



CJ-11555의 Sprague-Dawley 랫드를 이용한 단회 및 4주 반복경구투여 독성시험

김일환 · 이성학 · 최재목 · 박지은 · 김덕열 · 노현정 · 김택로 · 이상호 · 김영훈 · 김진완 · 장준환 · Krzysztof Kot¹
CJ 제약연구소, ¹Covance Laboratories Inc.

Single and Four-Week Repeated Oral Toxicity Study of CJ-11555 in Sprague-Dawley Rats

Il-Hwan Kim, Sung-Hak Lee, Jae-Mook Choi, Jie-Eun Park, Deog-Yeor Kim, Hyun-Jung Noh,
Taek-Rho Kim, Sang-Ho Lee, Young-Hoon Kim, Jin-Wan Kim, Jun-Hwan Chang and Krzysztof Kot¹

R&D Center of Pharmaceuticals, CJ Corp., Kyonggi-Do 467-812, Korea

¹Covance Laboratories Inc., 9200 Leesburg Pike Vienna, Virginia 22182-1699, USA

Received March 8, 2004; Accepted May 24, 2004

ABSTRACT. This study was to investigate single and repeated-dose toxicities of CJ-11555, an anti-cirrhotic agent, in Sprague-Dawley (SD) rats. In single-dose oral toxicity study, the test article were administered once by gavage to males and females at dose levels of 0 and 2,000 mg/kg. No dead animals and abnormal necropsy findings were found in control and CJ-11555 treated group. Therefore, the approximate lethal dose of CJ-11555 was considered to be higher than 2,000 mg/kg in rats. In the 4-week repeated oral toxicity study, the test article was administered once daily by gavage to male and female rats at dose levels of 0, 10, 50 and 200 mg/kg/day for 4-weeks. In clinical signs, yellow-colored urine and yellow hair coat were observed in the 50 and 200 mg/kg male and female groups. In hematology, erythrocyte count and hemoglobin were significantly decreased in the 200mg/kg male and female groups. In serum biochemistry, total cholesterol was significantly increased and aspartate aminotransferase (AST) was significantly decreased in the 50 or 200 mg/kg male and female groups. In histopathological examinations, centrilobular hepatocellular hypertrophy in the liver, congestion and pigmentation in the spleen, hyaline droplets in the kidney were observed in the 50 and 200 mg/kg male and female groups. In toxicokinetic study, CJ-11555 was dose-dependent in systemic exposure and showed better absorption in female with minimum accumulation after multidosing. Based on these results, it was concluded that the 4-week repeated oral dose of CJ-11555 resulted in the suppression of AST activity and centrilobular hepatocellular hypertrophy in both sexes at a dose level of 50 or 200 mg/kg/day. The target organ was estimated to be liver, spleen and male's kidney. The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for CJ-11555 in rats following gavage for at least 4-week is 10 mg/kg/day.

Keywords: CJ-11555, Single and repeated-dose toxicity, Approximate lethal dose, NOAEL, Rat.

서 론

간경변증이란 간세포가 파괴되어 재생되지 않고, 굳어지며 줄어드는 질환이다. 이 질환은 주로 알코올 및 바이

러스등의 원인으로 유발되며, 간염과 같은 만성질환에서 간 실질세포의 파괴, 이에 따른 섬유화의 진행으로 간 기능 및 구조에 손상을 일으킨다. 이러한 간경변증은 전 세계적으로 높은 치사율을 나타내는 만성질환이지만, 아직 까지 효과있는 치료제가 개발되지 못한 상태이다. CJ-11555는 Oltipraz(5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiole-3-thione)로서 1980년대 초에 주혈흡충증 치료제로 처음 개발되었고(Ansher, 1985), 현재는 발암억제제(chemo-

Correspondence to: Il-Hwan Kim, R&D Center of Pharmaceuticals, CJ Corporation., 522-1, Dokpyong-Ri, Majang-Myon, Ichon-Si, Kyonggi-Do 467-812, Korea
E-mail: kimih@cj.net

preventive agent)로 많은 연구가 진행 중(Kensler *et al.*, 2002a)인 물질이다. 최근 연구에서 dimethylnitrosamine (DMN)으로 유도한 간 섬유화 랫드 모델을 통하여 CJ-11555가 transforming growth factor- β 1과 tumor necrosis factor- α 의 발현을 억제함으로써, DMN으로 유도된 간 섬유증 및 간 세포 손상을 억제한다는 사실이 밝혀진 바가 있다(Kang *et al.*, 2002a). 또한, oltipraz가 CCAAT/enhancer binding protein과 관련한 성상세포 (stellate cell) 활성을 통하여 경화된 간을 재생시킨다는 연구결과도 발표되었다(Kang *et al.*, 2002b).

이러한 결과를 바탕으로 CJ(주)에서는 본 물질을 경구용 간경변치료제로 개발 중에 있다. 따라서, 본 실험은 CJ(주)에서 개발된 CJ-11555에 대한 전임상 안전성평가 시험의 일환으로 단회투여시와 반복투여시 발현될 수 있는 독성을 질적·양적으로 평가하고자 랫드를 이용한 CJ-11555의 단회 및 4주 반복경구투여 독성시험을 의약품 독성시험기준(식품의약품안전청고시, 제 1999-61호)과 OECD(Organization for Economic Cooperation and Development) 가이드라인 및 GLP(Good Laboratory Practice) 규정에 준하여 CJ GLP(CJ 제약연구소, 한국) 및 Covance GLP(Covance Laboratories Inc., 미국) 시설에서 실시하였다.

재료 및 방법

시험물질

시험에 사용한 CJ-11555(Lot No. CJ-0121A, 순도 100.97%)는 적색 분말로 CJ(주)에서 생산하여 시험에 사용하였다. 시험물질은 차광상태로 냉장보관하여 사용하였으며, 각 투여군의 농도에 따라 0.5% carboxymethylcellulose(CMC, Sigma, 미국)에 현탁하여 사용하였다. 대조군은 0.5% CMC 만을 투여하였다.

시험동물 및 사육환경

단회투여 독성시험(CJ GLP). 시험동물은 특정병원체 부재 Sprague-Dawley(SD)계 랫드 암수 각각 13마리씩을 Charles River Japan(한림실험동물)에서 구입하여 10일간 순화기간을 거친 다음 그 중 건강한 동물 10마리씩을 시험동물로 사용하였다. 검역, 순화, 사육기간 및 시험기간 중 동물은 온도 20~26°C, 상대습도 40~60%, 환기횟수 10~20회/hr 및 조명시간 12시간의 환경에서 사육하였다. 동물의 수용은 스테인레스제 망사육상자를 사용하였으며, 사료는 실험동물용 고형사료(푸리나코리아)를 자유로 섭취시켰고, 물은 살균, 소독하여 자유로 섭취시켰다.

