

암컷 랫드에서 Methylcyclohexane의 단회 경구투여 독성시험

김성환¹ · 임정현¹ · 신인식² · 문창중¹ · 김성호¹ · 신동호¹ · 김종춘^{1*}

¹전남대학교 수의과 대학
²한국한의학연구원 한약EBM연구센터

Single Oral Dose Toxicity Study of the Methylcyclohexane in Female Rats

Sung-Hwan Kim¹ · Jeong-Hyeon Lim¹ · In-Sik Shin² · Changjong Moon¹ · Sung-Ho Kim¹ · Dong-Ho Shin¹ · Jong-Choon Kim^{1*}

¹College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

²Herbal Medicine EBM Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine

The present study was carried out to investigate the potential acute toxicity of methylcyclohexane (MCH) by a single oral dose in female rats.

The test chemical was administered once by gavage to female rats at dose levels 0, 1,250, 2,500, and 5,000 mg/kg. Mortalities, clinical findings, and body weight changes were monitored for the 14-day period following the administration. At the end of 14-day observation period, all animals were sacrificed and complete gross postmortem and histopathological examinations were performed.

Treatment-related clinical signs, as evidenced by depression, soft feces, decreased locomotion activity, solid perineal region, crouching position, and anorexia were observed in all treatment groups in a dose-dependent manner. At the dose level of 5,000 mg/kg, decreased or suppressed body weight gain was found during the study period. At the scheduled necropsy, one case of congestion of the intestine and an increase in the weights of liver and kidney were observed in the 5,000 mg/kg group.

Histopathological examinations exhibited an increased incidence of glomerular atrophy, congestion/hemorrhage, and focal degeneration/necrosis in the liver and an increased incidence of congestion, and inflammatory cell infiltration in the kidney.

On the basis of the results, it was concluded that a single oral administration of MCH resulted in some adverse effects on clinical sign, body weight gain, and organ weight and histopathology in the liver and kidney in female rats. In the experimental conditions, the minimal lethal dose (LD₁₀) of MCH was greater than 5,000 mg/kg.

Key Words : methylcyclohexane, acute toxicity, lethal dose, female rats

접수일 : 2011년 1월 3일, 채택일 : 2011년 3월 5일

* 교신저자 : 김종춘(광주시 북구 용봉동 전남대학교 수의과대학 독성학교실,
Tel : 062-530-2827, Fax : 062-530-2809, E-mail : toxkim@chonnam.ac.kr)

I. 서론

Methylcyclohexane (MCH, hexahydrotoluene, cyclohexylmethane, toluene hexahydride)은 알코올이나 에테르, 아세톤, 벤젠 등에 잘 녹는 유기합성 원료로써 페인트, 잉크, 접착제 등 코팅분야와 세정제로 주로 사용되고, 셀룰로스 에테르의 용매와 제트연료의 구성요소 및 수정액의 재료에도 널리 사용된다. 또한 타이어 재생업이나 계면 활성제 제조업, 자동차 부품 제조업, 기타 기초 유기화합물 제조업 등 산업체에도 폭 넓게 사용되고 있기 때문에 작업장의 근로자에게 건강장해를 일으키기 쉬운 물질로 산업보건기준에 유해물질로 등록되어 있다(노동부, 2007). MCH는 지방족 탄화수소류로서 벤젠과 유사한 향을 띠며, 무색의 액체이다. 분자식은 C₇H₁₄이고 분자량 98.19 g/mole, 끓는점 100.9°C, 어는점 -126°C, 발화점 285°C, 비중은 0.7694, 증기압력 37 mmHg (20°C), 증기밀도 3.39, 점도 0.67 cP, 옥탄올/물 분배계수 3.61로 물에는 난용성이다(산업안전보건공단, 2005; Patty, 1963). 사람에서 자극성과 신경독성을 유발하는 것으로 잘 알려져 있고 이러한 독성영향은 톨루엔과 같은 다른 유기용매와 유사하며(Casarett과 Doull, 1975; Gosselin 등, 1984), 미국 환경보호청(US Environmental Protection Agency, 1986)에서는 발암성을 Group D로 분류하고 있다. 사람에서 주요 독성영향으로는 두통과 운동실조, 오심, 구토, 현기증, 진전, 허약, 청색증, 호흡곤란, 심혈관 허탈, 호흡억제, 혼수 등이 알려져 있으며, 만성적으로 노출되면 재생불량성 빈혈과 같은 혈액질환을 유발한다. 반면 실험동물에서는 간과 신장에 손상을 주는 것으로 알려져 있고, 중추신경계(central nervous system, CNS)가 주요 표적장기로 CNS 흥분과 발작이 특징적이라고 한다(ACGIH, 2001). 마우스에서 경구반수치사량은 2,250 mg/kg이고, 흡입반수치사량은 41,500 mg/m³/h이며, 랫드에서 경구반수치사량은 3,200 mg/kg 이상으로 알려져 있다(ACGIH, 2007). Lehmann과 Flury (1943)의 보고에 의하면, MCH의 급성독성은 heptane에 비해서는 강하지만 octane보다는 약하다고 한다. 특히, 톨루엔보다 독성이 낮아서 대체제로서 많이 이용되고 있지만 유해위험성에 대한 연구정보는 매우 제한되어 있다. 랫드에서 경구반수치사량은 3,200 mg/kg 이상으로 알려져 있으나 최소치사량과 급성독성의 특성에 대해서는 아직까지 거의 알려진 바가 없다.

