

---

2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールのラットを用いる  
経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験

---

## 最終報告書

作成日 2004年10月22日

株式会社日本バイオリサーチセンター  
羽島研究所

## 目次

要約	.....	15
緒言	.....	17
方法	.....	17
1. 被験物質及び媒体	.....	17
2. 投与検体及び濃度確認	.....	17
3. 使用動物及び飼育条件	.....	18
4. 投与経路、投与方法、群構成、投与量及び投与期間	.....	19
5. 観察及び検査項目	.....	20
6. 統計解析	.....	29
結果	.....	30
I. 反復投与毒性	.....	30
1. 一般状態	.....	30
2. 体重	.....	31
3. 摂餌量	.....	32
4. 行動機能(FOB)	.....	32
5. 感覚反応	.....	33
6. 握力	.....	33
7. 自発運動量	.....	33
8. 尿検査	.....	33
9. 血液学検査	.....	34
10. 血液生化学検査	.....	35
11. 剖検	.....	35
12. 器官重量	.....	36
13. 精子検査	.....	37
14. 病理組織学検査	.....	37
II. 生殖発生毒性	.....	39
1. 親動物の生殖発生	.....	39
2. 児動物(F <sub>1</sub> )	.....	39
考察	.....	40
文献	.....	42

Table, Fig.の目次

Table 1-1 General signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	47~ 51
Table 2-1 General signs of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	52~ 53
Table 3-1 General signs of dams during pregnancy in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	54~ 55
Table 4 General signs of dams during lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	56
Table 5-1 General signs of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	57~ 61
Table 6 Body weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	62
Table 7 Body weights of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	63
Table 8 Body weights of dams during pregnancy in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	64
Table 9 Body weights of dams during lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	65
Table 10 Body weights of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	66
Table 11 Food consumption of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	67
Table 12 Food consumption of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	68

Table 13	Food consumption of dams during pregnancy in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	69
Table 14	Food consumption of dams during lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	70
Table 15	Food consumption of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	71
Table 16- 1~16-6	FOB of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	72~ 77
Table 17- 1~17-6	FOB of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	78~ 83
Table 18- 1~18-6	FOB of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	84~ 89
Table 19	Sensory response of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	90
Table 20	Sensory response of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	91
Table 21	Grip strength of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	92
Table 22	Grip strength of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	93
Table 23	Spontaneous motor activity of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	94
Table 24	Spontaneous motor activity of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	.....	95

Table 25- 1~25-2	Urinary examination of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 96~ 97
Table 26- 1~26-2	Urinary examination of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 98~ 99
Table 27- 1~27-2	Urinary examination of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 100~101
Table 28- 1~28-2	Urinary examination of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 102~103
Table 29	Hematological examination of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 104
Table 30	Hematological examination of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 105
Table 31	Hematological examination of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 106
Table 32	Hematological examination of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 107
Table 33	Blood chemical examination of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 108
Table 34	Blood chemical examination of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 109
Table 35	Blood chemical examination of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 110
Table 36	Blood chemical examination of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 111

Table 37	Necropsy findings of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 112
Table 38	Necropsy findings of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 113
Table 39	Necropsy findings of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 114
Table 40	Necropsy findings of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 115
Table 41	Organ weights of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 116
Table 42	Organ weights of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 117
Table 43	Organ weights of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 118
Table 44	Organ weights of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 119
Table 45	Sperm analysis of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 120
Table 46	Sperm analysis of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 121
Table 47	Histopathological findings of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 122
Table 48	Histopathological findings of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 123

Table 49	Histopathological findings of dead female rats and moribund female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 124
Table 50	Histopathological findings of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 125
Table 51	Reproductive functions of male rats and female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 126
Table 52	Observation of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 127
Table 53	Delivery conditions and nursing conditions of dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 128
Table 54	General signs of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 129
Table 55	Body weights of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 130
Table 56	Necropsy findings of dead pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 131
Table 57	Necropsy findings of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 132
Fig.1	Chemical structure of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-	..... 133
Fig.2	Body weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 134
Fig.3	Body weights of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 135
Fig.4	Body weights of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 136
Fig.5	Food consumption of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 137

Fig.6	Food consumption of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 138
Fig.7	Food consumption of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration	..... 139

## 要約

2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する毒性影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎及び分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、7.0 mg/kg を高用量とし、以下 2.33 及び 0.78 mg/kg とした。対照として媒体(Corn oil)投与群を設けた。各群の使用動物数は試験群を雌雄各 12 例とし、雄では各群ともそのうち半数を回復群とし、雌では別に各群に 6 例の回復群を設けた。

### I. 反復投与毒性

#### 1. 一般状態及び死亡状況

死亡例は 7.0 mg/kg 群で妊娠末期に雌 8 例、瀕死例は同群で妊娠末期に 2 例に認められた。

一般状態観察では、7.0 mg/kg 群の死亡例及び瀕死例で自発運動の低下、腹臥位、体温下降、呼吸困難、チアノーゼあるいは緩徐呼吸がみられた。なお、各投与群の雌雄で投与直後に一過性の流涎がみられたが、毒性症状とはみなさなかった。

#### 2. 体重及び摂餌量

体重は、7.0 mg/kg 群の雄で投与期間に低値、雌で交配開始前及び交配期間に低値がみられた。回復期間には、雌雄の体重推移に異常はみられなかった。

摂餌量は、2.33 及び 7.0 mg/kg 群の雄で投与期間に一過性の低値がみられた。

#### 3. 行動機能(FOB)観察、感覚反応検査、握力測定及び自発運動量測定

行動機能(FOB)、感覚反応、握力及び自発運動量では、投与に起因する変化はみられなかった。

#### 4. 尿検査、血液学検査及び血液生化学検査

尿検査では、雌雄とも投与に起因する変化は認められなかった。

血液学検査において、投与期間終了時に雄では 0.78 mg/kg 以上の投与群で赤血球数及びヘマトクリット値の高値あるいは高値傾向、2.33 mg/kg 以上の投与群でヘモグロビン量の高値、7.0 mg/kg 群で平均赤血球容積の高値がみられた。雌では、0.78 及び 2.33 mg/kg 群で赤血球数の高値あるいは高値傾向がみられた。回復期間終了時には、雌雄とも投与に起因する変化は認められなかった。

血液生化学検査では、7.0 mg/kg 群の雄でクレアチニンの高値及び ALP の高値傾向がみられたが、雌では投与に起因する変化は認められなかった。

#### 5. 剖検所見及び器官重量

剖検及び器官重量において、雌雄とも投与に起因する変化は認められなかった。

## 6. 精子検査

投与期間終了時には、7.0 mg/kg 群で運動精子率、前進精子率、最短距離移動速度、生存精子率及び生き残り精子率の低値あるいは低値傾向、精子頭部の振幅、総奇形精子率、尾部の奇形精子率及び頭部の奇形精子率の高値あるいは高値傾向がみられた。回復期間終了時には、7.0 mg/kg 群で生存精子率及び生き残り精子率の低値、総奇形精子率及び頭部の奇形精子率の高値がみられた。

## 7. 病理組織学検査

死亡例では、肺及び肝臓に軽度あるいは中等度の鬱血が 8 例全例にみられた。雄では投与期間終了時に投与に起因する変化は認められなかった。雌では、投与期間終了時に脾臓の髓外造血が対照群でごく軽度～中等度が 6 例全例、0.78 mg/kg 群でごく軽度～中等度が 6 例全例、2.33 mg/kg 群でごく軽度あるいは軽度が 6 例全例、7.0 mg/kg 群でごく軽度が 1 例にみられ、2.33 及び 7.0 mg/kg 群で髓外造血の低下あるいは低下傾向が認められた。回復期間終了時には、雌で脾臓の髓外造血が対照群でごく軽度が 4 例、0.78 mg/kg 群でごく軽度が 2 例、2.33 mg/kg 群でごく軽度あるいは軽度が 3 例、7.0 mg/kg 群でごく軽度が 1 例にみられ、7.0 mg/kg 群で髓外造血の低下傾向が認められた。

## II. 生殖発生毒性

### 1. 親動物の生殖発生に及ぼす影響

発情回数、交尾率及び交尾所要日数には、投与に起因する変化はみられなかった。

受胎雌数、受胎率、妊娠期間、分娩状態、哺育状態、妊娠黄体数、着床数及び着床率には、投与に起因する変化はみられなかった。出産率は、7.0 mg/kg 群で低値がみられた。

### 2. 児動物( $F_1$ )に及ぼす影響

総出産児数、死産児数、哺育 0 日の新生児数、哺育 0 日の性比、分娩率、児の産出率及び出生率には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。

一般状態、哺育 4 日の生存児数、哺育 4 日の性比及び哺育 4 日の生存率には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。

外観、体重及び剖検において、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。

以上のように、2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールの無影響量は、雄では 0.78 mg/kg 投与で赤血球数及びヘマトクリット値の高値が認められたことから 0.78 mg/kg/day 未満、雌では 0.78 mg/kg 投与で赤血球数の高値が認められたことから、0.78 mg/kg/day 未満と考えられる。

また、生殖発生毒性学的な無影響量は、雄では 7.0 mg/kg 投与で精子の活動性及び精子の形態に影響が認められたことから 2.33 mg/kg/day、雌では 7.0 mg/kg 投与で出産率の低値がみられたことから 2.33 mg/kg/day と考えられる。児動物への無影響量は、2.33 mg/kg 投与で生存性及び体重などに影響が認められなかったことから 2.33 mg/kg/day と考えられる。

## 緒言

*2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール*が経口的に継続して人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Combined Repeat Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (422)に基づいて *2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール*を雄ラットに 1 日 1 回、42 日間及び雌ラットに 1 日 1 回、44~48 日間反復経口投与し、毒性学的影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎及び分娩などの雌雄動物の生殖行動に及ぼす影響を検討した。一部の動物には 14 日間の回復期間を設け、回復性についても検討した。

## 方法

### 1. 被験物質及び媒体

被験物質の *2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール*(CAS No.88-85-7)は、Fig.1 に示す化学構造を有し、分子量:240.22、融点:41.0 °C、黄色の塊、溶融時は黄色透明液体であり、水に不溶である。当試験には、から購入したものを用いた[製造元:

, Lot No , 純度:96.0%]. 入手後は、試験施設の被験物質保管室の保管庫に冷蔵(設定:4 °C、実測値:1.4~7.8 °C)条件下で保管した。なお、当試験の投与期間終了後に当試験施設での保存分(約 100 mg)を除いた残余被験物質をに送付し、分析した結果、純度は 96.3% であり、使用期間中の安定性が確認された。

媒体として、トウモロコシ油[以下、Corn oil, Lot No.V3T0416, ナカライトスク株式会社、使用期限:2008 年 12 月 17 日、保管条件:室温(設定:23°C、実測値:20.9~26.0 °C), 保管場所:被験物質保管室の保管庫]を用いた。

### 2. 投与検体及び濃度確認

*2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール*は、Corn oil で 1.4 mg/mL となるように、溶解して調製した。0.466 及び 0.156 mg/mL 濃度液は、1.4 mg/mL 濃度液を Corn oil で段階希釈して調製した。なお、被験物質の調製に際して、純度による換算を実施した。

0.02, 1 及び 30 mg/mL の調製液は、冷蔵(2~10 °C)・遮光条件下で 7 日間保管後、さらに室温(15~30 °C)・遮光条件下で 6 時間保管しても安定性に問題のないことが確認されている<sup>1)</sup>(Attachment 1)。従って、投与検体は、週 1 回以上の頻度で調製し、冷蔵(設定:4 °C、実測値:3.2~6.2 °C)・遮光条件下で保管後、7 日以内に使用した。残余投与検体は廃棄した。

雌雄試験群投与開始日及び雄投与終了日に使用した投与検体中の被験物質濃度を試験施設内で HPLC 法により測定した。その結果、被験物質濃度は表示濃度の 91.3~96.4% であり、濃度に問題はなかった(Attachment 2 及び 3)。

### 3. 使用動物及び飼育条件

#### 3.1. 動物種及び系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかである Crj : CD(SD)IGS 雌雄ラット(SPF)を用いた。動物は、2003年12月3日に日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から7週齢で試験群として雌雄各73匹及び回復群として雌31匹入手した。入手後1日の体重範囲は、雄が204~224 g、試験群雌が167~201 g、回復群雌が180~194 gであった。

#### 3.2. 検疫及び馴化、群分け法並びに個体識別法

入手した動物は、5日間の検疫期間及びその後16日間(ただし、回復群雌は17日間)の馴化期間を設けた。この間に、体重測定を5回、一般状態の観察を毎日、行動機能(FOB)観察を投与開始前週に1回行い、さらに試験群雌は馴化期間中に性周期観察を14日間毎日行った。一般状態、体重推移あるいはFOB観察に異常がみられず、また性周期観察で異常が認められなかった動物(発情期が認められ、4日あるいは5日周期と考えられた動物)を群分けした。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に無作為抽出法により各群の平均体重及び分散がほぼ等しくなるように投与開始日を行った。群分け後の残余動物のうち、検疫・馴化動物番号の若い順に雄2例を選び、飼育期間終了日の微生物モニタリング検査に用いた。その他の群分け残余動物は、投与開始日にジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄した。

動物の個体識別は、入手日に油性インクによる記入法及び油性インクによる色素塗布法を用いて行った。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日及び検疫・馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量、動物番号、検疫・馴化動物番号、交尾成立日(試験群雌のみ)及び分娩日(試験群雌のみ)を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。児動物(F<sub>1</sub>)の各ケージには、試験番号、投与量、動物番号及び出生日を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

#### 3.3. 環境条件及び飼育管理

動物は、室温20~26 °C(実測値:21~23 °C)、湿度40~70%(実測値:42~65%)、明暗各12時間(照明:午前6時~午後6時)、換気回数12回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持された飼育室(E棟4号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中及び群分け後ともステンレス製懸垂式ケージ(W:240×D:380×H:200 mm)を用いて個別飼育した。交配は、雄のケージ内で行った。母動物は、妊娠18日以降オートクレーブ処理した床敷(サンフレーク、日本チャールス・リバー株式会社)を入れたプラスチック製ケージ(W:310×D:360×H:175 mm)で個別飼育し、自然分娩及び哺育させ、哺育4日以降ステンレス製懸垂式ケージを用いて個別飼育した。ケージの受け皿、給水瓶及びプラスチック製ケージの交換は1週間に2回以上、ステンレス製懸垂式ケージ及び給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお、動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)及び0.02%次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

飼育期間終了日に採血したモニタリング動物の血清検査において、感染を示唆するような異常はみられなかった。

床敷の微量金属及び汚染物質の分析結果は、ほぼ 6 カ月ごとに財団法人日本食品分析センターで実施した成績を日本チャールス・リバー株式会社から入手した。その分析結果は、試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

### 3.4. 飼料及び飲料水

飼料は、製造後 5 カ月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ、自由に摂取させた。剖検前日の午後 4 時から絶食させた。ただし、全新生児死亡母動物は、絶食しなかった。使用した飼料と同一ロットの飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センター及びオリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ 6 カ月ごとに東西化学産業株式会社 東日本分析センターで実施した成績を入手した。

飼料及び飲料水の分析結果は、いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

## 4. 投与経路、投与方法、群構成、投与量及び投与期間

### 4.1. 投与経路及び投与方法

2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールは、継続して経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたポリプロピレン製ディスポーザブル注射筒(テルモ株式会社)を用いて、強制経口投与した。

投与液量は、雄では投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 mL/kg で算出した。試験群雌の投与液量は、交配前及び交配期間は投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を、妊娠期間は妊娠 0, 7, 14 及び 21 日の体重を、哺育期間は哺育 0 及び 4 日の体重を基準とし、5 mL/kg で算出した。回復群雌の投与液量は、投与日あるいは投与日に最も近い測定日の体重を基準とし、5 mL/kg で算出した。

投与時刻は午前 9 時 00 分～午後 4 時 01 分の間で、投与回数は 1 日 1 回とした。

投与開始日の週齢は雌雄とも 10 週齢であり、体重範囲は雄が 343～381 g, 試験群雌が 238～267 g, 回復群雌が 239～262 g であった。

#### 4.2. 群構成及び投与量

群構成は、以下に示したように被験物質投与群として3群を設定し、その他に対照群を設けた。各群の動物数は、試験群に雌雄各12例、回復群に雌各6例とした。

群	投与量 (濃度)	動物数(動物番号)		
		試験群雄	試験群雌	回復群雌
第1群 対照(Corn oil)	0 mg/kg ( 0 mg/mL)	6 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup> (M01101 ~M01112)	12 <sup>1)</sup> (F01151 ~F01162)	6 <sup>2)</sup> (F01171 ~F01176)
第2群 2-sec-7 <sup>α</sup> -チル-4,6-ジニトロフェノール	0.78 mg/kg ( 0.156 mg/mL)	6 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup> (M02201 ~M02212)	12 <sup>1)</sup> (F02251 ~F02262)	6 <sup>2)</sup> (F02271 ~F02276)
第3群 2-sec-7 <sup>α</sup> -チル-4,6-ジニトロフェノール	2.33 mg/kg ( 0.466 mg/mL)	6 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup> (M03301 ~M03312)	12 <sup>1)</sup> (F03351 ~F03362)	6 <sup>2)</sup> (F03371 ~F03376)
第4群 2-sec-7 <sup>α</sup> -チル-4,6-ジニトロフェノール	7.0 mg/kg ( 1.4 mg/mL)	6 <sup>1)</sup> +6 <sup>2)</sup> (M04401 ~M04412)	12 <sup>1)</sup> (F04451 ~F04462)	6 <sup>2)</sup> (F04471 ~F04476)

1) 投与期間終了時に剖検

2) 回復期間終了時に剖検

投与量は、2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の予備試験<sup>2)</sup>(投与段階: 0, 2.5, 5, 10 及び 20 mg/kg, 各群雄5例)の結果により決定した。すなわち、10 mg/kg以上の投与により死亡例及び体重の低値が認められた。そこで、当試験の投与量は、7.0 mg/kgを高用量とし、以下公比3により2.33及び0.78 mg/kgとした。また、対照として媒体(Corn oil)のみを同容量投与する群を設けた。

#### 4.3. 投与期間

投与期間は、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Combined Repeat Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (422)に基づいて、雄では交配前14日間とその後28日間の合計42日間とし、試験群雌では交配前14日間、交配期間中(最長4日間)、妊娠期間中及び哺育6日までの合計44~48日間とした。雄については、42日間の投与後に各群とも半数の動物について14日間の回復期間を設けた。また、回復群雌については、42日間の投与後に14日間の回復期間を設けた。なお、投与開始日を投与1日とし、最終投与の翌日を回復1日とした。

#### 5. 観察及び検査項目

##### 5.1. 一般状態

###### 5.1.1. 雄

一般状態及び死亡の有無は、投与期間中に投与前・後の1日2回、回復期間中に毎日1回及び剖検日に1回観察した。

### 5.1.2. 試験群雌

一般状態及び死亡の有無は、投与期間中に投与前・後の1日2回及び剖検日に1回観察した。死亡例は、発見後速やかに剖検し、妊娠黄体数及び着床数を算定後、剖検した。瀕死例は、発見後速やかにペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後、妊娠黄体数及び着床数を算定後、剖検した。死亡例及び瀕死例について、脳(大脑、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巢及び子宮の重量を測定した。なお、各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。ただし、下垂体及び甲状腺は20%中性緩衝ホルマリンで1晩固定後、測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、腎、上皮小体、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、胸骨、大腿骨及び乳腺とともに20%中性緩衝ホルマリンで固定した。眼球は、グルタールアルデヒド・ホルマリンで1晩固定後、20%中性緩衝ホルマリンに再固定した。また、死亡例及び瀕死例の胎児及び胎盤は、20%中性緩衝ホルマリンで固定後、10%中性緩衝ホルマリンに保存した。

### 5.1.3. 回復群雌

一般状態及び死亡の有無は、投与期間中に投与前・後の1日2回、回復期間中に毎日1回及び剖検日に1回観察した。

## 5.2. 体重測定

### 5.2.1. 雄

体重は、1週間に2回測定した[測定日：投与1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39, 42及び43日(回復1日)，回復4, 8, 11, 14及び15日]。

### 5.2.2. 試験群雌

体重は、交配開始前14日間及び交配期間中は1週間に2回(測定日：投与1, 4, 8, 11, 15及び18日)，妊娠期間中は妊娠0, 7, 14及び21日に、哺育期間中は哺育0, 4, 6及び7日に測定した。

### 5.2.3. 回復群雌

体重は、1週間に2回測定した[測定日：投与1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25, 29, 32, 36, 39及び42日，回復1, 4, 8, 11, 14及び15日]。

## 5.3. 摂餌量測定

### 5.3.1. 雄

摂餌量は、交配開始前14日間及び交配期間終了後から1週間に2回測定した(残量測定日：投与2, 5, 9, 12, 30, 33, 37及び40日，回復2, 5, 9及び12日)。

### 5.3.2. 試験群雌

摂餌量は、交配開始前 14 日間までは 1 週間に 2 回(残量測定日：投与 2, 5, 9 及び 12 日)，妊娠期間中は妊娠 2, 9, 16 及び 20 日に，哺育期間中は哺育 2 日に測定した。

### 5.3.3. 回復群雌

摂餌量は、1 週間に 2 回測定した(残量測定日：投与 2, 5, 9, 12, 16, 19, 23, 26, 30, 33, 37 及び 40 日，回復 2, 5, 9 及び 12 日)。

## 5.4. 行動機能(FOB)観察

### 5.4.1. 雄

全例について、投与開始前週，投与 7, 14, 21, 28, 35 及び 41 日に下記の 1)～3) の項目を観察した。観察時刻は、投与後 1 時間とした。なお、観察者はほぼ固定し，Blind で実施した。

- 1) 姿勢，かみつき行動，眼瞼閉鎖状態及び痙攣はケージ内で観察した。
- 2) ケージからの出し易さ，扱い易さ，筋の緊張，毛の状態，流涙，流涎及び呼吸は手に持つて観察した。
- 3) 立ち上がり回数，毛づくろい回数，歩行状態，眼瞼閉鎖状態，覚醒度，行動異常及び正向反射はオープンフィールド内で観察した。

### 5.4.2. 試験群雌

全例について、投与開始前週，投与 8 及び 15 日，妊娠 1, 8 及び 15 日並びに哺育 3 日に雄と同一項目を観察した。なお、不受胎雌の交尾後のデータは集計から除外した。

### 5.4.3. 回復群雌

全例について、投与開始前週，投与 8, 15, 22, 29, 36 及び 42 日に雄と同一項目を観察した。

## 5.5. 感覚反応検査

### 5.5.1. 雄

投与期間終了時部検査について、投与 41 日の行動機能(FOB)観察後に瞳孔反射，接近反射，行動異常，触覚反射，聴覚反射及び痛覚反射を作業台の上で検査した。

### 5.5.2. 試験群雌

対照群，0.78 及び 2.33 mg/kg 群の動物番号の若い順に各 6 例並びに 7.0 mg/kg 群の 1 例について，哺育 3 日の行動機能(FOB)観察後に雄と同一項目を検査した。

## 5.6. 握力測定

### 5.6.1. 雄

投与期間終了時部検査について、投与 41 日の感覚反応検査終了後に CPU ゲージ(アイコーエ

ンジニアリング株式会社)を用いて、前肢及び後肢の握力を測定した。

#### 5.6.2. 試験群雌

対照群、0.78及び2.33 mg/kg群の動物番号の若い順に各6例並びに7.0 mg/kg群の1例について、哺育3日の感覚反応検査終了後にCPUゲージ(アイコーエンジニアリング株式会社)を用いて、前肢及び後肢の握力を測定した。

### 5.7. 自発運動量測定

#### 5.7.1. 雄

投与期間終了時剖検例について、投与40日にActivity Monitor(MED Associates Inc.)を使用し、歩行量及び立ち上がり回数について投与後1時間まで10分間隔で測定した。

#### 5.7.2. 試験群雌

対照群、0.78及び2.33 mg/kg群の動物番号の若い順に各6例並びに7.0 mg/kg群の1例について、哺育4日にActivity Monitor(MED Associates Inc.)を使用し、歩行量及び立ち上がり回数について投与後1時間まで10分間隔で測定した。

