

한의학의 과학적 연구를 위한 대사체학(Metabolomics)에 대한 고찰

정지연^{1,2} · 황금숙³ · 손인철⁴

¹LG생활건강, ²원광대학교 한의과대학 병리학교실, ⁴경락경혈학교실, ³한국기초과학지원연구원

The study of metabolomics for the scientific research of Korean medicine: Review

Jee-Youn Jung^{1,2}, Geum-Sook Hwang³, In-Chul Sohn⁴

¹LG Household&Healthcare, Dept. of ²Pathology, ⁴Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Wonkwang Univ., ³Korea basic science institute

Abstract

Objective : This study is achieved to know the way that we can use metabolomics for the scientific research of Korean medicine.

Results : We elucidate that metabolomics can be contributed to four ways for objectification of Korean medicine

1. Diagnosis of BeunJungLonChi(辯證論治).
2. Application toward Personalized medicine.
3. Quantification of Herbal medicine.
4. Evaluation of efficacy/safety for Korean medicine formulation

Conclusion : Metabolomics opens up a new opportunity to reinvestigate Korean medicine from holistic perspective. Furthermore, Metabolomics is expected to provide effective method in research of acupuncture and meridian.

Key words : metabolomics, scientific study of Korean medicine

1. 서 론

한학과 서양의학의 뚜렷하게 다른 인체 관에도 불구하고 서양의학의 환원주의(reductionism)적 실험 방법만이 계속되면서 전체주의적 특성을 갖는 한의학의 과학화에 많은 어려움이 있었다.

하지만 게놈 프로젝트 이후 엄청나게 많은 정보가 쌓이게 되고, 이를 처리할 수 있는 기술이 발달하게 되면서 인체의 유기적 관계에 대한 해석이 가능해지기 시작했다.

특히 이 중 대사체학(Metabolomics)은 다양한 유전적, 생리적 또는 환경적 조건하에서 변화되어 나타나는 대사체군의 구성과 농도를 분석하고 해석함으로써 생명현상의 변화원인을 시스템적으로 규명해 나가는 연구 분야로, 대사체군을 다양한 상태와 연관 지어 대사체 네트워크를 다시 해석하는 총

· 교신저자: 정지연, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학 병리학교실, Tel. 063-850-6448, Fax. 063-857-6458, E-mail : zzen0918@naver.com
황금숙, 서울시 성북구 안암동 5가 126-16 Tel. 02-920-0737, Fax. 02-920-0779, E-mail : gshwang@kbsi.re.kr

· 투고 : 2008/12/20 심사 : 2008/12/20 채택 : 2008/12/22

체적인 연구이다¹⁾.

이는 인체 생리, 병리 현상에 직접적으로 영향을 주는 대사체(Metabolite)를 전체주의적 관점(Holistic approach)에서 분석할 수 있다는 점에서 한의학의 진단 및 치료 이론에 부합하여 저자는 한의학의 객관화, 표준화를 위한 새로운 연구수단으로서 대사체학의 응용 방향에 대하여 살펴보고자 한다.

II. 고찰 방법

2000년 이후부터 본격적으로 연구가 시작된 대사체학(Metabolomics)의 국내외 연구 보고와 논문을 통하여 한의학의 객관화, 표준화를 위한 과학적 연구방법에 응용 가능한 부분을 다음과 같은 방법으로 고찰하였다.

1장에서는 한의학 실험방법의 한계와 대사체학의 대두에 대하여 논하였다.

2장에서는 대사체학의 전반적 특성과 다른 'omics'학과의 차이와 대사체학의 실험방법에 대하여 살펴보았다.

3장에서는 대사체학의 한의학 적용부분에 대하여 첫째 辨證論治와 한의학 진단의 객관화, 둘째 약물대사체학(Pharmacometabolomics)을 이용한 한의학 개별 처방의 예측 및 객관화, 셋째 식물 대사체학(Plant metabolomics)을 이용한 한약재의 품질 및 품종 평가, 넷째 한약과 한방처방(複方) 효과/독성 평가의 4가지 관점으로 고찰하였다.

