 3.5* ±0.3	(5) 1.53 ±0.15	(5) 103 ±15	(5) 76 ±19	(5) 22 ±10	(5) 16 ±3	(5) 0.6 ±0.1	(5) 7.2* ±0.3	(5) 8.8 ±1.1

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 140.8 ±0.7	(5) 3.63 ±0.17	(5) 107.0 ±1.1	(5) 221 ±56	(5) 108 ±26	(5) 20 ±2	(5) 63 ±3	(5) 0 ±1
4 mg/kg	(5) 141.4 ±1.2	(5) 4.02 ±1.25	(5) 106.6 ±0.8	(5) 206 ±43	(5) 93 ±29	(5) 21 ±4	(5) 62 ±11	(5) 0 ±1
20 mg/kg	(5) 141.7 ±0.7	(5) 3.42 ±0.22	(5) 106.4 ±1.2	(5) 183 ±41	(5) 89 ±15	(5) 21 ±5	(5) 63 ±8	(5) 1 ±0
100 mg/kg	(5) 141.1 ±0.3	(5) 3.87 ±0.54	(5) 106.0 ±0.7	(5) 145 ±28	(5) 98 ±16	(5) 19 ±2	(5) 54 ±4	(5) 1 ±1

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals*, significantly different from control, p<0.05
**, significantly different from control, p<0.01

Table 6-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
 Biochemical findings in males at the end of the recovery period

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Inorg. phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.4 ±0.2	(5) 2.9 ±0.1	(5) 1.22 ±0.10	(5) 129 ±10	(5) 43 ±8	(5) 47 ±7	(5) 19 ±2	(5) 0.6 ±0.0	(5) 6.4 ±0.4	(5) 8.8 ±0.3
100 mg/kg	(5) 5.7 ±0.3	(5) 2.9 ±0.2	(5) 1.08 ±0.11	(5) 136 ±14	(5) 59 ±16	(5) 69* ±17	(5) 17 ±2	(5) 0.6 ±0.1	(5) 6.4 ±0.5	(5) 8.9 ±0.2

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 145.1 ±0.9	(5) 3.74 ±0.29	(5) 106.7 ±1.1	(5) 277 ±57	(5) 170 ±43	(5) 30 ±3	(5) 78 ±6	(5) 0 ±0
100 mg/kg	(5) 144.7 ±0.6	(5) 3.62 ±0.19	(5) 106.5 ±1.8	(5) 252 ±45	(5) 164 ±82	(5) 34 ±10	(5) 86 ±21	(5) 0 ±0

Parameter, mean±S.D.
 (), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$

Table 6-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
 Biochemical findings in females at the end of the recovery period

Group	Total protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	A/G	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Tri-glyceride (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Inorg. phos. (mg/dl)	Ca (mg/dl)
Control	(5) 5.7 ±0.3	(5) 3.3 ±0.2	(5) 1.40 ±0.10	(5) 108 ±10	(5) 55 ±5	(5) 45 ±15	(5) 28 ±7	(5) 0.7 ±0.1	(5) 7.1 ±0.3	(5) 9.0 ±0.3
100 mg/kg	(5) 5.6 ±0.3	(5) 3.1 ±0.3	(5) 1.23 ±0.19	(5) 119 ±11	(5) 63 ±18	(5) 38 ±8	(5) 26 ±7	(5) 0.7 ±0.0	(5) 7.4 ±0.6	(5) 9.0 ±0.3

Group	Na (mEq/l)	K (mEq/l)	Cl (mEq/l)	ALP (U/l)	LDH (U/l)	GPT (U/l)	GOT (U/l)	γ-GTP (U/l)
Control	(5) 143.7 ±0.4	(5) 3.80 ±0.15	(5) 108.1 ±0.6	(5) 165 ±41	(5) 110 ±21	(5) 26 ±6	(5) 69 ±6	(5) 0 ±1
100 mg/kg	(5) 143.8 ±1.3	(5) 3.62 ±0.30	(5) 109.0 ±1.8	(5) 154 ±29	(5) 119 ±34	(5) 22 ±2	(5) 65 ±8	(5) 0 ±1

Parameter, mean±S.D.
 (), number of animals

Table 7-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Absolute organ weights in males at the end of the dosing period