본 연구는 MCH에 대한 안전성 평가의 일환으로 단회 경구 투여 시 발현될 수 있는 급성독성 잠재력을 평가하기 위해 OECD (1987)의 독성시험기준에 준하여 단회 경구투여 독성 시험을 수행하였다. MCH는 휘발성 물질이고 작업환경 관리나 취급부주의 시 주로 흡입을 통하여 노출이 되기 때문에 흡입독성이 주로 연구되어 왔다(김 등, 2006). 흡입을 통해 노

출된 MCH는 호흡기로부터 제거되는 과정에서 위장관계로 혼입될 수 있고, 또한 다양한 매체를 통해 경구로 섭취될 수 있으나 경구 노출에 의한 독성영향은 현재까지 거의 알려진 바가 없다. 따라서, 랫드에서 경구노출에 의한 독성학적 특성을 규명하는 것은 본 시험물질의 안전성 확보뿐만 아니라 이를 토대로 사람에게 미치는 영향을 예측하는데 유용한 정보를 제공하게 될 것으로 판단된다.

II. 재료 및 방법

1. 시험동물 및 사육환경

본 시험에서는 썸타코(경기 오산)로부터 입수한 8주령의 암컷 특정병원체 부재(specific-pathogen free) Sprague-Dawley 랫드를 사용하였다. 1주일간의 검역 및 순화를 거친 뒤 건강하다고 판단된 것을 선발하여 시험에 제공하였다. 동물실의 사육환경은 온도 23±3°C, 상대습도 50±10%, 환기횟수 13~18회/hr, 조명시간 12시간(08:00 점등~20:00 소등) 및 조도 200~300 Lux로 설정된 사육환경에서 스테인레스제 망사육상자(220W×410L×220H mm)에 사육상자당 2마리씩 수용하였으며, 실험동물용 고형사료(썸타코, 오산)와 상수도수를 자유 급식시켰다. 본 실험에 사용된 모든 동물은 미국 National Research Council (1996)의 “실험동물의 관리와 사용에 관한 지침”에 따라 유지하였으며, 동물실험은 전남대학교 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인 하에 수행되었다.

2. 시험물질 조제 및 투여

본 시험에 사용한 MCH는 Sigma-Aldrich Co. (USA)에서 구입하여 사용하였으며, 투여 직전에 투여용량에 맞게 0.2% carboxyl methyl cellulose 용액(Sigma-Aldrich Co.)에 용해하여 조제하였다. 부형제 대조군은 0.2% carboxyl methyl cellulose 용액만을 사용하였다. 투여는 주요 노출경로 중의 하나인 경구로 하였다. 모든 동물을 투여 전에 하룻밤 절식시켜 위 내를 비게 한 후 금속제 경구투여용 존대(sonde)와 1회용 주사기를 이용하여 강제 경구투여를 하였고, 3~4시간이 경과한 후에 다시 사료를 급여하였다. 투여액은 투여당일에 측정된 체중을 기준으로 kg당 10 ml로 계산하였다.