III. 본 론

1. 대사체학의 대두

1) 한의학과 서양의학의 비교

인체의 복잡한 변화를 관찰하기 위한 이론적 근거를 수립함에 있어서 동양의학은 서양의학과는 다른 生理, 病理 및 治法의 이론을 형성해왔다. 東洋醫學은 陰陽五行이라는 우주변화원리를 기본으로 하는 體驗醫學으로, 자연의 모든 것이 有機的으로 서로 영향을 미치듯 自然-人間, 臟腑-臟腑, 經絡-臟腑 등의 인체 내부의 모든 것들은 서로 有機的 관계를 맺으며 이를 관찰할 때에는 종합적으로 이를 모두 고려해야한다고 생각하였다. 그리하여 이들 사이의 기능적 균형이 깨지게 되면 병이 오는 것으로 생각하고, 인체 나름의 탁월한 자연치유기전으로 이를 회복할 수 있으나 그렇지 못할 경우에 方劑를 이용하여 자연치유력을 높이고 이들 사이의 균형을 피해야 하는 것에 주안점을 두었다. 또한 생기론(生氣論, vitalism)적이며 臨床的인 성격이 강하고 體液病理說과의 연관이 있으며 治療藥에서도 자연물인 生藥의 配合處方을 주로 하여 왔다²⁾

반면에 서양의학은 17세기 데카르트(Rene Descartes, 1596-1650)의 영향을 받아 生理, 病理 및 治法 理論을 객관적이고 합리적인 실험, 분석, 관찰방법을 이용하여 검증이란 가정을 거쳐 이론의 진위를 가리고 채택하는 매우 분석적이고 기계론적 방법으로 발전하게 되었다. 더욱이 현미경의 발달로 세포를 발견하게 되면서 인체 역시 고도의 기계적 구조로 이루어 졌음에 더욱 되며, 이에 비르호(Rudolf Virchow, 1821-1902)는 “세

포는 건강한 사람이나 환자에게서 나타나는 모든 생체 기능의 시작이자 발판이며 모든 세포는 세포에서 생긴다.”는 ‘세포학설’을 확립하고, 세포가 바로 질병이 생기는 자리라는 ‘細胞病理學說’을 수립시켰다. 19세기 후반에는 생리학이 정립되고 현대과학의 발전과 맞물려 세포학설은 더욱 발전하여 현재는 분자생물학, 유전자학에까지 이르게 되었다. 결국 인체를 기계적 조직체로 인식하고, 기질적 병변을 치료하는데 큰 발전을 이루었으며, 치료약에 있어서도 검증된 단일 성분의 화학약물이 주로 이용하여 왔다.

이러한 한의학과 서양의학의 인체를 바라보는 확연한 시각 차이에도 불구하고, 한의학을 과학화하기 위한 방법으로 현대 생명과학의 연구하는 방법에 그치게 되어 그 한계를 느끼게 되었다. 즉, 한약 및 방제의 치료 기전과 장부 변증 및 체질 등에 대한 이론은 분명 인체를 살아 있는 생명 유기체라는 관점에서 이루어졌음에도 불구하고, 한방 고유의 기전에 대한 연구 방법과 평가법들이 마련되지 못하여 현대 과학의 틀에 맞추다 보니 한의학의 시스템적 접근 방법에 한계를 지은 것이다.

2) 시스템 생물학(system biology)의 대두

1989 미국 NIH의 주도로 인간게놈프로젝트(Human Genome Project)라는 대규모 사업이 진행되면서 현대 생명과학은 생명체에 대한 새로운 접근 방법을 시도하기 시작하였다. 즉 게놈 프로젝트(Genome Project) 과정에서 유전체(genome), 전사체(transcription) 및 단백질체(proteome) 등에 대한 엄청난 데이터가 축적이 되면서 이를 처

리하는 통계적 기술의 발달이 생물체에 대한 미시적 관찰을 뛰어 넘는 생물체 전체 규모에 대한 이해를 목표로 하는 움직임이 활발해지고 있다.

이는 ‘-omics’라는 이름으로 유전체학(genomics), 단백질체학(proteomics), 대사체학(metabolomics) 등의 각각의 생물학적 분자들과 정보의 집합체 군을 분석하는 시스템 생물학(system biology)을 탄생시켰다.

이런 생물체의 전체주의적 접근(Holistic Approach)은 한의학적 인체 접근 방법과 매우 유사하다고 할 수 있고, 기존 현대 과학의 환원주의(Reductionism)적 방법을 통한 과학화에 커다란 한계를 느끼던 한의학계에 적합한 방법이라고 할 수 있다.

