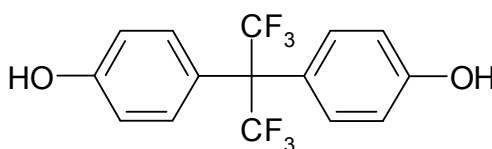


4,4'-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoropropane-2,2-diyl)diphenol

[CAS No. 1478-61-1]

Phenol, 4,4'-[2,2,2-trifluoro-1-(trifluoromethyl)ethylidene]bis-

Molecular formula: C₁₅H₁₀F₆O₂ Molecular weight: 366.23



ABSTRACT

The oral administration of 4,4'-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoropropane-2,2-diyl) diphenol to rats for a period of up to fifty-five days (including two weeks pre-mating, gestation and early lactation period for females) at dose levels of up to 300 mg/kg/day resulted in treatment-related changes at all dose levels.

For male animals, a 'No Observed Adverse Effect Level' (NOAEL) could not be established because of the microscopic changes in the mammary gland at all treatment levels, infertility at 300 mg/kg/day and reduced fertility at 100 and 30 mg/kg/day.

For female animals treated with 300 mg/kg/day, pregnancy was not achieved. For parental females, a NOAEL for systemic toxicity was achieved at 30 mg/kg/day because effects at 30 mg/kg/day were not considered to represent an adverse health effect for systemic toxicity. A NOAEL was not achieved for reproductive toxicity because of reduced pregnancy rates for parental females treated with 100 and 30 mg/kg/day compared to parental females from the control group.

For F1 offspring, the 'No Observed Effect Level' (NOEL) and NOAEL was 100 mg/kg/day under these test conditions.

SUMMARIZED DATA FROM THE STUDY

Purity	: 99.69%
Test species/strain	: Rat/ Sprague-Dawley Crl:CD (SD) IGS BR
Test method	: OECD Test Guideline 422
Route	: Oral (gavage)
Dosage	: 0 (Vehicle), 30, 100, 300 mg/kg/day (Satellite groups for recovery, 5 males and 5 females: 0, 300 mg/kg/day)
Number of animals	: Males, 12; Females, 12
Vehicle	: Arachis oil BP
Administration period	: 42 days for males 14 days before mating to day 4 of lactation for females 42 days for the satellite groups for recovery of males and females
Terminal kill	: Day 43 for males Day 5 of lactation for females Day 57 for the satellite groups for recovery of males and females
GLP	: Yes

1. Repeated Dose and Reproductive/Developmental Toxicity¹⁾

Test results:

<Repeat Dose Toxicity>)

Clinical Observations. Clinical signs were generally confined to post-dose increased salivation and staining around the mouth for animals treated with 300 mg/kg/day.

Behavioural Assessments. Weekly open field observations did not reveal any treatment-related effects.

Functional Performance Tests. No treatment-related effects were evident for grip strength or motor activity.

Sensory Reactivity Assessments. No treatment-related effects were detected in the sensory reactivity parameters investigated.

Bodyweights. Reduced bodyweight gains were evident for males treated with

300 mg/kg/day when compared to controls throughout the treatment period. A slight reduction in bodyweight gains were also evident during the first three weeks of treatment for males treated with 100 mg/kg/day in comparison to controls.

A number of females treated with 300 mg/kg/day showed actual bodyweight losses during the first week of treatment, and lower bodyweight gains were also evident for females treated with 100 mg/kg/day during Week 1 compared to controls.

Food Consumption. A reduction in dietary intake and food efficiency was evident for males treated with 300 and 100 mg/kg/day during the first two weeks of the study. Reduced dietary intake was evident for females treated with 300 mg/kg/day during the pre-mating phase of the study and females treated with 100 mg/kg/day also showed reduced dietary intake in comparison to controls during Week 1. Reductions in dietary intake were also observed for females treated with 100 and 30 mg/kg/day during gestation.

Water Consumptions. Increases in water intake were evident for males treated at all dose levels in comparison to controls, during the treatment period. Increases in water intake were evident for females treated with 300 and 100 mg/kg/day during the pre-mating phase of the study.

Haematology. Males treated with 300 mg/kg/day showed a reduction in haemoglobin, erythrocyte and haematocrit counts when compared to controls.

Blood Chemistry. Males treated with 300 mg/kg/day showed slight reductions in blood urea, albumin, albumin/globulin (A/G) ratio and cholesterol levels when compared to controls during the treatment period. Reductions in albumin and cholesterol were also evident for males treated with 100 mg/kg/day, and males treated with 30 mg/kg/day also showed lower blood cholesterol levels when compared to controls. Alanine aminotransferase (ALAT) levels were elevated for males treated with 300 and 100 mg/kg/day in comparison to controls. Similar effects were evident for females treated with 300 and 100 mg/kg/day during the pre-mating blood chemical assessments, although no significant effects were evident prior to termination on Day 4 post partum for females with litters.

Urinalysis. No treatment-related effects were detected between control and treated males in the urinalytical parameters investigated.

Necropsy: Treatment-related macroscopic findings for adult males consisted of small seminal vesicles and small prostates observed at 300 mg/kg/day. Small testes and epididymides were observed for one male treated with 100 mg/kg/day. Reduced absolute and bodyweight-relative epididymis and testis weights were evident for males

treated with 300 mg/kg/day when compared to controls, together with increases in adrenal and liver weights.

Histopathology.

MAMMARY GLAND: Tubuloalveolar differentiation of mammary tissue was seen among males treated with at all dose levels.

OVARIES: Follicular cysts were seen in non-pregnant females treated with 300 mg/kg/day.

TESTES: Leydig cell atrophy was seen in males treated with 300 and 100 mg/kg/day.

SEMINAL VESICLES/COAGULATING GLAND: Reduced secretory content was seen in males treated with 300 and 100 mg/kg/day when compared to controls.

PROSTATE: Reduced secretory content was seen in males treated with 300 and 100 mg/kg/day.

LIVER: Centrilobular hepatocyte enlargement was seen in males from all treatment groups in comparison to controls. Females were also affected at 300 and 100 mg/kg/day.

KIDNEYS: A greater incidence of higher grades of severity of groups of basophilic tubules and tubular dilatation were seen in males treated with 300 mg/kg/day.

For male animals, a 'No Observed Adverse Effect Level' (NOAEL) could not be established because of the microscopic changes in the mammary gland at all treatment levels, infertility at 300 mg/kg/day and reduced fertility at 100 and 30 mg/kg/day.

For female animals treated with 300 mg/kg/day, pregnancy was not achieved.

For parental females, a NOAEL for systemic toxicity was achieved at 30 mg/kg/day because effects at 30 mg/kg/day were not considered to represent an adverse health effect for systemic toxicity.

< Reproductive Developmental Toxicity >

Oestrus Cycle Assessments. One female treated with 300 mg/kg/day was recorded as acyclic and also failed to mate. Another female treated with 300 mg/kg/day showed extended oestrus.

Mating. No adverse effects were detected in mating performance between control and treated groups.

Fertility. There were no pregnant females observed at 300 mg/kg/day. Three females treated with 100 mg/kg/day mated but did not achieve pregnancy. One female treated with 100 mg/kg/day showed evidence of mating and post-mortem examinations revealed the presence of a corpus luteum and an implantation site, however, this female

did not produce a live litter. All females treated with 30 mg/kg/day showed positive evidence of mating, although two females did not achieve pregnancy. One female treated at this dose level did not deliver a live litter but showed two dead fetuses in utero during the post-mortem procedure.

Gestation Length. No adverse effects were detected in the length of gestation between treated and control females.

Offspring Litter Size and Viability. No significant effects were detected in litter sizes, live birth and viability indices, or sex ratio. No significant differences in number of corpora lutea or implantation sites, pre-implantation losses and post-implantation losses were detected.

Offspring Growth and Development. No significant effects on litter weights, or mean offspring bodyweights were evident for litters from treated animals when compared to those from controls. No treatment-related effects were detected following surface righting assessments.

Litter Observations. No clinically observable signs of toxicity were evident for offspring from treated animals when compared to those from controls.

A NOAEL was not achieved for reproductive toxicity because of reduced pregnancy rates for parental females treated with 100 and 30 mg/kg/day compared to parental females from the control group.

For F1 offspring, the 'No Observed Effect Level' (NOEL) and NOAEL was 100 mg/kg/day under these test conditions.

- 1) The tests were performed by the Harlan Laboratories Limited. Shardlow Business Park London Road, Shardlow Derbyshire DE72 2GD United Kingdom, Phone:+44-1332-792896, Fax:+44-1332-799018

4, 4'-(1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロプロパン-2, 2-ジイル)ジフェノールの
ラットを用いる反復経口毒性・生殖発生毒性併合試験
Combined Repeated Dose and Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test of
4,4'-(1,1,1,3,3,3-Hexafluoropropane-2,2-diyl)diphenol
by Oral Administration in Rats

要約

4, 4'-(1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロプロパン-2, 2-ジイル)ジフェノールの反復投与毒性生殖発生毒性を検討するために、OECD 試験ガイドライン 422 に基づき、試験を実施した。

本試験では、4, 4'-(1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロプロパン-2, 2-ジイル)ジフェノールを、0 (溶媒対照, ラッカセイ油), 30, 100 および 300mg/kg の用量で、CrI:CD (SD)ラットの雌雄 (12 匹/群) に、雄では 42 日間、雌では哺育 4 日までの最長 55 日間、毎日、強制的経口投与し、雌雄動物に対する反復投与の影響、ならびに親動物の生殖および哺育 4 日までの児動物の発生・発育に及ぼす影響を検討した。対照群と 300mg/kg 群については、交配に供した動物とは別にサテライト雌雄各 5 匹を用意し、42 日間の反復投与終了後、2 週間にわたり、回復性および遅発性変化の有無を観察した。結果は、以下のように要約される。

1. 反復投与毒性

一般状態観察において、300mg/kg 群の雌雄動物で、投与期間を通じて、投与後の流涎および口周辺の汚れが認められた。行動機能検査においては、被験物質投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。体重においては、300mg/kg 群の雄動物で、試験期間を通じて、体重増加量の低下が認められた。100mg/kg 群の雄動物でも、投与の最初の 3 週間に、体重増加量の軽度な低下が認められた。300mg/kg 群の雌動物において、被験物質投与の第 1 週の間に体重の減少が認められた。また、被験物質投与の第 1 週において 100mg/kg 群の雌動物で、体重増加量の低下が認められた。摂餌量については、本試験の最初の 2 週間に、300 および 100mg/kg 群の雄動物に摂餌量の低下が認められた。300mg/kg 群の雌動物で、交配前期間中に摂餌量の低下が認められた。また、100mg/kg 群の雌動物で、被験物質投与第 1 週に、摂餌量の低下が認められた。100 および 30mg/kg 群の雌動物で、妊娠期間中に摂餌量が低下が認められた。全ての被験物質投与群の雄動物で、摂水量の上昇が認められた。300 および 100mg/kg 群の雌動物で、交配前期間中に摂水量の上昇が認められた。300mg/kg 群の雄動物で、ヘモグロビン量、赤血球数およびヘマトクリット値の低値が対照群と比較して認められた。300mg/kg 群の雄動物で、対照群と比較してアルブミン、A/G 比およびコレステロールの低値が認められ、尿素窒素の高値が認められた。100mg/kg 群の雄動物で、対照群と比較してアルブミンおよびコレステロールの低値がみられ、30mg/kg 群の雄動物で、コレステロールの低値がみられた。また、300 および 100mg/kg 群の雄動物では、アラニンアミノトランスフェラーゼの高値が認められた。300 および 100mg/kg 群の雌動物では、交配前の血液化学的検査において、同様の変化がみられたが、哺育 4 日では有意な差は認められなかった。尿検査に被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。被験物質投与に起因する剖検所見として、

300mg/kg 群の雄動物で、精囊および前立腺の小型化が認められ、100mg/kg 群の雄動物 1 匹で精巢および精巢上体の小型化がみられた。300mg/kg 群の雄動物で、精巢上体および精巢の絶対および相対重量の低値が認められ、また副腎および肝臓の器官重量の高値もみられた。病理組織学的検査において、次の生殖器官に毒性学的に有意な所見が認められた。

乳腺：300, 100 および 30mg/kg 群の雄動物；乳腺の管状腺胞状化、300mg/kg 群の非妊娠雌動物；乳腺の腺過形成

卵巣：300mg/kg 群の非妊娠雌動物；卵胞嚢胞

精巣：300 および 100mg/kg 群の雄動物；ライディッヒ細胞の委縮

精巣上体/凝固腺：300 および 100mg/kg 群の雄動物；分泌量の減少

前立腺：300 および 100mg/kg 群の雄動物；分泌量の減少

子宮および膣においては、正常性周期に関する所見が認められたのみで、投与に起因すると考えられる異常所見は認められなかった。

また、以下の器官に投与に起因すると考えられる変化が認められた。

肝臓：全ての被験物質投与群の雄動物ならびに 300 および 100mg/kg 群の雌動物；小葉中心部の肝細胞の肥大

腎臓：300mg/kg 群の雄動物；塩基好性尿細管および尿細管の拡張の程度の増強

2. 生殖発生毒性

300mg/kg 群の雌動物 2 匹において、性周期の異常がみられた。すなわち、300mg/kg 群の雌 1 匹で休止期が継続し、交尾が成立しなかった。300mg/kg 群の別の雌動物は性周期の延長がみられた。被験物質投与の影響として、300mg/kg 群の雌動物は 1 匹も妊娠しなかった。100mg/kg 群の雌動物では、3 匹が妊娠しなかった。同群の別の 1 匹では交尾の兆候を示し、剖検で黄体と着床痕の存在を確認したが、この雌動物は生存児を出産しなかった。30mg/kg 群では、2 匹が妊娠せず、別の 1 匹では生存児を出産しなかったが、剖検時に子宮内に 2 匹の死亡胎児を確認した。

全ての被験物質投与群において、対照群と比較して、交尾率および妊娠期間に統計学的有意差は認められなかった。また、100 mg/kg 以下の群の黄体数、着床痕数、胚損失率、出産児数、生存率（哺育 0 および 4 日）、平面正向反射検査および性比に、対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。また、また、100 mg/kg 以下の群の児動物の一般状態およびに剖検所見に被験物質に起因すると考えられる異常は認められず、母動物（腹）毎および児動物毎の体重と体重増加量に、統計学的有意差も認められなかった。

3. 無作用量（NOEL：No Observed Effect Level）

雌雄親動物については、全ての用量において、被験物質の影響が認められたため、NOEL は求められなかった。

4. 無毒性量（NOAEL：No Observed Adverse Effect Level）

雄親動物については、全ての被験物質投与群で乳腺の病理学的変化がみられ、さらに 300mg/kg 群で雌動物を妊娠させることができず、100 および 30mg/kg 群で、授胎能の低下が示唆されたことから、

NOAELは求められなかった。

雌親動物については、300mg/kgの投与群で妊娠が認められなかった。30mg/kgにおいて、全身毒性を示す重篤な症状が認められなかったため、全身毒性のNOAELは30mg/kgと判断した。また、対照群と比較して、100および30mg/kg群で、妊娠率の低下が認められたことから、生殖発生毒性についてのNOAELは求められなかった。

出産児動物については、本試験条件下ではNOELおよびNOAELは100mg/kgと判断した。

方法

1. 被験物質および投与検体の調製法

本試験に使用した被験物質の4, 4'-(1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロプロパン-2, 2-ジイル)ジフェノール (Batch 番号: 090607) は、純度 99.69%の白色粉末である。被験物質は、入手後、使用時まで室温で暗所に保管した。被験物質の同一性は、そのIRスペクトルと純度を測定して確認した。

被験物質の溶媒にはラッカセイ油を用い、被験物質を所定の濃度になるように懸濁して、投与検体を調製した。投与検体は2週間に1回調製して、暗所4℃にて保管した。投与検体の安定性と均一性はHarlan Laboratories Ltd. で確認した。投与検体中の被験物質濃度を測定され、設定濃度の9%以内であったことを確認した。

2. 使用動物および飼育方法

試験には、チャールズリバー株式会社(英国)より購入したCrI:CD (SD) IGS BR雌雄ラットを使用した。入荷時に疾病および障害の有無について動物を観察し、その後は9日間の馴化期間中に健康状態を確認した。試験には、計116匹(雄動物58匹、雌動物58匹)を使用した。投与開始時の体重は雄動物で301~375g、雌動物で200~262gであり、投与開始時の週齢は約9週齢であった。

動物は、温度; 21±2℃, 相対湿度; 55±15%, 換気回数; 最低15回/時間, 1日12時間連続人工照明のバリアー動物飼育施設で飼育した。

全ての動物は針葉樹のフレーク (Datesand Ltd., Cheshire, 英国) を床敷として入れたステンレス鋼製金網蓋付きのポリプロピレン製平底ケージ (H: 22cm, L: 52cm, W: 33cm) に、4または5匹ずつのグループにわけて飼育した。交配期間中について、非回復群動物はポリプロピレン格子床に吸収紙を敷いたケージ (H: 20cm, L: 41.5cm, W: 24cm) へ、各用量群ごとに雌雄1対1で移した。交尾成立後、雄動物はもとのケージに戻した。交尾成立後の雌動物は、妊娠、哺育期間を通じて、針葉樹のフレークを床敷として入れたステンレス鋼製金網蓋付きのポリプロピレン製平底ケージ (H: 20cm, L: 41.5cm, W: 24cm) で個別飼育した。回復群の動物は、針葉樹のフレークを床敷として入れたステンレス鋼製金網蓋付きのポリプロピレン製平底ケージ (H: 22cm, L: 52cm, W: 33cm) に、5匹ずつのグループにわけて飼育した。なお、ケージは1週間に1回交換した。

動物には餌と水を自由に摂取させた。本試験を通じて、げっ歯動物用固形飼料 Teklad Global Diet 2018C [Harlan Laboratories U.K. Ltd. 製 (Oxon, 英国)] を使用し、用水はケージに取り付けられた

ポリカーボネート製のボトルによって動物に与えた。飼料と飲用水の分析結果から、本試験に影響を及ぼすと考えられる汚染物が含まれていないことを確認した。飼育環境を向上するために、妊娠、哺育期間中の雌動物を除いて、動物の飼育ケージ内には木のブロックや段ボールのトンネル〔Datesand Ltd 性（Cheshire, 英国）〕を備えた。

