



最終報告 書

p-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いた 2週間回復性観察を含む28日間反復経口投与毒性試験

B-4201

類ボゾリサーチセンター

東京本部 〒151-0065 東京都渋谷区犬山町 3 6 - 7 本社・東京研究所 〒156-0042 東京都世田谷区羽根木1-3-11 御殿場研究所 〒412-0039 静岡県御殿場市かまど1284 函南研究所 〒419-0101 静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125

目 次

																												頁
目		次	•••		••	• • •	•••	••	• • •		• • •	•••	•••		•••	•••	• • •	••		• • •	•••	••	•••	• • •	•••	• •	•••	· 1
試験	実	施	概要	į	•••		•••	••	• • •		• • •	•••	•••		•••		•••	••	• • •	•••	• • •	· • •	•••		•••	••	• • • •	. 5
要	i	約	• • •	• • •	••			••				••	• • •	• • •		• •	• • •	••		• • •	• • •	•••				••	• • • •	8
緒		言																				· • •					• • • •	· 10
試験	材	料	及ひ	方:	法																							
1.	. :	被	験物	質	及で	媒	体						• •		• •			• •			•••		•••		• • •		• • • •	· 11
	1)		被験	物:	質								••		• • •	•••				٠	• • •	••	• • •		• • •		• • •	· 11
	2)		媒体							· • •			•••		• • •	•••				٠	• • •	• • •	•••		• • •		• • •	· 11
2.	. ;	投	与液	iの	調集	划.						• • •	• •		•••	• • •		• •		• • •	• •		• • •		• • •		• • •	· 12
	1)		媒体	の	調集	Ų.			•••		• • •	• •	•••		• • •		• • •	• •		• • •	• • •				• • •	•••	• • •	· 12
	2)		被駁	液	の訓	周製	[及	びも	呆在	茅方	法		• • •		• • •						• • •		•••		•••	•••	•••	· 12
	3)		被験	液	のす	定定	性	٠.	•••				• • •		• • •	• • •	• • •	• •	• • •	• • •	• • •		• • •		• • •	•••	•••	• 12
	4)		被駁	液	の》	農度	• :	均-	快	ŧσ	確	認			•••		• • •				• •		••		• • •	•••	• • •	· 12
3.		試	験動	物		• • •		• •	•••		• • •				••		• • •			• • •	•••		• • •		•••	• • •	•••	· 12
4.		餇	育条	件					• • •				• • •		• • •								• • •		• • •	•••	• • •	• 13
5.		投	与稻	路	, į	设与	回	数、	. B	设与	·期	間。	及て	戊回	復	期間	間と	:そ	のj	選护	理	由	• •		• • •		• • •	· 13
6.		投	与大	法	及で	バそ	の	選扣	尺型	里庄								٠.		٠	• •				• •		• • •	· 13
7.		投	与量	及	びさ	その)設:	定理	理日	Η,	群	構	成立	住て	バに	動物	勿数	ζ.			• •				• •		•••	• 13
8.		動	物の)識	别	支ひ	バケ	<u> </u>	ジィ	\ σ,	表	示	٠.							٠.,	• • •				• •		• • •	٠ 14
9.		検	查力	法	٠.		• • •	••	• •		• •		٠.							• • •			٠.				• • •	• 14
	1)		一般	狀	態(の観	察				• •		٠.					٠.		• • •							• • •	• 14
	2)		体重	迿	定																. 							• 15

			頁
	3)	摂餌量測定 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	15
	4)	尿検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	15
	5)	血液学的検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	16
	6)	血液生化学的検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	17
	7)	病理学的検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	18
	(I) 剖検及び器官重量測定・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	18
	(2	2) 病理組織学的検査 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	18
	10. 惫	統計処理 ·····	19
iI	(験結男	Ę.	
	1. 歹	E亡動物及び一般状態・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	20
	1)	死亡動物 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	20
	2)	生存動物 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	20
	2. 4	本重 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	20
	1)	投与期間 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	20
	2)	回復期間 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	20
	3. £	受餌量・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	1)	投与期間 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	21
	2)	回復期間 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	21
	4. 5	R検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	1)	投与第4週検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	2)	回復第2週検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	5. 1	血液学的検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	1)	投与期間終了時検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	2)	回復期間終了時検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	6. I	血液生化学的検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	1)	投与期間終了時検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
	2)	回復期間終了時検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	22
	7. \frac{1}{2}	器官重量 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	22
	1)	投与期間終了時剖検例・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	22

																									貝
	2)	ļ	回復其	期間	終了	了時	剖村	负例	•	 • •	• • •	• • •			• • •	 ٠.	• • •	 	• •	 	٠.		· · ·	• •	22
8.		剖	検所見	∄ ⋯	• • •	• • •	• • •	• • •	••	 • •	• • •	•••	• • •	••	•••	 • •	• • •	 		 		• •			22
	1)	3	死亡例	削・・	• • •	• • •		•••	••	 ٠.		•••	•••		• • •	 • •	•••	 • •	• •	 • •		• •	• • •	• •	22
	2)		投与其	期間線	終了	7時	剖村	负例		 		• • •	•••		• •	 • •	• • •	 		 			• • •	• •	22
	3)	١	回復其	期間	終了	7時	剖植	负例	•	 ٠.			•••	· • •	•••	 		 	• •	 		• •	• • •		22
9.	•		理組織																						
	1)	3	死亡例	削・・	• • •	• • •		• • •	••	 ٠.		• • •	• • •		•••	 • •	•••	 ••	• •	 ٠.	٠.	• •	• • •		23
	2)		投与其																						
	3)	ı	回復其	期間線	終了	7時	剖村	僉例		 • •		• • •	••	· • •	•••	 • •	• •	 • •	• •	 		• •	• • •	• •	24
考		察	• • • •	• • • •	• • •	• • •	• • •	• • •	••	 		•••	• • •		• •	 • •	• • •	 • •	• •	 ••	٠.	• •		• •	25
文		献								 					• •	 		 		 					27

Figures and Tables

Fig. 1	Body weight
Fig. 2	Food consumption

Table 1-1~1-3	Clinical signs
Table 2-1、2-2	Body weight
Table 3-1、3-2	Food consumption
Table 4-1~4-8	Urinalysis
Table 5-1~5-4	Hematological findings
Table 6-1~6-4	Blood chemical findings
Table 7-1~7-8	Absolute and relative organ weights
Table 8-1~8-3	Gross pathological findings
Table 9-1~9-7	Histopathological findings

試験実施概要

1. 試験計画書

試 験 番 号 : B-4201

試験表題: p-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いた2週間回復性観察を

含む 28 日間反復経口投与毒性試験

2. 試験目的: 被験物質をラットに28日間反復経口投与し、その影響を明らかにす

るとともに、2週間休薬し障害の回復性を調べる。

要約

Sprague-Dawley 系 SPF 雌雄ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕を用いて、p-ニトロフェノールナトリウムの反復投与による毒性並びにその回復性を検討した。なお、被験物質としては、安定でありかつ市販されているナトリウム=p-ニトロフェノキシドニ水和物 (p-ニトロフェノールナトリウムの二水和物)を用いた。投与量(二水和物としての量)は 0(0.5w/v%CMC-Na 水溶液:対照群)、60、160、400 及び 1000mg/kg/day とし、28 日間反復強制経口投与した。1 群の動物数は、対照群、160、400 及び 1000mg/kg 投与群で雌雄各 12 匹、60mg/kg 投与群で雌雄各 6 匹とし、このうち、対照群、160 及び 400mg/kg 投与群の雌雄各 6 例については、28 日間投与後 2 週間休薬させた。

1. 死亡動物及び一般状態

投与期間中 1000mg/kg 投与群の雌雄各 10/12 例が投与開始日から投与 17 日にかけて死亡した。これらの動物では自発運動の減少、呼吸数の減少及び腹臥/横臥がみられ、一部の動物では強直性痙攣も認められた。生存動物では、1000mg/kg 投与群の雌雄で投与開始日に自発運動の減少、呼吸数の減少及び腹臥/横臥が、投与 2 日に自発運動の減少がみられたが、それ以降は異常は認められなかった。

2. 体重及び摂餌量

被験物質投与による影響は認められなかった。

3. 尿検査

400mg/kg 投与群の雄で、pH の低下がみられた。

4. 血液·血液生化学的検查

被験物質投与による影響は認められなかった。

5. 病理学的検査

400 及び 1000mg/kg 投与群の雄で、尿細管上皮の好酸性小体の出現が増強された。

6. 回復性

休薬により、上記の変化はすべて消失し、回復性が認められた。

以上の如く、p-ニトロフェノールナトリウムをラットに 28 日間反復経口投与した結果、1000mg/kg 投与群の雌雄で死亡が認められ、400 及び 1000mg/kg 投与群の雄で腎臓の組織学的変化、400mg/kg 投与群の雄で尿 pH の低下がみられた。一方、400mg/kg 投与群の雌と160mg/kg 以下の投与群の雌雄では変化は認められなかった。

これらの結果から、本試験における p-ニトロフェノールナトリウムの無影響量は雄で 160 mg/kg/day、雌で 400 mg/kg/day と推定された。

緒 言

厚生省生活衛生局の依頼により、p-ニトロフェノールナトリウムをヒトが摂取した場合の影響を推定する目的で、被験物質をラットに 28 日間反復経口投与し、その影響を明らかにするとともに、2 週間休薬し、障害の回復性を調べたのでその成績を報告する。なお、本試験は、以下の基準及びガイドラインに準拠し実施した。

・「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第 4条に規定する試験施設について」

(昭和 59 年 3 月 31 日;環保業第 39 号、薬発第 229 号、59 基局第 85 号連名基準) 一部改正(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)

- ・「『新規化学物質に係る試験の方法について』の一部改正等について」 (昭和 61 年 12 月 5 日;環保業第 700 号環境庁企画調整局長、薬発第 1039 号厚生省薬 務局長、61 基局第 1014 号通商産業省基礎産業局長連名通知)
- ・「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」 (総理府告示第6号、昭和55年3月27日)
- ・「動物実験に関する指針」
 - (他)日本実験動物学会、昭和62年5月22日)

試験材料及び方法

1. 被験物質及び媒体

1) 被験物質

ナトリウム=p-ニトロフェノキシド二水和物は、厚生省生活衛生局企画課 生活化学安全対策室から提供された。使用した被験物質のロット番号及び性状などを以下に示した。

製造者:

名 称 : ナトリウム=p-ニトロフェノキシド二水和物

(CAS 番号: 42083-62-5)

構造式又は示性式

:

O₂N—ONa·2H₂O

ロット番号 :

純 度 : 98.5%

性 状 : 黄色晶

分子量: 197.12

融 点 : >300℃

保存方法 : 冷暗所

安 定 性 : 動物試験終了後に残余被験物質を製造者に返却して分析した結果、

品質に問題はなく、投与期間中安定であったことが確認された。

保 存 場 所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び被験物質調製室

なお、提供された被験物質のうち、約 5g を保存試料として御殿場研究所の被験物質保存室に保存し、その他の残余被験物質は全量を製造者に返却した。

2) 媒体

製 造 者 : 丸石製薬株式会社

名 称 : カルメロースナトリウム(CMC-Na、日本薬局方)

ロット番号 : 4513

保存条件 : 室温

保存場所: 御殿場研究所 被験物質調製室

2. 投与液の調製

1) 媒体の調製

必要量のカルメロースナトリウムを秤量し、これに注射用水(日本薬局方、株式会社大塚製薬工場、Lot No. 9A79)を加え溶解させた。更に、これに注射用水を加えて 0.5w/v% 水溶液(0.5w/v%CMC-Na 水溶液)を調製した。調製は最大 7 日分を一括して行い、使用時まで冷蔵庫(約 4℃)に保存した。

2) 被験液の調製及び保存方法

3) 被験液の安定性

本被験物質の1及び100mg/mL 懸濁液(媒体、0.5w/v%CMC-Na 水溶液)は、冷蔵(約4℃)8日後室温24時間保存で安定かつ均一であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている(Attached Data 1)。

4) 被験液の濃度・均一性の確認

投与開始前及び投与最終週の 2 回、投与に使用した各濃度液について HPLC 法により株式会社ボゾリサーチセンターで測定した。その結果、被験物質濃度は表示値に対して 96.8 $\sim 102.1\%$ 、変動係数は $0.1 \sim 0.9\%$ であり、いずれも許容範囲内(濃度:表示値 $\pm 10\%$ 、変動係数 10%以内)で適正であった(Attached Data 2,3)。