4주 반복투여 독성시험(Covance GLP). 시험동물은 특정병원체부재 CrI : CD[®](SD) IGS BR계 랫드 암수 각각 90마리씩을 Charles River Laboratories(Raleigh, North Carolina, 미국)에서 구입하여 1주간 순화기간을 거친 다음 그 중 건강한 동물 70마리씩을 시험동물로 사용하였다. 검역, 순화, 사육기간 및 시험기간 중 동물은 온도 18~26°C, 상대습도 30~70%, 환기횟수 10회/hr 및 조명시간 12시간의 환경에서 사육하였다. 동물의 수용은 스테인레스제 망사육상자를 사용하였으며, 사료는 실험동물용 고형사료(#8728C, Harlen Teklad)를 자유로 섭취시켰고, 물은 살균, 소독하여 자유로 섭취시켰다.

투여량 설정

단회투여 독성시험. 예비시험결과, 독성징후가 관찰되지 않아 식약청 고시에 명시된 최고농도인 2,000 mg/kg을 투여량으로 산출하였고, 시험군의 구성은 암수 각각 10마리의 동물을 군간 체중이 고르게 하여 투여군과 대조군으로 하여 군 당 암수 5마리씩 배치하였으며, 투여개시 시 체중범위는 수컷은 225~255 g, 암컷은 172~194 g이었다.

4주 반복투여 독성시험. 용량설정 2주 예비시험결과, 무영향량이 30 mg/kg 이하, 확실중독량이 60 mg/kg 이상으로 판단된 바, 이를 바탕으로, 10, 50, 200 mg/kg의 투여용량군을 설정하였다. 시험군의 구성은 암수 각 70마리를 무작위법으로 군분리한 후, 각 군간의 체중을 고르게 하여 대조군 1군, 독성투여군 3군, 독성동태군 3군으로 하여 실시하였으며, 투여개시 시 체중은 수컷은 220~255 g, 암컷은 159~195 g으로 주요군 당 암수 각각 10마리씩을 배정하였다.

투여방법 및 투여기간

투여경로는 임상적용경로인 경구투여를 선택하였으며, 투여기간은 단회투여 독성시험의 경우, 시험물질을 시험개시 시 1회 투여하였고, 4주 반복투여 독성시험의 경우, 시험물질을 1일 1회 주당 7회 4주 연속으로 투여하였다.

관찰 및 검사항목

단회투여 독성시험.

반증상 및 폐사의 관찰: 투여당일은 8시간까지 매시간마다 일반증상을 관찰하였고, 투여 다음날부터 14일까지는 매일 1회씩 일반증상의 변화, 운동성, 외관 및 사망동물의 유무를 주의 깊게 관찰하였다.

체중측정: 모든 동물에 대하여 투여직전과 투여 1, 3, 7, 10일 후 그리고 부검직전인 14일에 총 6회 체중을 측정하였다.

부검: 시험종료시 생존동물은 이산화탄소 마취로 안락사시켜 육안적으로 모든 장기를 검사하였다.

4주 반복투여 독성시험

일반증상관찰: 시험기간 중 모든 동물에 대하여 매일 2회 일정한 시간에 일반증상의 변화, 빈사 및 사망유무를 관찰하였다.

체중 및 사료섭취량측정: 시험기간 중 모든 동물의 체중은 투여개시 전 및 주 1회 실시하였으며, 사료섭취량은 주 1회 실시하였다.

안검사: 투여개시전에 모든 동물에 대하여 외안검사를 실시하였다.

뇨검사: 모든 시험동물에 대하여 투여최종일에 뇨검사를 실시하였다. 뇨검사는 specific gravity, pH, protein, glucose, ketone, urobilinogen, bilirubin, blood 및 침사를 검사하였다.

혈액학적 검사: 혈액학적 검사를 위해 계획도살일에 경정맥으로부터 혈액을 채혈하여 자동혈구계산기(Advia 120 hematology analyzer, Bayer, 미국)를 이용하여 적혈구수(RBC, red blood cell count), 망상적혈구(RETIC, reticulocyte), 혈색소량(HGB, hemoglobin concentration), 헤마토크리트치(HCT, hematocrit), 평균적혈구용적(MCV, mean corpuscular volume), 평균적혈구혈색소량(MCH, mean corpuscular hemoglobin), 평균적혈구혈색소농도(MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration), 혈소판(PLT, platelet), 백혈구수(WBC, white blood cell count), 호중구(NEUT, neutrophils), 림프구(LYMPH, lymphocytes), 단핵구(MONO, monocytes), 호산구(EOSIN, eosinophils) 및 호염기구(BASO, basophils)를 측정하였다.

혈액생화학적 검사: 혈액생화학적 검사를 위해 계획도살일에 경정맥으로부터 채취한 혈액에서 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 자동생화학분석기(Hitachi 911 chemistry analyzer, Hitachi, 일본)를 이용하여 포도당(glucose), 요소질소(urea nitrogen), 크레아티닌(creatinine), 총 콜레스테롤(total cholesterol), AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase), 총 단백질(total protein), 알부민(albumin), 글로불린(globulin), 알부민/글로불린 비(albumin/globulin ratio), 칼슘(calcium), 총 빌리루빈(total bilirubin), 중성지방(triglyceride), 무기인(IN PHOS, inorganic phosphorus), GGT(gamma-glutamyltransferase), 나트륨(sodium), 칼륨(potassium), 염소(chloride)를 측정하였다.

장기중량 측정: 시험종료 후 모든 동물을 부검 하루전에 절식시킨 다음 부검직전에 체중을 측정하였다. 에테르 마취 후 방혈 치사시킨 다음 모든 장기에 대하여 육안검

사를 실시하였다. 전 실험동물에 대하여 뇌, 뇌하수체, 심장, 간, 폐, 타액선, 비장, 흉선, 갑상선, 부신, 전립선, 자궁, 고환, 부고환, 정낭 및 난소의 중량을 측정하였다.

조직병리학적 검사: 조직병리학적 검사를 위하여 유선, 비장, 췌장, 공장, 위, 십이지장, 회장, 맹장, 결장, 장림프절, 타액선, 하악림프절, 난소, 자궁, 질, 방광, 전립선, 직장, 신장, 부신, 간, 흉골, 흉선, 심장, 폐, 기관, 식도, 갑상선, 혀, 대동맥, 좌골신경, 골격근, 대퇴골, 척수, 피부, 뇌 및 뇌하수체를 10% 중성완충포르말린 용액에 고정하였고, 고환 및 부고환은 Bouin 액에, 눈은 Davidson 액에 고정하였다. 모든 장기와 조직은 충분한 고정을 거친 후 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매, 박절한 후 Hematoxylin & Eosin (H&E)염색을 실시하여 광학현미경하에서 조직병리학적 검사를 실시하였다.