動物は体重層別化無作為法によって各用量群に割り付け、各動物には耳パンチ法で個体識別した。

3. 投与量の設定および投与方法

投与用量は用量設定予備試験の結果に基づいて決定した。用量設定予備試験の投与量は、1000mg/kg を最高用量とし、以下、400 および 150 mg/kg を設定した。1 群当たり雌雄各 3 匹の CrI:CD (SD) IGS BR ラットに被験物質を 14 日間投与した。対照群として、溶媒であるラッカセイ油を雌雄各 3 匹に同様に投与した。用量設定試験期間中、一般状態観察、体重測定、摂餌量および摂水量測定を行い、投与終了時に全ての動物を剖検し、肉眼的に観察した。

投与 5 日において、1000mg/kg 群の雄動物 1 匹に重篤な一般状態所見（下痢、脱水症状、削瘦、立毛および嗜眠）が認められたため、切迫屠殺した。投与用量は投与 5 日に 350mg/kg に減じた。この減じた投与用量で雌動物 1 匹が投与 6 日に死亡発見した。この動物では、一般状態所見として死亡前に円背位、立毛および嗜眠が認められた。投与 9 日に雄動物 1 匹が重篤な一般状態所見（円背位、嗜眠、脱水およびつま先歩行）が認められたため切迫屠殺した。1000mg/kg 群において、体重の減少と大幅な摂餌量の減少が認められた。さらに、対照群と比較して摂水量の増加が認められた。剖検においては消化管、脾臓、膀胱、腎臓、膵臓、精囊および子宮に変化が認められた。

400 および 100mg/kg 群においては、死亡例は認められなかった。一般状態所見として、投与後の流涎および口周囲の汚れのみが認められた。400 および 100mg/kg 群において、対照群と比較して体重のわずかな減少が認められ、また、摂餌量の減少も同群で認められた。400mg/kg 群の雌雄動物および 100mg/kg 群の雄動物において、摂水量の増加が認められた。400mg/kg 群の雌動物 1 匹において、ガス貯留による胃の膨張が認められた。その他の 400 および 100mg/kg 群の動物においては、肉眼観察異常は認められなかった。

以上の結果に基づいて、本試験における最高用量として 300mg/kg を設定し、以下、100 および 30 mg/kg を設定した。

本試験では、対照群 1 群と投与群 3 群の計 4 群を設け、1 群当たり雌雄各 12 匹の動物を用いた。また、対照群と最高用量群である 300mg/kg には、回復群としてそれぞれ交配をさせないサテライト動物を雌雄 5 匹ずつ追加した。

雄動物には、交配前 14 日間、交配期間 14 日間および交配期間終了後 14 日間の 42 日間、毎日投与した。雌動物には、交配前 14 日間、交配期間（交配成立まで）、妊娠期間および哺育 4 日まで、最長 55 日間、毎日投与した。サテライト動物には、それぞれ 42 日間毎日投与し、投与終了後 14 日間の回復期間を設定した。

4. 観察および検査（反復毒性）

1) 一般状態観察

全ての動物について、平日 1 日当たり投与直前、投与後 30 分以内、投与後 1 時間、5 時間に一般状

態を観察した。また、週末については1日あたり投与直前、投与直後、投与1時間後に観察を行った（但し、出産途中にある雌動物を除く）。回復期間については、1日2回（但し週末は1日1回）観察した。

2) 行動機能検査

(1) 詳細な観察

全ての動物について、投与開始前とその後週に1回、詳細な観察を実施した。詳細な観察はオープンアリーナ上で実施し、歩行、振戦、筋攣縮、痙攣、異常/常同行動、流涎、立毛、眼球突出、流涙、体温上昇/下降、皮膚着色、呼吸状態、眼瞼閉鎖、尿失禁、脱糞、アリーナに置いてから動き出すまでの時間および挙尾について観察を行った。

(2) 機能的検査

雌雄各5匹について、投与終了時（雄：投与第6週、雌：哺育4日）に自発運動量、握力測定および感覚反応検査を実施した。

自発運動の測定は、44光電管自動測定装置（機器名：Benwick AM 1051 Amloggers、製造元：Linton Instrumental）を用いて行った。測定時間はそれぞれの動物について30分とした。

握力測定は、自動測定器（機器名：Linton Duel Channel Grip Strength meter、製造元：Linton Instrumental）を用いて前肢・後肢の握力を連続3回測定した。

感覚反応検査は、それぞれの動物について、聴覚刺激、視覚刺激および固有受容器刺激についての感覚反応を評価した。

3) 体重

雄動物は、投与1日に測定し、その後は剖検まで週1回測定した。雌動物は投与1日に測定し、その後交尾を確認するまで週1回測定し、さらに交尾確認後0, 7, 14および20日ならびに哺育0日および4日に測定した。雌雄の回復群のサテライト動物は、投与1日に測定し、その後は剖検まで週1回体重を測定した。

4) 摂餌量

交配前の期間は、それぞれのケージ毎に摂餌量を週1回毎に測定した。交配期間中は摂餌量の測定は行わなかった。雄動物については、その後1週間毎に測定した。交尾を確認した雌動物に対しては、妊娠0～7, 7～14, 14～20日および哺育0～4日の期間の摂餌量を記録した。雌雄の回復群のサテライト動物の摂餌量については1週間毎に測定した。

また、雄動物については試験期間を通じて（但し、交配期間を除く）、雌動物については交配前期間と妊娠期間の最初の2週間に摂餌効率（体重変化量／摂餌量）を計算した。胎児および出産児の成長と母乳生成を考慮したため、妊娠最終週と哺育期間の摂餌効率についての算出は行わなかった。

5) 摂水量

摂水量については、試験期間を通じて、重量測定により測定した。

6) 臨床検査

被験物質投与群と対照群の雌雄各 5 匹について、投与 14 日および投与終了時（雄：投与 42 日，雌：哺育 4 日）に血液学および血液化学的検査を実施した。回復群のサテライト動物については、14 日間の回復期間終了後の剖検前（投与 56 日）に血液学および血液化学的検査を行った。血液サンプルは、投与 14 日は外側尾静脈から、投与終了時は心穿刺により採取した。尿検査は、被験物質投与群と対照群の雄各 5 匹を用いて投与最終週に実施した。また、回復群の雄サテライト動物について 14 日間の回復期間の最終週に尿検査を実施した。尿サンプルは、動物を代謝ケージに収容し、自由摂水・絶食下で一晩採尿した。

(1) 血液学的検査

抗凝固剤として EDTA または 0.11mol/L のクエン酸ナトリウムを加えて採取した血液を用いて、血液学的検査を行った。赤血球数，白血球数，血小板数，平均赤血球容積（以上，電気抵抗法），血色素量（シアンメトヘモグロビン法），ヘマトクリット値，平均赤血球血色素量および平均赤血球血色素濃度（以上，計算処理）は，A^c. T5 Diff analyzer（Beckman Coulter 製）を用いて測定し，プロトロンビン時間（Quick 一段法）および活性化性化部分トロンボプラスチン時間（メカニカル方式）は，Option 4 coagulometer（Bio Mérieux 製）を用いて測定した。白血球分類はメイグレンワルドギムザ染色を施した血液塗抹標本を観察して評価した。網状赤血球数はメチレンブルー染色を施した標本を観察して評価した。

(2) 血液化学的検査

抗凝固剤としてヘパリンリチウムを含んだチューブに採取した血液から得た血漿を用いて血液化学的検査を行った。アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ，アラニンアミノトランスフェラーゼ（以上，IFCC 法），アルカリホスファターゼ（Bowers and McComb 法），総蛋白（ビュレット法），アルブミン（BCG 法），A/G 比（計算処理），グルコース（Trinder 法），総ビリルビン（Jendrassik - Grof 法），総コレステロール（Allain らの方法），尿素窒素（GLDH 法），クレアチニン，無機リン（以上，比色法），カルシウム（重クロム酸法），ナトリウム，カリウム，塩素（以上，イオン電極法）について，ILab 600 auto-analyser（ILAB 製）を用いて測定した。

(3) 尿検査

尿量を測定し，屈折計（株式会社アタゴ製）を用いて，比重を測定した。また，Combur Test strips（ILAB 製）を用いて，pH，蛋白，糖，ケトン体，ビリルビン，ウロビリノーゲンおよび潜血を，Clinitest（Bayer Corporation Limited 製）を用いて，還元物質を検査した。

7) 剖検

雄動物について，回復群のサテライト動物を除き，投与 42 日の翌日にペントバルビタールナトリウムの静脈内過量投与後に放血して剖検した。雌動物については，分娩 5 日にペントバルビタールナトリウムの静脈内過量投与後に放血して剖検した。なお，分娩が成立しなかった雌動物については，妊娠 26 日以降に屠殺した。回復群の雌雄サテライト動物は，14 日間回復期間終了日の翌日に剖検した。

8) 器官重量

剖検時に全群の親動物雌雄全例について、副腎、脳、脾臓、心臓、甲状腺、腎臓、胸腺、肝臓、精巣上体、精巣、子宮、卵巣の重量（絶対重量）を測定した。また、各器官の剖検時体重に対する百分率（相対重量）を算出した。

9) 病理組織学的検査

回復群のサテライト動物を除く、対照群と 300mg/kg 群の雌雄動物、妊娠が認められなかった雌動物、途中死亡動物について、精巣、精囊、凝固腺、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮／子宮頸部、膈、下垂体、大動脈（胸部）、骨および骨髓（膝関節を含む大腿骨および胸骨）、脳（大脳、小脳、橋を含む）、肝臓、舌、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、脾臓、坐骨神経、皮膚（後肢）、眼球、脊髓（頸部、胸部中部および腰部）、脾臓、心臓、肺（気管支を含む）、気管、腎臓、副腎、膀胱、胸腺、甲状腺／上皮小体、唾液腺（顎下腺）、リンパ節（頸部および腸間膜）、乳腺組織、筋肉（骨格筋）および肉眼病変部の病理組織学的検査を行った。また、300mg/kg の受胎能に影響がみられたため、100mg/kg についても、これらの器官の病理組織学的検査を行った。さらに、肝臓、腎臓、肺、副腎、下垂体、乳腺、卵巣、精巣、精巣上体および前立腺に被験物質投与に起因すると考えられる変化が認められたことから、30mg/kg と回復群の動物についても、これらの器官の病理組織学的検査を行った。

眼球は Davidson 液、精巣および精巣上体は Bouins 液、その他の器官は、10%ホルマリンでそれぞれ固定した。その後、器官を切り出し、パラフィン包埋の後、薄切して、精巣および精巣上体は PAS 染色を、その他はヘマトキシリン・エオジン染色をそれぞれ施して病理組織標本を作製した。

5. 観察および検査（生殖発生毒性）

1) 性周期

サテライト群を除く、全ての雌動物について交配前期間に毎日膈垢検査を行い、性周期を観察した。

2) 交配

サテライト群を除く、雌雄動物を同一用量群内で 1 対 1 で最長 14 日間同居させた。ケージライナーシートあるいは雌の膈における膈栓の有無、膈垢中の精子の有無を記録した。膈垢中の精子の存在あるいは膈栓の存在により、交尾成立（妊娠 0 日）とした。交尾確認後、雄は元のケージに戻し（追加の交配が必要ない場合）、交配が成立した雌は妊娠および哺育期を通じて個別に飼育を続けた。交配の結果から、交配期間の開始から交尾成立までに経過した日数(交配所要日数)および交尾率〔(交尾成立ペア数／交配ペア数) X100〕を算出した。

3) 妊娠と分娩

妊娠した雌については、予定される出産時期の間、午前 8:30、午後 12:30 および午後 16:30 に出産の有無を観察した。但し、週末および祝祭日においては、午前 8:30 および午後 12:30 に出産の有無を観察した。妊娠から分娩までの結果から、妊娠期間(交尾成立から出産日までの日数)、受胎率〔(受胎動物数／交尾成立ペア数) X100〕および出産率〔(生児出産動物数／受胎動物数) X100〕を算出した。

4) 黄体数と着床痕数

分娩した全ての雌の卵巣について、剖検時に黄体数を測定した。また、子宮の着床痕を観察記録した。これらの結果から、着床前胚損失率 $\{[(\text{黄体数} - \text{着床痕数}) / \text{黄体数}] \times 100\}$ 、着床後胚損失率 $\{[(\text{着床痕数} - \text{総出産児数}) / \text{着床痕数}] \times 100\}$ および着床率 $[(\text{着床痕数} / \text{黄体数}) \times 100]$ を算出した。

5) 児動物の観察・検査

(1) 数、性および一般状態の観察

分娩日（哺育 0 日）に、出産児数（生存児数および死亡児数）および性別を確認した。その後、分娩後の各日における生存児の数および 4 日の性別を確認した。また、分娩日（哺育 0 日）から 4 日までの出産児の一般状態を観察した。これらの結果から、生存率（哺育 0 日） $[(\text{哺育 0 日の生存児数} / \text{出産時の総生存児数}) \times 100]$ 、生存率（哺育 4 日） $[(\text{哺育 4 日の生存児数} / \text{哺育 0 日の生存児数}) \times 100]$ 、出生率 $[(\text{総出産児数} / \text{着床痕数}) \times 100]$ および生存児数の性比（%雄） $[(\text{雄の産児数} / \text{総産児数}) \times 100]$ を算出した。

(2) 体重

哺育 0 および 4 日に、母動物(腹)毎に雌雄単位の体重および児動物 1 匹当たりの体重を算出した。

(3) 平面正向反射検査

全ての生存児について、哺育 1 日に平面正向反射検査を行った。

(4) 剖検

生存児動物については、ペントバルビタールナトリウムの心臓内過量投与によって屠殺した。試験期間中に死亡した動物も含め、全ての児動物について、外表および内臓観察を行い、肉眼的異常所見を確認した。

6. 統計解析

用量相関性を直線回帰分析により検定した後、分散の均一性の検定のための Levene の検定を組み合わせた一元配置分散分析 (ANOVA) を用いて評価した。分散の均一性が認められた場合には Dunnett 検定を用いてペアワイズ比較を行った。回復群のデータについては、Levene の等分散性の検定を組み合わせた両側 t-検定により解析した。Levene の検定にて不等分散が認められた場合に、Kruskal-Wallis ANOVA および Mann-Whitney の U 検定からなるノンパラメトリックな方法を用いて当該パラメーターを解析した。

病理組織学的検査は、対照群と被験物質群について、各性別ごとに有意差を次の方法を用いて解析した。

1. χ^2 検定: 1 またはそれ以上の頻度をともなった所見の出現率。
2. Kruskal-Wallis の片側ノンパラメトリック検定: よくみられる所見の重症度。

結果

1. 観察および検査（反復毒性）

1) 一般状態観察

被験物質の毒性に起因すると考えられる死亡例は認められなかった。

300mg/kg 群の雌動物 1 匹が試験 6 日に状態悪化のため切迫屠殺したが、病理検査の結果から、これは被験物質調製液の誤投与によるもので、被験物質の投与に関連しないものと考えられた。

一般状態観察所見として、300mg/kg 群の雌雄動物において、投与期間を通じて、被験物質投与直後から 1 時間後までに流涎が認められ、それに伴う変化として口周囲の汚れが認められた。また、同群の雄 5 匹および雌 1 匹で呼吸音異常が認められた。これら 300mg/kg 群の雌雄でみられた一般状態の変化については、被験物質投与終了後の回復期間では軽減した。その他、試験 6 および 7 日において、300mg/kg 群の雌動物 1 匹で、脱水症状と肛門生殖器周囲の汚れが認められた。同群の別の雌動物で試験 7 日から 10 日の間に脱水症状および円背位が認められた。また、同群の別の雌動物 1 匹で、肛門生殖器周囲の汚れがみられた。これらの変化はこれ以降認められなかった。

100mg/kg 群の雌雄動物において、投与第 3 週から投与直後に流涎の増加が認められた。口周囲の赤/茶色の汚れもみられたが、この出現頻度は 300mg/kg 群に比較して少なかった。雄動物では、投与後 1 時間においても、流涎の増加が認められた。また、これらの変化は、試験期間を通じて 30mg/kg 群の雌雄動物にも認められた。

試験 6 日に切迫屠殺した 300mg/kg 群の雌 1 匹において、円背位、嗜眠、努力性呼吸、あえぎ呼吸およびつま先歩行が認められた。

2) 行動機能検査

(1) 詳細な観察

毎週のオープンフィールドでの観察において、被験物質投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

(2) 機能的検査

握力と自発運動量に被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。感覚反応性検査に被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

3) 体重 (Fig. 1~6)

雄動物

300mg/kg/群の雄動物において、試験期間を通じて、対照群と比較して累積体重増加量の低下が認められた。また、被験物質投与期間中の回復 300mg/kg/群の雄動物においても、回復対照群と比較して、投与第 1, 2, 3 および 6 週に体重増加量の低下を示した。回復 300mg/kg/群におけるこの変化は、回復期間中に回復性を示し、回復対照群よりも体重増加量が高く、回復期間最終週においては統計学的に有意な上昇を示した。この体重増加量の低下により、試験期間を通じて、累積体重増加量も低値を示した。このことにより、回復 300mg/kg/群における体重も、回復対照群と比較して投与 15 日から低値を示した。

100mg/kg 群の雄動物においても、投与の最初の 3 週間に、対照群と比較して累積体重増加量の軽度な低下が認められた。30mg/kg 群の雄動物の体重には、被験物質投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

雌動物

300mg/kg 群の雌動物 1 匹において、被験物質投与第 1 週の間に顕著な体重の減少 (28g) がみられ、同群の 4 匹の雌動物においてもわずかな体重の減少が認められた。その結果として、同群の投与 1 週の平均体重増加量は、対照群と比較して統計学的に有意な低下を示した。また、回復 300mg/kg/群においても、被験物質投与第 1 週の間に平均体重の減少がみられ、投与 1 週の平均体重増加量の統計学的に有意な低下を示した。100mg/kg 群においても、被験物質投与第 1 週に対照群と比較して、体重増加量の低下を示した。100 および 30mg/kg 群の雌動物において、妊娠期間中の体重増加量に被験物質投与によると考えられる影響は認められなかったが、哺育期間中の体重は対照群と比較して低かった。

なお、300mg/kg/日群にて妊娠動物がいなかったことから、この群の雌動物の妊娠期間および哺育期間の体重についてのデータは評価に用いなかった。

4) 摂餌量 (Fig. 7~9)

