간암세포주의 세포생존율에 근거한 溫家寶 (홍삼, 당귀, 오미자, 토사자, 울금)의 君臣佐使論的 解釋

황성연[1], 정경채[2], 안성훈[3,4]

[1](주)한국전통의학연구소, [2]국립암센터 분자종양학연구과, [3]원광대학교 한의과대학 경혈학교실, [4]한국전통의학연구소

An Analytical Research of ONGABO with the Sovereign, Minister, Assistant and Courier Principle (君臣佐使論) on the Basis of HepG2 Cell Viability

Sung-Yeoun Hwang[1], Kyung-Chae Jeong[2], Seong-Hun Ahn[3,4]

[1]Korea Bio Medical Science institute, [2]Molecular Oncology Branch, National Cancer Center,
[3]Department of Meridian and Acupoint, College of Oriental Medicine, Wonkwang University,
[4]Research Center of Traditional Korean Medicine

Objectives and Methods: This study was conducted to investigate the formula of ONGABO to composed of Ginseng Radix (Red Ginseng), Angelica Gigantis Radix, Schisandrae Fructus, Cuscuta Semen, Curcumae Tuber with the method to observe the cell viability of HepG2 in the basic principle of oriental medicine formula study, Sovereign, Minister, Assistant and Courier principle (君臣佐使論).

Results: Ginseng Radix (Red Ginseng) and Schisandrae Fructus were having a cell protection effect in HepG2 significantly. Angelica gigantis radix was decreased the cell viability of HepG2 significantly, and there were no effects for Cuscuta Semen and Curcumae Tuber to the cell viability of HepG2.

Conclusions: As the above results, in the Sovereign, Minister, Assistant and Courier principle (君臣佐使論), Ginseng Radix (Red Ginseng) corresponds to sovereign medicinal having cell protect effects, angelica gigantis radix corresponds to minister medicinal having cell killing effects, Schisandrae Fructus corresponds to assistant medicinal to help red ginseng having cell protect effects. Cuscuta Semen and Curcumae Tuber correspond to courier medicinal having no effect in cell viability in HepG2. We hope the advanced research on sovereign, minister, assistant and courier principle will be proceed in the tomorrow.

Key Words: Ongabo, Sovereign, Minister, Assistant and Courier principle, HepG2, cell viability

서 론

"군신좌사론"은 고대 군주제도의 통치형태를 본따서 성립된 방제구성의 기본 원칙으로 『素問』「至眞要大論」에서 "主病之謂君 佐君之謂臣 應臣之謂使"란 문구를 근거로 발전한 君臣佐使論은 여러 가지 약물을 배합하여 약물의 효능을 높이고 부작용을 줄이는 방법이라 하겠다.[1)]

온가보(溫家寶)는 홍삼(紅蔘), 당귀(當歸), 오미자(五味子), 토사자(土絲子), 울금(鬱金)으로 조성된 창방으로, 구성약물 각각의 밝혀진 약리적 효능은 다음과 같다.

홍삼은 오갈피나무과(Araliaceae) 인삼 속(Panax)에 속하는 다년생 초본류인 인삼[2)]을 장기간 저장할 목적으로 수증기로 2~3시간 정도 찐 다음 말리는 과정, 즉 수삼(水蔘)의 전분이 호환되는 수치 과정을 거치면서 수삼 표피의 색이 붉게 되기 때문에 홍삼이라 불리고 있다. 최근에 보고된 홍삼의 약리효과는 항당뇨 효과,[3,4)] 항산화 효과,[5)] 피부보습 효과,[6)] 항암 효과,[7)] 항고지혈증 효과[8)] 등으로 알려져 있다.

당귀(Angelicae Gigantis Radix)는 미나리과에 속하는 다년생 초본의 뿌리로서 性은 溫無毒, 味는 甘辛하며 歸經은 心, 肝, 脾經의 三經이다. 또한 당귀는 養血潤燥, 活血舒筋하는 기능을 가지며 일절 血症에 대한 주치를 가지고 있다.[9)] 최근에 보고된 약리작용으로는 항산화 효과,[10,11)] 면역증진 효과,[12)] 항혈전 효과,[13)] 항염 효과[14)] 등이 있다고 알려져 있다.

투고일: 2013년 12월 2일, 심사일: 2013년 12월 6일, 게재확정일: 2013년 12월 11일

교신저자: 안성훈, 570-749, 전북 익산시 신용동 344-2
원광대학교 한의과대학 경혈학교실
Tel: 063-850-5994, Fax: 063-857-6458
E-mail: drpoint @wku.ac.kr

오미자(Schisandrae Fructus)는 목련과에 속한 낙엽 목질 등본인 오미자(북오미자) *Schizandra chinesis (TURCZ.) Baill* 또는 화중오미자(남오미자) *Kadsura japonica (L.) Dunal*의 완숙한 과실을 건조한 것[15]으로 未酸하고 性溫하며 斂肺滋腎, 澁精止瀉, 生津斂肝[16]하며, 최근에 보고된 약리작용으로는 중추신경흥분, 진해거담, 자궁흥분, 항균 등[17,18]이 있으며, 특히 간세포의 지방성 변화 억제, 오미자로부터 추출되어 인공합성된 diphenyl-dimethyl-dicarboxylate (PMC)는 CCl_4에 의한 간손상 억제[19]하는 등 간보호 효과가 있다. 이 외, 항산화 효과,[20,21] 항빈혈 효과,[22] 항미백효과[23]가 있음이 알려져 있다.