3) 대사체학(Metabolomics)과 한의학

‘-omics’를 이용한 한의학의 과학화는 한국 한의학연구원에서 유전체학(Genomics)을 이용하여 사상체질 진단의 객관화작업³⁾을 하고 있으며, 단백질체학(Proteomics)을 이용하여 일본의 Ogawa K⁴⁾ 등이 Rheumatoid Arthritis(RA)환자 중 瘀血症을 가지고 있는 환자에게 桂枝茯苓丸을 투여하여 개선정도를 살피고, 瘀血症에 대한 biomarker를 찾았다는 연구 등이 있다.

이런 ‘-omics’학 중에 대사체학(Metabolomics)은 유전체학(genomics), 전사체학(transcriptomics), 단백질체학(proteomics) 등에 비하여 적은 숫자의 종류로 구성되어 있으며, 상동의 유전자나 전사물, 단백질과는 달리 생물의 종별 차이가 크지 않아서 가장 접근하기가 용이하여 2005년 5월에는 Technology Review지에 떠오르는 10

대 과학 기술(10 Emerging Technology)로 선정되어 가능성에 대하여 높게 평가 받고 주목받기 시작했다.

2. 대사체학(Metabolomics)에 대한 이해

1) 대사체학(Metabolomics)과 다른 'omics'학과의 차이

대사체(Metabolite)란 생물 표현형(Phenotype)을 가장 잘 표현하는 동시에 정량할 수 있는 소분자를 일컫는 말로써, 이들의 집합체인 대사체군(Metabolome)이란 세포부유물(Cell suspension)이나 조직 또는 생체액(Biological fluid)에 존재하는 저분자량(100-1000)을 갖는 대사물질의 집단체를 말한다¹⁾.

생물이 외부환경의 변화에 대응하여 만들어 내는 이런 대사물(Metabolite)들을 총체적으로 관찰하여 변화가 일어난 화학물질간의 상호 관계 및 생체 내 경로를 설명하는 학문을 대사체학(Metabolomics)이라고 하고, 이는 가능한 많은 대사물들을 동시에 관찰하여 상관관계를 통계적으로 유의성 있게 설명하는 것이 핵심이 된다.

즉, 이제까지의 대사물에 대한 연구는 특정 시간의 몇 개의 대사물질에 한정 되어 있었지만, 대사체학의 대두로 전체적인 변화를 이해할 수 있게 된 것이다.

대사체학(Metabolomics)과 다른 'omics'학의 차이를 살펴보면, 유전체학(Genomics)은 분자량 100,000이상, 30,000종류 이상 되는 DNA의 염기 서열을 Systemic DNA sequencing방법으로 염기서열 분석과 유전

자 지도 작성을 하여 진단표식인자를 개발하는 것이며, 단백질체학(Proteomics)은 DNA에서 전사(Transcript)과정과 번역(Translation)의 과정을 통해서 생산되는 1,000,000종류 이상, 5000-200,000정도 분자량을 가진 protein을 2D gel과 질량분석기를 이용한 방법으로 단백질 분리 및 기능 분석으로 진단 표식 인자 및 작용점 발굴을 하는 것이다.

이에 비하여, 대사체학은 1000개 이상 정도의 대사경로(Metabolic pathway)와 100-1,000의 저분자량의 대사물질(Metabolite)을 핵자기공명기(NMR) 또는 기체/액체 질량분석기(GC/LC-MS)와 같은 분석장비를 사용하여 대사물질(Metabolite) 분리, 정량 및 기능 진단 표지, 대사체 작용점 발굴, 대사조절물질 개발 등을 알아내는 방법이다.

특히 대사체학의 대사체 지문 분석(metabolomic fingerprinting)은 시료를 성분별로 분리하지 않고 전체적으로 분석하므로 전처리 시간이 매우 짧아서 일반 분리분석에 비해 신속하고 대량의 시료 분석이 용이하게 만들었다.