### 5.8. 尿検査

#### 5.8.1. 雄

投与期間終了前に投与期間終了時の剖検用動物、回復期間終了前に回復期間終了時の剖検用動物について、採尿ケージを用いて絶食・給水下で新鮮尿を採取した。その後、引き続いて給餌・給水下で24時間尿を採取した。採取した尿について、以下の検査を実施した。検査後の尿は廃棄した。

新鮮尿：色調は、外観判定とした。pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲンは、尿検査試験紙(ウロペーパーII栄研7、栄研化学株式会社)に尿を滴下後に分光反射測光法により尿自動分析装置(US-2100、栄研化学株式会社)を用いて検査した。尿沈渣は、沈渣を尿沈渣染色液(新Sternheimer法、国際試薬株式会社)で染色後に顕微鏡下で観察した。なお、採尿は、当日の検体投与前に行った。

24時間尿：尿量(UV)は、尿比重と重量から算出した。尿比重(S.G.)は、屈折率により屈折型尿比重計(ユリペット-IIID、株式会社ニコン)を用いて測定した。

#### 5.8.2. 試験群雌

対照群、0.78及び2.33 mg/kg群の動物番号の若い順に各6例並びに7.0 mg/kg群の1例について、哺育5日に採尿ケージを用いて絶食・給水下で新鮮尿を採取した。その後、引き続いて給餌・給水下で24時間尿を採取した。採取した尿について、雄の尿検査と同一項目(5.8.1.)の検査を実施した。検査後の尿は廃棄した。

### 5.8.3. 回復群雌

回復期間終了前に採尿ケージを用いて絶食・給水下で新鮮尿を採取した。その後、引き続いで給餌・給水下で 24 時間尿を採取した。採取した尿について、雄の尿検査と同一項目(5.8.1.)の検査を実施した。検査後の尿は廃棄した。

## 5.9. 血液学検査

### 5.9.1. 雄

最終投与の翌日及び回復期間終了後に、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈からカニュレーションにより血液を採取し、以下の血液学検査を実施した。測定後の残余血液は廃棄した。

赤血球数(RBC), ヘモグロビン量(HGB), ヘマトクリット値(HCT), 血小板数(PLT)及び白血球数(WBC)は、EDTA-2K 処理した血液について、多項目自動血球計数装置(Sysmex K-4500, シスメックス株式会社)を用いて測定した。さらに、平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球血色素量(MCH)及び平均赤血球血色素濃度(MCHC)を算出した。

網状赤血球比率(RET)は、EDTA-2K 処理した血液を Brecher 法により超生体染色してスライドガラスに塗抹後, Giemsa 染色標本を作製して顕微鏡下で赤血球 1000 個中の網状赤血球数を計数し、算出した。

白血球百分率は、EDTA-2K 処理した血液をスライドガラスに塗抹し、May-Giemsa 染色標本を作製して顕微鏡下で白血球 100 個を分類計数した。

プロトロンビン時間(PT), 活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)及びフィブリノーゲン濃度(FIB)は、血液を 3.13%クエン酸ナトリウムで処理後、遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm, 15 分間)して得た血漿について、散乱光検出方式により血液凝固分析装置(コアグマスターII, 三共株式会社)を用いて測定した。

### 5.9.2. 試験群雌

対照群, 0.78 及び 2.33 mg/kg 群の動物番号の若い順に各 6 例並びに 7.0 mg/kg 群の 1 例について、最終投与の翌日(哺育 7 日)にペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈からカニュレーションにより血液を採取し、雄の血液学検査と同一項目(5.9.1.)の検査を実施した。測定後の残余血液は廃棄した。

### 5.9.3. 回復群雌

回復期間終了後にペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈からカニュレーションにより血液を採取し、雄の血液学検査と同一項目(5.9.1.)の検査を実施した。測定後の残余血液は廃棄した。

## 5.10. 血液生化学検査

### 5.10.1. 雄

血液学検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm,

15 分間)して得た血清について、以下の血液生化学検査を実施した。保存用血清は、最終報告書作成時まで冷凍庫(-80 °C設定)内に保管した。

AST は MDH-UV 法, ALT は LDH-UV 法, ALP は p-ニトロフェニルリン酸基質法,  $\gamma$ -GTP は L- $\gamma$ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニトロアニリド基質法, 総蛋白(TP)は Biuret 法, 総ビリルビン(T-Bil)は安定化ジアゾニウム塩法, 尿素窒素(UN)はウレアーゼ・GIDH 法, クレアチニン(CRE)はクレアチニナーゼ・F-DAOS 法, ブドウ糖(Glu)はヘキソキナーゼ・G-6-PDH 法, 総コレステロール(T-Chol)は COD・HDAOS 法, トリグリセライド(TG)は GPO・HDAOS 法, Ca は o-CPC 法, 無機リン(IP)は PNP・XDH 法, Na, K 及び Cl はイオン選択電極法により、いずれも生化学自動分析装置(AU 400, オリンパス光学工業株式会社)を用いて測定した。

アルブミン量(Alb)は総蛋白量及び蛋白分画値[電気泳動法, 自動電気泳動装置(AES 310, オリンパス光学工業株式会社)]から、A/G(アルブミン/グロブリン)は蛋白分画値から算出した。

#### 5.10.2. 試験群雌

血液学検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm, 15 分間)して得た血清について、雄の血液生化学検査と同一項目(5.10.1.)の検査を実施した。保存用血清は、最終報告書作成時まで冷凍庫(-80 °C設定)内に保管した。

#### 5.10.3. 回復群雌

血液学検査用の血液と同時期に腹大動脈から採取した血液から遠心分離(約 4 °C, 3000 rpm, 15 分間)して得た血清について、雄の血液生化学検査と同一項目(5.10.1.)の検査を実施した。保存用血清は、最終報告書作成時まで冷凍庫(-80 °C設定)内に保管した。

### 5.11. 剖検及び器官重量測定

#### 5.11.1. 雄

上記の 5.9.1. 及び 5.10.1. の項で採血した動物をさらに放血致死させた後に剖検した。脳(大脳, 小脳, 延髄), 下垂体, 甲状腺, 胸腺, 心臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 副腎, 精巣, 精巣上体及び精巣上体の尾部は重量を測定した。各器官重量(精巣上体の尾部を除く)を最終体重で除して相対重量も算出した。ただし、下垂体及び甲状腺は 20% 中性緩衝ホルマリンで 1 晩固定後、測定した。精巣上体の尾部を除くこれらの器官は、肺, 気管, 膜臓, 唾液腺(舌下腺・顎下腺), 食道, 胃, 十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 結腸, 直腸, リンパ節(下頸・腸間膜), 膀胱, 精囊, 前立腺, 上皮小体, 脊髄, 坐骨神経, 眼球, ハーダー腺, 胸骨及び大腿骨とともに 20% 中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし、精巣及び精巣上体の頭部はブアン液で 2~3 時間固定後, 90% アルコールに再固定し、眼球はグルタルアルデヒド・ホルマリンで 1 晩固定後, 20% 中性緩衝ホルマリンに再固定した。また、左右の精巣上体の尾部を用いて、精子検査(5.13.)を実施した。

#### 5.11.2. 試験群雌

上記の 5.9.2. 及び 5.10.2. の項で採血した動物をさらに放血致死させ、妊娠黄体数及び着床数

を算定後、剖検した。また、各群の尿検査、血液学検査及び血液生化学検査を実施しなかった動物をペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈から放血致死させ、妊娠黄体数及び着床数を算定後、剖検した。脳(大脑、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巢及び子宮は重量を測定した。各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。ただし、下垂体及び甲状腺は 20%中性緩衝ホルマリンで 1 晩固定後、測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、上皮小体、腔、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、胸骨、大腿骨及び乳腺とともに 20%中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし、眼球は、グルタールアルデヒド・ホルマリンで 1 晩固定後、20%中性緩衝ホルマリンに再固定した。

妊娠 25 日の午前 10 時までに分娩しなかった雌動物は、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈から放血致死させ後に剖検し、着床の有無により妊娠の成否を確認した。上記の器官・組織は、20%中性緩衝ホルマリンで固定後、10%中性緩衝ホルマリンに保存した。ただし、眼球は、グルタールアルデヒド・ホルマリンで 1 晩固定後、20%中性緩衝ホルマリンに再固定した。

全新生児が死亡した母動物は、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈から放血致死させ後に剖検し、妊娠黄体数及び着床数を算定した。上記の器官・組織は、20%中性緩衝ホルマリンで固定後、10%中性緩衝ホルマリンに保存した。ただし、眼球は、グルタールアルデヒド・ホルマリンで 1 晩固定後、20%中性緩衝ホルマリンに再固定した。

### 5.11.3. 回復群雌

上記の 5.9.3. 及び 5.10.3. の項で採血した動物をさらに放血致死させた後、剖検した。脳(大脑、小脳、延髄)、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巢及び子宮は重量を測定した。各器官重量を最終体重で除して相対重量も算出した。ただし、下垂体及び甲状腺は 20%中性緩衝ホルマリンで 1 晩固定後、測定した。これらの器官は、肺、気管、脾臓、唾液腺(舌下腺・顎下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、リンパ節(下顎・腸間膜)、膀胱、上皮小体、腔、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、胸骨、大腿骨及び乳腺とともに 20%中性緩衝ホルマリンで固定した。ただし、眼球は、グルタールアルデヒド・ホルマリンで 1 晩固定後、20%中性緩衝ホルマリンに再固定した。

## 5.12. 精子検査

### 5.12.1. 精子原液の調製

右精巣上体の尾部は、37 °Cに加温した精子培養液(0.5%牛血清アルブミン加 Medium 199) 中で分割し、約 5 分間静置後、精子原液とした。この精子原液を用いて精子の活動性、精子の生存性及び精子の形態の各検査を実施した。なお、これらの検査終了後、精子原液は廃棄した。

### 5.12.2. 精子の活動性

精子原液を精子培養液で希釈し、約30分間培養(炭酸ガス培養器:BNA-121D, エスペック株式会社, 培養条件:37 °C, 5%炭酸ガス, 95%空気)後に精子希釈液をサンプルチャンバー(MICROSLIDES, #HTR1099, VitroCom, Inc.)に入れ, TOX IVOS(Hamilton Thorne Research)を用いて、運動精子率(Motile sperm rate), 前進精子率(Progressive sperm rate), 基準点移動速度(Path velocity), 最短距離移動速度(Straight line velocity), 総移動速度(Curvilinear velocity), 精子頭部の振幅(Amplitude of lateral head displacement)及び精子頭部の横切り回数(Beat cross frequency)を算出した。

### 5.12.3 精子の生存性

精子原液をCalcein acetoxy methyl esterとEthidium homodimer-1で二重染色(炭酸ガス培養器内で約1時間培養)後、蛍光顕微鏡下で精子を生存精子、途中死亡精子及び死精子とに分類し<sup>3)</sup>、生存精子率(Viability)及び生き残り精子率(Survivability)を求めた。

### 5.12.4. 精子の形態

精子原液をスライドガラスに塗抹し、10%中性緩衝ホルマリンで固定後、1%エオジン染色液で染色した。顕微鏡下で精子の形態を観察し、総奇形精子率、頭部の奇形精子率及び尾部の奇形精子率を求めた。

### 5.12.5. 精子数

精子数は、左精巢上体尾部を凍結(-80 °C設定)保存後、0.1% Triton X-100中でホモジナイズ(Ultra-Turrax T25 basic IKA®-Labortechnik)して作製した精子懸濁液をTOX IVOS(Hamilton Thorne Research)を用いて算出した。なお、左精巢上体尾部1g当たりの精子数も算出した。

## 5.13. 病理組織学検査

### 5.13.1. 雄

投与期間終了時剖検例について、心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、唾液腺(舌下腺・頸下腺)、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、脾臓、リンパ節(下頸・腸間膜)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体の頭部、精嚢、前立腺、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体(検査可能な動物のみ)、脳(大脳・小脳・延髄)、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨髓(胸骨・大腿骨)及び骨(胸骨・大腿骨)のパラフィン包埋標本を作製した。その後、対照群及び7.0 mg/kg群について、HE染色組織標本を作製し、病理組織学検査を実施した。なお、精巣については、PAS-ヘマトキシリン染色標本も作製した。

### 5.13.2. 試験群雌

対照群、0.78及び2.33 mg/kg群の動物番号の若い順に各6例並びに7.0 mg/kg群の死亡例及び瀕死例を含む12例全例について、心臓、肺、気管、肝臓、脾臓、唾液腺(舌下腺・頸下腺)，

食道，胃，十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸，直腸，胸腺，脾臓，リンパ節(下顎・腸間膜)，腎臓，膀胱，卵巢，子宮，腔，下垂体，副腎，甲状腺，上皮小体(検査可能な動物のみ)，脳(大脳・小脳・延髄)，脊髄，坐骨神経，眼球，ハーダー腺，骨髄(胸骨・大腿骨)，骨(胸骨・大腿骨)及び乳腺のパラフィン包埋標本を作製した。その後，対照群及び $2.33\text{ mg/kg}$ 群の各6例並びに $7.0\text{ mg/kg}$ 群の死亡例及び瀕死例を含む12例全例について，HE染色組織標本を作製し，病理組織学検査を実施した。 $2.33$ 及び $7.0\text{ mg/kg}$ 群の検査において対照群と比べて異常を示す動物数に差があると考えられた脾臓については， $0.78\text{ mg/kg}$ 群についてもHE染色組織標本を作製し，病理組織学検査を実施した。

#### 5.13.3. 回復群雌

対照群， $0.78$ ， $2.33$ 及び $7.0\text{ mg/kg}$ 群について，脾臓のHE染色組織標本を作製し，病理組織学検査を実施した。

#### 5.14. 性周期

試験群雌の性周期は，投与開始日から交尾確認前日まで毎日1回観察した。なお，発情期が連続2日間にわたって観察された場合は1回と計数した。

#### 5.15. 交配

14日間投与した雄と試験群雌を同一群内で1対1に組み合わせて同居交配した。交配期間は14日を限度として，交尾を確認するまでの連続同居交配とした。

交尾確認は毎朝ほぼ一定時刻を行い，腔垢内に精子または腔栓を確認した雌を交尾成立動物として，その日を妊娠0日として起算した。

#### 5.16. 分娩状態の観察

交尾雌は自然分娩させ，分娩状態の異常の有無，分娩終了の確認を妊娠21日から妊娠25日の午前10時まで毎日行った。午前10時に分娩が終了していた場合，その日を哺育0日とした。

#### 5.17. 妊娠25日の午前10時までに分娩しなかった雌動物の剖検

未分娩雌動物は，ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与( $40\text{ mg/mL/kg}$ )による麻酔下で腹大動脈から放血致死させ後に剖検し，着床の有無により妊娠の成否を確認した。上記の器官・組織(5.11.2.)は，20%中性緩衝ホルマリンで固定後，10%中性緩衝ホルマリンに保存した。ただし，眼球は，グルタールアルデヒド・ホルマリンで1晩固定後，20%中性緩衝ホルマリンに再固定した。

#### 5.18. 哺育状態の観察

母動物は，哺育状態を哺育0日から4日まで毎日観察した。

### 5.19. 全新生児が死亡した母動物の剖検

全新生児死亡母動物は、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与(40 mg/mL/kg)による麻酔下で腹大動脈から放血致死させ後に剖検し、妊娠黄体数及び着床数を算定した。上記の器官・組織(5.11.2.)は、20%中性緩衝ホルマリンで固定後、10%中性緩衝ホルマリンに保存した。ただし、眼球は、グルタールアルデヒド・ホルマリンで1晩固定後、20%中性緩衝ホルマリンに再固定した。

### 5.20. 児動物(F<sub>1</sub>)

#### 5.20.1. 出産時の観察

出産時に総出産児数と性、死産児数、新生児数及び外表異常の有無を観察した。死産児は、20%中性緩衝ホルマリンで固定し、10%中性緩衝ホルマリンに保存した。

#### 5.20.2. 児動物の観察

児動物は、一般状態及び死亡の有無を毎日1回観察した。死亡児は、剖検後、20%中性緩衝ホルマリンで固定し、10%中性緩衝ホルマリンに保存した。

#### 5.20.3. 体重測定

体重は、哺育0日(出生日)及び4日に測定した。

#### 5.20.4. 剖検

生存児は、哺育4日にジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

## 6. 統計解析

有意差検定は下記に示したように、対照群と各投与群の間で行い、危険率を5%とし、5%未満( $p<0.05$ )と1%未満( $p<0.01$ )とに分けて表示した。児動物の体重は一腹の平均値と合計値も算出した。不受胎雌の交尾後の一般状態、体重及び摂餌量は集計から除外した。なお、7.0 mg/kg群では、妊娠末期に母動物死亡あるいは瀕死が多発したため、哺育期間中の体重、摂餌量、握力、自発運動量、尿量、尿比重、血液学検査成績及び血液生化学検査成績、器官の絶対重量及び相対重量、妊娠期間、総出産児数、新生児数、死産児数、分娩率、児の産出率、出生率、哺育4日の生存児数、哺育4日の生存率、外表異常の出現率及び性比の統計解析はできなかった。

#### 〈検定方法〉

体重(親動物、児動物)、摂餌量、行動機能(FOB)の毛づくろい及び立ち上がり回数、握力、自発運動量、尿量、尿比重、血液学検査成績、血液生化学検査成績、器官の絶対重量及び相対重量、精子検査成績、発情回数、交尾所要日数、妊娠期間[分娩日(哺育0日)-交尾確認日]、妊娠黄体数、着床数、着床率[(着床数/妊娠黄体数)×100]、総出産児数(新生児数+死産児数)、新生児数、死産児数、分娩率[(総出産児数/着床数)×100]、児の産出率[(哺育0日の新生児数/着床数)×100]、出生率[(哺育0日の新生児数/総出産児数)×100]、哺育4日の生存児数、哺育4日の生存率[(哺育4日の生存児数/哺育0日の新生児数)×100]、外表異常の出現率[(外表異常児数/新生児数)×100]を用いて、*t*-検定(2群間比較)、ANOVA(3群間比較)、*chi*<sup>2</sup>検定(性別比)及び $\chi^2$ 自由度調整版(妊娠期間、分娩率、産出率)による統計解析を行った。

児数)×100]及び性比(雄/雌)は、各群で平均値及び標準偏差を算出した。その後、Bartlett 法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には Dunnett 法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した Dunnett 型の検定法により行った。

行動機能(FOB)(但し、毛づくろい及び立ち上がり回数を除く)及び感覚反応は、各群で平均値及び範囲を算出した。その後、Bartlett 法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には Dunnett 法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は、順位を利用した Dunnett 型の検定法により行った。

交尾率[(交尾成立動物数/同居動物数)×100]、受胎率[(受胎雌数/交尾成立動物数)×100]及び出産率[(新生児出産雌数/受胎雌数)×100]は、 $\chi^2$  検定により行った。

なお、病理組織学検査において、2.33 及び 7.0 mg/kg 群の雌で毒性学的影響が示唆され、0.78 mg/kg 群についても検査を実施した脾臓の髓外造血については、対照群との群間比較を上記の順位を利用した Dunnett 型の検定法を用いて行った。そこで対照群との間に有意差が認められた場合は、Cochran・Armitage の傾向検定を用いて用量反応性の検定を行った。

## 結果

### I. 反復投与毒性

#### 1. 一般状態

##### 1.1. 雄(Table 1-1～1-5, Appendix 1-1～1-4)

死亡及び瀕死例は、いずれの群にも認められなかった。

投与期間中には、対照群では一般状態の異常はみられなかった。0.78 mg/kg 群では、投与 14 日の投与直後に一過性の流涎が 1 例にみられた。2.33 mg/kg 群では、投与 8 日以降の投与直後に一過性の流涎が 11 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、投与 2 日以降の投与直後に一過性の流涎が 12 例全例にみられた。

回復期間中には、いずれの群とも一般状態の異常はみられなかった。

##### 1.2. 試験群雌(Table 2-1 及び 2-2, 3-1 及び 3-2, 4, Appendix 2-1～2-4, 3-1～3-4 及び 4-1～4-4)

7.0 mg/kg 群では、妊娠 19 日に 7 例と妊娠 21 日に 1 例が死亡し、妊娠 19 及び 20 日に各 1 例が瀕死となった。対照群、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、死亡例及び瀕死例は認められなかった。

交配開始前及び交配期間中には、対照群及び 0.78 mg/kg 群では一般状態の異常はみられなかった。2.33 mg/kg 群では、投与 10 日以降の投与直後に一過性の流涎が 5 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、投与 3 日以降の投与直後に一過性の流涎が 11 例にみられた。

妊娠期間中には、対照群及び 0.78 mg/kg 群では一般状態の異常はみられなかった。2.33 mg/kg 群では、投与直後に一過性の流涎が 3 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、死亡 8 例(No. F04452:妊娠 19 日死亡, No. F04454:妊娠 21 日死亡, No. F04455:妊娠 19 日死亡, No. F04456:

妊娠 19 日死亡, No. F04457:妊娠 19 日死亡, No. F04458:妊娠 19 日死亡, No. F04459:妊娠 19 日死亡, No. F04460:妊娠 19 日死亡)及び瀕死 2 例(No. F04451:妊娠 20 日瀕死, No. F04453:妊娠 19 日瀕死)において死亡及び瀕死の前日あるいは當日に一過性の流涎, 自發運動の低下, 腹臥位, 体温下降, 呼吸困難, チアノーゼあるいは緩徐呼吸がみられた。同群の生存例 2 例では, 投与直後に一過性の流涎がみられた。

哺育期間中には, いずれの群とも一般状態の異常はみられなかった。

### 1.3. 回復群雌(Table 5-1~5-5, Appendix 5-1~5-4)

死亡及び瀕死例は, いずれの群にも認められなかった。

投与期間中には, 対照群では一般状態の異常はみられなかった。0.78 mg/kg 群では, 投与 16 及び 17 日の投与直後に一過性の流涎が 1 例にみられた。2.33 mg/kg 群では, 投与 12 日の投与直後に一過性の流涎が 1 例にみられた。7.0 mg/kg 群では, 投与 3 日以降の投与直後に一過性の流涎が 6 例全例にみられた。

回復期間中には, いずれの群とも一般状態の異常はみられなかった。

## 2. 体重

### 2.1. 雄(Table 6, Fig.2, Appendix 6-1~6-4)

投与期間中には, 0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 18~42 日に体重の有意な低値がみられた。

回復期間中には, 各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

### 2.2. 試験群雌(Table 7~9, Fig.3, Appendix 7-1~7-4, 8-1~8-4 及び 9-1~9-4)

交配開始前及び交配期間中には, 0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 11 及び 15 日に体重の有意な低値がみられた。

妊娠期間中には, 各投与群とも対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

哺育期間中には, 0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。

### 2.3. 回復群雌(Table 10, Fig.4, Appendix 10-1~10-4)

投与期間中には, 0.78 及び 7.0 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。2.33 mg/kg 群では, 対照群と比べて投与 36, 39 及び 42 日に体重の有意な高値がみられたが, 投与量に関連した変化ではないことから, 投与による影響とは考えられない。

回復期間中には, 0.78 及び 7.0 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の体重に有意差はみられなかった。2.33 mg/kg 群では, 対照群と比べて回復 1, 4, 8, 11 及び 14 日に体重の有意な高値がみられたが, 投与量に関連した変化ではないことから, 投与による影響とは考えられない。

### 3. 摂餌量

#### 3.1. 雄(Table 11, Fig.5, Appendix 11-1~11-4)

投与期間中には、0.78 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。2.33 及び 7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて投与 2 日に摂餌量の有意な低値がみられた。なお、7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて投与 12, 33, 37 及び 40 日に摂餌量の有意な高値がみられたが、投与による毒性学的影響とは考えられない。

回復期間中には、0.78 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。2.33 mg/kg 群では対照群と比べて回復 12 日、7.0 mg/kg 群では回復 2 及び 12 日に摂餌量の有意な高値がみられたが、投与による毒性学的影響とは考えられない。

#### 3.2. 試験群雌(Table 12~14, Fig.6, Appendix 12-1~12-4, 13-1~13-4 及び 14-1~14-4)

交配開始前には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて投与 9 日に摂餌量の有意な高値がみられたが、一過性の変化であり、投与による毒性学的影響とは考えられない。

妊娠期間中には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて妊娠 2, 9 及び 16 日に摂餌量の有意な高値がみられたが、投与による毒性学的影響とは考えられない。