3. 試験動物

Sprague-Dawley 系 SPF ラット (Crj: CD(SD)IGS、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター) の雌雄各 67 匹 を 5 週齢で入手し、約 1 週間検疫・馴化飼育した後、体重増加が順調で一般状態に異常のみられない健康な雌雄各 54 匹を選び、6 週齢で試験に供した。投与開始日の体重範囲は、雄で $190\sim217g$ (平均値: 199.6g)、雌で $144\sim169g$ (平均値: 156.9g)であり、いずれの動物の体重も平均値 $\pm20\%$ 以内であった。

動物は、検疫・馴化期間中の体重増加量により選別後、群分け当日(投与開始 4 日前)の体 重に基づいて層別化し、各群の平均体重ができるだけ均等となるよう各群を構成した。動物の 割り付けはコンピュータを用いてブロック配置法及び無作為抽出法の組合せ(ブロック配置法 で必要な群を構成し、試験群及び群内の個体番号を無作為に割り当てた)により実施した。群 分け後の余剰動物は、試験系より除外した。

注: 試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 65 匹であったが、実際には雌雄各 67 匹が納入された。

4. 飼育条件

動物は、温度 23±3℃、相対湿度 50±20%、換気回数 1 時間 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) に設定した飼育室 (802 号室) で飼育した。なお、飼育期間中の実際の温度は 20~24℃、相対湿度は一時的に最大 83%まで上昇する場合がみられたのを除けば、46~70%であった。動物は、ブラケット式金属製網ケージ (W254×D350×H170 mm:リードエンジニアリング株式会社)に1匹ずつ収容し、固形飼料 (放射線滅菌 CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社)及び飲料水 (御殿場市営水道水:自動給水)を自由に摂取させ飼育した。飼料中の汚染物質に関しては、使用した全ロットについて財団法人日本食品分析センターで分析したデータを入手し、また、飲料水については、水道法に準拠した水質の検査を財団法人静岡県生活科学検査センターに定期的 (年4回)に依頼し、得られたデータを入手してそれぞれ異常のないことを確認して保存した。

5. 投与経路、投与回数、投与期間及び回復期間とその選択理由

毒性試験法のガイドラインに準じ、投与経路は経口を選択、投与期間及び回復期間は 28 日間及び2週間(14日間)とし、回復期間中は休薬させた。また、投与回数は反復投与試験で一般的に行われている1日1回(7回/週)とした。

6. 投与方法及びその選択理由

投与容量は、10mL/kg 体重とした。また、投与方法はげっ歯類の経口投与に際して一般的に行われている方法を選択した。すなわち、1日1回(08:00~12:30 の間)、被験液を金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。対照群には媒体(0.5w/v%CMC-Na 水溶液)を同様に投与した。個体ごとの投与液量は、最新の体重を基準に算出した。

7. 投与量及びその設定理由、群構成並びに動物数

投与量は、予備試験の成績を参考にして設定した。すなわち、p-ニトロフェノールナトリウムの 125、250、500、1000 及び 2000mg/kg を雌雄のラット(1 群雌雄各 3 匹)に 1 回経口投与した結果、1000 及び 2000mg/kg 投与群の雌雄全例、500mg/kg 投与群の雌雄各 2 例及び

250mg/kg 投与群の雄 2 例と雌 1 例が死亡した 1)。一方、p-ニトロフェノールナトリウムの 3、12.5、50 及び 200mg/kg を雌雄のラットに 2 週間反復経口投与したところ、一般状態で被験物質の色に起因すると思われる黄色尿の排泄が 50 及び 200mg/kg 投与群の雌雄にみられたのみで、体重、摂餌量、血液・血液生化学的検査、剖検及び器官重量のいずれの検査においても被験物質投与の影響は認められなかった 2)。これらの結果から、毒性試験法ガイドラインで反復投与における投与量の上限とされている 1000mg/kg を最高用量とし、以下公比約 2.5 で 400、160及び 60mg/kg の 4 用量を設定し、これに対照群を加えた計 5 群を使用した。1 群当たりの動物数は、28 日間投与後に剖検する群(主群)に雌雄各 6 匹を用い、更に、対照群、中用量群、高用量群及び最高用量群では 28 日間投与後 2 週間休薬した後に剖検する群(回復群)に雌雄各 6 匹を用いた。ただし、最高用量群では投与期間中にほとんどの個体が死亡たため、全例を主群扱いとし、投与終了時に回復群の雄 1 例を含む全生存例を剖検した。群構成表を以下に示す。

試験群	投与量	濃度	投与容量	性		主群	Œ	1 復 群
	(mg/kg)	(mg/mL)	(mL/kg)	ļ	動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照群	0	0	10	雄	6	1001~1006	6	1007~1012
				雌	6	1101~1106	6	$1107 \sim 1112$
低用量群	60	6	10	雄	6	2001~2006	_	_
				雌	6	2101~2106	_	_
中用量群	160	16	10	雄	6	3001~3006	6	3007~3012
				雌	6	3101~3106	6	3107~3112
高用量群	400	40	10	雄	6	4001~4006	6	4007~4012
				雌	6	4101~4106	6	4107~4112
最高用量群	1000	100	10	雄	12	5001~5012	_	
				雌	12	5101~5112		

8. 動物の識別及びケージへの表示

動物は入荷時に小動物用耳標をつけて個体識別を行った。各飼育ケージには、投与量(群) ごとに色分けしたケージラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び剖検予定日を明記し、表示した。

9. 検査方法

1) 一般状態の観察

投与期間中は毎日3回、投与前と投与直後及び投与2時間後(ただし、土曜及び休日は 投与前と投与直後の2回)、回復期間中は毎日1回(午前中)、外観、体位・姿勢、意識・ 態度、行動、神経症状などの一般状態を観察した。死亡動物は、発見後速やかに剖検した。 なお、以下投与開始日を投与1日、投与1~7日を投与第1週、また、投与終了日の翌 日を回復1日、回復1~7日を回復第1週と起算して表示した。

2) 体重測定

投与第1週は投与1日、4日及び7日の3回、その後は3日ないし4日間隔で週2回、当日の投与前(08:00~12:30 の間)に測定した。回復期間中は回復1日、3日及び7日に測定し、その後は3日ないし4日間隔で週2回測定した。また、相対器官重量算出のため、投与終了時及び回復終了時の剖検日にも絶食後の体重を測定した。

3) 摂餌量測定

投与第1週は投与1日(前日からの1日量)、4日及び7日(いずれも3日間の累積量)の3回、それ以降は3ないし4日間隔で週2回(3~4日間の累積量)、また、回復第1週は回復3日(2日間の累積量)及び回復7日(4日間の累積量)の2回、それ以降は3日ないし4日間隔で週2回(3~4日間の累積量)、測定日の一定時間(08:00~12:30の間、ただし、投与期間中は投与前)に測定し、1匹1日量を算出した。

4) 尿検査

投与第4週及び回復第2週に行った。

投与第4週(投与23日~24日の間)は、検査当日の投与前に全生存動物について、回復第2週(回復9日~10日の間)は回復群の全生存動物について、個別に採尿器をセットしたケージに収容し、絶食・自由摂水下で4時間尿を採取した。次いで投与第4週は投与を行った後、回復第2週は引き続き、自由摂食・自由摂水下でその後の20時間尿を採取した。検査項目は以下の通りである。なお、採取した最初の4時間尿についてpH以下沈渣までの検査と尿量を、その後に得られた20時間尿を用いて浸透圧及び尿量の測定を行い、尿量は4時間の尿量及び20時間の尿量を合計して算出した。摂水量は、採尿器をセットしたケージに収容した状態で前日からの1日の摂取量を、給水瓶を用いて測定した。

検査項目	測 定 方 法		
pH	URIFLET 7A 試験紙	[佛京都第一科学]	a)
たん白質	URIFLET 7A 試験紙	[㈱京都第一科学]	a)
ケトン体	URIFLET 7A 試験紙	[㈱京都第一科学]	a)
グルコース	URIFLET 7A 試験紙	[㈱京都第一科学]	a)
潜血	URIFLET 7A 試験紙	[㈱京都第一科学]	a)
ビリルビン	URIFLET 7A 試験紙	[㈱京都第一科学]	a)
ウロビリノーゲン	URIFLET 7A 試験紙	[㈱京都第一科学]	a)

検査項目 測定方法

色調 肉眼観察

沈渣 鏡検法

尿量(24時間量) 容量測定

浸透圧 氷点降下法b)

摂水量(24時間量) 重量法

使用測定機器

a) : mini AUTION ANALYZER MA-4210

(株)京都第一科学)

b) : 全自動浸透圧測定装置 オートアンドスタット OM-6030

(株)京都第一科学)

5) 血液学的検査

投与期間及び回復期間終了の翌日の剖検時に、前日から一夜(約 16 時間)絶食させた全生存動物を、エーテル麻酔下に開腹し、腹大動脈から EDTA-2K 加採血瓶(SB-41:シスメックス㈱)に血液を採取し、以下の項目について測定した。ただし、プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間については、3.8%クエン酸ナトリウムを加えた容器に採取した血液を遠心分離(3000rpm、10 分間)して得られた血漿を用いて測定した。

検査項目	<u>測 定 方 法</u>	単位
赤血球数(RBC)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	$10^4/\mu L$
ヘモグロビン量(Hb)	シアンメトヘモグロビン法 ^{c)}	g/dL
ヘマトクリット値(Ht)	赤血球数及び平均赤血球容積から算出	%
平均赤血球容積(MCV)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	\mathbf{fL}
平均赤血球血色素量(MC	H)	
	赤血球数及びヘモグロビン量から算出	pg
平均赤血球血色素濃度(M	ICHC)	
	ヘモグロビン量及びヘマトクリット値から算出	%

<u>検査項目</u>	測 定 方 法	<u>単</u> 位
網赤血球率(Reticulocyte)		
	Brecher法	%
血小板数(Platelet)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	$10^4/\mu L$
白血球数(WBC)	電気抵抗変化検出法 ^{c)}	$10^2/\mu L$
白血球百分率	May-Giemsa 染色による鏡検法	%
プロトロンビン時間(PT)	クロット法 ^{d)}	s
活性化部分トロンボプラス	チン時間(APTT)	
	クロット法 ^{d)}	s

使用測定機器

c) : コールター全自動 8 項目血球アナライザー T890 (コールター(株))

d) : 血液凝固自動測定装置 ACL 100 (Instrumentation Laboratory)

6) 血液生化学的検查

血液学的検査のための採血と同時に、腹大動脈から採取した血液を遠心分離(3000rpm、10 分間)し、得られた血清を用いて以下の項目について測定した。ただし、GOT、GPT、LDH 及び γ -GTP については、へパリンを加えた容器に採取した血液を遠心分離(3000rpm、10 分間)して得られた血漿を用いて測定した。

検査項目	測 定 方 法	単位
GOT	UV-rate 法 c)	IU/L
GPT	UV-rate 法 ^{e)}	IU/L
LDH	UV-rate 法 ^{e 〉}	IU/L
γ -GTP	γ -グ ルタミル-3-カルボ キシ-4-ニトロアニリト 法 $^{\mathrm{e}}$)	IU/L
AlP	Bessey-Lowry 法 ^{e)}	IU/L
総コレステロール(T.cho)	CEH-COD-POD 法e)	mg/dL
トリグリセライド(TG)	GK-GPO-POD 法 e)	m mg/dL
リン脂質(PL)	PLD-ChOD-POD 法 e)	${\sf mg/dL}$
総ビリルビン(T.bilirubin)	アゾビリルビン 法 ®	mg/dL
グルコース (Glucose)	Hexokinase-G6PD 法 e)	mg/dL
尿素窒素(BUN)	Urease-GLDH 法 ^{e)}	mg/dL

検査項目	測定 方法	<u>単 位</u>
クレアチニン (Creatinine)	Jaffé 法 ^{e)}	m mg/dL
ナトリウム (Na)	イオン選択電極法 ^{e)}	mmol/L
カリウム(K)	イオン選択電極法 ^{e)}	mmol/L
塩素(Cl)	イオン選択電極法 ^{e)}	$\mathbf{mmol/L}$
カルシウム(Ca)	OCPC 法 ^{e)}	${ m mg/dL}$
無機リン(P)	モリブデン酸法 ^{e)}	m mg/dL
総たん白質(TP)	Biuret 法 ^{e)}	$\mathrm{g/dL}$
アルブミン (Albumin)	BCG 法 ^{e)}	g/dL
A/G 比(A/G)	総たん白質及びアルブミンから算出	

使用測定機器

e) : 全自動分析装置 Monarch (Instrumentation Laboratory)