토사자(Cuscuta Fructus)는 선화과(메꽃과; *Convolvulaceae*)에 속한 일년생 기생초본인 갯실사삼(*Cuscuta chinensis Lam.*), 새삼(*Cuscuta japonica Choisy*), 실새삼(*Cuscuta australis R. Brown*)의 동속 근연식물의 성숙한 종자를 건조한 것[24]으로 간장기능장애 회복 작용[25], 항암 작용[26], 항산화 작용[27], 혈관이완 효과[28] 등이 알려져 있다.

울금(Curcumae Tuber)은 생강과에 속한 다년생 숙근본초인 울금(*Curcuma Longa Radix*)의 괴근을 건조한 것으로 가을과 겨울에 莖葉이 고위한 후 채취하여 수근과 니사를 제거하고 끓는 물에 삶거나 쪄서 取乾하여 사용한다. 性은 凉, 味는 辛苦하고 無毒하여 心, 肝 二經에 들어가고 겸하여 肺, 膽經 氣分에 들어가 行氣解鬱하고 또한 血分에 들어가 凉血疎瘀하므로 血中의 氣藥이 된다. 최근에 보고된 울금의 약리작용은 간손상억제[29], 항염과 항산화 작용[30], 항균작용[31]이 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구는 최근에 보고된 연구 결과를 근거로 홍삼, 당귀, 오미자, 토사자, 울금을 구성하여 이를 온가보라 이름하고, 유효성을 관찰하고자 HepG2 간암 세포주를 배양하여 온가보 구성물을 단미(單味)와 복미(復味)로 나누어 각각의 세포증식에 미치는 효과를 비교하고 온가보 처방의 의의를 고전의 군신좌사론에 의거하여 살펴보고 다음의 결론에 도달하였으므로 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료 및 방법

1) 약물 제조 및 추출방법: 본 연구는 우석대학교 본초학교실에서 검증 받은 홍삼(강화도 산지, 6년근), 당귀, 오미자, 토사자, 울금(이하, (주)옴니허브, 한국)을 분말로 제조한 후 ethanol 100%에 3일간 냉침하여 용출시킨 추출물을 감압 농축 후 동결 건조하여 사용하였다.

2) 온가보 약물 구성비: 본 연구에 사용된 구성약물의 각각의 비율은 다음과 같다(Table 1).

3) 암세포주 배양: HepG2 간암세포주는 국립암센터에서 분양 받아 사용하였다. 배양액은 Lonza 사의 MEGM BulletKit을 사용하였고, 간암세포주를 BulletKit에 포함된 BPE (Bovine Pituitary Extract), hEGF (human epidermal growth factor), hydrocortisone, isulin과 추가로 100 ng/ml cholera toxin, penicillin, streptomycin이 첨가된 MEGM medium에서 며칠간 배양하였다.

Table 1. The component ratio of ONGABO

Herbs	Weight (g)	Proportion (%)
紅蔘	6.5	48
當歸	2.5	19
五味子	2.5	19
兎絲子	1	7
鬱金	1	7
계	13.5	100

4) 세포 생존율 측정: 배양 중이던 세포를 trypsin/EDTA 용액으로 처리한 후, 96 well plate에 well당 각각 HepG2 간암세포주(10×10^3 cells)로 분주하고 배양하였다. 24시간이 지난 후에 배양 중이던 medium을 제거한 후, supplements를 제외하고 penicillin과 streptomycin만이 첨가된 MEGM medium에 각각의 추출물을 지정된 농도로 희석하여 각각의 well에 배양하였으며, 48시간을 추가로 배양한 후 세포의 생존율을 PrestoBlue (Invitrogen) 시약으로 확인하였다.

2. 통계분석

모든 실험은 3회 반복으로 수행하여 평균값과 표준편차로 나타내었다. 자료의 통계적 분석과 상관계수 값은 Microsoft Office Excel 2007과 origin 6.0 소프트웨어를 사용하였다.

결 과

1. 간암세포주(HepG2)에 대한 온가보의 구성약물 중 單味가 세포생존율에 미치는 영향

강화도 산지의 紅蔘 6년근 에탄올 추출물이 간암세포주(HepG2)의 세포 생존율에 미치는 영향을 다양한 농도에서 살펴본 결과, 紅蔘 에탄올 추출물은 간암세포의 생존율에 직접적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 실험에 관찰된 紅蔘 에탄올 추출물의 농도는 약 160 mg/ml에서 5 mg/ml까지 관찰하였으며 160 mg/ml의 농도에 이르러서야 71.5%의 세포 생존율이 관찰되어 크게 의미를 부여하지 못하였다(Fig. 1A).

(주)옴니허브에서 구입한 當歸의 에탄올 추출물이 간암세포주(HepG2)의 세포 생존율에 미치는 영향을 여러 농도에서 살펴본 결과, 當歸 에탄올 추출물은 비교적 낮은 농도에서 간암세포주의 세포 생존율에 영향을 미치고 있었다. 當歸 에탄올 추출물 15.6 mg/ml에서 약 82.9%의 세포생존율이 관찰되었으며 31.3 mg/ml에서는 약 39.4%의 세포생존율로 당귀 에탄올 추출물은 간암세포주의 생존율을 억제하