哺育期間中には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。

#### 3.3. 回復群雌(Table 15, Fig.7, Appendix 15-1~15-4)

投与期間中には、2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。0.78 mg/kg 群では対照群と比べて投与 23 日、7.0 mg/kg 群では投与 19, 23, 26, 30, 33 及び 37 日に摂餌量の有意な高値がみられたが、投与による毒性学的影響とは考えられない。

回復期間中には、0.78 mg/kg 群では対照群と比べて各測定日の摂餌量に有意差はみられなかった。2.33 mg/kg 群では対照群と比べて回復 5 日、7.0 mg/kg 群では回復 5, 9 及び 12 日に摂餌量の有意な高値がみられたが、投与による毒性学的影響とは考えられない。

### 4. 行動機能(FOB)

#### 4.1. 雄(Table 16-1~16-6, Appendix 16-1~16-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、各測定日のいずれの項目にも異常はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、流涎がみられ、対照群と比べて投与 41 日にその出現率の有意な高値がみられたが、投与直後の一過性の流涎が継続したものと考えられる。

#### 4.2. 試験群雌(Table 17-1~17-6, Appendix 17-1~17-4)

7.0 mg/kg 群では、各測定日のいずれの項目にも異常はみられなかった。0.78 mg/kg 群では対照群と比べて哺育 3 日に扱い易さの有意な低値、2.33 mg/kg 群では哺育 3 日に眼瞼閉鎖状態の有意な高値がみられたが、いずれも一過性の変化であることから、投与による変化とは考えられ

ない。

#### 4.3. 回復群雌(Table 18-1～18-6, Appendix 18-1～18-4)

各投与群とも、各測定日のいずれの項目にも異常はみられなかった。

### 5. 感覚反応

#### 5.1. 雄(Table 19, Appendix 19-1～19-4)

各投与群とも、いずれの項目にも異常はみられなかった。

#### 5.2. 試験群雌(Table 20, Appendix 20-1～20-4)

各投与群とも、いずれの項目にも異常はみられなかった。

### 6. 握力

#### 6.1. 雄(Table 21, Appendix 21-1～21-4)

各投与群とも、対照群と比べて前肢及び後肢の握力に有意差はみられなかった。

#### 6.2. 試験群雌(Table 22, Appendix 22-1～22-4)

0.78及び2.33 mg/kg群では、対照群と比べて前肢及び後肢の握力に有意差はみられなかった。

### 7. 自発運動量

#### 7.1. 雄(Table 23, Appendix 23-1～23-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

#### 7.2. 試験群雌(Table 24, Appendix 24-1～24-4)

0.78及び2.33 mg/kg群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

### 8. 尿検査

#### 8.1. 投与期間終了前

##### 8.1.1. 雄(Table 25-1 及び 25-2, Appendix 25-1～25-4)

各投与群とも、対照群と比べて尿量及び尿比重に有意差はみられなかった。

色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。

##### 8.1.2. 試験群雌(Table 26-1 及び 26-2, Appendix 26-1～26-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて尿量及び尿比重に有意差はみられなかった。

色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群とほぼ同程度であった。

## 8.2. 回復期間終了前

### 8.2.1. 雄(Table 27-1 及び 27-2, Appendix 27-1~27-4)

各投与群とも、対照群と比べて尿量及び尿比重に有意差はみられなかった。

色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。

### 8.2.2. 回復群雌(Table 28-1 及び 28-2, Appendix 28-1~28-4)

各投与群とも、対照群と比べて尿量及び尿比重に有意差はみられなかった。

色調、pH、蛋白質、ブドウ糖、ケトン体、ビリルビン、潜血、ウロビリノーゲン及び沈渣は、各投与群とも対照群とほぼ同程度であった。

## 9. 血液学検査

### 9.1. 投与期間終了時

#### 9.1.1. 雄(Table 29, Appendix 29-1~29-4)

0.78 mg/kg 群では、対照群と比べて赤血球数及びヘマトクリット値の有意な高値がみられた。2.33 mg/kg 群では、対照群と比べてヘモグロビン量及びヘマトクリット値の有意な高値、有意差はないものの赤血球数の高値傾向がみられた。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べてヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び平均赤血球容積の有意な高値、有意差はないものの赤血球数の高値傾向がみられた。なお、2.33 及び 7.0 mg/kg 群では、対照群と比べてプロトロンビン時間の有意な高値がみられたが、背景データの値(16.2±1.8 sec.)に近いことから、投与に基づく変化ではないと判断される。

#### 9.1.2. 試験群雌(Table 30, Appendix 30-1~30-4)

0.78 mg/kg 群では、対照群と比べて赤血球数の有意な高値がみられた。2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて有意差はないものの赤血球数の高値傾向がみられた。なお、0.78 mg/kg 群では、対照群と比べて平均赤血球容積及び平均赤血球血色素量の有意な低値がみられたが、投与量に依存した変化ではなかった。また、2.33 mg/kg 群では、対照群と比べてフィブリノーゲン濃度の有意な低値がみられたが、背景データの値(180±16 mg/mL)に近いことから、投与に基づく変化ではないと判断される。

### 9.2. 回復期間終了時

#### 9.2.1. 雄(Table 31, Appendix 31-1~31-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて赤血球数の有意な低値及び平均赤血球血色素量の有意な高値がみられたが、投与期間終了時には認められない変化であり、投与による影響とは考えられない。

#### 9.2.2. 回復群雌(Table 32, Appendix 32-1~32-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。

## 10. 血液生化学検査

### 10.1. 投与期間終了時

#### 10.1.1. 雄(Table 33, Appendix 33-1~33-4)

0.78 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べてクレアチニンの有意な高値、有意差はないものの ALP の高値傾向がみられた。2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて総コレステロールの有意な低値がみられたが、7.0 mg/kg 群で有意差が認められなかつたことから、投与に基づく変化ではないと判断される。

#### 10.1.2. 試験群雌(Table 34, Appendix 34-1~34-4)

0.78 mg/kg 群では、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかった。2.33 mg/kg 群では、対照群と比べてアルブミン量及び A/G の有意な高値がみられたが、いずれも背景データの値(アルブミン量:3.49±0.30 mg/mL, A/G:1.25±0.12)に近いことから、投与に基づく変化ではないと判断される。

### 10.2. 回復期間終了時

#### 10.2.1. 雄(Table 35, Appendix 35-1~35-4)

0.78 mg/kg 群では対照群と比べて A/G 及び Cl の有意な低値、2.33 mg/kg 群では A/G の有意な低値及び総コレステロールの有意な高値、7.0 mg/kg 群では ALP 及びアルブミンの有意な低値並びに尿素窒素の有意な高値がみられたが、いずれも投与期間終了時には認められなかつた変化であり、投与に基づくものではないと判断される。

#### 10.2.2. 回復群雌(Table 36, Appendix 36-1~36-4)

各投与群とも、対照群と比べて各測定項目に有意差はみられなかつた。

## 11. 剖検

### 11.1. 投与期間終了時

#### 11.1.1. 雄(Table 37, Appendix 37-1~37-4)

いずれの群とも、異常はみられなかつた。

#### 11.1.2. 試験群雌(Table 38, Appendix 38-1~38-4)

哺育 7 日の剖検では、いずれの群とも異常はみられなかつた。

全新生児死亡母動物では、異常はみられなかつた。

死亡例及び瀕死例では、異常はみられなかつた。

不受胎雌では、異常はみられなかつた。

### 11.2. 回復期間終了時

#### 11.2.1. 雄(Table 39, Appendix 39-1~39-4)

0.78, 2.33 及び 7.0 mg/kg 群では、異常はみられなかつた。対照群では、肝臓の白色斑が 1

例にみられた。

#### 11.2.2. 回復群雌(Table 40, Appendix 40-1~40-4)

いずれの群とも、異常はみられなかった。

### 12. 器官重量

#### 12.1. 投与期間終了時

##### 12.1.1. 雄(Table 41, Appendix 41-1~41-4)

剖検日の体重は、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて有意差はないものの、体重の低値傾向がみられた。

器官重量において、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各器官の絶対重量及び相対重量に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて脳の相対重量の有意な高値がみられたが、絶対重量に有意差が認められないことから、対照群との体重差に基づく変化と考えられる。

##### 12.1.2. 試験群雌(Table 42, Appendix 42-1~42-4)

剖検日の体重は、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて有意差はみられなかった。

器官重量において、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて各器官の絶対重量及び相対重量に有意差はみられなかった。

#### 12.2. 回復期間終了時

##### 12.2.1. 雄(Table 43, Appendix 43-1~43-4)

剖検日の体重は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

器官重量において、2.33 及び 7.0 mg/kg 群では対照群と比べて各器官の絶対重量及び相対重量に有意差はみられなかった。0.78 mg/kg 群では、対照群と比べて脳の相対重量の有意な低値及び肝臓の絶対重量の有意な高値がみられたが、投与量に関連した変化ではないことから、投与による影響とは考えられない。

##### 12.2.2. 回復群雌(Table 44, Appendix 44-1~44-4)

剖検日の体重は、0.78 及び 7.0 mg/kg 群では対照群と比べて有意差はみられなかった。2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて体重の有意な高値がみられたが、投与量に関連した変化ではないことから、投与による影響とは考えられない。

器官重量において、0.78 mg/kg 群では対照群と比べて心臓の相対重量の有意な低値がみられたが、その絶対重量に有意差が認められないことから、投与に基づく変化ではないと考えられる。2.33 mg/kg 群では対照群と比べて脳の相対重量の有意な低値がみられたが、絶対重量に有意差が認められないことから、対照群との体重差に基づく変化と考えられる。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて心臓の絶対重量の有意な高値がみられたが、投与期間終了時にその傾向は認められなかつたことから、投与に基づくものではないと判断される。

### 13. 精子検査

#### 13.1. 投与期間終了時(Table 45, Appendix 45-1~45-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて各検査項目に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて運動精子率、前進精子率、最短距離移動速度及び生存精子率の有意な低値、精子頭部の振幅、総奇形精子率及び尾部の奇形精子率の有意な高値、有意差はないものの生き残り精子率の低値傾向、頭部の奇形精子率の高値傾向がみられた。

#### 13.2. 回復期間終了時(Table 46, Appendix 46-1~46-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて各検査項目に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、対照群と比べて生存精子率及び生き残り精子率の有意な低値、総奇形精子率及び頭部の奇形精子率の有意な高値がみられた。

### 14. 病理組織学検査

#### 14.1. 投与期間終了時

##### 14.1.1. 雄(Table 47, Appendix 47-1 及び 47-2)

眼球：対照群では、左網膜に異形成が 1 例にみられた。

ハーダー腺：対照群では、リンパ様細胞浸潤が 1 例にみられた。

心臓：対照群では、単核細胞浸潤が 4 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、単核細胞浸潤が 4 例にみられた。

肝臓：対照群では、微小肉芽腫が 1 例、リンパ様細胞浸潤が 2 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、汎動脈炎が 1 例にみられた。

脾臓：対照群では、髄外造血が 1 例にみられた。

腎臓：対照群では、リンパ様細胞浸潤が 1 例、尿細管上皮の好塩基性化が 2 例と尿細管上皮の硝子滴が 1 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、尿細管上皮の好塩基性化が 2 例と囊胞が 1 例にみられた。

精巢：7.0 mg/kg 群では、限局性的精細管萎縮が 1 例にみられた。

前立腺：対照群では、リンパ様細胞浸潤が 4 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、リンパ様細胞浸潤が 2 例にみられた。

なお、これらの変化は対照群でも通常観察される変化であること、それらの程度はごく軽度あるいは軽度であること、7.0 mg/kg 群のそれらの出現頻度は対照群と比べて差がないことから、偶発的変化と判断される。

その他には、対照群及び 7.0 mg/kg 群では、肺、気管、脾臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、胸腺、下顎リンパ節、腸間膜リンパ節、膀胱、精巣上体、精嚢、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、大脳、小脳、延髄、脊髄、坐骨神経、骨(胸骨・大腿骨)及び骨髄(胸骨・大腿骨)に異常はみられなかった。

##### 14.1.2. 試験群雌(Table 48, Appendix 48-1~48-4)

脾臓：対照群では、髄外造血が 6 例にみられ、その程度はごく軽度が 1 例、軽度が 3 例及び

中等度が 2 例であった。0.78 mg/kg 群では、髄外造血が 6 例にみられ、その程度はごく軽度が 1 例、軽度が 4 例と中等度が 1 例であった。2.33 mg/kg 群では、髄外造血が 6 例にみられ、その程度はごく軽度が 5 例と軽度が 1 例であった。7.0 mg/kg 群では、髄外造血が 1 例にみられ、その程度はごく軽度であった。髄外造血の低下は、2.33 mg/kg 群で対照群と比べて有意差が認められた。

その他の変化として以下に示した所見が得られた。

心臓：2.33 mg/kg 群では、単核細胞浸潤が 1 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、単核細胞浸潤が 1 例にみられた。

胸腺：7.0 mg/kg 群では、皮質の萎縮が 1 例にみられた。

肝臓：対照群では、微小肉芽腫が 3 例、胆管増生が 1 例とリンパ様細胞浸潤が 2 例にみられた。2.33 mg/kg 群では、限局性の肝細胞壊死が 1 例と胆管増生が 2 例にみられた。7.0 mg/kg 群では、微小肉芽腫が 1 例にみられた。

なお、これらの変化は対照群でも通常観察される変化であること、それらの程度はいずれもごく軽度であること、2.33 及び 7.0 mg/kg 群のそれらの出現頻度は対照群と比べて差がないことから、偶発的変化と判断される。

その他には、対照群、2.33 及び 7.0 mg/kg 群では、肺、気管、脾臓、舌下腺、顎下腺、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、下頸リンパ節、腸間膜リンパ節、腎臓、膀胱、卵巣、子宮、睪丸、下垂体、甲状腺、上皮小体、副腎、大脳、小脳、延髄、脊髄、坐骨神経、眼球、ハーダー腺、骨(胸骨・大腿骨)、骨髄(胸骨・大腿骨)及び乳腺に異常はみられなかった。

#### 14.2 雌死亡例及び瀕死例(Table 49, Appendix 49)

7.0 mg/kg 群の 8 例の死亡例では、各組織に死後変化が中等度に認められたが、その他に以下の組織学所見が得られた。

肺：鬱血が 8 例全例にみられ、その程度は軽度あるいは中等度であった。

肝臓：鬱血が 8 例全例にみられ、その程度は軽度あるいは中等度であった。

7.0 mg/kg 群の 2 例の瀕死例では、以下の組織学所見が得られた。

脾臓：髄外造血が 1 例にみられ、その程度はごく軽度であった。

#### 14.3. 回復期間終了時雌(Table 50, Appendix 50-1~50-4)

脾臓：対照群では、髄外造血が 4 例にみられ、その程度はごく軽度であった。0.78 mg/kg 群では、髄外造血が 2 例にみられ、その程度はごく軽度であった。2.33 mg/kg 群では、髄外造血が 3 例にみられ、その程度はごく軽度が 2 例と軽度が 1 例であった。7.0 mg/kg 群では、髄外造血が 1 例にみられ、その程度はごく軽度であった。なお、髄外造血は、7.0 mg/kg 群で対照群と比べて有意差はないものの低下傾向が認められた。

## II. 生殖発生毒性

### 1. 親動物の生殖発生

#### 1.1. 発情回数(Table 51, Appendix 51-1~51-4)

交配開始前の投与期間(14 日間)の発情回数は、各投与群とも対照群と比べて有意差はみられなかった。

#### 1.2. 交尾所要日数、交尾率、受胎雌数及び受胎率(Table 51, Appendix 51-1~51-4)

交尾率は、いずれの群とも 100%であった。交尾所要日数は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

不受胎雌は、対照群及び 0.78 mg/kg 群で各 1 例にみられた。受胎率は、各投与群とも対照群との間に有意差はみられなかった。

#### 1.3. 妊娠期間(Table 52, Appendix 52-1~52-4)

妊娠期間は、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では対照群と比べて有意差はみられなかった。

#### 1.4. 妊娠黄体数、着床数及び着床率(Table 52, Appendix 52-1~52-4)

各投与群とも、対照群と比べて妊娠黄体数、着床数及び着床率に有意差はみられなかった。

#### 1.5. 出産率、分娩状態及び哺育状態(Table 52 及び 53, Appendix 52-1~52-4 及び 53-1~53-4)

出産率は、対照群及び 2.33 mg/kg 群では 100%であった。0.78 mg/kg 群では、全新生児死亡母動物が 1 例に認められたため、出産率は 90.9%となつたが、対照群との間に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、死亡あるいは瀕死母動物が 10 例と全新生児死亡母動物が 1 例に認められたため、出産率は 8.3%であり、対照群と比べて有意な低値がみられた。

分娩状態の異常としては、0.78 mg/kg 群で分娩時間の延長が 1 例と 7.0 mg/kg 群で腔口からの著しい出血が 1 例にみられた。

哺育状態において、いずれの群とも異常はみられなかった。

## 2. 児動物( $F_1$ )

### 2.1. 総出産児数、死産児数、哺育 0 日の新生児数、哺育 0 日の性比、分娩率、児の産出率及び出生率(Table 52, Appendix 52-1~52-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて総出産児数、死産児数、哺育 0 日の新生児数、哺育 0 日の性比、分娩率、児の産出率及び出生率に有意差はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、分娩母動物数が 2 例と少なく、児動物( $F_1$ )の評価ができなかつた。

### 2.2. 児動物の一般状態、哺育 4 日の生存児数、哺育 4 日の性比、哺育 4 日の生存率及び外観異常(Table 52 及び 54, Appendix 52-1~52-4 及び 54-1~54-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて哺育 4 日の生存児数、哺育 4 日の性比及び哺育 4 日の生存率に有意差はみられなかつた。

新生児の外表異常としては、0.78 mg/kg 群で無尾と短尾が各 1 例にみられたが、対照群との間に有意差は認められず、いずれも自然発生例と考えられる。

児動物の一般状態において、いずれの群とも異常はみられなかった。

### 2.3. 児動物の体重(Table 55, Appendix 55-1~55-4)

0.78 及び 2.33 mg/kg 群では、対照群と比べて哺育 0 及び 4 日の雌雄別平均体重、哺育 0 及び 4 日の一腹平均体重、哺育 0 及び 4 日の一腹合計体重に有意差はみられなかった。

### 2.4. 死亡児の剖検(Table 56, Appendix 56-1 及び 56-2)

0.78 及び 7.0 mg/kg 群では、異常はみられなかった。

### 2.5. 生存児の剖検(Table 57, Appendix 57-1~57-4)

対照群、0.78 及び 7.0 mg/kg 群では、異常はみられなかった。2.33 mg/kg 群では、腎孟拡張が 1 例にみられたが、発現頻度が低いことから自然発生例と考えられる。

## 考察

2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験を行い、雌雄動物に対する毒性影響を検討するとともに、性腺機能、交尾行動、受胎及び分娩などの生殖行動に及ぼす影響について検討した。投与量は、7.0 mg/kg を高用量とし、以下 2.33 及び 0.78 mg/kg とした。

反復投与による毒性については、死亡例が試験群の 7.0 mg/kg 群で妊娠末期に雌 8 例、瀕死例が同群で妊娠末期に 2 例に認められた。死亡例及び瀕死例では、自発運動の低下、腹臥位、体温下降、呼吸困難、チアノーゼあるいは緩徐呼吸がみられた。死亡例の病理組織学検査では、肺及び肝臓に軽度あるいは中等度の鬱血が 8 例全例にみられた。ジニトロフェノールは、急性中毒では酸化代謝機構、次いで熱産生が刺激され、酸素消費量の増加、体温上昇、呼吸数及び心拍数の増加を呈し、循環性あるいは呼吸性ショックにより死に至ると考えられている<sup>4)</sup>。当試験においても、死亡例で循環性あるいは呼吸性ショックを示す一般状態の変化並びに肺及び肝臓に鬱血がみられたことから、死因は 2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール投与に基づく循環障害あるいは呼吸障害と考えられる。なお、死亡例及び瀕死例は、妊娠 19~21 日の妊娠末期にのみ認められ、雄及び非妊娠雌ではみられないことから、妊娠要因が付加的に作用していると考えられる。2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールのラットを用いる単回経口投与毒性試験<sup>5)</sup>では 50 mg/kg 投与により、ラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の予備試験<sup>6)</sup>では 10 mg/kg 投与により、死亡例の発現と当試験と同様の一般状態の変化がみられている。

一般状態の変化としては、各投与群の雌雄で流涎がみられたが、いずれも投与直後に一過性に認められたのみであり、痙攣などの神経症状あるいは唾液腺の形態学的変化は認められない

ことから、被験物質の刺激性に基づく変化と判断され、毒性症状とはみなさなかった。

体重は、7.0 mg/kg 群の雄で投与期間に低値、雌で交配開始前及び交配期間に低値がみられたが、回復期間には雌雄とも異常はみられなかった。

摂餌量は、2.33 及び 7.0 mg/kg 群の雄で投与期間に一過性の低値がみられた。

行動機能(FOB)、感覚反応、握力及び自発運動量では、投与に起因する変化はみられなかつた。

尿検査では、雌雄とも投与に起因する変化は認められなかつた。

血液学検査において、雄では投与期間終了時に 0.78 mg/kg 以上の投与群で赤血球数及びヘマトクリット値の高値あるいは高値傾向、2.33 mg/kg 以上の投与群でヘモグロビン量の高値、7.0 mg/kg 群で平均赤血球容積の高値がみられた。雌では、投与期間終了時に 0.78 及び 2.33 mg/kg 群で赤血球数の高値あるいは高値傾向がみられた。従って、雌雄とも 0.78 mg/kg 以上の投与群で多血症を呈していると考えられる。雌では、投与期間終了時に脾臓の髄外造血が対照群でごく軽度～中等度が 6 例全例、0.78 mg/kg 群でごく軽度～中等度が 6 例全例、2.33 mg/kg 群でごく軽度あるいは軽度が 6 例全例、7.0 mg/kg 群でごく軽度が 1 例にみられ、その程度は 2.33 及び 7.0 mg/kg 群で対照群に比べて弱かった。また、7.0 mg/kg 群の瀕死例では、脾臓の髄外造血はごく軽度に 1 例に認められた。従って、2.33 及び 7.0 mg/kg 群では脾臓の髄外造血は低下していると考えられる。妊娠雌は、元来貧血傾向を示し、髄外造血も旺盛であることが知られている。従って、当試験では、雌で雄に比べて明らかな影響が現れたものと考えられる。回復期間終了時には、雌で脾臓の髄外造血が対照群でごく軽度が 4 例、0.78 mg/kg 群でごく軽度が 2 例、2.33 mg/kg 群でごく軽度あるいは軽度が 3 例、7.0 mg/kg 群でごく軽度が 1 例にみられ、その出現頻度は 7.0 mg/kg 群で対照群に比べて低い傾向にあった。回復期間終了時には、血液学検査で多血傾向は認められないことからも、脾臓の髄外造血の低下は回復傾向にあると考えられる。2,4-ジニトロフェノールのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験<sup>6)</sup>においても、80 mg/kg 群の雄で多血症が報告され、脾臓における髄外造血の低下傾向は多血症に対する生体の適応性変化であり、多血症の成因はジニトロフェノール類の酸素消費量増加作用と関連した変化と考えられると報告している。当試験で用いた 2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールでも、酸素消費量増加により動脈血酸素飽和度の低下を来たし、エリスロポエチンの産生増加が起こり、その結果赤血球産生の増加が起きる(多血症)<sup>7)</sup>と考えられる。

血液生化学検査では、7.0 mg/kg 群の雄でクレアチニンの高値及び ALP の高値傾向がみられ、背景データの値(クレアチニン:0.29±0.04 mg/mL, ALP:433.9±129.5 mg/mL)と比べても高かかったが、病理組織学検査及び関連する他のパラメータに変化がみられないことから、それらの程度はごく軽微と考えられる。一方、雌では、投与に起因する変化は認められなかつた。

剖検及び器官重量において、雌雄とも投与に起因する変化は認められなかつた。

精子検査において、投与期間終了時に 7.0 mg/kg 群で運動精子率、前進精子率、最短距離移動速度、生存精子率及び生き残り精子率の低値あるいは低値傾向、精子頭部の振幅、総奇形精子率、尾部の奇形精子率及び頭部の奇形精子率の高値あるいは高値傾向がみられた。回復期間終了時には、7.0 mg/kg 群で生存精子率及び生き残り精子率の低値、総奇形精子率及び頭部の奇形精子率の高値がみられた。2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールを含むジニトルフェノー

ル系化学物質では、精子細胞以降の精子完成過程を障害することにより、精子の形態及び運動性に影響を及ぼすことが報告されている<sup>8,9)</sup>。当試験においても、精子の運動性、生存性及び形態に異常は認められるものの、精巢の病理組織学検査で精子形成に異常は認められず、精祖細胞及び精母細胞に対する障害性は確認できなかった。

病理組織学検査では、上述した雌の 2.33 及び 7.0 mg/kg 群における脾臓の髄外造血の低下の他には投与に起因する変化はみられなかった。

親動物の生殖発生毒性については、発情回数、交尾率、交尾所要日数、受胎雌数、受胎率、妊娠期間、分娩状態、哺育状態、妊娠黄体数、着床数及び着床率には、投与に起因する変化はみられなかった。7.0 mg/kg 群では、死亡あるいは瀕死母動物が 10 例と全新生児死亡母動物が 1 例に認められたため、出産率の低値がみられた。

児動物( $F_1$ )については、総出産児数、死産児数、哺育 0 日の新生児数、哺育 0 日の性比、分娩率、児の産出率及び出生率には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。一般状態、哺育 4 日の生存児数、哺育 4 日の性比及び哺育 4 日の生存率には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。外表観察において、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。体重には、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。剖検において、0.78 及び 2.33 mg/kg 群では投与に起因する変化はみられなかった。*2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール*のラット催奇性試験では、15 mg/kg 投与で母動物への毒性及び胎児死亡の増加が認められるものの、胎児に形態異常を生じさせないことが報告されている<sup>10)</sup>ことからも、*2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール*には催奇形成作用はないと考えられる。

以上のように、*2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール*の無影響量は、雄では 0.78 mg/kg 投与で赤血球数及びヘマトクリット値の高値が認められたことから 0.78 mg/kg/day 未満、雌では 0.78 mg/kg 投与で赤血球数の高値が認められたことから、0.78 mg/kg/day 未満と考えられる。また、生殖発生毒性学的な無影響量は、雄では 7.0 mg/kg 投与で精子の活動性及び精子の形態に影響が認められたことから 2.33 mg/kg/day、雌では 7.0 mg/kg 投与で出産率の低値がみられたことから 2.33 mg/kg/day と考えられる。児動物への無影響量は、2.33 mg/kg 投与で生存性及び体重などに影響が認められなかったことから 2.33 mg/kg/day と考えられる。

## 文献

- 1) 渡邊ゆかりほか：*2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノール調製液の安定性確認試験*(試験番号：401422P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 2) 古橋忠和ほか：*2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の予備試験*(試験番号：100422P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 3) Kato, M., et al.: Evaluation of mitochondrial function and membrane integrity by dual fluorescent staining for assessment of sperm status in rats. J Toxicol Sci 27: 11-18, 2002.