미국산업위생전문가협회(ACGIH, 2007) 보고에 따르면, 랫드에서 경구반수치사량은 3,200 mg/kg 이상이라고 한다. 상기 결과를 근거로 본 시험에서는 치사량과 급성독성에 대한 용량반응을 확인할 수 있도록 고용량을 5,000 mg/kg (Class

IV, practically nontoxic)으로 설정하였고, 공비 2를 적용하여 2,500 및 1,250 mg/kg의 중간용량 및 저용량군과 부형제 대조군(vehicle control)을 추가하였다. 각 시험군당 암컷 5마리씩을 사용하였으며, 각 시험군에 체중이 균등히 분배되도록 체중순위에 의한 무작위법으로 군분리 하였다.

3. 일반증상 관찰 및 체중측정

투여당일에는 투여 후 6시간까지 매 시간마다 동물의 일반증상과 중독증상 및 사망유무에 대해서 관찰하였고, 투여 익일부터 부검 시까지는 매일 1회 이상 투여 일반증상을 관찰하였다. 모든 동물에 대하여 투여 직전과 투여 후 1, 3, 7 및 14 일째에 체중을 측정하였다.

4. 부검

투여 후 14일째까지 생존한 동물은 ether로 마취시킨 후 방혈치사 시킨 후 부검하여 전 장기에 대하여 육안적 검사를 실시하였다. 부검 시 이상 장기는 기록 후 조직병리학적 소견을 관찰하기 위하여 고정하였고, 난소와 비장, 신장, 부신, 간, 흉선, 심장, 폐 및 뇌를 적출하여 습중량을 측정하고, 부검 시 체중에 대한 상대장기중량(organ-to-body weight ratio, %)을 계산하였다.

5. 조직병리학적 검사

간과 신장 및 이상장기는 대조군을 포함한 모든 시험군의 동물에 대하여 조직병리학적 이상 유무를 관찰하기 위하여 10% 중성완충포르말린용액에 고정하였다. 고정된 조직을 통상적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀으로 포매하고 박절한 다음 hematoxylin-eosin (H&E) 염색표본을 만들어 광학현미경으로 조직이상 유무를 관찰하였다.

6. 자료정리 및 통계학적 분석

시험기간 중 측정된 체중 및 장기중량은 평균과 표준편차로 표기하였고, 일원배치분산분석(one-way analysis of variance)으로 분석한 다음 유의차가 인정되면 Dunnett 다중비교법(1964)으로 군간 유의차를 분석하였다. 시험자료에 대한 통계학적 분석은 GraphPad InStat v. 3.0 (GraphPad Software, Inc., CA, USA)을 사용하여 대조군과 처치군의 통계학적 유의차를 검정하였다.

III. 결 과

1. 일반증상

Table 1. Body weight changes and organ weights in female rats after a single oral administration of methylcyclohexane

Items	Dose (mg/kg)			
	0	1,250	2,500	5,000
No. of rats	5	5	5	5
Body weight (g)				
Day 0	152.6±13.86	153.0±11.73	150.7±14.87	151.4±15.50
Day 1	157.7±16.34	159.7±12.80	156.2±14.91	147.9±29.56
Day 3	165.6±16.59	167.9±14.29	163.7±19.14	155.8±34.26
Day 7	181.8±13.59	178.1±16.20	173.3±18.91	165.5±31.63
Day 14	193.9±16.13	195.6±16.27	190.5±20.53	179.4±28.41
Organ weight				
Liver (g)	7.06±1.001	7.79±0.764	7.69±0.857	8.44±0.971
per body weight (%)	2.42±0.043	2.64±0.239	2.66±0.120	3.04±0.421*
Kidneys (g)	1.52±0.155	1.60±0.201	1.65±0.178	1.72±0.245
per body weight (%)	0.52±0.034	0.54±0.044	0.57±0.054	0.62±0.090*

Values are presented as means±SD.