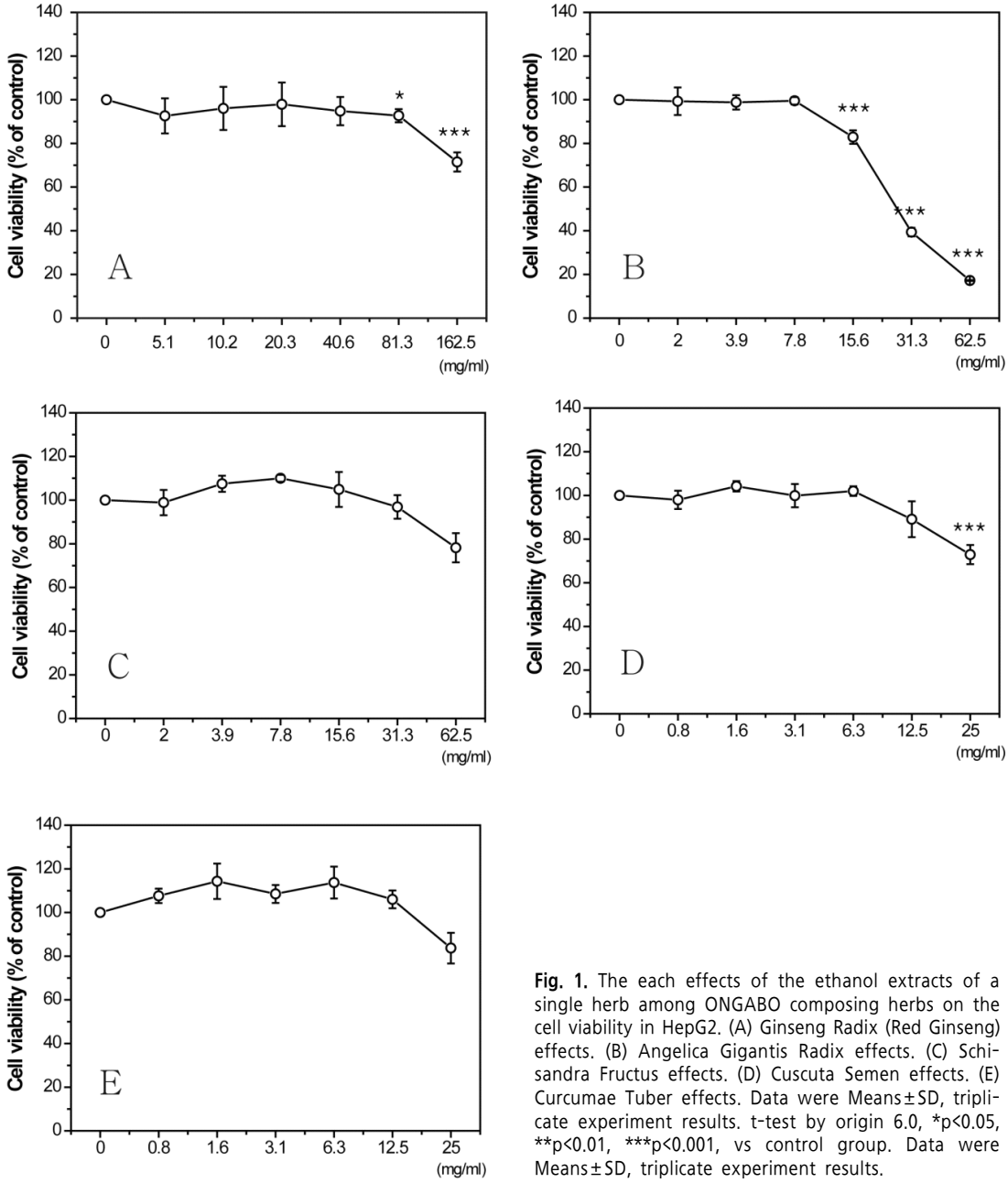

Fig. 1. The each effects of the ethanol extracts of a single herb among ONGABO composing herbs on the cell viability in HepG2. (A) Ginseng Radix (Red Ginseng) effects. (B) Angelica Gigantis Radix effects. (C) Schisandra Fructus effects. (D) Cuscuta Semen effects. (E) Curcumae Tuber effects. Data were Means±SD, triplicate experiment results. t-test by origin 6.0, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, vs control group. Data were Means±SD, triplicate experiment results.

고 있음이 관찰되었다(Fig. 1B).

五味子의 에탄올 추출물이 간암세포주(HepG2)의 세포생존율에 미치는 영향은 7.8 mg/ml의 농도에서는 약 110.0%로 다소 증가시키나 농도가 높아져 62.5 mg/ml에서는 78.2%를 나타내어 간암세포주의 세포생존율에는 영향을 약간 미치는 것으로 판단되었다(Fig. 1C).

兎絲子 에탄올 추출물이 간암세포주의 세포 생존율에 미치는 영향은 비교적 낮은 0.8～25.0 mg/ml의 농도에서 紅蔘 에탄올 추출물의 결과와 유사한 결과를 나타내어 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다(Fig. 1D).

鬱金 에탄올 추출물이 간암세포주의 세포 생존율에 미치는 영향은 五味子 에탄올 추출물의 관찰결과와 유사하며 낮은 농도인 0.8～12.5 mg/ml에서는 간암세포주의 세포생존율을 다소 증가시키지만 83.7 mg/ml에서는 83.7%의 세포생존율이 관찰되었다(Fig. 1E).

2. 간암세포주(HepG2)에 대한 온가보 구성약물 중 複味가 세포생존율에 미치는 영향

다음은 온가보의 구성약물 별 상승효과(synergy effect)를 관찰하기 위하여 紅蔘과 當歸의 상승효과(A), 紅蔘과 鬱金의 상승효과(B), 當歸와 鬱金의 상승효과(C), 紅蔘, 當歸와 鬱金의 상승효과(D), 當歸 그리고 兎絲子, 鬱金의 상승효과

(E)를 관찰하였다. 각각의 농도는 Fig. 1에서 실시한 농도를 각각 혼합하여 M1 (Mixture Level 1), M2, M3, M4, M5, M6, M7로 표기하였다.

紅蔘과 當歸의 조합에서는 M5 농도에서 다소 세포생존율이 떨어지기 시작하여 약 88.8%로 관찰되었고 이후 M6 농도에서 37.6%, M7 농도에서 17.9%로 관찰되었다(Fig. 2A).

