

경구용 복합제 WHS-1,2의 급성독성시험 연구

조대현* · 황세진 · 이원용 · 이주영¹ · 윤형중¹ · 문병우

국립보건안전연구원 독성부

¹한일약품(주)중앙연구소

Acute Oral Toxicity Studies of WHS-1 and WHS-2 in Rats

Dae Hyun CHO*, Se Jin HWANG, Won Yong LEE, Joo Young LEE¹,
Hyung Jung YOON¹ and Byung Woo MOON

Department of Toxicology, National Institute of Safety Research, Seoul 120-020, Korea
Central Research Institute, Hanil Pharmaceutical Industrial Co., Ltd. Seoul 133-112, Korea

(Received June 22, 1993; accepted August 14, 1993)

Abstract—Single oral administration to SD rats of both sexes were performed to investigate the acute toxicity of two new cough and cold remedies, WHS-1 and WHS-2. WHS-1 is composed of acetaminophen, chlorpheniramine maleate, cloperastine hydrochloride, dl-methylephedrine hydrochloride, caffeine anhydrous, thiamine hydrochloride, riboflavin and serratiopeptidase. WHS-2 is composed of similar formula except that thiamine hydrochloride and riboflavin is not added. The results were as follows. LD₅₀ values of WHS-1 were 4295.5 mg/kg for males and 4606.3 mg/kg for females, and LD₅₀ values of WHS-2 were 3236.7 mg/kg for males and 4360.5 mg/kg for females. Death occurred within 2~3 hours after administration at doses up to 2900 mg/kg in WHS-1 and 2500 mg/kg in WHS-2, the main cause of deaths seemed to be respiratory disturbance. General symptoms included decreased motor activity, salivation and loss of consciousness which were commonly observed in all dead animals treated with WHS-1 and WHS-2. No significant gross finding and body weight changes were observed at any dose level in the groups treated with WHS-1 and WHS-2.

Keywords □ two new cough and cold remedies, WHS-1, WHS-2, single oral administration, rat, LD₅₀.

국내 신물질 창출에 의한 신약개발차원에서 신물질 단일성분에 대한 급성독성시험 연구등에 관한 보고는 국내외적으로 많은 시험연구가 이루어져 왔다(Obara 등, 1992; Kang and Lee, 1992; Kim 등, 1992; Kang 등, 1992a). 그러나 최근에는 국내에 기소개된 의약품의 유효성분을 대상으로 신처방의 복합제제의 개발이 활발히 추진되고 있다. 이들 복합제는 개개성분의 약리작용과 급성독성시험 결과만으로는 복합제제의 독성발현이나 그 양상이 매우 복잡하여 안전성을 평가하기는 거의 불가능하다. 그러한 측면에서 복합제의 제제별 독성시험연구는 매우 중요한 의미를 갖는다고 볼 수 있다.

WHS-1은 감기의 증상완화를 목적으로 하는 아세트아미노펜, 말레인산클로르페니라민, 염산클로페라스틴, dl-염산메칠에페드린, 무수카페인, 세라치오헵티다제, 염산치아민 및 리보플라빈을 주성분으로 하고, 부형제등의

의약품 첨가제가 배합된 황색과립과 미백색장용성과립의 경구용 복합제이고, WHS-2는 WHS-1의 주성분중 염산치아민과 리보플라빈을 제외한 주성분 및 WHS-1과 동일한 의약품 첨가제가 배합된 백색과립과 미백색과립의 경구용 복합제이다.

국내 기소개된 의약품의 유효성분으로 구성된 경구용 복합제의 독성시험은 보사부 고시 제 92-96호(1992. 12. 31) 『의약품등의 유효성·안전성심사에 관한 규정(별표 5) 복합제의 제제별 독성시험방법』에 정한 시험항목에 준하여 실시하되, 이 기준에 구체적으로 정하지 아니한 시험방법등에 대하여는 국립보건 안전연구원 예규(1988. 10. 29) 『의약품등의 독성시험 기준』에 따라 실시하였다.

따라서 각 시험물질을 SD계 랫드에 1회 경구투여한 후 7일간의 사망동물 수, 임상증상 및 체중변화등을 관찰하고, 관찰기간 종료 후 육안적 해부소견 및 LD₅₀치를 측정하여 WHS-1 및 WHS-2에 대한 안전성평가의 일환으로 급성독성시험 결과를 보고하고자 한다.