雄動物

300mg/kg 群の雄動物において、被験物質投与第 1 週および 2 週に摂餌量および摂餌効率の低下が認められた。非回復用量群の雄動物の摂餌量については、交配期間中は測定しなかったが、この期間中、回復 300mg/kg/群の雄動物では、回復対照群と比較してわずかな低下が継続して認められた。この低下は、回復 300mg/kg/群の雄動物では、残りの被験物質投与期間中も継続して認められた。回復期間において、回復 300mg/kg/群の雄動物の摂餌量および摂餌効率は、回復性が認められた。

100mg/kg 群の雄動物では、交配前期間中に、対照群と比較して摂餌量および摂餌効率の低下が認められた。この用量群の摂餌量の変化は、交配期間終了後に回復性を示した。30mg/kg 群の雄動物の摂餌量および摂餌効率には影響は認められなかった。

雌動物

300mg/kg 群の雌動物において、被験物質投与第 1 週に、対照群と比較して摂餌量の有意な低下が認められた。また、回復 300mg/kg 群において、被験物質投与第 1 週および第 2 週に摂餌量および摂餌効率の低下がみられ、さらに投与第 5 週までわずかに低値を示した。この変化は、回復期間中において、回復性を示した。100mg/kg 群の雌動物において、被験物質投与第 1 週に対照群と比較して、摂餌量の有意な低下が認められた。この摂餌量な低下は、妊娠期間中にも認められ、妊娠第 2 週および 3 週に統計学的に有意であった。なお、この用量群の哺育期間中の摂餌量は対照群と同程度であった。30mg/kg 群の雌動物において、交配前期間で対照群と比較してわずかに低値を示した。また、妊娠期間においても、対照群と比較して摂餌量の低下がみられ、妊娠期間の第 2 週においては統計学的に有意であった。哺育期間中においても摂餌量のわずかな低下が認められた。

なお、300mg/kg/日群にて妊娠動物がいなかったことから、この群の雌動物の妊娠期間および哺育期間の体重についてのデータは評価に用いなかった。

5) 摂水量

雄動物

300mg/kg 群において、被験物質投与第 1 週および第 2 週に、対照群と比較して摂水量に有意な上昇が認められた。この摂水量の上昇は、交配期間終了後の被験物質投与の最後の 2 週においても認められた。回復 300mg/kg 群においても、同様の摂水量の上昇が投与期間中に認められたが、統計学的有意差は、被験物質投与第 2 週のみであった。なお、この変化は回復期間中に回復性が認められた。

100mg/kg 群の雄動物においても、対照群と比較して、被験物質投与第 1 週および第 2 週に摂水量の有意な上昇を示した。交配期間終了後にも、摂水量の上昇はみられたが、統計学的有意差は、試験第 5 週のみであった。また、30mg/kg 群において、交配前および交配後の期間に、対照群と比較して、同様の有意な摂水量の上昇が認められた。

雌動物

300mg/kg 群の雌動物において、被験物質投与第 1 週および第 2 週に、対照群と比較して摂水量の統計学的に有意な上昇が認められた。回復 300mg/kg 群においても、被験物質投与の最初の 3 週間に、対照群と比較して統計学的有意な摂水量の上昇が認められた。この変化は、回復期間中に回復性が認められた。

100mg/kg 群の雌動物において、交配前期間に摂水量の上昇がみられ、投与第 1 週の上昇は対照群と比較して統計学的有意差を示した。統計学的有意差は認められなかったが、妊娠期間および哺育期間においては対照群と比較して摂水量はわずかに上昇を示した。

30mg/kg 群の雌動物においては、摂水量に対する影響は認められなかった。

なお、300mg/kg/日群にて妊娠動物がいなかったことから、この群の雌動物の妊娠期間および哺育期間の体重についてのデータは評価に用いなかった。

6) 臨床検査

(1) 血液学的検査 (Table 1, 2)

交配前の投与 14 日の検査において、300mg/kg 群の雄動物で、統計学的有意差はなかったが、対照群と比較してヘモグロビン量および赤血球数にわずかな低値が認められた。また、同群で、対照群と比較して網状赤血球数に統計学的に有意なわずかな低値が認められた。剖検前の投与 42 日の検査において、300mg/kg 群の雄動物で、対照群と比較してヘモグロビン量および赤血球数に統計学的に有意な低値が認められた。同群において、統計学的有意差は認められなかったが、対照群と比較してヘマトクリット値も低値を示した。回復期間終了時の検査において、300mg/kg 群の雄動物で、赤血球数は低値を示したままであったものの、その他の項目の変化には回復性が認められた。なお、回復期間終了時の検査において、対照群と比較して、300mg/kg 群の雄動物で、平均赤血球容積および平均赤血球血色素量の統計学的に有意な高値が認められた。

100 および 30mg/kg 群の雄動物においては、被験物質投与に起因する血液学的検査への影響は認められなかった。

一方、雌動物では、交配前および哺育 4 日の検査における全ての被験物質投与群、ならびに回復期間の検査における 300mg/kg 群で、対照群と比較して被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

300mg/kg 群にて妊娠動物がいなかったことから、この群の雌動物の哺育 4 日の血液学的検査データは評価に用いなかった。なお、投与 14 日において、100mg/kg 群の雌動物で、対照群と比較して平均赤血球色素量に統計学的に有意な低値を示したが、この変動は小さく、用量相関性がみられず、他の血液学的項目に変化がなかったことから、この結果は偶発的なものと考えられた。

(2) 血液化学的検査 (Table 3, 4)

交配前の投与 14 日の検査において、300mg/kg 群の雌雄動物では、対照群と比較して、アルブミンに統計学的に有意な低値を示した。これに伴い、統計学的有意差は 300 mg/kg 群の雌動物においてのみであったが、A/G 比の低値もそれぞれ認められた。100mg/kg 群の雌雄動物においても、対照群と比較してアルブミンの低値がみられ、同群の雌動物では、対照群と比較して、わずかではあるが統計学的に有意な A/G 比の低値が認められた。

交配前検査において、統計学的有意差は雌のみであったが、300mg/kg 群でアラニンアミノトランスフェラーゼの高値が認められた。さらに、300mg/kg 群の雄動物では、対照群と比較して、わずかではあるが統計学的に有意な尿素窒素の高値がみられ、同用量群の雌動物では、対照群と比較して、統計学的に有意なクロールの低値が認められた。また、全ての被験物質投与群の雌雄動物において、対照群と比較して、コレステロールの低値が認められたが、雌動物では明確な用量相関性はなかった。

剖検前の投与 42 日の検査において、300mg/kg 群の雄動物では、対照群と比較して、交配前検査と同様の尿素窒素の統計学的に有意な高値が認められた。さらに、同群では、対照群と比較してアルブミンの有意な低値がみられ、100mg/kg 群の雄動物においても、同様のアルブミンの有意な低値が認められた。また、300 および 100mg/kg 群の雄動物では、対照群と比較して、コレステロールの有意な低値が交配前検査と同様に認められた。300mg/kg 群の雄動物では、アラニンアミノトランスフェラーゼの高値も交配前検査と同様にみられ、この変化は 100mg/kg 群の雄動物でも認められた。30mg/kg 群の雄動物には影響は認められなかった。

哺育 4 日の検査におこなわれた雌動物の検査において、全ての被験物質投与群で統計学的に有意な群間差は認められなかった。300mg/kg 群にて妊娠動物がいなかったことから、この群の血液化学検査データは評価に用いなかった。

回復期間終了時の検査において、投与期間中に 300mg/kg 群でみられた変化については、回復性が認められた。但し、回復 300mg/kg 群の雄動物において、対照群と比較して、ビリルビンのわずかな低値がみられ、A/G 比およびクロールの高値が認められた。回復 300mg/kg 群の雌動物では、対照群と比べ、クロールにわずかな低値が認められた。

(3) 尿検査

対照群と被験物質投与群を比較した結果、被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。

7) 剖検

被験物質投与に起因する剖検所見として、投与期間終了時に 300mg/kg 群の雄動物 4 匹で精囊および前立腺の小型化が認められた。また、100mg/kg 群の雄動物 1 匹で精囊および精囊上体の小型化がそれぞれ認められた。14 日間の回復期間終了時の剖検においても、回復 300mg/kg 群の雄 1 匹で精囊および精

巢上体の小型化が認められた。

30mg/kg 群の妊娠しなかったと疑われた雌動物において、副腎の退色および腺胃の脆弱化が認められた。また両方の子宮角に一匹ずつ死亡胎児が認められたため、この動物が妊娠していたことが確認された。

試験 6 日に切迫屠殺した 300mg/kg 群の雌 1 匹については、副腎の肥大および暗色化、腺胃の脆弱化、肝臓の暗色化、腸管部のガス膨張、肺の赤色化および胸腔の被験物質調製液様液体の貯留がみられ、また腫瘤が左前肢下部に認められた。病理学的検査において、死亡の原因は被験物質調製液の誤投与が原因であることが示唆されたことから、被験物質の毒性によるものではないと考えられた。

上記以外に認められた剖検所見については、偶発的なものであると考えられた。

8) 器官重量 (Table 5)

雄動物

投与期間終了時の検査において、300mg/kg 群の雄動物で、精巣上体の絶対重量に統計学的に有意な低値がみられ、相対重量にも統計学的に有意な低値が、対照群と比較してそれぞれ認められた。さらに、同群において、精巣の絶対重量および相対重量に低値がみられ、絶対重量については対照群と比較して統計学的に有意な変化であった。また、300mg/kg 群の雄動物では、副腎の絶対重量および相対重量に高値がみられ、相対重量については対照群と比較して統計学的に有意な変化であった。さらに、同群の雄動物で、肝臓相対重量も対照群と比較して有意な高値を示した。回復期間終了時の検査において、回復 300mg/kg 群の雄動物で、副腎の相対重量が依然として高値を示した。また、脾臓および胸腺の相対重量も対照群と比較して高値であった。

雄動物については、上記の他に被験物質投与に起因するまたは毒性影響と考えられる器官重量の変化は認められなかった。なお、回復期間終了時の検査において、回復 300mg/kg 群の雄動物で、対照群と比較して、肝臓の絶対重量が統計学的に有意なわずかな低値を示したが、肝臓の相対重量に変化はみられず、この所見は全身毒性に関連しない所見であると考えられた。また、同用量群で、脳の相対重量が対照群と比較して、統計学的に有意な高値を示したが、病理学的検査で関連する所見が認められなかったことから、これらは遅発性の全身毒性を示すものではないと考えられた。

100 および 30mg/kg 群の雄動物には、上記の変化は認められなかった。

雌動物

哺育 5 日の検査において、被験物質投与群の雌動物に、対照群と比較して毒性学的に有意な変化は認められなかった。

100 および 30mg/kg 群の雌動物において、わずかではあるが、次の統計学的に有意な変化が認められた。100 および 30mg/kg 群の雌動物で、心臓の絶対重量で対照群と比較して統計学的に有意な低値が認められた。同群においては、脳の相対重量の高値が認められた。用量相関性が明らかでなく、病理学的変化がこれらの器官で認められなかったことから、これらの所見は被験物質投与の影響とは考えられなかった。

300mg/kg 群の雌動物については、妊娠が認められなかったため、出産後の器官重量データは評価に用いなかった。なお、14 日間の回復期間終了時の検査において、300mg/kg 群の雌動物で対照群と比較して器官重量に有意差は認められなかった。

9) 病理組織学的検査 (Table 6, 7)

病理組織学的検査において、次の生殖器官に毒性学的に有意な所見が認められた。

乳腺：全ての被験物質投与群の雄動物において、乳腺の管状腺胞状化が認められた。この変化は、14 日間の回復期間終了時の検査において、回復 300mg/kg 群の雄動物で回復性が認められなかった。

300mg/kg 群の 4 匹の非妊娠雌動物において、軽微な乳腺組織の腺過形成が認められた。この所見は、14 日間の回復期間終了時の検査において、回復 300mg/kg 群の雌動物では回復性は認められなかった。

卵巣：300mg/kg 群の非妊娠雌動物で卵胞嚢胞が認められた。卵胞嚢胞は、回復期間終了時の 300mg/kg 群においても認められた。

精巣：300 および 100mg/kg 群の雄動物において、ライディッヒ細胞の委縮が認められた。回復期間終了時の検査において、この変化は、ほぼ回復性を示した。

精巣上体/凝固腺：300 および 100mg/kg 群の雄動物において、対照群と比較して、分泌量の減少が認められた。この変化は、14 日間の回復期間終了時に回復性は認められなかった。

前立腺：300 および 100mg/kg 群の雄動物において分泌量の減少が認められた。この変化は、14 日間の回復期間終了時に回復性は認められなかった。

子宮および膣においては、正常性周期に関する所見が認められたのみで、投与に起因すると考えられる異常所見は認められなかった。

また、以下の器官に投与に起因すると考えられる変化が認められた。

肝臓：全ての被験物質投与群の雄動物において、対照群と比較して小葉中心部の肝細胞の肥大が認められた。300 および 100mg/kg 群の雌動物においても同様の変化が認められた。この変化は、14 日間の回復期間終了時には回復性が認められた。

腎臓：300mg/kg 群の雄動物において、好塩基性尿細管および尿細管の拡張の程度の増強が認められた。しかしながら、その他の投与量では認められなかった。この変化は、回復期間終了時において回復性が認められた。

なお、300mg/日群の切迫屠殺した雌動物において、誤投与を示唆する病理学的変化が示された。従って、この死亡は被験物質の毒性に起因したものではないと考えられた。

2. 観察および検査 (生殖発生毒性)

1) 性周期 (Table 8)

300mg/kg 群の雌動物 2 匹において、性周期の異常が認められた。すなわち、300mg/kg 群の雌 1 匹で休止期が継続し、交尾が成立しなかった。300mg/kg 群の別の雌動物は性周期の延長が認められた。この雌動物は、交尾は成立したが妊娠しなかった。100 および 30mg/kg 群の雌動物においては、影響は認められなかった。

2) 交配 (Table 8)

対照群と被験物質投与群の交配の成績に差は認められなかった。30mg/kg 群において、全てのペアは交配開始後 4 日以内に交尾成立した。100mg/kg 群において、交尾確認ができなかった 1 ペアおよび交尾不成立の 1 ペアを除き、残りの全てのペアは交配開始後 5 日以内に交尾成立した。300mg/kg 群において

は、1 ペアは交尾が成立しなかった。また、300mg/kg 群では、交配開始後 14 日に交尾成立した 1 ペアを除き、残りの全てのペアは、交配開始後 6 日以内に交尾成立した。なお、対照群の 1 ペアは交配開始 14 日に交尾成立した。交尾の確認ができなかった 1 ペアを除き、残りの対照群のペアは、交配開始後 4 日以内に交尾成立した。

3) 妊娠と分娩 (Table 9)

対照群と比較して、被験物質投与群の妊娠期間に、被験物質投与による影響は認められなかった。対照群および被験物質群の妊娠期間は、22 から 24 日であった。なお、100mg/kg 群の雌動物 1 匹で交尾までの同居日数が確認できなかったために、妊娠期間が算出できなかった。

受胎能の成績には、被験物質投与の影響がみられ、300mg/kg 群の雌動物は 1 匹も妊娠しなかった。100mg/kg 群の雌動物では、7 匹が妊娠し、別の 3 匹では交尾成立したが妊娠しなかった。また、100mg/kg 群の残りの 1 匹では交尾の兆候を示し、剖検で黄体と着床痕の存在を確認したが、この雌動物は生存児を出産しなかった。この動物の病理学的検査において、子宮に壊死の痕跡が残っていた。30mg/kg 群では、全ての雌動物で交尾成立したが、2 匹が妊娠しなかった。また、別の 1 匹では生存児を出産しなかったが、剖検時に子宮内に 2 匹の死亡胎児を確認した。対照群では、交尾成立した 11 匹が妊娠した。

4) 妊娠黄体数と着床痕数 (Table 9)

100mg/kg 以下の群の黄体数、着床痕数および胚損失率に統計学的有意差はみられず、被験物質投与に起因すると考えられる変動は認められなかった。

5) 児動物の観察・検査 (Table 9)

(1) 産児数、生存率、性比および一般状態

100mg/kg 以下の群の出産児数、生存率（哺育 0 および 4 日）および性比に統計学的有意差はみられなかった。また、一般状態に被験物質に起因すると考えられる異常は認められなかった。

(2) 体重

100mg/kg 以下の群の母動物（腹）毎および児動物毎の体重と体重増加量に、統計学的有意差はみられず、被験物質投与の影響と考えられる変動は認められなかった。

(3) 平面正向反射検査

100mg/kg 以下の群において、統計学的有意差はみられず、被験物質投与の影響と考えられる変動は認められなかった。

6) 剖検

100mg/kg 以下の群の死亡および定期剖検（哺育 5 日）された出産児のいずれにおいても、被験物質投与の影響と考えられる変化は認められなかった。

考察

1. 反復毒性

一般状態において、300mg/kg 群の雌 2 匹で、被験物質投与の第 1 週の最後に、脱水症状および肛門生殖器周囲の汚れが認められた。しかし、この変化はその後認められなかった。それ以外の全ての被験物質投与群の雌雄動物にみられた一般状態所見としては、主に被験物質調製液の投与後にみられた流涎の増加および口周囲の汚れであり、さらに、300mg/kg 群では上記の症状とともに呼吸音異常が認められた。これらの所見は被験物質の投与の終了後に軽減された。これらは、一般には、被験物質の不快感あるいはわずかな刺激性の物質を経口投与した場合によくみられる。このことは、被験物質投与群において、対照群と比較して投与期間中に摂水量が増加したことからも裏付けられる。さらに、被験物質投与群では、対照群と比較して体重増加量の低下および体重の減少がみられ、また摂餌量および摂餌効率の低下も認められた。また、回復期間においては、回復 300mg/kg 群で摂餌量および摂餌効率の変化に回復性が認められた。