- 4) Beard, R.R. and Noe, J.T.: "Patty's Industrial Hygiene and Toxicology", pp. 2426-2427, 3, Vol. 2A, eds. by Clayton, G.D. and Clayton, F.E., Interscience Publishers, New York, 1981.
- 5) 古橋忠和ほか : 2-sec-ブチル-4,6-ジニトロフェノールのラットを用いる単回経口投与毒性試験(試験番号 : 401422)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)
- 6) 山本譲ほか : 2,4-ジニトロフェノールのラットを用いる 28 日間反復投与毒性試験, 化学物質毒性試験報告, 8:15-26(2001)
- 7) 獣医学大辞典編集委員会編 : 「獣医学大辞典」, 株式会社チクサン出版社, 1989.
- 8) 高橋研ほか : ジニトロフェノール系化学物質のラットにおける雄性生殖毒性, 第 25 回日本 Toxicology 学会抄録, 108(1998)
- 9) 高橋研ほか : 4,6-Dinitro-*o*-crezol 投与ラット精巣上体精子における形態異常の発現, 第 26 回日本 Toxicology 学会抄録, 276(1999)
- 10) Giavini, E., et al.: Effect of method of administration on the teratogenicity of dinoseb in the rat. Arch Environ Contam Toxicol 15: 377-384, 1986.

Table 1-1 General signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of administration																								
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of males	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
		Normal	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
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.33	Number of males	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
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7.0	Number of males	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
		Normal	12	12	12	10	12	7	12	11	12	10	12	8	12	6	12	6	12	6	12	5	12	9	12	9	12
		Salivation	0	0	0	2	0	5	0	1	0	2	0	4	0	6	0	6	0	6	0	7	0	9	0	6	0

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 1-2 General signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of administration																								
			14		15		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25		
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of males	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
		Normal	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Salivation	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.33	Number of males	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
		Normal	12	10	12	10	12	10	12	9	12	11	12	9	12	12	12	10	12	11	12	11	12	12	12	10	12
		Salivation	0	2	0	2	0	2	0	3	0	1	0	3	0	0	0	2	0	1	0	1	0	0	0	2	0
	7.0	Number of males	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
		Normal	12	6	12	4	12	6	12	6	12	6	12	5	12	8	12	7	12	7	12	7	12	6	12	6	12
		Salivation	0	6	0	8	0	6	0	6	0	6	0	7	0	4	0	5	0	5	0	5	0	6	0	6	0

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 1-3 General signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of administration																											
			27		28		29		30		31		32		33		34		35		36		37		38		39			
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post				
Control	0	Number of males	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			
		Normal	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			
phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of males	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		
		Normal	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		
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2.33	Number of males	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	
		Normal	12	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12	
		Salivation	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	7.0	Number of males	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	
		Normal	12	7	12	7	12	8	12	6	12	8	12	7	12	7	12	7	12	1	12	5	12	7	12	8	12	7	12	
		Salivation	0	5	0	5	0	4	0	6	0	4	0	5	0	5	0	5	0	11	0	7	0	5	0	4	0	5	0	5

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 1-4 General signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test  
of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of administration						Total <sup>a)</sup>	
			40		41		42			
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of males	12	12	12	12	12	12	12	
phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Normal	12	12	12	12	12	6	-	
		Salivation	12	12	12	12	12	6	-	
		0	0	0	0	0	0	0	1	
	2.33	Number of males	12	12	12	12	12	6	12	
		Normal	12	12	12	12	12	6	-	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	11	
	7.0	Number of males	12	12	12	12	12	6	12	
		Normal	12	10	12	4	12	8	6	
		Salivation	0	2	0	8	0	4	0	

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Number of males showing abnormal signs at least once between Days 1 and 43 of administration.

Table 1-5 General signs of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test  
of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of males and general signs	Days of recovery														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Control	0	Number of males Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of males Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	2.33	Number of males Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	7.0	Number of males Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Table 2-1 General signs of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration																											
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		14	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post				
Control	0	Number of females Normal	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			
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of females Normal	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			
	2.33	Number of females Normal Salivation	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			
	7.0	Number of females Normal Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
			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	12	12	11	12	11	12	11	12	7	12	11	12	7	12	11	12	10	12	9	12	7	12	9	12	
			0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	5	0	1	0	5	0	1	0	2	0	3	0	5	0	3	0	6

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 2-2 General signs of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration						Total <sup>a)</sup>		
			15*		16		17				
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post			
Control	0	Number of females	12	12	8	8	5	5	2	2	12
		Normal	12	12	8	8	5	5	2	2	-
phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of females	12	12	9	9	6	6	3	3	12
		Normal	12	12	9	9	6	6	3	3	-
	2.33	Number of females	12	12	9	9	4	4	4	4	12
		Normal	12	9	9	9	4	4	4	4	-
		Salivation	0	3	0	0	0	0	0	0	5
	7.0	Number of females	12	12	8	8	6	6	4	4	12
		Normal	12	7	8	6	6	3	4	1	-
		Salivation	0	5	0	2	0	3	0	3	11

Pre: Before administration, Post: after administration.

\*: Commencement of pairing.

a): Number of females showing abnormal signs at least once between Days 1 and 18 of administration.

Table 3-1 General signs of dams during pregnancy in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of dams and general signs	Days of pregnancy																										
			0		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13
Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	
	2.33	Number of dams	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	
		Normal	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	
		Salivation	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7.0	Number of dams	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	
		Normal	12	9	12	7	12	9	12	8	12	7	12	7	12	10	12	9	12	7	12	11	12	10	12	6	12	10	
		Salivation	0	3	0	5	0	3	0	3	0	4	0	5	0	5	0	2	0	3	0	5	0	1	0	2	0	6	0
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Prone position	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Dyspnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Cyanosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Bradypnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 3-2 General signs of dams during pregnancy in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of dams and general signs	Days of pregnancy																								Total <sup>a)</sup>
			14		15		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25		
Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	2	0	0	0	0	0	0	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	2	-	-	-	-	-	-	-
phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	2	1	1	1	1	0	0	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	2	2	1	1	1	1	1	-	-
	2.33	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	3	3	0	0	0	0	12
		Normal	12	10	12	12	12	11	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11	11	3	3	-	-	-	-	-
		Salivation	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	3
	7.0	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	5	4	4	3	2	0	0	0	0	0	12
		Normal	12	9	12	7	12	10	12	8	12	5	5	2	4	2	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	
		Salivation	0	3	0	5	0	2	0	4	0	7	0	3	0	2	0	1	-	-	-	-	-	-	-	12	
		Decrease in locomotor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	8	
		Prone position	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	5	
		Hypothermia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	3	
		Dyspnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	2	
		Cyanosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	2	
		Bradypnea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	1	
		Death	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	1	0	-	-	-	-	-	-	8	

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Number of dams showing abnormal signs at least once between Days 0 and 25 of pregnancy.

Table 4 General signs of dams during lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of dams and general signs	Days of lactation													
			0		1		2		3		4		5		6	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Control	0	Number of dams	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
		Normal	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of dams	11	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
		Normal	11	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	2.33	Number of dams	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
		Normal	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	7.0	Number of dams	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Normal	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 5-1 General signs of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration																									
			1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of females	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	
		Normal	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	
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of females	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	
		Normal	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	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2.33	Number of females	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	
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
7.0	Number of females	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		
		Normal	6	6	6	6	6	5	6	6	6	4	6	4	6	2	6	4	6	3	6	3	6	3	6	1		
		Salivation	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	2	0	4	0	2	0	3	0	3	0	3	0	5		

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 5-2 General signs of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration																							
			14		15		16		17		18		19		20		21		22		23		24		25	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Control	0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	5	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Salivation	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.33	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	7.0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	2	6	3	6	2	6	2	6	3	6	3	6	4	6	4	6	2	6	4	6	4	6	4
		Salivation	0	4	0	3	0	4	0	4	0	3	0	3	0	2	0	2	0	4	0	2	0	2	0	2

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 5-3 General signs of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration																									
			27		28		29		30		31		32		33		34		35		36		37		38		39	
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	2.33	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		Salivation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	7.0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6		
		Normal	6	3	6	4	6	3	6	5	6	4	6	3	6	4	6	3	6	2	6	4	6	4	6	4		
		Salivation	0	3	0	2	0	3	0	1	0	2	0	3	0	2	0	3	0	4	0	2	0	2	0	2		

Pre: Before administration, Post: after administration.

Table 5-4 General signs of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of administration						Total <sup>a)</sup>	
			40		41		42			
			Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post		
Control	0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	
		Normal	6	6	6	6	6	6	-	
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	
		Normal	6	6	6	6	6	6	-	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	1	
	2.33	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	
		Normal	6	6	6	6	6	6	-	
		Salivation	0	0	0	0	0	0	1	
	7.0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	
		Normal	6	6	6	6	6	4	-	
		Salivation	0	0	0	0	0	2	6	

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Number of females showing abnormal signs at least once between Days 1 and 42 of administration.

Table 5-5 General signs of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Days of recovery														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Control	0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	2.33	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	7.0	Number of females	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
		Normal	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

Table 6 Body weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	12	12	12	12	
Days of administration					
1	362 ± 13	363 ± 11	361 ± 13	363 ± 13	
4	368 ± 15	370 ± 13	365 ± 16	360 ± 16	
8	380 ± 16	385 ± 15	378 ± 17	369 ± 16	
11	388 ± 18	392 ± 14	385 ± 21	371 ± 18	
15	398 ± 18	403 ± 16	394 ± 21	384 ± 18	
18	403 ± 22	410 ± 13	399 ± 22	383 ± 15 *	
22	416 ± 22	420 ± 14	410 ± 24	393 ± 16 *	
25	426 ± 26	427 ± 14	419 ± 25	399 ± 17 **	
29	438 ± 28	438 ± 17	431 ± 27	409 ± 19 *	
32	448 ± 28	448 ± 17	440 ± 27	416 ± 21 **	
36	458 ± 28	460 ± 19	450 ± 31	428 ± 20 *	
39	464 ± 28	469 ± 20	457 ± 31	435 ± 22 *	
42	468 ± 27	471 ± 22	461 ± 31	437 ± 24 *	
Number of males	6	6	6	6	
Days of recovery					
1	464 ± 33	470 ± 17	461 ± 19	444 ± 17	
4	469 ± 34	478 ± 17	465 ± 22	454 ± 20	
8	477 ± 30	488 ± 19	474 ± 26	470 ± 23	
11	481 ± 26	492 ± 22	479 ± 27	478 ± 21	
14	483 ± 23	499 ± 21	487 ± 30	488 ± 23	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01).

Table 7 Body weights of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	12	12	12	12	
Days of administration					
1	251 ± 9	250 ± 8	250 ± 9	251 ± 9	
4	256 ± 10	251 ± 11	253 ± 12	250 ± 10	
8	263 ± 12	259 ± 15	260 ± 11	253 ± 11	
11	267 ± 11	262 ± 14	263 ± 12	255 ± 11 *	
15	276 ± 11	268 ± 14	271 ± 12	261 ± 11 *	
18	283 (2)	280 ± 17 (3)	282 ± 9 (4)	275 ± 16 (4)	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Figures in parentheses indicate number of females.

Table 8 Body weights of dams during pregnancy in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of dams	11	11	12	12	
Days of pregnancy					
0	277 ± 12	272 ± 16	276 ± 11	266 ± 15	
7	313 ± 13	307 ± 16	311 ± 10	304 ± 15	
14	347 ± 14	341 ± 16	347 ± 9	342 ± 16	
21	437 ± 24	421 ± 42	433 ± 20	404	(2)

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 9 Body weights of dams during lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0	
Number of dams	11	11	12	2	
Days of lactation					
0	328 ± 16	317 ± 34	335 ± 14	309	
4	337 ± 17	332 ± 16 (10)	332 ± 14	329 (1)	
6	322 ± 15	317 ± 14 (10)	321 ± 13	323 (1)	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 10 Body weights of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	6	
Days of administration					
1	251 ± 7	250 ± 7	252 ± 6	252 ± 6	
4	262 ± 8	257 ± 10	263 ± 6	254 ± 7	
8	267 ± 11	266 ± 12	275 ± 7	267 ± 10	
11	267 ± 13	270 ± 10	277 ± 6	269 ± 7	
15	277 ± 16	278 ± 10	285 ± 6	274 ± 7	
18	279 ± 17	280 ± 10	289 ± 6	280 ± 7	
22	283 ± 16	288 ± 10	298 ± 9	288 ± 6	
25	292 ± 14	294 ± 7	304 ± 8	296 ± 9	
29	296 ± 16	299 ± 8	309 ± 7	298 ± 7	
32	301 ± 16	303 ± 9	315 ± 10	302 ± 10	
36	304 ± 18	307 ± 9	323 ± 10 *	307 ± 10	
39	304 ± 21	311 ± 7	328 ± 10 **	312 ± 7	
42	306 ± 21	314 ± 7	329 ± 9 **	313 ± 6	
Number of females	6	6	6	6	
Days of recovery					
1	306 ± 22	315 ± 8	330 ± 10 *	313 ± 8	
4	308 ± 22	318 ± 7	333 ± 11 *	320 ± 8	
8	316 ± 25	322 ± 6	341 ± 11 *	327 ± 9	
11	315 ± 25	320 ± 8	341 ± 14 *	326 ± 10	
14	319 ± 26	327 ± 12	350 ± 15 *	333 ± 12	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01).

Table 11 Food consumption of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-			
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0		
Number of males	12	12	12	12		
Days of administration						
2	20 ± 2	20 ± 2	17 ± 3 *	17 ± 2 *		
5	21 ± 3	21 ± 2	20 ± 2	23 ± 2		
9	21 ± 3	21 ± 2	21 ± 3	23 ± 4		
12	20 ± 3	21 ± 2	21 ± 2	24 ± 2 **		
30	21 ± 2	20 ± 2	21 ± 2	23 ± 3		
33	21 ± 2	21 ± 3	21 ± 2	24 ± 3 **		
37	20 ± 2	21 ± 3	19 ± 2	23 ± 2 *		
40	22 ± 2	21 ± 2	22 ± 3	24 ± 2 *		
Number of males	6	6	6	6		
Days of recovery						
2	22 ± 2	22 ± 2	21 ± 2	25 ± 2 *		
5	24 ± 2	24 ± 2	25 ± 3	25 ± 3		
9	26 ± 3	24 ± 3	25 ± 4	27 ± 2		
12	22 ± 3	25 ± 3	27 ± 2 **	27 ± 1 **		

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01).

Table 12 Food consumption of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	12	12	12	12	
Days of administration					
2	13 ± 2	15 ± 3	15 ± 1	14 ± 2	
5	15 ± 3	16 ± 4	15 ± 2	16 ± 3	
9	13 ± 2	14 ± 3	13 ± 3	17 ± 3 **	
12	16 ± 4	16 ± 3	17 ± 3	18 ± 3	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control group (\*\*: P<0.01).

Table 13 Food consumption of dams during pregnancy in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of dams	11	11	12	12	
Days of pregnancy					
2	18 ± 2	18 ± 2	18 ± 1	22 ± 3 **	
9	19 ± 2	19 ± 2	19 ± 2	23 ± 2 **	
16	19 ± 2	20 ± 2	21 ± 2	23 ± 3 **	
20	19 ± 2	17 ± 5	20 ± 3	19 ± 5 (4)	

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control group (\*\*: P<0.01).

Figures in parentheses indicate number of dams.

Table 14 Food consumption of dams during lactation in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of dams	11	10	12	1
Days of lactation	2	23 ± 3	22 ± 4	21 ± 4
				13

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Table 15 Food consumption of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-			
	0	0.78	2.33	7.0		
Number of females	6	6	6	6		
Days of administration						
2	14 ± 4	13 ± 3	14 ± 2	14 ± 2		
5	16 ± 3	16 ± 3	17 ± 4	17 ± 2		
9	15 ± 3	13 ± 4	15 ± 3	17 ± 2		
12	15 ± 2	16 ± 3	16 ± 2	18 ± 3		
16	16 ± 3	17 ± 3	15 ± 1	18 ± 2		
19	15 ± 4	18 ± 2	17 ± 2	21 ± 3 **		
23	12 ± 3	16 ± 2 *	15 ± 2	16 ± 2 *		
26	14 ± 4	16 ± 3	15 ± 2	19 ± 3 *		
30	13 ± 4	15 ± 2	16 ± 2	18 ± 2 **		
33	15 ± 2	15 ± 3	16 ± 3	19 ± 3 *		
37	12 ± 2	13 ± 3	13 ± 2	17 ± 2 **		
40	15 ± 3	15 ± 2	17 ± 2	19 ± 6		
Number of females	6	6	6	6		
Days of recovery						
2	16 ± 2	15 ± 4	18 ± 4	19 ± 4		
5	19 ± 1	21 ± 2	22 ± 2 *	24 ± 2 **		
9	17 ± 3	17 ± 4	21 ± 2	22 ± 2 *		
12	17 ± 2	19 ± 2	20 ± 2	22 ± 3 *		

Each value shows mean (g/day) ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P&lt;0.05, \*\*: P&lt;0.01).

Table 16-1 FOB of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-			
		0	0.78	2.33	7.0
Number of males	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Posture	Pre	2.2 (2-3)	2.2 (2-3)	2.2 (2-3)	2.3 (2-3)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 28	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 35	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 41	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Palpebral closure	Pre	1.2 (1-3)	1.0 (1)	1.3 (1-3)	1.3 (1-3)
Mean (range)	Day 7	1.4 (1-3)	1.8 (1-3)	1.1 (1-2)	1.5 (1-3)
	Day 14	1.3 (1-3)	1.7 (1-3)	1.0 (1)	1.3 (1-3)
	Day 21	1.2 (1-3)	1.6 (1-3)	1.5 (1-3)	1.3 (1-3)
	Day 28	1.2 (1-3)	1.5 (1-3)	1.2 (1-3)	1.3 (1-3)
	Day 35	1.2 (1-3)	1.3 (1-3)	1.3 (1-3)	1.3 (1-3)
	Day 41	1.1 (1-2)	1.5 (1-3)	1.0 (1)	1.3 (1-3)
Biting behavior	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Clonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Findings were graded as follows

Posture

1: Prone or recumbent position, 2: resting normally, 3: moving or running about, 4: jumping.

Palpebral closure

1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Biting behavior

1: Not observed, 2: observed.

Clonic convulsions

1: Not observed, 2: jaw convulsions, 3: tremor.

Table 16-2 FOB of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	12	12	12	12	
Observation of animals in cages					
Tonic convulsions Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Findings were graded as follows

Tonic convulsions

1: Not observed, 2: tonic extension, 3: opisthotonus convulsions, 4: saltatory convulsions, 5: asphyxial convulsions.

Table 16-3 FOB of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	12	12	12	12	
<b>Observation of animals on observer's palm</b>					
Ease of removal from cage	Pre	1.7 (1-2)	1.4 (1-2)	1.6 (1-2)	1.8 (1-2)
Mean (range)	Day 7	1.9 (1-2)	1.8 (1-2)	1.5 (1-2)	1.8 (1-2)
	Day 14	1.7 (1-2)	1.8 (1-2)	1.6 (1-2)	1.7 (1-2)
	Day 21	1.3 (1-2)	1.2 (1-2)	1.2 (1-2)	1.3 (1-2)
	Day 28	1.8 (1-2)	1.7 (1-2)	1.5 (1-2)	1.6 (1-2)
	Day 35	1.0 (1)	1.2 (1-2)	1.2 (1-2)	1.3 (1-2)
	Day 41	1.5 (1-2)	1.4 (1-2)	1.3 (1-2)	1.8 (1-2)
Ease of handling	Pre	1.4 (1-2)	1.8 (1-2)	1.5 (1-2)	1.5 (1-2)
Mean (range)	Day 7	1.6 (1-2)	1.9 (1-2)	1.5 (1-2)	1.6 (1-2)
	Day 14	1.5 (1-2)	1.6 (1-2)	1.7 (1-2)	1.7 (1-2)
	Day 21	1.3 (1-2)	1.3 (1-2)	1.3 (1-2)	1.4 (1-2)
	Day 28	1.8 (1-2)	1.8 (1-2)	1.8 (1-2)	1.9 (1-2)
	Day 35	1.4 (1-2)	1.3 (1-2)	1.6 (1-2)	1.6 (1-2)
	Day 41	1.3 (1-2)	1.3 (1-2)	1.6 (1-2)	1.4 (1-2)
Muscle tone	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 7	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 14	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 21	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 28	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 35	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 41	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Fur conditions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Findings were graded as follows

Ease of removal from cage

1: Docile and allowing itself to be handled, 2: rearing or cowering, 3: running about; hard to catch.

Ease of handling

1: Docile and allowing itself to be handled, 2: struggling slightly or vocalizing, 3: struggling and trying to bite observer's hand.

Muscle tone

1: Decreased, 2: normal, 3: increased.

Fur conditions

1: Normal, 2: slightly soiled, 3: markedly soiled.

Table 16-4 FOB of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	12	12	12	12	
<b>Observation of animals on observer's palm</b>					
Lacration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Salivation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 14	1.0 (1)	1.1 (1-2)	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (1-2)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (1-2)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (1-2)*
Respiration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Findings were graded as follows

Lacration

1: None, 2: mild, 3: marked.

Salivation

1: None, 2: mild, 3: marked.

Respiration

1: Normal, 2: bradypnea, 3: dyspnea.

