

## Skin Spread of *Rhubarb* Mixed with *Olibanum* and *Myrrha* Decreases KC Level in Skin and Serum Following Scald Burn Injury

Jin-Yong Choi<sup>†</sup> and Byung-Soo Kang

Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Kyongju 780-350, Korea

The present study was conducted to determine whether local production of neutrophil chemoattractant cytokines preceded the influx of neutrophils following dermal scald burn injury. In order to inhibit the influx of neutrophils, we induced scald burn injury on dorsal skin of rats (TBSA 15%) and spread *Rhubarb* (*R. undulatum* L.) and complex (*Rhubarb*+*Olibanum*+*Myrrha*) on scald skin in rats.

1. Levels of dermal KC, the indicator of skin inflammation, caused by burn gradually increased 5 hours, 24 hours ( $p<0.001$ ) and 72 hours ( $p<0.001$ ) after the burn occurred. After 24 hours it occurs, KC in skin was decreased by both skin spread of *Rhubarb* ( $p<0.05$ ) and complex ( $p<0.05$ ) compared to scald burn group. After 72 hours, KC by skin spread of *Rhubarb* and complex was significantly decreased ( $p<0.01$ ), and the inhibition effect of KC production by complex is higher than by *Rhubarb*.

2. KC content in serum was increased ( $p<0.01$ ) at 24 hours after burn injury and comes down back to the normal level after 72 hours. At 24 hours postburn, both *Rhubarb* ( $p<0.05$ ) and complex ( $p<0.01$ ) skin spread decreased KC in serum. The inhibition effect of KC production by complex skin spread group is higher than by *Rhubarb* skin spread group.

The data suggest that the KC production effects by *Rhubarb* skin spread group and complex skin spread group are high. Especially the endurance of the effect by complex skin spread group was longer than by *Rhubarb* skin spread group. The inhibition effect of KC production by complex skin spread group increases more than by *Rhubarb* skin spread group as time passes.

**Key Words:** Scald Burn, KC, *Rhubarb*, Neutrophil

### 서 론

화상은 고대로부터 시작하여 현대에 이르기까지 여전히 세계적으로 발병률과 사망률이 대단히 높고 환자에게 큰 고통과 후유증을 동반하는 심각한 손상으로 분류된다. 최근 화상 환자의 임상 결과에 대한 통계적 분석을 보면 28.1%가 Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS) 증상을 보이며, MODS 환자의 78~98%가 사망에 이른다고 하였다<sup>13</sup>. 이렇듯 MODS는 화상 연구에 있어서 매우 중요한 관건으로 떠오르고 있지만 아직까지 화상 치료에 대한 근본적인 해결책이 제시되지 못하고 있는 실정이다.

화상에 의해 초래되는 피부 장벽의 심각한 손상은 화상 동물의 전신감염이나 패혈성 쇼크의 상태에 이르게 할 수도 있다<sup>2,7,10,12,21</sup>. 이처럼 화상은 심각한 염증반응과 면역기능 장

애를 유도하는 것으로 알려지고 있으며, 화상 조직의 피하 부분에 현저한 면역기능 이상<sup>12</sup>과 림프계와 조혈계의 기능 변화가 나타나는데 그 근본은 순환계 내 염증 전구물질의 생성변화로 인한다고 하였다<sup>6,8,19,20,22,23</sup>. 그러므로 화상은 염증 다단반응의 활성화와 조절의 변화를 유도한다고 할 수 있을 것이다. 이에 염증 다단반응을 저해할 것으로 판단되는 대항을 이용하여 피부화상으로 인한 염증 매개체의 생성 억제 효능을 검토해 보고자 하였다. 하지만 대항에 대한 연구는 rhein, chrysophanol (chrysophanic acid), emodin (rheum emodin), aloe emodin, physcione (parietin, rheochrysidin) 및 이들의 배당체와 senoside A, B, C 등의 성분분석<sup>1</sup>, 그리고 사하작용<sup>4</sup>, 항산화효과<sup>6</sup>와 간손상에 미치는 효과<sup>29</sup>, 그리고 암세포의 성장 억제효과<sup>17</sup>에 대한 연구들이 있을 뿐 화상에 대한 효능을 연구한 사례는 찾아보기 어렵다. 따라서 본 연구는 현대 화상 치료약이 만족할 만한 효과가 비교적 적다고 생각되어 화상 치료에 보다 유효한 약물개발을 목적으로 재배산 종대항을 화상 피부에 도포한 후 피부조직과 순환계 내 호중구 유입을 촉진하는 neutrophil chemoattractant cytokine의 생성에