* Significant difference at P<0.05 level compared with the control group

Table 2. Gross findings in female rats on day 14 after a single oral administration of methylcyclohexane

Items	Dose (mg/kg)			
	0	1,250	2,500	5,000
No. of rats	5	5	5	5
Liver				
No gross finding	5*	5	5	5
Kidney				
No gross finding	5	5	5	5
Intestine				
No gross finding	5	5	4	2
Congestion & Hemorrhage	5	5	1	3

* No. of animals with the gross findings

Table 3. Histopathological findings in female rats after a single oral administration of methylcyclohexane

Items	Dose (mg/kg)			
	0	1,250	2,500	5,000
No. of rats	5	5	5	5
Kidney				
Glomerular atrophy	0*	0	0	5
Congestion/hemorrhage	0	0	0	5
Focal degeneration/necrosis	0	0	0	5
Liver				
Congestion	0	0	0	1
Inflammatory cell infiltration	0	0	0	2

* No. of animals with the histopathological findings

시험물질의 투여와 관련된 주요 일반소견들은 침울 (depression)과 운동성 감소(decreased locomotion), 설사 (diarrhea), 연변(soft feces), 하복부 오염(soiled perineal region), 웅크린 자세(crouching position) 및 식욕감퇴(anorexia)였으며, 이들 소견들은 용량의존적으로 증가하였다. 1,250 mg/kg 투여군의 경우, 침울과 설사가 투여당일에 1례에서 일시적으로 관찰되었다. 2,500 mg/kg 투여군에서는 침울(2례, 투여 후 0~1일)과 운동성 감소(1례, 투여 후 1일), 연변(1례, 투여 후 1일), 하복부 오염(1례, 투여 후 2~3일), 웅크린 자세(1례, 투여 후 1일) 및 식욕감퇴(1~2례, 투여 후 0~3일)가 관찰되었다. 고용량군인 5,000 mg/kg 투여군에서는 침울(2~5례, 투여 후 0~2일)과 운동성 감소(3~4례, 투여 후 0~1일), 연변(1례, 투여 후 1~2일), 설사(3례, 투여 후 0~1일), 하복부 오염(3~4례, 투여 후 0~3일), 웅크린 자세(2~4례, 투여 후 0~1일) 및 식욕감퇴(2~5례, 투여 후 0~3일)가 관찰되었다. 대부분의 소견들이 투여 당일부터 투여 후 3일째까지 관찰되었다.

2. 체중 및 장기중량

Table 1에서 보는 바와 같이 대조군 동물은 시험기간 중 정상적인 체중증가를 나타내었고, 1,250 및 2,500 mg/kg 투여군에서도 대조군과 유사한 체중증가를 나타내었다. 반면, 고용량군인 5,000 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비해 통계학적 유의차는 없었으나 투여 후 1일째의 체중이 투여 전 체중에 비해 다소 감소한 것으로 나타났다.

투여 후 14일째에 부검하여 주요 장기의 무게를 측정할 결과, 1,250 및 2,500 mg/kg 투여군에서는 대조군과 비교했을 때 측정된 모든 장기에서 통계학적 유의차는 인정되지 않았다. 그러나 고용량군인 5,000 mg/kg 투여군에서는 신장과 간의 상대중량이 대조군에 비해 각각 통계학적으로 유의성 있게 증가하였다

