

원저

마우스에서 방풍통성산의 급성 독성 연구

이재훈 · 심기석 · 박화용 · 전원경 · 엄영란 · 마진열

한국한의학연구원 신한방제제연구센터

A Study on the Acute Toxicity of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-San) in Mice

Jae-Hoon Lee, O.M.D., Ki-Shuk Shim, O.M.D., Hwa-Yong Park, O.M.D., Won-Kyung Jeon, O.M.D.,

Young-Ran Um, O.M.D., Jin-Yeul Ma, Ph.D.

Center for Herbal Medicine Improvement Research, Korea Institute of Oriental Medicine

Objectives

Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) has been traditionally prescribed a restorative medicine.

Methods

In this study, we investigated the acute toxicity of water-extracted Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san). 20 male and 20 female mice were orally treated of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) at the respective doses of 0 (control group), 1250, 2500 and 5000mg/kg for 14 days.

Results

We observed survival rates, general toxicity, change of body weight and examined microscopic changes of some organs.

Conclusions

Compared with the control group, we could not find any toxic alteration in all treated groups (1250, 2500 and 5000mg/kg). LD₅₀ of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) might be over 5000mg/kg and it was very safe to ICR mice.

Key Words : Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san), Acute toxicity, Safety, LD₅₀

- 교신저자 : Jin Yeul Ma, Ph.D, Korea Institute of Oriental Medicine (KIOM), 483 Expo-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Korea (042) 868-9466, jyema@kiom.re.kr
- 접수: 09. 05. 20일 수정: 05월 27일 채택: 06월 03일
- 연구비 지원) 본 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K09040에 의하여 수행되었음.

I. 서론

국민건강영양조사¹⁾에 따르면 비만 유병률(만 19세 이상)은 2007년 31.7%로 지난 10년간 매년 약 1%씩 증가하는 추이를 보이고 있으며 이상지혈증(만30세 이상), 즉 고콜레스테롤혈증, 저HDL-콜레스테롤혈증, 고중성지방혈증 유병률은 2007년 10.8%, 47.6%, 17.3%로 지난 10년간 모두 증가하였다. 황 등²⁾이 조사한 바에 따르면, 2000년 이후 발표된 비만치료관련 처방과 본초 중 논문을 분석한 결과 사상처방, 체감의 이인탕(體減薏苡仁湯), 방풍통성산(防風通聖散) 순으로 처방되는 것으로 나타나, 비만치료에 방풍통성산이 이용되고 있음을 알 수 있다.

국내에서 비만과 관련된 방풍통성산의 항비만효능을 확인하기 위한 연구는 여러 차례 시행되어, 비만과 체내 지질대사와 관련하여 안 등¹²⁾은 방풍통성산과 고지방식이에 의한 비만유도백서를 이용하여 방풍통성산이 임상적으로 담습기체(痰濕氣滯), 담습내온(痰濕內蘊), 비위실열(脾胃實熱)로 인한 실증의 비만증 치료와 비만 예방에 응용할 수 있음을 제시하였고, 최 등¹³⁾은 임상실험을 통해 방풍통성산 투여가 체지방율과 비만도 및 BMI 수치를 유의하게 낮춤을 보고한 바 있다. 또한 배 등¹⁴⁾은 방풍통성산 엑기스(상품명; 양해)를 비만환자에게 투여한 결과 체지방, 체지방 등 비만과 관련된 지표를 유의하게 낮추었을 뿐 아니라 신체증상에서 피로감, 신중감과 식욕감소, 대변을 묽게 하는 작용을 증가시켰고 부종을 감소시키는 작용에도 유의성이 있음을 보고하였다. 그 외에도, 황 등¹⁵⁾은 방풍통성산이 고지방 사료 식이로 유발된 비만 생쥐에서 비만유전자 및 관련 인자에 미치는 영향을, 신 등¹⁹⁾은 백서의 비만증 및 비만세포에 미치는 영향을, 이 등²⁰⁾은 방풍통성산의 추출방식이 지방세포 대사에 미치는 영향을 연구하여 발표한 바 있다. 하지만, 방풍통성산의 효능에 대한 연구결과는 이와