7) 病理学的検査

(1) 剖検及び器官重量測定

全生存動物について、採血後腹大動脈切断により放血致死させ、体外表、頭部、胸部及び腹部を含む全身の器官・組織について詳細に観察・記録した。死亡動物は、発見後速やかに剖検した。次いで、次に示す器官・組織について器官重量(絶対重量)を測定するとともに、絶対重量と剖検時の体重から、体重100g当たりの相対重量を算出した。なお、*印をつけた両側性の器官については左右別々に測定したが、その合計値で評価した。また、死亡動物についても器官重量を測定したが、データは参考値とし、帳票には記載しなかった。

脳、甲状腺(上皮小体を含む)*、胸腺、心臓、肺(気管支を含む)、肝臓、脾臓、腎臓*、副腎*、精巣*、卵巣*

(2) 病理組織学的検査

全動物について、次の器官・組織をリン酸緩衝 10%ホルマリン液で固定、保存した(ただし、眼球、ハーダー腺及び視神経はリン酸緩衝液で調製した 3%グルタルアルデヒド・2.5%ホルマリン液で固定、計画殺動物の精巣はブアン液で固定した後リン酸緩衝 10%ホルマリン液で保存した)。次いで、下線を施した器官・組織についてパラフィン包埋し、このうち主群の対照群、高用量群及び最高用量群について切片とし、ヘマトキシリン・

エオジン(H・E)染色を行い鏡検した。更に、被験物質投与による影響の疑われた雌雄の胃及び雄の腎臓については、主群の中及び低用量群と回復群の全例で検査を行った。なお、死亡動物及び肉眼的異常部位については、用量に関係なく鏡検した。また、正常及び異常所見の代表例について写真を撮影した。

大脳、小脳、脊髄(胸部)、坐骨神経、眼球、視神経、ハーダー腺、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、胸腺、脾臓、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、胸大動脈、気管、肺(気管支を含む)、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、顎下線、舌下腺、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、腟、乳腺、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)、大腿部骨格筋、皮膚(鼠径部)、喉頭、個体識別部(耳介)、肉眼的異常部位

10. 統計処理

各検査項目のうち数値化した成績について、まず Bartlett 法により各群の分散の均一性の検定(有意水準:両側 1%)を行った。その結果、分散が均一の場合には Dunnett 法を用いて対照群と各投与群との平均値の差の検定(有意水準:両側 5 及び 1%)を、分散が均一でない場合には Dunnett 型の方法(mean rank test 法)を用いて対照群と各投与群との平均順位の差の検定(有意水準:両側 5 及び 1%)を行った。。また、尿の定性的項目については、累積χ²検定法(有意水準:両側 5 及び 1%)を、病理組織学的検査の成績については、Mann-Whitenyの U検定(有意水準:片側 5 及び 1%)を行った。

試験結果

1. 死亡動物及び一般状態

成績を Table 1-1~1-3 及び Appendix 1~13 に示した。

1) 死亡動物

投与期間中、1000mg/kg 投与群の雌雄各 10/12 例が死亡した。このうち、雄 7 例と雌 6 例は投与開始日の投与直後から自発運動の減少、呼吸数の減少及び腹臥/横臥がみられ、一部はこれに加えて強直性痙攣を呈して死亡した。その他の雄 3 例と雌 4 例では、投与開始日の投与直後に自発運動の減少及び呼吸数の減少がみられ、ほとんどの例では腹臥/横臥も認められた。投与 2 時間後にはこれらの症状は消失した。投与 2 日では約半数で投与直後に自発運動の減少がみられた。これ以降、これらの症状はみられなくなったが、投与 6 及び 10 日に雄各 1 例、投与 8 日に雌 2 例、更に投与 14 日に雌 1 例が症状を示すことなく投与 30 分~3 時間後に死亡、投与 17 日に雌雄各 1 例が投与直後に呼吸数の減少、腹臥/横臥及び強直性痙攣を示して死亡した。なお、投与開始日に死亡した例以外では、被験物質の色に起因すると考えられる黄色尿の排泄が投与開始日から連日観察された。

2) 生存動物

雌雄ともに、被験物質の色に起因すると考えられる黄色尿の排泄が、各投与群の全例で 投与開始日から連日みられた。

1000mg/kg 投与群では、上記の症状以外に投与開始日の投与直後に自発運動の減少及び呼吸数の減少が雌雄各 2 例(生存例全例)にみられ、雌雄各 1 例では腹臥/横臥も認められた。これらの症状は投与 2 時間後には消失した。投与 2 日には投与直後に自発運動の減少が雄 1 例にみられたが、これ以降は黄色尿の排泄以外の症状は認められなかった。

回復期間では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

2. 体重

成績を Fig. 1、Table 2-1、2-2 及び Appendix 14~21 に示した。

1) 投与期間

投与期間を通じて、雌雄の各投与群の体重は対照群と同様に推移した。

2) 回復期間

回復期間を通じて、雌雄の各投与群の体重は対照群と同様に推移した。

3. 摂餌量

成績を Fig. 2、Table 3-1、3-2 及び Appendix 22~29 に示した。

1) 投与期間

投与期間を通じて、雌雄の各投与群の摂餌量は対照群と同様であった。

2) 回復期間

雄では、160 及び 400mg/kg 投与群で対照群に比べて有意な低値が回復 10 日にみられた。なお、投与 14 日に摂餌量の有意な低値が 160mg/kg 投与群にみられたが、400mg/kg 投与群では対照群との差がなく、用量に関連した変化ではなかった。

雌では、回復期間を通じて各投与群の摂餌量は対照群と同様であった。

4. 尿検査

成績を Table 4-1~4-8 及び Appendix 30~53 に示した。

1) 投与第4週検査

雄では、pHの有意な低下が400mg/kg 投与群にみられた。 雌では、pHの有意な低下がすべての投与群にみられた。

2) 回復第2週検査

雌雄ともに、各投与群と対照群の間に差は認められなかった。

5. 血液学的検査

成績を Table 5-1~5-4 及び Appendix 54~69 に示した。

1) 投与期間終了時検査

雌雄ともに、各投与群と対照群の間に差は認められなかった。

2) 回復期間終了時檢查

雌雄ともに、各投与群と対照群の間に差は認められなかった。

6. 血液生化学的検査

成績を Table 6-1~6-4 及び Appendix 70~85 に示した。

1) 投与期間終了時検査

雌雄とも、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。なお、アルブミンの有意な増加が 400mg/kg 投与群の雄、A/G 比の有意な高値が 160mg/kg 投与群の雄、総コレステロールの有意な減少が 160mg/kg 投与群の雌、更にカリウムの有意な増加

が 60mg/kg 投与群の雌にみられたが、いずれも投与に関連した変化ではなかった。

2) 回復期間終了時檢查

雌雄ともに、各投与群と対照群の間に差は認められなかった。

7. 器官重量

成績を Table 7-1~7-8 及び Appendix 86~133 に示した。

1) 投与期間終了時剖検例

雌雄ともに、被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

なお、心臓の相対重量の有意な減少が 400mg/kg 投与群の雄に、肝臓、副腎及び卵巣の相対重量の有意な増加が 400mg/kg 投与群の雌にみられたが、いずれも用量に関連した変化ではなかった。

2) 回復期間終了時剖検例

被験物質投与との関連が疑われる変化が、雌の副腎にみられた。

副腎

: 雄では、対照群と各投与群との間に差は認められなかった。

雌では、絶対重量の有意な増加が 400mg/kg 投与群にみられた。

8. 剖検所見

成績を Table 8-1~8-3 及び Appendix 134~149 に示した。

1) 死亡例

雌雄ともに、異常は認められなかった。

2) 投与期間終了時剖検例

雌雄ともに、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。なお、腺胃の暗赤色点が 60mg/kg 投与群の雄 1 例と 400mg/kg 投与群の雌 1 例に、精巣上体の白色斑(片側性)が 400mg/kg 投与群の 1 例にみられたが、出現状況及び病理学的性状からいずれも偶発所見と判断した。

3) 回復期間終了時剖檢例

雌雄ともに、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。なお、腎臓の一部陥凹(片側性)が 400mg/kg 投与群の雄 1 例に、腺胃の暗赤色点が 160 及び 400mg/kg 投与群の雌各 1 例にみられたが、出現状況及び病理学的性状からいずれも偶発 所見と判断した。

9. 病理組織学的検査

成績を Table 9-1~9-7 及び Appendix 150~171 に、また、所見の代表例を Photo. 1~4 に示した。

1) 死亡例

投与期間中に死亡した 1000mg/kg 投与群の雌雄各 10 例について、被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。なお、雄で、肝臓における髄外造血の増加及び脾臓における髄外造血の亢進が有意にみられ、雌でも同様の傾向が認められたが、大半の動物が投与開始日に死亡していることから、動物の週齢の違いによる差と判断した。また、雄の 1 例で大腿骨骨髄に限局性の線維化がみられたが、その出現状況から偶発所見と判断した。

2) 投与期間終了時剖検例

被験物質投与に関連すると考えられる変化が、雄の腎臓にみられた。なお、胃は被験物質投与の影響が疑われたため雌雄全例について検索したが、最終的には被験物質投与の影響はないと判断した。

腎臓 : 雄における尿細管上皮の好酸性小体 (Photo. 2) が、対照群では軽微 3/6

例、60mg/kg 投与群では軽微 1/6 例と軽度 1/6 例、160mg/kg 投与群では

軽微 1/6 例なのに対し、400mg/kg 投与群では軽微 3/6 例と軽度 3/6 例、

1000mg/kg 投与群では軽度 2/2 例であり、400 及び 1000mg/kg 投与群で

変化の程度が増強され、400mg/kg 投与群では有意差も認められた。他に、

好塩基性尿細管が 160mg/kg 投与群の雄 1 例と 400mg/kg 投与群の雌雄各

1 例、間質の細胞浸潤が 400mg/kg 投与群の雌 1 例、限局性の線維化が

400mg/kg 投与群の雌 1 例、嚢胞が 400mg/kg 投与群の雌 1 例にみられた

が、その出現状況及び病理学的性状からいずれも偶発所見と判断した。

他に、以下の所見がみられたが、生理的変化である脾臓の髄外造血を除き、その出現状 況及び病理学的性状から偶発所見と判断した。

胃: 腺胃のびらん(剖検時に、肉眼的に腺胃の暗赤色点が認められた 60mg/kg

投与群の雄1例と400mg/kg 投与群の雌1例)

脾臓 : 髄外造血(対照群、400 及び 1000mg/kg 投与群の雌雄全例)

前立腺 : 間質の細胞浸潤(対照群及び 400mg/kg 投与群の各 3 例と 1000mg/kg 投

与群の1例)

精巣上体

: 精子肉芽腫(剖検時に、肉眼的に白色斑が認められた 400mg/kg 投与群の1例)

投与終了時剖検例で検索した他の器官・組織、すなわち大脳、小脳、脊髄(胸部)、座 骨神経、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、胸腺、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節、心臓、 気管、肺(気管支を含む)、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、肝臓、膀胱、精 巣、卵巣、子宮、胸骨(骨髄を含む)、大腿骨(骨髄を含む)並びに大腿部骨格筋には異 常所見は認められなかった。

3) 回復期間終了時剖檢例

雌雄ともに、被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。なお、以下の所見がみられたが、その出現状況及び病理学的性状から偶発所見と判断した。

腎臓 : 尿細管上皮の好酸性小体(対照群の雄 4 例、160mg/kg 投与群の雄 2 例、

400mg/kg 投与群の雄 3 例)、好塩基性尿細管、間質の細胞浸潤並びに限 局性の線維化(剖検時に、肉眼的に一部陥凹が認められた 400mg/kg 投与

群の雄1例)

胃: 腺胃のびらん(剖検時に、肉眼的に腺胃の暗赤色点が認められた 160mg/kg

投与群と 400mg/kg 投与群の雌各 1 例)

考 宴

Sprague-Dawley 系 SPF 雌雄ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕に、p-ニトロフェノールナトリウムを 0(0.5w/v%CMC-Na 水溶液:対照群)、60、160、400 及び 1000mg/kg/day の用量で 28 日間反復強制経口投与し、その毒性を検討するとともに、対照群、160 及び 400mg/kg 投与群についてはその後 2 週間休薬させ、変化の回復性について検討した。

投与期間中、1000mg/kg 投与群の雌雄各 10/12 例が死亡した。発現した症状は中枢神経系への影響を示唆するものであったこと、一方、剖検及び病理組織検査では神経系に変化がみられず、脳重量の変化も認められなかったことから、器質的変化を伴わない中枢神経系への作用が死因と考えられた。