紅蔘과 鬱金의 조합에서 M2 농도에서는 약 106.9%, M3 농도에서는 약 108.1%, M4 농도에서는 약 106.2%, M5 농도에서는 약 109.1%, M6 농도에서는 약 99.7%, M7 농도에서는 약 76.7%의 세포생존율이 관찰되었다(Fig. 2B).

當歸와 鬱金의 농도별 조합에서의 관찰된 간암세포주의 세포생존율은 다음과 같았다. 무처리군인 M1 농도에서의 세포생존율을 100.0%라 환산하였을 경우, M2 농도에서는 약 96.3%, M3 농도에서는 약 101.0%, M4 농도에서는 약 94.9%,

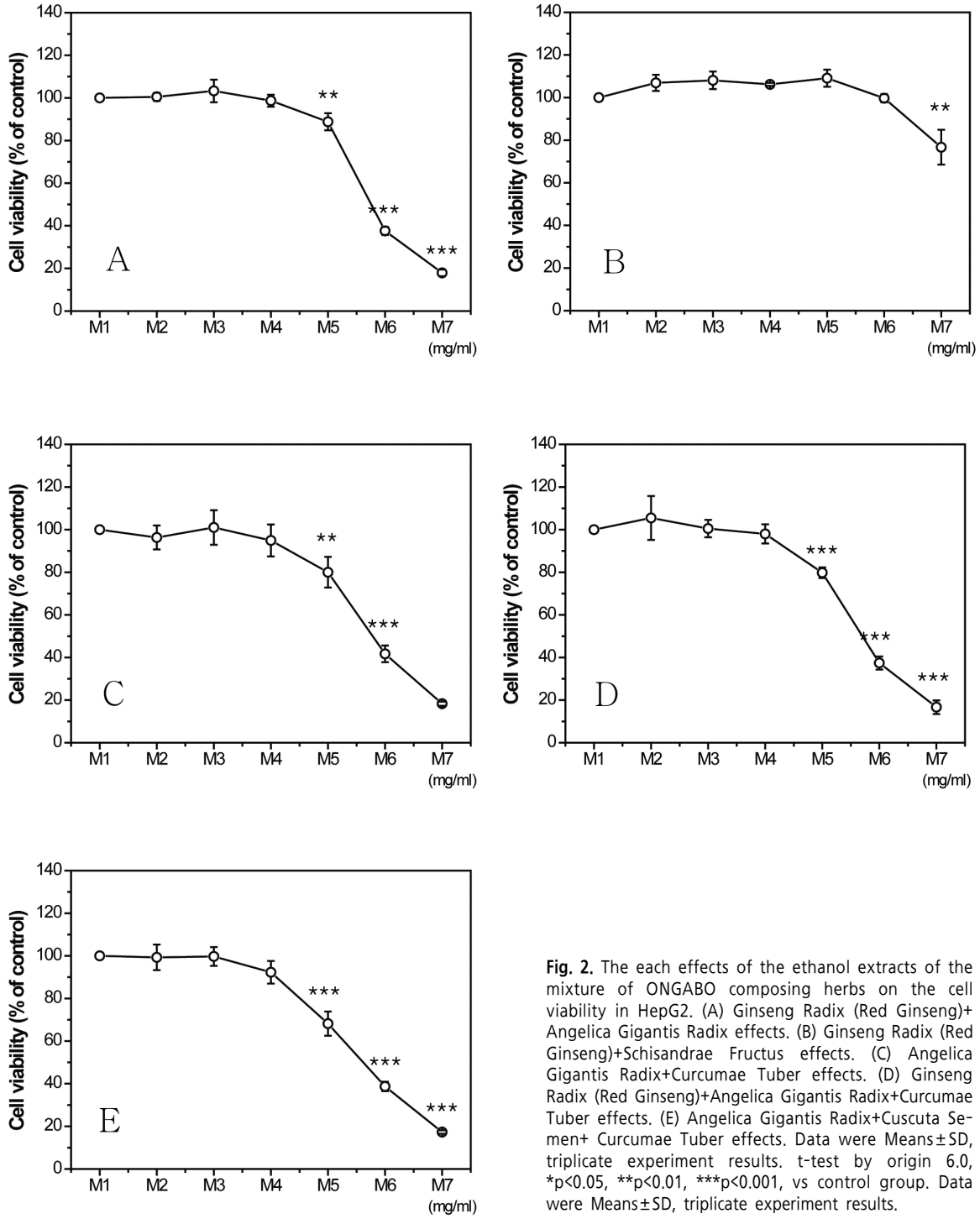

Fig. 2. The each effects of the ethanol extracts of the mixture of ONGABO composing herbs on the cell viability in HepG2. (A) Ginseng Radix (Red Ginseng)+ Angelica Gigantis Radix effects. (B) Ginseng Radix (Red Ginseng)+Schisandrae Fructus effects. (C) Angelica Gigantis Radix+Curcumae Tuber effects. (D) Ginseng Radix (Red Ginseng)+Angelica Gigantis Radix+Curcumae Tuber effects. (E) Angelica Gigantis Radix+Cuscuta Semen+ Curcumae Tuber effects. Data were Means±SD, triplicate experiment results. t-test by origin 6.0, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, vs control group. Data were Means±SD, triplicate experiment results.

M5 농도에서는 약 80.0%, M6 농도에서는 약 41.7%, M7 농도에서는 약 18.3%의 세포생존율이 관찰되었다(Fig. 2C).

紅蔘 그리고 當歸와 鬱金의 농도별 조합으로 간암세포주의 세포생존율에 미치는 영향은 다음과 같았다. M2 농도에서는 약 105.5%, M3 농도에서는 약 100.5%, M4 농도에서는 약 98.0%, M5 농도에서는 약 79.8%, M6 농도에서는 약 37.4%, M7 농도에서는 약 16.7%의 세포생존율이 관찰되었다(Fig. 2D).