같이 다수 보고된 데 비해, 방풍통성산의 안전성 검증에 대한 연구 보고는 찾아보기 어렵다. 이에, 본 연구를 통해 방풍통성산의 급성 독성 실험을 식품의약품안전청 고시 제 2005-60호 “비 임상시험 관리기준”¹⁵⁾에 따라 수행함으로써 방풍통성산의 안전성을 실험적으로 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험물질

방풍통성산의 한약재 구성은 천궁, 방풍, 당귀, 작약, 연교, 박하엽, 마황, 망초, 대황, 석고, 길경, 황금, 백출, 산치자, 형개, 생강, 활석, 감초로 생산자 및 재배지역이 명확한 한약재를 구입하였다(Table I). 본 연구에서는 전탕 추출법(cosmos-660, 경서추출기, 한국)에 의한 시험물질 조제를 실시하였으며 처방구성(Table II)에 따른 각 한약재들을 중량의 10배에 해당하는 생수(화이트. 경남, 한국)에 넣어 180분간 열탕 추출한 후, 동결건조기(FD5512, 일신, 한국)를 사용하여 분말 형태로 조제하였다(수율 : 25.43%).

2. 실험동물 및 사육환경

실험구역은 한국한의학연구원 동물실험실에서 실시하였으며, ICR(Mouse) 암·수컷(오리엔트 바이오, 경기도, 한국) 4주령을 사용하였다. 동물입수 시, 외관을 육안으로 검사한 후, 1주일간 시험을 실시하는 동물실에서 순화시키고 그 중 건강한 동물을 골라 실험에 사용하였다. 순화 기간 중, 일반 임상증상을 관찰하여 건강한 동물을 암·수 20마리씩 선정하여 체중범위에 따른 무작위법에 의하여 군 분리를 실시한 후, 본 실험에 사용하였다. 순화 및 실험기간 동안의 사육환경은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수는 시간당

Table I. Buy of Raw Material Herbs

약재명	원산지	생산자(수입자)	소매자
천궁	한국	경북 영주시 휴천동 39-3 (임해구)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
방풍	한국	경북 안동시 안막동 771-15 (권오석)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
당귀	한국	경북 영천시 금호읍 원제리 562 (배동준)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
작약	한국	경북 의성군 의성읍 상리리133-6 (경북농업기술원)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
연교	한국	경북 의성읍 도동리 767-9 (이중대)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
박하엽	한국	경북 영천시 완산동 930 (민병홍)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
마황	중국	안동시 수하동 311-1 (풍산제약)	경북 안동시 수하동 311-1 (풍산제약)
망초	중국	서울 동대문구 제기동 892-111 (미류제약)	경북 영천시 금노동 377-26 (미류생약)
대황	한국	경북 영천시 화남면 구진리 372 (황보연수)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
석고	중국	서울시 동대문구 제기2동 928-2 (HMAX)	서울시 동대문구 제기2동 822-6 (HMAX)
길경	한국	경북 영주시 휴천동 39-3 (임해구)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
황금	한국	전남 순천시 풍덕동 1290-16 (채규삼)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
백출	한국	경북 영천시 화북면 구진리685 (황보연수)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
산치자	한국	전남 구례군 광의면 온당리 (양희옥)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
형개	한국	경북 안동시 안흥동 278-81 (김병원)	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
생강			농협
활석	중국	서울 서대문구 제기동 930-4 (동경종합상사(주))	경북 영천시 완산동 925-15 (영천현대약업사)
감초	베트남	서울시 동대문구 제기동 930-4 (신흥무역)	경북 영천시 금노동 377-26 (류수)

Table II. The Prescription of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san)