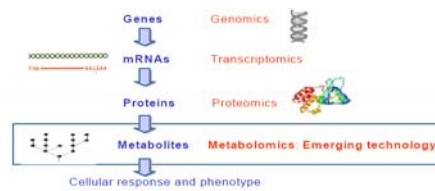


Fig. 1. Omics: emerging technologies for biological research

연구분야	유전체학	단백질체학	대사체학
연구대상	유전자	단백질	대사물질
분석대상 분자량	>100,000	5000-200,000	100-1,000
분석기술	DNA 염기서열 분석	이차원 전기영동 질량분석 기술	융합 장비 기술 핵자기 공명 및 질량분석 기술
연구내용	염기서열 분석 유전자 지도 작성	단백질 분리 및 기능 분석	대사체 분리, 정량 및 기능 분석
연구결과	진단표식인자	진단 표식 인자 및 작용점 발굴	진단 표지 대사체 작용점 발굴 대사조절물질개발

Table. 1 . A comparison chart between genomics, proteomics and metabolomics²⁵⁾

2) 대사체학(Metabolomics)의 방법

(1) 대사체학의 연구 방법

대사체학(Metabolomics)의 연구는 대사체군(Metabolome) 변화를 검출, 확인하기 위한 첨단 분석 기술과 그 결과를 다시 생리적 상태와 연관 지어 해석하기 위한 통계 분석이 연구 기반을 이루며, 이러한 생체의 대사물질(Metabolite) 변화를 대사 경로 모델을 통하여 이해한다.

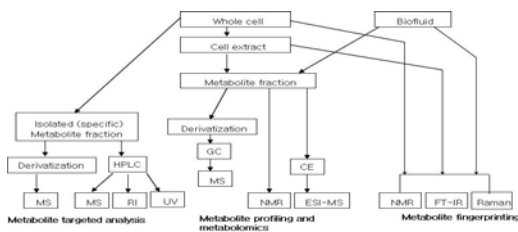


Fig. 2. Flowchart of analytical instruments for metabolomics.

이러한 대사체학(Metabolomics) 연구 분야에서, 대사 물질의 변화를 관찰하기 위한 대사체 프로파일링(Metabolic profiling) 연구는 크게 nontargeted (global) profiling과 targeted metabolic profiling 방법으로 나누어 진행되고 있다. nontargeted (global)

profiling은 특정한 대사산물보다는 세포 또는 생체내의 모든 대사산물에 대한 전반적인 패턴 변화를 조사하는 방법으로 대사체 지문분석(metabolic fingerprinting)으로 불리기도 하며 비교적 간편한 추출과정을 통해 주로 FTIR 및 핵자기 공명사치(NMR)을 통해서 이루어진다. targeted profiling은 세포나 생체 내 전체 대사산물 중에서 lipid, 당류 등과 같은 특정 대사산물의 종류 및 정량적 변화에 대한 분석을 하는 것으로 주로 LC-MS, GC-MS 등 분석기기를 통해 이루어진다.

각 시료에서 얻어지는 대사체 프로파일링(metabolic profiling) 데이터는 매우 방대한 규모로 baseline 보정, normalization등의 데이터 전처리 과정을 거친 다음 다변량 통계 분석(multivariate statistical analysis) 등의 여러 통계 방법들을 활용하여 의미 있는 화학적 생물학적 정보를 얻어 낼 수 있다.

그러나 아직까지 초기 대사체 프로파일링 데이터의 전처리 과정에 관한 국제적인 공통 기준이 제시 되어 있지 않은 상태이므로, 데이터 분석 결과에 대한 재현성을 보다 높이기 위하여 대사체 프로파일링 데이터의 분석 결과 보고 시 사용한 분석장비, 데이터 전처리에 사용한 알고리즘 등 제반 요인에 대한 보다 상세한 기술과 데이터 처리과정의 규격화를 위한 시도가 진행되고 있으므로, 향후 국제 공통 기준에 따른 대사체 프로파일링(metabolic profiling) 데이터의 분석이 이루어질 것으로 예상된다.

(2) 분석 기기

현재의 기술 수준으로는 어떠한 종류이

든 한 종류의 분석기기로 대사체군 (metabolome) 전체를 커버하는 프로파일링 (profiling)은 불가능하다. 분석기기의 종류에 따라 분석 가능한 대사물질(metabolite)의 종류가 한정되며 민감도에서도 큰 차이가 있다. 또한, 대사체학 연구에서는 다루어야 할 시료수가 많으므로 분석기기의 처리 속도도 중요한 요소가 되므로 대사물질 (metabolite)을 정성적 또는 정량적으로 파악하기 위해서는 두 가지 이상의 분석기기를 상호 연결하여 사용해야 할 경우가 많다.