독성동태: 독성동태시험군에서 투여 1일 및 투여 28일에 투여 후 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 및 24시간의 혈액을 이용하여, Liquid chromatography(LC) with tandem mass spectrometric detection(MS/MS)(Sciex API 4000, 영국)로 분석하였으며, 독성동태 파라미터는 non-compartment 해석법으로 분석하여 최고혈중농도(C_{max}), 최고혈중도달시간(T_{max}), 혈중농도곡선하면적(AUC)를 산출하였다.

통계학적 방법

단회투여 독성시험. 최고용량 한 개의 군으로 시험을 실시하였기 때문에 시험물질의 반수치사량(LD_{50})은 산출하지 않았으며, 대조군과 투여군간의 체중변화에 있어서는 Student's-t test를 이용하여 유의성여부를 검사하였다.

4주 반복투여 독성시험. 체중, 사료섭취량, 혈액학적, 혈액생화학치 및 장기중량은 평균값 및 표준편차로 나타내었다. Levence's test에서 분산이 균일하게 나온 검사항목은 일원배치분산분석(one-way analysis of variance)을 하였으며, 분석결과 군간 차이가 인정되면 Dunnett's test의 다중비교법으로 분석하였다. 모든 통계분석은 GLP 독성시험용 전산프로그램인 Path/Tox System 을 이용하여 실시하였으며, 검정의 위험율은 5%로 정하였다.

결과 및 고찰

단회투여 독성시험

일반증상 및 사망률. 모든 시험기간 동안 사망개체는 발생하지 않았으나, 투여군에서 붉은 배설물이 관찰되었으며, 암컷의 경우, 서혜부 피모의 황색변색이 3례 관찰되었다(Table 1). 이러한 변화는 시험물질의 배설과 관련한 피모의 변색으로 사료되었다.

Table 1. Clinical signs in SD rats administered orally once with CJ-11555

Sex	Male		Female	
	0	2,000	0	2,000
Dose (mg/kg)	0	2,000	0	2,000
Red colored powder in stool at day 1	0	5	0	5
Yellow coloring of hair near inguinal region at day 5 to 14	0	0	0	3

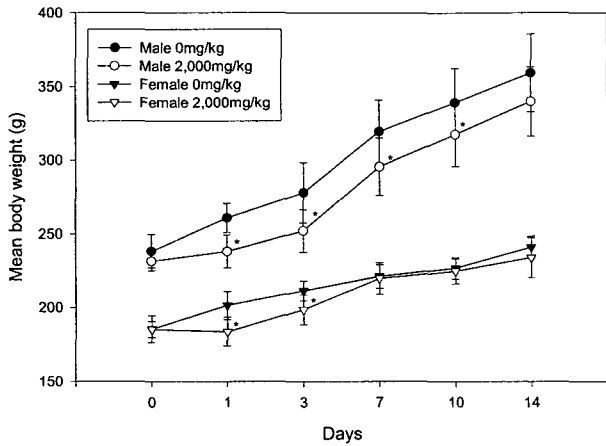


Fig. 1. Body weight changes in SD rats administered orally once with CJ-11555. Values are presented as means \pm S.D. for 5 rats. *Significant difference from vehicle control group ($p < 0.05$).

체중 변화. 투여군의 체중이 암수 모두 투여 후 1일부터 감소하여 유의성있는 체중증가역제 경향을 나타냈으나, 시험종료시에는 대조군과 차이가 없었다(Fig. 1).

부검소견. 부검결과, 모든 생존동물에서 본 시험물질 투여와 관련한 어떠한 육안병변도 관찰되지 않았다(결과를 보이지 않았음).

4주 반복투여 독성시험

일반증상 및 사망률. 시험 전 기간 동안 대조군을 포함한 모든 투여군에서 사망동물은 관찰되지 않았다. 일반증상을 관찰한 결과, 암수 50 및 200 mg/kg 투여군에서 뇨 및 피모의 황색변색증상이 시험 전 기간 동안 관찰되

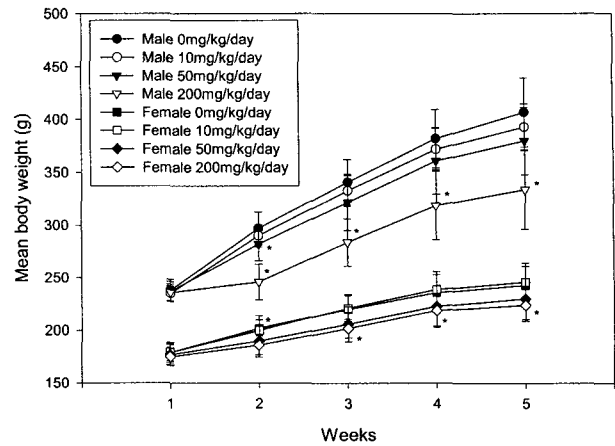


Fig. 2. Body weight changes in SD rats orally administered with CJ-11555 for 4 weeks. Values are presented as means \pm S.D. for 10 rats. *Significant difference from vehicle control group ($p < 0.05$).

었으며, 암수 200 mg/kg 투여군 중 일부에서 탈모증상이 관찰되었다. 이러한 피모의 변화는 시험물질 및 대사체에 의한 변색으로 생각되었으며, 탈모증상은 황색 변성뇨에 대한 피모의 자극에 의한 동물의 자가반응으로 사료되었다(결과를 보이지 않았음).

체중변화. 투여 1주일째 이후부터, 대조군에 비하여 암수 200 mg/kg 투여군에서 유의성 있는 체중감소가 시험종료시점까지 관찰되었다. 수컷 50 mg/kg 투여군의 경우, 대조군에 비해 투여 1주일째에서만 유의성 있는 체중감소가 관찰되었다. 그러나, 나머지 측정기간에서 있어서 유의성이 인정되지는 않았지만, 대조군에 비하여 암수 50 mg/kg 투여군에서 체중증가역제경향이 관찰되었다(Fig. 2). 이러한 암수 모두 50 mg/kg 이상의 투여군에서 관찰된 체중의 감소 또는 증가역제는 용량상관성이 인정되었으며 이는 시험물질의 투여에 기인한 소견으로 판단되었다.