\*논문 접수: 2001년 6월 1일

수정재접수: 2001년 8월 28일

<sup>†</sup>별책 요청 저자: 최진용

미치는 영향을 검토하였고, 아울러 진통 소염작용<sup>28,30)</sup>이 있는 유탄과 몰약을 복합적으로 사용하여 대황의 효능을 증가시키는지도 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 약재

본 실험에 사용한 약재는 영천시장에서 구입한 양질의 종대황 (*Rheum undulatum* L.) 300 g, 유탄 300 g, 그리고 몰약 300 g을 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 확인, 구입한 후 정선하여 사용하였다.

### 2. 피부화상의 유도

250±20 g의 Sprague-Dawley종 수컷 흰쥐를 이용하여 ketamine hydrochloride를 복강 투여하여 마취시킨 다음 등쪽 부분 (dorsal surface)의 털을 8×10 cm 넓이로 깎고 (total body surface area; TBSA, 15%)<sup>29)</sup>, 100℃ 물로 10초간 데인 후 각각 5시간, 24시간, 72시간이 경과한 다음 처치하고, 실험에 사용하였다.

### 3. 대황과 대황 복합제의 피부 도포

대황의 피부 도포를 위하여 건조시킨 종대황의 뿌리를 분말로 만든 다음, 개체 당 3 g을 생리식염수로 반죽하여 화상 유발 직후 화상 환부에 1회 도포하였다. 유탄과 몰약도 각각 분말로 만든 다음, 대황, 유탄, 몰약을 100:10:10 (W/W) 비율로 섞어 개체 당 3 g을 생리식염수로 반죽하여 화상 유발 직후 화상 환부에 1회 도포하였다.

### 4. 피부조직과 혈청 내 KC 함량 측정

피부조직과 혈청 내 호중구 침윤 유도물질인 KC (neutrophil chemoattractant cytokine) 생성 정도를 파악하기 위하여 mouse KC immunoassay kit (R&D, MN, USA)를 사용하였다. 피부조직을 적출하여 4.0 ml의 pH 7.4, 50 mM potassium phosphate를 가하여 조직 분쇄한 다음 3,000 rpm으로 10분간 원심분리한 다음 상등액을 채취하였다. 채취한 상등액으로 assay procedure에 따라 시행하여 microtiter plate reader (BioRad 550, CA, USA)을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하고 그 함량을 계산하였다. 혈청의 분리는 실험동물을 ether로 흡입 마취시킨 후 복부정중선을 따라 개복하고, 복대동맥으로부터 채혈하여 3,000 rpm으로 30분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청을 이용하여 피부조직과 같은 방법으로 측정하고 그 함량을 계산하였다.

### 5. 혈청 중 단백질 함량 측정

피부화상 후 나타나는 혈청 중 단백질의 함량을 측정하기

위하여 bicinconinic acid와 반응시켜 562 nm에서 흡광도를 측정하고 총단백질 함량을 계산하였다.

### 6. 통계처리

각 실험군간의 비교를 위한 통계처리는 SPSS WIN 프로그램을 이용하여 유의수준 0.05로 하는 일원배치 분산분석 (ANOVA)을 사용하였다.

