

## 最終報告書

### トリフェニルクロロメタンのラットを用いる 経口投与簡易生殖毒性試験

厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室 委託

試験施設

財団法人食品薬品安全センター秦野研究所

〒257-8523 神奈川県秦野市落合729-1

TEL 0463-82-4751

## 目次

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 要約 .....                       | 5  |
| 試験目的 .....                     | 6  |
| 材料と方法 .....                    | 6  |
| 1. 被験物質 .....                  | 6  |
| 2. 動物および飼育方法 .....             | 7  |
| 3. 投与検体 .....                  | 8  |
| 4. 投与量の設定および投与方法 .....         | 8  |
| 5. 検査法 .....                   | 9  |
| 1) 親動物 (F <sub>0</sub> ) ..... | 9  |
| 2) 出生児 (F <sub>1</sub> ) ..... | 11 |
| 6. データの解析法 .....               | 11 |
| 試験成績 .....                     | 12 |
| 1. 親動物 .....                   | 12 |
| 1) 一般状態 .....                  | 12 |
| 2) 体重 .....                    | 12 |
| 3) 摂餌量 .....                   | 12 |
| 4) 器官重量 .....                  | 13 |
| 5) 剖検所見 .....                  | 13 |
| 6) 病理組織学的検査 .....              | 13 |
| 2. 生殖能力 .....                  | 15 |
| 1) 性周期および交配成績 .....            | 15 |
| 2) 出産率および妊娠期間 .....            | 15 |
| 3) 分娩および哺育状態 .....             | 15 |
| 4) 黄体数、着床数および着床率 .....         | 15 |
| 3. 出生児 .....                   | 15 |
| 1) 生存 .....                    | 15 |
| 2) 体重 .....                    | 15 |
| 3) 出生児観察 .....                 | 16 |
| 考察 .....                       | 16 |
| 参考文献 .....                     | 17 |
| 添付資料 .....                     | 18 |
| Annexes .....                  | 19 |
| Tables .....                   | 22 |

## 要約

今回、トリフェニルクロロメタン(以下、TPCM)の雌雄動物の生殖能力に対する影響および新生児の発育に及ぼす影響を検討することを目的として、簡易生殖毒性試験を OECD 化学物質試験法ガイドラインに従って実施した。被験物質を 0(媒体:オリブ油)、12、60 ならびに 300 mg/kg の用量で雌雄の Crl:CD(SD)ラットに経口投与し、雄は 42 日間投与した後に剖検した。雌は交配前 2 週間および交配期間、妊娠期間を通して哺育 4 日まで連日投与した。なお、母動物は自然分娩させた後、出生児は哺育 4 日に、母動物は哺育 5 日に剖検した。

### 1. 親動物所見

一般状態では、雌雄の 60 mg/kg 以上の投与群で軟便が継続して観察されたほか、300 mg/kg 投与群で一過性の流涎がみられた。体重では、雌雄 60 mg/kg 以上の投与群で、投与開始後有意に低値で推移し、投与終了時まで継続した。摂餌量では、雄の 300 mg/kg 投与群および雌の 60 mg/kg 以上の投与群の投与 1 日の摂餌量に有意な減少が認められた。器官重量では、肝臓で雌雄の 300 mg/kg 投与群の実重量および相対重量が、60 mg/kg 投与群の相対重量が有意に増加した。剖検所見では、雌雄の 300 mg/kg 投与群で肝臓の大型化が観察され、病理組織学的検査では、雌雄の 60 mg/kg 以上の投与群の肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。これに付随する変化として、雌雄の 300 mg/kg 投与群では、肝臓で門脈周囲性の肝細胞の脂肪化が対照群と比較して減弱した。

### 2. 出生児所見

出生児所見および生存性には、TPCM 投与の影響は認められなかったが、有意差はないものの 300 mg/kg 投与群の哺育 4 日の出生児体重が、対照群と比較してやや低値となる傾向がみられた。

### 3. 生殖発生毒性学的所見

性周期、交配成績、出産率および妊娠期間、黄体数、着床数および着床率、分娩および哺育状態には、TPCM投与による影響はみられなかった。

### 4. 無毒性量

以上の結果から、本試験条件下における TPCM の親動物に対する一般毒性学的無毒性量は 12 mg/kg/day で、雌雄動物に対する生殖発生毒性学的な無毒性量ならびに次世代に対する無毒性量は 60 mg/kg/day であると判断された。

## 試験目的

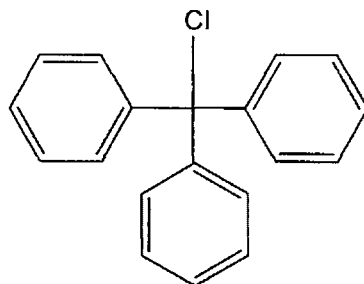
雌雄ラットの交配前(2 週間)および交配期間中(最長 2 週間)ならびに雄では交配期間終了後 2 週間、雌では妊娠期間を通して周産期(哺育 4 日まで)に、TPCM を経口投与し、雌雄ラットに対する生殖毒性について検討した。

## 材料と方法

### 1. 被験物質

被験物質であるトリフェニルクロロメタン(別名:Triphenylchloromethane、CAS No.:76-83-5、分子式: $(C_6H_5)_3CCl$ 、分子量:278.78、外観:白色、結晶～結晶性粉末、純度:98.4%、融点:113.6℃

)は (被験物質入手:2009 年 9 月 29 日、30 日、Annex A)、使用時まで冷蔵・遮光下(実測値 4～7 °C)で保管した。トリフェニルクロロメタンの構造式を以下に示す。



被験物質の安定性については、本試験の投与開始前(2009 年 12 月 28 日)および投与終了後(2010 年 2 月 22 日)に臭化カリウム錠剤を作製後、秦野研究所にてフーリエ変換赤外分光光度計(FTIR-8300、島津製作所)を用いて、赤外吸収スペクトル(測定範囲:4000~400  $\text{cm}^{-1}$ )を測定して調べ、投与前後のスペクトルに変化がないことを確認した(Annex B)。

## 2. 動物および飼育方法

日本チャールス・リバー厚木飼育センターより、8 週齢の Sprague-Dawley (SD) 系ラット[Crl:CD(SD)、SPF]雄 62 匹、雌 73 匹を購入し、12 号室に収容した。検疫期間終了後、7 号室に移動した。入荷日も含めて 14 日間、検疫と飼育環境への馴化のため飼育した。その間毎日、動物の一般状態を観察し、入荷日および検疫終了日に体重を測定した。検疫期間中は動物の尾にフェルトペンで馴化番号を記し、飼育ケージに試験番号、性別および馴化番号を記入した動物カードを掛けて識別した。また、雌動物については、入荷翌日から毎日、性周期を観察した。入荷時および検疫終了時の体重は以下の通りであった。

動物入荷日:2009 年 12 月 16 日、入荷時体重:雄 263.6~298.3 g、雌 183.6~214.8 g

検疫終了日:2009 年 12 月 29 日、検疫終了時体重:雄 355.0~429.6 g、雌 213.6~281.8 g

検疫期間中の一般状態および体重推移に異常は認められなかった。雌動物で規則的な性周期の回復が認められない 7 匹を除外し、体重別層化無作為抽出法により群分けを行った。群分けした動物には一連の動物番号を割り当て、フェルトペンで尾に動物番号を標識し、色彩の異なった動物カードに試験番号、性別および動物番号を記入して飼育ケージに掛けた。群分けから棄却された雄動物 10 匹、雌動物 14 匹および性周期の結果により除外した 7 匹は全て余剰動物とした。余剰動物は、定期微生物モニター(5 匹)および他の実験(4 匹)に使用し、その他の動物は、他の目的に使用予定が無いためペントバルビタールナトリウムの過剰投与により安楽死させた。

動物は、全飼育期間を通じて、許容温度 21.0~25.0℃、許容湿度 40.0~75.0%、換気設定約 15 回/時間、明暗サイクル 12 時間(7 時~19 時)点灯、12 時間(19 時~7 時)消灯に設定された飼育室内で、金属製金網床ケージ(220w×270d×190h mm)に 1 匹ずつ(交配時は 2 匹)収容し、固型飼料(CE-2、日本クレア)と水道水(秦野市水道局給水)を自由に摂取させて飼育した(但し、哺育 5 日の母動物および投与を 42 回終了した雄動物の解剖時には、解剖前に絶食した)。雌動物は全例について、妊娠 18 日

から哺育 4 日までラット用プラスチック製繁殖ケージ (350w×400d×180h mm)に 1 匹ずつ収容し、床敷として紙パルプ製チップ(ペパークリーン、日本エスエルシー)を適宜供給した。

飼育期間中に飼育環境の異常は認められず、飼育室の温度は 23.5～24.0℃(12 号室)、21.0～24.0℃(7 号室)、湿度は 50.0～61.0%(12 号室)、48.0～66.0%(7 号室)であり、いずれも許容範囲内であった。また、供給した飼料、水および床敷の分析結果は、いずれも標準操作手順書に記載の許容範囲内であることを確認した。

### 3. 投与検体

#### 1) 調製

被験物質を秤量し、媒体であるオリブ油(フジミ製薬所、製造番号:0500RS)を加えて懸濁させ、6.00 w/v%液を調製した。さらに、6.00 w/v%液を媒体で希釈し、1.20 ならびに 0.24 w/v%液を段階的に調製した。調製した検体は、冷蔵・遮光下で保管し、調製後 8 日以内に使用した(実測値 4～6℃、保管期間 2009 年 12 月 29 日～2010 年 2 月 13 日)。

#### 2) 安定性試験

ボゾリサーチセンターにおいて、オリブ油を媒体とした 0.10 及び 200 w/v%濃度の懸濁液が、冷蔵(約 4℃)、遮光下で 8 日間安定かつ均一であることが確認されている(試験番号:B-4477)。

#### 3) 含量測定および均一性試験

本試験の初回調製検体(調整日 2009 年 12 月 29 日)について、0.24、1.20 および 6.00 w/v%濃度の調製検体の含量および均一性を測定した。その結果、平均含量は、それぞれ調製濃度の 92.0～103%であり、均一性も各測定値の平均値の 95.6～103%であった(Annex C)。これらの値は、試験計画書に記載した判定基準の範囲内(平均含量:調製濃度の 85.0～115%、各測定値のばらつき:平均値の 90.0～110%)であった。なお、調製検体中の被験物質濃度の測定法は、添付資料 1 に従った。