Table 16-5 FOB of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		7.0
	0	0.78	2.33	12	
Number of males	12	12	12	12	
<b>Open-field test</b>					
Frequency of rearing Mean ± S.D.	Pre	6.4 ± 3.4	7.4 ± 4.2	7.6 ± 5.3	7.4 ± 5.2
	Day 7	4.1 ± 3.8	4.4 ± 2.8	5.2 ± 3.8	6.8 ± 4.4
	Day 14	4.9 ± 3.4	3.9 ± 3.6	5.7 ± 4.5	5.8 ± 5.3
	Day 21	3.7 ± 3.9	3.7 ± 4.4	3.0 ± 3.0	2.2 ± 3.1
	Day 28	3.8 ± 3.3	1.9 ± 2.6	4.2 ± 3.8	3.2 ± 4.5
	Day 35	4.3 ± 2.6	4.3 ± 3.8	5.5 ± 5.0	5.9 ± 5.2
	Day 41	4.0 ± 4.3	3.1 ± 3.8	4.6 ± 3.3	4.5 ± 5.4
Frequency of grooming Mean ± S.D.	Pre	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 14	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 21	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 28	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 35	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 41	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Gait Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Palpebral closure Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 7	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 14	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 21	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 28	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 35	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 41	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Frequency of rearing (during a 2-minute period).

Frequency of grooming (during a 2-minute period).

Findings were graded as follows

Gait

1: Normal, 2: unmoving, 3: staggering, 4: hind-limbs extended and dragged, 5: all fours extended,  
6: forelimbs extended and dragged; unable to support body, 7: standing on tiptoe.

Palpebral closure

1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Table 16-6 FOB of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-			
		0.78	2.33	7.0	
Number of males	12	12	12	12	
<b>Open-field test</b>					
Consciousness Mean (range)	Pre Day 7 Day 14 Day 21 Day 28 Day 35 Day 41	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)
Behavioral abnormalities Mean (range)	Pre Day 7 Day 14 Day 21 Day 28 Day 35 Day 41	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)
Righting reflex Mean (range)	Pre Day 7 Day 14 Day 21 Day 28 Day 35 Day 41	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)

Findings were graded as follows

Consciousness

1: Comatose; no response, 2: exploring behavior, 3: excited and moving spasmodically.

Behavioral abnormalities

1: Not observed, 2: straub's reaction, 3: moving backward, 4: writhing.

Righting reflex

1: Righting itself immediately, 2: requiring 3 seconds or longer to right itself, 3: unable to right itself.

Table 17-1 FOB of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test  
of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group		Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	
mg/kg		0	2.33	7.0
Number of females		12	12	12
Observation of animals in cages				
Posture	Pre	2.1 (2-3)	2.3 (2-3)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 8	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 15	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 1 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)
	Day 8 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)
	Day 15 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)
	Day 3 of lactation	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [10]	2.0 (2) [1]
Palpebral closure	Pre	1.1 (1-2)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.4 (1-3)	1.8 (1-3)	1.2 (1-3)
	Day 15	1.2 (1-3)	1.3 (1-3)	1.1 (1-2)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.4 (1-3) [11]	1.2 (1-3)
	Day 8 of pregnancy	1.3 (1-3) [11]	1.9 (1-3) [11]	1.4 (1-3)
	Day 15 of pregnancy	1.4 (1-3) [11]	1.5 (1-3) [11]	1.4 (1-3)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.3 (1-2) [10]	1.0 (1) [1]
Biting behavior	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1) [1]
Clonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1) [1]

Figures in parentheses [ ] indicate number of females.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Findings were graded as follows

Posture 1: Prone or recumbent position, 2: resting normally, 3: moving or running about, 4: jumping.

Palpebral closure 1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Biting behavior 1: Not observed, 2: observed.

Clonic convulsions 1: Not observed, 2: jaw convulsions, 3: tremor.

Table 17-2 FOB of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test  
of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0
Number of females	12	12	12	12
Observation of animals in cages				
Tonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1) [1]

Figures in parentheses [ ] indicate number of females.

Findings were graded as follows

Tonic convulsions

1: Not observed, 2: tonic extension, 3: opisthotonus convulsions, 4: saltatory convulsions, 5: asphyxial convulsions.

Table 17-3 FOB of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-	
	0	0.78	2.33	7.0
Number of females	12	12	12	12
Observation of animals on observer's palm				
Ease of removal from cage	Pre	1.8 (1-2)	1.9 (1-2)	1.9 (1-2)
Mean (range)	Day 8	1.5 (1-2)	1.4 (1-2)	1.3 (1-2)
	Day 15	1.8 (1-2)	1.7 (1-2)	1.6 (1-2)
	Day 1 of pregnancy	1.5 (1-2) [11]	1.6 (1-2) [11]	1.4 (1-2)
	Day 8 of pregnancy	1.5 (1-2) [11]	1.2 (1-2) [11]	1.5 (1-2)
	Day 15 of pregnancy	1.5 (1-2) [11]	1.7 (1-2) [11]	1.6 (1-2)
	Day 3 of lactation	1.7 (1-2) [11]	1.4 (1-2) [10]	1.3 (1-2)
Ease of handling	Pre	1.8 (1-2)	2.0 (2)	1.9 (1-2)
Mean (range)	Day 8	1.6 (1-2)	1.5 (1-2)	1.4 (1-2)
	Day 15	1.6 (1-2)	1.4 (1-2)	1.7 (1-2)
	Day 1 of pregnancy	1.4 (1-2) [11]	1.5 (1-2) [11]	1.5 (1-2)
	Day 8 of pregnancy	1.8 (1-2) [11]	1.5 (1-2) [11]	1.4 (1-2)
	Day 15 of pregnancy	1.9 (1-2) [11]	1.7 (1-2) [11]	1.7 (1-2)
	Day 3 of lactation	1.7 (1-2) [11]	1.1 (1-2) ** [10]	1.3 (1-2)
Muscle tone	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 8	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 15	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 1 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)
	Day 8 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)
	Day 15 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)
	Day 3 of lactation	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [10]	2.0 (2)
Fur conditions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1)

Figures in parentheses [ ] indicate number of females.

Significantly different from control group (\*\*: P<0.01).

Findings were graded as follows

Ease of removal from cage

1: Docile and allowing itself to be handled, 2: rearing or cowering, 3: running about; hard to catch.

Ease of handling

1: Docile and allowing itself to be handled, 2: struggling slightly or vocalizing, 3: struggling and trying to bite observer's hand.

Muscle tone

1: Decreased, 2: normal, 3: increased.

Fur conditions

1: Normal, 2: slightly soiled, 3: markedly soiled.

Table 17-4 FOB of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test  
of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	12	12	12	12	
<b>Observation of animals on observer's palm</b>					
Lacrimation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1)	1.0 (1) [1]
Salivation	Prc	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.1 (1-2)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1)	1.0 (1) [1]
Respiration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1)	1.0 (1) [1]

Figures in parentheses [ ] indicate number of females.

Findings were graded as follows

Lacrimation 1: None, 2: mild, 3: marked.

Salivation 1: None, 2: mild, 3: marked.

Respiration 1: Normal, 2: bradypnea, 3: dyspnea.

Table 17-5 FOB of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		7.0
	0	0.78	2.33	12	
Number of females	12	12	12	12	
<b>Open-field test</b>					
Frequency of rearing Mean ± S.D.	Pre	9.9 ± 3.9	8.8 ± 3.9	9.4 ± 3.6	8.3 ± 3.7
	Day 8	11.5 ± 4.2	8.9 ± 2.0	9.8 ± 5.5	7.3 ± 3.4
	Day 15	10.1 ± 5.3	11.9 ± 5.4	11.3 ± 7.7	7.9 ± 3.4
	Day 1 of pregnancy	6.6 ± 4.6	[11]	6.7 ± 4.1	3.9 ± 2.9
	Day 8 of pregnancy	6.5 ± 3.0	[11]	6.8 ± 5.1	5.1 ± 2.8
	Day 15 of pregnancy	5.3 ± 3.6	[11]	6.1 ± 3.2	4.2 ± 3.5
	Day 3 of lactation	8.2 ± 6.5	[11]	9.3 ± 5.9	9.0 [1]
Frequency of grooming Mean ± S.D.	Pre	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 8	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 15	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.7	0.0 ± 0.0
	Day 1 of pregnancy	0.0 ± 0.0	[11]	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 8 of pregnancy	0.0 ± 0.0	[11]	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0
	Day 15 of pregnancy	0.0 ± 0.0	[11]	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Day 3 of lactation	0.1 ± 0.3	[11]	0.1 ± 0.3	0.0 [1]
Gait Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1) [1]
Palpebral closure Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1)	[11]	1.0 (1)	1.0 (1) [1]

Figures in parentheses [ ] indicate number of females.

Frequency of rearing (during a 2-minute period).

Frequency of grooming (during a 2-minute period).

Findings were graded as follows

Gait                    1: Normal, 2: unmoving, 3: staggering, 4: hind-limbs extended and dragged, 5: all fours extended,  
6: forelimbs extended and dragged; unable to support body, 7: standing on tiptoe.

Palpebral closure      1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Table 17-6 FOB of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	12	12	12	12	
<b>Open-field test</b>					
Consciousness	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Mean (range)	Day 8	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 15	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 1 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 8 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 15 of pregnancy	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [11]	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 3 of lactation	2.0 (2) [11]	2.0 (2) [10]	2.0 (2)	2.0 (2) [1]
Behavioral abnormalities	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1)	1.0 (1) [1]
Righting reflex	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 1 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15 of pregnancy	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [11]	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 3 of lactation	1.0 (1) [11]	1.0 (1) [10]	1.0 (1)	1.0 (1) [1]

Figures in parentheses [ ] indicate number of females.

Findings were graded as follows

Consciousness

1: Comatose; no response, 2: exploring behavior, 3: excited and moving spasmodically.

Behavioral abnormalities

1: Not observed, 2: straub's reaction, 3: moving backward, 4: writhing.

Righting reflex

1: Righting itself immediately, 2: requiring 3 seconds or longer to right itself, 3: unable to right itself.

Table 18-1 FOB of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	6	
Observation of animals in cages					
Posture	Pre	2.3 (2-3)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.2 (2-3)
Mean (range)	Day 8	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 15	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 22	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 29	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 36	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 42	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Palpebral closure	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (1-3)	1.2 (1-2)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.3 (1-3)	1.3 (1-3)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.7 (1-3)	1.3 (1-3)
	Day 22	1.0 (1)	1.2 (1-2)	1.3 (1-3)	1.2 (1-2)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (1-2)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.2 (1-2)	1.5 (1-3)	1.5 (1-3)
Biting behavior	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Clonic convulsions	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Findings were graded as follows

Posture

1: Prone or recumbent position, 2: resting normally, 3: moving or running about, 4: jumping.

Palpebral closure

1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Biting behavior

1: Not observed, 2: observed.

Clonic convulsions

1: Not observed, 2: jaw convulsions, 3: tremor.

Table 18-2 FOB of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of females	6	6	6	6
Observation of animals in cages				
Tonic convulsions				
Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Findings were graded as follows

Tonic convulsions

1: Not observed, 2: tonic extension, 3: opisthotonus convulsions, 4: saltatory convulsions, 5: asphyxial convulsions.

Table 18-3 FOB of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-			
Number of females	0	0.78	2.33	7.0	
Observation of animals on observer's palm					
Ease of removal from cage Mean (range)	Pre Day 8 Day 15 Day 22 Day 29 Day 36 Day 42	2.0 (2) 1.5 (1-2) 1.7 (1-2) 1.7 (1-2) 1.3 (1-2) 1.7 (1-2) 1.5 (1-2)	2.0 (2) 1.7 (1-2) 1.5 (1-2) 1.3 (1-2) 1.3 (1-2) 1.3 (1-2) 1.3 (1-2)	1.8 (1-2) 1.3 (1-2) 1.3 (1-2) 1.5 (1-2) 1.7 (1-2) 1.3 (1-2) 1.8 (1-2)	2.0 (2) 1.8 (1-2) 1.3 (1-2) 1.7 (1-2) 1.7 (1-2) 1.7 (1-2) 1.7 (1-2)
Ease of handling Mean (range)	Pre Day 8 Day 15 Day 22 Day 29 Day 36 Day 42	2.0 (2) 2.0 (2) 1.3 (1-2) 1.7 (1-2) 1.8 (1-2) 1.8 (1-2) 1.3 (1-2)	2.0 (2) 1.8 (1-2) 1.3 (1-2) 1.5 (1-2) 1.8 (1-2) 1.7 (1-2) 1.7 (1-2)	2.0 (2) 1.5 (1-2) 1.3 (1-2) 1.5 (1-2) 1.7 (1-2) 1.8 (1-2) 2.0 (2)	2.0 (2) 1.7 (1-2) 1.3 (1-2) 1.7 (1-2) 1.8 (1-2) 2.0 (2) 1.7 (1-2)
Muscle tone Mean (range)	Pre Day 8 Day 15 Day 22 Day 29 Day 36 Day 42	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)	2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2) 2.0 (2)
Fur conditions Mean (range)	Pre Day 8 Day 15 Day 22 Day 29 Day 36 Day 42	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)	1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1) 1.0 (1)

Findings were graded as follows

Ease of removal from cage

1: Docile and allowing itself to be handled, 2: rearing or cowering, 3: running about; hard to catch.

Ease of handling

1: Docile and allowing itself to be handled, 2: struggling slightly or vocalizing, 3: struggling and trying to bite observer's hand.

Muscle tone

1: Decreased, 2: normal, 3: increased.

Fur conditions

1: Normal, 2: slightly soiled, 3: markedly soiled.

Table 18-4 FOB of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	6	
Observation of animals on observer's palm					
Lacration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Salivation	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (1-2)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (1-2)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (1-2)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.2 (1-2)
Respiration	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Mean (range)	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Findings were graded as follows

Lacration

1: None, 2: mild, 3: marked.

Salivation

1: None, 2: mild, 3: marked.

Respiration

1: Normal, 2: bradypnea, 3: dyspnea.

Table 18-5 FOB of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-			
	0	0.78	2.33	7.0		
Number of females	6	6	6	6		
<b>Open-field test</b>						
Frequency of rearing Mean ± S.D.	Pre	12.3 ± 5.2	15.0 ± 4.1	8.2 ± 2.8	13.2 ± 3.0	
	Day 8	9.3 ± 5.8	11.3 ± 5.0	8.3 ± 3.7	11.8 ± 3.3	
	Day 15	4.2 ± 2.7	9.3 ± 7.7	4.2 ± 3.5	5.0 ± 2.5	
	Day 22	8.7 ± 3.7	8.8 ± 4.5	6.2 ± 5.5	4.8 ± 4.0	
	Day 29	6.5 ± 4.8	7.3 ± 4.9	5.5 ± 4.7	6.5 ± 2.3	
	Day 36	5.3 ± 5.3	11.0 ± 6.6	7.7 ± 5.5	7.8 ± 5.2	
	Day 42	9.7 ± 3.4	9.0 ± 5.3	10.0 ± 6.8	9.2 ± 3.2	
Frequency of grooming Mean ± S.D.	Pre	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
	Day 8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.5 ± 1.2	
	Day 15	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
	Day 22	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
	Day 29	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
	Day 36	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4	
	Day 42	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
Gait Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
Palpebral closure Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	

Frequency of rearing (during a 2-minute period).

Frequency of grooming (during a 2-minute period).

Findings were graded as follows

Gait

1: Normal, 2: unmoving, 3: staggering, 4: hind-limbs extended and dragged, 5: all fours extended,  
6: forelimbs extended and dragged; unable to support body, 7: standing on tiptoe.

Palpebral closure

1: Eyelids open normally, 2: eyelids half-closed, 3: eyelids closed.

Table 18-6 FOB of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	6	
<b>Open-field test</b>					
Consciousness Mean (range)	Pre	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 8	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 15	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 22	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 29	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 36	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
	Day 42	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Behavioral abnormalities Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Righting reflex Mean (range)	Pre	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 8	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 15	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 22	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 29	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 36	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
	Day 42	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)

Findings were graded as follows

Consciousness

1: Comatose; no response, 2: exploring behavior, 3: excited and moving spasmodically.

Behavioral abnormalities

1: Not observed, 2: straub's reaction, 3: moving backward, 4: writhing.

Righting reflex

1: Righting itself immediately, 2: requiring 3 seconds or longer to right itself, 3: unable to right itself.

Table 19 Sensory response of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
		0.78	2.33	7.0
Number of males	6	6	6	6
Pupillary reflex				
Mean (range)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Approaching behavior				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Response to touch				
Mean (range)	2.3 (2-3)	2.0 (2)	2.2 (2-3)	2.2 (2-3)
Auditory reflex				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Pain reflex				
Mean (range)	3.3 (3-5)	3.0 (3)	3.0 (3)	3.0 (3)

06

Pupillary reflex 1: Normal pupillary contraction observed, 2: pupils completely dilated, 3: pupils completely contracted.

Approaching behavior 1: Not observed, 2: approaching and sniffing stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing, 4: jumping at or biting at stimulus.

Response to touch 1: No response, 2: looking back and leaving stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing, 4: jumping at or biting at stimulus.

Auditory reflex 1: Not observed, 2: hesitating at stimulus or moving ears, 3: jumping at and trying to bite at the source of sound.

Pain reflex 1: Not observed, 2: slowly looking back or slowly moving forward to escape from stimulus, 3: quickly moving forward to escape from stimulus or biting at it immediately after looking back, 4: jumping forward to escape from stimulus, 5: loudly vocalizing and biting at stimulus after suddenly looking back.

Table 20 Sensory response of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
		0.78	2.33	7.0
Number of females	6	6	6	1
Pupillary reflex				
Mean (range)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)	1.0 (1)
Approaching behavior				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Response to touch				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.2 (2-3)	2.0 (2)
Auditory reflex				
Mean (range)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)	2.0 (2)
Pain reflex				
Mean (range)	3.0 (3)	3.0 (3)	3.0 (3)	3.0 (3)

Pupillary reflex     1: Normal pupillary contraction observed, 2: pupils completely dilated, 3: pupils completely contracted.  
 Approaching behavior     1: Not observed, 2: approaching and sniffing stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing,  
                                 4: jumping at or biting at stimulus.  
 Response to touch     1: No response, 2: looking back and leaving stimulus, 3: reacting to stimulus, including vocalizing,  
                                 4: jumping at or biting at stimulus.  
 Auditory reflex     1: Not observed, 2: hesitating at stimulus or moving ears, 3: jumping at and trying to bite at the source of sound.  
 Pain reflex     1: Not observed, 2: slowly looking back or slowly moving forward to escape from stimulus,  
                                 3: quickly moving forward to escape from stimulus or biting at it immediately after looking back,  
                                 4: jumping forward to escape from stimulus, 5: loudly vocalizing and biting at stimulus after suddenly looking back.

Table 21 Grip strength of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males	6	6	6	6
Forelimb	824 ± 327	812 ± 285	863 ± 447	813 ± 453
Hindlimb	119 ± 52	101 ± 42	115 ± 35	82 ± 11

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 22 Grip strength of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	1	
Forelimb	1043 ± 157	820 ± 273	868 ± 133	1122	
Hindlimb	118 ± 126	86 ± 56	195 ± 231	71	

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 23 Spontaneous motor activity of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	6	6	6	6	
<b>Ambulatory counts</b>					
Minutes after administration					
10	701 ± 254	709 ± 331	652 ± 374	920 ± 629	
20	211 ± 194	206 ± 82	482 ± 459	529 ± 514	
30	66 ± 67	65 ± 91	128 ± 109	272 ± 500	
40	37 ± 59	58 ± 77	129 ± 176	66 ± 79	
50	46 ± 69	41 ± 38	97 ± 142	56 ± 52	
60	47 ± 74	22 ± 46	45 ± 79	4 ± 6	
Total	1108 ± 179	1100 ± 430	1531 ± 918	1846 ± 1592	
<b>Vertical counts</b>					
Minutes after administration					
10	50 ± 14	51 ± 39	58 ± 22	60 ± 8	
20	21 ± 16	28 ± 25	39 ± 31	38 ± 9	
30	6 ± 6	9 ± 11	7 ± 7	8 ± 13	
40	8 ± 11	6 ± 9	9 ± 11	7 ± 8	
50	8 ± 10	6 ± 7	6 ± 9	4 ± 5	
60	5 ± 7	2 ± 4	3 ± 5	0 ± 0	
Total	97 ± 32	101 ± 69	121 ± 57	116 ± 23	

Each value shows mean ± S.D.

Table 24 Spontaneous motor activity of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	1	
Ambulatory counts					
Minutes after administration					
10	758 ± 481	538 ± 324	703 ± 494	519	
20	213 ± 325	189 ± 306	95 ± 219	0	
30	291 ± 529	133 ± 236	135 ± 146	79	
40	148 ± 332	199 ± 446	65 ± 159	0	
50	239 ± 378	283 ± 509	24 ± 54	1	
60	109 ± 237	388 ± 493	271 ± 409	2	
Total	1758 ± 1825	1729 ± 2090	1292 ± 1032	601	
Vertical counts					
Minutes after administration					
10	36 ± 25	28 ± 31	40 ± 41	33	
20	10 ± 11	10 ± 19	29 ± 53	0	
30	12 ± 15	7 ± 14	33 ± 67	4	
40	4 ± 7	5 ± 12	18 ± 41	0	
50	12 ± 20	17 ± 35	16 ± 38	0	
60	7 ± 15	20 ± 34	17 ± 31	0	
Total	81 ± 74	87 ± 143	153 ± 263	37	

Each value shows mean ± S.D.