生存動物の一般状態では、死亡が認められた 1000mg/kg 投与群の雌雄で死亡動物と同様に自発運動の減少、呼吸数の減少及び腹臥/横臥がみられた。しかし、呼吸数の減少と腹臥/横臥は投与開始日のみ、自発運動の減少も投与3日以降は認められなかった。このように、投与開始時にみられた症状が投与を繰り返すことにより消失する場合には、肝臓の薬物代謝酵素の誘導が認められることが多いが、本試験では薬物代謝酵素の誘導を示唆する肝臓重量の増加や小葉中心性の肝細胞肥大はみられず、その機序は不明であった。なお、投与開始日以降、雌雄の投与群全例で黄色尿の排泄が連日みられたが、黄色を有する被験物質自身あるいはその代謝物が尿中に排泄された結果と考えられ、毒性とはみなさなかった。

体重及び摂餌量では、被験物質投与の影響は認められなかった。

尿検査では、pH の低下が 400mg/kg 投与群の雄でみられ、後述の腎臓の組織学的変化とともに被験物質の腎臓への影響が示唆された。なお、pH の低下は雌のすべての投与群にもみられたが、その変化の程度が用量に関連していないこと、他の尿検査の項目や腎臓の病理学検査において何ら変化がみられないことから毒性ではないと判断した。

血液及び血液生化学的検査では、被験物質投与の影響は認められなかった。

病理学的検査では、雄の腎臓で尿細管上皮の好酸性小体の出現が 400 及び 1000mg/kg 投与群で増強された。しかし、この変化は雄ラットで性成熟に伴って生理的に認められるものであり、本試験では尿細管の障害性を示唆する変化がみられないことから、毒性学的意義は乏しいと推察された。

休薬により、上記の変化はすべて消失し、回復性が認められた。なお、摂餌量で有意な低値が 160 及び 400mg/kg 投与群の雄にみられたが、回復 10 日の 1 時点のみの変化であり、その

前後では対照群との差は認められないことから偶発的な変化と判断した。また、副腎重量の増加が 400mg/kg 投与群の雌にみられたが、絶対重量のみの変化で相対重量に差がないことや投与終了時に被験物質の副腎への影響が認められないことから偶発的な変化と判断した。

以上の如く、p-ニトロフェノールナトリウムをラットに 28 日間反復経口投与した結果、1000mg/kg 投与群の雌雄で死亡が認められ、400 及び 1000mg/kg 投与群の雄で腎臓の組織学的変化、400mg/kg 投与群の雄で尿 pH の低下がみられた。一方、400mg/kg 投与群の雌と160mg/kg 以下の投与群の雌雄では変化は認められなかった。

これらの結果から、本試験における p-ニトロフェノールナトリウムの無影響量は雄で 160 mg/kg/day、雌で 400 mg/kg/day と推定された。

涼 文

- 1) p-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いた経口投与による急性毒性予備試験 (株式会社ボゾリサーチセンター 試験番号: U-1700, 1999 年3月)
- 2)p-ニトロフェノールナトリウムのラットを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験(予備試験) (株式会社ボゾリサーチセンター 試験番号: U-1701, 1999 年 3 月)
- 3) Shayne C. Gad and Carrol S. Weil: Chapter 15. Statistics for Toxicologists. In "Principles and Methods of Toxicology" 2nd Edition, edited by A.Wallace Hayes, Raven Press, Ltd., New York, pp.435-483, 1989.



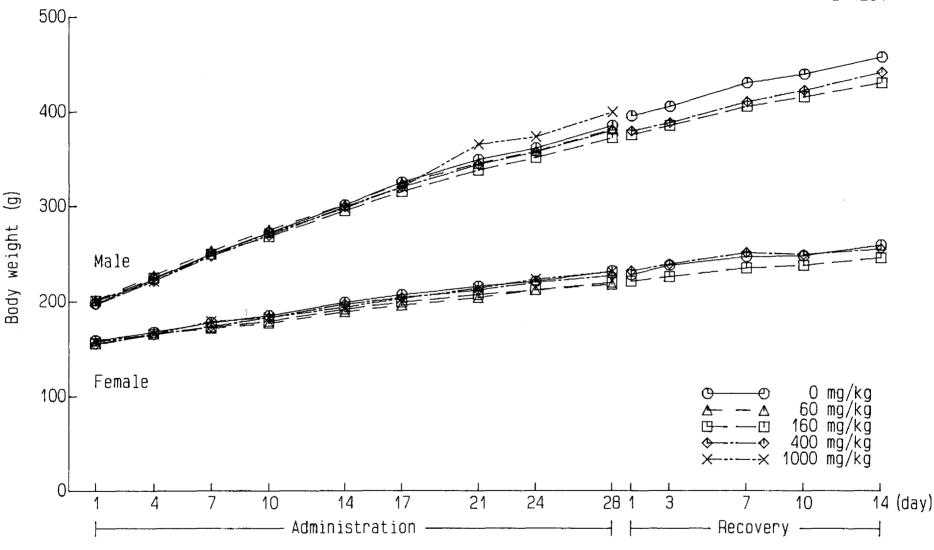


Fig.1 Body weight of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

——— Body weight ———

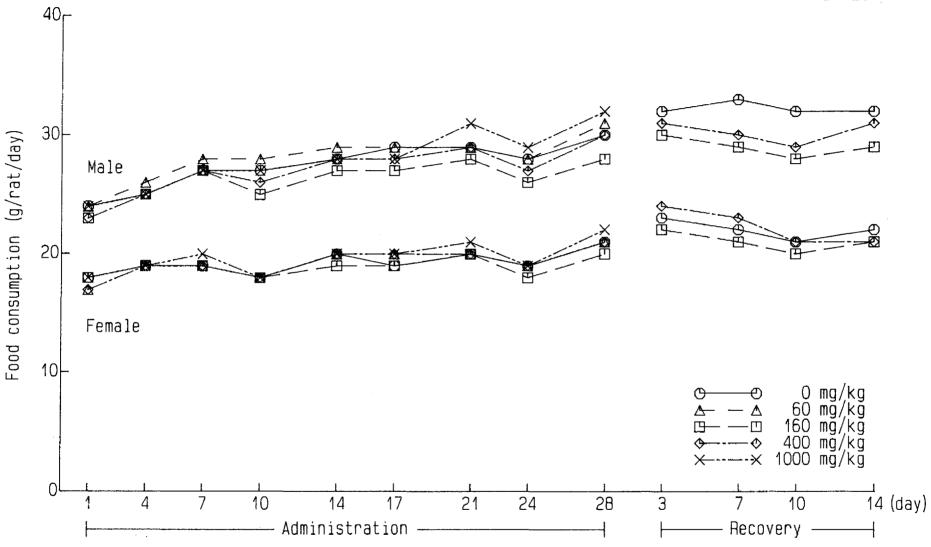


Fig.2 Food consumption of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

— Food consumption —

Table 1-1 Clinical signs of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

ex	Dose	Findings						Day	of adm	inistra	tion					
	mg/kg	rinuings	1	2	3	4	5	. 6	7	8	9	10	11	12	13	14
	0	No. of animals No abnormality	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \end{array}$	$^{12}_{12}$	$^{12}_{12}$	$^{12}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \end{array}$	12 12	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \end{array}$	12 12	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \end{array}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \end{array}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \end{array}$	12 12	12 12	12 12
	60	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 6 0	6 6 0	6 6 0	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 0 6
ale	160	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	$^{12}_{0}_{12}$	12 0 12	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \\ 0 \end{array}$	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \\ 0 \end{array}$	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$^{12}_{12}_{0}$	12 12 0	$^{12}_{0}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	12 12 0	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$
	400	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	12 0 12	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \\ 0 \end{array}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix} 12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$^{12}_{\ 0}_{12}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix} 12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$
	1000	No. of animals No abnormality Decrease, spontaneous movement Oligopnea Prone/Lateral position Tonic convulsion Excretion, yellow urine Dead	12 0 12(10 12(10) 10(9) 3(3) 5(3) 7	0	5 5 0 0 0 0 3) 0	50000050	5 0 0 0 0 0 0 0	5 4 0 0 0 0 0	4 4 0 0 0 0 0	4 4 0 0 0 0 0 0	4 4 0 0 0 0 0	4 0 0 0 0 0 3 1	3 0 0 0 0 0 0 0 3 (:	3 3 0 0 0 0 0	3300000	3 0 0 0 0 0 3(1)
	0	No. of animals No abnormality	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \end{array}$	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12
	60	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 6 0	6 6 0	6 6 0	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 0 6
emale	160	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	12 0 12	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\0\\12\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$^{12}_{0}_{12}$	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	12 0 12
	400	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	12 0 12	12 0 12	$^{12}_{12}_{0}$	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{smallmatrix} 12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	12 12 0	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix} 12 \\ 0 \\ 12 \end{smallmatrix}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	12 0 12
	1000	No. of animals No abnormality Decrease, spontaneous movement Oligopnea Prone/Lateral position Tonic convulsion Excretion, yellow urine Dead	12 0 12(10) 12(10) 10(9) 4(4) 6(4)	0	6 6 0 0 0 0 4 1	6 0 0 0 0 0 6 6	6 0 0 0 0 0 0	6 6 0 0 0 0	6 0 0 0 0 0	6 4 0 0 0 0 0 0 2	4 4 0 0 0 0 0	4 0 0 0 0 0 4 4 0 2	4 0 0 0 0 0 0 0 4 2	4 0 0 0 0 0 0	4 4 0 0 0 0 0 0	4 0 0 0 0 0 4 1

Number in parenthesis indicated the number of dead animals that showed the respective clinical signs.

Table 1-2 Clinical signs of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Malc	Dono	Findings	Day of administration														
Sex	Dose mg/kg	ringings	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
	0	No. of animals No abnormality	12 12	12 12	$\frac{12}{12}$	12 12	$^{12}_{12}$	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	$^{12}_{12}$	$^{12}_{12}$	
	60	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 0 6	
Male	160	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	$^{12}_{0}_{12}$	$^{12}_{0}_{12}$	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$^{12}_{0}_{12}$	$^{12}_{0}_{12}$	12 0 12	$^{12}_{0}$	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \\ 0 \end{array}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	12 0 12	
	400	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\0\\12\end{smallmatrix}$	12 0 12	12 0 12	12 0 12	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 12 \\ 0 \end{array}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	12 0 12	
	1000	No. of animals No abnormality Oligopnea Prone/Lateral position Tonic convulsion Excretion, yellow urine Dead	3 0 0 0 0 3 0	3 0 0 0 0 0 1) 3(3 0 1 1 1 1 1 1	2 0 1) 0 1) 0 1) 0 2	2 2 0 0 0 0	2 2 0 0 0 0	2 0 0 0 2 0	200000000000000000000000000000000000000	2 0 0 0 2 0	2 0 0 0 0 2 0	2 0 0 0 0 2 0	2 2 0 0 0 0	2 2 0 0 0 0	2 0 0 0 0 2 0	
	0	No. of animals No abnormality	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	12 12	
	60	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 0 6	6 6 0	6 6 0	6 0 6	
Female	160	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	$^{12}_{0}$	12 0 12	12 0 12	$\begin{smallmatrix}12\\0\\12\end{smallmatrix}$	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\0\\12\end{smallmatrix}$	12 0 12	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$^{12}_{0}_{12}$	$^{12}_{12}_{0}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$^{12}_{0}$	
	400	No. of animals No abnormality Excretion, yellow urine	$^{12}_{0}_{12}$	$^{12}_{0}_{12}$	12 0 12	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{smallmatrix} 12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$^{12}_{0}_{12}$	$\begin{smallmatrix}12\\0\\12\end{smallmatrix}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	$\begin{smallmatrix} 12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix} 12\\12\\0\end{smallmatrix}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 0 \\ 12 \end{array}$	
	1000	No. of animals No abnormality Oligopnea Prone/Lateral position Tonic convulsion Excretion, yellow urine Dead	3 0 0 0 0 3(:	3 0 0 0 0 0 3(1	$\begin{array}{c} 3 \\ 0 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \end{array}$	2 0 0 0 1 1 0 0 2 0	2 0 0 0 0	2 0 0 0 0	2 0 0 0 0 2 0	2 0 0 0 0 2	2 0 0 0 0 2 0	2 0 0 0 0 2	2 0 0 0 0 2	22 00000	2 0 0 0 0	2 0 0 0 0 2 0	

Number in parenthesis indicated the number of dead animals that showed the respective clinical signs.