약재명	학명 ¹⁶⁾	50첩 분량(g)
천궁	Cnidii Rhizoma	84.5
방풍	Saposhnikoviae Radix	84.5
당귀	Angelicae Gigantis Radix	84.5
작약	Paeoniae Radix	84.5
연교	Forsythiae Fructus	84.5
박하엽	Menthae Herba	84.5
마황	Ephedrae Herba	84.5
망초	Cynanchi Radix	84.5
대황	Rhei Radix et Rhizoma	84.5
석고	Gypsum	131
길경	Platycodonis Radix	131
황금	Scutellariae Radix	131
백출	Atractylodes Rhizome White	65.5
산치자	Gardeniae Fructus	65.5
형개	Schizonepetae Spica	65.5
생강	Zingiberis Rhizoma Crudus	225
활석	Talcum	318.5
감초	Glycyrrhizae Radix	225
Total weight		2118.5

12~16회, 조명은 12시간 명암주기(점등 7:00, 소등 19:00), 조도는 150~300 Lx로 조정하여 일정한 사육 환경을 유지하였다. 그리고 실험동물용 고품사료 (PMI nutrition, USA)와 물은 자유 섭취 조건으로 하였다.

Table III. Experimental Groups

Group	Animal Number	Number of animal	Sex	Volume	Dose (mg/kg/day)
C ^{a)}	1~5	5	Male	10	0
T ₁ ^{b)}	6~10	5	Male	10	1250
T ₂	11~15	5	Male	10	2500
T ₃	16~20	5	Male	10	5000
C	21~25	5	Female	10	0
T ₁	26~30	5	Female	10	1250
T ₂	31~35	5	Female	10	2500
T ₃	36~40	5	Female	10	5000

a) C; Control group. b) T; Treatment group.

3. 실험군 및 한약재투여

5주령 마우스에 대한 급성 경구독성을 평가하기 위하여 각 주령의 마우스를 각각 4개의 용량군으로 나누었다(Table III). 투여 경로는 한방 임상에서 가장 널리 이용되고 있는 경구투여법을 이용하였으며, 본 연구에서 설정된 투여 용량은 고농도 5000mg/kg을 기준으로 하여 공비 0.5로 3개 군을 설정하고, 대조군을 포함하여 모두 4개의 군으로 정하였다. 각 용량군의 한약재는 투여 직전에 3차 증류수에 희석하여 실험에 공시하였으며 동물을 하룻밤 절식시킨 후 배부 피부 고정법으로 고정하고 경구투여용 금속제 존데와 주사관을 이용하여 위내에 강제 경구 투여 하였다.

4. 임상증상 및 부검

임상 증상은 투여 직후부터 6시간 동안 매시간 관찰하였으며, 그 후 14일(1일 1회) 동안 일반증상 관찰법에 의하여 관찰하였다¹⁷⁾. 모든 동물에 대하여 투여 전 그리고 투여 후 1, 3, 7, 14일에 체중변화를 측정하였으며 실험 종료 후, 에테르로 마취하여 후대정맥을 통한 방혈을 실시한 후, 모든 장기에 대한 육안적 병변을 관찰하였다.

5. 통계학적 방법

통계분석법은 SPSS package program(version 12.0)을 이용하여 일원배치분산분석(one-way analysis of variance, ANOVA)을 실시하였으며 대조군과 투여군 사이의 통계학적 유의차는 Tukey's test에 의하여 평균과 표준편차를 구하고 통계처리(*p<0.01) 하였다.

III. 결 과

1. 치사율

시험기간 중 방풍통성산 투여 및 대조군에서 사망 동물은 관찰되지 않았다(Table IV-1, 2).

2. 임상 증상

시험물질 방풍통성산 투여에 의한 어떠한 독성증상도 관찰되지 않았다(Table V-1, 2).

3. 체중 변화

Fig. 1과 2에 나타난 것과 같이 방풍통성산 투여에 의한 체중변화는 관찰되지 않았다.