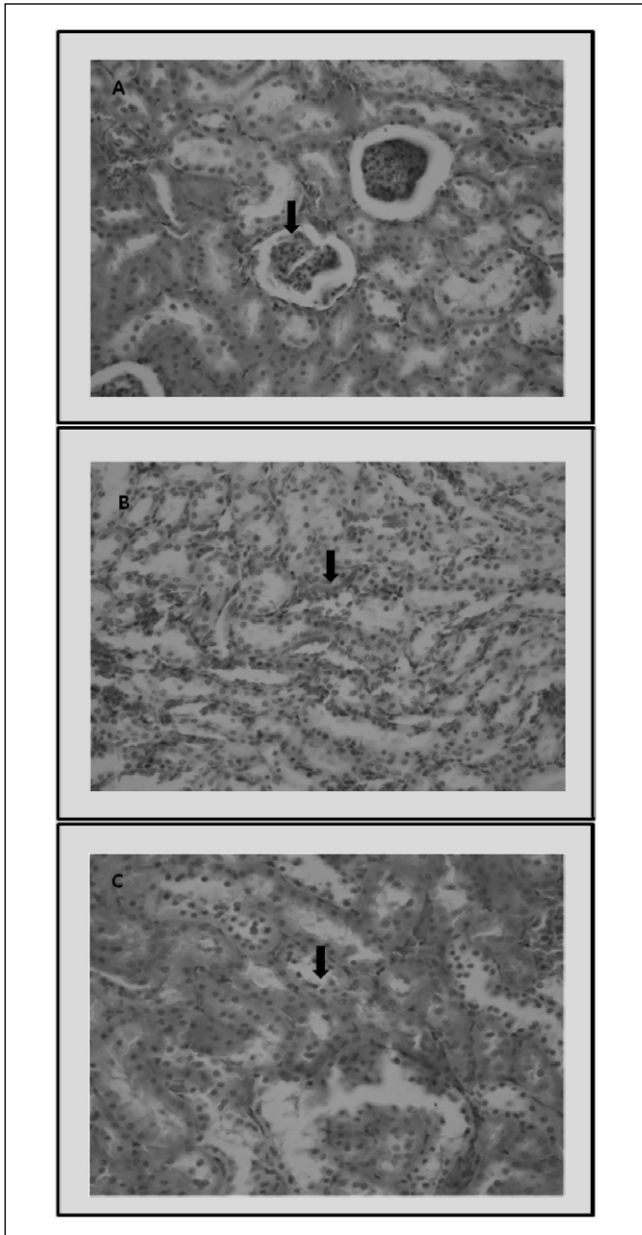


Figure 1. Representative photographs of kidney sections from the high-dose group stained with hematoxylin-eosin. (A) Glomerular atrophy. (B) Congestion/hemorrhage. (C) Focal necrosis /degeneration.

3. 육안적 부검소견

투여 후 14일째에 부검한 동물에서 관찰된 육안적 부검소견은 Table 2에서 요약하였다. 2,500 mg/kg 투여군에서의 1례(20%)와 5,000 mg/kg 투여군의 3례(60%)에서 장의 충·출혈(congestion & hemorrhage)이 관찰되었다. 반면, 대조군과 1,250 mg/kg 투여군의 동물에서는 시험물질의 투여에 기인된 어떠한 육안적 소견도 인정되지 않았다.