血液化学的検査では、300mg/kg 群の雄動物において、血中アルブミン、A/G 比およびコレステロールの低値が認められた。一方、300mg/kg 群の雌動物において、交配前の血液検査の結果、アルブミン、A/G 比およびコレステロールの低値が認められた。被験物質投与期間中にみられた血液化学的变化は、回復期間終了時に回復性を示した。また、100mg/kg 群の雌雄動物において、アルブミンおよびコレステロールの低値が認められた。30mg/kg 群の雄動物で、試験 14 日にコレステロールの低値が認められたが、定期剖検前の検査ではこの変化は認められなかった。血液化学検査において、300mg/kg の雌雄および 100mg/kg 群の雄動物で、アラニンアミノトランスフェラーゼの高値が認められた。また、300mg/kg 群の雄動物において、肝重量の高値がみられ、さらに、全ての投与用量群の雄動物、300 および 100mg/kg 群の雌動物において、対照群と比較して、肝臓の病理学的検査により肝小葉中心部の肝細胞の肥大が認められた。しかし、14 日間の回復期間終了時の検査では、300mg/kg の回復群で回復性を示した。一般に、肝細胞の肥大は生体異物の投与の後にげっ歯動物の肝臓でみられるものであり、関連する炎症あるいは変性の所見がみられなかったことから、自然状態での適応反応と考えられた。ミクロゾーム酵素の誘導、肝重量の増加及び肝細胞肥大には相関性がある (Armacher ら 1998)。また、腎臓に病理学的所見もみられ、すなわち、好塩基性尿細管と尿細管拡張の程度の増強が認められたが、回復 300mg/kg 群の雄動物では、この変化は回復性を示した。

雄動物においてみられたもっとも顕著な変化は、生殖器官において認められた。すなわち、器官重量については、300mg/kg 群で対照群と比較して、精巣上体と精巣重量が低値を示した。剖検では、300mg/kg 群の非回復雄動物において、精囊と前立腺の小型化が認められた。300mg/kg 群の雄動物の 1 匹において、14 日間の回復期間終了時の検査で、精巣および精巣上体の小型化が認められた。病理学的検査では、300 および 100mg/kg 群の雄動物で、精囊の分泌量の減少が認められた。また、同用量群の雄動物で、前立腺の分泌量の減少がみられたが、回復期間終了時の検査においても、回復 300mg/kg 群の雄動物では、この所見に回復性は認められなかった。さらに、雄動物の 300mg/kg 群では、1 匹を除いてその他全ての雄動物に、精巣ライディッヒ細胞の萎縮（精細管の異常は伴わない）が認められた。14 日間の回復期間終了時の検査では、回復群 300mg/kg 群の雄動物では、1 匹を除き、回復性が認められた。また、100mg/kg 群の動物においてもライディッヒ細胞の萎縮が認められた。なお、30mg/kg 群の雄動物にお

いては、精巣、精嚢および前立腺に被験物質の投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

300mg/kg 群の雄動物では、わずかな血液学的な変化が認められた。すなわち、被験物質投与期間において、ヘモグロビン量、赤血球数、ヘマトクリット値および網状赤血球数の低値が認められた。また、回復 300mg/kg 群の雄動物において、回復期間終了時にほぼ回復性が認められた。さらに、回復 300mg/kg 群の雄動物においては、脾臓の相対重量が高値を示した。病理学的検査においては、顕著な変化は認められなかったものの、必ずしも被験物質投与の影響の可能性を排除することはできなかった。

2. 生殖発生毒性

300mg/kg 群の雌動物 1 匹で休止期が継続し、交尾が成立しなかった。また、300mg/kg 群の別の雌動物 1 匹では、性周期の延長が認められた。この動物は、交尾成立はしたものの妊娠はしなかった。同用量群の残りの雌動物 9 匹については、交尾成立はしたものの妊娠しなかった。さらに、100mg/kg 群の雌動物 3 匹は交尾成立を示したが、妊娠しなかった。なお、同用量群の雌 1 匹では、黄体および着床痕がみられたが生存児を出産しなかった。この動物について病理学的検査をしたところ、子宮に壊死の痕跡が認められたことから、子宮内胎児死亡後の吸収が示唆された。30mg/kg 群の雌動物 2 匹は妊娠せず、さらに同用量群の雌動物 1 匹は妊娠しなかったことが疑われたが、剖検の結果、死亡胎児が認められたことから、子宮内胎児死亡後の吸収が示唆された。これら 300mg/kg 群の妊娠に対する影響および 4 匹の非妊娠動物の軽微な乳腺組織の腺過形成、同用量群での雄動物の乳腺の変化、ならびに低および中間用量群の雌動物に数例で不妊動物がみられたことは、毒性学的に重要な影響であると考えられた。本試験の結果からは被験物質の毒性発現機序は明らかではないが、雌雄動物の生殖器官で認められた所見から、被験物質はエストロゲン様作用を有することが疑われる。

要約すると、受胎能については、300 および 100mg/kg 群の動物において、顕著な影響が認められ、300mg/kg 群ではまったく妊娠せず、100 および 30mg 群では妊娠動物が少ないという結果であった。

100 および 30mg/kg 群の動物が出産した児動物については、対照群と比較して被験物質に起因すると思われる影響は認められなかった。すなわち、被験物質投与群の出産児数および母動物（腹）毎の体重に対照群と差は認められず、これらの投与用量において児動物の発達に被験物質投与に起因する影響は認められなかった。

被験物質 4, 4'-(1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロプロパン-2,2-ジイル)ジフェノールは、ビスフェノール A の誘導体である。ビスフェノール AF として知られる本被験物質の化学的プロファイルとして、ビスフェノール AF の類似体および誘導体（ビスフェノール A を含む）は、エストロゲン作動性とアンドロゲン拮抗性の両方の作用を有していることが報告されている（The National Toxicology Program 2008）。これに関連して、Hashimoto ら（2001）および Kitamura ら（2005）は、この物質が *in vitro* でエストロゲン様作用を、*in vivo* で内分泌かく乱作用を示したことを報告している。

本試験で用いられた被験物質とビスフェノール A の作用が類似していることは明らかであり、ビスフェノール A は *in vivo*、*in vitro* の双方で高プロラクチン血症を引き起こすことが示されている（Steinmetz ら 1997）。

ビスフェノール A の三世代繁殖試験において、500mg/kg/日の用量で着床数の減少および産児数の減少がみられ、この変化は三世代すべてにおいて認められている（Tyl et al 2002）。病理組織学的検査では、有意な変化は確認されなかった。この試験は Sprague-Dawley ラットを用いて混餌投与条件下

で行われたものであるが、本試験においては 300mg/kg/日で 1 例も妊娠が認められなかったことと比較すると、本試験の被験物質は生殖器官に対してビスフェノール A よりも強い活性を有していることが示唆された。

3. 無作用量 (NOEL: No Observed Effect Level)

雌雄雄親動物については、全ての用量において、被験物質の影響が認められたため、NOEL は求められなかった。

4. 無毒性量 (NOAEL: No Observed Adverse Effect Level)

雄親動物については、全ての被験物質投与群で乳腺の病理学的変化がみられ、さらに 300mg/kg 群で雌動物を妊娠させることができず、100 および 30mg/kg 群で、授胎能の低下が示唆されたことから、NOAEL は求められなかった。

雌親動物については、300mg/kg の投与群で妊娠が認められなかった。30mg/kg において、全身毒性を示す重篤な症状が認められなかったため、全身毒性の NOAEL は 30mg/kg と判断した。また、対照群と比較して、100 および 30mg/kg 群で、妊娠率の低下が認められたことから、生殖発生毒性についての NOAEL は求められなかった。

出産児動物については、本試験条件下では NOEL および NOAEL は 100mg/kg と判断した。

連絡先

作成責任者：

作成担当者：

ハーランラボラトリーズ株式会社

〒141-0021

東京都品川区上大崎 2-15-19

AIOS 目黒駅前 905

Tel 03-5791-3771 Fax 03-5791-3771

試験実施施設試験責任者：

Harlan Laboratories Ltd.

Shardlow Business Park

Shardlow

Derbyshire

DE72 2GD UK

Tel +44-1332-792896

Fax +44-1332-799018

Correspondence



Harlan Laboratories Co., Ltd.
AIOS Meguro-Ekimae 905
2-15-19 Kamiosaki, Shinagawa
Tokyo 141-0021 Japan
Tel 03-5791-3771 Fax 03-5791-3771

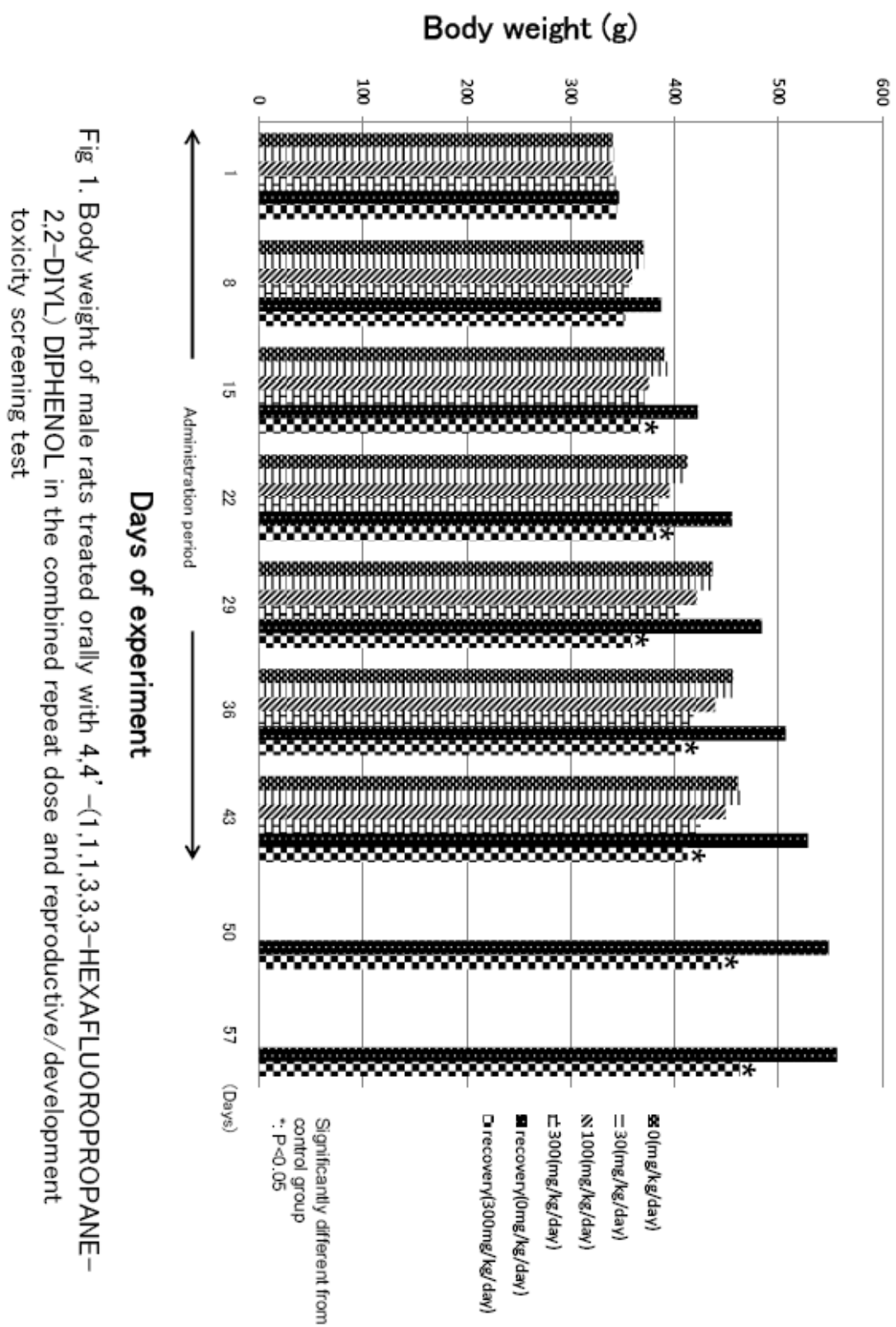


Fig 1. Body weight of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test

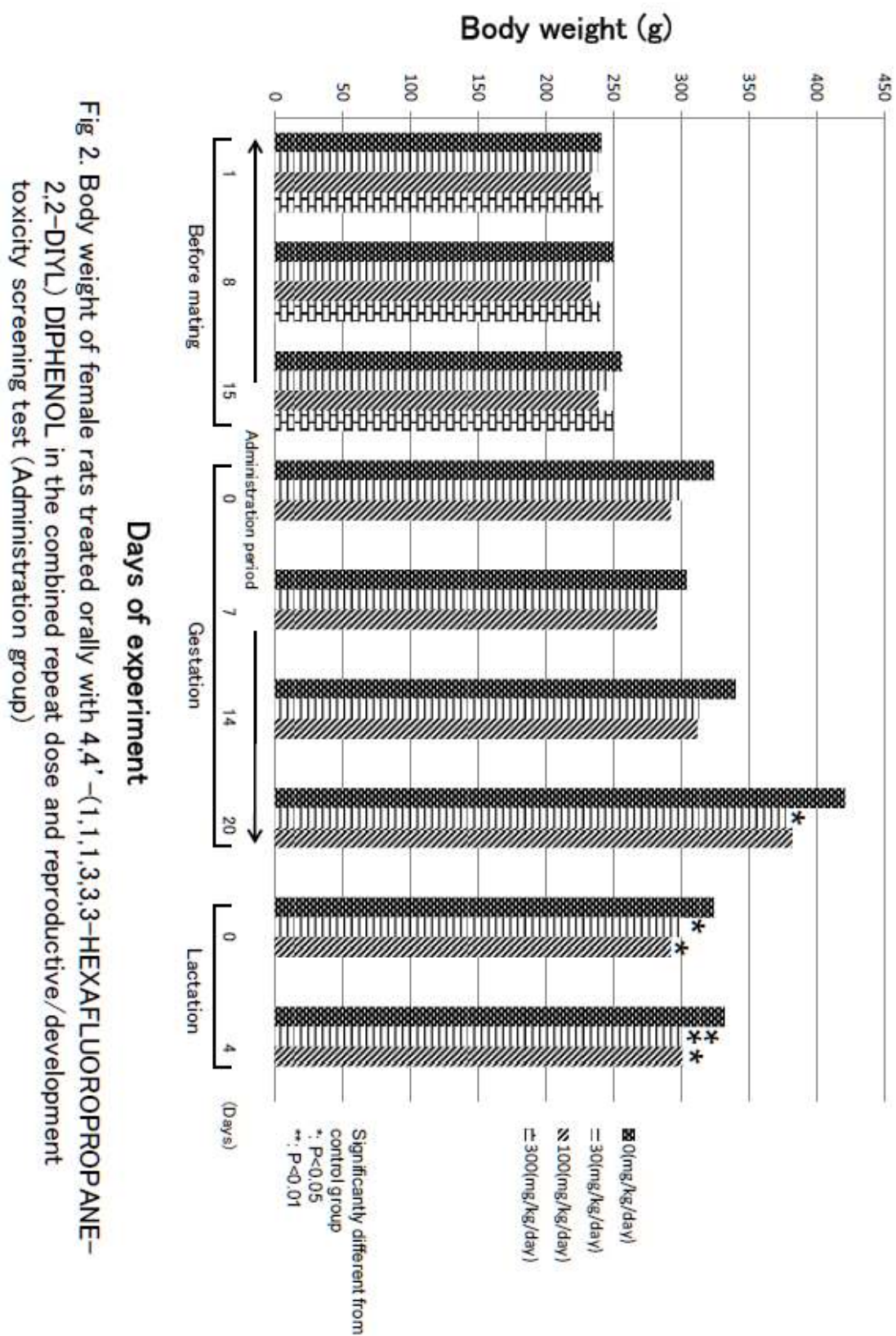


Fig 2. Body weight of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test (Administration group)

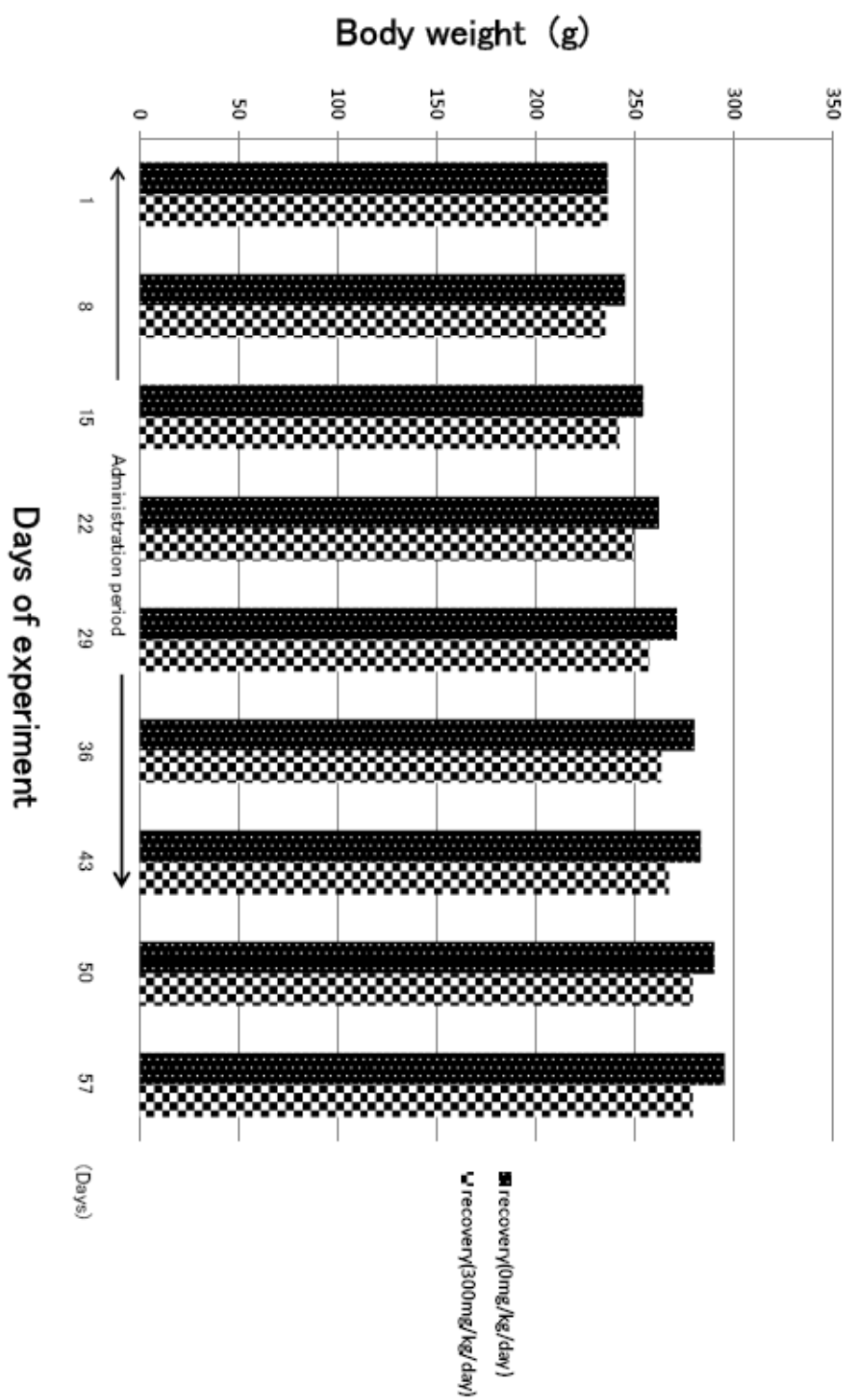


Fig. 3. Body weight of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test (recovery group)