### 4. 投与量の設定および投与方法

本試験の投与量は、トリフェニルクロロメタンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験1)の結果をもとに設定した。すなわち、トリフェニルクロロメタンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験においては、トリフェニルクロロメタンの被験物質をオリブ油に懸濁させ、0、60および300 mg/kg投与群では雌雄各12匹、12 mg/kg投与群では雌雄各6匹のSD系ラットに28日間反復経口投与した結果、雌雄の300 mg/kg投与群では、肝臓および腎臓の相対重量に有意な増加が、血液生化学検査においてはアラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)活性および総コレステロールの有意な上昇が認められた。さらに、病理組織学検査では、300 mg/kg投与群の雌雄全例、60 mg/kg投与群の雄3/6例、雌5/6例で小葉中心性の肝細胞肥大が、300 mg/kg投与群の雌雄各5/6例、60 mg/kg投与群の雌2/6例で盲腸粘膜の肥厚が観察された。これらの所見は、被験物質が肝臓などに影響を与えることを示唆する所見であり、重要なものと考えられた。これらの所見は 300 mg/kgの28回投与によってみられており、本試験の投与期間は40日を超え、雌においては妊娠・出産等の負担のかかる状態ではあるが、この量の被験物質投与では死亡に

は至らないと判断した。これらのことから、本試験における高用量群の投与量を300 mg/kgに設定し、以下、公比5で徐して中用量を60 mg/kg、低用量を12 mg/kgとした。

雌動物は交配前2週間、交配期間、妊娠期間を通して分娩後の哺育4日まで、交尾が確認されなかった雌は剖検前日まで(総投与回数43回)、交尾は確認されたが分娩が認められない雌は剖検前日(妊娠25日相当日)まで、雄動物は交配前2週間、交配期間(最大14日間)を通して剖検前日まで(総投与回数42回)、経口的に1日1回、1週7回、午前中(実測時間:9時8分～11時54分)に投与した。投与容量は5 mL/kgとし、雄および交配前ならびに交配中の雌では週1回測定する体重を基に、交尾が確認された雌では、最新の測定日の体重を基に算出した。なお、対照群には媒体であるオリブ油を同様に投与した。投与経路はOECD化学物質試験法ガイドライン[421]に拠り、ラット用胃管による強制経口投与とした。本試験の群構成および動物番号を以下に示した。

| 群 | 投与物質     | 投与量<br>(mg/kg) | 濃度<br>[% (w/v)] | 投与容量<br>(mL/kg) | 動物番号          |               |
|---|----------|----------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|
|   |          |                |                 |                 | 雄             | 雌             |
| 1 | オリブ油(媒体) | 0              | 0               | 5               | M01001～M01013 | F01001～F01013 |
| 2 | TPCM     | 12             | 0.24            | 5               | M02001～M02013 | F02001～F02013 |
| 3 | TPCM     | 60             | 1.20            | 5               | M03001～M03013 | F03001～F03013 |
| 4 | TPCM     | 300            | 6.00            | 5               | M04001～M04013 | F04001～F04013 |

## 5. 検査法

### 1) 親動物(F<sub>0</sub>)

#### ① 一般状態の観察

全例について、飼育期間中毎日1回以上、投与期間中は投与前後の毎日2回以上観察した。

#### ② 体重測定

雄動物は、投与1、7、14、21、28、35、42日および剖検日に測定した。雌動物は投与1、7、14日、妊娠0、7、14、21日、哺育0、4および5日(剖検日)に、さらに交尾が確認されなかった雌では投与21、28、35、42日および剖検日、分娩が確認されなかった動物では妊娠26日相当日にも測定した。

#### ③ 摂餌量測定

雄動物は、投与1～2、7～8、13～14、29～30、35～36、41～42日に測定した。雌動物は投与1～2、7～8、13～14日および妊娠0～1、7～8、14～15、20～21日ならびに哺育3～4日、さらに交尾が確認されなかった雌では投与29～30、35～36、41～42日にも測定した。

#### ④ 性周期観察

各群とも全例の雌について、動物入荷翌日から性周期を観察し、群分け後、投与開始以降も引き続き膣スメア標本作製し、各動物の同居後、交尾が確認されるまで性周期を観察した。群ごとの平均発情回帰日数(個体ごとの発情期から発情期までの日数の平均)を算出した。なお、規則的に4日～5日の間で回帰している動物は、正常と判断した。

## ⑤交配

投与 15 日の夕方(16 時 6 分)より同群内の雌雄を 1 対 1 で同居させた。翌朝より毎朝、膣栓を確認し、同居中の雌の膣垢標本を作製して鏡検した。腔内に膣栓あるいは膣垢標本中に精子が確認された動物を交尾成立動物とし、この日を妊娠 0 日と起算して同居を解消し、個別に飼育した。交配結果および妊娠の成否により、同居開始日から交尾確認日までの日数およびその間に回帰した発情期の回数、交尾率[(交尾動物数/交配に用いた動物数)×100, %]、妊娠率[(妊娠動物数/交尾した雌動物数)×100, %]を算出した。

## ⑥妊娠・分娩・哺育状態の観察

交尾した妊娠雌全例を自然分娩させた。分娩の確認は、妊娠 21 日から分娩が確認されるまで毎日観察を行い、午前 11 時までには分娩が完了した例について、その日を哺育 0 日(分娩日)とした。分娩状態の直接観察は観察可能な動物について行い、直接観察できなかった動物についても分娩後の一般状態および産児の状態から異常の有無を判断した。分娩後は哺育状態を哺育 1~4 日の間、毎日観察した。分娩した全例の妊娠期間(妊娠 0 日から分娩日までの日数)を求め、各群の出産率[(生児出産雌数/妊娠動物数)×100, %]を算出した。

## ⑦剖検および病理組織学的検査

雄動物は、投与 42 日の翌日に、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死させて剖検し、精巣、精巣上体ならびに肝臓の重量を測定した。精巣および精巣上体は、ブアン液に固定(長期保存は 0.1M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液)し、肝臓、盲腸、前立腺、精囊/凝固腺および乳腺は 0.1M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液に固定した。精巣および精巣上体ならびに盲腸は、対照群および 300 mg/kg 投与群について、病理組織学的に検査した。また、肝臓は、300 mg/kg 投与群の実重量および相対重量が対照群と比較して有意に増加したため、全例について病理組織学的に検査した。同様に剖検時に異常が認められた器官・組織についても固定保存し、病理組織学的に検査した。

雌動物のうち、分娩した雌は哺育 5 日に、交尾しなかった雌は投与 42 回終了の翌日に、交尾はしたが分娩しなかった雌は妊娠 26 日相当日に、それぞれペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死させて剖検し、卵巣重量を測定した。なお、死亡例については、器官重量の測定を行わなかった。卵巣については実体顕微鏡下で妊娠黄体数を、子宮については着床数を数え、着床率[(着床数/妊娠黄体数)×100, %]を算出した。未分娩であった雌動物は、10% 硫化アンモニウムで子宮を染色し、着床の有無を再確認した。また、分娩した雌、交尾しなかった雌および交尾はしたが分娩しなかった雌については、卵巣、子宮、膣および乳腺を、死亡例では、これらの器官・組織に加え脳、心臓、肺、肝臓および腎臓を 0.1M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液に固定した。卵巣および盲腸は、対照群および 300 mg/kg 投与群について、肝臓は、300 mg/kg 投与群の実重量および相対重量が対照群と比較して有意に増加したため全例について、死亡例では、卵巣、肝臓および盲腸に加え、脳、心臓、肺および腎臓について病理組織学的に検査した。病変部についても、同様に固定保存し、病理組織学的に検査した。



2) 出生児(F<sub>1</sub>)

## ① 出生児の観察

哺育 0 日に生存児数および死亡児数を雌雄別に数えて、性別および外表奇形の有無を観察し、分娩率[(産児数/着床痕数)×100, %]、生児出産率[(出產生児数/着床痕数)×100, %]、出産率[(生児出産雌数/妊娠動物数)×100, %]および出生率[(出產生児数/産児数)×100, %]を算出した。哺育 0～4 日まで、毎日、一般状態を観察し、生存児数と死亡児数を雌雄別に数え、新生児生存率[(哺育 4 日の生児数/哺育 0 日の生児数)×100, %]を算出した。生存児については、哺育 0 および 4 日に個別の体重を測定し、腹ごとに雌雄別の平均体重を算出するとともに、哺育 0 日および 4 日における性比[(雄生児数/総生児数)×100, %]を算出した。

## ② 剖検

死亡児は外表奇形の有無を観察して剖検し、0.1 M リン酸緩衝 10% ホルマリン溶液に固定して保存した。生存児は哺育 4 日に外表奇形の有無を観察してセボフルラン吸入麻酔下により放血致死させて剖検し、内部器官の異常の有無を観察した。

## 6. データの解析法

性周期の変化した動物の頻度、交尾率、受胎率については Fisher の直接確率検定を行った(有意水準:5%)。

被験物質投与群の病理組織学検査所見のうち、グレード分けした病理組織所見は、Mann-Whitney の U 検定により、また陽性グレードの合計値は Fisher の直接確率の片側検定により対照群との間の有意差検定を行った(有意水準:5%)。

その他のデータは、個体ごとに得られた値あるいは litter ごとの平均値を1標本として、先ず、Bartlett の方法により各群の分散の一意性について検定(有意水準:5%)を行った。分散が一意であった場合には、一元配置型の分散分析(有意水準:5%)を行い、群間に有意性が認められた場合は、Dunnett 法により多重比較を行った(有意水準:5%)。一方、いずれかの群で分散が 0 となった場合および分散が一意でなかった場合には、Kruskal-Wallis の順位検定(有意水準:5%)を行い、群間に有意性が認められた場合には、Dunnett 型の検定法により多重比較を行った(有意水準:5%)。

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

## 1. 交尾成立の判断の誤認

交尾成立が確認されなかった対照群の雌 1 例(動物番号:F01002)が、投与 39 日に雄 9 例および雌 7 例を出産したため、この母動物の「妊娠 0 日の誤認」が確認された。その後、母動物および出生児に関しては、他の分娩した動物と同様に試験操作を実施し、出生児は哺育 4 日に剖検を、母動物は絶食後哺育 5 日に剖検を実施した。

妊娠 0 日の誤認は、対照群の 1 例であり、正常に妊娠および分娩ならびに哺育をしたことから、当該試験への影響はないと判断した。ただし、本動物の群分け以降の各種測定データおよび評価は、統計・検定からは除外し、補足データとして報告書に記載することとした。

## 2. 哺育 4 日に全出生児が死亡した母動物の剖検日の逸脱

60 mg/kg 投与群の母動物 1 例(動物番号:F03003)において、哺育 4 日に出生児が全児死亡したのが確認された。試験計画書の記載では、全出生児が死亡した母動物は、全出生児が死亡した日に剖検するとなっていたが、途中搬出せず一般症状観察ならびに投与を実施した。その後、他の分娩した動物と同様に哺育 4 日に絶食させ、哺育 5 日に剖検した。

本試験では、哺育 5 日に解剖を予定している母動物は、当該出生児を哺育 4 日に剖検することになっている。しかし、哺育 4 日に全出生児が死亡するまでは、母動物および出生児の観察は適切に行なわれている。また、母動物の解剖は、他の母動物と同様に実施されており、被験物質の母動物への影響ならびに出生児への影響は評価できると考えた。よって、哺育 5 日に解剖した母動物に含め集計し統計・検定を実施しても当該試験への影響はないと判断した。