Group	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Testes	Epididymides
	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
Control	(5) 351.9 ±25.9	(5) 1969.7 ±66.0	(5) 710.3 ±92.6	(5) 1151.6 ±76.5	(5) 12339.7 ±1680.1	(5) 2679.4 ±240.6	(5) 739.2 ±101.8	(5) 46.1 ±6.1	(5) 2855.1 ±142.6	(5) 572.6 ±91.2
4 mg/kg	(5) 351.9 ±15.0	(5) 1924.2 ±48.9	(5) 721.1 ±73.8	(5) 1215.1 ±40.3	(5) 12807.2 ±353.7	(5) 2818.6 ±89.0	(5) 712.1 ±98.8	(5) 45.9 ±5.3	(5) 2893.0 ±91.0	(5) 635.8 ±31.9
20 mg/kg	(5) 354.6 ±24.0	(5) 1910.9 ±133.4	(5) 700.6 ±59.0	(5) 1198.1 ±120.0	(5) 13126.6 ±876.8	(5) 2644.6 ±92.2	(5) 728.1 ±27.3	(5) 47.2 ±5.7	(5) 2766.4 ±208.3	(5) 567.1 ±67.4
100 mg/kg	(5) 332.7 ±34.5	(5) 1909.2 ±55.6	(5) 652.6 ±47.4	(5) 1101.5 ±139.9	(5) 14903.8 ±2009.2	(5) 2775.0 ±340.2	(5) 713.1 ±180.6	(5) 48.3 ±9.3	(5) 2677.5 ±252.4	(5) 551.3 ±56.3

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 7-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
Absolute organ weights in females at the end of the dosing period

Group	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Ovaries
	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
Control	(5) 210.7 ±16.9	(5) 1747.2 ±44.2	(5) 440.3 ±87.2	(5) 744.4 ±75.9	(5) 6392.1 ±837.4	(5) 1636.8 ±117.7	(5) 489.6 ±83.8	(5) 59.9 ±5.4	(5) 77.0 ±7.5
4 mg/kg	(5) 221.6 ±19.8	(5) 1877.1** ±49.4	(5) 472.9 ±115.4	(5) 743.3 ±59.2	(5) 6824.2 ±490.4	(5) 1640.4 ±109.7	(5) 473.7 ±50.1	(5) 62.8 ±8.0	(5) 81.4 ±6.2
20 mg/kg	(5) 206.9 ±11.4	(5) 1753.0 ±73.1	(5) 503.1 ±13.9	(5) 728.9 ±41.0	(5) 6768.4 ±522.8	(5) 1688.0 ±165.8	(5) 453.0 ±62.8	(5) 66.1 ±8.5	(5) 75.0 ±13.0
100 mg/kg	(5) 214.5 ±16.9	(5) 1744.4 ±51.1	(5) 485.9 ±69.3	(5) 761.9 ±67.6	(5) 8793.3** ±862.9	(5) 1836.8 ±128.1	(5) 464.5 ±24.3	(5) 68.2 ±6.1	(5) 81.9 ±9.5

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 7-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Absolute organ weights in males at the end of the recovery period

Group	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Testes	Epididymides
	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
Control	(5) 398.8 ±27.3	(5) 1990.4 ±59.4	(5) 564.6 ±79.6	(5) 1200.3 ±59.7	(5) 12181.4 ±1499.2	(5) 2834.1 ±305.2	(5) 739.8 ±148.4	(5) 55.8 ±7.6	(5) 3153.0 ±375.1	(5) 866.8 ±82.9
100 mg/kg	(6) 682.8 ±647.2	(5) 2009.7 ±40.9	(5) 579.4 ±116.3	(5) 1333.1 ±125.6	(5) 14336.8 ±2384.7	(5) 3116.6 ±397.1	(5) 837.7 ±124.3	(5) 53.5 ±7.1	(5) 3186.9 ±140.7	(5) 923.5 ±47.5

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 7-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Absolute organ weights in females at the end of the recovery period

Group	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Ovaries
	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
Control	(5) 259.4 ±12.8	(5) 1773.9 ±54.9	(5) 404.5 ±56.5	(5) 832.9 ±71.5	(5) 7659.2 ±613.8	(5) 1934.4 ±105.6	(5) 544.4 ±98.4	(5) 68.9 ±9.3	(5) 90.3 ±11.0
100 mg/kg	(5) 248.9 ±18.1	(5) 1844.9 ±98.3	(5) 451.4 ±144.4	(5) 840.1 ±55.0	(5) 7872.4 ±745.5	(5) 1986.3 ±129.1	(5) 611.6 ±78.1	(5) 70.5 ±9.6	(5) 99.4 ±8.0

