

平成 23 年度

内分泌かく乱化学物質
スクリーニング試験

Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の卵巣摘出
マウスにおける経口投与子宮肥大試験

機 関 名 株式会社 化合物安全性研究所

研究責任者名
(契約者)

代表取締役社長



信 頼 性 保 証 書

表題：Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の卵巣摘出マウスにおける
経口投与子宮肥大試験

試験番号：SR11131

本試験は、株式会社 化合物安全性研究所 QAUによって、下記のとおり査察された。

査 察 段 階	査 察 日	試 験 責 任 者 への 報 告 日	運 営 管 理 者 への 報 告 日
試験計画書	2011 年 11 月 14 日	2011 年 11 月 14 日	2011 年 11 月 14 日
試験計画書変更書(No. 1)	2012 年 1 月 23 日	2012 年 1 月 24 日	2012 年 1 月 24 日
被験物質の受入・表示・保存	2011 年 11 月 14 日	2011 年 11 月 14 日	2011 年 11 月 14 日
投与液の調製	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日
動物受入・検疫・馴化	2011 年 11 月 16 日	2011 年 11 月 16 日	2011 年 11 月 16 日
群分け	2011 年 11 月 21 日	2011 年 11 月 21 日	2011 年 11 月 21 日
投与	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日
一般状態観察	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日
体重測定	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日	2011 年 11 月 22 日
剖検・器官重量測定	2011 年 11 月 29 日	2011 年 11 月 29 日	2011 年 11 月 29 日
生データ	2012 年 1 月 23 日	2012 年 1 月 24 日	2012 年 1 月 24 日
最終報告書(草案)：図表	2012 年 1 月 23 日	2012 年 1 月 24 日	2012 年 1 月 24 日
最終報告書(草案)：本文	2012 年 1 月 23 日	2012 年 1 月 24 日	2012 年 1 月 24 日
	2012 年 1 月 27 日	2012 年 1 月 27 日	2012 年 1 月 27 日
最終報告書	2012 年 2 月 10 日	2012 年 2 月 10 日	2012 年 2 月 10 日

1. 本試験は、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 23 年 3 月 31 日 薬食発 0331 第 8 号・平成 23・03・29 製局第 6 号・環企発第 110331010 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知) および経済協力開発機構の「OECD Guideline for the testing of chemicals; Uterotrophic Bioassay in Rodents: A short-term screening test for oestrogenic properties (440), Adopted 16 October 2007」に従い実施された。
2. 本試験は、試験計画書に従って実施され、また、本報告書には当該試験に使用した方法および手順が正確に記載されており、試験成績には当該試験の実施過程において得られた生データが正確に反映していることを確認した。

株式会社 化合物安全性研究所

QAU 責任者

[Redacted Signature]

2012 年 2 月 10 日

目 次

	頁
表題、試験番号、試験目的、試験実施基準および試験法ガイドライン、動物愛護、試験委託者	1
試験施設、試験責任者、試験従事者およびその業務分担、試験期間	2
要約	3
緒言	4
材料および方法	4
成績	12
考察	13
結論	14
参考資料	14
試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	15
資料の保存	15
試験責任者の記名なつ印	15
Figures and Tables	添付
Figure 1 Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	
Figure 2 Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	
Table 1 General appearance of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	
Table 2 General appearance of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	
Table 3 Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	
Table 4 Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	
Table 5 Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	
Table 6 Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)	

Table 7 Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Table 8 Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Individual data -----添付

Symbols and process for statistical analysis in INDIVIDUAL DATA

1-1-1~1-2-5 General appearance

2-1-1~2-2-5 Body weight

3-1-1~3-2-5 Autopsy findings

4-1-1~4-2-5 Absolute and relative organ weights

Appendices -----添付

1 検査成績書(326-63232)

2 Certificate of analysis(10006486)

表題

Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の卵巣摘出マウスにおける経口投与子宮肥大試験

試験番号

S R 1 1 1 3 1

試験目的

Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide を卵巣摘出マウスに 7 日間反復経口投与し、子宮重量等の変化からエストロゲン作用および抗エストロゲン作用の有無を評価した。

試験実施基準および試験法ガイドライン

試験実施基準(GLP) : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 23 年 3 月 31 日 薬食発 0331 第 8 号・平成 23・03・29 製局第 6 号・環企発第 110331010 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)

試験法ガイドライン : 経済協力開発機構の「OECD Guideline for the testing of chemicals; Uterotrophic Bioassay in Rodents: A short-term screening test for oestrogenic properties (440), Adopted 16 October 2007」

動物愛護

本試験は、試験施設の動物実験倫理委員会の承認を得、かつ、標準操作手順書(動物実験倫理規定)に準拠した。

法規および基準等 : 「動物の愛護及び管理に関する法律」(昭和 48 年 10 月 1 日 法律第 105 号、最終改正 平成 23 年 8 月 30 日 法律第 105 号)

「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成 18 年 4 月 28 日 環境省告示第 88 号)

「動物実験に関する指針」(昭和 62 年 5 月 22 日承認 社団法人日本実験動物学会)

試験委託者

名称 : 国立医薬品食品衛生研究所

所在地 : 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

担当者 : 安全性生物試験研究センター 総合評価研究室

試験施設

名称 : 株式会社 化合物安全性研究所
 所在地 : 札幌市清田区真栄 363 番 24 (〒004-0839)
 運営管理者 : 

試験責任者

氏名 : 
 所属 : 株式会社 化合物安全性研究所 安全性研究部

試験従事者およびその業務分担

被験物質管理 :

動物管理 :

検疫・馴化 :

投与・観察・測定 :

病理検査 :

試験期間

試験開始日 : 2011 年 11 月 14 日
 被験物質受入 : 2011 年 9 月 15 日
 動物受入 : 2011 年 11 月 16 日
 群分け : 2011 年 11 月 21 日
 実験開始日 : 2011 年 11 月 22 日
 投与開始 : 2011 年 11 月 22 日
 投与終了 : 2011 年 11 月 28 日
 剖検(生存例) : 2011 年 11 月 29 日
 実験終了日 : 2011 年 11 月 29 日
 試験終了日 : 2012 年 2 月 10 日

要 約

Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の 15、50、150 および 500 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巣摘出雌性マウスに 7 日間反復経口投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討し、以下の成績を得た。

1. 一般状態では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。
2. 体重推移では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。
3. 剖検では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。
4. 器官重量では、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにおいても 500 mg/kg 群で肝臓重量の増加が認められたが、子宮重量に被験物質投与の影響は認められなかった。

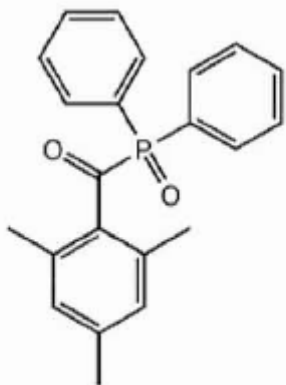
以上のことから、本試験条件下では、Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide のエストロゲン作用および抗エストロゲン作用はいずれについても陰性と結論された。

緒 言

Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の 15、50、150 および 500 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巣摘出雌性マウスに 7 日間反復経口投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討した。

材料および方法

1. 被験物質

名称	: Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide
別名 ²⁾	: 2,4,6-トリメチルベンゾイルジフェニルホスフィンオキシド ジフェニル(2,4,6-トリメチルベンゾイル)ホスフィンオキシド 1-[(ジフェニルホスフィニル)カルボニル]-2,4,6-トリメチルベンゼン 2,4,6-トリメチルフェニル(ジフェニルホスフィニル)ケトン メシチルカルボニルジフェニルホスフィンオキシド ジフェニル 2,4,6-トリメチルベンゾイルホスフィンオキシド 2,4,6-トリメチルフェニル(ジフェニルホスフィニル)メタノン
CAS 番号	: 75980-60-8
官報公示整理番号	: 化審法 ; (3)-4078、安衛法 ; 4-(3)-48
分子式 ¹⁾	: C ₂₂ H ₂₁ O ₂ P
構造式 ²⁾	

分子量	: 348.37 ¹⁾
物理化学的性質	: 外観 ; 淡黄色の結晶性粉末 (Appendix 1)

	融点	; 88～92℃ ¹⁾
ロット番号	:	
含量	:	99.6% (HPLC、Appendix 1)
製造者	:	
入手量	:	25 g×2 本 (関連試験と共用)
安定性	:	データなし ¹⁾ 。
保存条件	:	直射日光を避け、換気のよいなるべく涼しい場所に密閉して保管した ¹⁾ 。酸化剤並びに酸化性の強い物質との保管は避けた ¹⁾ 。
保存場所	:	被験物質保存室の冷蔵室 (実測範囲 2～10℃、受入から投与終了日まで)
取り扱い上の注意	:	適切な保護具を着用し、吸い込んだり、眼、皮膚および衣類に触れないようにした。
毒性情報	:	急性毒性 経口 ラット TDLo 27300 mg/kg/13 週 (継続的) 体重減少又は体重増加率減少 精巣重量の変化 (RTECS) ¹⁾
サンプリング	:	適用しなかった。
残余被験物質	:	関連試験の投与操作終了後、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