## 試験成績

### 1. 親動物

#### 1) 一般状態 (Table 1 ~ Table 4, Appendix 1 ~ Appendix 4)

雌の 300 mg/kg 投与群の 1 例(動物番号:F04009)の母動物が、哺育 2 日に死亡した。一方、雄に死亡例はなかった。

雌雄の 300 mg/kg 投与群では、投与 6 日の投与後に一過性の流涎がみられたほか、60 mg/kg 以上の投与群に、投与 8 日以降軟便が継続して観察された。また、雌の 300 mg/kg 投与群では、投与 11~18 日あるいは妊娠 0~3 日にかけて会陰部周囲に汚れがみられたが、その後は観察されなかった。

なお、300 mg/kg 投与群の 1 例(動物番号:F04013)は、妊娠 10 日の投与時に胃管を噛み切り飲み込んだ。胃管が動物の食道内に残留していることを触診で確認した後、翌日一般状態の観察および投与を行なった。一般症状に異常は観察されなかったが、体重低下が認められたことから、妊娠 11 日相当日に安楽死させた。よって、この動物に関しては、妊娠期間のデータは評価対象から削除した。

#### 2) 体重 (Table 5 ~ Table 8, Appendix 5 ~ Appendix 8)

雄の 60 mg/kg 以上の投与群の体重が、投与 21 日から対照群に比較して有意に低値を推移した。また、雌の 300 mg/kg 投与群では、投与 14 日から、60 mg/kg 投与群では、妊娠 0 日から(哺育 0 日以外)、体重が対照群に比較して有意に低値を推移した。

#### 3) 摂餌量 (Table 9 ~ Table 12, Appendix 9 ~ Appendix 12)

雄の 300 mg/kg 投与群および雌の 60 mg/kg 以上の投与群では、投与 1 日の摂餌量に有意な減

少が認められたほか、雌の 60 mg/kg 投与群の妊娠 7 日の摂餌量も有意に減少した。一方、雄の 300 mg/kg 投与群においては、投与 29 日および 35 日に摂餌量の有意な増加が認められた。

#### 4) 器官重量 (Table 13, Table 14, Appendix 13, Appendix 14)

肝臓では、雌雄の 300 mg/kg 投与群の実重量および相対重量が、60 mg/kg 投与群の相対重量が対照群と比較して有意に増加した。また、精巣および精巣上体では、300 および 60 mg/kg 投与群の相対重量が、対照群と比較して有意に増加した。一方、卵巣の重量では、対照群と TPCM 各投与群との間に有意差は認められなかった。

#### 5) 剖検所見 (Table 15, Table 16, Appendix 15, Appendix 16)

##### ①雄の剖検所見

12 mg/kg 投与群の1例の両側の精巣および精巣上体が、小型化ならびに浮腫様を呈していた。また、300 mg/kg 投与群の5例の肝臓に大型化が認められ、そのうちの1例は表面粗造を呈していた。その他、12 mg/kg 投与群の1例の右側腎臓に大型化ならびに腎盂の拡張が、60 mg/kg 投与群の1例では、胸腔および腹腔内の臓器の完全逆位が観察された。

##### ②雌の剖検所見

哺育5日解剖例では、300 mg/kg 投与群の4例の肝臓に大型化が認められ、そのうちの1例には肝臓の右葉に白色斑が観察された。この1例には、腺胃粘膜に黒色の陥凹部もみられた。また、哺育4日に全出生児が死亡したが哺育5日に剖検した 60 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F03003)では、脾臓が小型化を呈していたほか、前胃粘膜に肥厚および散在する隆起部がみられた。その他、12 mg/kg 投与群の1例の子宮には、胎盤遺残が認められた。

一方、12 mg/kg 投与群では、妊娠25日相当日になっても出産がみられなかったことから妊娠26日相当日に剖検した結果、子宮に着床痕はなく不妊と判断した2例に加え、未交尾の雌が1例存在した。これら、不妊および未交尾の雌には、肉眼的な異常所見は認められなかった。

また、哺育2日に 300 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F04009)の母動物が死亡した。死亡した母動物では、会陰部の被毛が暗赤色に汚れており、腎臓が暗赤色調ならびに両側の副腎が大型化を呈していたほか、脾臓で小型化および淡色化が、肝臓の外側左葉に白色斑が観察された。

その他、交尾不成立と誤認し、その後出産したため哺育5日に剖検した対照群の1例(動物番号:F01002)には、肉眼的な異常所見は認められなかった。

なお、妊娠期間中の投与の際、胃管を噛み切り飲み込んでしまった 300 mg/kg 投与群の1例(動物番号:F04013)は、安楽死させた後、誤飲確認のための剖検を行なった。その結果、約 6 cmの胃管が食道に停留しており、明らかに投与時の誤操作で起こった事象であることから、肉眼的所見の評価および組織標本採取は行なわなかった。

#### 6) 病理組織学的検査 (Table 17, Table 18, Appendix 17, Appendix 18)

##### ①雄の病理組織学的検査所見

精巣では、対照群の2例および 12 mg/kg 投与群の1例の両側あるいは片側に、限局性の精細管

萎縮が観察されたほか、対照群の他の1例の片側の精細管には、生殖細胞層の減少がみられた。このうち、12 mg/kg 投与群の例では、両側の精細管が明らかに萎縮しており、その精細管内には多核巨細胞が、間質にはライディヒ細胞のびまん性の過形成が認められた。

精巣上部では、精巣に組織学的な変化が認められた例の両側あるいは片側の管腔に、細胞残屑がみられた。

肝臓では、60 mg/kg 投与群の11例および 300 mg/kg 投与群の全例に小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。この組織変化は、対照群ならびに 12 mg/kg 投与群ではみられず、60 および 300 mg/kg 投与群では、対照群と比較して頻度および程度とも有意に増強していた。一方、対照群および 12 mg/kg 投与群においては全例に観察された門脈周囲性の肝細胞の脂肪化が、60 および 300 mg/kg 投与群においては程度および頻度とも有意に減弱していた。また、対照群を含む全群に小肉芽腫が観察されたが、対照群と各被験物質投与群との間に程度および頻度の差は認められなかった。その他、対照群および 300 mg/kg 投与群の各1例に限局性の壊死巣が観察された。

剖検時、異常所見が認められた 12 mg/kg 投与群の1例の右側腎臓には、腎盂の拡張、皮質に好塩基性尿細管がみられたほか、遠位尿細管および集合管の管腔が拡張していた。

なお、300 mg/kg 投与群の精巣および精巣上部では、被験物質に起因すると考えられる組織変化が認められず、盲腸でも病理組織学的な異常所見は観察されなかったことから、これらの臓器に関しては、12 および 60 mg/kg投与群の病理組織学検査は行なわなかった。

## ②雌の病理組織学的検査所見

哺育5日に剖検した肝臓では、60 mg/kg 投与群の3例および 300 mg/kg 投与群の全例に小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。この組織変化は、対照群ならびに 12 mg/kg 投与群ではみられず、300 mg/kg 投与群では、対照群と比較して頻度および程度とも有意に増強していた。一方、対照群で10例に、12 mg/kg 投与群で7例に、60 mg/kg 投与群で6例に観察された門脈周囲性の肝細胞の脂肪化が、300 mg/kg 投与群においては2例にしか観察されず、その程度も有意に減弱していた。また、対照群を含む全群に限局性の壊死巣がみられたが、対照群と各被験物質投与群との間に程度および頻度の差は認められなかった。その他、12 mg/kg 投与群に髄外造血が、300 mg/kg 投与群に小肉芽腫が観察された。

剖検時、腺胃に異常所見が認められた 300 mg/kg 投与群の1例では、粘膜にびらんおよび粘膜固有層に浮腫が観察された。また、前胃および脾臓に異常所見が認められた哺育4日に全出生児が死亡したが哺育5日に剖検した 60 mg/kg 投与群の1例では、粘膜にびらんおよび扁平上皮の過形成、粘膜固有層に出血および浮腫がみられたほか、脾臓に赤脾髄領域の減少およびごく軽度な髄外造血ならびに中等度な褐色色素の沈着が観察された。

なお、哺育5日に剖検した卵巣および盲腸では、対照群および 300 mg/kg 投与群の全例に病理組織学的な異常所見は観察されなかった。そのため、これらの臓器に関しては、12 および 60 mg/kg 投与群の病理組織学的検査は行なわなかった。

その他、12 mg/kg 投与群で不妊および未交尾であった3例の雌では、不妊のうち1例の肝臓に小

肉芽腫がみられた。哺育2日に死亡した 300 mg/kg 投与群の母動物1例では、肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大ならびに限局性の壊死巣が観察されたほか、腎臓の皮質近位尿細管上皮に変性/壊死ならびに近位尿細管の細胞質内に硝子様の滴状物が、皮質/髄質に硝子円柱が観察された。加えて、片側の副腎の皮質に広範な壊死が、脾臓には、白脾髄領域の減少およびごく軽度な髄外造血、中等度な褐色色素の沈着が観察された。死亡例の卵巣、盲腸、脳、心臓、肺には、病理組織学的な異常所見は観察されなかった。

## 2. 生殖能力

### 1) 性周期および交配成績 (Table 19, Table 20, Appendix 19, Appendix 20)

性周期には、TPCM 投与の影響を示唆する変化はみられなかった。

交配の結果、12 mg/kg 投与群に交尾は確認されたが不妊であった動物が 2 例(動物番号:F02009、F02013)、交配期間中に交尾が確認されなかった動物が 1 例(動物番号:F02007)認められたが、交尾率および受胎率には TPCM 投与の影響はみられなかった。また、交尾までの日数およびその間の発情回数にも、対照群と TPCM 各投与群との間に有意差は認められなかった。

なお、対照群の1例(動物番号:F01002)では、交配期間中に交尾が確認されなかったが、投与 35 日に出産した。

### 2) 出産率および妊娠期間 (Table 21, Appendix 21)

出産にいたらなかった雌が 12 mg/kg 投与群に 3 例存在したが、他の動物は妊娠 22~23 日に出産した。出産率および妊娠期間には、対照群と TPCM 各投与群との間に有意差は認められなかった。

### 3) 分娩および哺育状態 (Table 21, Appendix 21)

出産にいたらなかった雌 3 例を除き、妊娠動物は、正常に分娩した。そのうち、30 mg/kg 投与群の 1 例(動物番号:F03003)では、17 匹(雄 6 匹、雌 11 匹)を出産したが、哺育 2 日に雌 2 匹が、哺育 3 日に雄 5 匹および雌 9 匹が死亡し、哺育 4 日には雄 1 匹が不明児となり、全出生児の死亡が確認された。しかし、この母動物以外には、哺育状態に異常は認められなかった。これより、分娩および哺育状態には、対照群と TPCM 各投与群との間に有意差は無いと判断した。なお、妊娠 0 日誤認の対照群の 1 例も正常に分娩し、哺育状態にも異常は認められなかった。