## 결 과

### 1. 피부조직 내 KC 생성변화

화상 후 시간 경과에 따른 피부조직 내 neutrophil chemokine인 KC 생성변화를 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 화상 유발 5시간 후, 피부조직 내 KC 함량은 큰 변화를 보이지 않았으며, 대황과 복합제 도포군 모두에서 유의한 변화를 보이지 않았다. 화상 유발 24시간 후, 정상군과 비교하여 볼 때 피부조직 내 KC 함량은 유의하게 증가되었고 ( $p<0.001$ ), 대황의 피부 도포로 KC 생성은 유의하게 감소되었으며 ( $p<0.05$ ) 복합제 도포 또한 KC 생성을 유의하게 감소시켰다 ( $p<0.05$ ). 하지만 대황 도포군과 복합제 도포군의 차이는 보이지 않았다. 화상 유발 72시간 후, 대조군과 비교하여 볼 때 피부조직 내 KC 함량은 14배 이상 증가되었고 ( $p<0.001$ ), 대황 도포군은 화상군과 비교하여 68% 감소되었으며 ( $p<0.01$ ) 복합제 도포군은 83% 감소되었다 ( $p<0.01$ ).

화상 후 피부조직 내 KC의 함량은 시간이 경과함에 따라 비교해 보면 5시간 후, 24시간 후, 72시간 후 그 함량은 점진적으로 증가되었으며, 대황과 복합제의 효능 또한 시간이 경과함에 따라 증가되는 것으로 나타났다.

### 2. 혈청 중 KC 생성변화

화상 후 시간 경과에 따른 혈청 중 생성된 KC의 함량변화를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 화상 유발 5시간 후, 혈청 중 KC 함량은 증가되었으나 대황과 복합제 도포에 의한 변화는 나타나지 않았다. 화상 유발 24시간 후, 혈청 내 KC의 함량은 정상군과 비교하여 2.1배 증가되었고 ( $p<0.01$ ) 대황 도포군에서는 화상군과 비교하여 볼 때 KC 함량이 57.8% 감소되었으며 ( $p<0.05$ ), 복합제 도포군에서는 67.4% 감소되어 ( $p<0.01$ ) 나타났다. 화상 유발 72시간 후, 혈청 내 KC 함량은 감소되어 정상군과 비교하여 그 함량은 큰 차이를 보이지 않았으며, 대황과 복합제 도포군에서도 KC 함량에 큰 변화를 보이지 않았다.

화상으로 인한 혈청 중 KC의 함량은 화상 유발 24시간 경과 후에 가장 높게 나타났으며, 72시간 후에는 정상군과 유사한 함량을 보였다.

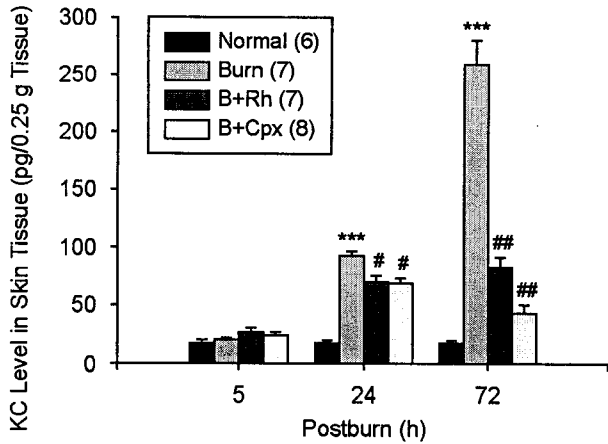


Fig. 1. Levels of PMN chemokine, KC, in the skin after burn injury and the changes of KC level by skin spread of Rhubarb and complex. Data are expressed as mean±S.E. The numbers of determinations is in the parentheses. \*\*\*p<0.001 from normal skin, #p<0.05, ##p<0.01 from burn injured skin. Rh: *Rhubarb*, Cpx: *Rhubarb+Olibanum+Myrrha*