2. 比較対照物質

名称	:	Ethinyl Estradiol (以下、EE)
CAS 番号	:	57-63-6
分子量	:	296.40
製造業者	:	Cayman Chemical Company
販売業者	:	和光純薬工業株式会社
Batch number	:	0422603
純度	:	99.5% (HPLC) (Appendix 2)
保存条件	:	冷凍
保存場所	:	被験物質保存室の冷凍庫 [実測範囲-28～-24℃、2011 年 9 月 29 日 (受入) から投与終了日まで]
使用期限	:	2012 年 8 月 17 日

3. 対照物質

名称 : 日本薬局方オリーブ油
 製造業者 : ヤクハン製薬株式会社
 ロット番号 : 106079
 保存条件 : 室温
 使用期限 : 2014 年 6 月

4. 投与液の調製

(1) 被験物質

調製方法 : 被験物質を精秤し、日本薬局方オリーブ油に所定の濃度になるように溶解または懸濁させた。
 調製頻度 : 用時調製
 調製上の注意 : クリーンベンチを使用し、マスク、保護手袋および保護眼鏡等を着用した。
 残余投与液の処置 : 焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

(2) 比較対照物質

調製方法 : 比較対照物質を精秤し、試薬特級エタノール(95.0%)に溶解後、日本薬局方オリーブ油を加えてメスアップした。エタノールの量は全調製量の5%以内とした。
 調製頻度 : 投与開始日までに1回調製した。
 投与液の保存条件 : 遮光気密容器に入れ、室温保存した。
 投与液の保存場所 : 試験施設の被験物質保存室
 [実測範囲 22～25℃、2011 年 11 月 21 日(調製日)から投与終了日まで]
 投与液の使用期限 : 2 週間
 調製上の注意 : クリーンベンチを使用し、マスク、保護手袋および保護眼鏡を着用した。
 残余投与液の処置 : 焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

5. 試験方法

(1) 試験系

種・系統 : マウス、C57BL/6JJmsSlc
 微生物統御 : SPF
 生産業者 : 日本エスエルシー株式会社

微生物モニタリング : 動物生産業者よりデータを入手した。

動物選択理由 : マウスは毒性試験等で通常用いられている動物種であり、すでに実施された試験において使用されていることからこの系統を選定した。

発注動物数 : 卵巣摘出雌 72 匹

卵巣摘出時週齢 : 6 週齢

受入時週齢 : 7 週齢

出荷時体重基準 : 15～20 g

受入時体重範囲 : 15.5～17.8 g

投与開始時週齢 : 8 週齢

群数 : 11 群

各群動物数 : 6 匹

(2) 検疫および馴化

検疫方法 : 一般状態観察を 1 日 1 回観察し、体重を受入時および群分け時（投与開始前日）に測定した。

期間 : 馴化 6 日までの 5 日間

検疫および馴化期間中に、異常は認められなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間中に実施した一般状態観察および体重測定の結果を参考にして、動物の使用の適否を決定した。すなわち、72 匹を対象に、検疫および馴化期間終了日の体重に基づいて、投与開始前日に層化無作為抽出法により各群の平均体重が均一になるように群分けを行い、試験に使用する 66 匹を選抜した。これらの動物の体重範囲は、17.3～19.4 g であり、平均体重(18.51 g)の±20%以内であることを確認した。選抜から外れた動物 6 匹は試験から除外し、標準操作手順書に従って安楽死させた。

(4) 動物およびケージの識別

動物 : 油性フェルトペンで尾部に印を付け、個体識別を行った。

飼育ケージ : 群分け前はラベルに試験番号および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

群分け後はラベルに試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

飼育室番号 : 301 号室

温度・湿度 : 22±3℃(実測範囲 20～23℃), 50±20%(実測範囲 43～64%)

換気回数 : 10～15 回／時間
 照明時間 : 人工照明 12 時間(8:00～20:00)

動物飼育室の温度および湿度を毎日監視し、異常が認められないことを確認した。

2) 飼育器材および飼育方法

ケージの種類 : ブラケット式金属製金網床ケージ(260W×380D×180H, mm)

1 ケージあたりの収容動物数

: 検疫および馴化期間中は2 または 5 匹、群分け後は 3 匹とした。

ケージ交換 : 群分け時に 1 回実施した。

受皿交換 : 週 2 回実施した。

給餌器交換 : 群分け時に 1 回実施した。

自動給水装置の水抜き

: 週 1 回実施した。

室内の清掃 : 1 日 1 回実施した。

室内の消毒 : 塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用する清拭消毒を 1 日 1 回実施した。

3) 飼料

種類・名称 : 固型飼料、CRF-1

ロット番号 : 110908

製造業者 : オリエンタル酵母工業株式会社

給餌方法 : 金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

汚染物質および微生物検査

: 試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロットの飼料について分析した。汚染物質の分析は Eurofins Analytics 社(分析報告書: AR-11-JP-002270-01)が、微生物検査は飼料製造業者(分析試験報告書: No. 11G03-132)がそれぞれ行った。分析データを飼料製造業者から入手した。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

4) 飲料水

種類 : 札幌市水道水

給水方法 : 自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

汚染物質検査 : 試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2011 年

10月3日および2012年1月5日)に当該飼育室の配管の最末端から試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社(水質検査結果表: No. A233146 および A234348)が行い、分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

(6) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

投与量 : 0 (対照群)、15、50、150 および 500 mg/kg とした。

設定理由 : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の 40、200 および 1000 mg/kg を雌性マウスに 7 日間反復経口投与した予備試験(試験番号: SR11131P)では、1000 mg/kg 群で投与 2 日から外尿道口周囲の被毛汚れがみられ、投与 3 日に 1 例の死亡例が認められた。死亡例の剖検所見では肝臓の褪色ならびに胸腺と脾臓の萎縮が認められた。これらのことから、卵巣摘出マウスにおける経口投与子宮肥大試験のエストロゲン作用検出群としては、被験物質投与により 1 例の死亡例が認められている 1000 mg/kg の半分量である 500 mg/kg を高用量とし、以下公比約 3 で除した 150、50 および 15 mg/kg をそれぞれ中高用量群、中低用量群および低用量群として設定し、対照物質のみを経口投与する陰性対照群および EE 6.0 µg/kg を経口投与する陽性対照群を加えた計 6 群を設けた。

抗エストロゲン作用検出群としては、500、150、50 および 15 mg/kg の被験物質(経口投与)に加えて EE 0.6 µg/kg(皮下投与)を同時に投与する 4 群を設定し、対照物質(経口投与)に加えて EE 0.6 µg/kg(皮下投与)を同時に投与する陰性対照群(EE 群)を加えた計 5 群を設けた。

試験群の構成

試験群	EE		被験物質		動物数(動物番号) 雌
	投与量 (μg/kg)	濃度 (μg/mL)	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	
＜エストロゲン作用検出群＞					
陰性対照群*1	－	－	0	0	6 (151～156)
低用量群	－	－	15	3	6 (251～256)
中低用量群	－	－	50	10	6 (351～356)
中高用量群	－	－	150	30	6 (451～456)
高用量群	－	－	500	100	6 (551～556)
陽性対照群*2	6.0	1.2	－	－	6 (651～656)

＜抗エストロゲン作用検出群＞					
EE 群 *3	0.6	1.2	0	0	6 (161～166)
低用量+EE 群*4	0.6	1.2	15	3	6 (261～266)
中低用量+EE 群*4	0.6	1.2	50	10	6 (361～366)
中高用量+EE 群*4	0.6	1.2	150	30	6 (461～466)
高用量+EE 群*4	0.6	1.2	500	100	6 (561～566)

*1：対照物質(日本薬局方オリブ油)を経口投与した。

*2：EE を経口投与した。

*3：対照物質(日本薬局方オリブ油)を経口投与後、EE を皮下投与した。

*4：被験物質投与液を経口投与後、EE を皮下投与した。

2) 投与

① 被験物質および対照物質

投与方法および投与経路

：金属製胃ゾンデおよびディスポーザブルシリリングを用いて強制的に胃内に経口投与した。

投与回数：1 日 1 回、7 日間連続投与した。

投与方法、投与経路および投与回数の選定理由

：「試験法ガイドライン」を参考とした。

投与時刻：13：17～15：30

投与容量：5 mL/kg とした。各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。

② 比較対照物質

投与方法および投与経路

エストロゲン作用検出群

：金属製胃ゾンデおよびディスポーザブルシリリングを用いて強制的に胃内に経口投与した。

抗エストロゲン作用検出群

；対照物質(日本薬局方オリブ油)あるいは被験物質を経口投与した後に、背部肩甲骨の間を 70%エタノールで消毒し、ディスポーザブル注射針およびマイクロシリリングを用いて皮下投与した。