사료섭취량. 대조군에 비하여 암수 50 및 200 mg/kg 투여군에서 투여 1주동안 통계학적으로 유의성 있는 사료섭취량의 감소가 관찰되었으며, 수컷 200 mg/kg 투여군의 경우, 투여 3주째까지 통계학적으로 유의성 있는 감소가 관찰되었다(Table 2). 이러한 사료섭취량의 감소는 일

Table 2. Food consumption in SD rats orally administered with CJ-11555 for 4 weeks

Sex	Male				Female			
	0	10	50	200	0	10	50	200
Dose (mg/kg/day)	0	10	50	200	0	10	50	200
Day 1~8	211 \pm 12.2	196 \pm 11.8	187 \pm 16.7*	125 \pm 17.2*	146 \pm 13.7	148 \pm 10.7	122 \pm 13.7*	104 \pm 12.5*
Day 8~15	248 \pm 17.9	235 \pm 16.4	232 \pm 23.0	201 \pm 19.2*	171 \pm 12.0	181 \pm 11.7	166 \pm 17.4	162 \pm 14.8
Day 15~22	254 \pm 22.5	241 \pm 12.7	237 \pm 21.9	205 \pm 30.4*	174 \pm 14.9	184 \pm 14.5	170 \pm 18.8	163 \pm 22.6
Day 22~29	245 \pm 21.2	242 \pm 14.4	235 \pm 20.4	219 \pm 33.8	172 \pm 18.8	187 \pm 13.7	170 \pm 15.2	170 \pm 18.5

Values are presented as means \pm S.D. for 10 rats. *Significant difference from vehicle control group ($p < 0.05$).

부측정시점에서만 통계학적으로 유의성이 인정되었으나, 전반적인 감소경향을 나타냈으며, 또한 용량상관성이 인정되므로 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

안검사 및 뇨검사. 암수의 모든 투여군에서 시험물질 투여와 관련한 유의성 있는 변화 및 특이 이상소견이 관찰되지 않았다(결과를 보이지 않았음).

혈액학적 검사. 수컷의 경우, 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군에서 적혈구수, 헤모글로빈농도 및 평균적혈구혈색소농도가 통계학적으로 유의성있게 감소한 반면, 망상적혈구, 혈소판수, 백혈구수 및 림프구수가 통계학적으로

유의성있게 증가하였다. 암컷의 경우, 대조군에 비해 적혈구수, 헤모글로빈농도, 헤마토크리치 및 평균적혈구혈색소농도가 통계학적으로 유의성있게 감소한 반면, 망상적혈구 및 평균적혈구용적이 통계학적으로 유의성있게 증가하였다(Table 3).

암수 200 mg/kg 투여군에서 관찰된 적혈구수, 헤모글로빈농도, 헤마토크리치 및 망상적혈구수의 변화 등은 비장의 조직병리검사결과에서 관찰된 색소침착 및 충혈의 변화와 부합되는 결과로서 모두 시험물질에 의한 영향으로 판단되었으며, 이전의 oltipraz의 장기반복투여독성시

Table 3. Hematological values in SD rats orally administered with CJ-11555 for 4 weeks

Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg/day)	0	10	50	200	0	10	50
RBC (×10 ¹² /l)	8.49 ± 0.32	8.44 ± 0.41	8.51 ± 0.22	7.95 ± 0.29*	8.34 ± 0.30	8.49 ± 0.37	8.44 ± 0.23	7.55 ± 0.43*
RETIC (%)	2.3 ± 0.48	2.3 ± 0.42	2.6 ± 0.28	4.9 ± 0.92*	2.0 ± 0.50	1.9 ± 0.42	2.3 ± 0.54	4.2 ± 0.88*
HGB (g/dl)	16.2 ± 0.51	16.2 ± 0.65	16.2 ± 0.43	15.0 ± 0.45*	16.0 ± 0.68	16.3 ± 0.40	15.8 ± 0.31	14.5 ± 0.74*
HCT (%)	46.7 ± 1.75	46.7 ± 2.13	47.0 ± 1.31	44.9 ± 1.35	45.4 ± 2.09	46.3 ± 1.67	44.9 ± 0.94	42.5 ± 2.34*
MCV (fl)	55.0 ± 1.73	55.4 ± 1.96	55.3 ± 1.54	56.5 ± 1.27	54.5 ± 1.98	54.5 ± 1.36	53.2 ± 1.06	56.3 ± 1.92*
MCH (pg)	19.0 ± 0.63	19.2 ± 0.63	19.1 ± 0.56	18.9 ± 0.51	19.1 ± 0.64	19.3 ± 0.56	18.7 ± 0.49	19.3 ± 0.73
MCHC (g/dl)	34.6 ± 0.30	34.6 ± 0.36	34.5 ± 0.51	33.5 ± 0.53*	35.1 ± 0.36	35.3 ± 0.66	35.1 ± 0.47	34.2 ± 0.51*
PLT (×10 ⁹ /l)	1148 ± 138.8	1216 ± 139.6	1092 ± 308.3	1422 ± 169.7*	1258 ± 163.6	1135 ± 100.4	1286 ± 82.2	1370 ± 119.1
WBC (×10 ¹² /l)	7.0 ± 1.58	7.9 ± 2.13	9.1 ± 2.37	10.2 ± 1.65*	8.0 ± 3.42	7.2 ± 1.93	7.3 ± 1.94	7.2 ± 1.94
NEUT (×10 ⁹ /l)	1.0 ± 0.46	1.4 ± 0.49	1.2 ± 0.39	1.4 ± 0.28	0.9 ± 0.27	1.0 ± 0.50	0.8 ± 0.13	0.9 ± 0.36
LYMPH (×10 ⁹ /l)	5.8 ± 1.25	6.3 ± 2.00	7.6 ± 2.11	8.5 ± 1.53*	6.9 ± 3.18	6.0 ± 1.74	6.3 ± 1.96	6.1 ± 1.81
MONO (×10 ⁹ /l)	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.05	0.1 ± 0.05	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.05
EOSIN (×10 ⁹ /l)	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.10	0.1 ± 0.07	0.1 ± 0.04	0.1 ± 0.06	0.1 ± 0.06
BASO (×10 ⁹ /l)	0.0 ± 0.04	0.0 ± 0.05	0.1 ± 0.05	0.1 ± 0.05	0.0 ± 0.05	0.0 ± 0.03	0.0 ± 0.05	0.0 ± 0.05

Values are presented as means ± S.D. for 10 rats.
*Significant difference from vehicle control group (p<0.05).