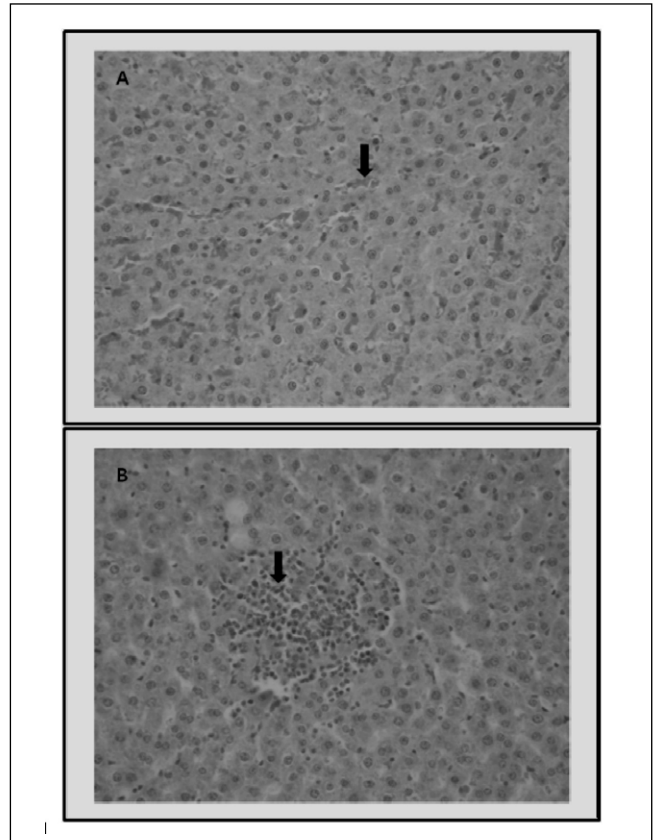


Figure 2. Representative photographs of liver sections from the high-dose group stained with hematoxylin-eosin. (A) Congestion. (B) Inflammatory cell infiltration.

4. 조직병리학적 소견

부검 시 장기중량의 변화가 관찰된 간과 신장을 적출하여 조직학적 이상 유무를 관찰한 결과(Table 3), 대조군과 1,250 및 2,500 mg/kg 투여군에서는 어떠한 조직학적 이상소견도 관찰되지 않았으나 5,000 mg/kg 투여군에서는 신장에서 사구체 위축(glomerular atrophy, Fig. 1A)과 충·출혈(congestion & hemorrhage, Fig. 1B) 및 국소적 변성/괴사(focal degeneration/necrosis, Fig. 1C)가 모든 동물에서 관찰되었고, 간에서 충혈(congestion, Fig. 2A)과 염증세포 침윤(inflammatory cell infiltration, Fig. 2B)이 각각 1례와 2례 관찰되었다.

IV. 고찰

본 연구는 MCH의 급성독성 특성을 조사하고자 Sprague-Dawley 랫드에게 1회 경구투여한 후 일반증상과 체중, 장기중량, 부검소견 및 조직병리학적 소견을 관찰하였다. 시험결

과, MCH는 다양한 일반증상을 유발하고 간과 신장에 중량 변화와 조직학적 이상을 초래하는 것으로 확인되었다.

일반증상 관찰 시, 시험물질 투여군에서 관찰된 침울과 운동성감소, 설사, 연변, 하복부 오염, 움크린 자세 및 식욕감퇴는 발생빈도가 용량의존적으로 증가한 것으로 보아 시험물질의 투여에 기인된 것으로 판단된다. 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군의 동물에서는 상기한 대부분의 소견들이 관찰된 반면, 1,250 mg/kg 투여군에서는 투여당일에만 일시적으로 우울과 설사가 낮은 빈도로 관찰되었다. 이들 소견은 대부분 투여당일에서부터 투여 후 3일째까지 관찰되었다. Treon 등(1943)에 의하면, 토끼에 10,000 ppm 이상의 농도로 6시간 동안 노출하면 경련과 마취, 호흡곤란, 유연 및 결막 충혈을 초래하며, 5,500~7,300 ppm에서는 무기력과 협조운동 상실을 유발한다고 한다. Lazarew (1929)는 마우스에서 7,500~10,000 ppm으로 2시간 동안 노출하면 쇠약을 나타내고, 10,000~12,500 ppm으로 2시간 노출하면 사망을 초래한다고 한다. Izmerov 등(1982)도 마우스에게 10,172 ppm으로 2시간 동안 노출하여 사망이 나타나는 것을 확인하였다. 본 시험에서도 2,500 및 5,000 mg/kg 투여군에서 다양한 신경계 증상과 위장관계 소견이 관찰되어 2,500 mg/kg 이상의 경구투여는 랫드에서 다양한 일반증상을 초래한다는 것을 확인하였다.

체중 측정 시 시험물질 투여군에서 나타난 용량의존적인 체중증가의 억제는 일반증상 관찰 시 관찰된 전신적인 독성 소견들과 일치하는 소견으로 시험물질의 투여에 기인된 영향으로 판단된다. 특히, 5,000 mg/kg 투여군에서 체중증가의 억제가 투여 후 1일째에 나타났으며 투여 후 3일째부터는 정상적인 체중증가를 나타내었다. 화학물질의 독성평가 시, 체중의 변화는 독성영향에 대한 민감한 표지자로서 잘 알려져 있다(Kim 등, 2004a; Kim 등, 2004b).