Table 1-3 Clinical signs of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dono	Findings						D	ay of r	ecovery	<i>†</i>		6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6 6				
ex	Dose mg/kg	rimings	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
	0	No. of animals No abnormality	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6							
fale	160	No. of animals No abnormality	6 6	6 6	6 6	6 6	6	6 6	6 6	6_6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	
400	No. of animals No abnormality	6 6	6 6	6 6	6 6	6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6		
	0	No. of animals No abnormality	6 6	6 6	6	6 6	6 6	6 6	6	6 6	6	6 6	6	6 6	6 6	6	
emale	160	No. of animals No abnormality	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6							
	400	No. of animals No abnormality	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6	6 6							

Body weight of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days Table 2-1

C	Dose					Day of	administr	ation				Gain
Sex	mg/kg		1	4	7	10	14	17	21	24	28	1-28
	0	No. Mean S.D.	12 198 5	12 224 8	12 250 11	12 272 14	12 301 18	12 325 18	12 349 21	12 361 22	12 385 24	12 186 21
	60	No. Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}6\\202\\9\end{smallmatrix}$	228 8	6 253 11	6 275 11	6 301 16	6 324 17	6 345 2 2	6 358 24	6 381 26	6 179 19
Male	160	No. Mean S.D.	12 201 6	12 225 7	12 250 7	12 268 11	12 295 12	12 315 15	12 338 19	$\begin{array}{c} 12\\351\\22\end{array}$	12 372 25	$12 \\ 171 \\ 21$
	400	No. Mean S.D.	12 197 6	$\begin{array}{c} 12\\222\\8\end{array}$	12 248 9	12 269 10	12 299 12	$12 \\ 320 \\ 14$	12 344 16	12 357 18	12 380 18	12 182 16
	1000	No. Mean S.D.	12 201 6	5 22 2 5	4 250 9	4 271 12	3 298 20	3 320 28	2 365 23	2 373 26	2 399 35	199 33
	0	No. Mean S.D.	$12 \\ 159 \\ 6$	12 168 7	12 178 8	12 185 8	12 199 9	12 207 13	12 216 13	12 221 13	12 232 14	12 74 11
	60	No. Mean S.D.	6 156 9	6 166 11	6 172 13	6 1 77 10	6 189 12	$6 \\ 196 \\ 11$	6 204 12	6 212 14	6 218 14	6 62 8
Female	160	No. Mean S.D.	12 156 8	12 166 9	12 173 11	$12 \\ 179 \\ 11$	12 192 14	12 199 17	12 207 18	12 212 17	$12 \\ 220 \\ 18$	12 64 13
	400	No. Mean S.D.	$12 \\ 155 \\ 7$	$12 \\ 165 \\ 8$	12 174 9	12 183 10	12 197 13	12 204 16	12 212 14	12 220 17	12 227 17	12 72 19
	1000	No. Mean S.D.	12 158 5	6 166 5	6 179 7	183 8	4 194 9	3 203 6	$214\\1$	$\begin{smallmatrix}2\\223\\6\end{smallmatrix}$	2 231 8	$\begin{array}{c}2\\77\\2\end{array}$

Unit: g No significant difference in any treated groups from control group.

Body weight of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days Table 2-2

	D			Day	of recove	ery		Coin
Sex	Dose mg/kg		1	3	7	10	14	Gain 1-14
	0	No. Mean	6 395	6 405	6 430	6 439	6	6
		S.D.	29	29	32	31	457 35	62 9
Tale	160	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean S.D.	375 23	385 24	405 28	415 26	430 30	6 55 11
	400	No.	6	6	6	6	6	6
		Mean S.D.	379 13	388 13	$\begin{array}{c} 410 \\ 16 \end{array}$	422 16	441 17	62 12
	0	No. Mean	$\begin{smallmatrix}6\\228\\12\end{smallmatrix}$	6 238	6 247 15	6 248	6 259 15	$\begin{matrix} 6\\31\\6\end{matrix}$
		S.D.	12	11	15	13		
Female	160	No. Mean	$\begin{smallmatrix}6\\221\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}6\\226\end{smallmatrix}$	6 235	6 238	6 246	6 25 7
		S.D.	15	226 18	18	15	16	7
	400	No. Mean	$\begin{smallmatrix}6\\232\end{smallmatrix}$	6 239	6 251	$\begin{matrix} 6 \\ 249 \end{matrix}$	6 255	6 24
		S.D.	16	15	20	19	20	24 7

Unit: g
No significant difference in any treated groups from control group.

Food consumption of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days Table 3-1

`~"	Dose		Day of administration													
Sex	mg/kg		1	4	7	10	14	17	21	24	28					
	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
		Mean	24	25	27	27	28	29 2	29	28	30					
		S.D.	2	2	2	2	2	Z	2	2	2					
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6					
		Mean S.D.	$\begin{array}{c} 24 \\ 1 \end{array}$	26 1	28 2	28 2	29 2	29 2	29 3	28 3	31 3					
_																
lale	160	No. Mean	12 23	12 25	$\begin{array}{c} 12 \\ 27 \end{array}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 25 \end{array}$	12 27	12 27	12 28	$\begin{array}{c} 12 \\ 26 \end{array}$	$\begin{array}{c} 12 \\ 28 \end{array}$					
		S.D.	2	25 2	1	23	2	2	2	20	20					
	400	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
	400	Mean	23	25	27	26	28	28	29	27	30					
		S.D.	2	1	1	26 2	2	2	2	2	2					
	1000	No.	12	5	4	4	3	3	2	2	2					
		Mean	24	25	27	27	28	28	31	29	32					
		S.D.	2	1	1	2	3	4	1	1	1					
	0	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
		Mean	18	19	19	18	20	19	20	19	21					
		S.D.	2	1	1	1	1	1	1	1	1					
	60	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	6					
		Mean S.D.	$^{17}_{2}$	19 2	19 2	18 1	20 1	20 2	20 2	19 2	21 2					
emale	160	No. Mean	12 18	12 19	12 19	12 18	$\begin{array}{c} 12 \\ 19 \end{array}$	12 19	12 20	12 18	12 20					
		S.D.	3	2	2	1	1	2	2	2	1					
	400	No.	12	12	12	12	12	12	12	12	12					
		Mean	17	19	19	18	20	20	20	19	21					
		S.D.	2	1	2	1	2	2	2	2	1					
	1000	No.	12	6	6	4	4	3	2	2	2					
		Mean	18	19	20	18	20	20	21	19	22					
		S.D.	1	1	1	1	1	2	0	1	1					

Unit : g/rat/day
No significant difference in any treated groups from control group.

Food consumption of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days Table 3-2

•	_		Day of recovery								
	Dose mg/kg		3	7	10	14					
	0	No. Mean	6 32 3	6	6	6 32 2					
		S.D.	3	33 3	32 1	2					
Male	160	No. Mean S.D.	6 30 2	6 29 3	6 28** 2	6 29* 2					
	400	No. Mean S.D.	6 31 2	6 30 2	6 29* 2	$\begin{smallmatrix}6\\31\\2\end{smallmatrix}$					
	0	No. Mean S.D.	6 23 2	6 22 2	6 21 2	6 22 2					
Female	160	No. Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}6\\22\\2\end{smallmatrix}$	6 21 1	6 20 1	$\begin{smallmatrix}6\\21\\1\end{smallmatrix}$					
	400	No. Mean S.D.	6 24 1	6 23 2	$\begin{smallmatrix}6\\21\\1\end{smallmatrix}$	6 21 1					

Unit : g/rat/day Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 4-1 Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Com	Dose	No.	РН									1) Protein						2) Ketone body						3) Glucose							
Sex	mg/kg		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	-	+-	+	++	+++	++++	~	+-	+	++	+++	++++		+-	+	++	+++	++++		
	0	12	0	0	0	o	0	3	3	6	0	0	5	6	1	0	0	11	0	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0		
	60	6	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	3	1	2	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0		
Male	160	12	0	0	0	0	0	2	7	3	0	0	3	8	1	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0		
	400	12	0	0	0	1	1	6	4	0	0*	0	5	7	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0		
	1000	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0		
	0	12	0	0	0	0	0	0	3	9	0	4	5	3	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0		
	60	6	0	0	1	1	1	1	1	1	0**	3	2	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0		
Female	160	12	0	0	0	3	1	1	2	5	0.	6	4	2	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0		
	400	12	0	0	0	0	4	2	3	2	1**	6	3	3	0	0	0	11	1	0	0	0	0	12	0	0	0	0	. 0		
	1000	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0*	1	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0		

¹⁾ -: 0 - 5 mg/dl+- : 10 - 20 mg/dl + : 30 - 70 mg/dl

^{2) ~: 0} mg/d1 +-: 5 mg/dl+ : 10 - 20 mg/dl

³⁾ -: 0 - 10 mg/dl +-: 30 - 50 mg/dl+ : 70 - 100 mg/dl Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

^{++ : 30 - 45} mg/dl

⁺⁺⁺ : 60 - 80 mg/dl

^{++ : 100 - 200} mg/dl +++ : 250 - 400 mg/dl ++++ : >400 mg/dl ++++ : >80 mg/dl

^{++ : 150 - 200} mg/dl

^{+++ : 300 - 500} mg/dl ++++ : ≥1000 mg/dl

Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days Table 4-2

0	D	N7	00	cul	t b	4 100	d d		E	ili	rub	5) in		t	rol	oili	e Inoge	s) en	Color	
Sex	Dose mg/kg	No.	_	+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY Y	DY
	0	12	11	0	o	1	0	12	0	0	0	0	o	10	2	0	0	0	0 12	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0 6	0
Male	160	12	11	1	0	0	0	12	0	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0 12	0
	400	12	10	1	0	1	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0 12	0
	1000	2	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0 2	0
, 2 /, 3 / 1	0	12	10	0	1	1	0	12	0	0	0	0	0	11	1	0	0	0	0 12	0
	60	6	5	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0 6	0
Female	160	12	10	0	1	0	1	12	o	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0 12	0
	400	12	11	0	1	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0 12	0
	1000	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0 2	0

⁷⁾ LY: Light yellow Y : Yellow DY ; Dark yellow

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-3 Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

																	UE	RINE	SEE	IME	≅NT														
																												C	RYS	TALL	ras I,	101	1		
					RBC	;				WBC	;				SEC	;			S	REC	2		(Cast				PS		-			СО		
Sex	Dose mg/kg	No.	-	+-	+	++	+++	_	+-	+	++	+++	Ξ	+-	+	++	+++		+-	+	++	+++	_	+-	+		+-	+	++	+++	-	+-	+	++	+++
	0	12	11	0	1	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
Male	160	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0
	400	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0
	1000	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0
	0	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	9	2	1	0	0	12	0	0	0	0
	60	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
Female	160	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	o	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0
	400	12	12	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	12	0	0	0	12	0	0	0	0	12	0	0	10	2	0	0	0	12	0	0	0	0
	1000	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell - : Negative
SREC : Small Round Epithelial Cell +- : Slight
PS : Phosphate Salts + : Mild
CO : Calcium Oxalate ++ : Severe

Table 4-4 Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Sex	Dose	No.		Water intake	Urine volume	Osmolality
	mg/kg	NU.		mL/24hrs	mL/24hrs	mOsm/kg
	0	12	Mean S.D.	44 10	15.8 4.9	1614 392
	60	6	Mean S.D.	46 18	$\substack{13.1\\5.8}$	1462 554
Male	160	12	Mean S.D.	40 9	$\substack{12.5\\5.8}$	1827 490
	400	12	Mean S.D.	42 8	14.8 4.2	1720 321
	1000	2	Mean S.D.	7 54 25	18.6 5.5	1654 240
	0	12	Mean S.D.	37 8	10.1 3.9	1686 426
	60	6	Mean S.D.	36 10	10.8 7.8	1680 365
Female	160	12	Mean S.D.	32 6	$\frac{6.1}{3.3}$	2037 420
	400	12	Mean S.D.	34 7	8.1 4.5	1864 439
	1000	2	Mean S.D.	38 1	$\frac{8.6}{2.2}$	1783 253

Table 4-5 Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	_						pН							Pro	tei	l) I n			Ke	ton	e b	2) oody				G1u		i) ie	
Sex	Dose mg/kg	No.	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0		+-	+	++	+++	++++	-	+-	+	++	+++	++++		+-	+	++	+++	++++
	0	6	0	0	0	0	0	0	5	1	0	1	2	3	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
Male	160	6	0	0	0	0	o	3	1	2	0	0	3	2	1	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	400	6	0	0	0	0	0	2	2	1	1	0	1	3	2	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	0	6	0	0	1	1	.1	0	3	0	0	1	3	2	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
emale	160	6	0	0	0	2	1	0	2	1	0	2	3	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
	400	6	0	0	0	1	0	1	3	1	0	1	5	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0

⁺⁻ : 10 - 20 mg/dl + : 30 - 70 mg/dl++ : 100 - 200 mg/dl +++: 250 - 400 mg/d1 ++++: >400 mg/d1 ++++ : >80 mg/dl

^{+ : 10 - 20} mg/dl + : 70 - 100 mg/dl 2) - : 0 mg/d1+- : 5 mg/dl ++ : 30 - 45 mg/dl +++ : 60 - 80 mg/dl 3) -: 0 - 10 mg/dl +-: 30 - 50 mg/dl++ : 150 - 200 mg/dl +++ : 300 - 500 mg/dl ++++ : ≥1000 mg/dl

No significant difference in any treated groups from control group.

Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days Table 4-6 and followed by a recovery period for 14 days

Urinalysis (Recovery)

		3 7 -	00	cul	t t	4 100			E	ili	rub	5) in		ι	rot	ili	noge	3) en	Co	7) 101			
	Dose mg/kg	No.		+-	+	++	+++		+	+	++	+++	++++	+-	+	++	+++	++++	LY	Y	DY	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0		
Male	160	6	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	6	0		
	400	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	6	0		
	0	6	5	0	0	1	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	б	0		
emale	160	6	5	0	0	1	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0		
	400	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0		

Y : Yellow DY : Dark yellow 7) LY: Light yellow

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 4-7 Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

																	UR	INE	SED	IME	NT														
																												C	RYS	TALL	IZAT	.101			
	_				RB	C				WBC	3				SEC	;			S	REC			C	ast				PS					со		
Sex 	Dose mg/kg	No.	_	+-	+	++	+++	_	+-	+	++	+++	_	+-	+	++	+++	_	+-	+	++	+++	_	+-	+	_	+-	+	++	+++	_	+-	+	++	+++
	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0	0
Male	160	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	400	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0
	0	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
Female	160	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0
	400	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	4	2	0	0	0	6	0	0	0	0

SEC : Squamous Epithelial Cell - : Negative SREC : Small Round Epithelial Cell +- : Slight PS : Phosphate Salts + : Mild

CO : Calcium Oxalate ++ : Moderate +++ : Severe

Table 4-8 Urinalysis of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

				Water	Urine	Osmolality
Sex	Dose	No.		intake	volume	
	mg/kg			mL/24hrs	mL/24hrs	mOsm/kg
						_,
	0		Maar	F0 :	15.0	1000
	0	6	Mean S.D.	50 14	15.9 8.3	1829 447
			δ.ν.	14	0.0	441
Male	160	6	Mean	39	13.1	1994
Marc	100	· ·	S.D.	11	6.4	561
			0.2.		0,1	301
	400	6	Mean	39	10.6	2187
			S.D.	6	5.2	169
	0	6	Mean	39	10.2	1639
			S.D.	9	4.8	258
Female	160	6	Mean	35	7.9	1978
гешате	100	()	S.D.	35 7	4.6	536
			B.D.	,	4.0	300
	400	6	Mean	40	7.6	1874
		*	S.D.	9	3.4	429

Table 5-1 Hematological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Sex	Dose	No.		RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	Reticu- locyte	Plate- let	PT	APTT	
	mg/kg			X10∜#L	g/dL	%	fL	pg	*		X10∜µL	s	s	
	0	6	Mean S.D.	781 27	15.3 0.4	46 1	59.1 1.2	19.6 0.5	33.0 0.4	2.0 0.4	103.2 7.2	12.9 0.9	16.0 2.7	
	60	6	Mean S.D.	801 31	$\begin{smallmatrix}15.7\\0.7\end{smallmatrix}$	48 1	59.5 1.7	$\substack{19.6\\0.5}$	$\substack{32.9\\0.5}$	2.2 0.3	$103.2 \\ 14.7$	14.0 1.3	18.7 1.1	
ale	160	6	Mean S.D.	818 15	15.7 0.3	48 1	$\begin{array}{c} 57.9 \\ 1.5 \end{array}$	$\begin{smallmatrix}19.1\\0.6\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix} 33.1 \\ 0.3 \end{smallmatrix}$	2.0 0.3	$\begin{array}{c} 95.8 \\ 6.5 \end{array}$	14.8 2.2	17.3 2.4	
	400	6	Mean S.D.	804 52	15.6 0.6	47 2	58.4 1.0	$\substack{19.4\\0.6}$	$\substack{33.1\\0.7}$	$\begin{array}{c} 2.3 \\ 0.4 \end{array}$	99.2 4.0	$\substack{13.9\\1.7}$	16.3 1.4	
	1000	2	Mean S.D.	762 18	15.5 0.0	47 0	61.6 1.6	20.3 0.4	33.0 0.1	$\begin{smallmatrix}2.6\\0.3\end{smallmatrix}$	107.6 20.6	14.9 3.1	16.0 1.3	
	0	6	Mean S.D.	786 34	15.4 0.6	46 2	58.4 2.0	19.5	33.5 0.7	1.9 0.1	101.3 11.4	11.3 0.5	14.4	
	60	6	Mean S.D.	801 36	$\substack{15.9\\0.6}$	47 2	58.6 2.5	19.9 1.0	33.8 0.4	1.9 0.3	93.6 5.4	11.5 0.4	14.3 1.1	
emale	e 160	6	Mean S.D.	789 40	15.3 0.7	46 2	$57.9 \\ 1.6$	19.5 0.8	33.6 0.8	$\begin{smallmatrix}2.1\\0.2\end{smallmatrix}$	99.7 7.7	$\begin{smallmatrix} 11.1 \\ 0.5 \end{smallmatrix}$	13.9 0.9	
	400	6	Mean S.D.	788 39	$\substack{15.9\\0.8}$	47 3	59.8 0.9	$\begin{smallmatrix}20.2\\0.6\end{smallmatrix}$	$\begin{array}{c} 33.7 \\ 0.6 \end{array}$	$\begin{smallmatrix}2.1\\0.3\end{smallmatrix}$	100.9 12.3	$\begin{smallmatrix}11.2\\0.3\end{smallmatrix}$	14.5 1.4	
	1000	2	Mean S.D.	728 40	$\begin{smallmatrix}14.9\\0.6\end{smallmatrix}$	44 1	$\substack{59.9\\1.8}$	20.5 0.4	$\frac{34.2}{0.4}$	$\begin{smallmatrix}2.9\\0.6\end{smallmatrix}$	$\substack{102.9\\8.8}$	$\begin{smallmatrix}12.0\\0.1\end{smallmatrix}$	15.2 0.4	

Table 5-2 Hematological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

0	D	N. a		WBC		Dif	ferentia	l leukocyt	e counts	(%)	
Sex	Dose mg/kg	No.		×10 ² /μL	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others
	0	6	Mean	81	84.3	0.4	14.2	0.6	0.0	0.5	0.0
			S.D.	19	7.1	0.4	7.4	0.7	0.0	0.3	0.0
	60	6	Mean	85	89.6	0.2	9.4	0.6	0.0	0.3	0.0
			S.D.	27	4.0	0.3	3.9	0.6	0.0	0.3	0.0
Male	160	6	Mean	82	84.4	0.2	14.4	0.7	0.0	0.3	0.0
			S.D.	22	5.4	0.3	5.0	0.5	0.0	0.4	0.0
	400	6	Mean	89	86.3	0.5	12.7	0.3	0.0	0.3	0.0
			S.D.	27	5.6	0.6	5.2	0.6	0.0	0.3	0.0
	1000	2	Mean	102	87.3	0.0	12.8	0.0	0.0	0.0	0.0
			S.D.	4	3.2	0.0	3.2	0.0	0.0	0.0	0.0
	0	6	Mean	75	83.3	0.7	14.5	1,1	0.0	0.5	0.0
			S.D.	14	13.2	0.8	12.0	0.6	0.0	0.4	0.0
	60	6	Mean	56	83.9	0.3	14.6	0.8	0.0	0.5	0.0
			S.D.	15	6.1	0.3	6.1	0.4	0.0	0.3	0.0
Female	160	6	Mean	54	80.5	0.2	17.3	1.5	0.0	0.5	0.0
			S.D.	15	7.6	0.3	7.0	1.1	0.0	0.4	0.0
	400	6	Mean	88	89.0	0.3	9.4	0.8	0.0	0.4	0.0
			S.D.	32	4.4	0.4	4.4	0.7	0.0	0.2	0.0
	1000	2	Mean	67	87.0	0.3	11.8	0.3	0.0	0.8	0.0
			S.D.	23	7.8	0.4	7.4	0.4	0.0	0.4	0.0

Table 5-3 Hematological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

ex	Dose	No.		RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	Reticu- locyte	Plate- let	PT	APTT	
	mg/kg			Χ104/μL	g/dL	%	fL	pg	%	%	×10 ⁴ /μL	s	s	
	0	6	Mean S.D.	829 54	15.8 0.6	47 2	56.2 1.9	19.1 0.6	33.9 0.6	$\begin{smallmatrix}1.8\\0.2\end{smallmatrix}$	95.5 13.7	13.3 1.3	16.5 1.1	
ale	160	6	Mean S.D.	823 37	15.8 0.5	47 1	57.1 1.4	$\substack{19.2\\0.5}$	$\begin{smallmatrix} 33.6\\0.3\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}1.8\\0.2\end{smallmatrix}$	86.6 7.6	13.7 1.5	18.1 1.9	
	400	6	Mean S.D.	823 32	15.5 0.7	46 1	55.9 1.3	$\substack{18.9\\0.5}$	$\begin{matrix} 33.8 \\ 0.4 \end{matrix}$	2.0 0.4	$\begin{smallmatrix} 91.4\\ 3.2\end{smallmatrix}$	13.4 1.2	15.4 1.9	
	0	6	Mean S.D.	822 25	15.8 0.4	48	57.9 2.0	19.2 0.5	33.2 0.6	1.9	105.5 4.9	10.7 0.5	12.4 1.5	
emale	160	6	Mean S.D.	807 44	15.3 0.5	46 2	56.7 1.8	$\substack{19.0\\0.5}$	33.5 0.3	2.0 0.2	$\begin{smallmatrix}101.4\\11.2\end{smallmatrix}$	10.8 0.3	14.4 1.2	
	400	6	Mean S.D.	831 39	15.8 0.9	47 2	56.6 2.0	$\substack{19.0\\0.7}$	$\frac{33.5}{0.4}$	1.9 0.4	106.5 11.8	10.6 0.5	13.1 1.8	

Table 5-4 Hematological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

^	D	37 -		WBC		Dif	ferentia	al leukocyt	e counts	(%)		
Sex	Dose mg/kg	No.		×10 ² /μL	Lymph.	Stab	Seg.	Eosino.	Baso.	Mono.	Others	
	0	6	Mean S.D.	95 18	86.9 4.3	0.4 0.4	$\substack{11.3\\4.2}$	1.3 0.7	0.0	0.2 0.3	0.0	
Male	160	6	Mean S.D.	84 19	88.0 5.1	$\begin{smallmatrix}0.3\\0.3\end{smallmatrix}$	10.8 5.3	0.8 0.7	0.0	0.2 0.3	0.0	
	400	6	Mean S.D.	82 18	87.8 2.2	$\begin{smallmatrix}0.1\\0.2\end{smallmatrix}$	10.7 2.6	$\begin{smallmatrix}1.1\\0.6\end{smallmatrix}$	0.0	0.3 0.3	0.0	
	0	6	Mean S.D.	64 15	83.7 6.9	0.6 0.5	14.5 7.0	0.9 0.7	0.0	0.3 0.3	0.0	
Femal	e 160	6	Mean S.D.	74 24	$\substack{88.5\\2.3}$	$\begin{smallmatrix}0.2\\0.3\end{smallmatrix}$	$\frac{10.9}{2.3}$	0.3 0.4	0.0	$\begin{smallmatrix}0.2\\0.3\end{smallmatrix}$	0.0	
	400	6	Mean S.D.	76 32	84.4 5.6	$\begin{smallmatrix}0.3\\0.3\end{smallmatrix}$	$14.4 \\ 5.4$	0.7 0.6	0.0 0.0	$\begin{smallmatrix}0.3\\0.3\end{smallmatrix}$	0.0	