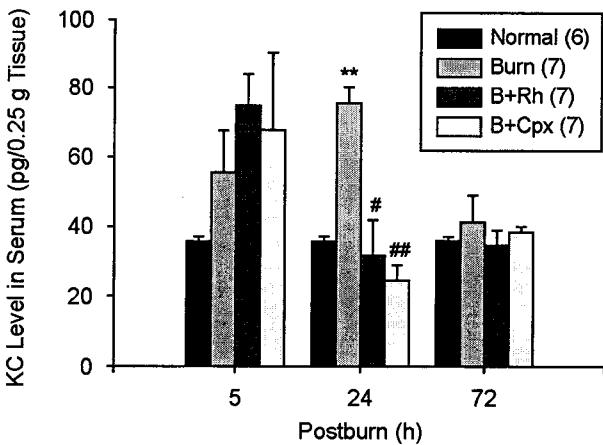


Fig. 2. Levels of PMN chemokine, KC, in the serum after burn injury and the changes of KC level by skin spread of Rhubarb and complex. Data are expressed as mean±S.E. The numbers of determinations is in the parentheses. \*\*p<0.01 from normal skin, #p<0.05, ##p<0.01 from burn injured skin. Rh: *Rhubarb*, Cpx: *Rhubarb+Olibanum+Myrrha*

### 3. 혈청 중 단백질 함량변화

화상 후 혈액 중에 변화된 단백질의 함량을 알아보기 위하여 실시한 혈청 중 총단백질의 함량변화를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다.

화상 유발 5시간 후, 정상군과 비교하여 20.2% 감소되어 나타났고 복합제 도포군에서 화상군과 비교하여 약간 증가되는 경향이었으나 통계적 유의성은 없었다. 화상 유발 24시간 후, 정상군과 비교하여 단백질의 함량은 감소되었고, 대항 도포군과 복합제 도포군에서 화상군과 비교하여 단백질

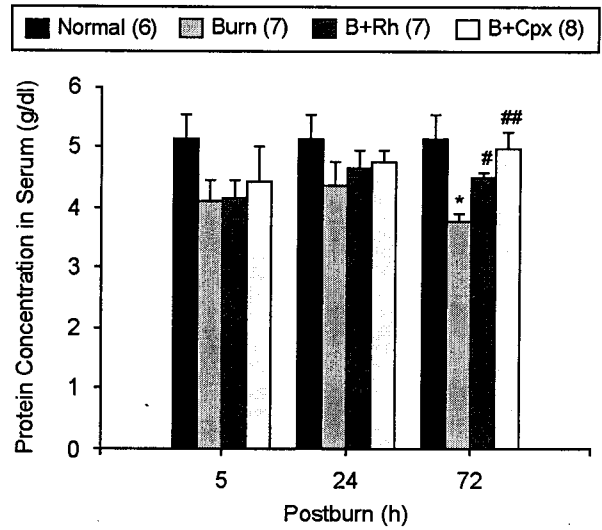


Fig. 3. Protein concentration in the serum after burn injury and the changes of protein concentrations by skin spread of Rhubarb and complex. Data are expressed as mean±S.E. The numbers of determinations is in the parentheses. \*p<0.05 from normal skin, #p<0.05, ##p<0.01 from burn injured skin. Rh: *Rhubarb*, Cpx: *Rhubarb+Olibanum+Myrrha*

함량이 증가되는 경향이었으나 모든 실험군간의 유의성은 나타나지 않았다. 화상 유발 72시간 후, 화상군은 정상군과 비교하여 볼 때 26.6% 유의한 감소율을 보였고 (p<0.05) 대항 도포군이 화상군과 비교하여 19.6% (p<0.05), 복합제 도포군이 31.7% (p<0.01) 증가되어 나타났다.

### 고 찰

화상은 크게 피부 접촉과 흡입의 경로를 통해 야기되며 그 임상적 증상과 치료는 서로 달리고 있다. 하지만 화제와 같은 재난 시는 두 종류의 화상이 복합적으로 나타나게 되어 문제는 더욱 심각하게 된다. 하지만 본 연구는 피부화상에 국한된 것이어서 흡입 화상에 대해서는 언급하지 않기로 하였다.