### 4) 黄体数、着床数および着床率 (Table 21, Appendix 21-1~21-4)

黄体数、着床数および着床率には、対照群と TPCM 各投与群との間に有意差は認められなかった。

## 3. 出生児

### 1) 生存 (Table 21, Table 23, Appendix 21, Appendix 23)

産児数、分娩率、生児出産率、出生率、新生児生存率および性比には、対照群と TPCM 各投与群との間に有意差は認められなかった。

### 2) 体重 (Table 22, Appendix 22)

哺育0および4日における出生児の体重には、対照群と TPCM 各投与群との間に有意差は認められな

かった。

### 3) 出生児観察 (Table 23, Table 24, Appendix 23)

哺育 0～4 日における生存児の外表を観察したが、異常は認められなかった。また、哺育 4 日に剖検した結果、形態学的な異常所見は認められなかった。

死亡児は、対照群を含む各投与群に認められたが、死亡時期および死亡児数に特定の傾向は認められなかった。

死亡児には、母動物による食害により存在が不明になったと推察される児 (不明児)、あるいは死後経過が進み自己融解により内臓観察ができなかった児を含むが、剖検可能であった死亡児には外表異常は観察されず、内臓観察可能であった死亡児についても、形態学的な異常所見は認められなかった。

## 考察

雌雄ラットの交配前 (2 週間) および交配期間中ならびに、雄では交配期間終了後、計 42 日間、雌では妊娠期間を通して周産期 (哺育 4 日まで) に TPCM を経口投与し、雌雄ラットに対する生殖毒性について検討した。

一般状態では、雌雄の 60 mg/kg 以上の投与群に、継続して軟便が観察された。また、体重では、雌雄の 60 mg/kg 以上の投与群で増加量の抑制が剖検まで認められた。また摂餌量では、雄の 300 mg/kg 投与群および雌の 60 mg/kg 以上の投与群で、投与 1 日に摂餌量の減少が認められた。これらの所見は、同被験物質の 28 日間反復経口投与毒性試験<sup>1)</sup>において認められている所見であることから、被験物質の影響と判断した。なお、雄の 300 mg/kg 投与群で投与 29 日および 35 日にみられた摂餌量の増加は、代償性の変化と推察した。

器官重量では、雌雄の肝臓が 60 mg/kg 以上の投与群で増加し、病理組織学検査では、雌雄の 60 mg/kg 以上の投与群で、肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。この変化は、同被験物質の 28 日間反復経口投与毒性試験<sup>1)</sup>でも観察されており、被験物質による代謝酵素の誘導と考えられた。また、対照群および 12 mg/kg 投与群においては全例にみられた門脈周囲性の肝細胞の脂肪化が、60 および 300 mg/kg 投与群においては減弱していた。本試験では、60 mg/kg 以上の投与群での体重増加抑制および軟便が継続して見られていることから、被験物質投与により餌の吸収不良を起こしていたと推察された。

一方、60 mg/kg 以上の投与群で、精巣および精巣上体の相対重量が対照群と比較して増加したが、これらの病理組織学検査では、被験物質に依るとされる異常所見は観察されていないことから、60 mg/kg 以上の投与群での体重増加抑制に伴う偶発的な所見と判断した。その他、12 mg/kg 投与群の雄 1 例に片側の腎臓の大型化および腎盂の拡張がみられ、病理組織学検査では腎盂の拡張に加え、遠位尿細管および集合管のびまん性の拡張ならびに好塩基性尿細管が観察されたが、片側のみで見られていることから偶発的な自然発生所見と考えられた。

全出生児が哺育 4 日までに死亡した 60 mg/kg 投与群の母動物 1 例 (動物番号:F03003) では、前

胃粘膜にびらんおよび扁平上皮の過形成、粘膜固有層に出血および浮腫がみられたほか、脾臓に赤脾髄領域の減少が観察されたことから、経時的なストレスに加え造血機能の低下を来していたと考えられた。また、哺育2日に死亡した300 mg/kg 投与群の母動物1例(動物番号:F04009)では腎臓には近位尿細管上皮に変性/壊死、近位尿細管の細胞質内には硝子様の滴状物および皮質/髄質にかけて硝子円柱が観察されたほか、片側の副腎には広範な壊死が、脾臓にはごく軽度な髄外造血および白脾髄の萎縮が観察された。しかし、本試験の他の母動物は、正常に分娩し、出生児の生存性にも被験物質の影響は認められなかった。

その他、12 mg/kg 投与群では、交配相手が不妊だった2例の雄のうち1例(動物番号:M02009)では、両側の精巣および精巣上体が小型化および水腫様を呈しており、病理組織学検査において精巣に中等度な精細管萎縮および反応性のライディヒ細胞の過形成が、精巣上体には中等度な細胞残屑が観察されたが、これらの所見は300 mg/kg 投与群では認められなかったことから、TPCM 投与の影響では無いと判断した。

交尾率、受胎率、黄体数、着床数および着床率には、TPCM 投与による影響は認められなかった。また、分娩および哺育ならびに出生児の生存率にも、TPCM 投与による影響はなかった。しかし、有意差はないものの300 mg/kg 投与群の哺育4日の出生児の体重が、対照群と比較してやや低値となる傾向が認められた。

以上の結果から、本試験条件下におけるTPCMの親動物に対する一般毒性学的無毒性量は12 mg/kg/day、雌雄動物に対する生殖発生毒性学的な無毒性量ならびに次世代に対する無毒性量は60 mg/kg/day であると考えられた。

## 参考文献

- 1) トリフェニルクロロメタンのラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験  
([http://dra4.nihs.go.jp/mhlw\\_data/home/paper/paper76-83-5b.html](http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/paper/paper76-83-5b.html))

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 1.General conditions of male rats

| Group                                                  | Number of males<br>and general signs | Days of administration |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |    |    |    |    |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|----|----|----|----|
|                                                        |                                      | 1                      |      | 2   |      | 3   |      | 4   |      | 5   |      | 6   |      | 7   |      | 8   |      | 9   |      | 10  |      | 11  |      | 12  |      | 13  |      | 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 | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post |    |    |    |    |
| Olive oil (vehicle)                                    | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13 | 13 |    |    |
|                                                        | General appearance, No abnormality   | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13 | 13 |    |    |
|                                                        | Excretion, Loose stool               | 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   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0  |    |    |
|                                                        | Mouth, 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   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0  |    |    |
| TPCM 12 mg/kg                                          | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13 | 13 | 13 |    |
|                                                        | General appearance, No abnormality   | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13 | 13 | 13 | 13 |
|                                                        | Excretion, Loose stool               | 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   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0  |    |    |
|                                                        | Mouth, 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   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0  |    |    |
| TPCM 60 mg/kg                                          | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13 | 13 | 13 | 13 |
|                                                        | General appearance, No abnormality   | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 4   | 4    | 3   | 3    | 0   | 0    | 3   | 3    | 3   | 5    | 5   | 6    | 6   | 2    | 2   | 0    | 0   | 3    | 3   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 0   | 4    | 4   | 4    | 3   | 6    | 6   | 3    | 3   | 13   | 13 |    |    |    |
|                                                        | Excretion, Loose stool               | 0                      | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 9    | 9   | 10   | 10  | 13   | 10  | 10   | 10  | 8    | 7   | 7    | 11  | 11   | 13  | 13   | 10  | 10   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 13  | 9    | 9   | 9    | 10  | 10   | 7   | 7    | 10  | 10   | 13  | 13   |    |    |    |    |
|                                                        | Mouth, 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   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0  |    |    |
| TPCM 300 mg/kg                                         | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13 | 13 |    |    |
|                                                        | General appearance, No abnormality   | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 6   | 13   | 13  | 1    | 1   | 2    | 2   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 1    | 0   | 0    | 1   | 1    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 1    | 0   | 0    | 0   | 0    | 3   | 3    | 2   | 2    | 2   | 7    | 7   | 4    | 4   | 13   | 13 |    |    |    |
|                                                        | Excretion, Loose stool               | 0                      | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 12   | 12  | 11   | 11  | 13   | 13  | 13   | 13  | 12   | 12  | 13   | 13  | 12   | 12  | 13   | 13  | 13   | 12  | 12   | 13  | 13   | 13  | 10   | 10  | 11   | 11  | 11   | 11  | 6    | 6   | 9    | 9   | 13   | 13 |    |    |    |
|                                                        | Mouth, Salivation                    | 0                      | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 7   | 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    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0  |    |    |
| Pre: Before administration, Post: after administration |                                      |                        |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |    |    |    |    |

Pre: Before administration, Post: after administration.



## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 1 (continued). General conditions of male rats

| Group               | Number of males<br>and general signs | Days of administration |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |    |    |  |
|---------------------|--------------------------------------|------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|----|----|--|
|                     |                                      | 26                     |      | 27  |      | 28  |      | 29  |      | 30  |      | 31  |      | 32  |      | 33  |      | 34  |      | 35  |      | 36  |      | 37  |      | 38  |      | 39  |      | 40  |      | 41  |      | 42  |    | 43 |  |
|                     |                                      | 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 | Pre | Post | Pre | Post | Pre |    |    |  |
| Olive oil (vehicle) | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13 |    |  |
|                     | General appearance, No abnormality   | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13 |    |  |
|                     | Excretion, Loose stool               | 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   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0  |    |  |
| TPCM 12 mg/kg       | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13 |    |  |
|                     | General appearance, No abnormality   | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13 |    |  |
|                     | Excretion, Loose stool               | 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   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0  |    |  |
| TPCM 60 mg/kg       | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13 |    |  |
|                     | General appearance, No abnormality   | 4                      | 4    | 8   | 8    | 9   | 9    | 8   | 8    | 8   | 8    | 10  | 10   | 6   | 6    | 10  | 10   | 9   | 9    | 9   | 9    | 2   | 2    | 7   | 7    | 7   | 7    | 6   | 6    | 7   | 7    | 7   | 7    | 5   | 5  | 2  |  |
|                     | Excretion, Loose stool               | 9                      | 9    | 5   | 5    | 4   | 4    | 5   | 5    | 5   | 5    | 3   | 3    | 7   | 7    | 3   | 3    | 4   | 4    | 4   | 4    | 11  | 11   | 6   | 6    | 6   | 6    | 7   | 7    | 6   | 6    | 6   | 6    | 8   | 8  | 11 |  |
| TPCM 300 mg/kg      | Number of males                      | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13 |    |  |
|                     | General appearance, No abnormality   | 2                      | 2    | 4   | 5    | 2   | 2    | 10  | 10   | 5   | 5    | 7   | 7    | 3   | 3    | 2   | 2    | 2   | 2    | 5   | 5    | 2   | 2    | 5   | 5    | 2   | 2    | 2   | 2    | 2   | 2    | 3   | 3    | 0   | 0  | 0  |  |
|                     | Excretion, Loose stool               | 11                     | 11   | 9   | 8    | 11  | 11   | 3   | 3    | 8   | 8    | 6   | 6    | 10  | 10   | 11  | 11   | 11  | 11   | 8   | 8    | 11  | 11   | 8   | 8    | 11  | 11   | 11  | 11   | 11  | 11   | 10  | 10   | 13  | 13 | 13 |  |