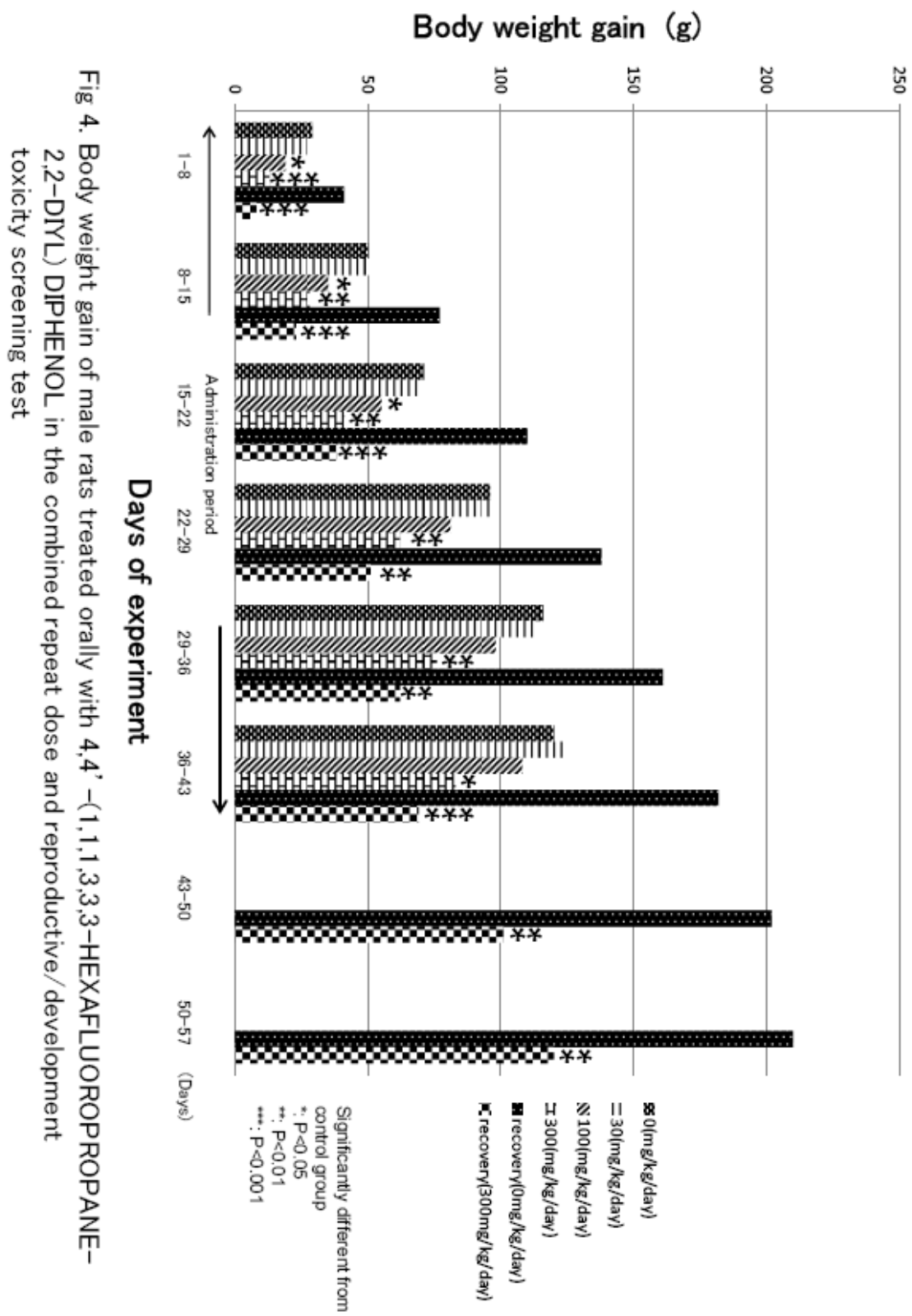


Fig. 4. Body weight gain of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test

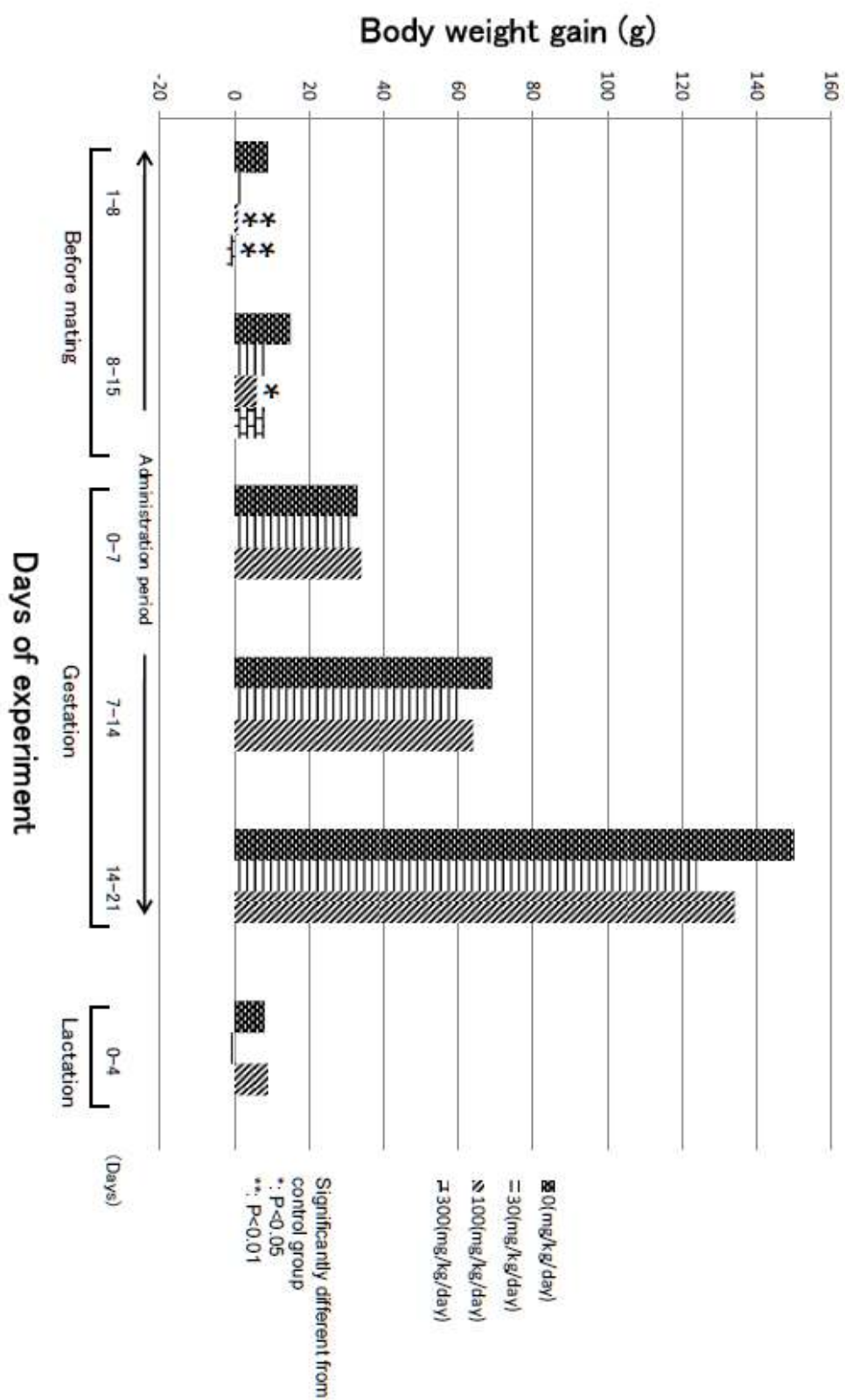


Fig 5. Body weight gain of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test (administration group)

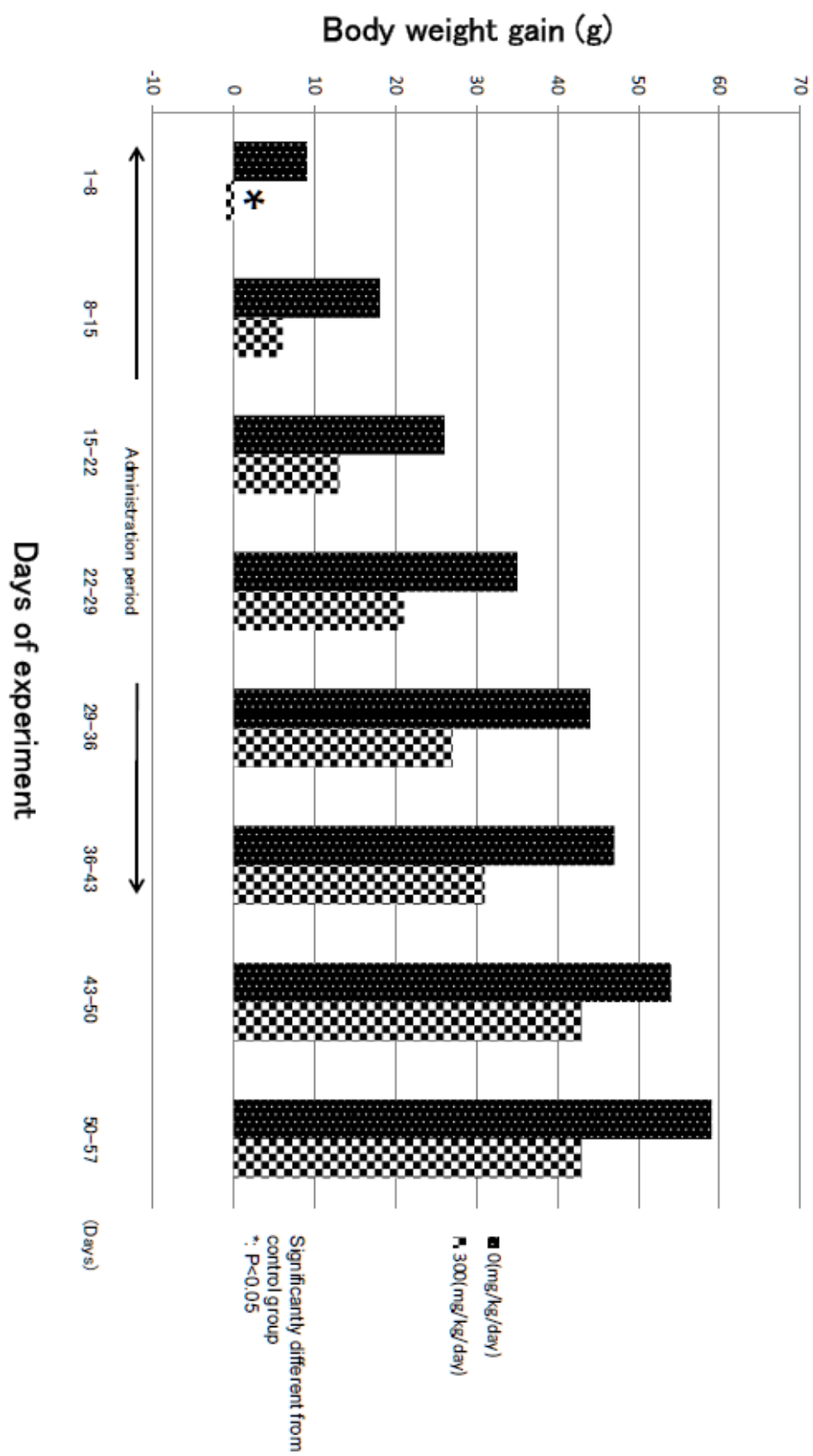


Fig 6. Body weight gain of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test (recovery group)

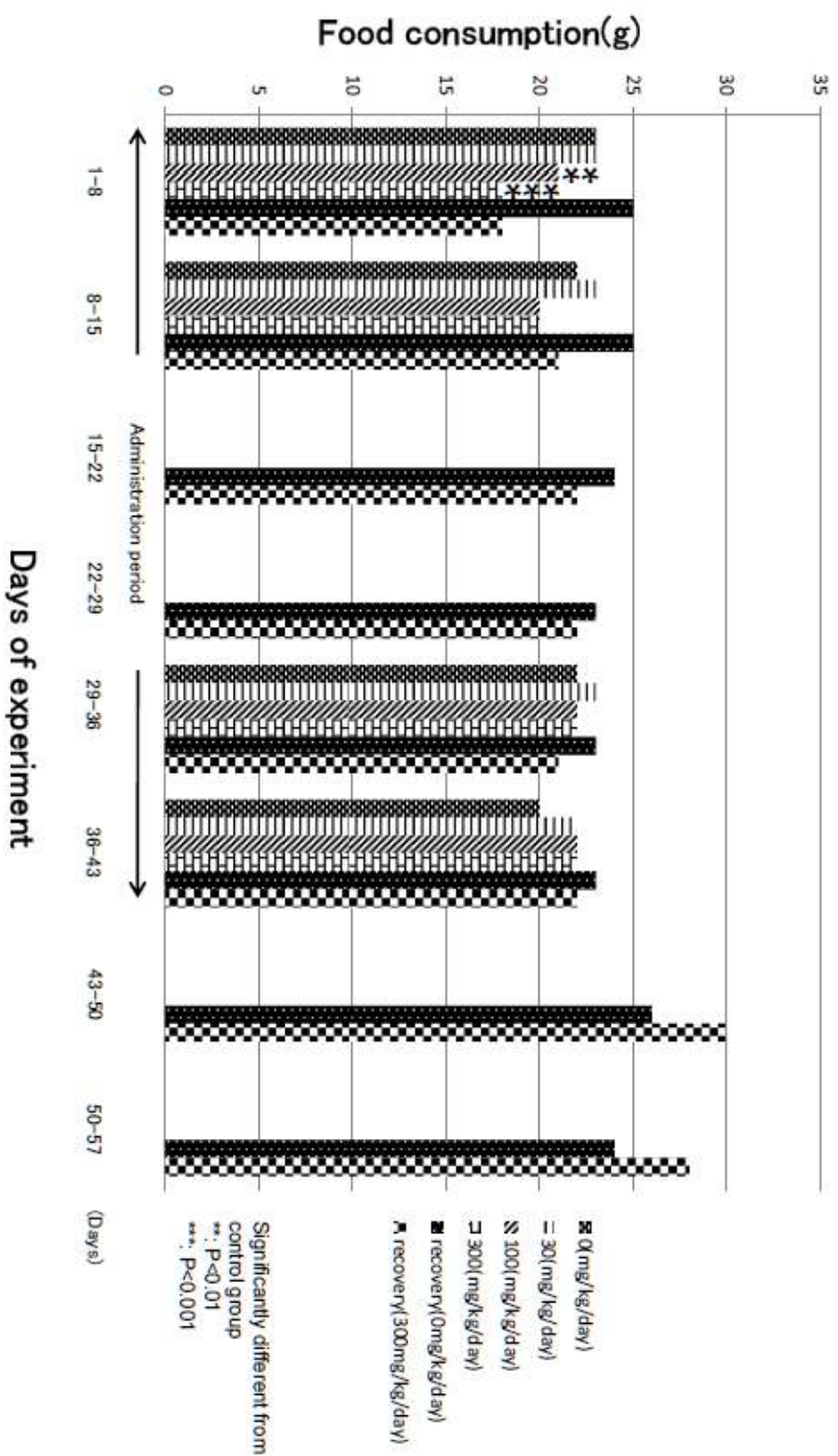
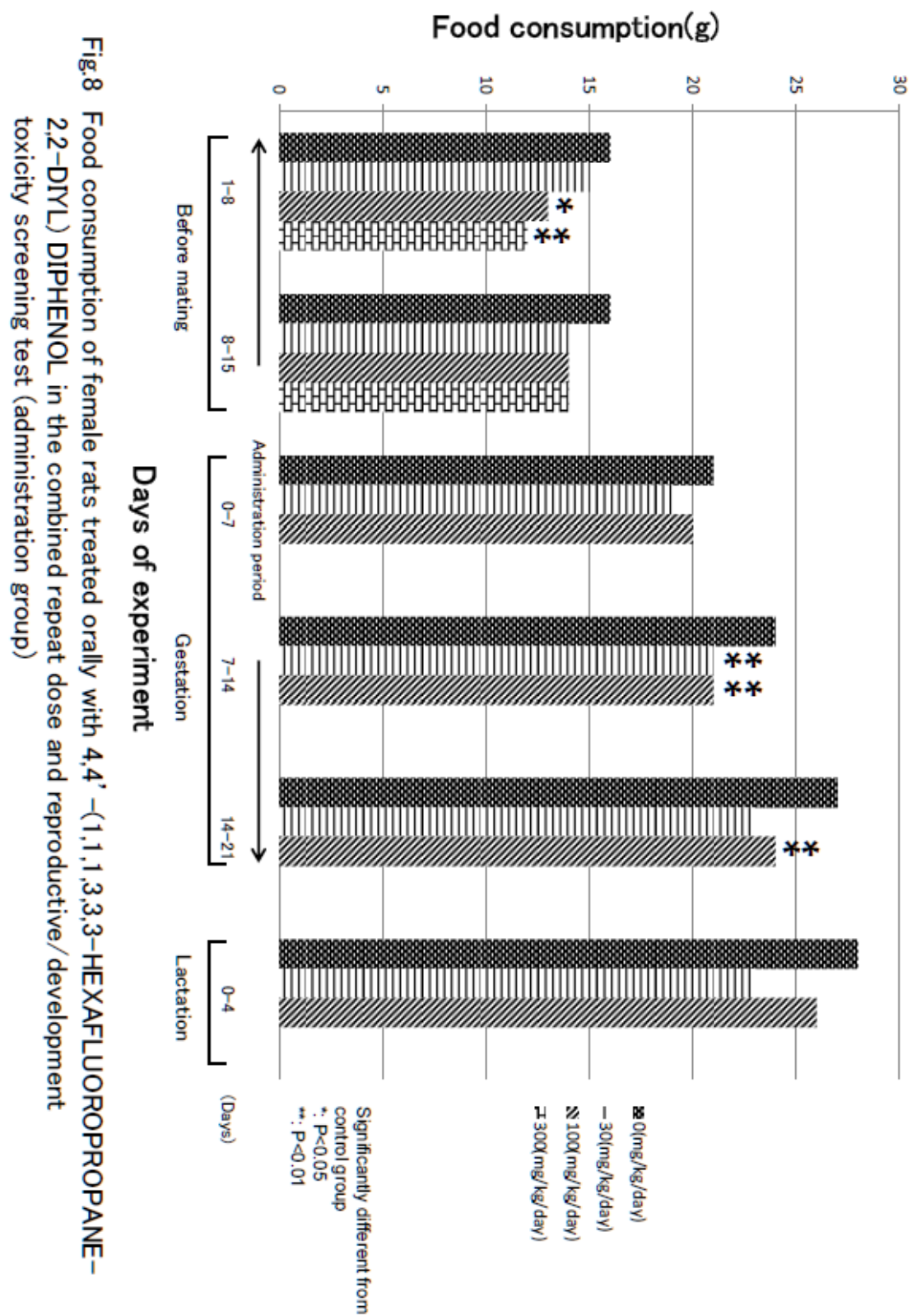