Table 4. Serum biochemical values in SD rats orally administered with CJ-11555 for 4 weeks

Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg/day)	0	10	50	200	0	10	50
Glucose (mg/dl)	115 ± 9.1	117 ± 6.8	113 ± 10.9	113 ± 9.2	119 ± 11.3	123 ± 8.2	119 ± 7.0	110 ± 10.1
Urea nitrogen (mg/dl)	17 ± 2.0	17 ± 2.1	19 ± 3.0	18 ± 2.6	17 ± 2.1	17 ± 3.0	18 ± 3.6	19 ± 2.3
Creatinine (mg/dl)	0.5 ± 0.04	0.5 ± 0.06	0.5 ± 0.05	0.5 ± 0.06	0.5 ± 0.05	0.5 ± 0.05	0.5 ± 0.05	0.5 ± 0.06
Total Cholesterol (mg/dl)	57 ± 13.3	61 ± 12.2	63 ± 7.4	103 ± 29.7*	71 ± 16.5	72 ± 14.1	91 ± 11.4*	139 ± 23.9*
AST (U/l)	94 ± 7.3	90 ± 14.9	86 ± 12.3	75 ± 11.8*	99 ± 14.3	94 ± 16.5	76 ± 8.0*	79 ± 25.1*
ALT (U/l)	40 ± 7.4	43 ± 10.6	42 ± 8.7	55 ± 12.0*	42 ± 5.9	40 ± 6.7	39 ± 6.5	39 ± 8.5
Total protein (g/dl)	6.6 ± 0.27	6.4 ± 0.26	6.6 ± 0.30	7.5 ± 0.45*	7.3 ± 0.50	6.9 ± 0.42	7.0 ± 0.19	7.6 ± 0.46
Albumin (g/dl)	4.5 ± 0.23	4.4 ± 0.16	4.6 ± 0.23	5.1 ± 0.21*	5.0 ± 0.43	4.7 ± 0.25	4.9 ± 0.22	5.3 ± 0.33
Globulin (g/dl)	2.1 ± 0.16	2.1 ± 0.24	2.0 ± 0.18	2.4 ± 0.37	2.3 ± 0.28	2.2 ± 0.35	2.1 ± 0.14	2.3 ± 0.22
Albumin/globulin (ratio)	2.10 ± 0.198	2.15 ± 0.262	2.39 ± 0.239	2.17 ± 0.370	2.26 ± 0.388	2.17 ± 0.364	2.30 ± 0.243	2.38 ± 0.255
Calcium (mg/dl)	10.5 ± 0.39	10.6 ± 0.42	10.7 ± 0.40	11.2 ± 0.18*	11.2 ± 0.51	10.8 ± 0.16*	11.0 ± 0.30	11.2 ± 0.38
Total bilirubin (mg/dl)	0.1 ± 0.00	0.1 ± 0.03	0.1 ± 0.05	0.2 ± 0.03*	0.1 ± 0.05	0.2 ± 0.05	0.1 ± 0.05	0.2 ± 0.05
Triglyceride (mg/dl)	27 ± 5.3	35 ± 14.8	29 ± 3.1	36 ± 14.5	26 ± 4.9	25 ± 4.0	31 ± 3.8*	42 ± 10.8*
IN PHOS (mg/dl)	8.6 ± 0.40	9.1 ± 0.60	9.1 ± 1.09	9.5 ± 0.41*	8.6 ± 1.26	8.7 ± 1.05	8.6 ± 1.23	9.1 ± 1.03
GGT (U/l)	0 ± 0.3	0 ± 0.5	0 ± 0.3	4 ± 2.7*	1 ± 0.8	1 ± 0.7	1 ± 0.7	2 ± 1.7
Sodium (meq/l)	149 ± 3.1	149 ± 2.6	149 ± 3.2	149 ± 2.9	149 ± 3.7	147 ± 3.2	148 ± 3.0	148 ± 3.4
Potassium (meq/l)	5.3 ± 0.27	5.3 ± 0.44	5.1 ± 0.37	5.5 ± 0.34	5.5 ± 0.64	5.1 ± 0.55	5.0 ± 0.57	5.2 ± 0.48
Chloride (meq/l)	106 ± 2.5	106 ± 2.2	105 ± 2.5	102 ± 2.5*	106 ± 2.6	104 ± 2.1	103 ± 1.5*	104 ± 1.6

Values are presented as means ± S.D. for 10 rats.
*Significant difference from vehicle control group (p<0.05).

혈에서도 유사한 결과가 보고 바 있다.(Crowell et al., 1997).

혈액생화학적 검사. 수컷의 경우, 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군에서 AST 및 염소가 통계학적으로 유의성 있게 감소한 반면, 총 콜레스테롤, ALT, 총 단백질, 알부민, 칼슘, 총 빌리루빈, 무기인 및 GGT가 유의성있게 증가하였다. 암컷의 경우, 대조군에 비해 10 mg/kg 투여군의 칼슘, 50 mg/kg 투여군의 AST 및 염소, 200 mg/kg 투여군의 AST가 통계학적으로 유의성있게 감소한 반면, 50 및 200 mg/kg 투여군에서 총 콜레스테롤 및 중성지방이 유의성있게 증가하였다(Table 4).

본 시험의 50 및 200 mg/kg 투여군에서 관찰된 알부민, 총 콜레스테롤, AST 및 ALT의 유의성 있는 변화들은 간의 대사이상 및 적혈구이상등과 관련 있는 것으로 알려

져 있는 것으로(Walter and Fred, 1989), 이러한 변화들은 간의 장기중량변화 및 조직병리검사결과에서 관찰된 간의 병변과 부합되는 결과로서 모두 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다. 이 외 유의성 있는 혈액생화학적 변화들은 체중감소 및 사료섭취량의 감소 등, 이에 수반된 이차적인 반응들로 생각되었다.

장기중량. 수컷의 절대장기중량 측정결과, 대조군에 비해 50 mg/kg 투여군에서 뇌하수체 및 부고환 중량, 200 mg/kg 투여군에서 뇌, 흉선, 심장, 뇌하수체, 전립선, 부신 및 부고환 중량이 통계학적으로 유의성있게 감소하였고, 200 mg/kg 투여군에서 간 중량이 유의성있게 증가하였다. 상대장기중량 측정결과, 대조군에 비해 200 mg/kg 투여군에서 뇌, 간, 신장, 비장 및 고환 중량이 유의성 있게 증가하였다.