Table 25-1 Urinary examination of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
	mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males		6	6	6	6
Volume (mL): Mean ± S.D.	12.0 ± 5.1		8.5 ± 3.0	10.8 ± 5.1	16.7 ± 6.7
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.051 ± 0.018		1.063 ± 0.018	1.048 ± 0.015	1.039 ± 0.012
Color					
Light yellow	6		6	6	4
Yellow	0		0	0	2
pH					
7.0	0		0	1	0
7.5	0		0	0	1
8.0	0		1	0	0
8.5	2		2	1	2
9.0	4		3	4	3
Protein					
Negative	0		0	1	1
10~20 mg/dL	2		3	2	2
30 mg/dL	4		0	2	2
100 mg/dL	0		3	1	1
Glucose					
Negative	6		6	6	6
Ketone body					
Negative	5		3	3	5
Slight	1		3	3	1
Bilirubin					
Negative	6		6	6	6
Occult blood					
Negative	6		3	5	6
Trace	0		2	1	0
Slight	0		1	0	0
Urobilinogen					
Normal	6		6	6	6

Table 25-2 Urinary examination of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males	6	6	6	6
Urinary sediments				
Epithelial cells				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Erythrocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Leukocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Casts				
Not observed	6	6	6	6
Crystals				
Not observed	3	1	4	2
Observed	3	5	2	4

Table 26-1 Urinary examination of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	1	
Volume (mL): Mean ± S.D.	25.6 ± 6.0	27.5 ± 10.7	31.3 ± 11.3	35.8	
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.029 ± 0.004	1.027 ± 0.006	1.026 ± 0.006	1.020	
Color					
Light yellow	6	6	5	1	
Red brown	0	0	1	0	
pH					
5.0	1	1	0	0	
5.5	1	2	1	0	
6.0	1	1	1	0	
6.5	2	1	1	0	
7.0	1	0	1	0	
8.0	0	0	0	1	
8.5	0	0	2	0	
9.0	0	1	0	0	
Protein					
Negative	4	3	3	1	
10~20 mg/dL	2	0	2	0	
30 mg/dL	0	1	1	0	
100 mg/dL	0	2	0	0	
Glucose					
Negative	6	6	6	1	
Ketone body					
Negative	6	3	4	1	
Slight	0	3	1	0	
Moderate	0	0	1	0	
Bilirubin					
Negative	6	6	6	1	
Occult blood					
Negative	6	5	5	1	
Trace	0	1	0	0	
Marked	0	0	1	0	
Urobilinogen					
Normal	6	5	6	1	
1 mg/dL	0	1	0	0	

Table 26-2 Urinary examination of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
		0.78	2.33	7.0
Number of females	6	6	6	1
Urinary sediments				
Epithelial cells				
0~20 cells/100 fields	5	5	6	1
21~100 cells/100 fields	1	1	0	0
Erythrocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	5	1
≥501 cells/100fields	0	0	1	0
Leukocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	5	1
21~100 cells/100fields	0	0	1	0
Casts				
Not observed	6	6	6	1
Crystals				
Not observed	2	2	3	0
Observed	4	4	3	1

Table 27-1 Urinary examination of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males		6	6	6	6
Volume (mL): Mean ± S.D.	13.5 ± 4.2		14.1 ± 3.6	11.0 ± 3.8	12.1 ± 5.5
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.050 ± 0.012		1.051 ± 0.013	1.057 ± 0.012	1.058 ± 0.012
Color					
Light yellow		6	6	6	6
pH					
8.0		0	0	0	1
8.5		0	2	0	0
9.0		6	4	6	5
Protein					
10~20 mg/dL		1	1	1	1
30 mg/dL		4	2	3	3
100 mg/dL		1	3	2	2
Glucose					
Negative		6	6	6	6
Ketone body					
Negative		4	4	5	3
Slight		2	2	1	3
Bilirubin					
Negative		6	6	6	6
Occult blood					
Negative		6	5	3	5
Trace		0	0	3	1
Slight		0	1	0	0
Urobilinogen					
Normal		6	6	6	6

Table 27-2 Urinary examination of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
		0.78	2.33	7.0
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males	6	6	6	6
Urinary sediments				
Epithelial cells				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	5
21~100 cells/100 fields	0	0	0	1
Erythrocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Leukocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Casts				
Not observed	6	6	6	6
Crystals				
Not observed	1	2	2	1
Observed	5	4	4	5

Table 28-1 Urinary examination of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of females	6	6	6	6
Volume (mL): Mean ± S.D.	7.4 ± 3.4	10.2 ± 5.9	11.3 ± 1.6	8.6 ± 3.1
Specific gravity: Mean ± S.D.	1.058 ± 0.019	1.057 ± 0.025	1.054 ± 0.011	1.057 ± 0.009
Color				
Light yellow	6	6	6	6
pH				
6.0	0	0	1	0
7.0	0	0	1	0
7.5	0	0	1	0
8.0	1	0	0	1
8.5	1	0	1	1
9.0	4	6	2	4
Protein				
Negative	2	0	2	2
10~20 mg/dL	2	4	2	3
30 mg/dL	2	2	1	1
100 mg/dL	0	0	1	0
Glucose				
Negative	6	6	6	6
Ketone body				
Negative	4	6	4	5
Slight	2	0	2	1
Bilirubin				
Negative	6	6	6	6
Occult blood				
Negative	5	6	5	6
Trace	1	0	1	0
Urobilinogen				
Normal	6	6	6	6

Table 28-2 Urinary examination of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
		0.78	2.33	7.0
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of females	6	6	6	6
Urinary sediments				
Epithelial cells				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Erythrocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Leukocytes				
0~20 cells/100 fields	6	6	6	6
Casts				
Not observed	6	6	6	6
Crystals				
Not observed	1	2	3	3
Observed	5	4	3	3

Table 29 Hematological examination of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	6	6	6	6	
RBC ( $10^4/\mu\text{L}$ )	801 ± 13	844 ± 30 *	833 ± 31	834 ± 29	
HGB (g/dL)	14.9 ± 0.5	15.5 ± 0.7	15.7 ± 0.5 *	16.2 ± 0.5 **	
HCT (%)	43.9 ± 0.8	46.4 ± 1.9 *	46.6 ± 1.4 **	47.7 ± 1.2 **	
MCV (fL)	54.8 ± 1.3	55.0 ± 1.1	56.0 ± 1.6	57.2 ± 1.5 *	
MCH (pg)	18.6 ± 0.7	18.4 ± 0.6	18.8 ± 0.6	19.4 ± 0.7	
MCHC (g/dL)	33.8 ± 0.5	33.5 ± 0.7	33.6 ± 0.4	33.9 ± 0.7	
PLT ( $10^4/\mu\text{L}$ )	91.2 ± 10.2	95.0 ± 15.4	88.1 ± 11.9	78.2 ± 7.5	
RET (%)	28 ± 3	24 ± 3	25 ± 4	24 ± 3	
PT (sec.)	13.2 ± 0.3	13.6 ± 0.5	13.8 ± 0.3 *	14.1 ± 0.4 **	
APTT (sec.)	27.6 ± 1.1	29.8 ± 1.6	28.3 ± 3.2	28.2 ± 1.8	
FIB (mg/dL)	220 ± 10	221 ± 23	224 ± 16	207 ± 10	
WBC ( $10^2/\mu\text{L}$ )	78 ± 22	61 ± 14	66 ± 23	55 ± 16	
Differential leukocyte (%)					
Lymphocyte	94.7 ± 2.3	91.2 ± 2.9	91.7 ± 2.1	90.8 ± 5.9	
Neutrophil	4.5 ± 1.8	7.8 ± 2.1	7.7 ± 1.5	8.5 ± 5.5	
Eosinophil	0.5 ± 0.5	0.5 ± 0.8	0.3 ± 0.5	0.5 ± 0.5	
Basophil	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
Monocyte	0.3 ± 0.5	0.5 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01).

Table 30 Hematological examination of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	1	
RBC ( $10^4/\mu\text{L}$ )	702 ± 13	749 ± 25 *	735 ± 41	725	
HGB (g/dL)	14.4 ± 0.4	14.7 ± 0.5	14.8 ± 0.7	15.2	
HCT (%)	41.8 ± 1.1	42.8 ± 1.1	42.8 ± 1.9	44.6	
MCV (fL)	59.5 ± 2.1	57.1 ± 1.1 *	58.2 ± 1.2	61.5	
MCH (pg)	20.6 ± 0.7	19.7 ± 0.2 *	20.1 ± 0.6	21.0	
MCHC (g/dL)	34.6 ± 0.6	34.4 ± 0.4	34.5 ± 0.5	34.1	
PLT ( $10^4/\mu\text{L}$ )	105.2 ± 8.4	115.9 ± 9.9	112.6 ± 11.9	109.5	
RET (%)	77 ± 16	64 ± 15	71 ± 9	52	
PT (sec.)	13.5 ± 0.4	13.7 ± 0.5	13.3 ± 0.3	13.3	
APTT (sec.)	25.1 ± 2.0	23.9 ± 2.1	23.6 ± 2.6	25.8	
FIB (mg/dL)	257 ± 21	255 ± 28	217 ± 19 *	210	
WBC ( $10^2/\mu\text{L}$ )	49 ± 14	57 ± 10	54 ± 16	74	
Differential leukocyte (%)					
Lymphocyte	86.7 ± 8.0	87.2 ± 5.6	89.0 ± 5.2	75.0	
Neutrophil	12.0 ± 7.6	11.8 ± 5.5	9.5 ± 4.4	23.0	
Eosinophil	0.5 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.5 ± 0.8	0.0	
Basophil	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0	
Monocyte	0.8 ± 0.8	0.8 ± 0.8	1.0 ± 0.6	2.0	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Table 31 Hematological examination of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-			
	0	0.78	2.33	7.0		
Number of males	6	6	6	6		
RBC ( $10^4/\mu\text{L}$ )	858 ± 21	831 ± 22	852 ± 38	817 ± 22 *		
HGB (g/dL)	15.9 ± 0.4	15.3 ± 0.4	15.6 ± 1.1	15.8 ± 0.3		
HCT (%)	46.8 ± 0.9	45.2 ± 1.2	46.6 ± 3.4	46.0 ± 1.0		
MCV (fL)	54.5 ± 0.8	54.4 ± 1.5	54.6 ± 1.8	56.3 ± 1.0		
MCH (pg)	18.6 ± 0.5	18.4 ± 0.6	18.3 ± 0.7	19.3 ± 0.4 *		
MCHC (g/dL)	34.0 ± 0.4	33.9 ± 0.6	33.6 ± 0.4	34.3 ± 0.4		
PLT ( $10^4/\mu\text{L}$ )	91.4 ± 17.0	104.4 ± 11.3	112.5 ± 39.5	85.9 ± 9.0		
RET (%)	24 ± 6	23 ± 4	24 ± 6	22 ± 3		
PT (sec.)	19.1 ± 3.1	19.5 ± 3.5	19.9 ± 3.6	16.3 ± 1.5		
APTT (sec.)	37.1 ± 4.0	37.0 ± 2.2	38.2 ± 1.8	34.2 ± 3.2		
FIB (mg/dL)	220 ± 11	223 ± 11	226 ± 25	210 ± 14		
WBC ( $10^2/\mu\text{L}$ )	61 ± 16	54 ± 22	76 ± 20	49 ± 10		
Differential leukocyte (%)						
Lymphocyte	90.2 ± 2.8	90.8 ± 4.2	92.2 ± 4.2	88.7 ± 7.2		
Neutrophil	9.0 ± 3.0	8.2 ± 4.7	6.8 ± 3.9	10.0 ± 6.8		
Eosinophil	0.3 ± 0.5	0.5 ± 0.8	0.5 ± 0.5	0.7 ± 0.5		
Basophil	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
Monocyte	0.5 ± 0.5	0.5 ± 0.5	0.5 ± 0.5	0.7 ± 0.5		

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Table 32 Hematological examination of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-			
	0	0.78	2.33	7.0		
Number of females	6	6	6	6		
RBC ( $10^4/\mu\text{L}$ )	739 ± 21	751 ± 45	758 ± 30	753 ± 26		
HGB (g/dL)	14.6 ± 0.4	14.8 ± 0.8	14.7 ± 0.5	14.9 ± 0.4		
HCT (%)	41.4 ± 1.1	42.1 ± 2.1	42.3 ± 1.6	42.4 ± 1.5		
MCV (fL)	56.0 ± 0.9	56.1 ± 1.4	55.8 ± 1.6	56.3 ± 0.6		
MCH (pg)	19.7 ± 0.5	19.7 ± 0.6	19.4 ± 0.7	19.8 ± 0.4		
MCHC (g/dL)	35.2 ± 0.6	35.2 ± 0.3	34.8 ± 0.3	35.1 ± 0.5		
PLT ( $10^4/\mu\text{L}$ )	96.1 ± 13.0	94.9 ± 5.4	94.2 ± 11.4	90.3 ± 2.7		
RET (%)	27 ± 3	25 ± 5	24 ± 5	23 ± 3		
PT (sec.)	13.5 ± 0.6	13.1 ± 0.2	13.4 ± 0.4	13.2 ± 0.3		
APTT (sec.)	23.9 ± 1.6	22.9 ± 1.4	23.2 ± 1.2	24.4 ± 1.4		
FIB (mg/dL)	177 ± 20	179 ± 13	180 ± 7	188 ± 29		
WBC ( $10^2/\mu\text{L}$ )	32 ± 15	39 ± 11	38 ± 10	37 ± 14		
Differential leukocyte (%)						
Lymphocyte	90.3 ± 3.7	89.8 ± 4.3	87.5 ± 5.5	88.7 ± 4.4		
Neutrophil	9.0 ± 3.8	9.2 ± 3.9	11.2 ± 5.3	10.3 ± 4.7		
Eosinophil	0.3 ± 0.5	0.7 ± 0.8	0.7 ± 0.8	0.7 ± 0.5		
Basophil	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0		
Monocyte	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.7 ± 0.8	0.3 ± 0.5		

Each value shows mean ± S.D.

Table 33 Blood chemical examination of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	6	6	6	6	
AST (IU/L)	85.3 ± 19.0	85.9 ± 17.7	93.5 ± 20.1	91.3 ± 7.3	
ALT (IU/L)	37.6 ± 6.7	34.3 ± 3.3	37.8 ± 5.5	40.1 ± 4.6	
ALP (IU/L)	584.0 ± 91.4	641.4 ± 106.4	651.0 ± 166.2	950.3 ± 338.4	
γ-GTP (IU/L)	0.34 ± 0.15	0.46 ± 0.19	0.53 ± 0.20	0.53 ± 0.11	
TP (g/dL)	5.8 ± 0.2	5.9 ± 0.2	5.8 ± 0.2	5.6 ± 0.2	
Alb (g/dL)	2.95 ± 0.16	2.92 ± 0.12	2.91 ± 0.07	2.98 ± 0.15	
A/G	1.04 ± 0.09	0.99 ± 0.03	1.00 ± 0.05	1.14 ± 0.10	
T-Bil (mg/dL)	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.03	0.07 ± 0.04	0.05 ± 0.03	
UN (mg/dL)	17.7 ± 3.7	16.6 ± 1.3	16.4 ± 1.8	20.2 ± 1.3	
CRE (mg/dL)	0.27 ± 0.04	0.28 ± 0.02	0.28 ± 0.04	0.34 ± 0.04 *	
Glu (mg/dL)	118.4 ± 7.3	119.6 ± 10.3	120.1 ± 9.2	112.7 ± 9.1	
T-Chol (mg/dL)	68.0 ± 5.4	61.0 ± 4.4	56.7 ± 9.0 *	60.6 ± 6.4	
TG (mg/dL)	63.4 ± 9.7	55.9 ± 21.3	62.8 ± 13.3	56.8 ± 15.4	
Na (mEq/L)	144.5 ± 1.1	144.0 ± 1.3	144.3 ± 1.2	145.0 ± 0.7	
K (mEq/L)	4.34 ± 0.27	4.35 ± 0.33	4.46 ± 0.29	4.12 ± 0.18	
Cl (mEq/L)	105.8 ± 1.6	105.4 ± 1.0	105.1 ± 1.6	106.1 ± 1.1	
Ca (mg/dL)	9.9 ± 0.3	9.7 ± 0.3	9.6 ± 0.3	9.5 ± 0.3	
IP (mg/dL)	6.2 ± 1.3	6.2 ± 0.9	7.0 ± 0.6	5.7 ± 0.9	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Table 34 Blood chemical examination of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	1	
AST (IU/L)	90.0 ± 16.4	98.7 ± 29.3	94.4 ± 21.4	78.4	
ALT (IU/L)	23.8 ± 2.2	25.3 ± 3.9	26.6 ± 5.1	32.4	
ALP (IU/L)	192.6 ± 46.8	178.8 ± 48.0	202.2 ± 23.1	194.7	
γ-GTP (IU/L)	0.45 ± 0.12	0.65 ± 0.23	0.49 ± 0.17	0.55	
TP (g/dL)	6.5 ± 0.2	6.4 ± 0.3	6.7 ± 0.5	6.1	
Alb (g/dL)	3.19 ± 0.15	3.16 ± 0.20	3.48 ± 0.25 *	3.29	
A/G	0.98 ± 0.05	0.98 ± 0.07	1.10 ± 0.02 *	1.17	
T-Bil (mg/dL)	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.05	
UN (mg/dL)	20.5 ± 2.5	18.9 ± 4.4	23.5 ± 1.9	18.4	
CRE (mg/dL)	0.39 ± 0.01	0.38 ± 0.05	0.40 ± 0.01	0.44	
Glu (mg/dL)	127.2 ± 13.2	129.0 ± 14.3	123.3 ± 13.7	130.7	
T-Chol (mg/dL)	72.2 ± 5.5	81.9 ± 20.7	70.3 ± 9.3	86.4	
TG (mg/dL)	41.8 ± 13.7	56.9 ± 24.5	54.3 ± 16.7	82.4	
Na (mEq/L)	141.1 ± 1.0	140.7 ± 0.8	140.5 ± 0.9	142.2	
K (mEq/L)	4.23 ± 0.32	4.14 ± 0.34	4.08 ± 0.31	3.38	
Cl (mEq/L)	104.6 ± 1.8	104.3 ± 0.9	104.3 ± 2.1	104.9	
Ca (mg/dL)	10.9 ± 0.3	10.8 ± 0.3	10.7 ± 0.5	10.4	
IP (mg/dL)	7.8 ± 1.2	7.6 ± 0.8	6.8 ± 1.1	5.6	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Table 35 Blood chemical examination of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	6	6	6	6	
AST (IU/L)	120.7 ± 44.1	115.1 ± 29.7	103.2 ± 24.4	102.7 ± 16.8	
ALT (IU/L)	39.0 ± 13.8	35.9 ± 9.8	34.9 ± 12.1	29.9 ± 4.9	
ALP (IU/L)	373.8 ± 56.4	310.4 ± 53.7	304.9 ± 77.7	256.2 ± 56.9 **	
γ-GTP (IU/L)	0.41 ± 0.22	0.29 ± 0.21	0.27 ± 0.12	0.39 ± 0.08	
TP (g/dL)	5.8 ± 0.2	5.8 ± 0.2	5.8 ± 0.4	5.4 ± 0.1	
Alb (g/dL)	2.93 ± 0.19	2.75 ± 0.12	2.84 ± 0.16	2.71 ± 0.07 *	
A/G	1.04 ± 0.07	0.91 ± 0.05 **	0.96 ± 0.05 *	1.00 ± 0.04	
T-Bil (mg/dL)	0.13 ± 0.03	0.12 ± 0.04	0.14 ± 0.02	0.11 ± 0.02	
UN (mg/dL)	15.3 ± 1.6	16.9 ± 2.2	16.7 ± 2.3	18.5 ± 2.1 *	
CRE (mg/dL)	0.26 ± 0.03	0.30 ± 0.06	0.29 ± 0.04	0.29 ± 0.01	
Glu (mg/dL)	115.6 ± 15.2	121.4 ± 17.2	114.0 ± 22.5	102.7 ± 7.1	
T-Chol (mg/dL)	45.9 ± 10.0	60.6 ± 8.8	61.3 ± 10.6 *	58.8 ± 11.2	
TG (mg/dL)	37.5 ± 25.6	35.7 ± 17.7	36.9 ± 13.5	29.2 ± 10.7	
Na (mEq/L)	144.8 ± 0.7	144.4 ± 0.7	145.2 ± 1.3	145.5 ± 0.9	
K (mEq/L)	4.02 ± 0.34	4.23 ± 0.25	4.28 ± 0.22	4.16 ± 0.19	
Cl (mEq/L)	106.8 ± 0.7	105.1 ± 1.4 *	105.8 ± 0.9	106.9 ± 1.1	
Ca (mg/dL)	9.4 ± 0.3	9.4 ± 0.3	9.5 ± 0.1	9.3 ± 0.2	
IP (mg/dL)	7.0 ± 0.5	7.3 ± 0.9	7.3 ± 0.7	7.4 ± 0.6	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01).

Table 36 Blood chemical examination of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	6	
AST (IU/L)	86.0 ± 17.0	91.7 ± 11.7	85.8 ± 11.1	92.5 ± 11.2	
ALT (IU/L)	23.2 ± 3.9	26.5 ± 6.0	22.8 ± 1.6	26.2 ± 5.9	
ALP (TU/L)	129.3 ± 39.4	122.4 ± 17.5	135.5 ± 27.6	169.8 ± 49.1	
γ-GTP (IU/L)	0.46 ± 0.25	0.58 ± 0.25	0.59 ± 0.21	0.66 ± 0.26	
TP (g/dL)	6.5 ± 0.5	6.5 ± 0.3	6.2 ± 0.2	6.2 ± 0.4	
Alb (g/dL)	3.61 ± 0.36	3.59 ± 0.26	3.40 ± 0.16	3.32 ± 0.30	
A/G	1.24 ± 0.08	1.25 ± 0.11	1.23 ± 0.08	1.18 ± 0.09	
T-Bil (mg/dL)	0.10 ± 0.03	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.12 ± 0.03	
UN (mg/dL)	18.2 ± 1.4	16.1 ± 1.7	18.1 ± 2.5	18.0 ± 1.6	
CRE (mg/dL)	0.37 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.05	
Glu (mg/dL)	120.7 ± 20.5	123.2 ± 9.8	126.3 ± 11.4	119.2 ± 15.1	
T-Chol (mg/dL)	81.5 ± 8.4	87.0 ± 10.8	75.7 ± 11.2	84.4 ± 17.4	
TG (mg/dL)	25.7 ± 5.4	38.9 ± 22.7	42.7 ± 29.2	22.7 ± 6.4	
Na (mEq/L)	143.6 ± 0.9	142.9 ± 1.4	142.7 ± 1.3	144.2 ± 0.5	
K (mEq/L)	4.04 ± 0.27	4.16 ± 0.17	3.98 ± 0.25	3.83 ± 0.26	
Cl (mEq/L)	108.0 ± 1.3	107.1 ± 1.5	107.0 ± 1.0	107.2 ± 1.7	
Ca (mg/dL)	9.6 ± 0.3	9.7 ± 0.2	9.5 ± 0.2	9.5 ± 0.3	
IP (mg/dL)	4.3 ± 0.7	4.4 ± 0.7	4.3 ± 0.6	4.7 ± 0.4	

Each value shows mean ± S.D.

Table 37 Necropsy findings of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males	6	6	6	6
Findings				
Normal	6	6	6	6

Table 38 Necropsy findings of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0
Number of dams on Day 7 of lactation	11	10	12	1
Findings				
Normal	11	10	12	1
Number of dams which all pups died	0	1	0	1
Findings				
Normal	-	1	-	1
Number of moribund dams or dead dams	0	0	0	10
Findings				
Normal	-	-	-	10
Number of non-pregnant females	1	1	0	0
Findings				
Normal	1	1	-	-

Table 39 Necropsy findings of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males	6	6	6	6
Findings				
Normal	5	6	6	6
Liver				
White spot	1	0	0	0

Table 40 Necropsy findings of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control	phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro-		
mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of females	6	6	6	6
Findings				
Normal	6	6	6	6

Table 41 Organ weights of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males	6		6	6	6
Body weight (g)	451 ± 19		449 ± 27	438 ± 42	409 ± 29
Brain (g)	2.04 ± 0.05		2.02 ± 0.04	2.07 ± 0.04	2.04 ± 0.06
(g%)	0.45 ± 0.02		0.45 ± 0.02	0.48 ± 0.05	0.50 ± 0.03 *
Pituitary (mg)	12.7 ± 1.1		13.3 ± 1.9	13.2 ± 1.0	11.7 ± 1.1
(mg%)	2.8 ± 0.2		3.0 ± 0.5	3.0 ± 0.3	2.9 ± 0.4
Thyroids (mg)	20.7 ± 5.6		19.1 ± 6.4	23.0 ± 3.1	20.3 ± 3.5
(mg%)	4.6 ± 1.3		4.3 ± 1.6	5.3 ± 0.6	5.0 ± 1.0
Thymus (mg)	367 ± 126		260 ± 76	296 ± 120	245 ± 54
(mg%)	82 ± 30		58 ± 16	67 ± 22	60 ± 14
Heart (g)	1.41 ± 0.14		1.40 ± 0.07	1.37 ± 0.14	1.35 ± 0.11
(g%)	0.31 ± 0.02		0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.02
Liver (g)	15.98 ± 1.00		15.65 ± 1.04	15.49 ± 1.93	15.57 ± 1.02
(g%)	3.55 ± 0.21		3.49 ± 0.18	3.54 ± 0.28	3.81 ± 0.18
Spleen (mg)	763 ± 110		791 ± 77	704 ± 61	682 ± 111
(mg%)	170 ± 30		177 ± 17	162 ± 20	166 ± 16
Kidneys (g)	2.91 ± 0.19		2.97 ± 0.15	2.96 ± 0.19	2.82 ± 0.19
(g%)	0.65 ± 0.05		0.66 ± 0.05	0.68 ± 0.07	0.69 ± 0.05
Adrenals (mg)	50.7 ± 8.3		57.4 ± 8.6	54.8 ± 6.3	58.8 ± 11.2
(mg%)	11.3 ± 2.1		12.8 ± 2.1	12.5 ± 1.2	14.4 ± 2.8
Testes (g)	3.11 ± 0.35		3.18 ± 0.42	3.36 ± 0.18	3.33 ± 0.30
(g%)	0.69 ± 0.10		0.71 ± 0.11	0.78 ± 0.10	0.82 ± 0.06
Epididymides (mg)	1120 ± 71		1170 ± 100	1158 ± 74	1150 ± 88
(mg%)	249 ± 23		262 ± 28	267 ± 29	281 ± 14

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Table 42 Organ weights of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	11		10		12
					2
Body weight (g)	301 ± 12	298 ± 14	301 ± 11	295	
Brain (g)	1.97 ± 0.08	1.95 ± 0.05	2.01 ± 0.08	1.98	
(g%)	0.66 ± 0.03	0.66 ± 0.03	0.67 ± 0.03	0.68	
Pituitary (mg)	16.7 ± 2.8	16.2 ± 2.1	16.7 ± 2.3	15.8	
(mg%)	5.5 ± 0.8	5.5 ± 0.7	5.6 ± 0.9	5.3	
Thyroids (mg)	16.8 ± 2.4	16.5 ± 3.6	17.7 ± 4.0	17.4	
(mg%)	5.6 ± 0.8	5.6 ± 1.2	5.9 ± 1.3	5.9	
Thymus (mg)	234 ± 48	266 ± 73	292 ± 77	225	
(mg%)	78 ± 17	90 ± 25	97 ± 26	76	
Heart (g)	1.03 ± 0.08	0.99 ± 0.08	1.00 ± 0.05	1.03	
(g%)	0.34 ± 0.03	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.35	
Liver (g)	9.92 ± 0.90	9.66 ± 0.92	9.84 ± 0.55	10.70	
(g%)	3.29 ± 0.26	3.24 ± 0.21	3.27 ± 0.15	3.64	
Spleen (mg)	690 ± 79	679 ± 145	719 ± 100	606	
(mg%)	229 ± 26	227 ± 42	239 ± 31	203	
Kidneys (g)	2.14 ± 0.15	2.05 ± 0.20	2.04 ± 0.11	1.99	
(g%)	0.71 ± 0.06	0.69 ± 0.05	0.68 ± 0.04	0.67	
Adrenals (mg)	74.6 ± 7.6	70.0 ± 10.4	69.9 ± 7.2	83.5	
(mg%)	24.9 ± 3.1	23.5 ± 2.9	23.2 ± 2.1	28.6	
Ovaries (mg)	110.0 ± 15.3	100.9 ± 8.3	102.2 ± 8.9	120.1	
(mg%)	36.6 ± 4.8	34.0 ± 3.2	34.0 ± 2.9	40.9	
Uterus (mg)	605 ± 165	570 ± 123	631 ± 135	2133	
(mg%)	202 ± 58	193 ± 46	210 ± 47	742	

Each value shows mean ± S.D.