Fig. 7 Food consumption of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test



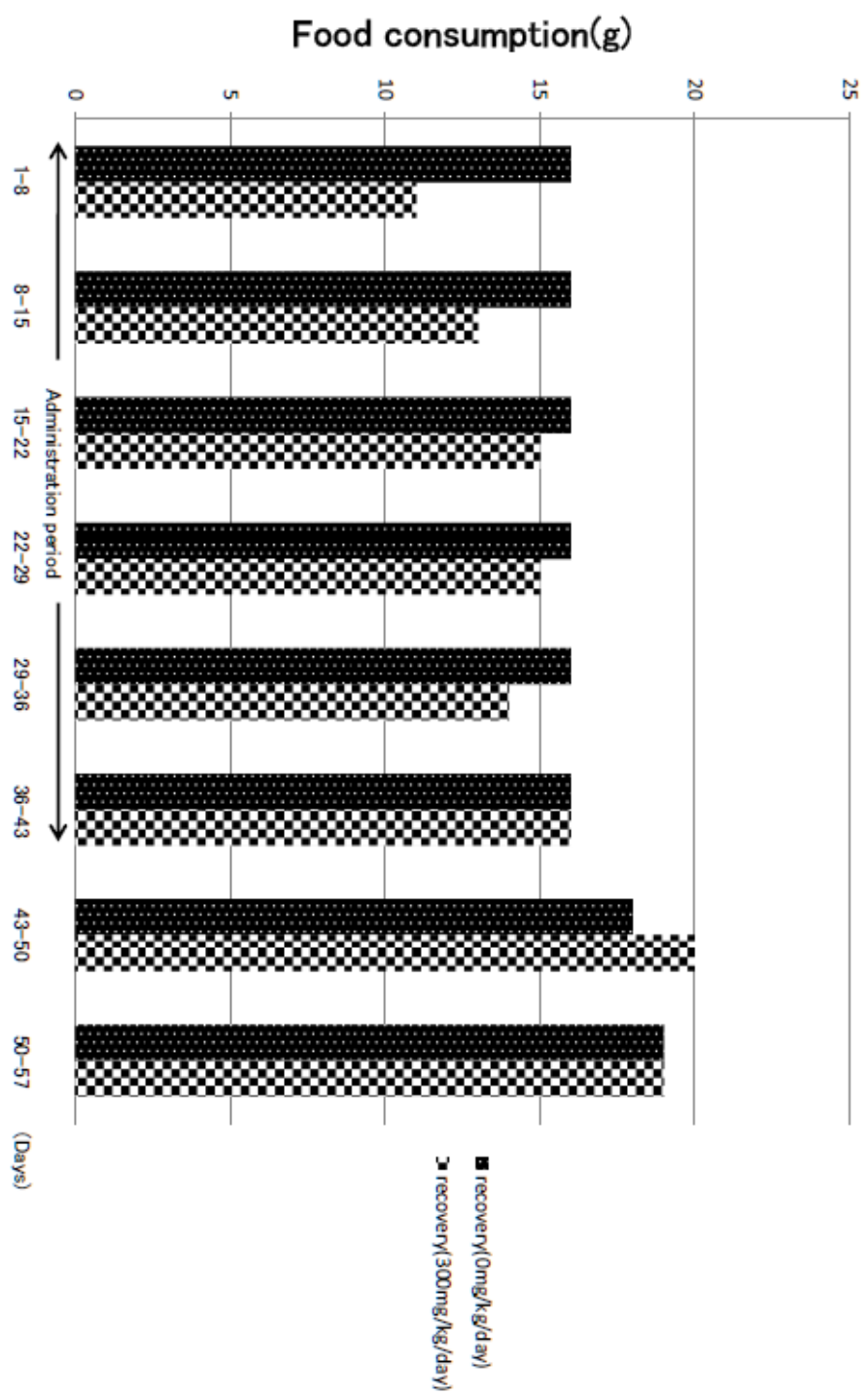


Fig.9 Food consumption of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) DIPHENOL in the combined repeat dose and reproductive/development toxicity screening test (administration group)

Table 1 Hematology of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Day 14 Non-Recovery				Day 42 Non-Recovery				Day 56 Recovery	
	0	30	100	300	0	30	100	300	0	300
No. of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
RBC ($\times 10^{12}/L$)	8.30 \pm 0.21	8.08 \pm 0.37	8.05 \pm 0.13	7.93 \pm 0.49	8.89 \pm 0.29	8.78 \pm 0.24	8.46 \pm 0.29	8.06** \pm 0.34	8.79 \pm 0.36	8.25 \pm 0.39
Hemoglobin (g/dL)	16.7 \pm 0.6	16.1 \pm 0.3	16.3 \pm 0.3	15.9 \pm 0.9	16.6 \pm 0.4	16.2 \pm 0.3	16.1 \pm 0.6	15.2** \pm 0.6	15.3 \pm 0.6	15.2 \pm 0.6
Hematocrit (%)	46.5 \pm 0.8	45.3 \pm 2.2	46.1 \pm 1.2	45.8 \pm 2.5	47.5 \pm 0.9	46.9 \pm 0.7	46.9 \pm 1.4	44.9 \pm 2.8	45.3 \pm 2.1	45.0 \pm 2.2
MCV (fL)	56 \pm 2	56 \pm 2	57 \pm 0	58.0 \pm 2	53 \pm 1	53 \pm 1	55 \pm 1	55.0 \pm 2	52 \pm 2	55* \pm 1
MCH (pg)	20.1 \pm 1	20 \pm 0.8	20.2 \pm 0.3	20 \pm 0.5	18.7 \pm 0.6	18.5 \pm 0.3	19 \pm 0.4	18.7 \pm 0.2	17.3 \pm 0.5	18.5** \pm 0.4
MCHC (g/dL)	35.9 \pm 0.6	35.6 \pm 1.1	35.3 \pm 0.4	34.7 \pm 0.2	34.9 \pm 0.6	34.7 \pm 0.6	34.2 \pm 0.4	33.8 \pm 0.9	33.7 \pm 0.3	33.8 \pm 0.4
Platelet ($\times 10^9/L$)	721 \pm 138	735 \pm 37	782 \pm 38	726 \pm 123	748 \pm 73	764 \pm 73	756 \pm 80	737 \pm 78	839 \pm 35	813 \pm 54
CT (sec)	9.5 \pm 0.2	9.4 \pm 0.3	9.8 \pm 0.5	9.4 \pm 0.2	11.9 \pm 3.3	10.5● \pm 1.2	10.8 \pm 0.9	10.1■ \pm 0.3	9 \pm 0.2	9.2 \pm 0.4
APTT (sec)	16.4 \pm 0.7	15.2 \pm 2.4	15.5 \pm 0.8	14.5 \pm 1.1	15.3 \pm 3.5	14.7● \pm 2	15.5● \pm 0.4	14.0■ \pm 1.2	15.2 \pm 0.5	15.3 \pm 0.5
WBC ($\times 10^9/L$)	12.3 \pm 2.6	10.2 \pm 1.4	12.4 \pm 3.8	11.6 \pm 3.2	10.8 \pm 4	9.2 \pm 1.2	11.3 \pm 3.8	8 \pm 1.5	12.7 \pm 1.9	10.9 \pm 3.4
Differential ($\times 10^9/L$)										
Neutrophil	1.29 \pm 0.40	0.93 \pm 0.51	1.76 \pm 2.05	2.27 \pm 1.22	1.02 \pm 0.28	0.86 \pm 0.32	1.46 \pm 1.60	1.25 \pm 0.89	1.60 \pm 0.45	1.23 \pm 0.44
Eosinophil	0.08 \pm 0.13	0.09 \pm 0.09	0.05 \pm 0.08	0.02 \pm 0.04	0.16 \pm 0.09	0.03 \pm 0.07	0.07 \pm 0.10	0.08 \pm 0.05	0.08 \pm 0.08	0.03 \pm 0.04
Basophil	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Monocyte	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.03 \pm 0.06	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.02 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00
Lymphocyte	10.97 \pm 2.34	9.18 \pm 1.03	10.52 \pm 2.42	9.27 \pm 2.30	9.66 \pm 3.76	8.33 \pm 1.21	9.75 \pm 2.94	6.69 \pm 1.14	10.98 \pm 1.69	9.64 \pm 3.53

Data represent mean \pm SD

* Significantly different from control group p<0.05

** Significantly different from control group p<0.01

*** Significantly different from control group p<0.001

● = n = 4

■ = n = 3

Table 2 Hematology of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Day 14 Non-Recovery			
	0	30	100	300
No. of animals examined	5	5	5	5
RBC ($\times 10^{12}/L$)	7.80 \pm 0.28	7.69 \pm 0.53	8.02 \pm 0.23	7.70 \pm 0.61
Hemoglobin (g/dL)	15.7 \pm 0.7	15.4 \pm 0.8	15.1 \pm 0.5	14.5 \pm 0.8
Hematocrit (%)	43.8 \pm 1.3	42.9 \pm 1.8	42.5 \pm 1.1	41.4 \pm 2.2
MCV (fL)	56.0 \pm 1	56.0 \pm 2	53.0 \pm 2	54.0 \pm 2
MCH (pg)	20.1 \pm 0.4	20.1 \pm 0.9	18.9* \pm 0.8	18.9 \pm 0.8
MCHC (g/dL)	35.8 \pm 0.7	35.9 \pm 0.6	35.6 \pm 0.3	35.1 \pm 0.3
Platelet ($\times 10^9/L$)	718 \pm 104	727 \pm 107	673 \pm 76	778 \pm 82
CT (sec)	8.7 \pm 0.5	9.1 \pm 0.5	9.0 \pm 0.2	8.8 \pm 0.2
APTT (sec)	14.6 \pm 1.3	15.4 \pm 1.4	13.8 \pm 1.8	14.9 \pm 2.0
WBC ($\times 10^9/L$)	8.8 \pm 2	6.9 \pm 1.4	10 \pm 4	7.8 \pm 2.4
Differential ($\times 10^9/L$)				
Neutrophil	0.95 \pm 0.67	0.91 \pm 0.51	0.73 \pm 0.26	1.65 \pm 2.04
Eosinophil	0.11 \pm 0.12	0.02 \pm 0.04	0.06 \pm 0.08	0.03 \pm 0.04
Basophil	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Monocyte	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.02 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00
Lymphocyte	7.78 \pm 2.00	5.97 \pm 1.61	9.18 \pm 3.95	6.13 \pm 1.12

Dose (mg/kg)	Day 4 Post Partum Non-Recovery				Day 56 Recovery	
	0	30	100	300	0	300
No. of animals examined	5	5	5	5	5	5
RBC ($\times 10^{12}/L$)	6.91 \pm 0.43	6.62 \pm 0.21	6.53 \pm 0.67	\pm	8.58 \pm 0.35	8.29 \pm 0.28
Hemoglobin (g/dL)	13.3 \pm 0.6	12.7 \pm 0.6	12.4 \pm 0.8	\pm	15.7 \pm 0.3	15.5 \pm 0.3
Hematocrit (%)	39.6 \pm 1.7	37.4 \pm 1.8	36.9 \pm 2.3	\pm	45.9 \pm 1.0	45.4 \pm 1.1
MCV (fL)	57.0 \pm 2.0	56.0 \pm 4.0	57.0 \pm 3.0	\pm	53.0 \pm 2.0	55.0 \pm 1.0
MCH (pg)	19.4 \pm 0.5	19.1 \pm 1.2	19.0 \pm 1.1	\pm	18.4 \pm 0.8	18.7 \pm 0.4
MCHC (g/dL)	33.7 \pm 0.2	33.8 \pm 0.6	33.6 \pm 0.5	\pm	34.3 \pm 0.2	34.1 \pm 0.6
Platelet ($\times 10^9/L$)	1070 \pm 106	1145 \pm 119	1215 \pm 137	\pm	720 \pm 52	682 \pm 145
CT (sec)	9.2 \pm 0.4	9.1 \pm 0.5	9.1 \pm 0.7	\pm	8.8 \pm 0.3	8.5 \pm 0.3
APTT (sec)	14.7● \pm 1.6	14.6 \pm 1.1	14.2● \pm 1.8	\pm	14.3 \pm 1.1	14 \pm 0.9
WBC ($\times 10^9/L$)	9.0 \pm 3.8	7.5 \pm 2.0	12.1 \pm 3.8	\pm	6.2 \pm 1.3	7.3 \pm 0.7
Differential ($\times 10^9/L$)						
Neutrophil	2.21 \pm 1.93	2.18 \pm 1.44	3.07 \pm 2.95	\pm	0.48 \pm 0.15	0.65 \pm 0.23
Eosinophil	0.04 \pm 0.05	0.02 \pm 0.04	0.02 \pm 0.04	\pm	0.05 \pm 0.03	0.04 \pm 0.06
Basophil	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	\pm	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Monocyte	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	\pm	0.02 \pm 0.03	0.02 \pm 0.04
Lymphocyte	6.74 \pm 2.00	5.28 \pm 1.86	9.05 \pm 3.01	\pm	5.63 \pm 1.32	6.58 \pm 0.61

Data represent mean \pm SD

* Significantly different from control group p<0.05

** Significantly different from control group p<0.01

*** Significantly different from control group p<0.001

● = n = 4

Table 3 Biochemistry of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Day 14 Non-Recovery			
	0	30	100	300
No. of animals examined	5	5	5	5
Total protein (g/dL)	7.08 ± 0.34	7.13 ± 0.4	6.64 ± 0.28	6.77 ± 0.29
Albumin (g/dL)	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.1	3.6* ± 0.1	3.4** ± 0.1
A/G ratio	1.16 ± 0.04	1.12 ± 0.12	1.17 ± 0.12	1.04 ± 0.09
Bilirubin (mg/dL)	0.16 ± 0.04	0.32 ± 0.2	0.2 ± 0.11	0.16 ± 0.04
Glucose (mg/dL)	160 ± 14	173 ± 16	153 ± 9	162 ± 13
Cholesterol (mg/dL)	87 ± 7	66* ± 16	64** ± 4	56** ± 8
ASAT (IU/L)	78 ± 5	87 ± 21	78 ± 6	85 ± 26
ALAT (IU/L)	44 ± 9	68 ± 34	62 ± 12	81 ± 13
AP (IU/L)	375 ± 68	456 ± 69	441 ± 86	456 ± 121
Urea (mg/dL)	32 ± 4	33 ± 5	32 ± 2	39* ± 4
Creatinine (mg/dL)	0.63 ± 0.06	0.66 ± 0.07	0.61 ± 0.02	0.68 ± 0.07
Na ⁺ (mmol/L)	148 ± 3	149 ± 2	149 ± 1	149 ± 1
K ⁺ (mmol/L)	4.74 ± 0.37	4.49 ± 0.40	4.71 ± 0.95	4.57 ± 0.17
Cl ⁻ (mmol/L)	102 ± 2	103 ± 3	104 ± 2	104 ± 1
Ca ⁺⁺ (mmol/L)	2.66 ± 0.10	2.69 ± 0.16	2.53 ± 0.37	2.82 ± 0.09
P (mmol/L)	2.4 ± 0.5	2.7 ± 0.5	2.0 ± 0.3	2.2 ± 0.2

Dose (mg/kg)	Day 42 Non-Recovery				Day 56 Recovery	
	0	30	100	300	0	300
No. of animals examined	5	5	5	5	5	5
Total protein (g/dL)	6.57 ± 0.29	6.45 ± 0.34	6.34 ± 0.53	6.42 ± 0.37	7.22 ± 0.36	6.95 ± 0.18
Albumin (g/dL)	3.6 ± 0.2	3.5 ± 0.1	3.3* ± 0.1	3.3** ± 0.1	3.5 ± 0.2	3.6 ± 0.1
A/G ratio	1.21 ± 0.18	1.17 ± 0.11	1.14 ± 0.17	1.09 ± 0.08	0.95 ± 0.06	1.05* ± 0.04
Bilirubin (mg/dL)	0.09 ± 0.05	0.19 ± 0.09	0.15 ± 0.07	0.16 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.08* ± 0.02
Glucose (mg/dL)	147 ± 14	159 ± 11	140 ± 14	153 ± 8	153 ± 16	161 ± 16
Cholesterol (mg/dL)	71 ± 4	62 ± 24	55** ± 2	53* ± 11	100 ± 11	82 ± 16
ASAT (IU/L)	72 ± 6	68 ± 5	73 ± 10	65 ± 3	72 ± 5	73 ± 11
ALAT (IU/L)	49 ± 4	54 ± 6	67* ± 12	66** ± 5	46 ± 8	50 ± 17
AP (IU/L)	244 ± 41	297 ± 68	291 ± 47	280 ± 47	218 ± 28	243 ± 63
Urea (mg/dL)	29 ± 3	32 ± 2	29 ± 2	37** ± 5	37 ± 6	42 ± 8
Creatinine (mg/dL)	0.58 ± 0.01	0.58 ± 0.04	0.56 ± 0.04	0.61 ± 0.07	0.71 ± 0.04	0.77 ± 0.12
Na ⁺ (mmol/L)	150 ± 3	150 ± 2	150 ± 1	150 ± 1	152 ± 1	153 ± 1
K ⁺ (mmol/L)	4.58 ± 0.28	4.32 ± 0.31	4.46 ± 0.25	4.16 ± 0.30	4.66 ± 0.39	4.49 ± 0.67
Cl ⁻ (mmol/L)	104 ± 2	103 ± 2	105 ± 2	104 ± 1	104 ± 1	107** ± 1
Ca ⁺⁺ (mmol/L)	2.29 ± 0.13	2.29 ± 0.25	2.20 ± 0.15	2.29 ± 0.12	2.80 ± 0.09	2.81 ± 0.03
P (mmol/L)	1.9 ± 0.2	2.0 ± 0.3	1.7 ± 0.3	1.7 ± 0.4	2.0 ± 0.3	1.9 ± 0.1