*To whom correspondence should be addressed.

실험방법

시험계 및 사육환경

시험구역은 국립보건안전연구원 동물실험실이며, 청정 구역에서 생산된 SPF(특정병원체 부재) SD계 랫드를 온도 23±1°C, 습도 55±5%, 배기 10~18회/시간, 형광 등 명암 12시간 cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 사육상자(280W×420L×170H mm)케이지에 5마리씩 넣어 사육하였다. 1주일간의 순화사육 기간 동안에 증상관찰 등을 시행하여 정상적인 동물만 시험에 사용하였다. 사료는 신촌사료주식회사의 실험동물사료를 구입하여 실험동물에 자유로이 공급하였으며, 음수는 멸균수를 자유롭게 섭취시켰다. 시험동물은 시험물질 투여전 18시간 동안 절식한 후 사용되었다.

시험물질의 조제 및 투여

시험물질의 투여용량은 예비실험 결과와 시험물질의 용해도등을 고려하여, WHS-1의 경우 공비를 1.44로 하여 최고용량을 8600 mg/kg, 최저용량을 2000 mg/kg으로 설정하였다. WHS-2는 공비를 1.4로 하고 최고용량을 7200 mg/kg, 최저용량을 1750 mg/kg으로 하였다. 두 시험물질에 대하여 시험군은 대조군을 포함하여 각각 6개군으로 정하였고, 투여액량(dosage volume)은 두 시험물질 공히 최고투여용량군을 기준으로 21.6 ml/kg으로 하여 시험직전의 개체체 중에 따라 산출하여 랫드용 존데(sonde)를 이용하여 1회 강제경구투여하였다. 대조군에는 21.6 ml/kg의 2% CMC Na수용액을 투여하였다. 각 군은 암수 각각 5마리의 랫드로 구성하였다.

증상관찰, 체중측정 및 부검

시험물질을 투여한 후 매시간마다 6시간 동안, 다음 날부터 7일째까지는 1일 1회씩 일정시간에 투여동물의 일반상태, 중독증상 및 사망유무를 대조군과 비교 관찰

하였다. 시험에 사용된 모든 실험 동물에 대하여 시험물질 투여당일을 0일로 하여 투여 후 1, 3, 7일에 체중을 측정하였다.

투여 후 7일째에 모든 동물을 ether로 심마취하여 설하 및 복대동맥 절단법으로 치사시킨 다음 외관 및 내부장기의 이상유무를 육안적으로 해부소견을 관찰하였다.

자료의 통계학적 해석

체중의 변화에 대한 통계학적 분석은 ANOVA 검정에 의해 대조군과 시험물질 투여군을 비교하였고, LD₅₀치는 Pharmacologic Calculating System(Ver. 4.1; Springer-Verlag, N.Y., 1986)을 이용하여 Litchfield-Wilcoxon법에 의하여 95% 신뢰한계내에서 결정하였다.

결 과

LD₅₀치와 임상증상

WHS-1은 최고용량(8600 mg/kg)군에서 암수 모든 개체가 사망하였고 중상용량(6000 mg/kg)군에서 암수 각 4마리, 중등용량(4200 mg/kg)군에서는 암수 각 2마리, 중하용량(2900 mg/kg)군에서 수컷 1마리가 사망하였다(Table I). WHS-2은 최고용량(7200 mg/kg)군에서는 암수 모든 개체가 사망하였으며, 중상용량(500 mg/kg)군에서는 수컷 5마리 모두와 암컷 2마리가 사망하였다. 중등용량(3500 mg/kg)군에서는 수컷 3마리와 암컷 2마리가 사망하였고, 중하용량(2500 mg/kg)군에서는 수컷 1마리가 사망하였다(Table II). 이로부터 LD₅₀치는 WHS-1은 수컷에서 4295.5 mg/kg, 암컷에서 4606.3 mg/kg이었고, WHS-2는 수컷에서 3236.7 mg/kg, 암컷에서 4360.5 mg/kg으로 산출되었다.