① 질량분석기 (Mass spectrometry(MS))

질량분석기를 이용한 분석은 주로 GC(gas chromatography), LC(liquid chromatography)등을 통하여 먼저 대사 혼합물로부터 분리된 대사물질들을 정량하는 과정으로 이루어진다. HPLC만을 사용하여도 분석할 수 있는 범위가 넓고 정량적 데이터를 얻을 수 있으나, MS(mass spectrometer)와 연결하여 분석함으로써 authentic sample이 없어도 다양한 대사산물에 대한 정성 분석이 가능해진다.

② 핵자기 공명기(Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy)

NMR은 최근 대사체학 연구 분야에서 대사체 지문분석에 활용되는 가장 중요한 장비라고 할 수 있다⁵⁾.

즉, 복잡한 대사 경로의 이해를 위해서는 감도가 다소 떨어지더라도 100개 이상의 대사물질들을 한꺼번에 분석할 수 있는 핵자기공명기(NMR spectroscopy)와 같은 초고속 스크리닝(High throughput screening) 분석 장비를 사용해야 하는 것이다.

NMR은 질병, 제약, 식물 등의 분야에서 널리 사용되며 생체 및 세포 시료 등에서의 screening 모두 가능하다. 이에 NMR이 반침습성의 기술로서 사람의 생체액 또는 조직에서 대사체들을 분석할 수 있고, 모든 과정들이 자동화로 이뤄지며, 재현성이 좋으면서 간단한 1차적 스펙트럼으로부터 대사체를 쉽게 정의할 수 있는 장점이 있기 때문에 최근에 널리 사용하고 있다.

(3) 통계 분석

분석기기를 통하여 도출된 data는 정상적인 물리적 변화와 질환 과정에서 발생하는 변화를 판독하기 위하여 패턴 인식 (pattern recognition) 방법이 필요하다. 대사체 프로파일링(metabolic profiling)을 수집하기 위해서 패턴 인식 소프트웨어 (pattern recognition software)가 필요하다. 예를 들면, 세포에서의 대사체 프로파일링 (metabolic profiling)과 조직에서의 대사체 프로파일링(metabolic profiling)에는 많은 차이가 있을 것이다. 하지만, 다른 세포 형태와 다른 조직 형태 또는 treatment된 단계에서의 차이에 의한 specific profiles를 연관시키기 위해서 패턴 인식 소프트웨어 (pattern recognition software)가 이용되어야만 하는 것이다. 또 다르게 생각해보면, 높은 농도의 대사체(metabolite)가 낮은 농도의 대사체(metabolite)와 비교했을 때 더 다양한 변화를 갖게 될 것이며, 실제적으로 그 변화의 배수는 낮은 농도의 대사체 (metabolite)에서보다 크게 나타날 것이다.

그러므로 대사체(metabolite) 농도의 측정은 높은 농도와 낮은 농도 모두에서부터

얻어진 정보를 최대화하여 평가하여야 한다.

이를 위해서 대사체학(Metabolomics)에서 주로 사용되는 통계 기법은 계량화학(chemometrics)에서 주로 다루는 다변량 분석법(multivariate analysis)이다. 다변량 분석에는 주성분분석법(principal component analysis, PCA), 부분최소사승법(partial least squares, PLS), hierarchical cluster analysis(HCA) 등이 주로 사용되고 있으며 데이터의 구조나 목적에 따라 적당한 알고리즘을 선택하여 사용한다.

위에서 말한 패턴 인식 기술들 중에서 몇 가지들은 SIMCA, PIROUETTE, MATLAB등에서 software package로 이미 상용화되어 있다. SIMCA는 PCA기술과 PLS 기술을 상용화하였고, HCA와 PCA기술은 PIROUETTE에서 software화 하였으며, MATLAB은 독립된 몇 개의 변수가 있는 범위의 기술들을 다양한 기술을 장비를 이용하여 상용화하였다.

이러한 분석법들을 통하여 정량, 정성 분석이 어려운 천연물이나 혈장, 소변 시료 등의 스펙트럼과 조성/ 물성간의 상호관계를 만들어서 기존의 일반 회귀 분석으로는 상관관계를 찾기 어려운 시료에 대하여 이론적 해석을 할 수 있게 만들었고 이를 통해 한의학적 해석이 가능하게 되었다.