Pre: Before administration, Post: after administration.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 2. General conditions of female rats

| Group               | Number of females and general conditions | Days of administration |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---------------------|------------------------------------------|------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                     |                                          | 1                      |      | 2   |      | 3   |      | 4   |      | 5   |      | 6   |      | 7   |      | 8   |      | 9   |      | 10  |      | 11  |      | 12  |      | 13  |      | 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 | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post |    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| Olive oil (vehicle) | Number of females <sup>31</sup>          | 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   | 8   | 8    | 2   | 2    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |   |
|                     | General appearance, No abnormality       | 12                     | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 8   | 8    | 2   | 2    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |   |   |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 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   | 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 |   |   |   |   |   |
|                     | Anorectal region, Soiled perineal region | 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   | 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 |   |   |   |   |   |
|                     | Mouth, 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   | 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 |   |   |   |   |   |
| TPCM 12 mg/kg       | Number of females                        | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 10   | 10  | 7    | 7   | 3    | 3   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
|                     | General appearance, No abnormality       | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 10  | 10   | 7   | 7    | 3   | 3    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 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   | 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 |   |   |   |   |   |
|                     | Anorectal region, Soiled perineal region | 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   | 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 |   |   |   |   |   |
|                     | Mouth, 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   | 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 |   |   |   |   |   |
| TPCM 60 mg/kg       | Number of females                        | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 10   | 10  | 8    | 8   | 4    | 4   | 1    | 1   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |   |
|                     | General appearance, No abnormality       | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 10  | 10   | 8   | 8    | 4   | 4    | 1   | 1    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |   |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 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   | 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 |   |   |   |   |   |
|                     | Anorectal region, Soiled perineal region | 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   | 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 |   |   |   |   |   |
|                     | Mouth, 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   | 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 |   |   |   |   |   |
| TPCM 300 mg/kg      | Number of females                        | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 9    | 9   | 5    | 5   | 3    | 3   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |   |
|                     | General appearance, No abnormality       | 13                     | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 9    | 9   | 5    | 5   | 3    | 3   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 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   | 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 | 0 | 0 | 0 |   |
|                     | Anorectal region, Soiled perineal region | 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   | 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 | 0 | 0 | 0 |   |
|                     | Mouth, 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   | 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 | 0 | 0 | 0 |   |

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Excluded from analysis (failure of confirmation of the copulation day; Animal No. F01002).

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 2 (continued). General conditions of female rats

| Group         | Number of females<br>and general conditions | Days of administration |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |
|---------------|---------------------------------------------|------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|               |                                             | 26                     |      | 27  |      | 28  |      | 29  |      | 30  |      | 31  |      | 32  |      | 33  |      | 34  |      | 35  |      | 36  |      | 37  |      | 38  |      | 39  |      | 40  |      | 41  |      | 42  |      | 43  |      |
|               |                                             | 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 | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post |
| TPCM 12 mg/kg | Number of females                           | 1                      | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    |
|               | General appearance, No abnormality          | 1                      | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    |

Pre: Before administration, Post: after administration.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 3. General conditions of dams during pregnancy

| Group               | Number of dams<br>and general conditions | Days of pregnancy |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |
|---------------------|------------------------------------------|-------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                     |                                          | 15                |      | 16  |      | 17  |      | 18  |      | 19  |      | 20  |      | 21  |      | 22  |      | 23  |      | 24  |      | 25  |      | 26  |      |
|                     |                                          | Pre               | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post |
| Olive oil (vehicle) | Number of dams <sup>a)</sup>             | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 5    | 5   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 5    | 5   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| TPCM 12 mg/kg       | Number of dams                           | 10                | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 3    | 3   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 10                | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 3    | 3   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| TPCM 60 mg/kg       | Number of dams                           | 13                | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 6    | 6   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 13                | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 6    | 6   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| TPCM 300 mg/kg      | Number of dams                           | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 2    | 2   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 6                 | 6    | 8   | 8    | 8   | 8    | 8   | 8    | 11  | 11   | 11  | 11   | 11  | 11   | 11  | 2    | 1   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 6                 | 6    | 4   | 4    | 4   | 4    | 4   | 4    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 0    | 1   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

Animal (F04013) was sacrificed for an accident of intubation error on the pregnant day 11.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 3 (continued). General conditions of dams during pregnancy

| Group               | Number of dams<br>and general conditions | Days of pregnancy |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |
|---------------------|------------------------------------------|-------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                     |                                          | 15                |      | 16  |      | 17  |      | 18  |      | 19  |      | 20  |      | 21  |      | 22  |      | 23  |      | 24  |      | 25  |      | 26  |      |
|                     |                                          | Pre               | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post |
| Olive oil (vehicle) | Number of dams <sup>a)</sup>             | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 5    | 5   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 5    | 5   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| TPCM 12 mg/kg       | Number of dams                           | 10                | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 3    | 3   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 10                | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 3    | 3   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| TPCM 60 mg/kg       | Number of dams                           | 13                | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 6    | 6   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 13                | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 6    | 6   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| TPCM 300 mg/kg      | Number of dams                           | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 2    | 2   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | General appearance, No abnormality       | 6                 | 6    | 8   | 8    | 8   | 8    | 8   | 8    | 11  | 11   | 11  | 11   | 11  | 11   | 11  | 2    | 1   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 6                 | 6    | 4   | 4    | 4   | 4    | 4   | 4    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 1    | 1   | 0    | 1   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

Animal (F04013) was sacrificed for an accident of intubation error on the pregnant day 11.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 4. General conditions of dams during lactation

| Group               | Number of dams<br>and general conditions | Days of lactation |      |     |      |     |      |     |      |     |                  |                  |
|---------------------|------------------------------------------|-------------------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------------------|------------------|
|                     |                                          | 0                 |      | 1   |      | 2   |      | 3   |      | 4   |                  | 5                |
|                     |                                          | Pre               | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post             | Pre              |
| Olive oil (vehicle) | Number of dams <sup>a)</sup>             | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12               | 12               |
|                     | General appearance, No abnormality       | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12   | 12  | 12               | 12               |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0                | 0                |
|                     | General appearance, Death                | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0                | 0                |
| TPCM 12 mg/kg       | Number of dams                           | 10                | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10               | 10               |
|                     | General appearance, No abnormality       | 10                | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10   | 10  | 10               | 10               |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0                | 0                |
|                     | General appearance, Death                | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0                | 0                |
| TPCM 60 mg/kg       | Number of dams                           | 13                | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13   | 13  | 13 <sup>b)</sup> | 13 <sup>b)</sup> |
|                     | General appearance, No abnormality       | 13                | 13   | 11  | 11   | 12  | 12   | 8   | 8    | 9   | 9                | 6                |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 0                 | 0    | 2   | 2    | 1   | 1    | 5   | 5    | 4   | 4                | 7                |
|                     | General appearance, Death                | 0                 | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0                | 0                |
| TPCM 300 mg/kg      | Number of dams                           | 12                | 12   | 12  | 12   | 12  | 11   | 11  | 11   | 11  | 11               | 11               |
|                     | General appearance, No abnormality       | 11                | 11   | 10  | 10   | 10  | 10   | 11  | 11   | 7   | 7                | 5                |
|                     | Excretion, Loose stool                   | 1                 | 1    | 2   | 2    | 1   | 1    | 0   | 0    | 4   | 4                | 6                |
|                     | General appearance, Death                | 0                 | 0    | 0   | 0    | 1   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0                | 0                |

Pre: Before administration, Post: after administration.

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 5. Body weights of male rats

| Group                  | Olive oil (vehicle) |        | TPCM 12 mg/kg |        | TPCM 60 mg/kg |          | TPCM 300 mg/kg |           |
|------------------------|---------------------|--------|---------------|--------|---------------|----------|----------------|-----------|
| Number of males        | 13                  |        | 13            |        | 13            |          | 13             |           |
| Days of administration |                     |        |               |        |               |          |                |           |
| 1                      | 396.7               | ± 13.0 | 388.1         | ± 12.7 | 392.6         | ± 14.1   | 392.4          | ± 13.4    |
| 7                      | 421.1               | ± 19.5 | 408.2         | ± 15.8 | 409.9         | ± 17.3   | 405.4          | ± 11.4    |
| 14                     | 445.9               | ± 24.7 | 430.0         | ± 22.5 | 431.2         | ± 16.8   | 425.7          | ± 16.9    |
| 21                     | 469.3               | ± 26.7 | 454.7         | ± 26.9 | 445.5         | ± 18.6 * | 443.3          | ± 20.1 *  |
| 28                     | 499.6               | ± 25.4 | 481.9         | ± 32.0 | 468.2         | ± 21.8 * | 465.7          | ± 27.7 ** |
| 35                     | 523.3               | ± 29.0 | 507.1         | ± 35.8 | 490.0         | ± 24.3 * | 487.8          | ± 32.1 *  |
| 42                     | 540.8               | ± 33.2 | 524.2         | ± 38.8 | 505.5         | ± 28.2 * | 498.4          | ± 33.5 ** |

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 6. Body weights of female rats

| Group                  | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg | TPCM 300 mg/kg |
|------------------------|---------------------|---------------|---------------|----------------|
| Number of females      | 12 <sup>a)</sup>    | 13            | 13            | 13             |
| Days of administration |                     |               |               |                |
| 1                      | 249.6 ± 11.6        | 249.5 ± 9.1   | 248.6 ± 10.8  | 249.4 ± 10.1   |
| 7                      | 264.5 ± 15.2        | 260.2 ± 10.0  | 256.1 ± 12.5  | 253.5 ± 9.5    |
| 14                     | 276.1 ± 15.4        | 273.2 ± 12.9  | 263.9 ± 14.9  | 258.3 ± 9.8 ** |

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

a): Excluded from analysis (failure of confirmation of the copulation day: Animal No. F01002).



## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 7. Body weights of dams during pregnancy

| Group             | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg   | TPCM 300 mg/kg   |
|-------------------|---------------------|---------------|-----------------|------------------|
| Number of dams    | 12 <sup>a)</sup>    | 10            | 13              | 12 <sup>b)</sup> |
| Days of pregnancy |                     |               |                 |                  |
| 0                 | 283.9 ± 14.9        | 281.4 ± 17.2  | 267.2 ± 16.2 *  | 262.7 ± 10.5 **  |
| 7                 | 321.2 ± 19.1        | 315.4 ± 19.0  | 297.0 ± 15.8 ** | 290.6 ± 11.0 **  |
| 14                | 362.3 ± 23.3        | 351.0 ± 24.4  | 331.0 ± 16.0 ** | 318.8 ± 15.2 **  |
| 21                | 452.5 ± 40.4        | 450.5 ± 29.6  | 421.8 ± 24.6 *  | 420.1 ± 26.7 *   |

Each value shows mean ± S.D. (g).

