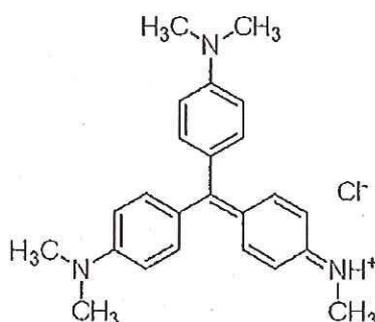


C.I. Basic Violet 1

[CAS No. 8004-87-3]

Molecular formula: $C_{24}H_{28}ClN_3$

Molecular weight: 393.95



I certify that this is a true copy, and does not differ from the original.

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.
Drug Safety Research Laboratories

Study Director

Date *March 15, 2011*

ABSTRACT

C.I. Basic Violet 1 was studied for oral toxicity study in female rats in the OECD single dose toxicity test (acute toxic class method) at doses of 300 and 2000 mg/kg.

The 300 mg/kg (first step) caused mucous stool, abnormal stool or urine color (purple), and soiled (stool) perineal region were observed on the day of dosing. During the observation period, decrease in stool volume and no stool were also observed, and slightly decrease in body weight was noted. No animal died at first 300 mg/kg administration, and no abnormal changes were observed in necropsy. At 300 mg/kg (second step), added to the clinical signs that observed first step, soft stool was observed during the observation period, and no animal died. At 2000 mg/kg (third step), similar clinical signs of the 300 mg/kg administration were noted. Additionally, soiled (urine) perineal region, salivation, lacrimation, emaciation, and/or decrease in spontaneous activity (slight or moderate) were observed, and all animals died by Day 9 after dosing. In these animals, severe decrease in body weight was noted. In necropsy in the animals that died, violet discoloration of organs and tissues over the body (oral cavity, tongue, esophagus, stomach, small intestine, large intestine, liver, trachea, bronchus, lung, kidney, urinary bladder, pituitary, adrenal, ovary, uterus, aorta, abdominal wall) was observed. Violet aqueous solution content was observed from stomach to large intestine, and dilatation of the stomach, and small size of the thymus and spleen were also observed. Enlargement of the adrenal and black focus in the lung were observed. In histopathology in the gross abnormal organs and tissues, erosion of the glandular stomach mucosa and duodenum mucosa, broad hypertrophy of epithelial cell of the gastrointestinal tract (glandular stomach to rectum), and congestion/hemorrhage of lamina propria in the cecum and rectum were observed, inflammatory cell infiltration in lamina propria and fibrin thrombus

in submucosa were also observed in some gastrointestinal organs and tissues. In the liver, hypertrophy of the centrilobular hepatocyte and necrosis and vacuolation of the periportal hepatocyte were observed. Congestion of the alveolus was observed, and hypertrophy of the zona fasciculata in the adrenal and atrophic change of the spleen and thymus were also observed.

C.I. Basic Violet 1 is classifiable in category 4 of the GHS regarding acute toxicity.

Purity	: Unknown
Test species / strain	: Rat / CrI: CD (SD)
Test method	: OECD Test Guideline 423
Route	: Oral (gavage)
Dosages	: 300 and 2000 mg/kg
Number of animal / group	: Females, 6 (300 mg/kg); females, 3 (2000 mg/kg)
Vehicle	: 0.5 w/v% methylcellulose
GLP	: Yes

Test results:

With the 300 mg/kg administration (first and second steps), there were signs such as mucous stool, soft stool, abnormal stool or urine color (purple), soiled (stool) perineal region, decrease in stool volume, and/or no stool was observed, and any rats died. Slight decrease in body weight was noted, and no abnormalities were noted in necropsy. At the 2000 mg/kg (third step), added to the clinical signs that observed at the 300 mg/kg, soiled (urine) perineal region, salivation, lacrimation, emaciation, and/or decrease in spontaneous activity (slight or moderate) were observed. All animals died by Day 9 after dosing, and severe decrease in body weight was noted. In necropsy in the animal that died, violet discoloration of organs and tissues over the body was observed. Violet aqueous solution content was observed in the gastrointestinal tract, and dilatation of the stomach, and small size of the thymus and spleen were also observed. Enlargement of the adrenal and black focus in the lung were observed. In histopathology of gross abnormal organs and tissues, erosion of the mucosa, broad hypertrophy of the epithelial cell, congestion/hemorrhage of the lamina propria, inflammatory cell infiltration in the lamina propria, and fibrin thrombus in the submucosa were observed in the gastrointestinal organs and tissues. In the liver, hypertrophy of the centrilobular hepatocyte and necrosis and vacuolation of the periportal hepatocyte were observed. Congestion of the alveolus was observed, and hypertrophy of the zona fasciculata in the adrenal and atrophic change of the spleen and thymus were also observed.