WHS-1과 WHS-2 모두 사망개체의 경우 투여 30분후부터 활동성(motor activity)과 호흡수(respiratory rate)가 현저히 감소하여 3시간내에 사망하였으며, 최고용량군의

Table I. Mortality and LD₅₀ values of male and female rats treated orally with WHS-1

Sex	Dose (mg/kg)	Number of dead animals (Days after administration)							Mortality	LD ₅₀ (mg/kg)
		0	1	2	3	4	5	6		
Male	0	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	2000	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	2900	1	-	-	-	-	-	-	1/5	4295.5
	4200	2	-	-	-	-	-	-	2/5	(3150.6-5856.5)
	6000	4	-	-	-	-	-	-	4/5	
	8600	5	-	-	-	-	-	-	5/5	
Female	0	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	2000	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	2900	-	-	-	-	-	-	-	0/5	4606.3
	4200	2	-	-	-	-	-	-	2/5	(3603.5-5888.2)
	6000	4	-	-	-	-	-	-	4/5	
	8600	5	-	-	-	-	-	-	5/5	

(): 95% confidence limit.

Table II. Mortality and LD₅₀ values of male and female rats treated orally with WHS-2

Sex	Dose (mg/kg)	Number of dead animals (Days after administration)							Mortality	LD ₅₀ (mg/kg)
		0	1	2	3	4	5	6		
Male	0	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	1750	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	2500	1	-	-	-	-	-	-	1/5	3236.7
	3500	3	-	-	-	-	-	-	3/5	(2565.0-4084.4)
	5000	5	-	-	-	-	-	-	5/5	
	7200	5	-	-	-	-	-	-	5/5	
Female	0	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	1750	-	-	-	-	-	-	-	0/5	
	2500	-	-	-	-	-	-	-	0/5	4360.5
	3500	2	-	-	-	-	-	-	2/5	(3059.8-6214.2)
	5000	2	-	-	-	-	-	-	2/5	
	7200	5	-	-	-	-	-	-	5/5	

(): 95% confidence limit.

Table III. Clinical signs of male and female rats treated orally with WHS-1

Dose (mg/kg)	*Sex	# Clinical sign	hours						days						
			after administration												
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7
0	M		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	M		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2900	M		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4200	M	LC	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		F	LC	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6000	M	DR	1	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		LC	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	5	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	DM	5	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		LC	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7200	M	LC	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		SA	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	LC	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		SA	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*M: male, F: female.

*LC: loss of consciousness, DR: decreased respiratory rate, DM: decreased motor activity, SA: salivation.

경우 유연(salivation)이 관찰되었다. 그러나 생존개체들에게서는 별다른 임상증상이 관찰되지 않았다(Table III, Table IV).

체중변화

대조군과 시험물질투여군 모두 투여후 시간이 경과함에 따라 체중도 증가하였으나 유의할만한 차이는 나타나지 않았다. 시험군에 있어 용량의존적인 체중의 변화는 관찰되지 않았다(Table V, Table VI).

육안적 해부소견

사망개체에 대한 부검결과, 별다른 이상소견이 없었으며, 생존동물에서도 약물에 기인한 육안적 이상소견은 관찰되지 않았다.

고 찰

지금까지 급성독성시험연구에 관한 보고는 국내에서는 PDP-Hepa(Kang and Lee, 1992), recombinant granulocyte macrophage colony-stimulating factor(Kim 등, 1992c), SKI 2053R(Kang 등, 1992a) 및 유전자 재조합

돼지성장 호르몬(Kang 등, 1992b) 등 신규 단일성분을 중심으로 이루어졌다. 그러나 임상적으로 사용되는 많은 의약품들은 복합제의 형태로 사용되며, 이들 복합성분에 의한 독성의 발현이나 양상이 매우 복잡하므로 복합제의 제제별 독성시험연구는 매우 중요한 의미를 갖는다. 따라서 본 시험연구는 일반감기약등의 유효성분을 대상으로 한 신처방의 경구용복합제의 급성독성시험연구에서는 첫 보고라는데 의의를 가질수 있다. WHS-1은 기존에 시판되고 있고 화이투벤® 캡셀과 동일한 성분을 함유하고 있으나 각 성분의 함량은 전체적으로 증가된 복합제이다. 화이투벤® 캡셀은 기존 감기치료제로 널리 사용되고 있는 아세트아미노펜, 말레인산 클로르페니라민, 염산클로르페나스딘, dl-염산메칠에페드린 및 세라치오 펩티다제를 주성분으로 처방된 복합제이다. WHS-1은 화이투벤® 캡셀에서 말레인산클로르페니라민을 제외한 모든 주성분의 함량에 약 33% 가량 증가되고, 본 개발 제제의 유용성을 위하여 염산치아민과 리보플라빈이 보강된 복합제이다. 또한 WHS-2는 WHS-1의 주성분에서 염산치아민과 리보플라빈이 제외된 것 이외에는 WHS-