투여 후 14일째 부검 시 5,000 mg/kg 투여군에서 관찰된 소장·출혈 소견은 비록 빈도수는 높지 않았으나 설사와 연변, 하복부오염 및 식욕감퇴로 나타난 위장관계 증상과 일치하는 것으로 보아 시험물질의 투여에 의한 소견으로 판단된다.

일반독성시험에서 주요 장기의 중량변화는 잠재적인 독성물질의 검색에 민감한 표지자로 유용하게 이용되고 있다(Andersen 등, 1999; Bailey 등, 2004). 부검 시 5,000 mg/kg 투여군에서 관찰된 신장과 간의 상대중량 증가는 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의성 있는 증가를 보여주었고, 또한 다양한 조직병리학적 이상이 동반된 것으로 보아 시험물질의 투여에 의한 독성반응으로 판단된다. 조직학적으로는 신장에서 사구체 위축과 충·출혈 및 국소적 변성/괴사가 관찰되었고, 간에서는 충혈과 염증세포 침윤이 특징적이었다. 이전 연구에 따르면, MCH의 노출에 의한 실험동물에서의 조직학

적 소견은 cyclohexane의 소견과 유사하며 주로 간과 신장에 영향을 끼친다고 알려져 있다(ACGIH, 2001). Treon 등(1943)은 토끼에게 2,880 ppm으로 10주간 반복 노출하여 간과 신장에 조직학적 손상을 관찰하였고, Kinkead 등(1985)은 수컷 랫드에게 2,000 ppm의 농도로 1년 동안 흡입 노출하여 신장수질의 무기질침착(medullary mineralizaion)과 유두 과형성(papillary hyperplasia) 및 α 2-globulin과의 연관성을 규명한 바 있다. 상기한 문헌과 본 연구의 결과는 실험동물에서 간과 신장이 MCH의 주요 표적장기라는 것을 암시해 주고 있다.

MCH의 경구투여에 의한 급성독성을 살펴보면, 마우스 경구반수치사량은 2,250 mg/kg이고, 랫드 경구반수치사량은 3,200 mg/kg 이상으로 알려져 있다(ACGIH, 2007). 본 시험 결과, 최고용량인 5,000 mg/kg 투여군에서도 사망동물이 관찰되지 않았기 때문에 최소치사량(minimal lethal dose, LD₁₀)은 5,000 mg/kg을 상회하는 것으로 확인되었다. 이전 문헌과 본 연구에서 나타난 치사량의 차이는 사용된 동물 종이나 성별, 투여용량 등에 기인된 결과로 판단된다. 화학물질의 분류 및 표지 세계조화시스템(GHS, 2004)에서는 경구투여 반수치사량이 체중 kg 당 2,000~5,000 mg (Category 5)이면 기존 OPP (Office of Pesticide Programs) 기준으로 Category III (500~5,000 mg/kg)에 해당되는 약한 독성물질로 분류하고 있다. 상기한 기준으로 볼 때, 본 시험에서 MCH는 랫드 경구투여 최소치사량이 5,000 mg/kg 이상인 독성이 약한 물질로 분류되었으나 최근 김 등(2006)은 급성흡입독성시험에서 MCH를 GSH 기준으로 Category 4로 분류하여 독성이 있는 물질로 분류하고 있고 본 시험에서도 사망한 동물은 없었지만 MCH의 독성을 확인하였다. 따라서 본 시험물질은 투여경로에 따라서 독력이 다르게 나타날 수 있지만, 독성 유발 물질임을 암시해 주고 있다.