The chemical is classified in category 4 of the GHS regarding acute toxicity.

C.I.ベシックバイオレット1のラットを用いる
単回経口投与毒性試験（毒性等級法）
Single Dose Oral Toxicity Study of C.I. Basic Violet 1 in Rats
(Acute Toxic Class Method)

要約

C.I.ベシックバイオレット1の急性毒性を調べるためにSD系 [CrI : CD (SD)] 雌ラットを用い、ステップ1として3匹に被験物質の300 mg/kgを単回経口投与した結果、死亡は認められなかった。ステップ1で死亡が認められなかったことから、ステップ2では、300 mg/kgを再度別の雌3例に投与した結果、死亡は認められなかった。ステップ2でも死亡が認められなかったことから、ステップ3では用量を上げて2000 mg/kgを別の雌3匹に投与した結果、投与後9日までに3匹中3匹の死亡が認められた。一般状態の変化として、300 mg/kgでは、投与日に便色や尿色の異常（紫色）や粘液便、下腹部の便による汚れが散見され、投与翌日以降は投与日に認められた変化に加え、軟便や便量の減少、無便などが散見され、体重の軽度な減少も認められた。剖検では異常は認められなかった。2000 mg/kgでは、300 mg/kgで認められた変化に加え、死亡前に自発運動の低下（軽度または中等度）、流涙や削瘦が認められ、体重の大幅な減少も認められた。死亡例の剖検では、全例の全身諸器官・組織（口腔、舌、食道、胃、小腸、大腸、肝臓、気管／気管支、肺、腎臓、膀胱、下垂体、副腎、卵巣、子宮、大動脈、腹壁）は青紫色に着色しており、胃から大腸にかけて内腔に青紫色の水溶液の貯留及び胃の拡張、脾臓や胸腺の小型化を伴っていた。また、副腎の腫大や肺の黒色葉も散見された。

肉眼的に変化がみられた器官・組織の病理組織学的検査では、腺胃及び十二指腸粘膜のびらん、腺胃から直腸にかけての広範な消化管粘膜上皮の肥大、盲腸及び直腸粘膜固有層のうっ血及び出血が全例に認められ、一部は粘膜固有層の炎症細胞浸潤及び粘膜下織の線維素血栓を伴っていた。

肝臓では、小葉中心部の肝細胞の肥大、肝細胞の壊死及び空胞化が認められた。肺では肺胞の出血がみられ、副腎束状帯の肥大、脾臓及び胸腺における萎縮性変化もみられた。

これらの結果から、C.I.ベシックバイオレット1はその急性毒性からGHSの化学物質危険度分類におけるカテゴリ-4に分類される物質であると結論された。

方法

C.I.ベシックバイオレット1 アルコールに可溶でエーテルに難溶な暗黄緑色～暗緑色の結晶（小塊）である。試験には[]製造のもの（ロット番号 UXLSD、純度：不明）を用いた。媒体にはメチルセルロース [信越化学工業、ロット番号 8105606] を注射用水に溶解した 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を用いた。投与前に被験物質を媒体に懸濁して投与液とした。

動物は日本チャールス・リバー（日野生産所）より搬入後、7日間の検疫馴化を行い、さらにステップ2は9日間、ステップ3は22日間の

馴化を行った。9週齢のSD系 [CrI:CD (SD), SPF] 雌ラットを各ステップ毎に3匹 [ステップ1: 210.0 (208~213) g, ステップ2: 192.7 (189~195) g, ステップ3: 215.3 (214~217) g] 用いた。ラットは室温 21.6~22.5°C, 湿度 42~48%, 換気回数 15回/時間, 照明 12時間/日 (07:00~19:00点灯) に制御した飼育室でステンレス製サスペンド式個別ケージに1匹ずつ収容し, 固形飼料 [CE-2: 日本クレア株式会社] と水道法水質基準に適合した水を自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