Data represent mean±SD

* Significantly different from control group p<0.05

** Significantly different from control group p<0.01

*** Significantly different from control group p<0.001

Table 4 Biochemistry of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL) in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Day 14 Non-Recovery			
	0	30	100	300
No. of animals examined	5	5	5	5
Total protein (g/dL)	6.87 ± 0.27	7.03 ± 0.25	6.69 ± 0.34	6.96 ± 0.28
Albumin (g/dL)	4 ± 0.1	4 ± 0.1	3.7* ± 0.1	3.7** ± 0.2
A/G ratio	1.39 ± 0.11	1.32 ± 0.09	1.24* ± 0.07	1.11*** ± 0.07
Bilirubin (mg/dL)	0.05 ± 0.05	0.11 ± 0.07	0.10 ± 0.07	0.12 ± 0.05
Glucose (mg/dL)	150 ± 8	147 ± 10	145 ± 5	149 ± 9
Cholesterol (mg/dL)	91 ± 11	68** ± 10	60** ± 10	67** ± 11
ASAT (IU/L)	79 ± 7	72 ± 12	88 ± 15	98 ± 25
ALAT (IU/L)	46 ± 14	48 ± 5	53 ± 9	80*** ± 13
AP (IU/L)	284 ± 67	284 ± 52	282 ± 64	271 ± 80
Urea (mg/dL)	40 ± 7	37 ± 9	48 ± 8	41 ± 11
Creatinine (mg/dL)	0.79 ± 0.04	0.76 ± 0.06	0.80 ± 0.05	0.80 ± 0.03
Na ⁺ (mmol/L)	151 ± 2	151 ± 1	151 ± 1	151 ± 2
K ⁺ (mmol/L)	4.52 ± 0.18	4.33 ± 0.37	4.72 ± 0.65	4.32 ± 0.37
Cl ⁻ (mmol/L)	105 ± 2	105 ± 1	104 ± 2	102** ± 1
Ca ⁺⁺ (mmol/L)	2.81 ± 0.04	2.78 ± 0.08	2.66 ± 0.29	2.85 ± 0.06
P (mmol/L)	2.1 ± 0.2	2.2 ± 0.3	2.0 ± 0.3	2.4 ± 0.4

Dose (mg/kg)	Day 4 Post Partum Non-Recovery				Day 56 Recovery	
	0	30	100	300	0	300
No. of animals examined	5	5	5	5	5	5
Total protein (g/dL)	5.65 ± 0.36	5.74 ± 0.2	5.57 ± 0.12	±	7.58 ± 0.71	7.40 ± 0.22
Albumin (g/dL)	3.2 ± 0.2	3.2 ± 0.1	3.1 ± 0.1	±	4.2 ± 0.5	4 ± 0.2
A/G ratio	1.34 ± 0.06	1.30 ± 0.08	1.20 ± 0.12	±	1.26 ± 0.06	1.19 ± 0.06
Bilirubin (mg/dL)	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.02	±	0.09 ± 0.02	0.08 ± 0.01
Glucose (mg/dL)	118 ± 5	122 ± 9	128 ± 13	±	163 ± 27	160 ± 20
Cholesterol (mg/dL)	76 ± 8	69 ± 23	66 ± 5	±	85 ± 19	103 ± 12
ASAT (IU/L)	79 ± 11	74 ± 12	93 ± 21	±	70 ± 10	66 ± 5
ALAT (IU/L)	73 ± 21	75 ± 9	78 ± 10	±	47 ± 6	42 ± 10
AP (IU/L)	243 ± 119	262 ± 71	278 ± 154	±	156 ± 48	157 ± 39
Urea (mg/dL)	35 ± 5	40 ± 5	50 ± 5	±	44 ± 7	50 ± 12
Creatinine (mg/dL)	0.65 ± 0.10	0.60 ± 0.03	0.66 ± 0.08	±	0.87 ± 0.09	0.88 ± 0.08
Na ⁺ (mmol/L)	151 ± 1	149 ± 3	152 ± 1	±	152 ± 3	152 ± 3
K ⁺ (mmol/L)	4.80 ± 0.57	4.08 ± 0.18	4.59 ± 0.48	±	4.20 ± 1.00	4.21 ± 0.34
Cl ⁻ (mmol/L)	106 ± 2	105 ± 2	104 ± 2	±	107 ± 1	106* ± 0
Ca ⁺⁺ (mmol/L)	2.37 ± 0.10	2.31 ± 0.06	2.44 ± 0.11	±	2.84 ± 0.15	2.84 ± 0.10
P (mmol/L)	1.2 ± 0.4	1.0 ± 0.3	1.5 ± 0.7	±	1.3 ± 0.4	1.6 ± 0.3

Data represent mean±SD

* Significantly different from control group p<0.05

** Significantly different from control group p<0.01

*** Significantly different from control group p<0.001

Table 5 Organ weight of rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)
in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose (mg/kg)	Non-Recovery				Recovery	
	0	30	100	300	0	300
Male						
No. of animals examined	#	#	#	#	5	5
Body weight (g)	461 ± 52	466 ± 33	449 ± 40	425 ± 42	556 ± 60	463* ± 63
Thymus (g)	0.3756 ± 0.1060	0.3925 ± 0.1256	0.3732 ± 0.0768	0.3393 ± 0.0572	0.4150 ± 0.1392	0.4795 ± 0.0641
(%)	0.0823 ± 0.0242	0.0838 ± 0.0246	0.0840 ± 0.0210	0.0801 ± 0.0132	0.0735 ± 0.0193	0.1053* ± 0.0226
Thyroid (g)	0.0178 ± 0.0073	0.0189 ± 0.0050	0.0196 ± 0.0084	0.0170 ± 0.0050	0.0150 ± 0.0041	0.0158 ± 0.0054
(%)	0.0039 ± 0.0015	0.0041 ± 0.0011	0.0043 ± 0.0018	0.0040 ± 0.0010	0.0027 ± 0.0005	0.0036 ± 0.0018
Adrenals (g)	0.0562 ± 0.0118	0.0562 ± 0.0084	0.0527 ± 0.0111	0.0636 ± 0.0101	0.0556 ± 0.0096	0.0587 ± 0.0067
(%)	0.0122 ± 0.0021	0.0121 ± 0.0017	0.0118 ± 0.0026	0.0150** ± 0.0023	0.0100 ± 0.0009	0.0127** ± 0.0006
Heart (g)	1.7237 ± 0.3283	1.6602 ± 0.1604	1.5566 ± 0.2063	1.5537 ± 0.1867	1.8423 ± 0.2161	1.6058 ± 0.2397
(%)	0.3738 ± 0.0497	0.3563 ± 0.0211	0.3477 ± 0.0439	0.3666 ± 0.0407	0.3315 ± 0.0106	0.3468 ± 0.0278
Kidneys (g)	3.1949 ± 0.3491	3.2058 ± 0.4023	3.0922 ± 0.2279	3.1681 ± 0.5067	3.3869 ± 0.3126	3.0460 ± 0.3628
(%)	0.6952 ± 0.0490	0.6877 ± 0.0646	0.6910 ± 0.0417	0.7431 ± 0.0758	0.6137 ± 0.0673	0.6596 ± 0.0387
Spleen (g)	0.7653 ± 0.1292	0.7845 ± 0.1150	0.7309 ± 0.1072	0.6956 ± 0.1190	0.8911 ± 0.0989	0.8563 ± 0.1603
(%)	0.1659 ± 0.0205	0.1688 ± 0.0249	0.1634 ± 0.0227	0.1638 ± 0.0240	0.1607 ± 0.0103	0.1842* ± 0.0154
Liver (g)	15.6764 ± 2.4624	15.5205 ± 1.9342	14.9837 ± 1.9120	15.8695 ± 2.1369	19.2021 ± 1.9758	15.6808* ± 2.0856
(%)	3.3934 ± 0.2181	3.3273 ± 0.2790	3.3404 ± 0.3161	3.7250* ± 0.2591	3.4613 ± 0.1595	3.3850 ± 0.0914
Brain (g)	2.0179 ± 0.0957	2.0543 ± 0.1450	2.0266 ± 0.1266	2.0070 ± 0.0829	2.0281 ± 0.1185	1.9955 ± 0.0848
(%)	0.4423 ± 0.0445	0.4419 ± 0.0285	0.4535 ± 0.0320	0.4754 ± 0.0417	0.3669 ± 0.0217	0.4376* ± 0.0685
Testes (g)	3.4920 ± 0.2017	3.5732 ± 0.2406	3.2223 ± 0.4042	3.1171* ± 0.4026	3.6005 ± 0.3854	3.0069 ± 1.1759
(%)	0.7641 ± 0.0676	0.7701 ± 0.0666	0.7177 ± 0.0654	0.7350 ± 0.0907	0.6513 ± 0.0676	0.6335 ± 0.2138
Epididymides (g)	1.2917 ± 0.1316	1.3495 ± 0.1375	1.2100 ± 0.1595	1.0385*** ± 0.1265	1.3070 ± 0.1307	1.0864 ± 0.3259
(%)	0.2824 ± 0.0316	0.2900 ± 0.0246	0.2695 ± 0.0252	0.2448** ± 0.0270	0.2363 ± 0.0218	0.2332 ± 0.0672
Female						
No. of animals examined	#	9	6	±	5	5
Body weight (g)	332 ± 24	300** ± 25	301* ± 15	±	295 ± 26	279 ± 21
Thymus (g)	0.2620 ± 0.0685	0.2118 ± 0.0582	0.2171 ± 0.0468	±	0.3301 ± 0.0612	0.2999 ± 0.0578
(%)	0.0790 ± 0.0200	0.0706 ± 0.0199	0.0715 ± 0.0160	±	0.1118 ± 0.0160	0.1072 ± 0.0165
Thyroid (g)	0.0149 ± 0.0038	0.0118 ± 0.0040	0.0135 ± 0.0044	±	0.0141 ± 0.0018	0.0127 ± 0.0025
(%)	0.0045 ± 0.0013	0.0040 ± 0.0015	0.0044 ± 0.0015	±	0.0049 ± 0.0009	0.0046 ± 0.0009
Adrenals (g)	0.0760 ± 0.0112	0.0705 ± 0.0071	0.0700 ± 0.0107	±	0.0628 ± 0.0094	0.0571 ± 0.0063
(%)	0.0229 ± 0.0031	0.0234 ± 0.0021	0.0229 ± 0.0027	±	0.0214 ± 0.0033	0.0202 ± 0.0014
Heart (g)	1.3490 ± 0.2136	1.1218* ± 0.1276	1.1404* ± 0.1824	±	1.0731 ± 0.0332	1.1116 ± 0.1479
(%)	0.4053 ± 0.0503	0.3726 ± 0.0331	0.3762 ± 0.0692	±	0.3661 ± 0.0301	0.3994 ± 0.0486
Kidneys (g)	1.9178 ± 0.2090	1.8878 ± 0.2497	1.9243 ± 0.2229	±	1.9781 ± 0.2016	1.8940 ± 0.1459
(%)	0.5778 ± 0.0471	0.6261 ± 0.0603	0.6316 ± 0.0529	±	0.6713 ± 0.0406	0.6802 ± 0.0420
Spleen (g)	0.6289 ± 0.1048	0.5669 ± 0.0603	0.5916 ± 0.1077	±	0.5168 ± 0.0898	0.4972 ± 0.0944
(%)	0.1888 ± 0.0245	0.1890 ± 0.0227	0.1941 ± 0.0320	±	0.1746 ± 0.0184	0.1784 ± 0.0310
Liver (g)	12.7095 ± 1.6837	11.6779 ± 1.1958	11.9166 ± 2.1465	±	9.3369 ± 0.8383	9.3088 ± 1.0731
(%)	3.8193 ± 0.3277	3.8884 ± 0.4265	3.9040 ± 0.5644	±	3.1752 ± 0.2638	3.3435 ± 0.3628
Brain (g)	1.9028 ± 0.0656	1.8502 ± 0.0652	1.9078 ± 0.0767	±	1.9121 ± 0.0632	1.8922 ± 0.0422
(%)	0.5755 ± 0.0419	0.6164* ± 0.0348	0.6282* ± 0.0351	±	0.6530 ± 0.0654	0.6810 ± 0.0390
Ovaries (g)	0.2076 ± 0.3181	0.0935 ± 0.0181	0.0958 ± 0.0197	±	0.0851 ± 0.0156	0.0712 ± 0.0213
(%)	0.0594 ± 0.0841	0.0312 ± 0.0067	0.0313 ± 0.0054	±	0.0289 ± 0.0046	0.0256 ± 0.0079
Uterus (g)	0.8779 ± 0.1559	0.7427 ± 0.2768	0.8500 ± 0.1410	±	0.9308 ± 0.3259	0.6539 ± 0.2011
(%)	0.2642 ± 0.0428	0.2484 ± 0.0949	0.2787 ± 0.0398	±	0.3140 ± 0.1055	0.2356 ± 0.0750

Data represent mean±SD

Table6 Histopathological Findings of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	12	12	12	12	5	5
Adrenals						
Cortical vacuolation						
absent	4	8	9	12	2	5
(minimal)	3	3	3	0	2	0
(slight)	5	1	0	0	1	0
Cortical atrophy						
absent	12	12	12	12	5	4
present	0	0	0	0	0	1
Bone marrow						
Adipose infiltration						
no data	0	0	0	0	5	5
(minimal)	8	6	6	5	0	0
(slight)	3	5	6	6	0	0
(moderate)	1	1	0	1	0	0
Cervical lymph node						
Plasma cell hyperplasia						
no section	1	0	2	3	0	0
no data	0	10	0	0	5	5
absent	11	2	9	9	0	0
(moderate)	0	0	1	0	0	0
Eyes						
Retinal disruption						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	12	2	11	12	0	0
present	0	0	1	0	0	0
Heart						
Focal myocarditis						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	8	1	7	8	0	0
(minimal)	4	1	5	4	0	0
Jejunum						
Submucosal inflammation/ fibrosis						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	12	2	11	11	0	0
present	0	0	1	1	0	0

Table6 (continued)

Histopathological Findings of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	12	12	12	12	5	5
Kidneys						
Groups of basophilic tubules						
absent	6	6	4	0	2	0
(minimal)	6	6	8	7	2	3
(slight)	0	0	0	2	1	2
(moderate)	0	0	0	2	0	0
(marked)	0	0	0	1	0	0
Tubular dilatation						
absent	12	12	11	5	5	5
(minimal)	0	0	1	6	0	0
(moderate)	0	0	0	1	0	0
Globular accumulations of eosinophilic material						
absent	10	11	11	11	2	5
(minimal)	2	0	1	1	2	0
(slight)	0	1	0	0	1	0
Hydronephrosis						
absent	12	11	10	11	5	4
(minimal)	0	0	1	0	0	1
(slight)	0	0	1	1	0	0
(moderate)	0	1	0	0	0	0
Medullary cyst						
absent	12	11	11	12	5	5
present	0	1	1	0	0	0
Cortical cyst						
absent	12	10	12	12	5	5
present	0	2	0	0	0	0

Table6 (continued)

Histopathological Findings of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	12	12	12	12	5	5
Liver						
Mononuclear cell foci						
absent	3	2	2	4	0	0
(minimal)	9	10	10	8	5	4
(slight)	0	0	0	0	0	1
Centrilobular hepatocyte enlargement						
absent	12	8	1	1	5	5
(minimal)	0	4	11	8	0	0
(slight)	0	0	0	3	0	0
Periportal lipid-type vacuolation						
absent	11	12	12	11	5	5
(minimal)	1	0	0	1	0	0
Centrilobular lipid vacuolation						
absent	11	9	12	12	5	5
(minimal)	1	3	0	0	0	0
Lungs						
Perivascular/peribronchiolar lymphocytes						
(minimal)	11	11	11	12	5	5
(slight)	1	1	1	0	0	0
Focal pneumonitis						
absent	9	8	11	11	4	5
(minimal)	3	3	0	1	1	0
(slight)	0	1	1	0	0	0
Groups of alveolar macrophages						
absent	3	1	4	7	2	4
(minimal)	3	6	5	5	2	1
(slight)	4	4	2	0	1	0
(moderate)	2	1	1	0	0	0

Table6 (continued)

Histopathological Findings of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	12	12	12	12	5	5
Lungs						
Bronchiolar hypertrophy/ hyperplasia/inflammation						
absent	12	12	12	11	5	5
present	0	0	0	1	0	0
Bronchiolar hypertrophy/ hyperplasia						
absent	12	12	12	11	5	5
present	0	0	0	1	0	0
Foreign material lumen bronchiole						
absent	12	12	12	12	5	4
present	0	0	0	0	0	1
Mammary gland						
Tubuloalveolar differentiation						
no section	2	2	2	3	0	0
absent	7	4	3	1	5	1
(minimal)	3	4	6	2	0	0
(slight)	0	2	1	4	0	1
(moderate)	0	0	0	2	0	3
Oesophagus						
Inflammatory cells peripheral musculature						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	10	2	12	12	0	0
(minimal)	2	0	0	0	0	0
Inflammatory cell infiltrates peripheral muscle						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	12	2	11	12	0	0
(marked)	0	0	1	0	0	0