投与回数：1 日 1 回、7 日間連続投与した。

投与方法、投与経路および投与回数の選定理由

：「試験法ガイドライン」を参考とした。

投与時刻：13：50～15：56

投与容量：エストロゲン作用検出群(経口)；5 mL/kg とした。

抗エストロゲン作用検出群(皮下)；0.5 mL/kg とした。

各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。

(7) 観察、測定および検査項目

以下の項目について実施した。投与日数は投与開始日を投与1日として起算した。

1) 一般状態観察

例数 : 全例
 期間 : 投与1日から投与7日の翌日の剖検日まで。
 頻度 : 毎日の投与前(午前)、投与後(夕刻)の計2回。ただし、剖検日は午前中に1回。
 観察方法 : 個々の動物の生死、外観、行動等について観察した。

2) 体重測定

例数 : 全例
 測定日 : 投与1日から投与7日までの毎日の投与前ならびに剖検日の午前中に測定した。
 測定方法 : 電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて測定し、0.1 g単位で記録した。

3) 剖検

例数 : 全例
 検査時期 : 最終投与の22～25時間後に実施した。
 検査方法 : 体外表を観察し、エーテル麻酔下で放血により安楽死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。子宮については実体顕微鏡下で余分な脂肪を除去した。子宮および膈を10%中性緩衝ホルマリン液に固定・保存した。

4) 器官重量測定

例数 : 全例
 検査時期 : 剖検時
 測定方法 : 電子式上皿天秤を用いて子宮重量を0.1 mg単位で測定した。
 子宮重量は子宮内液を含んだ重量(wet weight)および子宮壁の一部を切開して子宮内液を除いた重量(blotted weight)について測定した。
 あわせて、肝臓、腎臓、副腎重量を測定した。
 相対重量の算出 : 以下の式から相対重量を算出した。

$$\text{相対重量 (10}^{-3}\%) = \frac{\text{絶対重量 (mg)}}{\text{剖検日体重 (g)}} \times 100$$

5) 病理組織学的検査

器官重量に被験物質投与と関連した変化が認められなかったため、病理組織学的検査

査は実施しなかった。

6. 統計学的方法

体重および器官重量の成績について平均値および標準偏差を算出し、Bartlett の検定法を行い、等分散性を解析した。等分散 ($p > 0.05$) の場合は一元配置分散分析法で解析し、不等分散 ($p \leq 0.05$) の場合は Kruskal-Wallis の検定法で解析した。一元配置分散分析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Dunnett の検定法を用いて陰性対照群あるいは EE 群との比較を行った。Kruskal-Wallis 法の解析の結果、有意差がみられた場合 ($p \leq 0.10$) は Steel の検定法を用い陰性対照群あるいは EE 群との比較を行った。

陰性対照群あるいは EE 群との比較検定については、有意水準を 5% とした。

成 績

1. 一般状態

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

(1) エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも異常は認められなかった。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも異常は認められなかった。

2. 体重

体重の成績を Figure 1 および 2、Table 3 および 4、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-2-5 に示す。

(1) エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも陰性対照群と比較して有意な差は認められなかった。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも EE 群と比較して有意な差は認められなかった。

3. 剖検

剖検所見を Table 5 および 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-2-5 に示す。

(1) エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも異常所見は認められなかった。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

いずれの投与群でも異常所見は認められなかった。

4. 器官重量

器官の絶対および相対重量を Table 7 および 8、INDIVIDUAL DATA 4-1-1～4-2-5 に示す。

(1) エストロゲン作用検出群

15、50 および 150 mg/kg 群では、陰性対照群と比較して有意な差は認められなかった。

500 mg/kg 群では、肝臓の絶対および相対重量に有意な高値が認められた。

陽性対照群では、子宮の wet weight および blotted weight の絶対および相対重量に有意な高値、腎臓の絶対重量に有意な低値が認められた。

(2) 抗エストロゲン作用検出群

15 mg/kg 群では、EE 群と比較して有意な差は認められなかった。

50 および 150 mg/kg 群では、子宮の wet weight および blotted weight の絶対および相対重量に有意な高値が認められた。

500 mg/kg 群では、子宮の wet weight および blotted weight ならびに肝臓の絶対および相対重量に有意な高値が認められた。

考 察

Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の 15、50、150 および 500 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巢摘出雌性マウスに 7 日間反復経口投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討した。

その結果、被験物質投与各群の一般状態、体重および剖検所見ではエストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにも被験物質投与の影響は認められなかった。

器官重量では、被験物質投与各群の子宮重量に被験物質投与の影響はなく、本被験物質にエストロゲン作用はないと判断した。

他に、エストロゲン作用検出群の 500 mg/kg 群で肝臓の絶対および相対重量に有意な高値が認められた。この変化は、絶対および相対重量の双方にみられ被験物質投与に関連して発現した毒性変化と考えられた。

陽性対照群では、子宮重量の有意な高値が認められた。この変化は EE を投与したことによるエストロゲン作用の陽性反応と判断した。

抗エストロゲン作用検出群では、50、150 および 500 mg/kg 群で子宮重量にいずれも EE 群と比較して有意な高値が認められた。この変化は、本試験系が抗エストロゲン作用を検討する群であり逆の変動であること、また、これらの値は当施設における背景データ³⁾の範囲内にありむしろ EE 群の値が低いことによる偶発的な有意差と考えられること、これらより本被験物質に抗エストロゲン作用は無いと判断した。

他に、500 mg/kg 群で肝臓の絶対および相対重量に有意な高値が認められた。この変化は、エストロゲン作用検出群の 500 mg/kg 群にもみられ、被験物質投与に関連して発現した毒性変化と考えられた。

結 論

Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide の 15、50、150 および 500 mg/kg を 1 群につき 6 匹の卵巢摘出雌性マウスに 7 日間反復経口投与し、子宮重量の変化からエストロゲン作用の有無について検討した。さらに、Ethinyl Estradiol を併用投与した際の子宮重量の変化から、抗エストロゲン作用の有無についても検討した。

その結果、被験物質投与に関連した子宮重量の変化は認められず、本被験物質にエストロゲン作用および抗エストロゲン作用はいずれについても陰性と結論された。

他に、エストロゲン作用検出群および抗エストロゲン作用検出群のいずれにおいても 500 mg/kg 群で肝臓重量の増加が認められ、被験物質投与による毒性変化と判断した。

参考資料

- 1) XXXXXXXXXX 製品安全データシート
- 2) 日化辞 Web：JST の有機化合物辞書 DB「日本化学物質辞書」検索サービス。
- 3) 背景データ．株式会社 化合物安全性研究所．(2012)

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

試験計画書では比較対照物質の調製の際に使用するエタノールを 99.5%と規定していたが、誤って試薬特級エタノール(95.0%)を使用し試験計画書から逸脱していた。しかし、エタノールは EE を投与液中に速やかに分散させる目的で使用しているものであり、使用量も全調製量の 5%以内を超えることはないことから、この逸脱による試験成績の信頼性に関する影響はないと判断した。

他には、試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因はなかった。

資料の保存

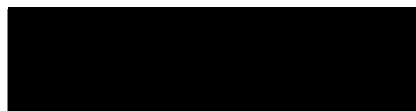
下記の資料を試験終了後 10 年間、株式会社 化合物安全性研究所の資料保存室に保存する。
その後の保存については試験委託者との協議により決定する。