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

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F04013) was sacrificed for an accident of intubation error on the pregnant day 11.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 8. Body weights of dams during lactation

| Group             | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg    | TPCM 300 mg/kg                     |
|-------------------|---------------------|---------------|------------------|------------------------------------|
| Number of dams    | 12 <sup>a)</sup>    | 10            | 13 <sup>b)</sup> | 12                                 |
| Days of lactation |                     |               |                  |                                    |
| 0                 | 327.8 ± 21.1        | 325.7 ± 24.7  | 305.6 ± 27.2     | 288.3 ± 24.3 **                    |
| 4                 | 355.8 ± 17.6        | 348.4 ± 20.7  | 327.2 ± 35.1 *   | 330.7 ± 18.2 ** (11) <sup>c)</sup> |

Each value shows mean ± S.D. (g).

Figures in parentheses indicate number of dams.

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

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.

c): Dam was died on the lactational day 2 (F04009).

Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 9. Food consumption of male rats

| Group                  | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg | TPCM 300 mg/kg |
|------------------------|---------------------|---------------|---------------|----------------|
| Number of males        | 13                  | 13            | 13            | 13             |
| Days of administration |                     |               |               |                |
| 1                      | 25.3 ± 2.6          | 25.0 ± 2.8    | 23.2 ± 3.3    | 17.8 ± 3.0 **  |
| 7                      | 22.9 ± 2.3          | 21.9 ± 3.1    | 22.0 ± 2.3    | 23.5 ± 2.4     |
| 13                     | 23.0 ± 2.9          | 22.7 ± 2.5    | 22.7 ± 2.0    | 24.1 ± 2.1     |
| 29                     | 24.4 ± 2.3          | 24.1 ± 2.4    | 24.5 ± 2.9    | 28.5 ± 3.8 **  |
| 35                     | 23.8 ± 2.0          | 24.1 ± 2.8    | 22.4 ± 2.4    | 27.7 ± 3.3 **  |
| 41                     | 25.1 ± 3.1          | 24.2 ± 3.2    | 24.7 ± 2.2    | 27.4 ± 4.4     |

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 10. Food consumption of female rats

| Group                  | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg | TPCM 300 mg/kg |
|------------------------|---------------------|---------------|---------------|----------------|
| Number of females      | 12 <sup>a)</sup>    | 13            | 13            | 13             |
| Days of administration |                     |               |               |                |
| 1                      | 19.6 ± 3.6          | 18.2 ± 3.6    | 16.1 ± 3.6 *  | 16.0 ± 2.6 *   |
| 7                      | 16.6 ± 3.9          | 16.8 ± 3.5    | 16.0 ± 3.3    | 14.4 ± 2.0     |
| 13                     | 16.5 ± 3.1          | 16.6 ± 3.0    | 15.5 ± 3.4    | 16.4 ± 2.1     |

Each value shows mean (g) ± S.D.

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

a): Excluded from analysis (failure of the copulation day: Animal No. F01002)

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 11. Food consumption of dams during pregnancy

| Group             | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg | TPCM 300 mg/kg   |
|-------------------|---------------------|---------------|---------------|------------------|
| Number of dams    | 12 <sup>a)</sup>    | 10            | 13            | 12 <sup>b)</sup> |
| Days of pregnancy |                     |               |               |                  |
| 0                 | 16.1 ± 3.0          | 18.1 ± 3.7    | 16.9 ± 4.1    | 16.7 ± 4.4       |
| 7                 | 23.5 ± 3.6          | 22.6 ± 3.9    | 19.8 ± 3.3 *  | 20.2 ± 3.8       |
| 14                | 23.0 ± 3.2          | 22.9 ± 4.6    | 21.7 ± 3.8    | 22.7 ± 4.0       |
| 20                | 20.8 ± 4.8          | 20.3 ± 2.5    | 18.9 ± 2.8    | 23.0 ± 3.8       |

Each value shows mean ± S.D. (g).

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

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F04013) was sacrificed for an accident of intubation error on the pregnant day 11.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 12. Food consumption of dams during lactation

| Group             | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg    | TPCM 300 mg/kg |
|-------------------|---------------------|---------------|------------------|----------------|
| Number of dams    | 12 <sup>a)</sup>    | 10            | 13 <sup>b)</sup> | 11             |
| Days of lactation | 3                   |               |                  |                |
|                   | 40.1 ± 8.6          | 42.5 ± 5.0    | 40.6 ± 9.2       | 43.3 ± 4.5     |

Each value shows mean ± S.D. (g).

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

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 13. Organ weights of male rats

| Group           |        | Olive oil (vehicle) |          | TPCM 12 mg/kg |          | TPCM 60 mg/kg |            | TPCM 300 mg/kg |             |
|-----------------|--------|---------------------|----------|---------------|----------|---------------|------------|----------------|-------------|
| Number of males |        | 13                  |          | 13            |          | 13            |            | 13             |             |
| Body weight     | (g)    | 514.1               | ± 33.1   | 496.5         | ± 35.0   | 474.4         | ± 28.1 **  | 460.5          | ± 27.8 **   |
| Liver           | (mg)   | 13976.9             | ± 1626.2 | 13540.2       | ± 1239.8 | 16081.0       | ± 3022.4   | 16998.1        | ± 1452.1 ** |
|                 | (mg/g) | 27.169              | ± 2.422  | 27.246        | ± 1.061  | 33.944        | ± 6.580 ** | 36.932         | ± 2.537 **  |
| Testes          | (mg)   | 3235.6              | ± 311.1  | 3131.7        | ± 544.2  | 3431.7        | ± 220.1    | 3453.1         | ± 247.2     |
|                 | (mg/g) | 6.326               | ± 0.807  | 6.347         | ± 1.223  | 7.263         | ± 0.724 *  | 7.517          | ± 0.640 **  |
| Epididymides    | (mg)   | 1206.7              | ± 97.8   | 1161.6        | ± 236.3  | 1278.5        | ± 108.4    | 1274.0         | ± 78.2      |
|                 | (mg/g) | 2.361               | ± 0.299  | 2.349         | ± 0.485  | 2.701         | ± 0.248 *  | 2.777          | ± 0.254 **  |

Each value shows mean ± S.D.

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

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 14. Organ weights of female rats

| Group             |        | Olive oil (vehicle) |         | TPCM 12 mg/kg |         | TPCM 60 mg/kg    |           | TPCM 300 mg/kg |             |
|-------------------|--------|---------------------|---------|---------------|---------|------------------|-----------|----------------|-------------|
| Number of females |        | 12 <sup>a)</sup>    |         | 10            |         | 13 <sup>b)</sup> |           | 11             |             |
| Body weight       | (g)    | 322.2               | ± 17.1  | 314.2         | ± 19.4  | 287.3            | ± 28.9 ** | 277.5          | ± 15.2 **   |
| Liver             | (mg)   | 10584.6             | ± 982.3 | 10879.9       | ± 860.4 | 10916.6          | ± 1076.7  | 12945.4        | ± 1015.3 ** |
|                   | (mg/g) | 32.852              | ± 2.548 | 34.652        | ± 2.313 | 38.119           | ± 2.827 * | 46.653         | ± 2.644 **  |
| Ovaries           | (mg)   | 108.2               | ± 11.6  | 106.5         | ± 18.3  | 102.9            | ± 16.5    | 104.9          | ± 15.0      |
|                   | (mg/g) | 0.337               | ± 0.046 | 0.339         | ± 0.050 | 0.360            | ± 0.052   | 0.379          | ± 0.055     |

Each value shows mean ± S.D.

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

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.



## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 15. Macroscopic findings of male rats

|                           | Group | Olive oil (vehicle) |   | TPCM 12 mg/kg |   | TPCM 60 mg/kg |   | TPCM 300 mg/kg |   |
|---------------------------|-------|---------------------|---|---------------|---|---------------|---|----------------|---|
| Findings                  | Grade | -                   | P | -             | P | -             | P | -              | P |
| Liver                     |       |                     |   |               |   |               |   |                |   |
| Enlargement               |       | 13                  | 0 | 13            | 0 | 13            | 0 | 8              | 5 |
| Rough surface             |       | 13                  | 0 | 13            | 0 | 13            | 0 | 12             | 1 |
| Testis                    |       |                     |   |               |   |               |   |                |   |
| Edematous, bilateral      |       | 13                  | 0 | 12            | 1 | 13            | 0 | 13             | 0 |
| Small, bilateral          |       | 13                  | 0 | 12            | 1 | 13            | 0 | 13             | 0 |
| Epididymis                |       |                     |   |               |   |               |   |                |   |
| Edematous, bilateral      |       | 13                  | 0 | 12            | 1 | 13            | 0 | 13             | 0 |
| Small, bilateral          |       | 13                  | 0 | 12            | 1 | 13            | 0 | 13             | 0 |
| Kidney                    |       |                     |   |               |   |               |   |                |   |
| Dilatation, pelvis, right |       | 13                  | 0 | 12            | 1 | 13            | 0 | 13             | 0 |
| Enlargement, right        |       | 13                  | 0 | 12            | 1 | 13            | 0 | 13             | 0 |
| Thoracic cavity           |       |                     |   |               |   |               |   |                |   |
| Situs inversus            |       | 13                  | 0 | 13            | 0 | 12            | 1 | 13             | 0 |
| Abdominal cavity          |       |                     |   |               |   |               |   |                |   |
| Situs inversus            |       | 13                  | 0 | 13            | 0 | 12            | 1 | 13             | 0 |

Notes) - : No abnormal changes P : Non-graded change

Numerals represent the number of animals.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 16. Macroscopic findings of female rats

|                                         | Group | Olive oil (vehicle) <sup>a)</sup> |   | TPCM 12 mg/kg |   | TPCM 60 mg/kg <sup>b)</sup> |   | TPCM 300 mg/kg |   |
|-----------------------------------------|-------|-----------------------------------|---|---------------|---|-----------------------------|---|----------------|---|
| Findings                                | Grade | -                                 | P | -             | P | -                           | P | -              | P |
| Liver                                   |       |                                   |   |               |   |                             |   |                |   |
| Enlargement                             |       | 12                                | 0 | 10            | 0 | 13                          | 0 | 7              | 4 |
| Whitish spot,<br>right lobe             |       | 12                                | 0 | 10            | 0 | 13                          | 0 | 10             | 1 |
| Uterus                                  |       |                                   |   |               |   |                             |   |                |   |
| Placental remnant                       |       | 12                                | 0 | 9             | 1 | 13                          | 0 | 11             | 0 |
| Forestomach                             |       |                                   |   |               |   |                             |   |                |   |
| Elevated area,<br>multiple, mucosa      |       | 12                                | 0 | 10            | 0 | 12                          | 1 | 11             | 0 |
| Thickening, mucosa                      |       | 12                                | 0 | 10            | 0 | 12                          | 1 | 11             | 0 |
| Glandular stomach                       |       |                                   |   |               |   |                             |   |                |   |
| Recessed area,<br>mucosa, black colored |       | 12                                | 0 | 10            | 0 | 13                          | 0 | 10             | 1 |
| Spleen                                  |       |                                   |   |               |   |                             |   |                |   |
| Small                                   |       | 12                                | 0 | 10            | 0 | 12                          | 1 | 11             | 0 |

Notes) - : No abnormal changes P : Non-graded change

Numerals represent the number of animals.