피부화상으로 발생되는 혈관 투과성의 변화는 화상 후 초기에 손상을 일으키는 원인이 되는데, 이러한 투과성의 증가는 초기에 histamine에 의해 발생되며 이러한 반응은 화상 후 1시간 내에 발생된다고 하였다<sup>3,18,27</sup>. 그러나 Demling과 LaLonde<sup>9</sup>에 의하면 이러한 혈관 투과성의 증가는 말기에 또 다른 매개현상에 의해 투과성 증가가 유지된다고 하였는데, 이것은 염증 매개체에 의해서 유도되는 염증반응의 증가가 하나의 원인으로 알려져 있다. 본 실험의 결과에서 혈청 중 단백질의 함량은 화상 유발 5시간 후가 24시간 후 보다 더 낮게 나타났고 화상 유발 72시간 후에 단백질의 함량은 화상 유발 5시간 후 보다 더 현저하게 감소되어 나타났다. 이

러한 결과는 화상으로 인한 순환계 변화가 초래되었음을 보여주는 것이며, 혈관 투과성 증가는 초기에만 변화하는 것이 아니라는 것을 보여주고 있는 것이다. 특히 72시간 후의 혈관 투과성 증가는 호중구의 침윤에 의한 hydrogen peroxide의 생성과 밀접한 연관성이 있는 것<sup>19</sup>으로 추측하였다. 따라서 호중구 유입과 관련된 면역 사이토카인인 KC의 변화를 추적해 보고자 하였다.

피부는 외부 침입자들로부터 방어 장벽으로 작용하므로 화상에 의한 피부 손상은 염증반응과 면역기능 이상을 초래하게 된다<sup>2,7,10,12,21</sup>. 또한 림프계와 조혈작용계의 기능에도 변화를 초래하며 순환계 내 tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1, interleukin-1ra, interleukin-6와 같은 염증 매개체의 함량변화로 인해 염증반응이 조절된다고 하였다<sup>6,8,19,20,22,23</sup>. 염증부위에는 다른 백혈구와 마찬가지로 호중구의 침윤이 발생되는데, 그것은 chemotactic cytokine의 국소적 생성 때문인 것으로 추측된다<sup>25</sup>. 흰쥐의 interleukin-8 (IL-8)은 잘 알려진 호중구 chemokine으로 human IL-8과 동일한 기능을 가진 IL-8 family로 KC와 macrophage inflammatory protein-2가 있으며, 이러한 IL-8계 물질들은 다양한 염증반응에서 호중구 유입에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>24</sup>. 하지만 피부화상 시 호중구 유도물질의 국소적 생성과 관련된 보고들은 몇몇에 불과하며<sup>9,11</sup>, 본 실험에서 화상 피부조직 내, 혈액 중의 KC 함량과 시간에 따른 변화를 관찰한 것은 화상 시 호중구의 피부조직 내 유입이 이후 연속적으로 일어날 반응의 기폭제이며, 이러한 반응을 차단함으로써 화상 치료의 근본적인 방법을 일부 알게 될 것이다.

본 실험 결과, 대황의 피부 도포 시 화상 유발 5시간, 24시간 후에는 혈청 중 단백질의 함량변화에 효능을 보이지 않았으나, 72시간 후에는 화상에 의해 감소된 단백질 함량을 유의적으로 증가시켜 대황이 호중구 침윤에 강력한 저해 효과가 있는 것을 추측할 수 있었다. 그리고 유탄과 몰약을 첨가한 복합제 도포 시 그 효과는 더 상승되는 것으로 나타났다. 이러한 추측은 본 실험의 피부조직 내 KC 함량을 측정한 결과에서 알 수 있는데, 화상 유발 후 피부조직 내 KC의 함량은 5시간 후 큰 함량변동을 보이지 않았고, 뿐만 아니라 대황의 효과도 나타나지 않았다. 하지만 화상 유발 24시간 후에는 KC 함량이 현저히 증가되었고 72시간 후에는 24시간 후 보다 2배 이상 증가되어 나타났다. 그리고 대황의 피부 도포로 KC의 함량은 감소되었는데 24시간 후와 72시간 후의 감소효과는 72시간 후가 더 큰 것으로 나타나 대황의 피부 도포는 호중구 침윤을 유도하는 물질의 생성을 저해하는 효과가 아주 큰 것을 알 수 있었다. 복합제의 경우 대황 단일제 보다 KC 생성 저해율이 더 높은 것으로 나타났다. 혈청 중 KC 함량은 내부 장기에 호중구의 침윤을 알 수 있는 간접적인 지표로, 본 실험 결과 화상 유발 5시간