Table 5. Organ weights in SD rats treated with CJ-11555 for 4 weeks

Sex	Male				Female			
	0	10	50	200	0	10	50	200
Body weight	366.1 ± 37.10	363.1 ± 29.85	349.3 ± 40.99	296.5 ± 38.13*	224.6 ± 18.77	224.2 ± 20.77	201.2 ± 24.33*	197.8 ± 18.15*
Brain (g)	2.03 ± 0.142	2.00 ± 0.105	1.91 ± 0.119	1.89 ± 0.097*	1.87 ± 0.109	1.81 ± 0.049	1.81 ± 0.108	1.80 ± 0.080
per body weight (%)	0.558 ± 0.051	0.554 ± 0.057	0.554 ± 0.078	0.647 ± 0.077*	0.836 ± 0.069	0.810 ± 0.063	0.912 ± 0.107	0.916 ± 0.106
Liver (g)	11.59 ± 1.182	10.99 ± 1.111	11.88 ± 1.950	16.09 ± 2.100*	7.44 ± 0.685	7.47 ± 0.509	8.42 ± 1.104	11.30 ± 1.307*
per body weight (%)	3.176 ± 0.258	3.036 ± 0.320	3.409 ± 0.433	5.446 ± 0.497*	3.341 ± 0.169	3.348 ± 0.271	4.204 ± 0.463*	5.736 ± 0.649*
Kidney (g)	3.04 ± 0.295	2.86 ± 0.256	2.86 ± 0.415	2.78 ± 0.245	1.82 ± 0.160	1.95 ± 0.121	1.90 ± 0.141	1.79 ± 0.157
per body weight (%)	0.836 ± 0.088	0.790 ± 0.071	0.820 ± 0.068	0.943 ± 0.073*	0.813 ± 0.061	0.875 ± 0.076	0.951 ± 0.076*	0.912 ± 0.112*
Spleen (g)	0.68 ± 0.120	0.72 ± 0.134	0.67 ± 0.121	0.81 ± 0.147	0.52 ± 0.084	0.53 ± 0.074	0.51 ± 0.063	0.59 ± 0.087
per body weight (%)	0.185 ± 0.022	0.198 ± 0.034	0.194 ± 0.035	0.273 ± 0.030*	0.230 ± 0.037	0.237 ± 0.037	0.255 ± 0.022	0.299 ± 0.043*
Testis (g)	3.35 ± 0.267	3.25 ± 0.316	3.19 ± 0.280	3.20 ± 0.328	-	-	-	-
per body weight (%)	0.920 ± 0.075	0.899 ± 0.105	0.921 ± 0.088	1.090 ± 0.135*	-	-	-	-
Uterus (g)	-	-	-	-	0.55 ± 0.159	0.59 ± 0.159	0.57 ± 0.171	0.56 ± 0.244
per body weight (%)	-	-	-	-	0.248 ± 0.073	0.264 ± 0.057	0.288 ± 0.082	0.281 ± 0.119
Thymus (g)	0.45 ± 0.106	0.46 ± 0.076	0.38 ± 0.064	0.35 ± 0.084*	0.44 ± 0.072	0.46 ± 0.120	0.45 ± 0.115	0.37 ± 0.055
per body weight (%)	0.122 ± 0.029	0.127 ± 0.020	0.110 ± 0.022	0.119 ± 0.027	0.195 ± 0.027	0.205 ± 0.044	0.222 ± 0.046	0.191 ± 0.034
Lung (g)	1.54 ± 0.148	1.61 ± 0.319	1.50 ± 0.278	1.30 ± 0.180	1.27 ± 0.172	1.21 ± 0.086	1.13 ± 0.091	1.08 ± 0.145*
per body weight (%)	0.423 ± 0.044	0.440 ± 0.065	0.430 ± 0.049	0.440 ± 0.047	0.566 ± 0.077	0.545 ± 0.056	0.569 ± 0.088	0.550 ± 0.067
Heart (g)	1.29 ± 0.154	1.22 ± 0.093	1.20 ± 0.121	1.04 ± 0.140*	0.94 ± 0.126	0.87 ± 0.101	0.80 ± 0.090*	0.79 ± 0.071*
per body weight (%)	0.354 ± 0.034	0.339 ± 0.033	0.346 ± 0.025	0.353 ± 0.027	0.420 ± 0.065	0.388 ± 0.028	0.398 ± 0.042	0.402 ± 0.050
Pituitary (g)	0.011 ± 0.001	0.010 ± 0.001	0.009 ± 0.001*	0.009 ± 0.001*	0.013 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.002
per body weight (%)	0.003 ± 0.000	0.002 ± 0.000	0.002 ± 0.000	0.002 ± 0.000	0.005 ± 0.000	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.000	0.005 ± 0.001
Salivary glands (g)	0.681 ± 0.092	0.669 ± 0.084	0.623 ± 0.084	0.605 ± 0.068	0.433 ± 0.057	0.436 ± 0.022	0.385 ± 0.052	0.402 ± 0.052
per body weight (%)	0.186 ± 0.025	0.184 ± 0.017	0.179 ± 0.024	0.206 ± 0.026	0.193 ± 0.025	0.196 ± 0.024	0.191 ± 0.016	0.203 ± 0.020
Prostate (g)	1.04 ± 0.192	1.05 ± 0.132	1.06 ± 0.304	0.78 ± 0.223*	-	-	-	-
per body weight (%)	0.284 ± 0.043	0.291 ± 0.033	0.305 ± 0.085	0.264 ± 0.076	-	-	-	-
Ovary (g)	-	-	-	-	0.145 ± 0.032	0.140 ± 0.019	0.167 ± 0.065	0.143 ± 0.019
per body weight (%)	-	-	-	-	0.064 ± 0.010	0.063 ± 0.011	0.083 ± 0.033	0.072 ± 0.012
Adrenal glands (g)	0.066 ± 0.009	0.061 ± 0.011	0.057 ± 0.010	0.049 ± 0.008*	0.073 ± 0.014	0.070 ± 0.007	0.068 ± 0.010	0.061 ± 0.007
per body weight (%)	0.018 ± 0.002	0.017 ± 0.002	0.016 ± 0.002	0.016 ± 0.003	0.032 ± 0.005	0.031 ± 0.004	0.033 ± 0.004	0.031 ± 0.003
Thyroid glands (g)	0.19 ± 0.005	0.019 ± 0.003	0.019 ± 0.003	0.019 ± 0.004	0.018 ± 0.007	0.015 ± 0.003	0.016 ± 0.004	0.016 ± 0.005
per body weight (%)	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.000	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.007 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.008 ± 0.002
Epididymis (g)	1.18 ± 0.113	1.11 ± 0.068	1.07 ± 0.118*	1.00 ± 0.081*	-	-	-	-
per body weight (%)	0.323 ± 0.035	0.308 ± 0.022	0.308 ± 0.042	0.342 ± 0.044	-	-	-	-
Seminal vesicle (g)	0.92 ± 0.231	0.86 ± 0.226	1.01 ± 0.252	0.71 ± 0.249	-	-	-	-
per body weight (%)	0.257 ± 0.083	0.238 ± 0.061	0.291 ± 0.077	0.240 ± 0.074	-	-	-	-

Values are presented as means ± S.D. for 10 rats.