Table IV. Clinical signs of male and female rats treated orally with WHS-2

Dose (mg/kg)	*Sex	# Clinical sign	hours						days						
			after administration												
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7
0	M		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1750	M		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2500	M		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3500	M	LC	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	3	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	DR	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	2	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		LC	2	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5000	M	DR	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		LC	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	DR	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		LC	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7200	M	LC	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	SA	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		LC	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DR	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		DM	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		SA	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

*M: male, F: female.

*LC: loss of consciousness, DR: decreased respiratory rate, DM: decreased motor activity, SA: salivation.

Table V. Changes of body weight of male and female rats treated orally with WHS-1

(unit: g)

Dose (mg/kg)	*Sex of animal	Days after administration			
		0	1	3	7
0	M	164.4± 7.6(5) ⁰	184.4± 10.3(5)	198.6± 8.8(5)	208.8± 10.3(5)
	F	131.4± 8.7(5)	147.4± 9.5(5)	150.6± 6.1(5)	167.8± 8.0(5)
2000	M	172.4± 13.3(5)	185.0± 14.4(5)	196.6± 20.4(5)	214.6± 16.8(5)
	F	145.6± 11.5(5)	157.4± 8.0(5)	165.8± 11.9(5)	172.0± 12.4(5)
2900	M	172.4± 12.5(5)	181.0± 13.5(4)	192.5± 12.6(4)	205.8± 13.1(5)
	F	144.2± 11.2(5)	158.6± 10.9(5)	160.8± 13.0(5)	170.2± 12.9(5)
4200	M	174.4± 12.7(5)	174.3± 4.2(3)	187.3± 4.9(3)	208.8± 7.2(3)
	F	144.8± 10.5(5)	155.3± 11.4(3)	158.7± 8.5(3)	168.0± 4.6(3)
6000	M	163.6± 10.6(5)	153.0± 0.0(1)	146.0± 0.0(1)	170.0± 0.0(1)
	F	136.8± 10.9(5)	144.0± 0.0(1)	148.0± 0.0(1)	159.0± 0.0(1)
8600	M	160.6± 14.1(5)	-	-	-
	F	137.8± 13.1(5)	-	-	-

*M: male F: female.

⁰Mean± standard deviation; The numbers in parentheses represent number of animals.

1과 동일한 성분의 함량을 지니고 있다.

의약품의 안전성 유효성 심사에 관한 규정에서 복합제의 제제별 독성시험방법에 따르면 복합제의 유효성분 모두가 경구투여시 문헌등에 의한 LD₅₀값 등이 저독성

이라고 판단되면 그 유효성분인 복합제제의 독성시험은 생략 할 수 있다고 규정되어 있으나, WHS-1과 WHS-2의 주성분 중 염산클로르페라스린, 세라치오펜티다제 및 염산치아민은 경구 투여시 LD₅₀치가 1000 mg/kg 이상

Table VI. Changes of body weight of male and female rats treated orally with WHS-2

(unit: g)

Dose (mg/kg)	*Sex of animal	Days after administration			
		0	1	3	7
0	M	164.4± 7.6(5) ^o	184.4± 10.3(5)	198.6± 8.8(5)	208.8± 10.3(5)
	F	131.4± 8.7(5)	147.4± 9.5(5)	150.6± 6.1(5)	167.8± 8.0(5)
1750	M	173.8± 11.4(5)	179.4± 18.3(5)	197.6± 19.7(5)	211.0± 16.8(5)
	F	135.6± 11.9(5)	151.4± 14.1(5)	159.4± 15.3(5)	166.6± 17.4(5)
2500	M	172.2± 11.7(5)	190.0± 17.5(4)	202.5± 17.0(4)	217.0± 18.2(4)
	F	139.0± 14.1(5)	152.6± 15.6(5)	160.8± 13.7(5)	170.6± 15.4(5)
3500	M	173.6± 13.7(5) [†]	180.0± 14.1(2)	191.0± 7.1(2)	210.0± 7.1(2)
	F	147.2± 6.8(5)	151.3± 6.9(3)	151.8± 11.9(3)	164.5± 6.6(3)
5000	M	166.0± 10.2(5)	—	—	—
	F	136.8± 10.9(5)	154.7± 10.6(3)	156.0± 19.3(3)	168.3± 12.0(3)
7200	M	169.2± 5.9(5)	—	—	—
	F	143.4± 5.8(5)	—	—	—

*M: male F: female.