후에 증가되었고 24시간 후에 현저히 증가되었다가, 72시간 후에는 정상군 수준으로 회복되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 혈청 중 KC 함량의 변화는 MODS와 아주 밀접한 연관성이 있음을 나타내는 것으로 대개 MODS는 5시간 후부터 내부 장기에 뚜렷한 염증성 손상 변화가 나타나는 것으로 볼 때<sup>4</sup>, 72시간 후에 나타난 KC 함량의 감소는 화상에 의한 내부 장기로의 파급 영향이 72시간 내에 종료되리라는 것을 추측케 하였다. 그리고 대황의 효과가 화상 유발 5시간 후에는 나타나지 않다가 24시간 후에 나타난 것은 대황성분이 피부로 침투되어 순환계를 통해 내부 장기에 효과를 나타내기까지 지연기간이 있는 것으로 판단되었다. 화상 유발 24시간 후, 대황 단일제 도포 시와 복합제 도포 시 모두 혈청 KC 함량을 감소시켰는데, 그 효과는 복합제가 대황 단일제보다 더 높은 것으로 나타났다.

이와 같은 결과를 통해 볼 때 대황은 급성염증 시 호중구에 의한 oxidative stress를 저해하는 효과가 큰 것으로 나타났는데, 그것은 호중구 유도물질인 KC의 생성을 억제시키는 효과 때문인 것을 알 수 있었다. 하지만 대황의 피부 도포는 화상으로 인한 내부 장기의 손상을 방지하기에는 약효의 시간적 지연문제를 가지지만 KC 생성 억제효과에 아주 유효하며, 그 효능은 유탄과 몰약을 첨가함으로써 더 증가되는 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

- 1) 江蘇新醫學院 編 (1980): 中藥大辭典. 上海, 上海科學出版社. pp. 102-108, pp. 1167-1169, pp. 1379-1381.
- 2) Alexander JW (1990): Mechanisms of immunologic suppression in burn injury. *J Trauma*, **30**: S70.
- 3) Arturson G and Mellander S (1964): Acute changes in capillary filtration and diffusion in experimental burn injury. *Acta Physiol Scand*, **62**: 4577-5463.
- 4) Choi GS (1994): A comparative study on the effects and contents of the sennoside A, B of *Rhei rhizoma* and processed *Rhei rhizoma*. M.S. thesis, Sang Gi university.
- 5) Demling RH and LaLonde C (1990): Early postburn lipid peroxidation: Effect of ibuprofen and allopurinol. *Surgery*, **107**: 85-93.
- 6) Drost AC, Bursleson DG, Cioffi WG et al. (1993): Plasma cytokines after thermal injury and their relationship to infection. *Ann Surgery*, **218**: 74-78.
- 7) Faunce DE, Gregory MS and Kovacs EJ (1997): The effects of acute ethanol exposure on cellular immunity in a murine model of dermal injury. *J Leukocyte Biol*, **62**: 733-740.
- 8) Faunce DE, Gregory MS and Kovacs EJ (1998): Acute al-