- ① 試験計画書および試験計画書変更書
- ② 生データその他の記録文書
- ③ 最終報告書
- ④ 標本 : 固定器官・組織

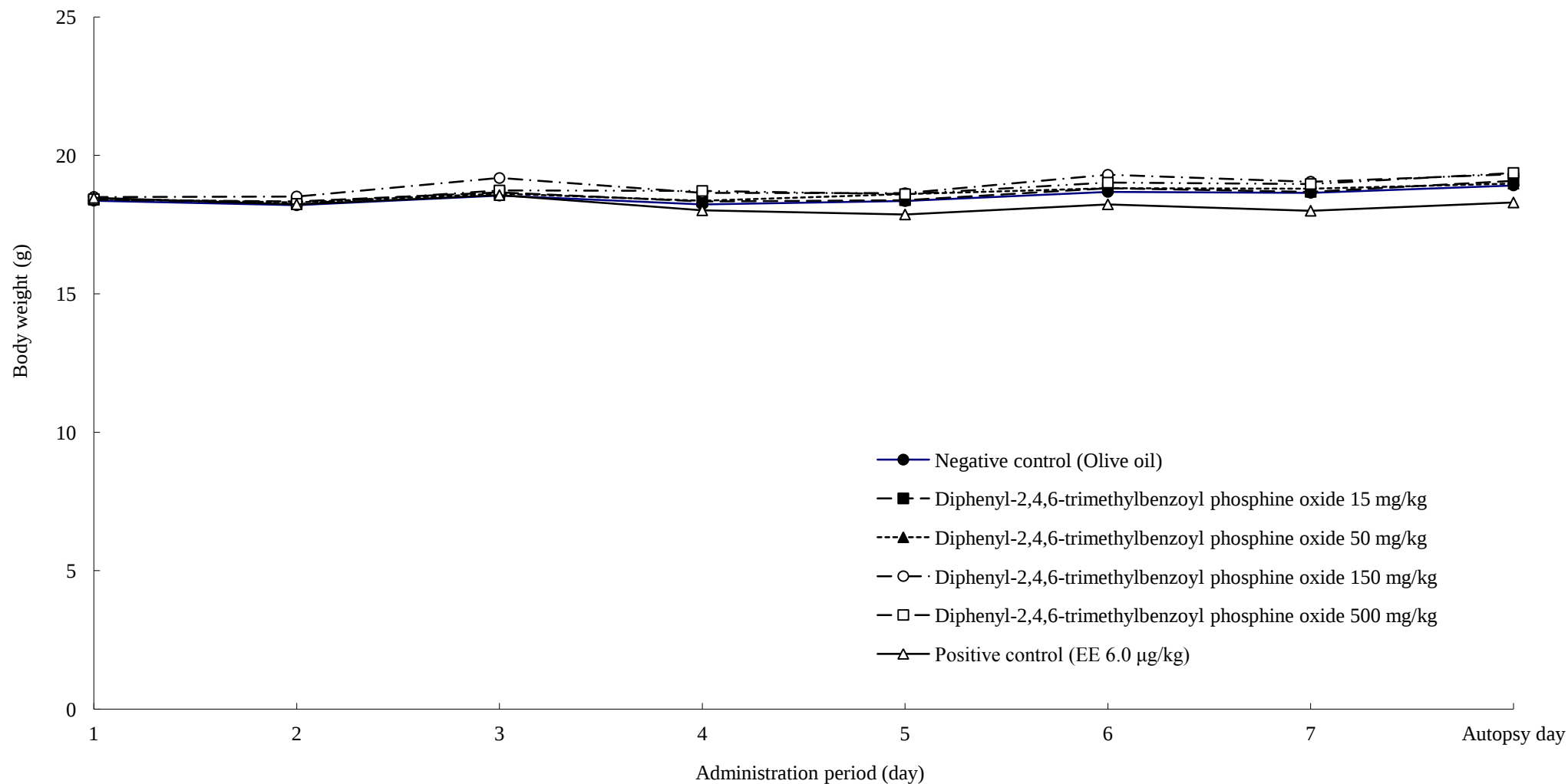
試験責任者の記名なつ印

試験施設：株式会社 化合物安全性研究所

試験責任者



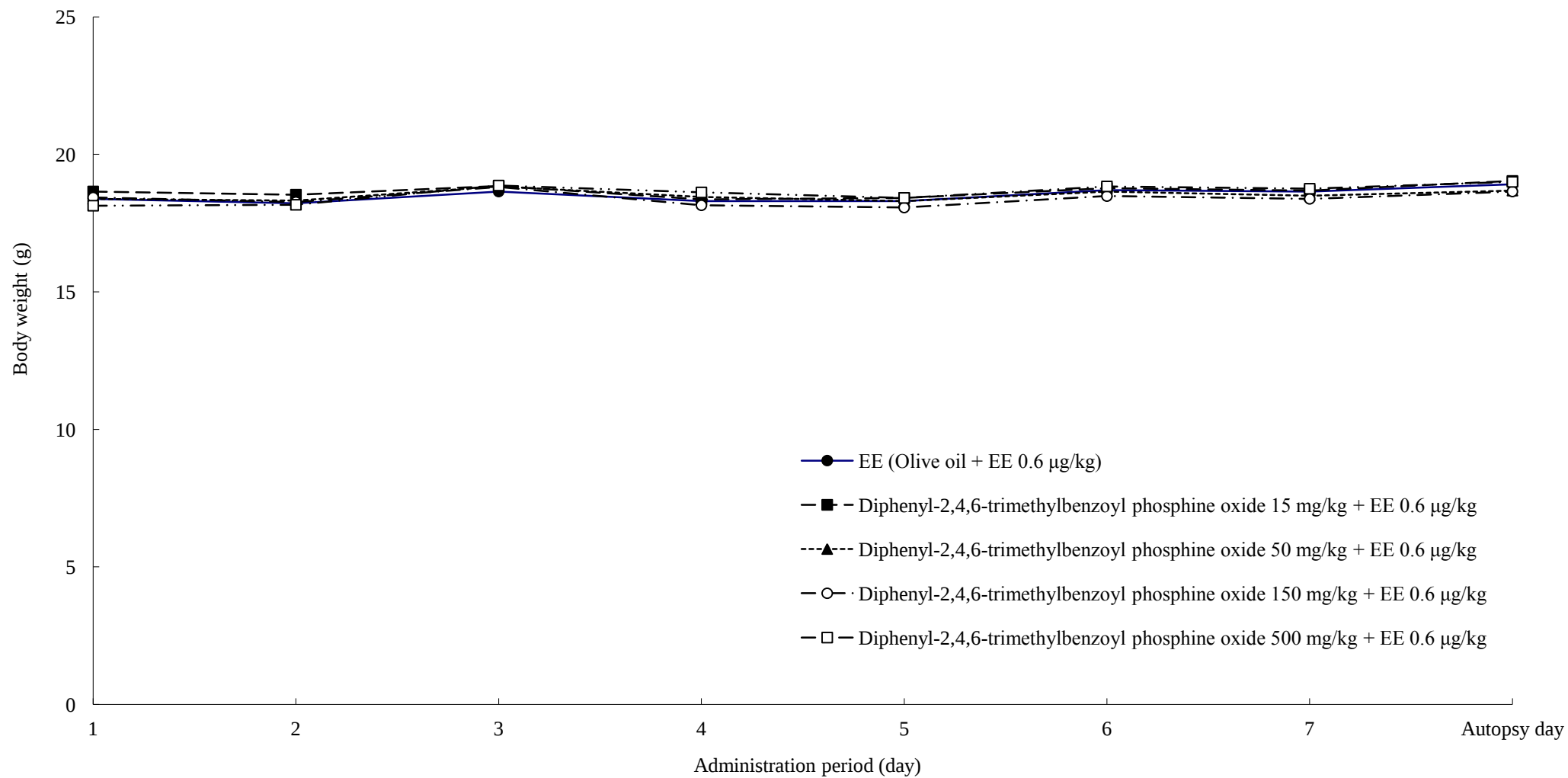
2012年2月10日



EE: Ethynyl Estradiol.

Figure 1

Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)



EE: Ethynyl Estradiol.

Figure 2

Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Table 1

General appearance of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Group	Findings	Administration period (day)	Autopsy day
		1-7	
Negative control (Olive oil)	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Positive control (EE 6.0 µg/kg)	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 2

General appearance of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Group	Findings	Administration period (day)	Autopsy day
		1-7	
EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	Number of animals examined	6	6
	No abnormal findings	6	6

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 3

Body weight of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
			1	2	3	4	5	6	7	
Negative control (Olive oil)	6	MEAN	18.37	18.20	18.55	18.23	18.35	18.68	18.65	18.92
		S.D.	0.53	0.60	0.64	0.52	0.60	0.69	0.48	0.53
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg	6	MEAN	18.40	18.33	18.67	18.33	18.38	18.82	18.68	19.08
		S.D.	0.62	0.72	0.73	0.71	0.71	0.82	0.79	0.71
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg	6	MEAN	18.43	18.30	18.62	18.37	18.60	18.82	18.80	18.98
		S.D.	0.65	0.60	0.67	0.72	0.74	1.13	0.73	0.82
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg	6	MEAN	18.50	18.52	19.18	18.65	18.63	19.30	19.05	19.32
		S.D.	0.26	0.13	0.15	0.34	0.34	0.42	0.32	0.48
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg	6	MEAN	18.42	18.25	18.73	18.72	18.60	19.02	18.97	19.37
		S.D.	0.69	0.93	0.88	0.91	1.08	0.92	0.88	0.96
Positive control (EE 6.0 µg/kg)	6	MEAN	18.47	18.23	18.57	18.02	17.87	18.23	18.00	18.30
		S.D.	0.61	0.59	0.55	0.55	0.45	0.56	0.52	0.54