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 17. Histopathological findings of male rats

| Findings                                                            | Group<br>Grade | Olive oil (vehicle) |   |   |    |    |   |    | TPCM 12 mg/kg |   |   |    |    |   |    | TPCM 60 mg/kg |    |   |    |    |   |    | TPCM 300 mg/kg |    |    |    |    |   |    |   |   |
|---------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------|---|---|----|----|---|----|---------------|---|---|----|----|---|----|---------------|----|---|----|----|---|----|----------------|----|----|----|----|---|----|---|---|
|                                                                     |                | -                   | ± | + | 2+ | 3+ | P | NE | -             | ± | + | 2+ | 3+ | P | NE | -             | ±  | + | 2+ | 3+ | P | NE | -              | ±  | +  | 2+ | 3+ | P | NE |   |   |
| Liver                                                               |                |                     |   |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                |    |    |    |    |   |    |   |   |
| Fatty change, hepatocyte,<br>periportal                             |                | 0                   | 4 | 9 | 0  | 0  |   |    | 0             | 9 | 4 | 0  | 0  |   |    | ..            | ## | 9 | 4  | 0  | 0 | 0  |                |    | .. | ## | 9  | 4 | 0  | 0 | 0 |
| Hypertrophy, hepatocyte,<br>centrilobular                           |                | 13                  | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 13            | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | ..            | ## | 2 | 11 | 0  | 0 | 0  |                |    | .. | ## | 0  | 6 | 7  | 0 | 0 |
| Microgranuloma                                                      |                | 11                  | 2 | 0 | 0  | 0  |   |    | 11            | 2 | 0 | 0  | 0  |   |    | 12            | 1  | 0 | 0  | 0  | 0 |    |                | 10 | 3  | 0  | 0  | 0 | 0  |   |   |
| Necrosis, focal                                                     |                | 12                  | 1 | 0 | 0  | 0  |   |    | 13            | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 13            | 0  | 0 | 0  | 0  | 0 |    |                | 12 | 0  | 1  | 0  | 0 | 0  |   |   |
| Cecum                                                               |                | 13                  |   |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                | 13 |    |    |    |   |    |   |   |
| Testis                                                              |                |                     |   |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                |    |    |    |    |   |    |   |   |
| Atrophy, seminiferous tubule,<br>focal, unilateral/bilateral        |                | 11                  | 1 | 1 | 0  | 0  |   |    | 0             | 0 | 1 | 0  |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                | 13 | 0  | 0  | 0  | 0 |    |   |   |
| Decrease, germ cell layer,<br>seminiferous tubule, unilateral       |                | 12                  | 1 | 0 | 0  | 0  |   |    | 0             | 0 | 0 | 0  |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                | 13 | 0  | 0  | 0  | 0 |    |   |   |
| Hyperplasia, Leydig cell,<br>interstitial, diffuse, bilateral       |                | 13                  | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 0             | 1 | 0 | 0  |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                | 13 | 0  | 0  | 0  | 0 |    |   |   |
| Multinucleated giant cell, lumen,<br>seminiferous tubule, bilateral |                | 13                  | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 0             | 1 | 0 | 0  |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                | 13 | 0  | 0  | 0  | 0 |    |   |   |
| Epididymis                                                          |                |                     |   |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                |    |    |    |    |   |    |   |   |
| Cell debris, lumen, unilateral<br>unilateral/bilateral              |                | 10                  | 2 | 1 | 0  | 0  |   |    | 0             | 0 | 1 | 0  |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                | 13 | 0  | 0  | 0  | 0 |    |   |   |
| Kidney                                                              |                |                     |   |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                |    |    |    |    |   |    |   |   |
| Basophilic tubule, cortex, unilateral                               |                |                     |   |   |    |    |   |    | 0             | 0 | 1 | 0  | 0  |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                |    |    |    |    |   |    |   |   |
| Dilatation, lumen,<br>distal/collecting tubule, unilaretal          |                |                     |   |   |    |    |   |    | 0             | 0 | 1 | 0  | 0  |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                |    |    |    |    |   |    |   |   |
| Dilatation, pelvis, unilateral                                      |                |                     |   |   |    |    |   |    | 0             | 0 | 1 | 0  | 0  |   |    |               |    |   |    |    |   |    |                |    |    |    |    |   |    |   |   |

Notes) -: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Marked

P: Non-graded change NE: Not examined

Numerals represent the number of animals.

\*: P&lt;0.01: Significantly different from control (Two-tailed Mann-Whitney U test).

#: P&lt;0.01: Significantly different from control (One-tailed Fisher exact test).

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 18. Histopathological findings of female rats

| Findings                               | Group<br>Grade | Olive oil (vehicle) <sup>a)</sup> |    |   |    |    |   |    | TPCM 12 mg/kg |   |   |    |    |   |    | TPCM 60 mg/kg <sup>b)</sup> |   |   |    |    |   |    | TPCM 300 mg/kg |    |   |    |    |   |    |  |
|----------------------------------------|----------------|-----------------------------------|----|---|----|----|---|----|---------------|---|---|----|----|---|----|-----------------------------|---|---|----|----|---|----|----------------|----|---|----|----|---|----|--|
|                                        |                | -                                 | ±  | + | 2+ | 3+ | P | NE | -             | ± | + | 2+ | 3+ | P | NE | -                           | ± | + | 2+ | 3+ | P | NE | -              | ±  | + | 2+ | 3+ | P | NE |  |
| Liver                                  |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Fatty change, hepatocyte, periportal   |                | 2                                 | 10 | 0 | 0  | 0  |   |    | 3             | 7 | 0 | 0  | 0  |   |    | 7                           | 6 | 0 | 0  | 0  |   |    | ..             | ## |   |    |    |   |    |  |
| Hematopoiesis, extramedullary          |                | 12                                | 0  | 0 | 0  | 0  |   |    | 9             | 1 | 0 | 0  | 0  |   |    | 13                          | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 11             | 0  | 0 | 0  | 0  |   |    |  |
| Hypertrophy, hepatocyte, centrilobular |                | 12                                | 0  | 0 | 0  | 0  |   |    | 10            | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 10                          | 3 | 0 | 0  | 0  |   |    | ..             | ## |   |    |    |   |    |  |
| Microgranuloma                         |                | 12                                | 0  | 0 | 0  | 0  |   |    | 10            | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 13                          | 0 | 0 | 0  | 0  |   |    | 9              | 2  | 0 | 0  | 0  |   |    |  |
| Necrosis, focal                        |                | 9                                 | 3  | 0 | 0  | 0  |   |    | 9             | 1 | 0 | 0  | 0  |   |    | 12                          | 1 | 0 | 0  | 0  |   |    | 9              | 1  | 1 | 0  | 0  |   |    |  |
| Cecum                                  |                | 12                                |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    | 11             |    |   |    |    |   |    |  |
| Ovary                                  |                | 12                                |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    | 11             |    |   |    |    |   |    |  |
| Forestomach                            |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Edema, lamina propria                  |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    | 0                           | 0 | 0 | 1  | 0  |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Erosion, mucosa                        |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    | 0                           | 0 | 1 | 0  | 0  |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Hemorrhage, lamina propria             |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    | 0                           | 1 | 0 | 0  | 0  |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Hyperplasia, squamous cell             |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    | 0                           | 0 | 1 | 0  | 0  |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Glandular stomach                      |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Edema, lamina propria                  |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    | 0              | 1  | 0 | 0  | 0  |   |    |  |
| Erosion, mucosa                        |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    | 0              | 0  | 1 | 0  | 0  |   |    |  |
| Spleen                                 |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    |                             |   |   |    |    |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Decrease, red pulp                     |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    | 0                           | 0 | 1 | 0  | 0  |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Deposit, pigment, brown                |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    | 0                           | 0 | 0 | 1  | 0  |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |
| Hematopoiesis, extramedullary          |                |                                   |    |   |    |    |   |    |               |   |   |    |    |   |    | 0                           | 1 | 0 | 0  | 0  |   |    |                |    |   |    |    |   |    |  |

Notes) -: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Marked

P: Non-graded change NE: Not examined

Numerals represent the number of animals.

\*: P&lt;0.01: Significantly different from control (Two-tailed Mann-Whitney U test).

##: P&lt;0.01: Significantly different from control (One-tailed Fisher exact test).

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 19. Results of observations about estrous cycle

| Group                                                                              | Olive oil (vehicle)          | TPCM 100 mg/kg | TPCM 300 mg/kg | TPCM 1000 mg/kg |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------|----------------|-----------------|
| Number of animals examined                                                         | 12                           | 13             | 13             | 13              |
| <u>Pre-treatment period</u>                                                        |                              |                |                |                 |
| Number of animals showing the each type of regular estrous cycle                   |                              |                |                |                 |
| 4-day cycle                                                                        | 9                            | 10             | 11             | 10              |
| 4 and 5-day cycle                                                                  | 2                            | 3              | 0              | 2               |
| 5-day cycle                                                                        | 2                            | 0              | 2              | 1               |
| irregular                                                                          | 0                            | 0              | 0              | 0               |
| Mean length of estrous cycle in days; Mean±S.D.                                    | 4.2 ± 0.4 (13)               | 4.1 ± 0.2 (13) | 4.2 ± 0.4 (13) | 4.2 ± 0.3 (13)  |
| <u>Treatment period</u>                                                            |                              |                |                |                 |
| Number of animals showing each type of cycle                                       |                              |                |                |                 |
| 4-day cycle                                                                        | 6                            | 11             | 11             | 11              |
| 4 and 5-day cycle                                                                  | 2                            | 1              | 1              | 0               |
| 5-day cycle                                                                        | 2                            | 1              | 1              | 1               |
| irregular                                                                          | 3                            | 0              | 0              | 1               |
| Mean length of estrous cycle in days; Mean±S.D.                                    | 4.3 ± 0.4 (10)               | 4.1 ± 0.3 (13) | 4.1 ± 0.3 (13) | 4.1 ± 0.3 (12)  |
| Frequency of animals of which type of estrus cycle was changed after the treatment | 6 / 12                       | 2 / 13         | 2 / 13         | 2 / 13          |
| Mean times of vaginal estrus during mating period; Mean±S.D.                       | 1.0 ± 0.0 (12) <sup>a)</sup> | 0.9 ± 0.3 (13) | 1.0 ± 0.0 (13) | 1.0 ± 0.0 (13)  |

Each value shows mean±S.D.

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

Figures in parentheses indicate number of dams.

a): Excluded from analysis (failure of confirmation of the copulation day: Animal No. F01002).