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 8-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Relative organ weights in males at the end of the dosing period

Group	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Testes	Epididymides
	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
Control	(5) 351.940 ±25.913	(5) 5.628 ±0.558	(5) 2.026 ±0.301	(5) 3.274 ±0.080	(5) 34.948 ±2.562	(5) 7.611 ±0.335	(5) 2.096 ±0.179	(5) 0.131 ±0.011	(5) 8.131 ±0.420	(5) 1.627 ±0.218
4 mg/kg	(5) 351.860 ±14.952	(5) 5.479 ±0.313	(5) 2.051 ±0.216	(5) 3.454 ±0.039	(5) 36.430 ±1.247	(5) 8.022 ±0.410	(5) 2.020 ±0.223	(5) 0.131 ±0.017	(5) 8.233 ±0.423	(5) 1.809 ±0.104
20 mg/kg	(5) 354.600 ±24.045	(5) 5.393 ±0.238	(5) 1.977 ±0.114	(5) 3.379 ±0.235	(5) 37.056 ±1.761	(5) 7.500 ±0.789	(5) 2.062 ±0.169	(5) 0.133 ±0.012	(5) 7.821 ±0.656	(5) 1.611 ±0.263
100 mg/kg	(5) 332.660 ±34.482	(5) 5.783 ±0.545	(5) 1.979 ±0.259	(5) 3.309 ±0.205	(5) 44.718** ±2.422	(5) 8.352 ±0.650	(5) 2.131 ±0.423	(5) 0.144 ±0.019	(5) 8.125 ±1.165	(5) 1.662 ±0.129

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 8-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-Phenylenediamine in rats
Relative organ weights in females at the end of the dosing period

Group	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Ovaries
	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
Control	(5) 210.720 ±16.878	(5) 8.338 ±0.760	(5) 2.078 ±0.289	(5) 3.529 ±0.139	(5) 30.271 ±2.120	(5) 7.785 ±0.485	(5) 2.312 ±0.257	(5) 0.286 ±0.036	(5) 0.367 ±0.050
4 mg/kg	(5) 221.620 ±19.832	(5) 8.522 ±0.752	(5) 2.135 ±0.505	(5) 3.358 ±0.115	(5) 30.838 ±0.925	(5) 7.420 ±0.371	(5) 2.162 ±0.375	(5) 0.284 ±0.029	(5) 0.368 ±0.018
20 mg/kg	(5) 206.940 ±11.412	(5) 8.479 ±0.293	(5) 2.435 ±0.095	(5) 3.525 ±0.160	(5) 32.686 ±1.142	(5) 8.149 ±0.524	(5) 2.192 ±0.311	(5) 0.319 ±0.030	(5) 0.363 ±0.062
100 mg/kg	(5) 214.540 ±16.940	(5) 8.163 ±0.534	(5) 2.261 ±0.219	(5) 3.549 ±0.063	(5) 40.991** ±2.469	(5) 8.582 ±0.561	(5) 2.170 ±0.098	(5) 0.320 ±0.044	(5) 0.382 ±0.038

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

**, significantly different from control, $p < 0.01$

Table 8-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
Relative organ weights in males at the end of the recovery period

Group	Body weight (g)	Brain (mg/g)	Thymus (mg/g)	Heart (mg/g)	Liver (mg/g)	Kidneys (mg/g)	Spleen (mg/g)	Adrenal glands (mg/g)	Testes (mg/g)	Epididymides (mg/g)
Control	(5) 398.820 ±27.309	(5) 5.003 ±0.246	(5) 1.413 ±0.147	(5) 3.013 ±0.093	(5) 30.478 ±2.115	(5) 7.093 ±0.331	(5) 1.856 ±0.364	(5) 0.141 ±0.026	(5) 7.902 ±0.689	(5) 2.175 ±0.163
100 mg/kg	(5) 418.940 ±36.488	(5) 4.822 ±0.370	(5) 1.374 ±0.166	(5) 3.183 ±0.161	(5) 34.119 ±4.045	(5) 7.434 ±0.645	(5) 1.992 ±0.169	(5) 0.127 ±0.010	(5) 7.673 ±0.963	(5) 2.219 ±0.238

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

Table 8-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats
Relative organ weights in females at the end of the recovery period