Table IV-1. Mortality of Male

Dose (mg/kg)	no. dead/ no. animal	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1250	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2500	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5000	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table IV-2. Mortality of Female

Dose (mg/kg)	no. dead/ no. animal	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
0	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1250	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2500	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5000	0/5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table V-1. Clinical Signs of Male ICR Mice Treated with Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san)

Variable	\ Sex	Male			
	\ Group	C	T ₁	T ₂	T ₃
	\ Dose(mg/kg)	0	1250	2500	5000
	\ No. of animal	5	5	5	5
	normal	5	5	5	5
	abnormal	0	0	0	0

C; Control group, T₁; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 1250mg/kg(day) medication group, T₂; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 2500mg/kg(day) medication group, T₃; Extraction of Bangpungtongsung-san (Fangfengtongsheng-san) 5000mg/kg(day) medication group.

Table V-2. Clinical Signs of Female ICR Mice Treated with Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san)

Variable	\ Sex	Female			
	\ Group	C	T ₁	T ₂	T ₃
	\ Dose(mg/kg)	0	1250	2500	5000
	\ No. of animal	5	5	5	5
	normal	5	5	5	5
	abnormal	0	0	0	0

C; Control group, T₁; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 1250mg/kg(day) medication group, T₂; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 2500mg/kg(day) medication group, T₃; Extraction of Bangpungtongsung-san (Fangfengtongsheng-san) 5000mg/kg(day) medication group.

4. 부검 소견

실험 종료 시, 모든 동물의 장기에 대하여 육안적

병변을 관찰하였으나 이상 병변은 관찰되지 않았다 (Table VI-1, 2).

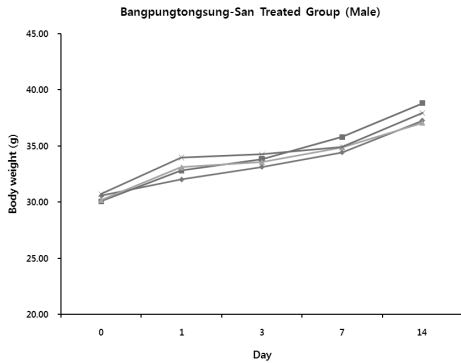


Fig. 1. Mean of Body Weight Changes of ICR Mouse (male) Orally Treated with Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) in Acute Toxicity. C; Control Group, T₁; 1250 mg/kg(day) Administered Group, T₂; 2500 mg/kg(day) Administered Ggroup, T₃; 5000 mg/kg(day) Administered Group

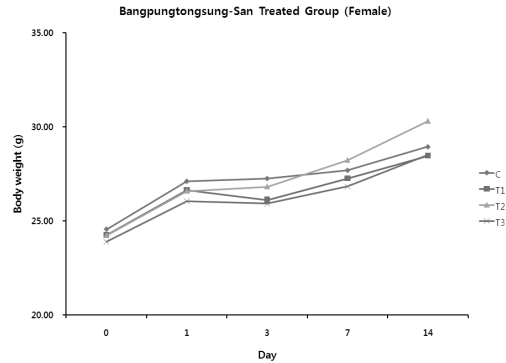


Fig. 2. Mean of Body Weight Changes of ICR Mouse (female) Orally Treated with Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) in Acute Toxicity. C; Control Group, T₁; 1250 mg/kg(day) Administered Group, T₂; 2500 mg/kg(day) Administered Group, T₃; 5000 mg/kg(day) Administered Group

Table VI-1. Autopsy Finding of Male ICR Mice Orally Treated with Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san)

Variable	\ Sex	Male			
		C	T ₁	T ₂	T ₃
	\ Group				
\ Dose(mg/kg)		0	1250	2500	5000
\ No. of animal		5	5	5	5
normal		5	5	5	5
abnormal		0	0	0	0

Autopsy finding at 1 day treatment of test substances.

C; Control group, T₁; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 1250mg/kg(day) medication group, T₂; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 2500mg/kg(day) medication group, T₃; Extraction of Bangpungtongsung-san (Fangfengtongsheng-san) 5000mg/kg(day) medication group.