^oMean± standard deviation; The numbers in parentheses represent number of animals.[†]p<0.05: significant difference from control.

이고, 아세트아미노펜, 말레인산클로르페니라민, 무수카페인 등은 121-750 mg/kg의 LD₅₀치를 나타낸다고 알려져 있기 때문에(Budavan, 1989; 대판부 병원약제사회, 1992) 본 제제는 LD₅₀치 및 개개 성분의 약리작용 등으로 보아 저독성의 복합제제라고 판단되지 않아 급성독성을 실시하였다. 따라서 랫드에 있어 WHS-1을 최고용량군으로 하고 공비를 1.44로 하여 최저용량군 2000 mg/kg 등 5개 투여군 및 2% CMC Na 수용액을 대조군으로 하여 1회 경구투여한 급성독성 시험결과 임상증상, 체중변화 및 육안적 해부소견 등에서 약물에 기인한 이상소견이 관찰되지 않았으며, LD₅₀치는 암컷 4606.3 mg/kg, 수컷 4295.5 mg/kg 이었고, WHS-2는 7200 mg/kg를 최고용량군으로 하고 공비를 1.4로 하여 최저용량군 1750 mg/kg 등 5개 투여군 및 2% CMC Na 수용액을 대조군으로 하여 1회 경구투여한 급성독성 시험결과 임상증상, 체중변화 및 육안적 해부소견 등에서 약물에 기인한 특이한 이상소견이 관찰되지 않았으며, LD₅₀치는 암컷 4360.5 mg/kg, 수컷 3236.7 mg/kg이었다. 두 복합제의 급성독성 시험결과를 비교하여 보면 WHS-2가 WHS-1보다는 약간 저독성으로 볼 수 있지만, 급성독성 시험결과만으로는 안전성평가를 판단하기가 어려워 추후 본 제제에 대한 1개월 가량의 아급성독성 시험을 수행하여야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

Budavan, S., O'Neil, M. J., Smith, A. and Heckelman, P. Z.

- (1989). *The Merck Index*, pp. 1304-1464, 11th ed., Merck and Co. INC.
- Kang, K. S. and Lee, Y. S. (1992). Acute and subacute toxicity of DDT-Hepa in rats and mice. *Environ. Mutat. Carcinogen.*, **12**, 15-34.
- Kang, K.-S., Shin, D. J., Cho, J. J., Kim, H. O., Kim, B. H. and Lee, Y. S. (1992a). Acute toxicity of *cis*-malonato((4R,5R)-4,5-bis(aminomethyl)-2-isopropyl-1,3-dioxolane)platinum (II)(SKI 2053R) in rats and mice. *Korean J. Toxicol.*, **8**, 205-216.
- Kang, K. S., Shin, D. J., Kim, H. O., Cho, J. J., Seo, K. W. and Lee, Y. S. (1992b). Acute toxicity of porcine somatotrophine in rats and mice. *Korean J. Lab. Ani. Sci.*, **8**, 207-216.
- Kim, H.-C., Kang, B. H., Ha, C.-S., Han, S.-S. and Rho, J.-K. (1992). Acute toxicity study of recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factors (LBD-005) in rats. *Korean J. Toxicol.*, **8**, 41-48.
- Obara, S. (1992). Studies on single-dose toxicity of hydrophobically modified hydroxypropyl methylcellulose in rats. *J. Tox. Sci. Jpn.* **17**, 13-20.
- 대판부 병원약제사회 (1992). 의약품요람, pp. 817-1819, 제 5판, 의약시보사
- 국립보건안전연구원 (1988). 국립보건안전연구원 예규 제 10호 (1988. 10. 29) 의약품등의 독성시험 기준, pp1-5.
- 보건사회부 (1992). 보건사회부고시 제 92-96호(1992. 12. 31) 의약품등의 안전성, 유효성 심사에 관한 규정 [별표 5]: 복합제의 제제별 독성시험 방법, pp. 54-55.