Group	Body weight	Brain	Thymus	Heart	Liver	Kidneys	Spleen	Adrenal glands	Ovaries
	(g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
Control	(5) 259.420 ±12.776	(5) 6.856 ±0.488	(5) 1.562 ±0.219	(5) 3.209 ±0.200	(5) 29.488 ±0.945	(5) 7.469 ±0.504	(5) 2.091 ±0.303	(5) 0.265 ±0.035	(5) 0.348 ±0.034
100 mg/kg	(5) 248.920 ±18.091	(5) 7.436 ±0.584	(5) 1.814 ±0.584	(5) 3.381 ±0.190	(5) 31.599* ±1.138	(5) 7.989 ±0.336	(5) 2.478 ±0.432	(5) 0.284 ±0.039	(5) 0.401 ±0.041

Parameter, mean±S.D.
(), number of animals

*, significantly different from control, $p < 0.05$

Table 9-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Macroscopical findings in males at the end of the dosing period

Group	Control		4 mg/kg		20 mg/kg		100 mg/kg	
Grade	-	+	-	+	-	+	-	+
(Lung)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Area/spot, dark	5	0	5	0	4	1	3	2
(Liver)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Enlargement	5	0	5	0	5	0	3	2
Accentuated lobular pattern	5	0	5	0	4	1	5	0
Yellowish	5	0	5	0	4	1	5	0
(Thyroid gland)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Enlargement	4	1	5	0	5	0	5	0
(Thymus)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Spot, red	4	1	5	0	5	0	5	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 9-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Macroscopical findings in females at the end of the dosing period

Group	Control		4 mg/kg		20 mg/kg		100 mg/kg	
	-	+	-	+	-	+	-	+
(Lung)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Area, dark	4	1	5	0	4	1	5	0
(Liver)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Diaphragmatic nodule	5	0	5	0	4	1	5	0
Accentuated lobular pattern	5	0	5	0	5	0	3	2
Yellowish	5	0	5	0	5	0	4	1
Dark	5	0	5	0	5	0	2	3
Enlargement	5	0	5	0	5	0	4	1
(Kidney)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Cyst	5	0	4	1	5	0	5	0
Recessed area	5	0	4	1	5	0	5	0
(Spleen)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Small	5	0	5	0	4	1	5	0
(Pleum)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Diverticulum	5	0	4	1	5	0	5	0
(Skin)	[5]		[5]		[5]		[5]	
Crust	5	0	5	0	4	1	5	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 9-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Macroscopical findings in males at the end of the recovery period

Group	Control		100 mg/kg	
	-	+	-	+
Grade				
(Lung)	[5]		[5]	
Area/spot, dark	4	1	4	1
Nodule, brown	4	1	5	0
(Liver)	[5]		[5]	
Yellowish	5	0	4	1
(Kidney)	[5]		[5]	
Dilatation, renal pelvis	4	1	5	0
Accentuated tubular pattern	4	1	5	0

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 9-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Macroscopical findings in females at the end of the recovery period

Group Grade	Control		100 mg/kg	
	-	+	-	+
(Liver)	[5]		[5]	
Diaphragmatic nodule	5	0	4	1
(Kidney)	[5]		[5]	
Cyst	4	1	5	0
(Spleen)	[5]		[5]	
Malformed shape	5	0	4	1
(Skin)	[5]		[5]	
Crust	5	0	4	1

-, Negative; +, Positive

[], Number of animals examined

Table 10-1-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of

N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in males at the end of the dosing period