Table VI-2. Autopsy Finding of Female ICR Mice Orally Treated with Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san)

Variable	\ Sex	Female			
		C	T ₁	T ₂	T ₃
	\ Group				
\ Dose(mg/kg)		0	1250	2500	5000
\ No. of animal		5	5	5	5
normal		5	5	5	5
abnormal		0	0	0	0

Autopsy finding at 1 day treatment of test substances.

C; Control group, T₁; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 1250mg/kg(day) medication group, T₂; Extraction of Bangpungtongsung-san(Fangfengtongsheng-san) 2500mg/kg(day) medication group, T₃; Extraction of Bangpungtongsung-san (Fangfengtongsheng-san) 5000mg/kg(day) medication group.

5. LD₅₀ 값

방풍통성산 한계용량(5000 mg/kg/day) 1회 경구 투여 시, ICR(mouse) 암·수컷에 무독하여 LD₅₀ 값은 산출되지 않았다.

IV. 결론 및 고찰

방풍통성산은 金元四大家의 한 사람인 유(劉)³⁾의 선명방론(宣明方論)에 처음 수록된 처방으로 일체의 풍열(風熱)과 표리(表裏) 및 삼초(三焦)가 모두 실(實)해서 오는 제증(諸症)을 치료하는 대표적인 처방으로 좌(座), 풍자(風刺), 은진(隱疹), 과상풍(破傷風), 제풍조축(諸風潮瀉), 소아급만경풍(小兒急慢驚風), 대변비결(大便秘結), 사열폭심(邪熱暴甚), 신열(身熱), 두통여파(頭痛如破), 비색탁체(鼻塞濁涕) 등에 다양하게 응용되고 있는 처방이라 하였다. 또한 본 처방에 대하여 주(朱)⁴⁾는 근맥포련(筋脈抱攣), 신권(身倦), 수족마비(手足麻痺), 지체초위(肢體焦痿), 동통완마(疼痛頑麻), 과상중풍(破傷中風), 두항지체동통(頭項肢體疼痛) 등에 사용한다 하였고, 이⁵⁾는 음주중풍(飲酒中風), 변폐(便閉), 손설(殮泄), 타박질상(打撲跌傷), 외교옹저(外校癰疽), 창절발반(瘡癩發斑) 등에 응용된다 하였다.

방풍통성산에 대한 이화학적 연구로는 진통, 소염, 항균효과⁶⁾, 항알레르기 및 면역효과^{7,8)}, 간손상 독소해독 효과⁹⁾ 혈압강하 효과^{10,11)} 등이 있다. 방풍통성산의 항 비만 효능은 앞서 기술한 국내 연구결과뿐만 아니라 일본의 연구결과를 통해서도 확인되고 있다. 일본에서도 내당능장애가 있는 비만 여성들 대상으로 한 임상연구에서 방풍통성산이 비만치료에 유용하다는 결론을 내린 바 있으며²⁾, 쥐실험을 통해 방풍통성산이 비만과 고지혈증, 고혈압, 혈중 당, 인슐린, 총콜레스테롤 증가 등의 대사 장애 예방 효과가 있음을 보고하였다²⁾.

이와 같이, 방풍통성산의 항비만 효능에 대해서는

국내외적으로 이견이 없음을 다수의 연구보고로부터 확인할 수 있음에 반해, 방풍통성산의 안전성에 대한 과학적인 검증 결과는 찾아보기가 어렵다. 이에, 본 연구에서는 방풍통성산을 ICR마우스에 투여하여 급성 독성시험을 통해 방풍통성산의 안전성을 검증하고자 하였다. 방풍통성산에 대한 급성 독성과 안전성 문제에 대한 자료를 확보하기 위하여 전탕액을 동결건조하여 ICR 계통의 mouse 암·수에 각각 0, 1250, 2500, 5000mg/kg 용량으로 경구투여하고 14일간 사망률, 일반증상, 체중의 변화 및 부검소견을 관찰하여 독성 증상 발현 여부를 관찰하였다. 그 결과 방풍통성산 투여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며 LD₅₀값은 5000mg/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다. 이상의 결과에서 방풍통성산은 ICR mouse 암·수컷에 안전한 물질로 작용되는 것으로 사료된다.