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 4

Body weight of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Group	Number of animals		Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
			1	2	3	4	5	6	7	
EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	6	MEAN	18.38	18.22	18.65	18.30	18.30	18.70	18.65	18.92
		S.D.	0.24	0.43	0.43	0.50	0.55	0.55	0.45	0.77
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	18.65	18.53	18.85	18.37	18.42	18.77	18.68	19.03
		S.D.	0.38	0.33	0.48	0.58	0.57	0.49	0.35	0.48
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	18.38	18.32	18.83	18.45	18.30	18.65	18.50	18.68
		S.D.	0.82	0.67	0.45	0.40	0.43	0.56	0.43	0.50
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	18.43	18.27	18.82	18.15	18.07	18.48	18.38	18.65
		S.D.	0.67	0.70	0.62	0.71	0.71	0.66	0.59	0.63
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	18.13	18.17	18.87	18.62	18.42	18.83	18.75	19.00
		S.D.	0.54	0.44	0.38	0.31	0.32	0.53	0.37	0.29

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 5

Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Item	Group	Negative control (Olive oil)	Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide				Positive control (EE 6.0 µg/kg)
			15 mg/kg	50 mg/kg	150 mg/kg	500 mg/kg	
Number of animals examined		6	6	6	6	6	6
No abnormal findings		6	6	6	6	6	6

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 6

Autopsy findings of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Item	Group	EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide			
			15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg
Number of animals examined		6	6	6	6	6
No abnormal findings		6	6	6	6	6

Values are number of animals with findings.

EE: Ethynyl Estradiol.

Table 7

Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Group	Number of animals		Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
				mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
Negative control (Olive oil)	6	MEAN	18.92	13.60	71.975	11.47	60.703	0.945	4.992	239.8	1267.218	6.77	35.783
		S.D.	0.53	1.38	7.860	1.60	9.032	0.059	0.182	16.1	61.935	0.55	2.973
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg	6	MEAN	19.08	13.85	72.672	11.98	62.833	0.962	5.042	233.3	1224.062	6.88	36.132
		S.D.	0.71	1.57	8.843	1.11	5.872	0.039	0.191	9.6	67.016	0.56	3.466
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg	6	MEAN	18.98	12.72	67.058	11.33	59.768	0.967	5.093	233.3	1229.605	6.62	34.897
		S.D.	0.82	1.14	6.185	1.07	5.767	0.040	0.155	12.0	49.453	0.59	3.296
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg	6	MEAN	19.32	13.02	67.482	11.12	57.668	0.980	5.070	239.0	1236.763	6.53	33.898
		S.D.	0.48	1.05	6.449	0.97	6.303	0.066	0.237	16.0	66.445	1.13	6.303
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg	6	MEAN	19.37	13.47	69.645	11.50	59.428	1.120 **	5.790 **	234.7	1211.442	6.32	32.607
		S.D.	0.96	1.08	6.221	1.11	5.647	0.063	0.340	17.1	58.240	0.50	1.887
Positive control (EE 6.0 µg/kg)	6	MEAN	18.30	32.05 +	175.077 +	29.35 +	160.393 +	0.880	4.805	214.0 *	1168.668	6.88	37.705
		S.D.	0.54	4.56	23.568	3.74	19.651	0.048	0.181	15.3	62.057	0.97	6.035

EE: Ethynyl Estradiol.

*: Significantly different from the negative control (Olive oil) group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's test).**: Significantly different from the negative control (Olive oil) group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).+: Significantly different from the negative control (Olive oil) group at $p \leq 0.05$ (Steel's test).

Table 8

Absolute and relative organ weights of ovariectomized female mice for detection of anti-estrogenic activity in oral uterotrophic bioassay of Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide (SR11131)

Group	Number of animals		Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
				mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)	6	MEAN	18.92	21.37	112.722	19.45	102.690	0.910	4.807	218.0	1152.727	7.35	38.780
		S.D.	0.77	4.55	22.149	4.35	21.902	0.059	0.158	17.5	85.265	0.91	3.673
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	19.03	24.65	129.288	22.27	116.805	0.910	4.782	221.2	1162.382	7.33	38.597
		S.D.	0.48	6.05	30.229	5.11	25.407	0.036	0.146	14.0	74.565	0.98	5.616
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	18.68	37.67 **	201.388 **	34.58 **	184.960 **	0.917	4.905	216.5	1158.880	7.52	40.325
		S.D.	0.50	5.20	25.433	4.41	21.730	0.052	0.196	7.4	29.325	1.03	6.251
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	18.65	31.85 *	171.705 **	28.35 *	152.847 **	0.917	4.912	221.7	1190.500	7.30	39.163
		S.D.	0.63	5.86	36.406	5.50	33.861	0.062	0.175	9.5	79.473	1.04	5.728
Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg	6	MEAN	19.00	34.83 **	183.282 **	31.67 **	166.640 **	1.012 **	5.325 **	221.5	1165.577	6.65	34.977
		S.D.	0.29	5.80	29.745	4.45	22.889	0.050	0.247	10.2	43.654	1.23	6.259

EE: Ethynyl Estradiol.

*: Significantly different from the EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg) group at $p \leq 0.05$ (Dunnett's test).

**: Significantly different from the EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg) group at $p \leq 0.01$ (Dunnett's test).

Symbols and process for statistical analysis in INDIVIDUAL DATA

M/C: Values for Bartlett's test for homogeneity of variance,

$p \leq 0.05$ ----- > Kruskal-Wallis test

$p > 0.05$ ----- > One way analysis of variance

F : Values for one way analysis of variance,

$p \leq 0.10$ ----- > Dunnett's test

H : Values for Kruskal-Wallis test,

$p \leq 0.10$ ----- > Steel's test

† : Significant difference, $p \leq 0.10$

* : Significant difference, $p \leq 0.05$

** : Significant difference, $p \leq 0.01$

Dunnett's t : Values for Dunnett's test

Steel's t : Values for Steel's test

* : Significant difference, $p \leq 0.05$

** : Significant difference, $p \leq 0.01$

INDIVIDUAL DATA 1-1-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	<u>Administration period (day)</u>	Autopsy day
	1-7	
151	N	N
152	N	N
153	N	N
154	N	N
155	N	N
156	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
251	N	N
252	N	N
253	N	N
254	N	N
255	N	N
256	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
351	N	N
352	N	N
353	N	N
354	N	N
355	N	N
356	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u>	Autopsy day
	1-7	
451	N	N
452	N	N
453	N	N
454	N	N
455	N	N
456	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
551	N	N
552	N	N
553	N	N
554	N	N
555	N	N
556	N	N

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-1-6

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 6.0 µg/kg)

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
651	N	N
652	N	N
653	N	N
654	N	N
655	N	N
656	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
161	N	N
162	N	N
163	N	N
164	N	N
165	N	N
166	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
261	N	N
262	N	N
263	N	N
264	N	N
265	N	N
266	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
361	N	N
362	N	N
363	N	N
364	N	N
365	N	N
366	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
461	N	N
462	N	N
463	N	N
464	N	N
465	N	N
466	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 1-2-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

General appearance ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	<u>Administration period (day)</u> 1-7	Autopsy day
561	N	N
562	N	N
563	N	N
564	N	N
565	N	N
566	N	N

EE: Ethynyl Estradiol.

N: No abnormal findings.