Table 43 Organ weights of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	mg/kg	0	0.78	2.33	7.0
Number of males	6	6	6	6	
Body weight (g)	458 ± 22	474 ± 19	461 ± 29	461 ± 20	
Brain (g)	2.12 ± 0.08	2.02 ± 0.10	2.09 ± 0.09	2.03 ± 0.13	
(g%)	0.46 ± 0.02	0.43 ± 0.02 *	0.46 ± 0.03	0.44 ± 0.02	
Pituitary (mg)	14.3 ± 1.2	15.1 ± 1.5	13.6 ± 0.8	15.4 ± 1.0	
(mg%)	3.1 ± 0.2	3.2 ± 0.2	3.0 ± 0.2	3.4 ± 0.2	
Thyroids (mg)	18.5 ± 2.8	22.1 ± 4.2	20.6 ± 2.0	21.1 ± 4.5	
(mg%)	4.0 ± 0.6	4.7 ± 0.7	4.5 ± 0.4	4.6 ± 1.0	
Thymus (mg)	268 ± 41	316 ± 90	265 ± 86	296 ± 64	
(mg%)	59 ± 10	66 ± 17	58 ± 18	65 ± 15	
Heart (g)	1.52 ± 0.19	1.56 ± 0.09	1.62 ± 0.28	1.55 ± 0.25	
(g%)	0.33 ± 0.05	0.33 ± 0.03	0.35 ± 0.05	0.33 ± 0.04	
Liver (g)	10.44 ± 1.36	11.87 ± 0.72 *	11.48 ± 1.09	11.17 ± 0.49	
(g%)	2.28 ± 0.24	2.51 ± 0.17	2.50 ± 0.27	2.42 ± 0.05	
Spleen (mg)	774 ± 70	696 ± 93	785 ± 208	780 ± 80	
(mg%)	170 ± 21	147 ± 20	173 ± 58	169 ± 13	
Kidneys (g)	3.10 ± 0.51	2.86 ± 0.07	2.87 ± 0.24	2.92 ± 0.15	
(g%)	0.68 ± 0.11	0.60 ± 0.03	0.62 ± 0.04	0.64 ± 0.02	
Adrenals (mg)	55.6 ± 7.8	52.4 ± 6.8	53.2 ± 9.9	61.4 ± 7.3	
(mg%)	12.2 ± 1.8	11.0 ± 1.2	11.5 ± 1.8	13.3 ± 1.5	
Testes (g)	3.29 ± 0.34	3.30 ± 0.40	3.25 ± 0.28	3.36 ± 0.27	
(g%)	0.72 ± 0.08	0.70 ± 0.09	0.71 ± 0.05	0.73 ± 0.06	
Epididymides (mg)	1250 ± 135	1255 ± 101	1222 ± 80	1224 ± 101	
(mg%)	274 ± 31	265 ± 25	265 ± 8	265 ± 17	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Table 44 Organ weights of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of females	6	6	6	6	
Body weight (g)	297 ± 26	306 ± 8	327 ± 13 **	310 ± 9	
Brain (g)	1.99 ± 0.09	1.91 ± 0.09	1.95 ± 0.08	1.99 ± 0.02	
(g%)	0.67 ± 0.08	0.63 ± 0.03	0.60 ± 0.03 *	0.64 ± 0.02	
Pituitary (mg)	18.9 ± 3.1	20.1 ± 3.0	18.9 ± 3.7	18.3 ± 2.6	
(mg%)	6.5 ± 1.5	6.6 ± 1.1	5.8 ± 1.3	5.9 ± 0.9	
Thyroids (mg)	20.0 ± 3.9	20.2 ± 1.9	18.0 ± 3.0	22.7 ± 4.4	
(mg%)	6.8 ± 1.6	6.6 ± 0.7	5.5 ± 1.1	7.4 ± 1.5	
Thymus (mg)	284 ± 59	273 ± 29	282 ± 75	303 ± 65	
(mg%)	96 ± 19	89 ± 8	86 ± 22	98 ± 21	
Heart (g)	0.95 ± 0.06	0.90 ± 0.03	1.00 ± 0.05	1.04 ± 0.07 *	
(g%)	0.32 ± 0.03	0.29 ± 0.01 *	0.31 ± 0.01	0.34 ± 0.02	
Liver (g)	7.33 ± 0.67	7.62 ± 0.59	8.03 ± 0.66	7.95 ± 0.59	
(g%)	2.47 ± 0.15	2.49 ± 0.14	2.46 ± 0.24	2.57 ± 0.13	
Spleen (mg)	537 ± 86	522 ± 93	560 ± 69	593 ± 28	
(mg%)	182 ± 31	170 ± 28	172 ± 28	192 ± 8	
Kidneys (g)	1.94 ± 0.09	1.98 ± 0.07	1.95 ± 0.16	2.01 ± 0.19	
(g%)	0.66 ± 0.06	0.65 ± 0.02	0.60 ± 0.05	0.65 ± 0.05	
Adrenals (mg)	72.9 ± 6.1	62.1 ± 12.2	71.1 ± 6.2	70.5 ± 11.1	
(mg%)	24.7 ± 3.1	20.3 ± 3.4	21.8 ± 2.5	22.7 ± 3.1	
Ovaries (mg)	82.9 ± 20.3	79.9 ± 10.0	91.9 ± 14.9	96.3 ± 4.2	
(mg%)	27.7 ± 4.8	26.1 ± 3.0	28.2 ± 4.7	31.1 ± 0.9	
Uterus (mg)	672 ± 139	622 ± 174	706 ± 168	576 ± 161	
(mg%)	229 ± 59	203 ± 55	216 ± 49	186 ± 48	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01).

Table 45 Sperm analysis of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of males	6	6	6	6	
Sperm motility					
Motile sperm rate (%)	71.3 ± 2.8	72.8 ± 5.3	75.0 ± 7.4	59.2 ± 6.0 **	
Progressive sperm rate (%)	34.4 ± 3.7	37.3 ± 7.5	38.2 ± 8.4	22.9 ± 4.5 *	
Path velocity (μm/s)	150.7 ± 4.8	152.3 ± 6.1	153.6 ± 6.9	143.8 ± 6.0	
Straight line velocity (μm/s)	110.4 ± 4.2	112.6 ± 5.5	111.7 ± 6.4	97.7 ± 8.2 **	
Curvilinear velocity (μm/s)	339.4 ± 11.4	335.9 ± 17.0	344.9 ± 12.8	319.4 ± 15.9	
Amplitude of lateral head displacement (μm)	19.9 ± 0.3	19.5 ± 0.7	19.9 ± 1.0	20.9 ± 0.4 *	
Beat cross frequency (Hz)	29.5 ± 0.8	28.3 ± 1.6	29.6 ± 1.4	28.5 ± 1.7	
Viability rate (%) <sup>a)</sup>	99.8 ± 0.2	99.4 ± 0.5	99.4 ± 0.9	97.9 ± 2.2 *	
Survivability rate (%) <sup>b)</sup>	76.7 ± 8.2	83.4 ± 6.4	80.9 ± 6.8	66.9 ± 10.1	
Sperm morphology					
Abnormal sperm rate (%) <sup>c)</sup>	2.5 ± 1.8	1.9 ± 1.0	2.0 ± 1.0	6.9 ± 4.6 *	
Abnormal head rate (%) <sup>c)</sup>	2.5 ± 1.8	1.9 ± 0.9	1.8 ± 0.8	5.6 ± 4.3	
Abnormal tail rate (%) <sup>c)</sup>	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.3	1.3 ± 1.0 **	
Number of sperms in left cauda epididymis ( $\times 10^6$ )	268.8 ± 25.1	342.9 ± 50.1	334.8 ± 49.2	308.4 ± 114.2	
Number of sperms/g weight of left cauda epididymis ( $\times 10^6$ )	1070.0 ± 94.9	1281.1 ± 109.5	1238.2 ± 114.3	1227.4 ± 279.5	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05, \*\*: P<0.01).

a): ((Number of live sperms+number of sperms which died during incubation)/number of sperms examined)×100.

b): (Number of live sperms/number of sperms examined)×100.

c): (Number of abnormal sperms/number of sperms examined)×100.

Table 46 Sperm analysis of male rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		7.0
	0	0.78	2.33	6	
Number of males	6	6	6	6	
Sperm motility					
Motile sperm rate (%)	78.5 ± 6.5	76.6 ± 10.3	72.7 ± 3.3	71.5 ± 4.4	
Progressive sperm rate (%)	29.3 ± 9.5	30.4 ± 12.2	33.3 ± 11.2	26.5 ± 6.7	
Path velocity (μm/s)	144.2 ± 8.0	147.9 ± 8.0	147.8 ± 8.6	141.3 ± 5.5	
Straight line velocity (μm/s)	101.9 ± 6.2	104.1 ± 6.8	107.0 ± 10.3	97.7 ± 6.4	
Curvilinear velocity (μm/s)	327.4 ± 22.2	335.4 ± 26.4	324.6 ± 22.6	324.2 ± 13.9	
Amplitude of lateral head displacement (μm)	20.2 ± 0.9	20.4 ± 0.8	19.8 ± 1.0	20.3 ± 0.8	
Beat cross frequency (Hz)	30.9 ± 1.3	30.0 ± 0.6	29.3 ± 1.8	31.1 ± 1.1	
Viability rate (%) <sup>a)</sup>	99.9 ± 0.2	99.8 ± 0.3	99.7 ± 0.3	98.8 ± 1.1 *	
Survivability rate (%) <sup>b)</sup>	84.1 ± 4.1	83.1 ± 3.3	81.0 ± 4.6	78.2 ± 3.1 *	
Sperm morphology					
Abnormal sperm rate (%) <sup>c)</sup>	1.5 ± 1.0	2.4 ± 2.2	2.3 ± 1.4	4.6 ± 2.8 *	
Abnormal head rate (%) <sup>c)</sup>	1.5 ± 1.0	2.3 ± 2.2	2.2 ± 1.4	4.2 ± 2.5 *	
Abnormal tail rate (%) <sup>c)</sup>	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.3 ± 0.4	
Number of sperms in left cauda epididymis ( $\times 10^6$ )	358.4 ± 17.4	385.5 ± 70.5	347.8 ± 48.8	332.1 ± 28.8	
Number of sperms/g weight of left cauda epididymis ( $\times 10^6$ )	1134.5 ± 72.6	1201.3 ± 191.9	1118.9 ± 97.2	1087.3 ± 90.0	

Each value shows mean ± S.D.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

a): ((Number of live sperms+number of sperms which died during incubation)/number of sperms examined)×100.

b): (Number of live sperms/number of sperms examined)×100.

c): (Number of abnormal sperms/number of sperms examined)×100.

Table 47 Histopathological findings of male rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control						phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-					
	0						7.0					
Grade	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+
Findings												
Eyeball	[6] <sup>c)</sup>						[6]					
Dysplasia, retina, left	5	1	1	0	0	0	6	0				
Harderian gland	[6]						[6]					
Cellular infiltration, lymphoid cell	5	1	1	0	0	0	6	0				
Heart	[6]						[6]					
Cellular infiltration, mononuclear cell	2	4	4	0	0	0	2	4	4	0	0	0
Liver	[6]						[6]					
Microgranuloma	5	1	1	0	0	0	6	0				
Cellular infiltration, lymphoid cell	4	2	2	0	0	0	6	0				
Panarteritis	6	0					5	1	1	0	0	0
Spleen	[6]						[6]					
Hematopoiesis, extramedullary	5	1	1	0	0	0	6	0				
Kidney	[6]						[6]					
Cellular infiltration, lymphoid cell	5	1	1	0	0	0	6	0				
Basophilic change, tubular epithelium	4	2	2	0	0	0	4	2	2	0	0	0
Hyaline droplet, tubular epithelium	5	1	1	0	0	0	6	0				
Cyst	6	0					5	1	1	0	0	0
Testis	[6]						[6]					
Atrophy, seminiferous tubule, focal	6	0					5	1	1	0	0	0
Prostate	[6]						[6]					
Cellular infiltration, lymphoid cell	2	4	3	1	0	0	4	2	1	1	0	0

<sup>a)</sup> No abnormality detected.

<sup>b)</sup> abnormality detected.

<sup>c)</sup> Number in brackets is number of males examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

No remarkable changes were seen in the lung, trachea, pancreas, sublingual gland, submandibular gland, esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, urinary bladder, epididymis, seminal vesicle, pituitary, thyroid, parathyroid, adrenal, cerebrum, cerebellum, medulla oblongata, spinal code, sciatic nerve, bone (sternum or femur) or bone marrow (sternum or femur).

Table 48 Histopathological findings of female rats on termination of administration period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control						phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-																		
	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	
Grade																									
Findings																									
Heart	[6] <sup>c)</sup>																								
Cellular infiltration, mononuclear cell	6	0																							
Thymus	[6]																								
Atrophy, cortex	6	0																							
Liver	[6]																								
Necrosis, hepatocyte, focal	6	0																							
Microgranuloma	3	3	3	0	0	0																			
Proliferation, bile duct	5	1	1	0	0	0																			
Cellular infiltration, lymphoid cell	4	2	2	0	0	0																			
Spleen	[6]						[6]																		
Hematopoiesis, extramedullary	0	6	1	3	2	0	0	6	1	4	1	0	0	6	5	1	0	0	*	1	1	1	0	0	0

<sup>a)</sup> No abnormality detected.

<sup>b)</sup> abnormality detected.

<sup>c)</sup> Number in brackets is number of females examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

No remarkable changes were seen in the lung, trachea, pancreas, sublingual gland, submandibular gland, esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, kidney, urinary bladder, ovary, uterus, vagina, pituitary, thyroid, parathyroid (except for No. F01153, F03352 and F04462), adrenal, cerebrum, cerebellum, medulla oblongata, spinal code, sciatic nerve, eyeball, Harderian gland, bone (sternum or femur), bone marrow (sternum or femur) or mammary gland.

Significantly different from control group (\*: P<0.05).

Table 49 Histopathological findings of dead female rats and moribund female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-					
	7.0					
Grade	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+
Findings						
Whole organs and tissues	[10] <sup>c)</sup>					
Postmortal change	2	8	0	0	8	0
Lung	[10]					
Congestion	2	8	0	1	7	0
Liver	[10]					
Congestion	2	8	0	6	2	0
Spleen	[10]					
Hematopoiesis, extramedullary	9	1	1	0	0	0

<sup>a)</sup> No abnormality detected.

<sup>b)</sup> abnormality detected.

<sup>c)</sup> Number in brackets is number of females examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

No remarkable changes were seen in the heart, trachea, pancreas, sublingual gland, submandibular gland, esophagus, stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, thymus, submandibular lymph node, mesenteric lymph node, kidney, urinary bladder, ovary, uterus, vagina, pituitary, thyroid, parathyroid (except for No. F04453, F04454, F04457 and F04458), adrenal, cerebrum, cerebellum, medulla oblongata, spinal code, sciatic nerve, eyeball, Harderian gland, bone (sternum or femur), bone marrow (sternum or femur) or mammary gland.

Table 50 Histopathological findings of female rats on termination of recovery period in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control						phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-												
	0			0.78			2.33			7.0									
Grade	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	N <sup>a)</sup>	A <sup>b)</sup>	±	+	2+	3+	
Findings																			
Spleen	[6] <sup>c)</sup>						[6]						[6]						
Hematopoiesis, extramedullary	2	4	4	0	0	0	4	2	2	0	0	0	3	3	2	1	0	0	5
																			1

<sup>a)</sup> No abnormality detected.

<sup>b)</sup> abnormality detected.

<sup>c)</sup> Number in brackets is number of females examined.

Grade of histopathological findings: ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.

Table 51 Reproductive functions of male rats and female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0
Number of females	12	12	12	12
Number of estrous cases before pairing (14 days) Mean±S.D.	3.5 ± 0.5	3.3 ± 0.5	3.4 ± 0.5	3.3 ± 0.5
Number of pairs	12	12	12	12
Number of pairs with successful copulation	12	12	12	12
Copulation index (%) <sup>a)</sup>	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of conceiving days Mean±S.D.	2.3 ± 1.1	2.5 ± 1.2	2.4 ± 1.2	2.5 ± 1.3
Conceiving days 1-5	12	12	12	12
Conceiving days ≥6	0	0	0	0
Number of pregnant females Fertility index (%) <sup>b)</sup>	11	11	12	12
Number of dead or moribund pregnant females during pregnancy	0	0	0	10
Number of pregnant females at delivery	11	11	12	2
Number of pregnant females with live pups	11	10	12	1

a): (Number of pairs with successful copulation / number of pairs)×100.

b): (Number of pregnant females / number of pairs with successful copulation)×100.

Table 52 Observation of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control		phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of dams	11	11	12	12	
Length of gestation (days)	22.2 ± 0.4	22.4 ± 0.9	22.2 ± 0.6	22.0	(2)
Pregnancy days ≤ 21	0	0	1	0	
Pregnancy days = 22	9	9	8	2	
Pregnancy days ≥ 23	2	2	3	0	
Corpora lutea	16.6 ± 2.2	16.3 ± 2.1	16.1 ± 1.4	15.3 ± 1.2	
Implantation scars	14.6 ± 2.4	14.8 ± 1.8	14.6 ± 1.6	13.9 ± 1.1	
Implantation index (%) <sup>a)</sup>	87.6 ± 7.4	91.3 ± 5.5	90.6 ± 4.5	91.4 ± 6.6	
Gestation index (%) <sup>b)</sup>	100.0	90.9	100.0	8.3	**
Pups born	13.9 ± 1.9	13.2 ± 3.4	13.2 ± 2.6	11.0	(2)
Stillbirths	0.2 ± 0.4	1.2 ± 1.6	0.2 ± 0.4	6.0	(2)
Live pups born	13.7 ± 1.8	12.0 ± 4.3	13.0 ± 2.5	5.0	(2)
Sex ratio at birth <sup>c)</sup> (Total male/total female)	1.09 ± 0.65 74/77	1.12 ± 0.44 (10) 67/65	1.28 ± 0.94 80/76	1.00	(1) 5/5
Delivery index (%) <sup>d)</sup>	95.5 ± 5.5	88.2 ± 20.3	89.9 ± 14.1	84.5	(2)
Birth index (%) <sup>e)</sup>	94.4 ± 5.7	79.4 ± 28.4	88.8 ± 13.4	41.5	(2)
Live birth index (%) <sup>f)</sup>	98.8 ± 2.6	85.4 ± 29.7	98.8 ± 2.7	50.0	(2)
Live pups on Day 4 of lactation	13.6 ± 1.7	12.5 ± 1.6 (10)	12.8 ± 2.6	8.0	(1)
Sex ratio on Day 4 of lactation <sup>c)</sup> (Total male/total female)	1.08 ± 0.65 73/77	1.09 ± 0.46 (10) 62/63	1.34 ± 0.98 79/74	1.00	(1) 4/4
Viability index (%) <sup>g)</sup>	99.4 ± 2.1	95.4 ± 10.3 (10)	98.1 ± 4.7	80.0	(1)
External abnormalities (%) <sup>h)</sup>	0.0 ± 0.0	1.4 ± 3.0 (10)	0.0 ± 0.0	0.0	(1)
Acaudate	0.0 ± 0.0	0.8 ± 2.4 (10)	0.0 ± 0.0	0.0	(1)
Short tail	0.0 ± 0.0	0.7 ± 2.1 (10)	0.0 ± 0.0	0.0	(1)

Each value shows mean ± S.D. per dam.

Significantly different from control group (\*\*: P<0.01).

Figures in parentheses indicate number of dams.

a): (Number of implantation scars/number of corpora lutea)×100.

c): Number of male pups/number of female pups.

e): (Number of live pups born/number of implantation scars)×100.

g): (Number of live pups on Day 4/number of live pups born)×100.

b): (Number of dams with live pups/number of pregnant dams)×100.

d): (Number of pups born/number of implantation scars)×100.

f): (Number of live pups born/number of pups born)×100.

h): (Number of pups with external abnormalities/number of live pups)×100.

Table 53 Delivery conditions and nursing conditions of dams in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4,6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of dams and delivery conditions/nursing conditions	Delivery conditions	Nursing conditions				
				Days of lactation				
				0	1	2	3	4
Control	0	Number of dams Normal	11 11	11	11	11	11	11
phenol, 2-sec -butyl-4,6-dinitro-	0.78	Number of dams Normal Prolonged delivering duration	11	10	10	10	10	10
			10	10	10	10	10	10
			1	-	-	-	-	-
	2.33	Number of dams Normal	12 12	12	12	12	12	12
	7.0	Number of dams Normal Severe vaginal bleeding	2	1	1	1	1	1
			1	1	1	1	1	1
			1	0	0	0	0	0

Table 54 General signs of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group	mg/kg	Number of pups and general signs	Days of lactation				
			0	1	2	3	4
Control	0	Number of pups	153	151	151	150	150
		Normal	151	151	150	150	150
		Death	2	0	1	0	0
phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-	0.78	Number of pups	145	132	129	128	128
		Normal	132	129	128	128	125
		Death	13	3	1	0	3
	2.33	Number of pups	158	156	154	154	153
		Normal	156	154	154	153	153
		Death	2	2	0	1	0
	7.0	Number of pups	22	10	10	8	8
		Normal	10	10	8	8	8
		Death	12	0	2	0	0

Table 55 Body weights of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control				phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-
	0	0.78	2.33	7.0	
Number of dams	11	10	12	1	
Male weight					
Days of lactation					
0	6.8 ± 0.5	6.5 ± 0.4	6.7 ± 0.5	6.8	
4	11.1 ± 1.4	10.8 ± 1.1	10.6 ± 1.2	8.2	
Female weight					
Days of lactation					
0	6.4 ± 0.6	6.2 ± 0.5	6.3 ± 0.6	6.8	
4	10.2 ± 1.5	10.5 ± 1.3	9.9 ± 1.5	8.4	
Mean pups weight					
Days of lactation					
0	6.6 ± 0.5	6.4 ± 0.4	6.5 ± 0.5	6.8	
4	10.6 ± 1.4	10.7 ± 1.2	10.3 ± 1.3	8.3	
Litter weight					
Days of lactation					
0	89.9 ± 8.5	83.6 ± 10.3	83.5 ± 14.9	68.0	
4	143.5 ± 15.3	132.2 ± 13.7	128.0 ± 18.5	66.4	

Each value shows mean (g) ± S.D. per dam.