결론적으로 랫드에서 MCH의 단회 경구투여는 일반증상과 부검소견, 체중증가 억제, 간과 신장의 중량 증가 및 조직병리학적 이상을 유발하며, 최소치사량은 5,000 mg/kg 이상으로 확인되었다. 본 시험결과는 MCH의 단회 경구투여에 의한 급성독성 정보를 제공함으로써 유해위험성 평가에 유용할 것으로 사료되며, 고용량으로 노출 시 독성을 유발할 수 있는 잠재적 가능성이 충분하기 때문에 취급 및 사용에 주의해야 한다는 것을 암시해 주고 있다.

V. 감사의 글

이 논문은 2010년 교육과학기술부로부터 지원받아 수행된 연구(지역거점연구단육성사업/바이오하우징연구사업단)이며, 전남대학교 동물의학연구소의 일부 지원에 의해 수

행되었음.

REFERENCES

- 김현영, 이성배, 강민구, 송시환. 메틸사이클로헥산 (methylcyclohexane)의 흡입독성과 유해성 평가. *J Environ Toxicol* 2006;21:173-184.
- 노동부. 산업안전 보건기준에 관한 규칙 별표 7 관리대상물질의 종류; 2007.
- 한국산업안전공단. 물질안전보건자료(MSDS); 2005.
- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Methylcyclohexane. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. ACGIH, Cincinnati, OH, 2001.
- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Methylcyclohexane. Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices., 7th ed. . ACGIH, Cincinnati, OH, 2007.
- Andersen H, Larsen S, Spliid H, Christensen ND. Multivariate statistical analysis of organ weights in toxicity studies. *Toxicology* 1999;136:67-77.
- Bailey SA, Zidell RH, Perry RW. Relationship between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical end point? *Toxicol Pathol* 2004;32:448-466.
- Casarett LJ, Doull J. *Toxicology : The Basic Science of Poisons*. New York: Macmillan publishing Co.; 1975. p. 82.
- Dunnett CW. New tables for multiple comparisons with a control. *Biometrics* 1964;20:482-491.
- EPA (Environmental Protection Agency). Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. 1986;51(185):3392-34003.
- GHS (Globally Harmonized System). The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), Implementation Planning Issues for the Office of Pesticide Programs; 2004.
- Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC. *Clinical Toxicology of Commercial Products*, 5th ed. Baltimore:Williams and Wilkins Co.; 1984. p. 151.
- Institute for Laboratory Animal Research, National Research Council. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Washington DC: National Academy Press; 1996.
- Izmerov NF, Sanotsky IV, Sidorov KK. *Toxicometric Parameters of Industrial Toxic Chemicals under Single Exposure*. Moscow, Russia: Centre of International Projects, GKNT; 1982. p. 82.
- Kinkead ER, Haun CC, Schneider MG, Vernot EH, Macewen JD. Chronic Inhalation Exposure of Experimental Animals to Methylcyclohexane. *Air Force Aerospace Medical Research Laboratory Report* 1985;85:32.
- Kim JC, Kim SH, Shin DH, Ahn TH, Kim HC et al. Effects of prenatal exposure to the environmental pollutant 2-bromopropane on embryo-fetal development in rats. *Toxicology* 2004a;196:77-86.
- Kim JC, Shin DH, Kim SH, Kim JK, Park SC et al. Subacute toxicity evaluation of a new camptothecin anticancer agent CKD-602 administered by intravenous injection to rats. *Regul Toxicol Pharmacol* 2004b;40:356-369.
- Lazarew NW. The toxicity of the vapors of various hydrocarbons. *Arch Exp Path Pharmacol* 1929;143-223.
- Lehman KB and Flury F. *Toxicology and Hygiene of Industrial Solvents*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company; 1943. p. 95.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). *Guidelines for the Testing of Chemicals*. No. 401: Acute Oral Toxicity, Paris; 1987.
- Patty F. *Industrial Hygiene and Toxicology: Volume II: Toxicology*, 2nd ed. New York: Interscience Publisher; 1963. p. 1212.
- Treon JF, Crutchfield WE, Kitzmiller KV. The physiological response of animals to cyclohexane, methylcyclohexane, and certain derivatives of these compounds. *J Ind Hyg Toxicol* 1943;25:323-347.