Group	Control						4 mg/kg						20 mg/kg						100 mg/kg					
Animal No.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Fatty change, periportal	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1	2	1	2	0	0	3	0	0	3	2	0**	5#
Microgranuloma	0	3	2	0	0	5	0	3	2	0	0	5	1	2	2	0	0	4	2	1	2	0	0	3
Hematopoiesis, extramedullary	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
Necrosis, focal	5	0	0	0	0	0	4	0	1	0	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
Single cell necrosis	4	1	0	0	0	1	4	0	1	0	0	1	2	3	0	0	0	3	3	2	0	0	0	2
Cellular infiltration, lymphocyte	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	1	1	0	0	2	5	0	0	0	0	0
Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	2	3	2	0	0	0	2
(Kidney)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Cellular infiltration, lymphocyte	1	4	0	0	0	4	4	1	0	0	0	1	1	3	1	0	0	4	5	0	0	0	0*	0#
Pyknosis, epithelium, distal tubule	0	3	2	0	0	5	0	1	4	0	0	5	0	2	3	0	0	5	1	1	3	0	0	4
Basophilic tubule	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3	2	3	0	0	0	3	1	3	1	0	0	4
Fibrosis, Bowman's capsule	3	2	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	3	2	0	0	0	2
Cellular infiltration, neutrophil	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
Eosinophilic body	5	0	0	0	0	0	2	0	1	2	0	3	5	0	0	0	0	0	4	0	0	1	0	1
Hyalin droplet, tubular epithelium	0	3	2	0	0	5	0	1	3	1	0	5	0	2	3	0	0	5	0	0	5	0	0	5
Cast, hyalin	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
(Spleen)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	0	3	2	0	0	5	0	0	5	0	0	5	0	1	4	0	0	5	0	0	5	0	0	5
(Adrenal gland)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Thymus)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Hemorrhage, focal	3	2	0	0	0	2	3	2	0	0	0	2	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1
(Heart)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Myocardial degeneration / fibrosis	4	0	1	0	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

*, Significantly different from control $p < 0.05$ (Two-tailed Mann-Whitney's U-test)**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney's U-test)#, Significantly different from control $p < 0.05$ (One-tailed Fisher's exact probability test)

(continued)

Table 10-1-1 (Continued)

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in males at the end of the dosing period

Group	Control						4 mg/kg						20 mg/kg						100 mg/kg					
Animal No.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Brain)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Spinal cord)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Ileum with Peyer's patch)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Urinary bladder)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Sciatic nerve)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Marrow of femur)																								
No remarkable change																								
(Lung)													[1]						[1]					
Edema													0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Hyperplasia, epithelium, alveolus													1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Hemorrhage, alveolus													0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, neutrophil													0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
Accumulation, foam cell													0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
(Thyroid gland)	[1]																							
No remarkable change		1	0	0	0	0																		

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 10-1-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of

N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in females at the end of the dosing period

Group	Control						4 mg/kg						20 mg/kg						100 mg/kg					
Animal No.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Fatty change, periportal	4	1	0	0	0	1	3	2	0	0	0	2	0	1	3	1	0*	5#	0	1	1	3	0*	5#
Microgranuloma	1	3	1	0	0	4	0	3	2	0	0	5	0	3	2	0	0	5	0	4	1	0	0	5
Single cell necrosis	3	2	0	0	0	2	4	1	0	0	0	1	3	1	1	0	0	2	4	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, neutrophil	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	0	1	0	0	1	5	0	0	0	0	0
Hemorrhage, focal	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	0	1	0	0	1	5	0	0	0	0	0
(Kidney)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Pyknosis, epithelium, distal tubule	0	5	0	0	0	5	1	4	0	0	0	4	0	2	3	0	0	5	2	3	0	0	0	3
Basophilic tubule	2	3	0	0	0	3	2	1	2	0	0	3	1	2	2	0	0	4	2	3	0	0	0	3
Dilatation, distal tubule	5	0	0	0	0	0	4	0	0	1	0	1	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
Cellular infiltration, lymphocyte	3	2	0	0	0	2	2	2	1	0	0	3	3	2	0	0	0	2	4	1	0	0	0	1
Hyalin droplet, tubular epithelium	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
Mineralization, cortico-medullary junction	3	2	0	0	0	2	4	1	0	0	0	1	2	1	2	0	0	3	2	2	1	0	0	3
(Spleen)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	1	4	0	0	0	4	2	3	0	0	0	3	2	0	3	0	0	3	1	2	2	0	0	4
(Adrenal gland)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
(Thymus)	[5]						[5]						[5]						[5]					
Hemorrhage, focal	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1	5	0	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

*, Significantly different from control $p < 0.05$ (Two-tailed Mann-Whitney's U-test)**, Significantly different from control $p < 0.01$ (Two-tailed Mann-Whitney's U-test)#, Significantly different from control $p < 0.05$ (One-tailed Fisher's exact probability test)

(continued)

Table 10-1-2 (Continued)

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in females at the end of the dosing period