V. 감사의 글

이 연구는 교육과학기술부 지원 한국한의학연구원 기관고유사업 K09040의 지원을 받아 수행되었음.

VI. 참고문헌

1. 보건복지가족부 질병관리본부. 2007 국민건강영양조사. 2008.
2. 황미자, 신현대, 송미연. 2000년 이후 비만치료에 사용되는 處方 및 本草에 대한 문헌연구-麻黃을 중심으로. 한방비만학회지. 2007;7(1):39-54.
3. 劉完素. 宣明方論(文淵閣西庫全書, 中醫學大系). 驪江出版社. 1988:76.
4. 朱瀾. 普濟方. 한성사. 1981:14.
5. 이정(李研). 의학입문. 한성사. 1977:307.
6. 성현제. 방풍통성산의 진통 소염 해열 및 항균작용에

- 관한 실험적 연구. 경희대학교대학원. 1984.
7. 이동현. 방풍통성산 및 방풍통성산 가미방이 항알레르기 및 면역반응에 미치는 영향. 경희대학교대학원. 1990.
 8. 손형재, 채병윤. 황련통성산 및 가미방풍통성산의 효능에 관한 실험적 연구. 경희의학. 1989;5(4): 448-57.
 9. 맹정균. 방풍통성산이 CCl₄ 중독백서의 혈액상에 미치는 영향. 경희대학교대학원. 1985.
 10. 이남훈, 신길조, 조기호, 김영석, 배형섭, 이경섭. 방풍통성산이 고혈압, 고지혈에 미치는 영향. 경희의학. 1991;7(1):101-9.
 11. 이영화, 김경철, 이용태. 방풍통성산이 L-NAME 유발 및 SHR 흰쥐의 고혈압에 미치는 영향. 동의생리학회지. 1999;14(2):43-54.
 12. 안정미, 김성수, 신현대. 방풍통성산이 비만유도 백서의 체중 및 지질대사에 미치는 영향. 경희의학. 1993;9(1):69-8
 13. 최은미, 류은경. 비만환자에 대한 방풍통성산의 치료효과. 대한한방비만학회지. 2001;1(1):57-62.
 14. 배정환, 정석희, 이종수, 김성수, 신현대. 비만 환자에 있어 양혜(방풍통성산)의 유용성 평가를 위한 임상시험. 한방재활의과학회지. 2002;13(1): 37-46.
 15. 식품의약품안전청고시. 의약품등의 독성시험방법. 제 2006(60), 2006.
 16. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 영림사. 2004.
 17. Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology. New York:Raven press. 1984:17-9.
 18. 황상준, 송태원, 오민석. 방풍통성산이 고지방사료 식이로 유발된 비만생쥐에서 비만 유전자 및 관련 인자에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2006;27(1): 11-22.
 19. 신병철, 송용선. 방풍통성산이 백서의 비만증 및 비만세포에 미치는 영향. 한방재활의학회지. 1997; 7(1):101-18.
 20. 이상민, 김병우, 권기록, 임태진, 김동희. 추출방식에 따른 防風通聖散이 지방세포 대사에 미치는 영향. 대한약침학회지. 2008;11(1):163-76.
 21. Hioki C, Yoshimoto K, Yoshida T. Efficacy of bofu-tsusho-san, an oriental herbal medicine, in obese Japanese women with impaired glucose tolerance. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2004;31(9):614-9.
 22. Shimada T, Kudo T, Akase T, Aburada M. Preventive effects of Bofutsushosan on obesity and various metabolic disorders. Biol Pharm Bull. 2008;31(7):1362-7.