- cohol exposure prior to thermal injury results in decreased T-cells responses mediated in part by increased production of interleukin-6. *Shock*, **10**: 135-140.
- 9) Faunce DE, Llanas JN, Patel PJ et al. (1999): Neutrophil chemokine production in the skin following scald injury. *Burns*, **25**: 403-410.
  - 10) Gamelli RL, He L-K and Liu H (1994): Marrow granulocyte-macrophage progenitor cell response to burn injury as modified by endotoxin and indomethacin. *J Trauma*, **37**: 339-346.
  - 11) Garner WL, Rodriguez JL, Miller CG et al. (1994): Acute skin injury releases neutrophil chemoattractants. *Surgery*, **116**: 42-48.
  - 12) Hansbrough J, Zapata-Sirvent R, Wang X et al. (1984): Characterization of the immunosuppressive effect of burned tissue in an animal model. *J Surg Res*, **37**: 383-393.
  - 13) Huang Y-S, Yang Z-C, Liu X-S et al. (1998): Serial experimental and clinical studies on the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in severe burns. *Burns*, **24**: 706-716.
  - 14) Hybertson BM, Bursten SL, Leff JA et al. (1997): Lisofylline prevents leak, but not neutrophil accumulation, in lungs of rats given IL-1 intratracheally. *J Appl Physiol*, **82**(1): 226-232.
  - 15) Hybertson BM, Lee YM, Cho HG et al. (2000): Alveolar type II cell abnormalities and peroxide formation in lungs of rats given IL-1 intratracheally. *Inflammation*, **24**(4): 289-303.
  - 16) Kim HS (1995): Protective effect of RU8 extracted from *Rhubarb* on the damage of gastric mucosa induced by oxygen radicals. M.S. thesis, university of Inchon.
  - 17) Lim HS (1997): Inhibitory activity against casein kinase II and suppressive effects on the cell growth in HeLa cells of Emodin, isolated from *Rhei Rhizoma*. M.S. thesis, Seoul national university.
  - 18) Lund T, Onarheim H and Wiig H (1989): Mechanisms behind increased dermal inhibition pressure in acute burn edema. *Am Physiol Soc*, **256**: H940-H948.
  - 19) Mallory R, O'Riordain M, Holzheimer R et al. (1993): Mechanism of increased tumor necrosis factor production after thermal injury; Altered sensitivity to PGE<sub>2</sub> and immunomodulation with indomethacin. *J Immunol*, **151**: 2142-2149.
  - 20) Mandrup-Poulsen T, Wogensen LD, Jensen M et al. (1995): Circulating interleukin-1 receptor antagonist concentrations are increased in adult patients with thermal injury. *Critical Care Med*, **23**: 26-33.
  - 21) Miller CL and Baker CC (1979): Changes in lymphocyte activity after thermal injury. *J Clin Invest*, **63**: 202-210.
  - 22) Ogle CK, Mao J, Wu J et al. (1994): The 1994 Linberg Award. The production of tumor necrosis factor, interleukin-1, interleukin-6, and prostaglandin E<sub>2</sub> by isolated enterocytes and gut macrophages: Effect of lipopolysaccharide and thermal injury. *J Burn Care Rehabil*, **15**: 470-477.
  - 23) Rodriguez JL, Miller CG, Garner WL et al. (1993): Correlation of the local and systemic cytokine response with clinical outcome following thermal injury. *J Trauma*, **34**: 684-695.
  - 24) Rollins BJ (1997): Chemokines. *Blood*, **90**: 909-928.
  - 25) Schall T (1994): The cytokine Handbook. New York, Academic Press.
  - 26) Spector WS (1956): In: Handbook of Biological Data. Philadelphia, PA Saunders, p. 157.
  - 27) Tanaka H, Lund T, Wiig H et al. (1999): High dose vitamin C counteracts the negative interstitial fluid hydrostatic pressure and early edema generation in thermally injured rats. *Burns*, **25**: 569-574.
  - 28) Yoo DY (1980): Effects of *Olibanum* and *Myrrha* on analgesic and anti-inflammatory action. M.S. thesis, Kyunghee university.
  - 29) Yoon IJ (1987): Effect of water extract of *Rhei Rhizoma* on CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in rats. M.S. thesis, Yeungnam university.
  - 30) Yoon YS (1992): Analgesic effects of aqua-acupuncture with the *Olibanum* and *Myrrha* extract in mice. M.S. thesis, Wonkwang University.