Table6 (continued)

Histopathological Findings of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	12	12	12	12	5	5
Pituitary						
Vacuolation pars anterior cells						
no section	0	0	0	0	1	0
absent	0	0	1	8	0	5
(minimal)	6	4	7	4	3	0
(slight)	3	7	4	0	1	0
(moderate)	3	1	0	0	0	0
Prostate						
Reduced secretory content						
no section	0	0	1	0	0	0
absent	12	11	7	4	5	1
present	0	1	4	8	0	4
Chronic inflammatory cell foci						
absent	12	12	11	11	5	5
(slight)	0	0	0	1	0	0
Salivary glands						
Vacuolation mucous acinar cells						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	11	2	11	12	0	0
(minimal)	0	0	1	0	0	0
(slight)	1	0	0	0	0	0
Sciatic nerve						
Fibre degeneration/necrosis						
no section	1	0	0	0	0	0
no data	0	10	0	0	5	5
absent	11	2	11	12	0	0
(minimal)	0	0	1	0	0	0
Seminal vesicles						
Reduced secretory content						
vesicle 1						
no section	0	0	1	0	0	0
absent	11	10	5	0	5	2
present	1	2	6	12	0	3

Table6 (continued)

Histopathological Findings of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	12	12	12	12	5	5
	Seminal vesicles					
Reduced secretory content vesicle 2						
no section	0	0	1	0	0	0
absent	11	10	6	0	5	2
present	1	2	5	12	0	3
	Skeletal muscle					
Mononuclear cell foci						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	8	1	7	10	0	0
(minimal)	4	1	5	2	0	0
Fibre degeneration/necrosis						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	10	2	10	12	0	0
(minimal)	2	0	2	0	0	0
	Spleen					
Extramedullary haemopoiesis						
no data	0	10	0	0	5	5
(minimal)	10	1	9	10	0	0
(slight)	2	1	3	2	0	0
	Stomach					
Acanthosis						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	12	2	12	10	0	0
(minimal)	0	0	0	1	0	0
(moderate)	0	0	0	1	0	0
Hyperkeratosis						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	12	2	12	10	0	0
(minimal)	0	0	0	1	0	0
(slight)	0	0	0	1	0	0

Table6 (continued)

Histopathological Findings of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	12	12	12	12	5	5
Testes						
Atrophy testis 1						
absent	12	12	12	12	5	3
(moderate)	0	0	0	0	0	1
(severe)	0	0	0	0	0	1
Atrophy testis 2						
absent	12	12	12	12	5	4
(severe)	0	0	0	0	0	1
Leydig cell atrophy						
absent	11	12	9	1	5	4
present	1	0	3	11	0	1
Thyroids						
Follicular cell hypertrophy						
no data	0	10	0	0	5	5
absent	3	1	4	5	0	0
(minimal)	7	0	8	6	0	0
(slight)	2	1	0	1	0	0
Statistical Analysis						
Mode of death						
Scheduled kill	12	12	12	12	5	5

Table7

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Killed In Extremis

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)			
	0 (Control)	30	100	300
Number of animals	0	0	0	1
Adrenals				
Congestion	N/A	N/A	N/A	1
Bone Marrow				
Adipose infiltration (minimal)	N/A	N/A	N/A	1
Liver				
Periportal lipid-type vacuolation (minimal)	N/A	N/A	N/A	1
Congestion	N/A	N/A	N/A	1
Lungs				
Perivascular/peribronchiolar lymphocytes (minimal)	N/A	N/A	N/A	1
Oesophagus				
Inflammatory cell infiltrates peripheral muscle (slight)	N/A	N/A	N/A	1
Subepithelial oedema (slight)	N/A	N/A	N/A	1
Subepithelial inflammatory cell infiltrates (minimal)	N/A	N/A	N/A	1
Ovaries				
Cystic corpora lutea	N/A	N/A	N/A	1
Salivary Glands				
Peripheral inflammatory cells (moderate)	N/A	N/A	N/A	1
Reduced secretory activity	N/A	N/A	N/A	1
Spleen				
Extramedullary haemopoiesis (minimal)	N/A	N/A	N/A	1

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Killed In Extremis

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)			
	0 (Control)	30	100	300
Number of animals	0	0	0	1
	Stomach			
Acanthosis (moderate)	N/A	N/A	N/A	1
Hyperkeratosis (moderate)	N/A	N/A	N/A	1
Mucosal basophilia/atrophy	N/A	N/A	N/A	1
	Thymus			
Atrophy (minimal)	N/A	N/A	N/A	1
Peripheral inflammatory cells (slight)	N/A	N/A	N/A	1
	Uterus/Cervix			
Dilatation horn 1 (slight)	N/A	N/A	N/A	1
Dilatation horn 2 (minimal)	N/A	N/A	N/A	1
Keratinisation cervix	N/A	N/A	N/A	1
Dilatation endometrial glands	N/A	N/A	N/A	1

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Failed to Mate/ Non-Pregnant

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)			
	0 (Control)	30	100	300
Number of animals failed to mate	1	0	1	1
Number of animals not pregnant	0	2	3	10
Bone Marrow				
Adipose infiltration				
(minimal)	0	0	3	4
(slight)	1	2	0	6
(moderate)	0	0	1	1
Eyes				
Retinal disruption	0	0	0	1
Heart				
Focal myocarditis				
(minimal)	0	0	0	3
Kidneys				
Groups of basophilic tubules				
(minimal)	0	0	1	3
(slight)	0	0	0	2
Liver				
Centrilobular hepatocyte enlargement				
(minimal)	0	1	3	8
(slight)	0	1	1	2
Mononuclear cell foci				
(minimal)	1	0	3	7
Periportal lipid-type vacuolation				
(minimal)	0	0	0	1
(slight)	1	0	0	0
Single cell hepatocyte necrosis				
(slight)	0	0	0	1
Generalised hepatocyte enlargement				
(minimal)	0	0	0	1
Lungs				
Congestion	0	0	0	1
Focal pneumonitis				
(minimal)	0	0	0	2
Groups of alveolar macrophages				
(minimal)	0	0	3	2

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-
HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose
and reproductive/developmental toxicity screening test

Failed to Mate/ Non-Pregnant

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)			
	0 (Control)	30	100	300
Number of animals failed to mate	1	0	1	1
Number of animals not pregnant	0	2	3	10
Lungs				
Oedema (moderate)	0	0	0	1
Perivascular/peribronchiolar lymphocytes (minimal)	1	2	4	10
(slight)	0	0	0	1
Mammary gland				
Glandular hyperplasia (minimal)	0	0	0	4
Oesophagus				
Inflammatory cells peripheral musculature (minimal)	0	1	1	2
Ovaries				
Cystic corpora lutea	0	1	1	3
Follicular/fluid-filled cyst	0	0	2	9
Haemorrhagic cyst	0	0	0	1
Vacuolation stroma	0	0	0	2
Skeletal muscle				
Mononuclear cell foci (minimal)	0	0	0	1
Spleen				
Extramedullary haemopoiesis (minimal)	1	2	2	10
(slight)	0	0	2	1
Stomach				
Focal ulceration	0	0	0	1
Subepithelial oedema (slight)	0	0	0	1
Submucosal inflammatory cells (minimal)	0	0	0	1

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Failed to Mate/ Non-Pregnant

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)			
	0 (Control)	30	100	300
Number of animals failed to mate	1	0	1	1
Number of animals not pregnant	0	2	3	10
Thyroids				
Follicular cell hypertrophy (minimal)	0	1	0	5
Uterus/Cervix				
Dilatation horn 1 (minimal)	0	0	1	1
(slight)	0	1	1	1
Dilatation horn 2 (minimal)	0	0	2	1
(slight)	0	1	0	1
Endometrial gland proliferation	0	0	0	1
Keratinisation cervix	0	2	3	1
Vagina				
Epithelial hyperplasia (minimal)	0	0	0	4
Epithelial Keratinisation	0	2	1	2
Keratin cyst	0	0	0	1
Non-protocol organs				
Subcutaneous mass - Abscess	0	0	0	1

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Total Litter Loss *In Utero*

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)			
	0 (Control)	30	100	300
Number of animals not pregnant	0	1	1	0
	Bone marrow			
Adipose infiltration (minimal)	N/A	0	1	N/A
(slight)	N/A	1	0	N/A
	Liver			
Mononuclear cell foci (minimal)	N/A	0	1	N/A
Centrilobular hepatocyte enlargement (slight)	N/A	0	1	N/A
Periportal lipid-type vacuolation (minimal)	N/A	0	1	N/A
	Lungs			
Perivascular/peribronchiolar lymphocytes (minimal)	N/A	1	1	N/A
	Mammary gland			
Glandular hyperplasia (slight)	N/A	1	0	N/A
	Ovaries			
Follicular/fluid-filled cyst	N/A	1	1	N/A
	Spleen			
Extramedullary haemopoiesis (slight)	N/A	0	1	N/A
	Uterus/Cervix			
Dilatation horn 1 (marked)	N/A	0	1	N/A
(severe)	N/A	1	0	N/A
Dilatation horn 2 (severe)	N/A	1	0	N/A
Necrotic contents	N/A	0	1	0
	Vagina			
Vacuolar degeneration epithelium (minimal)	N/A	1	0	N/A

Table7 (Continued)

**Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-
(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined
repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test**

Pregnant/Recovery

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	11	9	7	0	5	5
Adrenals						
Cortical vacuolation						
no section	0	0	0		0	1
absent	9	9	7		5	4
(minimal)	2	0	0		0	0
Cortical necrosis						
absent	11	8	7		5	4
present	0	1	0		0	0
Bone marrow						
Adipose infiltration						
no data	0	0	0		5	5
(minimal)	7	5	4		0	0
(slight)	4	4	3		0	0
Eyes						
Retinal disruption						
no data	0	9	0		5	5
absent	11	0	6		0	0
present	0	0	1		0	0
Heart						
Focal myocarditis						
no data	0	9	0		5	5
absent	10	0	7		0	0
(minimal)	1	0	0		0	0
Kidneys						
Groups of basophilic tubules						
absent	7	8	7		5	5
(minimal)	4	1	0		0	0
Corticomedullary mineralisation						
absent	9	9	7		5	5
(minimal)	2	0	0		0	0
Medullary cyst						
absent	11	9	7		5	4
present	0	0	0		0	1

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Pregnant/Recovery

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	11	9	7	0	5	5
Liver						
Mononuclear cell foci						
absent	5	2	3		1	2
(minimal)	6	7	3		4	3
(slight)	0	0	1		0	0
Centrilobular hepatocyte enlargement						
absent	11	7	2		5	5
(minimal)	0	2	4		0	0
(slight)	0	0	1		0	0
Periportal lipid-type vacuolation						
absent	9	8	7		5	5
(minimal)	2	1	0		0	0
Generalised hepatocyte enlargement						
absent	8	9	5		5	5
(minimal)	3	0	2		0	0
Focal hepatocyte necrosis						
absent	10	9	7		5	5
(minimal)	1	0	0		0	0
Lungs						
Focal pneumonitis						
absent	10	8	6		4	5
(minimal)	1	1	1		1	0
Groups of alveolar macrophages						
absent	3	3	7		3	3
(minimal)	6	6	0		2	2
(slight)	2	0	0		0	0

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-
(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined
repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Pregnant/Recovery

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	11	9	7	0	5	5
Lungs						
Perivascular/peribronchiolar lymphocytes (minimal)	11	9	7		5	5
Oedema absent (slight)	10 1	9 0	7 0		5 0	5 0
Mammary gland						
Glandular hyperplasia absent (slight) (marked)	0 0 11	0 0 9	0 0 7		5 0 0	5 0 0
Ovaries						
Follicular/fluid-filled cyst absent present	9 2	7 2	4 3		5 0	1 4
Cystic corpora lutea absent present	6 5	7 2	6 1		5 0	5 0
Oesophagus						
Inflammatory cells peripheral musculature no data absent (minimal)	0 10 1	9 0 0	0 7 0		5 0 0	5 0 0
Skeletal muscle						
Mononuclear cell foci no data absent (minimal)	0 11 0	9 0 0	0 6 1		5 0 0	5 0 0
Spleen						
Extramedullary haemopoiesis no data (minimal) (slight) (moderate)	0 2 8 1	9 0 0 0	0 1 5 1		5 0 0 0	5 0 0 0

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Pregnant/Recovery

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	11	9	7	0	5	5
Thymus						
Atrophy						
no data	0	9	0		5	5
absent	9	0	3		0	0
(minimal)	1	0	1		0	0
(slight)	1	0	3		0	0
Thyroids						
Follicular cell hypertrophy						
no data	0	9	0		5	5
absent	8	0	5		0	0
(minimal)	3	0	2		0	0
Uterus/Cervix						
Peripheral foam cells/ haemorrhage/pigment						
no data	0	0	0		5	5
absent	0	1	0		0	0
present	11	8	7		0	0
Focal fibrosis						
no data	0	0	0		5	5
absent	10	9	7		0	0
present	1	0	0		0	0
Vagina						
Vacuolar degeneration epithelium						
no section	0	1	0		0	1
absent	1	1	1		5	4
(minimal)	6	2	0		0	0
(slight)	1	2	2		0	0
(moderate)	3	1	2		0	0
(marked)	0	2	2		0	0

Table7 (Continued)

Histopathological Findings of female rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-
HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated
dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Pregnant/Recovery

Histopathological Finding	Dose Level (mg/kg/day)					
	0 (Control)	30	100	300	0 (Control) Recovery	300 Recovery
Number of animals examined at terminal kill	11	9	7	0	5	5
	Vagina					
Epithelial keratinisation						
no section	0	1	0		0	1
absent	11	8	7		2	2
present	0	0	0		3	2
	Statistical Information					
Mode of death						
Interim death	0	0	0	1	0	0
Scheduled kill	11	9	7	0	5	5
Non-pregnant	0	2	3	10	0	0
Total litter loss <i>in utero</i>	0	1	1	0	0	0
Failed to mate	1	0	1	1	0	0

Table 8 Effects on reproduction/development of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Number of pairs examined	12	12	12	11
Estrous cycle	4.0 ± 0.0	3.9 ± 0.2	4.3 ± 0.4	4.2 ± 0.2
Irregular estrous cycle	0/12	0/12	1/12	2/11
Number of pairs with successful mating	11	12	11	10
Mating index (%) ^{a)}	91.7	100.0	91.7	90.9
Number of pregnant females	11	10	8	0
Fertility index (%) ^{b)}	100.0	83.3	63.6	0
Pairing days until mating	3.9 ± 3.5	2.3 ± 1.3	2.4 ± 1.4	4.0 ± 4.1
Number of estrous stages without mating	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.6 ± 1.2	0.9 ± 1.3

^{a)} = Mating index (%) = (Number of pairs with successful mating/Number of pairs examined) X100

^{b)} = Fertility index (%) = (Number of pregnant animals/Number of pairs with successful mating) X100

Values are expressed as Mean ± SD

Table 9 Effects on reproduction/development of male rats treated orally with 4,4'-(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUOROPROPANE-2,2-DIYL)DIPHENOL in the combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity screening test

TABULAR SUMMARY REPORT OF EFFECTS ON REPRODUCTION/DEVELOPMENT				
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Number of females examined	12	12	12	11
Number of females with live offspring	11	9	7	0
Gestation index(%) ^{a)}	100.0	90.0	87.5	-
Gestation length (days)	22.9 ± 0.6	23.0 ± 0.6	22.9 ± 0.2	-
Number of corpora lutea	16.7 ± 3.6	14.7 ± 5.8	14.0 ± 7.8	-
Number of Implantations	14.1 ± 1.9	12.1 ± 3.8	10.4 ± 4.8	-
Implantation index(%) ^{b)}	88.1 ± 13.2	89.4 ± 18.2	81.3 ± 16.8	-
Delivery Index ^{c)}	90.5 ± 10.3	92.2 ± 7.6	77.1 ± 35.5	-
Number of offspring delivered	13.1 ± 2.5	10.9 ± 3.3	11.7 ± 3.4	-
Number of live offspring on Day 0	13.0 ± 2.6	10.2 ± 2.6	11.3 ± 3.7	-
Live birth index(%) ^{d)}	99.1 ± 3.0	95.8 ± 12.5	95.6 ± 8.5	-
Sex ratio of total number of offspring at birth (M/Total)	0.48 (69/144)	0.44 (42/95)	0.48 (39/82)	-
Sex ratio of live offspring at birth (M/Total)	0.48 (69/143)	0.43 (40/92)	0.47 (37/79)	-
Sex ratio of live offspring on Day 4 (M/Total)	0.49 (69/141)	0.43 (39/90)	0.46 (35/76)	-
Sex ratio of total number of offspring at birth (M/Total, litter)	0.475 ± 0.090	0.454 ± 0.149	0.487 ± 0.101	-
Sex ratio of live offspring at birth (M/Total, litter)	0.479 ± 0.087	0.452 ± 0.147	0.486 ± 0.123	-
Sex ratio of live offspring on Day 4 (M/Total, litter)	0.488 ± 0.094	0.447 ± 0.147	0.479 ± 0.109	-
Number of live offspring on Day 4	12.8 ± 2.7	10.0 ± 2.5	10.9 ± 3.5	-
Viability index on Day 4 (%) ^{e)}	98.4 ± 3.7	98.0 ± 4.1	96.3 ± 6.4	-
Bodyweight of offspring (g)				
on Day 0 Male	6.9 ± 0.8	7.1 ± 0.8	7.2 ± 0.9	-
Female	6.5 ± 0.8	6.6 ± 0.7	6.6 ± 0.7	-
on Day 4 Male	9.8 ± 1.5	10.5 ± 1.8	10.0 ± 1.8	-
Female	9.2 ± 1.7	9.6 ± 1.4	9.3 ± 1.5	-

^{a)} = Gestation index = (Number of pregnant females with live pups/ Number of pregnant females) X 100

^{b)} = Implantation index = (Number of implantation sites/Number of corpora lutea) X 100

^{c)} = Delivery index = (Number of pups delivered/Number of implantation sites) X 100

^{d)} = Live Birth index = (Number of live pups on Day 0/Total number of pups delivered) X 100

^{e)} = Viability index (Day 4 of lactation) = (Number of live pups on Day 4/Number of live pups on Day 0) X 100

Values are expressed as Mean ± SD