Table 6-1 Blood chemical findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Sex	Dose	No.		GOT	GPT	LDH	AlP	γ —GTP	TP	Albumin	A/G	T.cho	TG	PL	
ex	mg/kg	NO.		IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	g/dL	g/dL		mg/dL	mg/dL	mg/dL	
	0	6	Mean S.D.	52 6	27 3	28 8	383 70	2.0 0.2	6.1 0.3	3.3 0.1	1.19 0.09	57 9	42 16	92 12	
	60	6	Mean S.D.	44 9	28 6	35 6	423 129	$\begin{smallmatrix}1.9\\0.3\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}6.2\\0.2\end{smallmatrix}$	3.4 0.1	$\begin{smallmatrix}1.22\\0.06\end{smallmatrix}$	55 5	57 5	98 5	
Male	160	6	Mean S.D.	43 10	27 4	37 7	387 55	$\begin{smallmatrix}2.1\\0.4\end{smallmatrix}$	6.0 0.3	3.4 0.1	1.32* 0.09	51 9	61 29	90 12	
	400	6	Mean S.D.	51 7	30 2	32 3	435 96	2.1 0.1	6.3 0.2	3.4* 0.1	$\begin{smallmatrix}1.21\\0.06\end{smallmatrix}$	55 3	52 13	95 6	
	1000	2	Mean S.D.	37 11	33 9	42 8	355 107	2.1 0.0	6.3 0.1	3.5 0.0	1.26 0.06	83 8	79 34	134 20	
	0	6	Mean S.D.	49 9	22 3	27 3	210 45	2.5 0.4	6.5 0.4	3.6 0.1	1.23 0.11	77 10	32 7	130 10	
	60	6	Mean S.D.	55 12	30 13	26 3	243 40	2.4 0.2	$\begin{smallmatrix}6.4\\0.2\end{smallmatrix}$	3.6 0.1	1.29 0.09	72 13	29 5	120 26	
emale	160	6	Mean S.D.	60 22	29 1 2	30 11	227 45	$\begin{smallmatrix}2.2\\0.2\end{smallmatrix}$	$\begin{smallmatrix}6.6\\0.2\end{smallmatrix}$	3.6 0.1	1.19 0.08	60 * 7	27 2	105 11	
	400	6	Mean S.D.	54 11	25 3	30 4	241 51	2.4 0.3	$\substack{6.4\\0.1}$	3.6 0.1	$\substack{1.25\\0.04}$	68 14	26 9	115 19	
	1000	2	Mean S.D.	82 28	36 3	34 4	194 59	2.2	$6.3 \\ 0.1$	3.6 0.0	1.36 0.04	60 28	20 7	108 36	

Table 6-2 Blood chemical findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Sex	Dose mg/kg	No.		T.bili- rubin mg/dL	Glucose mg/dL	BUN mg/dL	Crea- tinine mg/dL	Na mmol/L	K mmol/L	C1 mmol/L	Ca mg/dL	P mg/dL	
	0	6	Mean S.D.	0.11 0.01	128 13	14 2	0.54 0.04	141	4.6 0.2	110 2	$\begin{smallmatrix}9.3\\0.2\end{smallmatrix}$	9.0 0.3	
	60	6	Mean S.D.	0.12 0.01	130 14	14 2	0.56 0.05	142 1	4.7 0.4	109 1	9.5 0.3	9.4 0.7	
Male	160	6	Mean S.D.	0.11 0.01	124 11	13 1	0.57 0.05	142 1	$\begin{array}{c} 4.8 \\ 0.2 \end{array}$	110 1	9.4 0.4	8.7 0.5	
	400	6	Mean S.D.	0.12 0.01	137 12	14 2	$\begin{array}{c} 0.58 \\ 0.03 \end{array}$	142 1	4.6 0.5	110 2	9.5 0.4	8.9 0.5	
	1000	2	Mean S.D.	0.14 0.01	143 24	15 0	0.62 0.10	143 2	4.6 0.9	110 0	9.6 0.0	10.1 0.4	
	0	6	Mean S.D.	0.10 0.02	126 13	16 3	0.59 0.05	141	4.8 0.2	112 2	9.3 0.2	8.0 1.4	
	60	6	Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}0.12\\0.01\end{smallmatrix}$	115 10	14 1	0.58 0.02	142 1	5.3* 0.3	113 1	$\begin{smallmatrix} 9.1\\ 0.2\end{smallmatrix}$	7.9 0.9	
Female	160	6	Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}0.11\\0.01\end{smallmatrix}$	112 13	15 1	0.60 0.04	142 1	5.1 0.4	113 1	$\begin{smallmatrix}9.4\\0.1\end{smallmatrix}$	$8.0 \\ 1.2$	
	400	6	Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}0.12\\0.01\end{smallmatrix}$	125 18	15 3	0.58 0.04	141 1	$\begin{smallmatrix}5.2\\0.3\end{smallmatrix}$	112 2	9.2 0.2	7.6 1.0	
	1000	2	Mean S.D.	$0.15 \\ 0.02$	116 4	16 1	0.60 0.01	142 1	5.3 0.1	112 3	8.8 0.3	$\substack{8.6\\1.1}$	

Table 6-3

Blood chemical findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose	No.		GOT	GPT	LDH	AlP	γ —GTP	TP	Albumin	A/G	T.cho	TG	PL	
	mg/kg	NO.		IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	IU/L	g/dL	g/dL		mg/dL	mg/dL	mg/dL	
	0	6	Mean	47	27 6	41 8	379	2.3	6.5	3.5	1.16	57	63	100	
			S.D.	15	6	8	99	0.9	0.3	0.1	0.07	10	20	14	
Male	160	6	Mean	41	29	41	312	1.9	6.4	3.4	1.14	56	81	101	
			S.D.	11	29 5	4	67	0.3	0.1	0.1	0.07	6	30	10	
	400	6	Mean	44	31 2	43 7	314	1,9	6.3	3.4	1.17	60	70	99 14	
			S.D.	6	2	7	91	0.2	0.2	0.2	0.04	9	17	14	
	0	6	Mean	53	23	25	180	2.0	6.8	3.7	1.19	74	29	124	
	v	Ů	S.D.	53 7	23 3	6	32	0.3	0.3	0.1	0.08	14	7	17	
emale	160	6	Mean	60	26	23	152	2.0	6.8	3.6	1.16	83	30	140	
			S.D.	19	26 8	4	27	0.4	0.2	0.1	0.10	14	6	11	
	400	6	Mean	69	40	28	167	2.2	6.9	3.6	1.12	83	34	137	
			S.D.	35	29	13	49	0.3	0.3	0.1	0.07	17	11	28	

Table 6-4 Blood chemical findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Dose	No.		T.bili- rubin	Glucose	BUN	Crea- tinine	Na	К	C1	Ca	P	
	mg/kg			mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmo1/L	mmo1/L	mmol/L	mg/dL	mg/dL	
	0	6	Mean S.D.	0.13 0.02	142 13	14 2	0.57 0.05	142 1	4.7 0.2	109 2	9.4 0.4	7.7 0.7	
fale	160	6	Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}0.12\\0.02\end{smallmatrix}$	140 11	14 1	$\begin{smallmatrix}0.61\\0.06\end{smallmatrix}$	142 1	4.7 0.3	110 2	$\begin{smallmatrix}9.3\\0.3\end{smallmatrix}$	7.6 0.4	
	400	6	Mean S.D.	0.11	139 15	15 2	0.59 0.02	142 2	4.7 0.4	110 2	9.5 0.3	8.2 0.6	
	0	6	Mean S.D.	0.10 0.02	116 15	18 3	0.61 0.03	141 1	4.8 0.2	113 1	9.3 0.3	8.1 0.8	
emale	160	6	Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}0.09\\0.01\end{smallmatrix}$	118 10	18 1	$\begin{smallmatrix}0.62\\0.06\end{smallmatrix}$	141 1	4.8 0.2	113 1	$9.5 \\ 0.3$	7.9 0.9	
	400	6	Mean S.D.	$\substack{0.09\\0.01}$	116 15	18 3	0.62 0.10	140 1	4.7 0.1	113 1	$\begin{smallmatrix}9.3\\0.2\end{smallmatrix}$	7.6 0.9	

Table 7-1 Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

	Dose mg/kg		Body weight	Brain g(g/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Lung g(g/100g B\)	Liver g(g/100g BW)	Spleen g(g/100g BW)	
	0	No.	6	6	6		6	6	6	6	
		Mean	348	2.06	21.1	500	1.23	1.28	10.12	0.70	
		S.D.	20	0.13	1.6	79	0.12	0.10	0.97	0.13	
	60	No.	6	6	6		6	6	6	6	
		Mean	349	2.03	18.6	615	1.15	1.35	10.50	0.70	
		S.D.	24	0.08	2.0	141	0.08	0.13	1.15	0.11	
solute	160	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	338	2.00	19.0	435	1.17	1.25	9.75	0.65	
		S.D.	27	0.11	3.8	81	0.08	0.10	1.00	0.12	
	400	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean	351	2.03	19.0	522	1.15	1.29	10.82	0.65	
		S.D.	22	0.04	2.7	122	0.09	0.12	1.04	0.10	
	1000	No.	2	2	2	2	2	2	2	2	
		Mean	367	1.95	22.3	539	1.20	1.33	13.20	0.75	
		S.D.	37	0.08	1.8	19	0.11	0.12	0.11	0.09	
	0	No.		6	6	6	6	6	6	6	-
	V	Mean		0.59	6.1	144	0.35	0.37	2.91	0.20	
		S.D.		0.04	0.7	23	0.02	0.02	0.12	0.04	
	co	V-		0			a	4			
	60	No. Mean		6 0.58	6 5.3	6 176	6 0.33	6 0.38	6 3.00	6 0.20	
		S.D.		0.04	0.7	38	0.01	0.02	0.16	0.03	
				_							
lative	160	No. Mean		6	6	6	6	6	6	6	
		s.D.		0.59 0.05	5.6 0.9	129 17	0.35 0.02	0.37 0.02	2.88 0.12	$0.19 \\ 0.03$	
		3.0.		0.03	0.5	1.1	0.02	0.02	0.12	0.03	
	400	No.		6	6	6	6	6	6	6	
		Mean		0.58	5.5	148	0.33*	0.37	3.08	0.18	
		S.D.		0.03	1.1	25	0.03	0.02	0.17	0.03	
	1000	No.		2	2	2	2	2	2	2	
		Mean		0.53	6.1	147	0.33	0.37	3.62	0.21	
		S.D.		0.03	1.1	10	0.00	0.06	0.39	0.05	

Table 7-2 Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

	Dose mg/kg	No.		Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	Testis (R+L) g(g/100g B\)
	0	No.			
		Mean S.D.	6 2.77 0.19	6 57 5	6 3.00 0.27
	60	No. Mean S.D.	6 2.82 0.24	$\begin{smallmatrix}6\\61\\2\end{smallmatrix}$	6 3.14 0.23
Absolute	160	No. Mean S.D.	$\begin{array}{c} 6 \\ 2.66 \\ 0.31 \end{array}$	6 59 9	6 3.15 0.24
	400	No. Mean S.D.	6 2.71 0.17	6 57 7	6 3.19 0.32
	1000	No. Mean S.D.	3.02 0.18	2 55 8	3.22 0.20
	0	No. Mean S.D.	6 0.80 0.05	6 16 1	6 0.87 0.08
	60	No. Mean S.D.	6 0.81 0.06	6 18 2	6 0.90 0.07
Relative	160	No. Mean S.D.	6 0.79 0.05	6 18 3	6 0.94 0.09
	400	No. Mean S.D.	6 0.77 0.05	6 16 2	6 0.91 0.06

Table 7-3 Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

	Dose		Body weight	Brain	Thyroid (R+L)	Thymus	Heart	Lung	Liver	Spleen	
	mg/kg		g	g(g/100g BW)	mg(mg/100g BW)	mg(mg/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	g(g/100g BW)	
	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean S.D.	216 15	1.90 0.04	16.6 2.8	444 63	0.78 0.05	1.03 0.08	$6.29 \\ 0.49$	0.45 0.11	
	60	No. Mean	6 203	6 1.84	6 16.1	6 383	$\begin{smallmatrix}6\\0.75\end{smallmatrix}$	6 1.02	6 5.94	6 0.41	
		S.D.	13	0.10	2.8	75	0.75	0.09	0.48	0.41	
bsolute	160	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean S.D.	206 19	1.89 0.09	16.2 1.9	427 110	$\begin{array}{c} 0.73 \\ 0.06 \end{array}$	$\substack{1.03\\0.12}$	5.93 0.60	0.43 0.03	
	400	No.	6	6	6	6	6	6	6	6	
		Mean S.D.	208 17	1.85 0.07	15.9 2.0	496 99	$\begin{array}{c} 0.76 \\ 0.06 \end{array}$	$\substack{1.04\\0.11}$	6.37 0.68	$0.52 \\ 0.09$	
	1000	No.	2	2	2	2	2	2	2	2	
		Mean S.D.	213 6	1.92 0.09	17.2 0.4	368 67	0.79 0.07	1.02 0.03	6.82 0.37	0.53 0.03	
	0	No.		6	6	6	6	6	6 2.92	6	
		Mean S.D.		0.89 0.07	7.8 1.6	207 31	$\substack{0.36\\0.01}$	$\begin{smallmatrix}0.48\\0.02\end{smallmatrix}$	0.06	$\begin{array}{c} \textbf{0.21} \\ \textbf{0.04} \end{array}$	
	60	No.		6	6	6	6	6	6	6	
		Mean S.D.		$\substack{0.91\\0.06}$	$7.9 \\ 1.2$	189 38	0.37 0.01	$\substack{0.50\\0.02}$	2.92 0.07	0.20 0.02	
elative	160	No.		6	6	6	6	6	6	6	
		Mean S.D.		$\begin{array}{c} 0.92 \\ 0.05 \end{array}$	$7.9 \\ 1.2$	206 42	0.36 0.04	0.50 0.02	2.88 0.11	$\substack{0.21\\0.03}$	
	400	No.		6	6	6	6	6	6	6	
		Mean S.D.		0.89 0.06	7.7 0.8	243 69	$\begin{smallmatrix}0.37\\0.02\end{smallmatrix}$	0.50 0.02	3.06* 0.12	0.25 0.03	
	1000	No.		2	2	2	2	2	2	2	
		Mean S.D.		0.90 0.01	8.1 0.0	172 27	0.37 0.03	0.48 0.03	3.20 0.09	0.25 0.01	