INDIVIDUAL DATA 2-1-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
151	17.8	17.6	18.1	17.9	17.9	18.1	18.2	18.5
152	18.0	18.1	18.3	18.0	18.1	18.4	18.7	18.8
153	18.0	17.8	17.8	17.5	17.6	17.8	18.0	18.2
154	18.5	18.0	18.6	18.4	18.5	19.0	18.7	19.1
155	18.7	18.4	18.9	18.8	18.8	19.2	19.0	19.2
156	19.2	19.3	19.6	18.8	19.2	19.6	19.3	19.7
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.37	18.20	18.55	18.23	18.35	18.68	18.65	18.92
S.D.	0.53	0.60	0.64	0.52	0.60	0.69	0.48	0.53
S.E.	0.22	0.25	0.26	0.21	0.24	0.28	0.20	0.22
M/C	4.3294	12.0805 *	10.7778	4.8192	6.9482	5.2240	5.6992	3.5531
F	0.0406		0.8144	0.9652	1.0530	1.2088	1.9741	1.8281
H		3.3580						

INDIVIDUAL DATA 2-1-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
251	17.6	17.6	17.7	17.3	17.4	17.9	17.8	18.2
252	18.2	18.0	18.7	18.3	18.4	18.8	18.8	19.4
253	17.9	17.9	18.4	18.1	17.9	18.3	18.3	19.0
254	19.2	19.5	19.9	19.5	19.5	20.3	20.1	20.3
255	18.5	18.1	18.4	18.3	18.5	18.7	18.3	18.7
256	19.0	18.9	18.9	18.5	18.6	18.9	18.8	18.9
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.40	18.33	18.67	18.33	18.38	18.82	18.68	19.08
S.D.	0.62	0.72	0.73	0.71	0.71	0.82	0.79	0.71
S.E.	0.25	0.29	0.30	0.29	0.29	0.33	0.32	0.29

INDIVIDUAL DATA 2-1-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
351	17.3	17.1	17.3	17.0	17.3	16.7	17.6	17.8
352	18.2	18.4	18.9	18.4	18.7	19.0	19.1	19.3
353	18.6	18.5	18.8	18.6	18.8	19.8	19.4	19.4
354	18.4	18.6	19.1	19.0	19.4	19.5	19.4	20.0
355	19.0	18.7	18.6	18.3	18.3	18.5	18.2	18.2
356	19.1	18.5	19.0	18.9	19.1	19.4	19.1	19.2
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.43	18.30	18.62	18.37	18.60	18.82	18.80	18.98
S.D.	0.65	0.60	0.67	0.72	0.74	1.13	0.73	0.82
S.E.	0.27	0.24	0.27	0.30	0.30	0.46	0.30	0.34

INDIVIDUAL DATA 2-1-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
451	18.2	18.3	19.1	18.5	18.3	18.8	18.8	18.7
452	18.3	18.6	19.3	19.0	18.9	19.7	19.4	19.9
453	18.3	18.4	19.0	18.2	18.5	19.1	18.8	19.2
454	18.7	18.6	19.4	19.1	19.2	19.9	19.5	19.8
455	18.8	18.6	19.2	18.5	18.4	19.3	18.8	18.9
456	18.7	18.6	19.1	18.6	18.5	19.0	19.0	19.4
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.50	18.52	19.18	18.65	18.63	19.30	19.05	19.32
S.D.	0.26	0.13	0.15	0.34	0.34	0.42	0.32	0.48
S.E.	0.11	0.05	0.06	0.14	0.14	0.17	0.13	0.20

INDIVIDUAL DATA 2-1-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
551	17.6	17.1	17.9	17.6	17.2	17.9	18.0	18.5
552	18.2	17.9	18.3	18.3	18.4	18.6	18.8	19.3
553	18.4	18.3	18.7	18.9	18.7	19.3	19.0	19.2
554	18.2	17.9	18.3	18.3	18.2	18.6	18.5	18.7
555	18.4	18.4	18.8	18.9	18.6	19.1	18.9	19.3
556	19.7	19.9	20.4	20.3	20.5	20.6	20.6	21.2
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.42	18.25	18.73	18.72	18.60	19.02	18.97	19.37
S.D.	0.69	0.93	0.88	0.91	1.08	0.92	0.88	0.96
S.E.	0.28	0.38	0.36	0.37	0.44	0.37	0.36	0.39

INDIVIDUAL DATA 2-1-6

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 6.0 µg/kg)

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
651	17.8	17.7	18.3	17.9	17.8	18.2	17.8	18.1
652	17.6	17.3	17.7	17.0	17.1	17.2	17.1	17.3
653	18.9	18.8	19.2	18.6	18.5	18.9	18.6	18.8
654	19.0	18.6	19.1	18.3	18.0	18.3	18.2	18.5
655	18.8	18.5	18.6	18.2	18.0	18.5	18.3	18.6
656	18.7	18.5	18.5	18.1	17.8	18.3	18.0	18.5
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.47	18.23	18.57	18.02	17.87	18.23	18.00	18.30
S.D.	0.61	0.59	0.55	0.55	0.45	0.56	0.52	0.54
S.E.	0.25	0.24	0.22	0.22	0.19	0.23	0.21	0.22

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
161	18.0	17.8	18.2	17.9	18.2	18.7	18.8	19.0
162	18.6	17.9	18.7	18.4	18.6	18.7	18.6	18.9
163	18.2	17.9	18.4	17.8	17.7	18.0	18.1	18.1
164	18.5	18.5	18.8	18.6	18.5	19.1	18.9	19.6
165	18.6	18.9	19.4	19.1	19.1	19.5	19.3	19.9
166	18.4	18.3	18.4	18.0	17.7	18.2	18.2	18.0
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.38	18.22	18.65	18.30	18.30	18.70	18.65	18.92
S.D.	0.24	0.43	0.43	0.50	0.55	0.55	0.45	0.77
S.E.	0.10	0.18	0.17	0.20	0.22	0.23	0.18	0.31
M/C	7.2092	3.5541	1.3740	3.6247	3.1079	0.4941	1.6900	4.3238
F	0.6262	0.4245	0.2009	0.6784	0.4344	0.3355	0.6668	0.6171

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
261	18.6	18.4	18.4	17.7	18.1	18.2	18.2	18.6
262	18.0	18.2	18.7	18.4	18.5	19.1	18.8	19.3
263	18.8	18.3	18.3	17.8	17.6	18.3	18.4	18.6
264	18.5	18.4	18.9	18.3	18.2	18.5	18.6	18.6
265	18.9	18.9	19.3	18.8	19.1	19.2	19.0	19.5
266	19.1	19.0	19.5	19.2	19.0	19.3	19.1	19.6
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.65	18.53	18.85	18.37	18.42	18.77	18.68	19.03
S.D.	0.38	0.33	0.48	0.58	0.57	0.49	0.35	0.48
S.E.	0.16	0.14	0.20	0.23	0.23	0.20	0.14	0.20

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
361	17.2	17.6	18.2	17.9	17.8	18.2	18.3	18.5
362	18.7	18.7	18.9	18.8	18.5	18.7	18.6	18.8
363	17.8	17.7	18.4	18.2	18.0	18.2	18.1	18.0
364	18.6	18.2	19.0	18.4	18.4	18.4	18.2	18.5
365	18.4	18.3	19.1	18.4	18.1	18.7	18.5	18.8
366	19.6	19.4	19.4	19.0	19.0	19.7	19.3	19.5
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.38	18.32	18.83	18.45	18.30	18.65	18.50	18.68
S.D.	0.82	0.67	0.45	0.40	0.43	0.56	0.43	0.50
S.E.	0.34	0.27	0.18	0.16	0.18	0.23	0.18	0.20

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
461	17.4	17.1	17.9	17.2	17.5	17.7	17.6	17.9
462	18.0	18.0	18.6	17.8	17.7	17.9	17.9	18.2
463	18.3	18.2	18.8	18.1	17.3	18.3	18.4	18.4
464	18.7	18.4	18.6	18.0	18.3	18.6	18.5	18.9
465	19.1	18.8	19.3	18.5	18.4	18.9	18.6	18.8
466	19.1	19.1	19.7	19.3	19.2	19.5	19.3	19.7
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.43	18.27	18.82	18.15	18.07	18.48	18.38	18.65
S.D.	0.67	0.70	0.62	0.71	0.71	0.66	0.59	0.63
S.E.	0.27	0.28	0.25	0.29	0.29	0.27	0.24	0.26

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 2-2-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Body weight ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight (g) on administration period (day)							Autopsy day
	1	2	3	4	5	6	7	
561	17.5	17.7	18.6	18.5	18.2	18.1	18.3	18.8
562	17.6	17.6	18.4	18.2	18.3	18.8	18.6	18.9
563	17.9	18.1	18.6	18.4	18.0	18.3	18.4	18.6
564	18.4	18.4	19.2	18.9	18.5	19.2	19.2	19.1
565	18.6	18.6	19.1	19.0	18.9	19.3	19.0	19.2
566	18.8	18.6	19.3	18.7	18.6	19.3	19.0	19.4
N	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.13	18.17	18.87	18.62	18.42	18.83	18.75	19.00
S.D.	0.54	0.44	0.38	0.31	0.32	0.53	0.37	0.29
S.E.	0.22	0.18	0.15	0.12	0.13	0.22	0.15	0.12

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-1-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	Findings
151	No abnormal findings
152	No abnormal findings
153	No abnormal findings
154	No abnormal findings
155	No abnormal findings
156	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg

Animal No.	Findings
251	No abnormal findings
252	No abnormal findings
253	No abnormal findings
254	No abnormal findings
255	No abnormal findings
256	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg

Animal No.	Findings
351	No abnormal findings
352	No abnormal findings
353	No abnormal findings
354	No abnormal findings
355	No abnormal findings
356	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg

Animal No.	Findings
451	No abnormal findings
452	No abnormal findings
453	No abnormal findings
454	No abnormal findings
455	No abnormal findings
456	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg

Animal No.	Findings
551	No abnormal findings
552	No abnormal findings
553	No abnormal findings
554	No abnormal findings
555	No abnormal findings
556	No abnormal findings

INDIVIDUAL DATA 3-1-6

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 6.0 µg/kg)

Animal No.	Findings
651	No abnormal findings
652	No abnormal findings
653	No abnormal findings
654	No abnormal findings
655	No abnormal findings
656	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	Findings
161	No abnormal findings
162	No abnormal findings
163	No abnormal findings
164	No abnormal findings
165	No abnormal findings
166	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Findings
261	No abnormal findings
262	No abnormal findings
263	No abnormal findings
264	No abnormal findings
265	No abnormal findings
266	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Findings
361	No abnormal findings
362	No abnormal findings
363	No abnormal findings
364	No abnormal findings
365	No abnormal findings
366	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Findings
461	No abnormal findings
462	No abnormal findings
463	No abnormal findings
464	No abnormal findings
465	No abnormal findings
466	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 3-2-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Autopsy findings ANIMAL : Mouse, C57BL/6JJmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Findings
561	No abnormal findings
562	No abnormal findings
563	No abnormal findings
564	No abnormal findings
565	No abnormal findings
566	No abnormal findings

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-1-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JMsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Negative control (Olive oil)

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
151	18.5	14.8	80.00	13.9	75.14	0.90	4.86	239	1291.89	7.6	41.08
152	18.8	12.8	68.09	10.6	56.38	0.95	5.05	231	1228.72	6.7	35.64
153	18.2	13.6	74.73	11.1	60.99	0.87	4.78	226	1241.76	6.0	32.97
154	19.1	11.9	62.30	9.4	49.21	0.93	4.87	246	1287.96	6.4	33.51
155	19.2	15.6	81.25	12.7	66.15	0.99	5.16	228	1187.50	7.1	36.98
156	19.7	12.9	65.48	11.1	56.35	1.03	5.23	269	1365.48	6.8	34.52
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.92	13.60	71.975	11.47	60.703	0.945	4.992	239.8	1267.218	6.77	35.783
S.D.	0.53	1.38	7.860	1.60	9.032	0.059	0.182	16.1	61.935	0.55	2.973
S.E.	0.22	0.56	3.209	0.65	3.687	0.024	0.074	6.6	25.285	0.23	1.214
M/C	3.5531	20.0388 **	16.8420 **	16.0575 **	14.6343 *	2.3316	4.1471	2.0375	0.5403	5.7261	8.9631
F	1.8281					13.1352 **	13.8329 **	2.5064 †	1.6932	0.5163	1.0333
H		16.9624 **	16.6996 **	16.0766 **	16.3453 **						

INDIVIDUAL DATA 4-1-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
251	18.2	15.0	82.42	12.4	68.13	0.91	5.00	240	1318.68	6.2	34.07
252	19.4	15.1	77.84	13.5	69.59	1.03	5.31	221	1139.18	6.7	34.54
253	19.0	11.5	60.53	10.1	53.16	0.95	5.00	240	1263.16	7.3	38.42
254	20.3	14.2	69.95	12.3	60.59	0.96	4.73	240	1182.27	6.3	31.03
255	18.7	15.0	80.21	11.7	62.57	0.96	5.13	221	1181.82	7.5	40.11
256	18.9	12.3	65.08	11.9	62.96	0.96	5.08	238	1259.26	7.3	38.62
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.08	13.85	72.672	11.98	62.833	0.962	5.042	233.3	1224.062	6.88	36.132
S.D.	0.71	1.57	8.843	1.11	5.872	0.039	0.191	9.6	67.016	0.56	3.466
S.E.	0.29	0.64	3.610	0.45	2.397	0.016	0.078	3.9	27.359	0.23	1.415
Dunnett's t						0.5405	0.3884	0.7720			
Steel's t		0.3208	0.1601	0.6416	0.6405						

INDIVIDUAL DATA 4-1-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JMsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
351	17.8	12.3	69.10	11.4	64.04	0.94	5.28	220	1235.96	6.7	37.64
352	19.3	11.7	60.62	10.2	52.85	1.02	5.28	227	1176.17	5.9	30.57
353	19.4	12.7	65.46	11.2	57.73	0.99	5.10	233	1201.03	6.3	32.47
354	20.0	14.4	72.00	13.1	65.50	0.99	4.95	241	1205.00	6.9	34.50
355	18.2	13.7	75.27	11.8	64.84	0.91	5.00	226	1241.76	6.3	34.62
356	19.2	11.5	59.90	10.3	53.65	0.95	4.95	253	1317.71	7.6	39.58
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.98	12.72	67.058	11.33	59.768	0.967	5.093	233.3	1229.605	6.62	34.897
S.D.	0.82	1.14	6.185	1.07	5.767	0.040	0.155	12.0	49.453	0.59	3.296
S.E.	0.34	0.47	2.525	0.44	2.354	0.016	0.063	4.9	20.189	0.24	1.345
Dunnett's t						0.7027	0.7898	0.7720			
Steel's t		1.2810	1.1209	0.1604	0.1601						

INDIVIDUAL DATA 4-1-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JMsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
451	18.7	13.9	74.33	12.5	66.84	0.87	4.65	218	1165.78	7.7	41.18
452	19.9	12.0	60.30	9.7	48.74	1.07	5.38	256	1286.43	5.7	28.64
453	19.2	13.2	68.75	11.3	58.85	0.99	5.16	236	1229.17	5.0	26.04
454	19.8	11.9	60.10	10.4	52.53	1.01	5.10	233	1176.77	6.1	30.81
455	18.9	12.6	66.67	11.2	59.26	0.96	5.08	231	1222.22	6.9	36.51
456	19.4	14.5	74.74	11.6	59.79	0.98	5.05	260	1340.21	7.8	40.21
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.32	13.02	67.482	11.12	57.668	0.980	5.070	239.0	1236.763	6.53	33.898
S.D.	0.48	1.05	6.449	0.97	6.303	0.066	0.237	16.0	66.445	1.13	6.303
S.E.	0.20	0.43	2.633	0.40	2.573	0.027	0.097	6.5	27.126	0.46	2.573
Dunnett's t						1.1351	0.6085	0.0990			
Steel's t		0.7218	0.9608	0.0000	0.4804						

INDIVIDUAL DATA 4-1-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
551	18.5	11.9	64.32	10.2	55.14	1.05	5.68	217	1172.97	5.7	30.81
552	19.3	15.0	77.72	13.4	69.43	1.10	5.70	233	1207.25	6.3	32.64
553	19.2	12.8	66.67	10.7	55.73	1.05	5.47	232	1208.33	6.7	34.90
554	18.7	14.1	75.40	11.2	59.89	1.16	6.20	244	1304.81	6.4	34.22
555	19.3	13.8	71.50	11.9	61.66	1.20	6.22	219	1134.72	5.8	30.05
556	21.2	13.2	62.26	11.6	54.72	1.16	5.47	263	1240.57	7.0	33.02
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.37	13.47	69.645	11.50	59.428	1.120	5.790	234.7	1211.442	6.32	32.607
S.D.	0.96	1.08	6.221	1.11	5.647	0.063	0.340	17.1	58.240	0.50	1.887
S.E.	0.39	0.44	2.540	0.45	2.306	0.026	0.139	7.0	23.776	0.21	0.770
Dunnett's t						5.6755 **	6.2016 **	0.6136			
Steel's t		0.0000	0.6405	0.3208	0.4804						

INDIVIDUAL DATA 4-1-6

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of estrogenic activity ; Positive control (EE 6.0 µg/kg)

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
651	18.1	29.4	162.43	27.2	150.28	0.90	4.97	206	1138.12	6.2	34.25
652	17.3	28.8	166.47	27.4	158.38	0.80	4.62	191	1104.05	8.2	47.40
653	18.8	26.3	139.89	24.2	128.72	0.92	4.89	216	1148.94	7.6	40.43
654	18.5	38.1	205.95	34.0	183.78	0.87	4.70	225	1216.22	7.4	40.00
655	18.6	35.6	191.40	32.8	176.34	0.86	4.62	211	1134.41	6.0	32.26
656	18.5	34.1	184.32	30.5	164.86	0.93	5.03	235	1270.27	5.9	31.89
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.30	32.05	175.077	29.35	160.393	0.880	4.805	214.0	1168.668	6.88	37.705
S.D.	0.54	4.56	23.568	3.74	19.651	0.048	0.181	15.3	62.057	0.97	6.035
S.E.	0.22	1.86	9.621	1.53	8.022	0.019	0.074	6.2	25.335	0.40	2.464
Dunnett's t						2.1081	1.4501	3.0681	*		
Steel's t		2.8823 *	2.8823 *	2.8874 *	2.8823 *						