Group	Control						4 mg/kg						20 mg/kg						100 mg/kg					
Animal No.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Brain)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Spinal cord)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Heart)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Ileum with Peyer's patch)																								
No remarkable change																								
(Urinary bladder)																								
No remarkable change																								
(Sciatic nerve)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Marrow of femur)	[5]						[5]						[5]						[5]					
No remarkable change																								
(Lung)	[1]												[1]											
Hemorrhage, alveolus		0	1	0	0	0								0	0	1	0	0			1			0
Cellular infiltration, neutrophil		1	0	0	0	0								0	0	1	0	0			1			0
(Skin)													[1]											
Edema														0	0	0	1	0			1			
Erosion														0	0	1	0	0			1			
Cellular infiltration, neutrophil														0	0	1	0	0			1			

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 10-2-1

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in males at the end of the recovery period

Group	Control						100 mg/kg					
Animal No.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]					
Microgranuloma	0	2	3	0	0	5	0	4	1	0	0	5
Fatty change, periportal	4	1	0	0	0	1	2	3	0	0	0	3
Single cell necrosis	2	3	0	0	0	3	3	1	1	0	0	2
(Kidney)	[5]						[5]					
Pyknosis, epithelium, distal tubule	0	3	2	0	0	5	0	2	3	0	0	5
Basophilic tubule	2	3	0	0	0	3	2	3	0	0	0	3
Fibrosis, Bowman's capsule	4	1	0	0	0	1	4	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte	2	2	1	0	0	3	4	0	1	0	0	1
Eosinophilic body	3	1	0	1	0	2	4	0	0	1	0	1
Hyalin droplet, tubular epithelium	0	3	2	0	0	5	0	3	1	1	0	5
(Spleen)	[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	0	4	1	0	0	5	0	3	2	0	0	5
(Adrenal gland)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Thymus)	[5]						[5]					
Hemorrhage, focal	3	2	0	0	0	2	5	0	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

(continued)

Table 10-2-1 (Continued)

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of

N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in males at the end of the recovery period

Group	Control						100 mg/kg					
Animal No.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Brain)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Spinal cord)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Heart)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Ileum with Peyer's patch)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Urinary bladder)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Sciatic nerve)												
No remarkable change												
(Marrow of femur)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Lung)	[1]						[1]					
Hemorrhage, alveolus	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
Cellular infiltration, neutrophil	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

Table 10-2-2

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in females at the end of the recovery period

Group	Control						100 mg/kg					
Animal No.	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Liver)	[5]						[5]					
Microgranuloma	0	3	2	0	0	5	0	2	3	0	0	5
Fatty change, periportal	5	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	3
Single cell necrosis	3	2	0	0	0	2	0	4	1	0	0	5
(Kidney)	[5]						[5]					
Mineralization, cortico-medullary junction	5	0	0	0	0	0	1	2	2	0	0*	4#
Pyknosis, epithelium, distal tubule	0	4	1	0	0	5	0	4	1	0	0	5
Basophilic tubule	4	1	0	0	0	1	2	3	0	0	0	3
Fibrosis, Bowman's capsule	5	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
Cellular infiltration, lymphocyte	4	1	0	0	0	1	3	2	0	0	0	2
Hyalin droplet, tubular epithelium	4	1	0	0	0	1	2	3	0	0	0	3
(Spleen)	[5]						[5]					
Hematopoiesis, extramedullary	2	3	0	0	0	3	0	2	3	0	0	5
Fibrosis, focal	5	0	0	0	0	0	4	0	1	0	0	1
Deposit, pigment, brown	5	0	0	0	0	0	4	0	0	1	0	1
(Adrenal gland)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Thymus)	[5]						[5]					
No remarkable change												

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined

*, Significantly different from control $p < 0.05$ (Two-tailed Mann-Whitney's U-test)

#, Significantly different from control $p < 0.05$ (One-tailed Fisher's exact probability test)

(continued)

Table 10-2-2 (Continued)

Twenty-eight-day repeat dose oral toxicity study with subsequent 14-day recovery test of
N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine in rats

Histological findings in females at the end of the recovery period

Group Animal No.	Control						100 mg/kg					
	-	±	+	++	+++	Pos.	-	±	+	++	+++	Pos.
(Brain)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Spinal cord)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Heart)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Ileum with Peyer's patch)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Urinary bladder)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Sciatic nerve)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Marrow of femur)	[5]						[5]					
No remarkable change												
(Skin)							[1]					
Edema							0	0	1	0	0	1
Deposit, pigment, brown							0	0	1	0	0	1
Cellular infiltration, neutrophil							0	0	1	0	0	1

-, Negative; ±, Very slight; +, Slight; ++, Moderate; +++, Severe; Pos., Total of positive grade

[], Number of animals examined