Table 7-4 Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

	Dose mg/kg		Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	0vary (R+L) mg(mg/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	6 1.71 0.15	6 64 6	6 76.1 14.2
	60	No. Mean S.D.	6 1.69 0.08	6 59 8	6 79.2 15.0
Absolute	160	No. Mean S.D.	6 1.66 0.20	6 68 5	6 75.7 17.0
	400	No. Mean S.D.	6 1.73 0.12	6 69 7	6 92.4 11.3
	1000	No. Mean S.D.	$\begin{smallmatrix}2\\1.77\\0.08\end{smallmatrix}$	2 77 11	82.7 12.1
	0	No. Mean S.D.	6 0.79 0.06	6 30 3	6 35.2 5.6
	60	No. Mean S.D.	6 0.84 0.04	6 29 3	6 38.8 5.3
Relative	160	No. Mean S.D.	6 0.80 0.05	6 33 2	6 36.5 5.7
	400	No. Mean S.D.	6 0.84 0.07	6 33* 2	6 44.4• 4.0
	1000	No. Mean S.D.	0.83 0.01	2 36 4	38.8 4.6

Table 7-5 Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Body weight	Brain g(g/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Lung g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)	Spleen g(g/100g BW)
	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
	U	Mean	423	2.10	21.6	530	1.32	1.45	12.12	0.73
		S.D.	32	0.07	3.1	152	0.16	0.09	1.00	0.09
bsolute	160	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	400	2.05	21.0	419	1.25	1.34	10.91	0.66
		S.D.	28	0.06	2.4	72	0.09	0.11	1.15	0.06
	400	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	408	2.07	22.9	401	1.27	1.39	11.79	0.73
		S.D.	18	0.05	4.2	86	0.05	0.06	0.59	0.11
	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.50	5.1	125	0.31	0.34	2.87	0.17
		S.D.		0.05	0.8	32	0.03	0.01	0.15	0.01
elative	1.60	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.51	5.2	105	0.31	0.34	2.72	0.17
		S.D.		0.03	0.3	16	0.03	0.01	0.17	0.02
	400	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.51	5.6	99	0.31	0.34	2.89	0.18
		S.D.		0.03	1.2	23	0.02	0.01	0.13	0.03

Table 7-6 Absolute and relative organ weights of male rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	Testis (R+L) g(g/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	6 3.09 0.23	6 55 9	6 3.12 0.19
Absolute	160	No. Mean S.D.	6 2.87 0.30	6 60 6	6 3.12 0.26
	400	No. Mean S.D.	3.02 0.20	6 59 5	6 2.84 0.57
	0	No. Mean S.D.	6 0.73 0.03	6 13 3	6 0.74 0.03
Relative	160	No. Mean S.D.	6 0.72 0.05	6 15 2	6 0.78 0.08
	400	No. Mean S.D.	6 0.74 0.04	6 15 2	6 0.70 0.15

Table 7-7 Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Body weight	Brain g(g/100g BW)	Thyroid (R+L) mg(mg/100g BW)	Thymus mg(mg/100g BW)	Heart g(g/100g BW)	Lung g(g/100g BW)	Liver g(g/100g BW)	Spleen g(g/100g BW)
				6(8) 100g Bil)	ING (MB) 1008 D#)	me (me) tone and	g(g/100g D#)	B(B) TOUG DII)	g(g/100g D#/	g(g/100g D#/
	0	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	235	1.91	14.8	393	0.83	1.07	6.40	0.50
		S.D.	9	0.02	3.0	74	0.08	0.04	0.54	0.07
solute	160	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	226	1.89	17.7	348	0.76	1.01	6.22	0.44
		S.D.	18	0.06	5.0	70	0.06	0.05	0.25	0.05
	400	No.	6	6	6	6	6	6	6	6
		Mean	235	1.92	16.1	415	0.83	1.07	6.60	0.48
		S.D.	16	0.04	2.9	111	0.08	0.10	0.64	0.09
	0	No.		6	6	6	6	6	6	6
	•	Mean		0.82	6.3	167	0.35	0.46	2.72	0.22
		S.D.		0.04	1.2	27	0.03	0.02	0.17	0.03
lative	160	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.84	7.9	153	0.34	0.45	2.76	0.20
		S.D.		0.05	2.6	23	0.02	0.01	0.19	0.02
	400	No.		6	6	6	6	6	6	6
		Mean		0.82	7.0	176	0.35	0.45	2.81	0.20
		S.D.		0.05	1.6	40	0.02	0.02	0.09	0.03

Table 7-8 Absolute and relative organ weights of female rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose mg/kg		Kidney (R+L) g(g/100g BW)	Adrenal (R+L) mg(mg/100g BW)	Ovary (R+L) mg(mg/100g BW)
	0	No. Mean S.D.	6 1.81 0.12	6 60 5	82.4 8.1
Absolute	160	No. Mean S.D.	6 1.77 0.17	6 62 3	6 75.0 13.0
	400	No. Mean S.D.	1.78 0.11	6 68* 7	85.1 16.7
	0	No. Mean S.D.	6 0.77 0.05	6 26 3	6 35.1 3.5
Relative	160	No. Mean S.D.	6 0.78 0.06	6 28 2	6 33.3 5.9
	400	No. Mean S.D.	6 0.76 0.05	6 29 3	6 36.2 5.9

Table 8-1 Gross pathological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days
Male

	Dose (mg/kg)	0	60	160	400	10	00
Organs Findings	No. of animals	Alive 6	Alive 6	Alive 6	Alive 6	Alive 2	Dead 10
Stomach Spot, dark red, gland	dular stomach	0	1	0	0	0	0
Epididymis Area, discolored, whi	te (unilateral)	0	0	0	1	0	0

Table 8-2 Gross pathological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium sait for 28 days Female

	Dose (mg/kg)	0	60	160	400	10	00
Organs Findings	No. of animals	Alive 6	Alive 6	Alive 6	Alive 6	Alive 2	Dead 10
Stomach Spot, dark red, glan	dular stomach	0	0	0	1	0	0

Table 8-3 Gross pathological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Sex	Organs Findings	Dose (mg/kg) No. of animals	0 6	160 6	400 6	
Male	Kidney Concave, focal (unilateral)		0	0	1	
emale	Stomach Spot, dark red, glandular stomach		0	1	1	

Table 9-1 Histopathological findings of male rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)			0 Alive					A T	60 Live					160 Aliv						400 Alive						Alive			1000	1	r	and.			
	No. of animals			111ve					n:	6					VIIA	e				,	71146 6	;					2	е				U	ead 10			
-findings	Grade	0 1	2	3 4	P Obs	TE	0	1	2 3	4	P Obs	TE	0	1 2	3 4	P Ot	s T	E	0 1	2 ;	3 4	P 0b	s Th	į	0 1	2	3 4	P Ob	s T	E	0 1	2 3	4	P Obs	TE	
Stomach -erosion, glandular stomach		6				6	5	1			1	6	6					6	6				6	}	2					2 1	0				10	
Kidney -eosinophilic body, tubular ep -basophilic tubule	ithelium	3 3 6			3	6 6	4 6	1	1		2	•	5 5	*		1		6 6	3 5 1	3		6· 1	• 6	3	2	2		2		2 1 2 1					10 10	

^{0:} No remarkable changes 1: Slight 2: Mild 3: Moderate 4: Severe

Obs: Observed number TE: Total Examined

P: Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Significantly different from control group (*:p<0.05)

Table 9-2 Histopathological findings of male rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)		0 Alive	,			400 Aliv					Alive	1	1000		De	ead		
-findings	No. of animals Grade	0 1	2 3 4	P Obs	TE	0 1	6		TE	0 :		2 3 4 P Ob	s Ti	; (0 1		10	P Obs	TE
Liver																			
-hematopoiesis, extramedullary Spleen		6			6	6			6	2			2	: :	27	1		8•	10
-bematopoiesis, extrameduliary Prostate		6		6	6	5	1	6	6	1	2	2	2	?	1	1 8		10••	10
-cell infiltration, Interstitium Femur (Bone marrow)		3 2	1	3	6	3 2	ì	3	6	1	1	1	2	10)				10
-fibrosis, bone marrow, focal		6			6	6			6	2			2	! {	1			1	10

^{0 :} No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe P : Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs: Observed number

TE: Total Examined

Significantly different from control group (*:p<0.05, **:p<0.01)

Table 9-3 Histopathological findings of female rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)	0	60	160	400	1000	
-findings	No. of animals Grade	Alive 6 0 1 2 3 4 P Obs	Alive 6 TE 0 1 2 3 4 P Obs TE	Alive 6 3 0 1 2 3 4 P Obs TE	Alive 6 0 1 2 3 4 P Obs TE	Alive 2 0 1 2 3 4 P Obs TE 0	Dead 10 1 2 3 4 P Obs TE
Stomach -erosion, glandular stomach		6	6 6	3 6 6	5 1 1 6	2 2 10	10

^{0 :} No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P: Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE: Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-4 Histopathological findings of female rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Organs	Dose (mg/kg)		Á	0 live				400 Alive				Alí	ve	10	00		Dead		
-findings	No. of animals Grade	0		6	s TE	: 0		6		TE	0	1 2 3	2	TE	0	1 2	10	P Obs	TE
Liver																			
-hematopoiesis, extramedullary		6			6	- 6				6	2			2	6	4		4	10
Spleen																			
-hematopoiesis, extramedullary			6	•	6		6		6	6	:	2	2	2		4 6		10	10
Kidney																			
-basophilic tubule		6			6	- 5	1		1	6	2			2	10				10
-cell infiltration, interstitium		6			6	5	1		1	6	2			2	10				10
-fibrosis, focal		6			6	5	1		1	6	2			2	10				10
-cyst		6			6	5			1 1	6	2			2	10				10

^{0:} No remarkable changes 1: Slight 2: Mild 3: Moderate 4: Severe

P: Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE: Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-5 Histopathological findings of rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days

Sex	Dose mg/kg	Animal number	0rgans	Gross pathological findings	Histopathological findings
Male	400	4004	Epididymis	-Area, discolored, white (unilateral)	-Granuloma, spermatic (+)

^{+ :} Mild

Table 9-6 Histopathological findings of male rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

Organs	Dose (mg/kg) No. of animals		0 6					160 6					40	0 6		
-findings	Grade	0 1 2	3 4	P Obs	TE	0	2	3 4	P Obs	TE	0	1 2	2 3	4 P 0bs	TE	
Kidney																
 -eosinophilic body, tubula -basophilic tubule 	ar epithelium	2 4		4	6	•	3		2	6	3	2 i		3	6	
-cell infiltration, inters	stitium	6			6	- 7				6	5 5	1		1	6	
-fibrosis, focal		6			6	6				6	5	1	•	ī	ě	

^{0 :} No remarkable changes 1 : Slight 2 : Mild 3 : Moderate 4 : Severe

P: Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)

Obs : Observed number

TE: Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.

Table 9-7 Histopathological findings of female rats administered orally with Phenol, p-nitro, sodium salt for 28 days and followed by a recovery period for 14 days

	Dose (mg/kg) No. of animals Grade	0 6 0 1 2 3 4 1	Obs TE 0 1 2 3	160 6 4 P Obs TE	0 1 2	400 6 3 4 P Obs T	E	
Stomach -erosion, glandular stomach		6	6 5 1	1 6	5 1	1	6	

^{0:} No remarkable changes 1: Slight 2: Mild 3: Moderate 4: Severe

P: Present (used when grading of severity was not done, such as case in the neoplastic lesion)
Obs: Observed number

TE: Total Examined

No significant difference in any treated groups from control group.