當歸와 兎絲子, 鬱金의 농도별 조합으로 간암세포주의 세포생존율에 미치는 영향은 다음과 같았다. 무처리군인 M1 농도에서의 세포생존율을 100.0%라 환산하였을 경우, M2 농도에서는 약 99.3%, M3 농도에서는 약 99.7%, M4 농도에서는 약 92.3%, M5 농도에서는 약 68.2%, M6 농도에서는 약 38.7%, M7 농도에서는 약 17.3%의 세포생존율이 각각 관찰되었다(Fig. 2E).

3. 간암세포주(HepG2)에 대한 온가보 구성약물 중 單味와 複味가 세포생존율에 미치는 영향비교

다음은 單味와 複味의 효율성을 비교하기 위하여 특정 농도를 정하여 單味와 複味가 간암세포주의 세포생존율에 미치는 영향을 관찰 비교하였다.

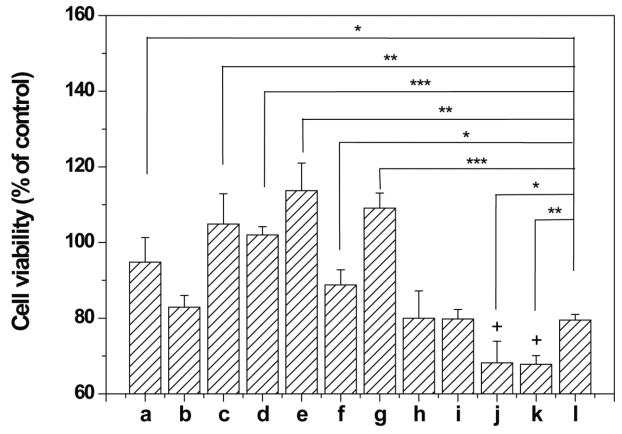

Fig. 3. The comparison study of the single and mixture ethanol extracts of ONGABO composing herbs on the cell viability in HepG2. The concentration of the each drugs in experiment as follows; Ginseng Radix (Red Ginseng) 40.6 mg/ml, Angelica Gigantis Radix 15.6 mg/ml, Schisandrae Fructus 15.6 mg/ml, Cuscuta Semen 6.3 mg/ml, Curcumae Tuber 6.3 mg/ml. (a) Ginseng Radix (Red Ginseng) effects. (b) Angelica Gigantis Radix effects. (c) Schisandrae Fructus effects. (d) Cuscuta Semen effects. (e) Curcumae Tuber effects. (f) Ginseng Radix (Red Ginseng)+Angelica Gigantis Radix effects. (g) Ginseng Radix (Red Ginseng)+Schisandrae Fructus effects. (h) Angelica Gigantis Radix+Curcumae Tuber effects. (i) Ginseng Radix (Red Ginseng)+Angelica Gigantis Radix+Curcumae Tuber effects. (j) Angelica Gigantis Radix+Cuscuta Semen+Curcumae Tuber effects. (k) Ginseng Radix (Red Ginseng)+Angelica Gigantis Radix+Cuscuta Semen+Curcumae Tuber effects. (l) Ginseng Radix (Red Ginseng)+Angelica Gigantis Radix+Schisandrae Fructus+Cuscuta Semen+Curcumae Tuber effects. t-test by origin 6.0, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, vs l group. +, p<0.01, vs b group. Data were Means±SD, triplicate experiment results.

紅蔘群은 농도 40.6 mg/ml에서 약 94.8%이며, 當歸群은 농도 15.6 mg/ml에서 약 82.9%, 五味子群은 농도 15.6 mg/ml에서 약 104.9%, 兎絲子群銀 농도 6.3 mg/ml에서 약 102.0%, 鬱金群은 농도 6.3 mg/ml에서 약 113.7%의 간암세포주의 세포생존율이 각각 관찰되었다.

紅蔘과 當歸群 (f) 각각의 농도에서 세포생존율은 약 88.8%, 紅蔘과 鬱金群 (g) 각각의 농도에서 세포생존율은 약 109.1%, 當歸와 鬱金群 (h) 각각의 농도에서 약 80.0%, 紅蔘, 當歸와 鬱金群 (i) 각각의 농도에서는 약 79.8%, 當歸, 兎絲子, 鬱金群 (j) 각각의 농도에서 약 68.2%, 紅蔘, 當歸, 兎絲子, 鬱金群 (k) 각각의 농도에서는 약 67.8%의 세포생존율이 관찰되었다. 그리고 紅蔘, 當歸, 五味子, 兎絲子, 鬱金群 (l) 모두 포함한 실험군에서는 약 79.5%의 세포생존율이 관찰되었다(Fig. 3).

고 찰

한의학에서는 질병을 치료하기 위하여 본초의 약성을 강화하고 부작용을 줄이는 방법이 다양하게 존재하였다. 포제법과 약물의 사기와 오미, 그리고 귀경론, 승강부침을 이용한 약물의 보사법이 한 가지 약물로 질병을 치료하고자 할 시 약물의 효능을 높이고 부작용을 줄이는 방법이라고 한다면 『素問』「至眞要大論」에서 "主病之謂君 佐君之謂臣 應臣之謂使"란 문구를 근거로 발전한 君臣佐使論은 여러 가지 약물을 배합하여 약물의 효능을 높이고 부작용을 줄이는 방법이라 하겠다.[1)]

君臣佐使論은 복잡다양한 병증을 일정한 입방법도에 의하여 보다 훌륭하게 약물의 치료효과를 발휘하도록 하며 혹은 그 편승의 작용을 제지하려는 방침으로 다음과 같이 설명될 수 있다.