*Significant difference from vehicle control group (p<0.05).

암컷의 절대장기중량 측정결과, 대조군에 비해 50 mg/kg 투여군에서 심장, 200 mg/kg 투여군에서 폐 및 심장 중량이 통계학적으로 유의성있게 감소하였고, 200 mg/kg 투여군에서 간 중량이 유의성있게 증가하였다. 상대장기 중량 측정결과, 대조군에 비해 50 mg/kg 투여군에서 간 및 신장, 200 mg/kg 투여군에서 간, 신장 및 비장 중량이 유의성있게 증가하였다(Table 5).

본 시험에서 암수 200 mg/kg 투여군에서 간, 비장 및 신장의 중량변화는 조직병리검사결과에서 관찰된 장기의 변화들과 부합되는 현상으로서 모두 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다. 이 외 장기들의 중량변화는 비록 통계학적으로 유의성있는 변화가 있었지만, 상대 및 절대중량의 상관성이 없었으며, 조직병리검사 결과에서도 특이 소견이 관찰되지 않았다.

조직병리학적 검사. 조직병리학 검사 결과, 시험물질과 관련한 유의성 있는 변화가 암수 50 및 200 mg/kg 투여군의 간, 비장 및 신장에서 관찰되었다(Table 6).

간의 경우, 간세포 비대가 수컷의 50 mg/kg 투여군에서 9례, 200 mg/kg 투여군에서 10례가 관찰되었고, 암컷의 50 mg/kg 투여군에서 8례, 200 mg/kg 투여군에서 10례가 관찰되었다. 병변은 소엽중심부(centrilobular area)에서 관찰되었고, 간세포는 창백하고 확장된 모습을 나타내었으며, 이러한 변화는 혈액생화학적 변화 및 장기중량 변화와 부합된 결과로서(Turton and Hooson, 1998), 또

한 oltipraz의 설치류 GST(glutathione-S-transferase) 유도(Kensler *et al.*, 1987b) 및 phase I cytochrome P450 효소를 유도결과(Buetler *et al.*, 1995) 등을 고려할 때, 본 시험에서의 간세포 비대는 시험물질 투여와 관련되어 나타난 효소유도와 관계한 변화로 판단되었다.

비장의 경우, 색소침착이 수컷의 200 mg/kg 투여군에서 10례 관찰되었고, 암컷의 50 mg/kg 투여군에서 9례, 200 mg/kg 투여군에서 10례가 관찰되었다. 색소침착 및 충혈소견은 모두 적수(red pulp)에서 관찰되었으며, 적수는 적혈구 탐식이 일어나는 주요부위이며 적혈구 탐식은 대식세포내에 혈철소(hemosiderin)의 축적을 일으킨다고 알려져 있다(Gopinath *et al.*, 1987). 형태학적으로 볼 때 색소침착의 증가로 관찰된 것은 혈철소의 증가로 판단되었다. 충혈의 경우, 대조군과 빈도에서는 크게 차이가 없으나, 암수 50 및 200 mg/kg 투여군에서 병변의 정도가 더욱 심하게 관찰되었으며, 비장의 충혈은 혈철소 증가가 수반되는 것이 알려져 있다(Greaves, 2000). 이러한 변화들은 혈액학적 변화 및 장기중량 변화와도 부합된 결과로 모두 시험물질에 의한 영향으로 판단되었다.

신장의 경우, 초자방울이 수컷의 50 및 200 mg/kg 투여군에서 각각 10례씩 관찰되었다. 병변은 근위세뇨관에서 관찰되었으며, 이는 수컷 랫드에서 특정 단백질(α_{2u} globulin)이 우세하다는 것(Greaves, 2000)을 고려할 때, 수컷이 민감하게 반응한 것으로 판단되었다.

Table 6. Histopathological findings of SD rats orally administered with CJ-11555 for 4 weeks

Sex	Male				Female			
	0	10	50	200	0	10	50	200
Dose (mg/kg/day)								
Adrenal gland								
Vacuolization	9	0	0	10	1	0	0	0
Thyroid gland								
Cyst, Ultimobranchial	3	0	0	3	7	0	0	8
Esophagus								
Inflammation, Chronic	1	0	0	0	0	0	0	0
Lung								
Foci of chronic inflammation	3	0	0	1	0	0	0	0
Spleen								
Congestion	9	10	10	10	9	9	10	10
Pigment, Increased	0	0	0	10	0	0	9	10
Liver								
Hepatocellular hypertrophy, Centrilobular	0	0	9	10	0	0	8	10
Foci of chronic inflammation	8	8	8	5	9	7	8	5
Kidney								
Increased hyaline droplets, Proximal tubule	0	0	10	10	0	0	0	0
Inflammation, Chronic	6	2	4	2	3	0	0	3
Harderian gland								
Foci of chronic inflammation	0	0	0	1	0	0	0	0
Epididymis								
Inflammation, Chronic	2	0	0	2	0	0	0	0
Prostate								
Inflammation, Chronic	3	0	0	1	0	0	0	0

Table 7. Toxicokinetic parameters for CJ-11555 in SD rats

Sex	Male			Female		
	Dose (mg/kg/day)	10	50	200	10	50
Day1						
C_{max} (ng/ml)	341	1807	2530	555	1823	2770
T_{max} (hours)	2	4	24	2	2	4
AUC_{0-1} (ng · hr/ml)	850	12001	49043	1398	14346	49723
AUC_{0-24} (ng · hr/ml)	1162	15631	49043	2170	19254	49723
Day28						
C_{max} (ng/ml)	291	1860	3070	1039	1610	3780
T_{max} (hours)	2	4	8	2	2	4
AUC_{0-1} (ng · hr/ml)	809	11579	41982	3938	11821	63982
AUC_{0-24} (ng · hr/ml)	1141	15329	41982	6318	15712	63982

Note : AUC_{0-1} is the area under the plasma concentration-time curve from hour 0 to the last time point with measurable concentration, estimated by linear trapezoidal rule.

이 외 갑상선에서 관찰된 아가미끝낭은 흔히 관찰되는 선천성 이상구조물(양기화, 2000)이며, 부신에서 관찰된 공포화, 하더리안선, 부고환, 전립선, 신장, 폐 및 간에서 관찰된 염증소견들은 용량상관성을 보이지 않거나 발생빈도가 매우 낮고 자연발생적으로 흔히 관찰되기 때문에 시험물질과는 무관한 우발적인 병변으로 판단되었다(Greaves, 2000).