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 20. Results of observations about reproductive performance

| Group                                        | Olive oil (vehicle) <sup>a)</sup> | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg | TPCM 300 mg/kg |
|----------------------------------------------|-----------------------------------|---------------|---------------|----------------|
| Number of mated pairs [A]                    | 12                                | 13            | 13            | 13             |
| Number of copulated pairs [B]                | 12                                | 12            | 13            | 13             |
| Copulation index [(B/A)×100,%]               | 100.0                             | 92.3          | 100.0         | 100.0          |
| Number of fertile males [C]                  | 12                                | 10            | 13            | 13             |
| Fertility index [(C/B)×100,%]                | 100.0                             | 83.3          | 100.0         | 100.0          |
| Pairing days until copulation<br>; Mean±S.D. | 1.8 ± 0.7                         | 2.4 ± 1.1     | 2.8 ± 1.3     | 2.3 ± 1.2      |

Each value shows mean±S.D.

Significantly different from the control group (\*:  $p<0.05$ , \*\*:  $p<0.01$ ).

a): Excluded from analysis (failure of confirmation of the copulation day: Animal No. F01002).

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 21. Observation of offspring (F<sub>1</sub>)

| Group                                          | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg    | TPCM 300 mg/kg   |
|------------------------------------------------|---------------------|---------------|------------------|------------------|
| Number of dams                                 | 12 <sup>a)</sup>    | 10            | 13 <sup>b)</sup> | 12               |
| Gestation length (days)                        |                     |               |                  |                  |
| Mean ± S.D. per dam                            | 22.4 ± 0.5 (12)     | 22.3 ± 0.5    | 22.5 ± 0.5 (13)  | 22.2 ± 0.4       |
| Number of corpora lutea                        |                     |               |                  |                  |
| Total                                          | 220                 | 175           | 229              | 192              |
| Mean ± S.D. per dam                            | 18.3 ± 2.2 (12)     | 17.5 ± 1.9    | 17.6 ± 2.1 (13)  | 16.0 ± 1.4       |
| Number of implantation scars                   |                     |               |                  |                  |
| Total                                          | 192                 | 157           | 188              | 187              |
| Mean ± S.D. per dam                            | 16.0 ± 3.9 (12)     | 15.7 ± 1.3    | 14.5 ± 3.8 (13)  | 15.6 ± 1.4       |
| Implantation index (%) <sup>a)</sup>           | 86.4 ± 17.7 (12)    | 90.3 ± 8.6    | 82.0 ± 20.2 (13) | 97.4 ± 4.3       |
| Gestation index (%) <sup>b)</sup>              | 100.0               | 100.0         | 100.0            | 100.0            |
| Number of offspring at birth                   |                     |               |                  |                  |
| Total                                          | 176                 | 145           | 172              | 178              |
| Mean ± S.D. per dam                            | 14.7 ± 4.0 (12)     | 14.5 ± 1.4    | 13.2 ± 3.4 (13)  | 14.8 ± 1.8       |
| Number of live offspring at birth              |                     |               |                  |                  |
| Male                                           | 87                  | 74            | 79               | 83               |
| Female                                         | 81                  | 70            | 93               | 95               |
| Total                                          | 168                 | 144           | 172              | 178              |
| Mean ± S.D. per dam                            | 14.0 ± 4.2 (12)     | 14.4 ± 1.3    | 13.2 ± 3.4 (13)  | 14.8 ± 1.8       |
| Sex ratio <sup>c)</sup>                        |                     |               |                  |                  |
| Mean ± S.D. per dam                            | 0.52 ± 0.14 (12)    | 0.51 ± 0.15   | 0.45 ± 0.09 (13) | 0.47 ± 0.11      |
| Number of stillbirths                          |                     |               |                  |                  |
| Total                                          | 8                   | 1             | 0                | 1                |
| Mean ± S.D. per dam                            | 0.7 ± 2.3 (12)      | 0.1 ± 0.3     | 0.0 ± 0.0 (13)   | 0.1 ± 0.3        |
| Delivery index <sup>d)</sup>                   |                     |               |                  |                  |
| Mean% ± S.D. per dam                           | 90.0 ± 11.1 (12)    | 92.5 ± 5.6    | 91.9 ± 5.3 (13)  | 95.0 ± 5.9       |
| Birth index <sup>e)</sup>                      |                     |               |                  |                  |
| Mean% ± S.D. per dam                           | 86.3 ± 15.9 (12)    | 91.8 ± 5.0    | 91.9 ± 5.3 (13)  | 95.0 ± 5.9       |
| Live birth index <sup>f)</sup>                 |                     |               |                  |                  |
| Mean% ± S.D. per dam                           | 96.1 ± 13.6 (12)    | 99.3 ± 2.1    | 100.0 ± 0.0 (13) | 100.0 ± 0.0      |
| Number of offspring on day 4                   |                     |               |                  |                  |
| Male                                           | 85                  | 74            | 72               | 75               |
| Female                                         | 81                  | 70            | 82               | 86               |
| Sex ratio <sup>c)</sup>                        |                     |               |                  |                  |
| Mean ± S.D. per dam                            | 0.51 ± 0.13 (12)    | 0.51 ± 0.15   | 0.46 ± 0.08 (12) | 0.47 ± 0.11 (11) |
| Viability index <sup>g)</sup>                  |                     |               |                  |                  |
| Mean% ± S.D. per dam                           | 98.5 ± 3.6 (12)     | 100.0 ± 0.0   | 91.8 ± 27.6 (12) | 98.3 ± 2.9 (11)  |
| Number of external abnormalities <sup>h)</sup> | 0                   | 0             | 0                | 0                |
| Mean% ± S.D. per dam                           | 0.0 ± 0.0 (12)      | 0.0 ± 0.0     | 0.0 ± 0.0 (12)   | 0.0 ± 0.0 (12)   |

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

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

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

c): Number of male offspring/(number of male offspring + number of female offspring).

d): (Number of offspring at birth/Number of implantation scars)×100.

e): (Number of live offspring at birth/number of implantation scars)×100.

f): (Number of live offspring at birth/number of offspring at birth)×100.

g): (Number of live offspring 4 days after birth/number of live offspring at birth)×100.

h): Number of external abnormalities in live offspring at birth.

i): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

j): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.

Figures in parentheses indicate number of dams.

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 22. Body weights of offspring (F<sub>1</sub>)

| Group            |   | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg                 | TPCM 300 mg/kg                |  |
|------------------|---|---------------------|---------------|-------------------------------|-------------------------------|--|
| Number of dams   |   | 12                  | 10            | 13                            | 12                            |  |
| Male             |   |                     |               |                               |                               |  |
| Days after birth |   |                     |               |                               |                               |  |
|                  | 0 | 6.7 ± 1.1           | 7.0 ± 0.6     | 7.0 ± 0.6                     | 6.6 ± 0.7                     |  |
|                  | 4 | 11.3 ± 2.2          | 11.4 ± 1.3    | 11.1 ± 2.0 (12) <sup>b)</sup> | 10.1 ± 1.5 (11) <sup>c)</sup> |  |
| Number of dams   |   | 12 <sup>a)</sup>    | 10            | 13                            | 12                            |  |
| Female           |   |                     |               |                               |                               |  |
| Days after birth |   |                     |               |                               |                               |  |
|                  | 0 | 6.3 ± 0.9           | 6.6 ± 0.6     | 6.6 ± 0.6                     | 6.4 ± 0.6                     |  |
|                  | 4 | 10.9 ± 2.1          | 10.8 ± 1.2    | 10.7 ± 2.0 (12) <sup>b)</sup> | 9.7 ± 1.3 (11) <sup>c)</sup>  |  |

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

Figures in parentheses indicate number of dams.

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

a): Excluded from analysis (One animal, which was failed to confirm the copulation, was excluded).

b): Animal (F03003), which all offspring were died on the lactational day 4, was included into the analysis.

c): Dam was died on the lactational day 2 (F04009).



## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 23. General conditions in offspring (F<sub>1</sub>)

| Group               | Number of offspring<br>and general signs | Days after birth |     |                 |     |     |
|---------------------|------------------------------------------|------------------|-----|-----------------|-----|-----|
|                     |                                          | 0                | 1   | 2               | 3   | 4   |
| Olive oil (vehicle) | Number of offspring                      | 168              | 168 | 167             | 166 | 166 |
|                     | General appearance, No abnormality       | 168              | 167 | 166             | 166 | 166 |
|                     | General appearance, Death                |                  | 1   | 1               |     |     |
|                     | General appearance, Exhaustion           |                  |     |                 |     |     |
| TPCM 12 mg/kg       | Number of offspring                      | 144              | 144 | 144             | 144 | 144 |
|                     | General appearance, No abnormality       | 144              | 144 | 144             | 144 | 144 |
|                     | General appearance, Death                |                  |     |                 |     |     |
|                     | General appearance, Exhaustion           |                  |     |                 |     |     |
| TPCM 60 mg/kg       | Number of offspring                      | 172              | 172 | 172             | 170 | 155 |
|                     | General appearance, No abnormality       | 172              | 172 | 170             | 155 | 154 |
|                     | General appearance, Death                |                  |     | 2               | 15  | 1   |
|                     | General appearance, Exhaustion           |                  |     |                 |     |     |
| TPCM 300 mg/kg      | Number of offspring                      | 178              | 178 | 177             | 162 | 162 |
|                     | General appearance, No abnormality       | 178              | 177 | 162             | 162 | 161 |
|                     | General appearance, Death                |                  | 1   | 13              |     | 1   |
|                     | General appearance, Exhaustion           |                  |     | 2 <sup>a)</sup> |     |     |

Stillbirths are not included.

a): offspring were shipped out for the weak (lactational day 2).

## Reproduction/developmental toxicity screening test of triphenylchloromethane by oral administration in rats

Table 24. Morphological findings of offspring (F<sub>1</sub>)

| Group                                               | Olive oil (vehicle) | TPCM 12 mg/kg | TPCM 60 mg/kg | TPCM 300 mg/kg |
|-----------------------------------------------------|---------------------|---------------|---------------|----------------|
| Dead offspring                                      |                     |               |               |                |
| Number of dead offspring <sup>a)</sup>              | 2                   | 0             | 18            | 15             |
| Number of missing offspring                         | 2                   | 0             | 4             | 2              |
| Number of dead offspring examined                   | 0                   | 0             | 14            | 13             |
| Number of dead offspring with external changes      | 0                   | 0             | 0             | 0              |
| Number of dead offspring with visceral changes      | 0                   | 0             | 0             | 0              |
| Live offspring                                      |                     |               |               |                |
| Number of live offspring examined (postnatal day 0) | 168                 | 144           | 172           | 178            |
| Number of live offspring with external changes      | 0                   | 0             | 0             | 0              |
| Number of live offspring examined (postnatal day 4) | 166                 | 144           | 154           | 161            |
| Number of live offspring with external changes      | 0                   | 0             | 0             | 0              |
| Number of live offspring with visceral changes      | 0                   | 0             | 0             | 0              |

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

Figures in parentheses indicate number of offspring.

a): including missing offspring.