君藥이라 함은 병인이나 주병증에 대하여 중요하게 치료작용을 증강시킬 수 있는 약물을 말하며 臣藥이란 君藥을 협조하여 그 치료작용을 증강시키는 약물을 말한다. 佐藥이란 세가지 의미로 설명되는데 첫째, 겸증이나 차증후를 치료하는 약물을 말하며, 둘째로는 君藥이 유독하거나 약성이 준렬한 것을 제약시키려는데 있고, 셋째로는 反佐作用으로 즉, 주치약의 약성과 상반되는 약물을 써서 보좌를 유도하는 것을 말한다. 예를 들면 온열제 중에 소량의 한량성약물을 배합하거나 한량제 중에 비교적 소량의 온열성약물을 배합하여 응용하므로써 寒熱이 서로 저항함이 없이 약물을 잘 받아들이게 되기 때문에 치료의 목적에 이르게 되는 것이다.[1)] 使藥이란 즉 引經藥 혹은 제약성을 조화시키는 약물로써 흔히 용량을 최소량으로 배합하는 것을 말한다.

또한 약물의 배합론에 있어서도 두 가지의 효능이 유사한 약물을 배합하여 원래 가지고 있는 치료효능을 현저하

게 증강시키는 것을 이름하여 相須라 하며, 두 가지의 효능이 서로 다른 약물을 주약과 보약으로 구분하여 배합함으로써 주약의 치료효능을 증가시키는 相使, 두 가지의 서로 다른 약물을 배합했을 때 한 가지 약물의 독성반응이나 혹은 부작용이, 또 다른 약물에 의해 억제되어 그 독성이나 약효가 감소되거나 제거되는 相畏, 두 가지의 서로 다른 약물을 배합했을 때 한 가지 약물이 다른 한 가지 약물의 독성 혹은 부작용을 감소시키거나 제거하는 相殺, 두 가지 약물을 배합했을 때 한 가지 약물이 다른 한가지 약물과 상호 견제하면서 원래의 성질과 효능을 감약시키거나 심할 경우에는 파괴하는 것을 相惡, 두 가지 약물을 배합했을 때 상호작용으로 독성반응이나 혹은 극렬한 부작용을 일을 것을 相反이라 하여 질병의 치료목적에 응용하였다.[1)]

최근 한국 사회는 식생활과 문화의 발달로 고령화 사회로 전환되어 가고 있다. 이에 따라 질병의 변화도 과거와는 달리 고혈압, 당뇨, 비만 등 성인병과 특히 빈번한 암의 발생은 사회의 변화과정과 질병의 변화과정에 있어 그 상관성을 잘 나타내고 있다.

현재 빈번히 발생되는 암을 치료하기 위한 많은 연구가 진행되고 있으며 그 결과 새로운 치료약이 계속해서 개발되고 있다. 그러나 그 개발된 약물의 부작용 또한 매우 커서 부작용이 적으면서도 암을 치료할 수 있는 안전한 치료약을 개발하기가 많은 연구의 목적이 되고 있다. 이러한 목적에 도달하기에 천연물인 한약재는 과거 수 천년의 복용경험과 효능에 있어 우선적으로 인식되고 있는 개발원료가 되고 있다.

다양한 질병의 치료목적으로 복용되었던 한약재는 불순물을 걸려 정제하는 포제법이 그리 발달되지 않았으나 단순히 독삼탕과 같은 한 종류 약물의 복용에서부터 여러 종류의 약물 복용으로 발전되어 간 방제학의 크나큰 발전은 한의학의 발전 방향을 제시함에 있어 시사하는 바가 크다고 할 수 있다. 이는 인체를 조절하는 인자가 굉장히 다양하다는 것을 선인들이 인식하고 있었으며, 질병 내지는 통증을 제어하는 방법에 대하여 단순히 또는 중요한 한가지 인자를 조절하는 것보다 다양한 약물을 가지고 인체 내 다양한 인자를 조절하는 것이 더 유익하다는 것으로 선인들의 경험적 지식이 집약되고 있다는 것으로 귀결할 수 있기 때문이다.

따라서, 紅蔘, 當歸, 五味子, 兎絲子, 鬱金의 약물학적 조합이 간암세포주의 세포생존율에 미치는 영향을 관찰한 본 연구결과의 의의는 첫째, 君臣佐使論에 입각하여 이 한약재의 조합 각각이 어떠한 역할을 담당하고 있는 지와 간암에 치료 또는 보조적으로 상복할 수 있는 안전한 약물조합이 될 수 있을까에 있다.

실험결과 紅蔘과 五味子, 兎絲子, 鬱金은 간암세포주의 세포생존율에 그다지 큰 영향을 미치고 있지 않으나, 당귀는 상당히 많은 영향을 미치고 있다(Fig. 1). 紅蔘, 當歸, 五味子, 兎絲子, 鬱金의 혼합투여(복미투여)는 紅蔘, 五味子, 兎絲子, 鬱金의 단미투여 보다는 유의성 있는 세포생존율의 감소가 관찰되었고 당귀 단독 처리군과 비교하면 유의성 없는 감소경향이 관찰되었다. 이러한 결과는 특정 농도에서 單味보다는 複味의 효과가 우수할 수 있음을 보여준다고 할 수 있다. 또한 재미있는 관찰결과는 紅蔘+當歸+兎絲子+鬱金群에서의 세포생존율이 紅蔘+當歸+兎絲子+五味子+鬱金群에서의 세포생존율보다 낮아($p<0.01$) 온가보의 처방구성 상 當歸와 더불어 두 번째 비중을 점유하고 있는 五味子는 세포를 보호하는 결과를 가져오며 이는 紅蔘의 작용과 유사한 결과를 가져온다고 사료되었다(Fig. 3). 紅蔘 단독처리군(약 94.8%)과 當歸 단독처리군(약 15.6%)의 실험결과와 紅蔘과 당귀 혼합처리군(약 88.8%)에서의 세포생존율이 그 중간에 해당하므로 紅蔘은 세포를 보호한다는 결과라고 사료되었다.