독성동태. 투여 용량에 따른 CJ-11555의 C_{max} 및 AUC_{0-24} 는 용량비(1 : 5 : 20)와 비교해 볼 때, 투여 1일째 수컷의 경우, C_{max} 는 1 : 5.3 : 7.4, AUC_{0-24} 는 1 : 13 : 42, 암컷의 경우, C_{max} 는 1 : 3.3 : 5.0, AUC_{0-24} 는 1 : 8.9 : 23였으며, 투여 28일째 수컷의 경우, C_{max} 는 1 : 6.4 : 11, AUC_{0-24} 는 1 : 13 : 37, 암컷의 경우, C_{max} 는 1 : 1.6 : 3.6, AUC_{0-24} 는 1 : 2.5 : 10로 나타났다. 또한 10 및 50 mg/kg 투여군은 투여 1일과 투여 28일간의 혈중농도가 유사하였으나, 200 mg/kg 투여군의 경우, 투여 28일의 혈중농도가 투여 1일보다 높게 나타났다(Table 7). 즉, CJ-11555의 혈중농도는 투여용량의 증가에 따라 정비례하여 증가하지는 않았으나, 투여용량에 따라 암수 모두에서 증가한 것으로 판단되었다. 일부 투여군을 제외하고 최고혈중도달시간은 투여 1일은 2~4시간, 투여 28일은 2~8시간이었으며, C_{max} 및 AUC_{0-24} 는 전 투여군에서 수컷보다 암컷에서 더욱 높게 나타났다. 따라서, CJ-11555는 용량 의존적으로 체내에 노출되며, 반복투여에 따른 체내축적이 미약하고, 수컷보다는 암컷에서 혈중 농도가 높았다. 이러한 현상은 oltipraz가 지질친화 약물인 특성을 고려할 때, 지방이 풍부한 암컷의 경우에서 시험물질의 흡수에 용이한 것으로 사료되었다(Heusse *et al.*, 1985).

결 론

CJ-11555의 경구투여에 의한 독성발현정도 및 무해용

량을 조사하기 위하여 SD 랫드에 0 및 2,000 mg/kg의 용량으로 단회경구투여하였고, 0, 10, 50 및 200 mg/kg의 용량으로 4주간 반복적으로 경구투여하였다. 단회투여 독성시험결과, 시험물질 투여에 따른 사망개체가 발생하지 않았고, 이상부검소견이 전혀 관찰되지 않아, CJ-11555의 개략적 치사량은 2,000 mg/kg을 상회하는 것으로 판단되었다. 반복투여 독성시험결과, CJ-11555는 랫드에서 피모변색 및 탈모증상, 체중증가의 억제, 총 콜레스테롤의 증가 및 AST의 감소, 간, 비장 및 신장에 조직병리학적 변화를 유발하였으며, 본 시험에서 표적장기는 간, 비장 및 신장으로 판단되었으며, 체내노출정도는 용량상관성있게 증가하며 축적성은 미약한 것으로 사료되었다. 또한 수컷보다는 암컷에서 혈중 농도가 높게 관찰되어 물질에 대한 성 차이를 확인할 수 있었다.

따라서, 본 시험조건에 의한 CJ-11555의 개략적 치사량은 암수 모두 2,000 mg/kg 이상, 무해용량(no observed adverse effect level)은 10 mg/kg, 확실중독량은 50 mg/kg으로 판단되었다.

감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(02-PJ2-PG4-PT01-0027).

참고문헌

- 양기화 (2000): 독성병리진단기준해설(랫드편), 국립독성연구소. 의약품등의 독성시험기준. 식품의약품안전청 고시 제 1999-61호, 식품의약품안전청, 서울.
- Ansher, S. (1985): The chemotherapy of schistosomiasis. *Ann. Rev. Pharmacol.*, **25**, 485-508.
- Buetler, T.M., Gallagher, E.P., Wang, C., Stahl, D.L., Hayes, J.D. and Eaton, D.L.(1995): Induction of phase I and II drug-metabolizing enzyme mRNA, protein, and activity by

- BHA, ethoxyquin, and Oltipraz. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **135**, 45-57.
- Crowell, J.A., Page, J.G., Rodman, L.E., Heath, J.E., Goldenthal, E.I., Hall, L.B. and Kelloff, G.J. (1997): Chronic toxicity studies of 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiole-3-thione, a potential chemopreventive agent. *Fund Appl. Toxicol.*, **35**, 9-21.
- Hesuse, D., Marlard, m., Bredenbac, J., Decdouvelaere, B., Leroy, J.P., Bieder, A. and Jumeau, H. (1985). Disposition of ¹⁴C-Oltipraz in animals. Pharmacokinetics in mice, rats, and monkeys. Comparison of the biotransformation in the infected mouse and in the schistosomes. *Arzneimittelforschung*. **35**, 1431-1436
- Gopinath, C., Prentice, D.E. and Lewis, D.J. (1987): Atlas of experimental toxicological pathology, MTP Press, pp. 135.
- Greaves, P. (2000): Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug evaluation, Second Edition, Elsevier, pp. 114, 227, 576, 638, 760, 850,
- Kang, K.W., Choi, S.H., Ha, J.R., Kim, C.W. and Kim, S.G. (2002a): Inhibition of dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis by [5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione] (oltipraz) in rats: suppression of transforming growth factor-beta1 and tumor necrosis factor-alpha expression. *Chem. Biol. Interact.*, **139**, 61-67.
- Kang, K.W., Kim, Y.G., Cho, M.K., Bae, S.K., Kim, C.W., Lee, M.G. and Kim, S.G. (2002b): Oltipraz regenerates cirrhotic liver through CCAAT/enhancer binding protein-mediated stellate cell inactivation. *FASEB J.*, **16**, 1988-1990.
- Kensler, T.W., Egner, P.A., Wang, J.B., Zhu, Y.R., Zhang, B.C., Qian, G.S., Kuang, S.Y., Gange, S.J., Jacobson, L.P., Munoz, A. and Groopman, J.D. (2002a): Strategies for chemoprevention of liver cancer. *Eur. J. Cancer Prev.*, **2**, 58-64.
- Kensler, T.W., Egner, P.A., Dolan, P.M., Groopman, J.D. and Roebuck, B.D. (1987b). Mechanism of protection against aflatoxin tumorigenicity in rats fed 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione (Oltipraz) and related 1,2-dithio-3-thiones and 1,2-dithiol-3-thione. *Cancer Res.*, **47**, 4271-4277
- Turton, J. and Hooson, J. (1998): Target organ Pathology, A basic text, Taylor & Francis, pp. 81.
- Walter, F.L. and Fred, W.Q. (1989): The clinical chemistry of laboratory animals, Pergamon Press, pp. 179-182, 260.