Study No. 100422

Table 56 Necropsy findings of dead pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2- <i>sec</i> -butyl-4, 6-dinitro-		
		0.78	2.33	7.0
Number of dams	0	2	0	1
Number of pups	0	3	0	1
Normal	-	3	-	1
Abnormal	-	0	-	0

Table 57 Necropsy findings of pups ( $F_1$ ) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Group mg/kg	Control	phenol, 2-sec -butyl-4, 6-dinitro-		
		0.78	2.33	7.0
Number of dams	11	10	12	1
Number of male pups	73	62	79	4
Normal	73	62	79	4
Abnormal	0	0	0	0
Number of dams	11	10	12	1
Number of female pups	77	63	74	4
Normal	77	63	73	4
Kidney				
Dilatation, right pelvis	0	0	1	0

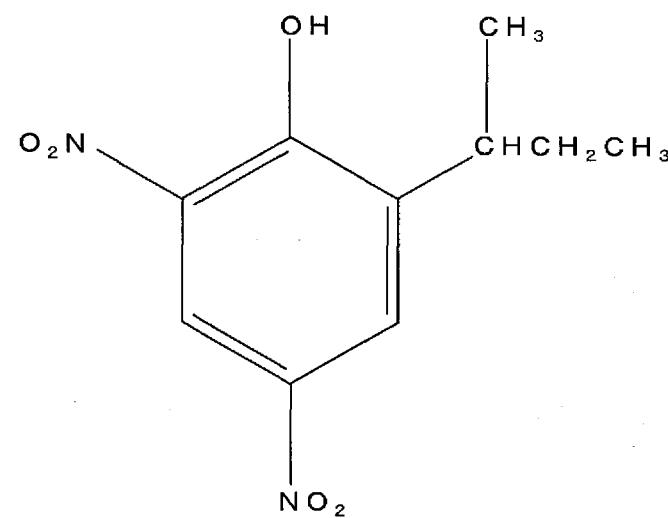


Fig. 1      Chemical structure of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro-

Study No. 100422

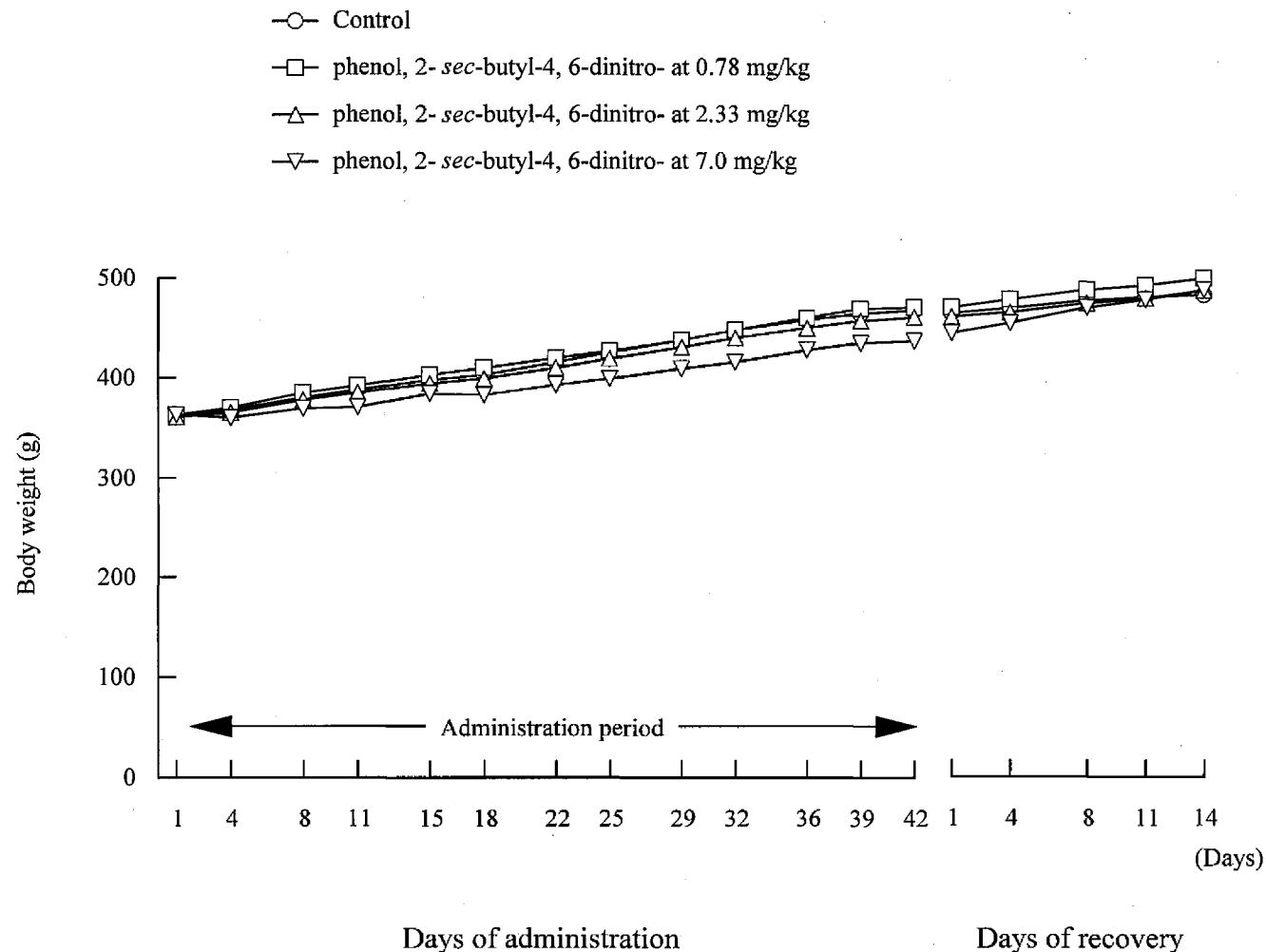


Fig. 2 Body weights of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Study No. 100422

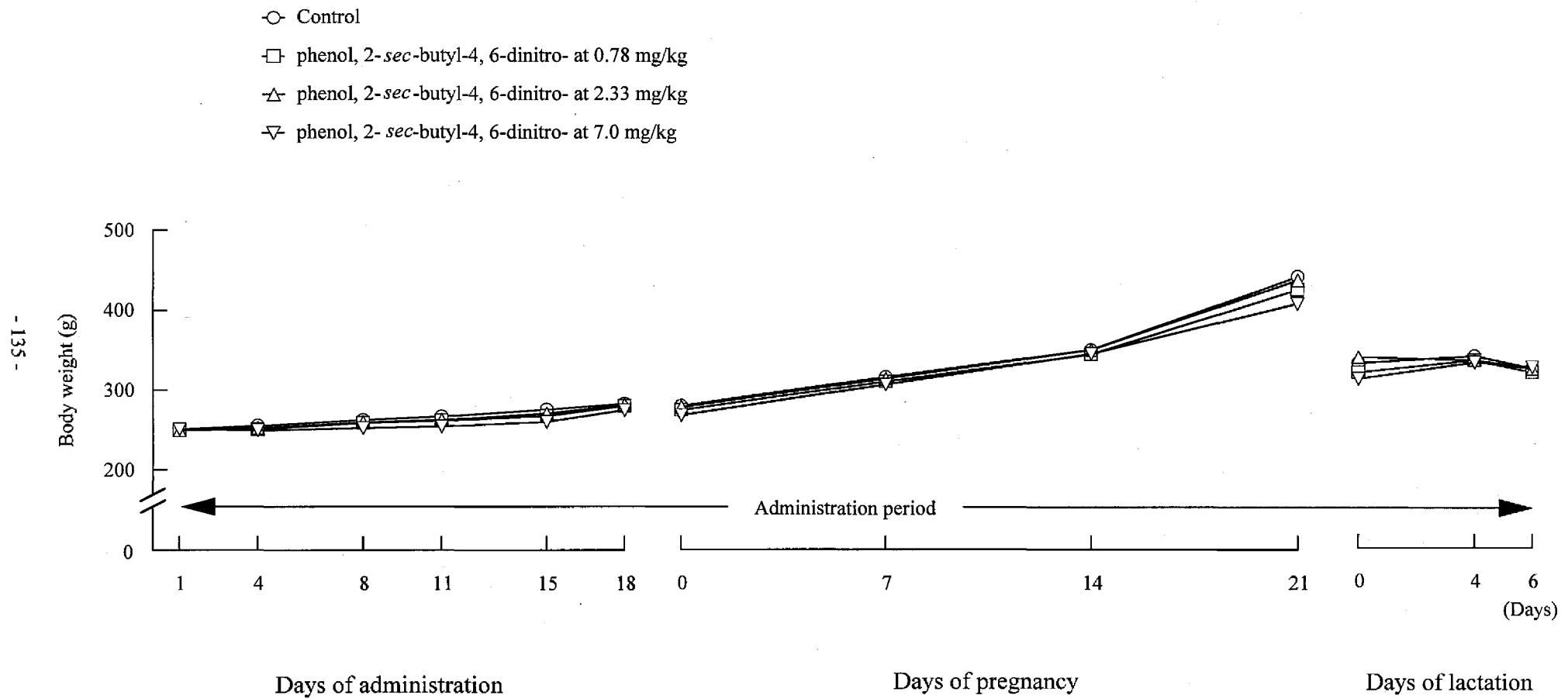


Fig. 3 Body weights of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Study No. 100422

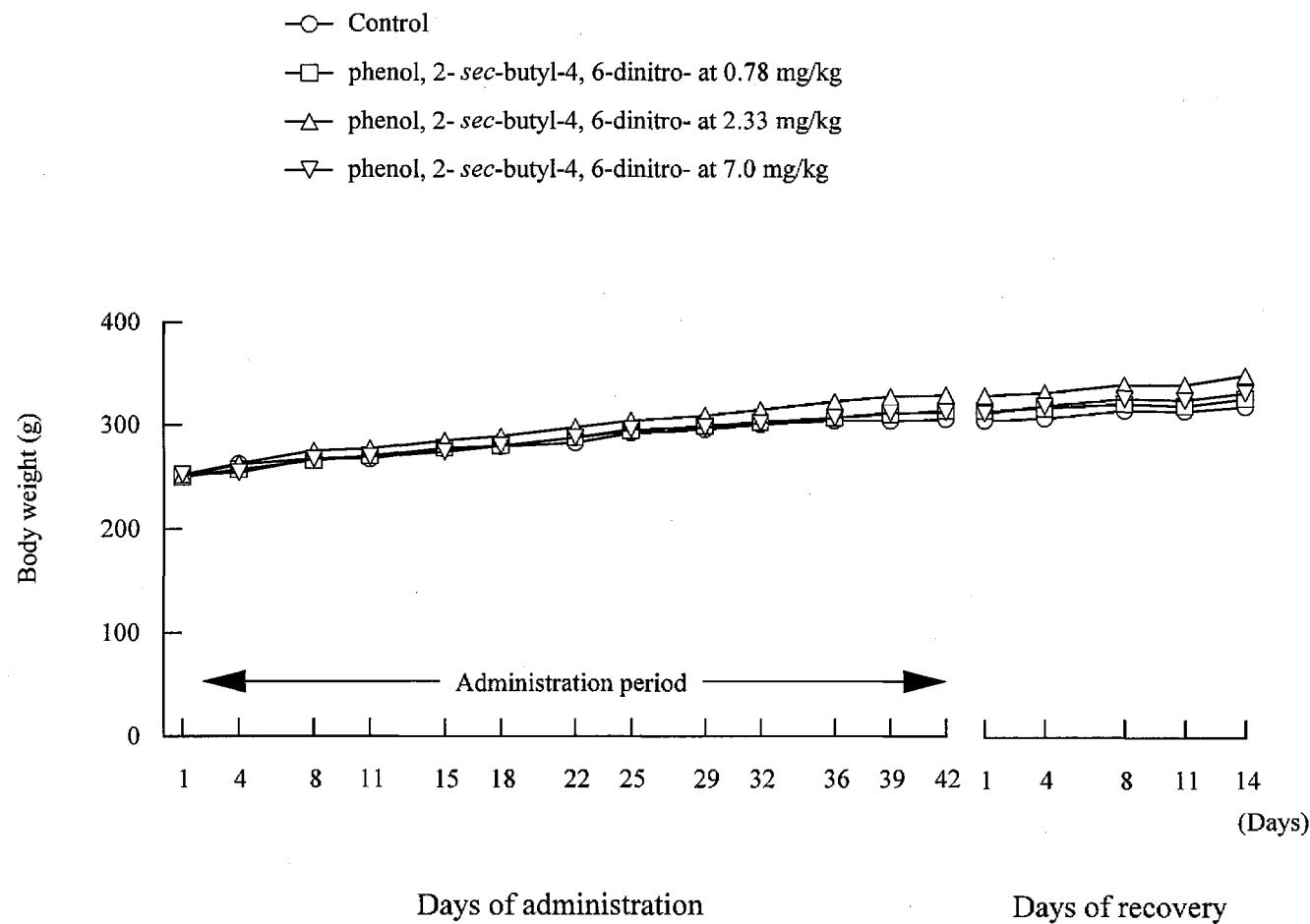


Fig. 4 Body weights of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-sec-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Study No. 100422

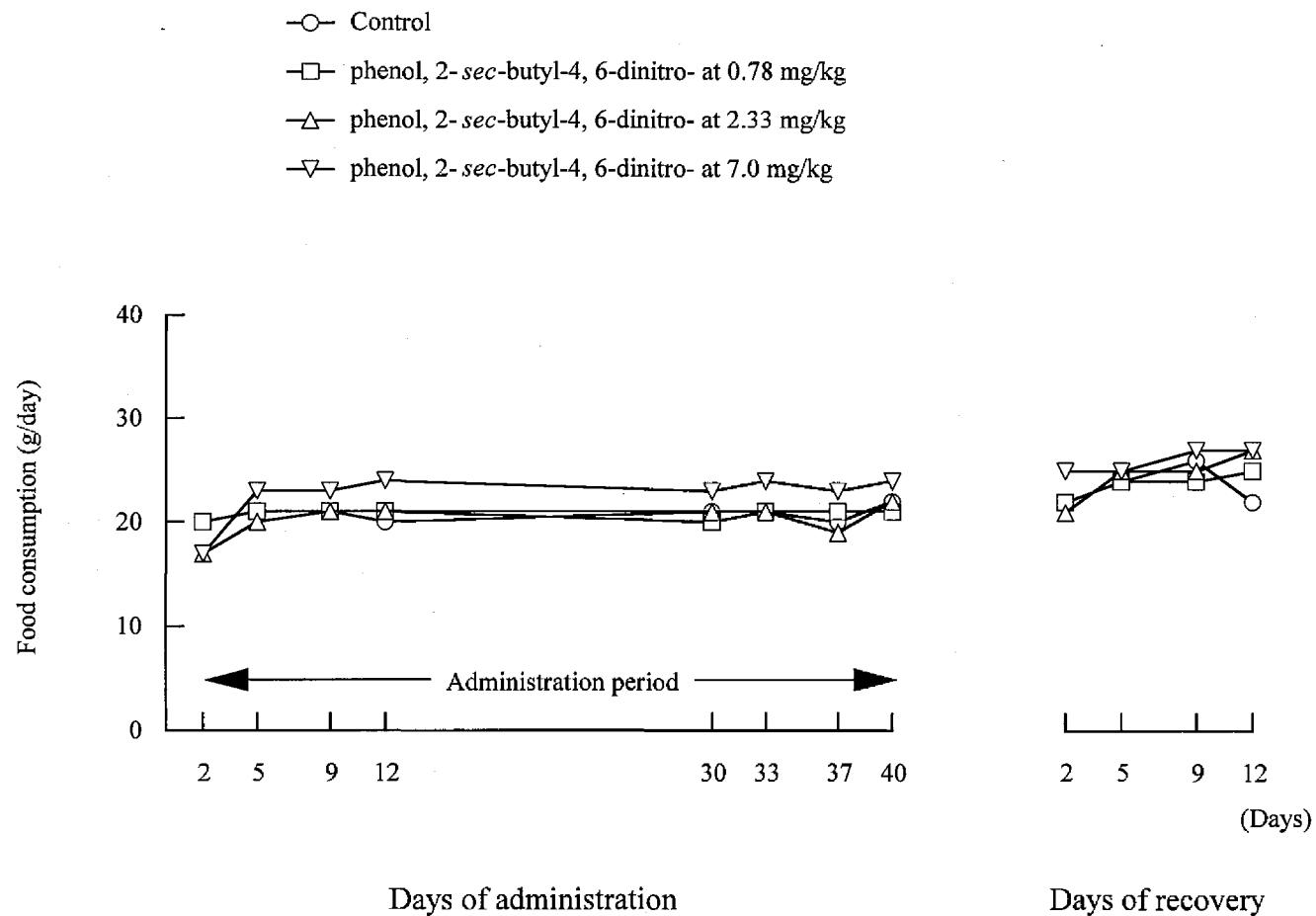


Fig. 5 Food consumption of male rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Study No. 100422

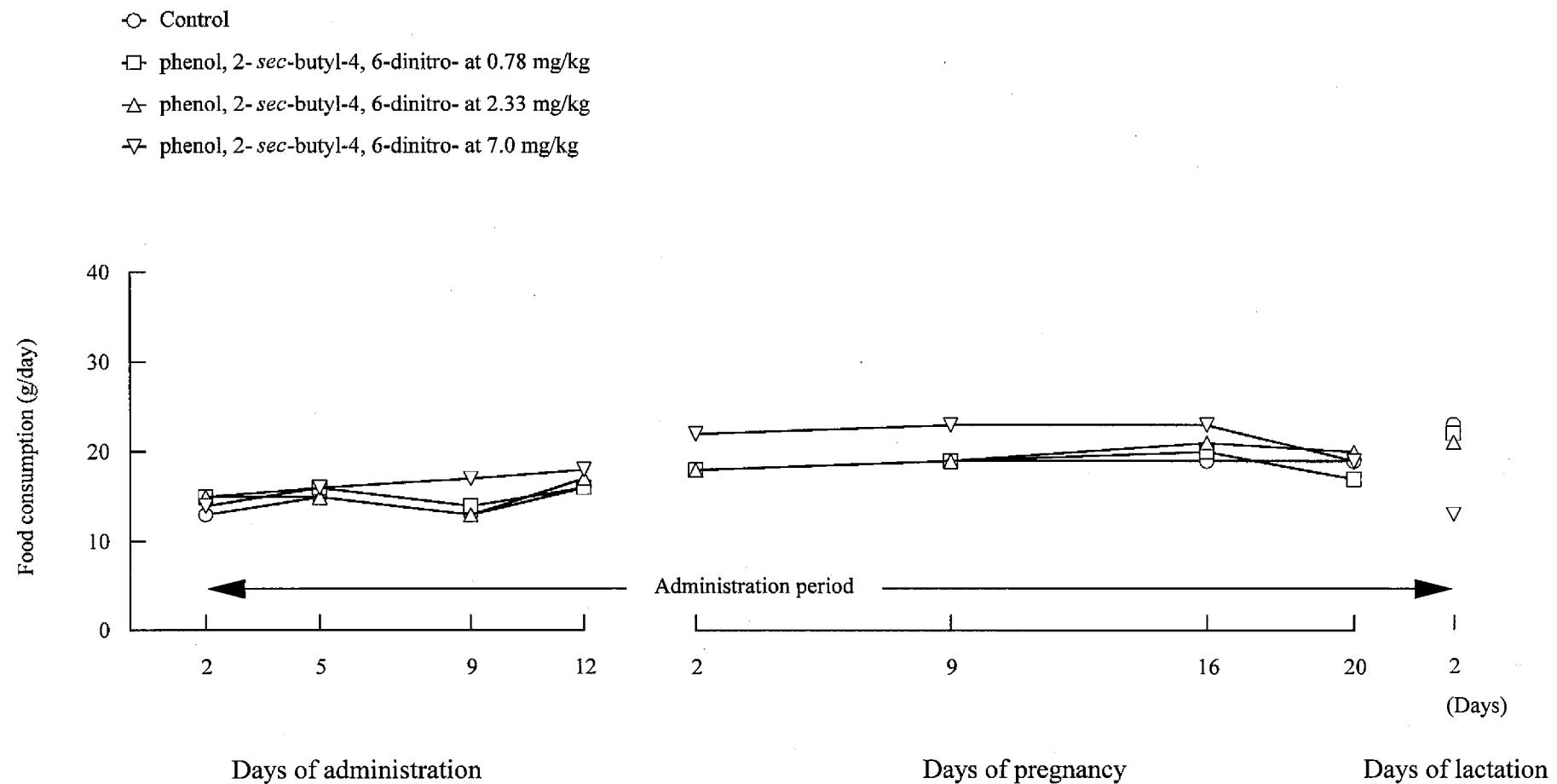


Fig. 6 Food consumption of female rats in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Study No. 100422

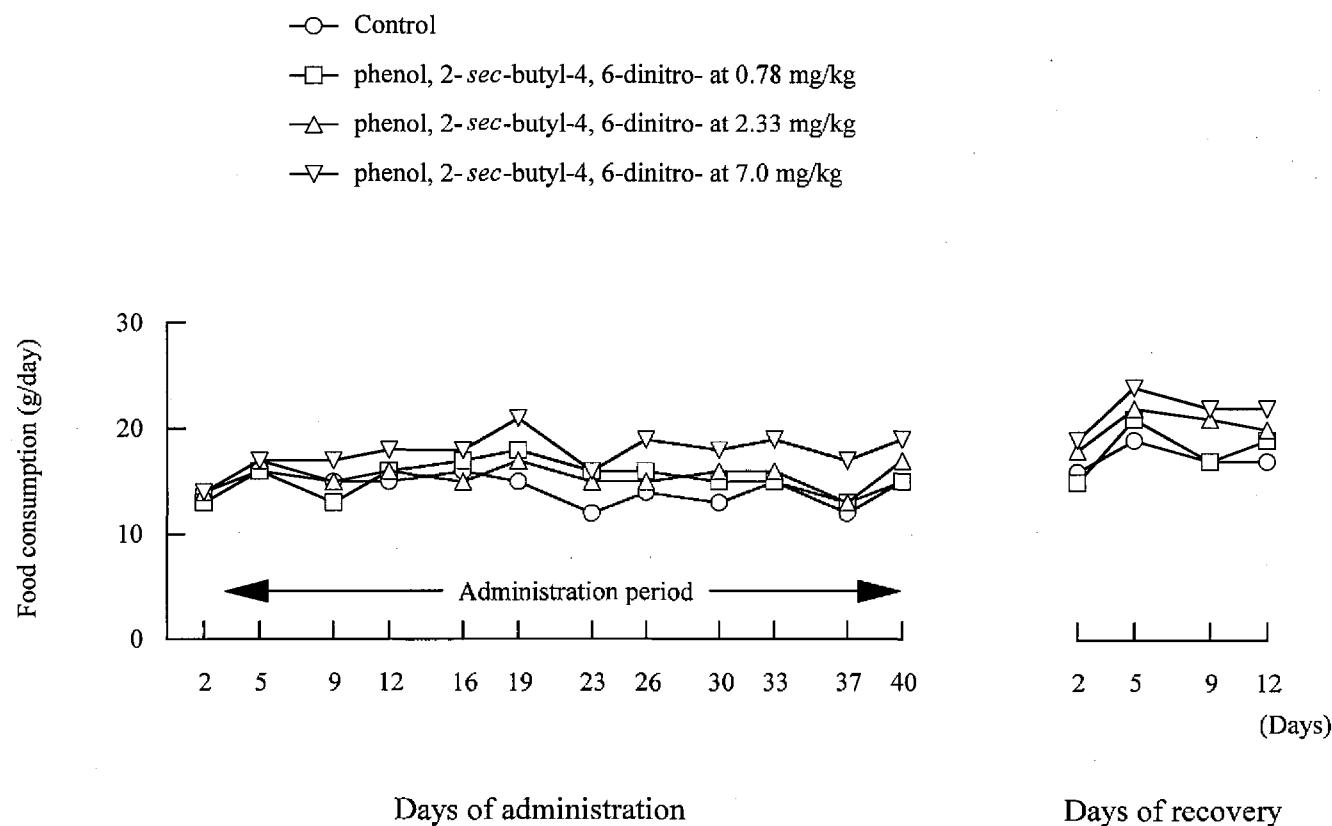


Fig. 7 Food consumption of female rats (recovery group) in combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test of phenol, 2-*sec*-butyl-4, 6-dinitro- by oral administration

Study No. 100422