따라서, 단순히 간암세포주에 대한 세포생존율을 대상으로 온가보의 구성약물의 단미와 복미를 개별 실험한 연구결과를 바탕으로 방제학상의 君臣佐使論을 적용해 본다면 온가보의 주 비중을 차지하고 있는 紅蔘을 君藥에 배당한다면, 君藥은 세포를 보호하는 작용이 있으며, 다음 비중을 차지하고 있는 當歸와 五味子 중 五味子는 紅蔘과 유사한 세포 보호작용이 있으므로 臣藥에 해당될 것이며 當歸가 간암세포에 대한 살상효과가 크므로 치료효과가 있는 佐藥에 해당한다고 볼 수 있다. 兎絲子 및 鬱金은 본 연구조건에 있어서는 작용이 미미하여 혼합되는 약물에 따라 그 효과가 정해지는 것으로 사료되며 따라서, 君臣佐使의 논리상 使藥의 위치에 해당된다 하겠다. 이러한 역할적 해석은 단지 온가보의 구성약물의 중량적 비중과 특정 농도에서 간암세포주의 살상작용을 고려한 연구결과를 토대로 고전의 君臣佐使論의 역할을 맞추어 해석한 결과이다. 따라서 온가보의 방제학적 해석은 紅蔘과 五味子로 精氣를 보존하며 當歸로 치료효과를 극대화하고 鬱金과 兎絲子로 약리를 조율하고자 구성되었다 하겠다.

최근에 암의 발생률이 높아져 가고 있으며 현재의 수술요법, 방사선 요법, 화학요법 등이 시술되고 있으나 그 부작용이 심하고 일부는 그 치료효과가 그다지 높지 않다. 따라서, 부작용 발생을 억제하거나 치료 보조약물 개발 또는 보존적 치료 방법 개발 등에 많은 연구자가 참여하고 있다. 한약재 또는 천연물을 기반으로 한 약물 개발을 통하여 면역 인자 조절 또한 많은 연구자가 참여하고 있으며, 본 연구는 이러한 연구를 한의학의 고전 이론을 통하여 재정립하고 새로운 처방구성이 더욱 활성화하고자 시도하였으나 더욱 다양한 각도에서의 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

紅蔘, 當歸, 五味子, 兎絲子, 鬱金의 약물을 구성하여 온가보라 이름하고 간암세포주의 세포생존율에 미치는 영향을 관찰하여 한의학의 고전이론인 君臣佐使論의 방제학적 구성에 어떻게 해당되는지를 관찰한 본 실험결과에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 紅蔘과 五味子는 간암세포주의 세포 보호효과가 있었다.

2. 當歸는 간암세포주의 세포생존율을 유의하게 감소시켰다.

3. 兎絲子, 鬱金은 간암세포주의 세포생존율에 영향을 미치지 않았다.

상기 연구결과로 온가보의 약물 구성은 개개의 약물작용이 통일적이지 않음을 알 수 있으며, 君臣佐使論에 의한다면 일정 농도에서 온가보의 무게 비중상 君藥에 해당하는 紅蔘은 세포를 보호하며, 當歸와 五味子 중 간암세포의 보호효과를 가지고 있는 五味子는 君藥인 紅蔘의 약리작용과 유사하므로 臣藥에 해당되며 간암세포의 살상효과가 큰 當歸는 치료효과를 보이므로 君藥을 보좌하는 佐藥이라 할 수 있으며, 약물 개별로는 작용이 미미하나 다른 약물의 작용에 영향을 미치는 것으로 판단되는 兎絲子, 鬱金이 使藥에 해당한다고 사료된다. 따라서 온가보의 방제학적 해석은 紅蔘과 五味子로 精氣를 보존하며 當歸로 치료효과를 극대화하고 鬱金과 兎絲子로 약리를 조율하려는 목적으로 구성되었다 하겠다. 이러한 해석은 새로운 약물구성에 대하여 고전의 방제학적 의미를 부여하고 이해하기 위한 시도이기에 약물의 구성비율, 농도, 관찰대상 등에 따라 달리 해석될 수 있다고 사료된다. 앞으로 다양한 각도에서 다양한 관찰대상을 조건으로 연구가 진행되어 君臣佐使論의 의미 및 현대학적 해석을 정립해 나감에 있어 도움이 되기를 바란다.