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-1

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; EE (Olive oil + EE 0.6 µg/kg)

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
161	19.0	15.4	81.05	13.0	68.42	0.91	4.79	199	1047.37	7.6	40.00
162	18.9	21.7	114.81	19.9	105.29	0.94	4.97	247	1306.88	6.5	34.39
163	18.1	23.3	128.73	22.2	122.65	0.82	4.53	210	1160.22	7.3	40.33
164	19.6	27.6	140.82	24.8	126.53	0.97	4.95	225	1147.96	7.8	39.80
165	19.9	23.4	117.59	21.1	106.03	0.96	4.82	223	1120.60	8.7	43.72
166	18.0	16.8	93.33	15.7	87.22	0.86	4.78	204	1133.33	6.2	34.44
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.92	21.37	112.722	19.45	102.690	0.910	4.807	218.0	1152.727	7.35	38.780
S.D.	0.77	4.55	22.149	4.35	21.902	0.059	0.158	17.5	85.265	0.91	3.673
S.E.	0.31	1.86	9.042	1.78	8.941	0.024	0.065	7.2	34.809	0.37	1.499
M/C	4.3238	0.4821	1.2938	0.4192	1.4160	1.5117	1.6384	4.2515	6.2570	0.4679	1.5167
F	0.6171	9.2951 **	9.8029 **	10.4883 **	10.8135 **	4.2313 **	8.2098 **	0.2232	0.2877	0.6172	0.7777

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-2

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 15 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
261	18.6	23.3	125.27	21.1	113.44	0.89	4.78	210	1129.03	8.3	44.62
262	19.3	16.9	87.56	15.6	80.83	0.88	4.56	199	1031.09	6.2	32.12
263	18.6	18.6	100.00	17.4	93.55	0.92	4.95	231	1241.94	7.3	39.25
264	18.6	27.4	147.31	24.4	131.18	0.87	4.68	223	1198.92	7.9	42.47
265	19.5	30.5	156.41	27.0	138.46	0.96	4.92	228	1169.23	6.1	31.28
266	19.6	31.2	159.18	28.1	143.37	0.94	4.80	236	1204.08	8.2	41.84
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.03	24.65	129.288	22.27	116.805	0.910	4.782	221.2	1162.382	7.33	38.597
S.D.	0.48	6.05	30.229	5.11	25.407	0.036	0.146	14.0	74.565	0.98	5.616
S.E.	0.20	2.47	12.341	2.09	10.372	0.015	0.060	5.7	30.441	0.40	2.293
Dunnett's t		1.0306	0.9829	1.0193	0.9563	0.0000	0.2306				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-3

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 50 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
361	18.5	31.8	171.89	30.1	162.70	0.94	5.08	208	1124.32	6.9	37.30
362	18.8	39.5	210.11	34.8	185.11	0.90	4.79	214	1138.30	7.1	37.77
363	18.0	32.6	181.11	30.7	170.56	0.82	4.56	217	1205.56	8.6	47.78
364	18.5	37.1	200.54	34.1	184.32	0.93	5.03	213	1151.35	9.0	48.65
365	18.8	46.0	244.68	42.4	225.53	0.94	5.00	217	1154.26	6.4	34.04
366	19.5	39.0	200.00	35.4	181.54	0.97	4.97	230	1179.49	7.1	36.41
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.68	37.67	201.388	34.58	184.960	0.917	4.905	216.5	1158.880	7.52	40.325
S.D.	0.50	5.20	25.433	4.41	21.730	0.052	0.196	7.4	29.325	1.03	6.251
S.E.	0.20	2.12	10.383	1.80	8.871	0.021	0.080	3.0	11.972	0.42	2.552
Dunnett's t		5.1163 **	5.2605 **	5.4766 **	5.5739 **	0.2199	0.9072				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-4

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 150 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
461	17.9	40.1	224.02	35.7	199.44	0.85	4.75	220	1229.05	5.7	31.84
462	18.2	34.2	187.91	31.9	175.27	0.86	4.73	230	1263.74	7.7	42.31
463	18.4	32.9	178.80	28.7	155.98	0.88	4.78	230	1250.00	8.9	48.37
464	18.9	33.7	178.31	29.9	158.20	0.96	5.08	229	1211.64	7.1	37.57
465	18.8	26.2	139.36	22.0	117.02	0.95	5.05	212	1127.66	7.4	39.36
466	19.7	24.0	121.83	21.9	111.17	1.00	5.08	209	1060.91	7.0	35.53
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	18.65	31.85	171.705	28.35	152.847	0.917	4.912	221.7	1190.500	7.30	39.163
S.D.	0.63	5.86	36.406	5.50	33.861	0.062	0.175	9.5	79.473	1.04	5.728
S.E.	0.26	2.39	14.863	2.24	13.824	0.025	0.071	3.9	32.445	0.43	2.339
Dunnett's t		3.2905 *	3.4994 **	3.2208 *	3.3982 **	0.2199	0.9687				

EE: Ethynyl Estradiol.

INDIVIDUAL DATA 4-2-5

STUDY NO. SR11131 TITLE : Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide Uterotrophic bioassay (p.o.)

Absolute and relative organ weights ANIMAL : Mouse, C57BL/6JmsSlc SEX : Ovariectomized female

GROUP : Group for detection of anti-estrogenic activity ; Diphenyl-2,4,6-trimethylbenzoyl phosphine oxide 500 mg/kg + EE 0.6 µg/kg

Animal No.	Body weight g	Uterus (wet weight)		Uterus (blotted weight)		Liver		Kidney		Adrenal	
		mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %	g	%	mg	10 ⁻³ %	mg	10 ⁻³ %
561	18.8	34.9	185.64	32.4	172.34	0.99	5.27	209	1111.70	6.4	34.04
562	18.9	34.2	180.95	31.2	165.08	1.00	5.29	218	1153.44	5.1	26.98
563	18.6	35.8	192.47	31.7	170.43	1.00	5.38	222	1193.55	6.7	36.02
564	19.1	24.3	127.23	23.5	123.04	0.97	5.08	220	1151.83	8.2	42.93
565	19.2	38.4	200.00	36.2	188.54	1.11	5.78	220	1145.83	5.6	29.17
566	19.4	41.4	213.40	35.0	180.41	1.00	5.15	240	1237.11	7.9	40.72
N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
MEAN	19.00	34.83	183.282	31.67	166.640	1.012	5.325	221.5	1165.577	6.65	34.977
S.D.	0.29	5.80	29.745	4.45	22.889	0.050	0.247	10.2	43.654	1.23	6.259
S.E.	0.12	2.37	12.143	1.82	9.344	0.020	0.101	4.1	17.822	0.50	2.555
Dunnett's t		4.2269 **	4.1863 **	4.4211 **	4.3327 **	3.3531 **	4.7819 **				

EE: Ethynyl Estradiol.

検査成績書 326-63232

1/1 ページ

検 査 成 績 書

株式会社 化合物安全性研究所 御中

2011年9月13日

ジフェニル(2,4,6-トリメチルベンゾイル)ホスフィン=オキシド

規格／等級

Lot No.

数量

25g × 2

検査項目

検査成績

規格値

外観

淡黄色の結晶性粉末

微黄色～褐色、結晶～結晶性粉末

含量(HPLC)

99.6%

98.0%以上

検査年月日

2010/05/24

判定

合格

検査責任者

成績書発行番号 9758862

2011/09/13

Certificate of analysis



Ethynyl Estradiol

19-norpregna-1,3,5(10)-trien-20-yne-3,17.alpha.-diol

Item number...

Molecular Formula: C₂₀H₂₄O₂

Formula Weight: 296.40

Batch number

CAS Number: 57-63-6

Expiry date: 8/17/2012

Purity Specification>98%

Tests	Specifications	Results
HPLC	Column: C18, 5µ, 4.6 X 250 mm Mob. Phase.....: Methanol:Water:Acetic acid (70:30:0.1) Flow Rate.....: 1.00 ml/min Detector UV.....: 210 nm	Retention Time Actual.: 6.50 min Purity: 98.5 %
Mass	Source Type: ESI M+H+	Expected 295.4 Actual 295.5
Melting Point	185 - 192 °C	185 - 189 °C
TLC	Mob. Phase.....: Hexane:Ethyl Acetate:Acetic Acid (70:30:1) Stationary Phase: Silica Gel Visualized With ..: Sulfuric Acid	Rf: 0.49 Purity %.....: 100.00
UV	λ max: 281 nm	λ max: 282 nm