本被験物質のラット経口投与によるLD₅₀値が413 mg/kgと報告¹⁾がある。試験方法はOECDの試験法ガイドライン423に従い, 投与量は5, 30, 300及び2000 mg/kgの中から, ステップ1の用量として300 mg/kgを選び, 死亡状況を確認しながらステップ2, ステップ3へと段階的に試験を進めた。投与方法は投与液量を体重1 kg当り10 mLとし, ディスポーザブルラット用胃ゾンデ及び注射筒を用いて, 動物の胃内に単回経口投与した。ラットは投与前日の午後5時より投与後6時間まで除餌し, 水のみ摂取させた。

観察期間は投与後14日間とし, その間に一般状態の観察及び生死の確認を行った。体重は観察1 (投与直前), 2, 5, 8, 11, 14日に測定した。剖検は全例とも観察期間終了後にペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血安楽死させた後に実施した。

剖検時に肉眼的に異常がみられた器官及び組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。固定後, パラフィン包埋及び薄切を行い, HE染色を施した後, 病理組織学的に検査した。

結果及び考察

ステップ1として雌3匹に被験物質の300

mg/kgを単回経口投与した。その結果, 死亡は認められなかった。この結果より, ステップ2として再度300 mg/kgを別の雌3例に投与した結果, 死亡は認められなかった。300 mg/kgの2回の投与で死亡が認められなかったことから, ステップ3で2000 mg/kgを別の雌3匹に投与した結果, 投与後9日までに3例中3例の死亡が認められた。

一般状態の変化として, 300 mg/kgでは, 投与日に便色や尿色の異常 (紫色) や粘液便, 下腹部の便による汚れが散見された。投与翌日以降は投与日にみられた変化に加え, 軟便や便量の減少, 無便などが散見された。体重では投与翌日または投与後4日に軽度な体重の減少が散見された。剖検では異常は認められなかった。2000 mg/kgでは, 一般状態では300 mg/kgで認められた変化に加え, 死亡の前には自発運動の低下, 流涙や削瘦が認められた。また, 体重の大幅な減少も認められた。死亡例の剖検では, 全例の全身諸器官・組織 (口腔, 舌, 食道, 胃, 小腸, 大腸, 肝臓, 気管/気管支, 肺, 腎臓, 膀胱, 下垂体, 副腎, 卵巣, 子宮, 大動脈, 腹壁) は青紫色に着色しており, 胃から大腸にかけて内腔に青紫色の水溶液の貯留及び胃の拡張, 脾臓や胸腺の小型化を伴っていた。また, 副腎の腫大や肺の黒色巣も散見された。肉眼的に変化がみられた器官・組織の病理組織学的検査では, 腺胃及び十二指腸粘膜のびらん, 腺胃から直腸にかけての広範な消化管粘膜上皮の肥大, 盲腸及び直腸粘膜固有層のうっ血及び出血が全例に認められ, 一部は粘膜固有層の炎症細胞浸潤及び粘膜下織の線維素血栓を伴っていた。剖検では粘膜が被験物質類似の色調に着色していたことから, 消化管におけるこれらの変化は被験物質による粘膜の刺激により惹起されたものと判断した。その他に色素沈着のみられた腎臓や子宮などでは刺激

性を示唆する変化は認められなかった。

Tel +81-99-294-2600 Fax +81-99-294-3619

肝臓では、小葉中心部の肝細胞の肥大が認められ、薬物代謝酵素の誘導が示唆された。肝細胞の壊死及び空胞化は肝臓での代謝の結果生じた活性代謝物による細胞障害を反映した変化の可能性が示唆された。剖検時にみられた肺の黒色巣に相当する病理組織学的な肺胞の出血の意義は明らかではないが、障害された消化管粘膜からの細菌の二次感染による敗血症性変化が疑われた。肉眼の変化を反映した病理組織学的な副腎束状帯の肥大、脾臓及び胸腺における萎縮性変化は、状態悪化に伴うストレス性の変化と判断された。

これらの結果から、C.I.ベシックバイオレット 1 はその急性毒性から GHS の化学物質危険度分類におけるカテゴリ-4 に分類される物質であると結論された。

文献

- 1) 化学物質等安全データシート, Basic Violet 1, CAS 番号 8004-87-3, 東京化成工業株式会社, 2007

連絡先

試験責任者: 
株式会社新日本科学 安全性研究所
〒891-1394
鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438 番地
Tel 099-294-2600 Fax 099-294-3619

Correspondence

Author: 
Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.
Drug Safety Research Laboratories (SNBL DSR)
2438 Miyanoura, Kagoshima 891-1394, Japan