참고문헌

1. 劉興隆, 鄧中甲, 賈波, 薑冬雲. "君臣佐使" 組方原則質疑. 遼寧中醫雜誌. 2008;35(1):43-44.
2. Yang JP, Yeo IS. A study on the origins of 'Korean ginseng'. Uisahak. 2004;13:1-19.
3. Lee HJ, Lee YH, Park SK, Kang ES, Kim HJ, Lee YC, Choi CS, Park SE, Ahn CW, Cha BS, Lee KW, Kim KS, Lim SK, Lee HC. Korean red ginseng (Panax ginseng) improves insulin sensitivity and attenuates the development of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Metabolism. 2009;58(8):1170-1177.
4. Vuksan V, Sung MK, Sievenpiper JL, Stavro PM, Jenkins AL, Di Buono M, Lee KS, Leiter LA, Nam KY, Arnason JT, Choi M, Naeem A. Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2008;18(1):46-56.
5. Hong CE, Lyu SY. Anti-inflammatory and Anti-oxidative Effects of Korean Red Ginseng Extract in Human Keratinocytes. Immune Netw. 2011;11(1):42-49.
6. Kim H, Oh I, Park KH, Kim NM, Do JH, Cho Y. Stimulatory effect of dietary red ginseng on epidermal hydration and ceramide levels in ultraviolet-irradiated hairless mice. J Med Food. 2009;12(4):746-754.
7. Fishbein AB, Wang CZ, Li XL, Mehendale SR, Sun S, Aung HH, Yuan CS. Asian ginseng enhances the anti-proliferative effect of 5-fluorouracil on human colorectal cancer: comparison between white and red ginseng. Arch Pharm Res. 2009;32(4):505-513.
8. Hwang SY, Son DJ, Kim IW, Kim DM, Sohn SH, Lee JJ, Kim SK. Korean red ginseng attenuates hypercholesterolemia-enhanced platelet aggregation through suppression of diacylglycerol liberation in high-cholesterol-diet-fed rabbits. Phytother Res. 2008;22(6):778-783.
9. 이상인. 본초학. 서울:修書院. 1981:101-102.
10. Ahn JC, Moon JY, Lim JK. Antioxidantg effects of A.G.R. (Angelicae gigantis Radix) Aaua-acupuncture solution in vitro. The journal of Korean Acupuncture & Moxibustion society. 1996;13(2):254-262.
11. Ahn JC, Moon JY, Lim JK. Antioxidant Effects of A.G.R. (Angelicae gigantis Radix) Aqua-Acupuncture Solution (2). The journal of Korean Acupuncture & Moxibustion society. 1997;14(1):383-396.
12. Lee GH, Kang SS, An WG, Kwon YK, Shin SW. Comparison of Immune Promotion Effects of Water-extracted Angelicae gigantis, Rehmanniae Radix, Paeoniae japonica and Polygoni multiflori Radix. Korean J Oriental Phsiology & Pathology. 2006;20(6):1507-1515.
13. Kim YS. Study on the Effects of Angelicae sinensis Radix on Thrombosis. Korean J Herbology. 2000;15(1):53-57.
14. Jang SI, Kim HJ, Hwang KM, Pae HO, Yun YG, Chung HT, Kim YC. Anti-Inflammatory Effect of Ethanol Extract of Angelica uchiyamana in Activated Murine RAW 264.7 macrophages. The Korean Journal of Oriental Medical Prescription. 2002;10(2):189-197.
15. 全國韓醫科大學本草學教室, ed. 本草學 2판. 서울:永林社. 1992:622-623.
16. 이상인, 안덕균, 신민교. 한약임상응용. 서울:성보사, 1992:431-433.
17. 赤松金芳, ed 和漢藥. 東京:醫齒藥出版株式會社. 1973:430-431.
18. 陳在仁. 漢方醫藥大辭典. 서울:講談社. 1982:262-263.
19. 射品曦. 五味子丙素類以物合成的研究, 1-4-4'-二甲氧基-5-6-5'-6-二次甲二氧基-2-2'-二甲氧基聯笨及基異松豪的合成. 약학학보. 1982;17:32.
20. Lee JH, Yang HW, Bak SM, Yoo KS. Effect of Schisandrae Fructus on Cultured Mouse Cerebral Neurons Damaged by Hydrogen Peroxide. Korean J Oriental Physiology & Pathology. 2003;17(1):101-104.
21. Cho HY, Yoon JS, Seo BM, Lee SY, Kim SW, Baek JH, Park CS, Seo JC, Han SW. The Scavenging Effect on NO, DPPH and Inhibitory Effect on IL-4 in Schizandrae Fructus Herbal-Acupuncture Solution. The Korean Journal of Meridian & Acupoint. 2003;20(1):45-55.

22. Shin HS, Kim EH, Kim CJ. Anti-anemic Effect of Aqueous Extracts of Fructus schisandrae on Phenylhydrazine-induced Hemolytic Anemia in Female Sprague-Dawley Rats. The Journal of Korean Meridian & Acupoint. 2002;19(1):69-77.
23. Doo IS, Lim KS, Hwang CY, Park MC, Kim NK. A Study on the Melanin Synthesis Inhibition and Whitening Effect of Schizandrae Fructus. The Journal of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology. 2007;20(3):51-62.
24. 전국한의과대학 본초학교실. 본초학. 서울:영림사. 1994:568-569.
25. 이명렬, 전성주. 토사자 추출물이 실험적으로 유발된 가토의 간장기능 장애에 미치는 영향. J Korean Soc Food Nutr. 1989;18(3):333-337.
26. 이재복, 이병렬. 토사자 약침의 항암작용 및 면역효과에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2001;18(3):94-104.
27. Bao X, Wang Z, Fang J, Li X. Structural Features of an immunostimulating and Antioxidant Acidic Polysaccharide from the Seeds of Cuscuta Chinensis. Planta Med. 2002;68(3):237-243.
28. Jin SS, Whang EH, Kim HC, Kim CS, Oh KS, Han JH. Study on the Effect of Semen Cuscute. The Journal of Traditional Korean Medicine. 2002;12(1):167-177.
29. Ahn YM, Park HS. Effects of Aqua-acupuncture with Woolgum on the Recovery of Liver Injury in Rats. 대한침구학회지. 1998;15(2):237-253.
30. Oh HI, Park HB, Ju MS, Jung SY, Oh MS. Comparative Study of Anti-oxidant and Anti-inflammatory Activities between Curcumae longae Radix and Curcumae longae Rhizoma. Kor J Herbology. 2010;25(1):83-91.
31. You YO, Yu HH, Jeon BH, Jeong SI, Cha JD, Kim SM, Kim KJ. Antibacterial Activity of Curcuma longa against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Korean J Oriental Physiology & Pathology. 2003;17(2):574-579.