3. 대사체학(Metabolomics)의 한의학에 대한 적용

1) 辯證論治와 한방 진단의 객관화를 위한 대사체학(Metabolomics)

대사체학(metabolomics)에서는 시스템 조절 기능과 신체 언어의 중요한 소스로 urine, blood, CSF, saliva, lymph, synovial fluid 등의 Body fluid 영역에 대해 특별한 관심 갖고 프로파일링을 해나가고 있다. 특히 질병 상태에서 변화되는 body fluid 안의 주요 대사군 및 대사체를 검출 및 규명하고 정상상태의 대사체 프로파일과 비교함으로써 질병을 진단하며, 소량의 대사체 변화를 신뢰성 있고 감도가 우수한 방법으로 검출함으로써 질병의 증상이 발현되지 않는 초기 상태에서의 조기 진단의 가능성을 갖게 되었다⁶⁾.

이러한 대사체 global profiling 분류에 의해 질병 진단 표지 물질(marker)의 도출이 용이하며 나아가 clustering pattern 분석을 이용하여 biomarker 도출도 가능하게 된다⁷⁾. 대사체 지문 분석법(metabolomic fingerprinting) 또는 대사체 phenotyping은 질병의 진단 및 예방에 마치 DNA profiling이나 DNA fingerprinting과 같이 유용하게 사용될 수 있고, 이는 한방 진단에 있어서도 큰 주목을 해 볼만 한 가치가 있다.

한의학의 진단은 辯證論治에 기초를 둔다. 이는 신체의 확실한 기질적 변화와 한두 가지의 신체수치의 변화 또는 감염여부를 진단의 기준으로 삼는 양방의 질병 진단방식은 다른 것으로, 한의학에서 “證”의 의미는 기질적 이상뿐만 아니라 기능적 이상에 대한 임상적 표현, 辨證을 위한 근거, 병리의 개괄, 진단의 결론을 포함하는 용어⁸⁾이

다.

基本辨證으로는 八綱辨證, 氣血辨證, 臟腑辨證 등이 있으며 이외에도 體質辨證과 外感熱病에 대한 六經辨證, 衛氣營血辨證 등이 있으며, 이들은 症과는 다른 한방 고유의 특징적인 診斷名으로 사용되고 있다.

辨證에 관하여 중국에서는 1950년 대 “中西醫結合”이라는 목표로 중의의 과학화와 체계화를 위한 中醫 理論 研究 과정에서 辯證論治의 표준화 작업에 착수하였다. 그리하여 1960년대에는 證에 대한 연구로 五臟辨證 중 腎陽虛 病證에 대한 객관적인 지표가 발표되고, 腎陽虛 이외에 八綱辨證에 속하는 證에 대한 연구가 시작되었다, 1970년대 중반에는 證에 대한 연구가 전면적으로 시작되어, 腎陽에 대한 연구가 확대되고 八綱에 대한 새로운 객관적 지표가 보고되었으며, 脾證, 痧證에 대한 연구도 시작되었다⁹⁾. 하지만 80년대에 이르러 證에 대한 연구과정에서의 문제점이 지적되고, 과학화 과정에 발생하는 회의적 시각도 발생하였다.

즉, 첫째로 證 연구는 단일 질환을 중심으로 하기보다는 여러 가지 질병을 통하여 관찰하여야 하며 五臟의 모든 證을 동시에 시행하여야 한다는 것이며, 둘째는 객관적 지표는 普遍性 및 差等性이 있어야 하며 새로운 지표가 추가되어야 하고 단일 지표보다는 여러 가지 지표를 설정하여야 한다는 것이다¹⁰⁾. 또한 證에 대한 동물 모형이 제시되었지만 대조군을 설정할 수가 없었으며 비특이적인 피로, 기아, 정신적 흥분이 여러 가지 證, 예를 들면 脾虛, 心虛, 肝虛 등의 공통된 발병인자로 특정한 證의 병태 모델

을 지시하지 못하였다. 더불어 五臟辨證과 八綱辨證에 대한 객관적 지표가 보고되었지만, 교차 검증을 할 수 없었고 中醫學에서 臟腑의 생리기능은 여러 가지 해부생리학적 기능을 포함하는 것으로 어떠한 證에서 한가지의 이상 지표를 발견하였더라도 한가지 이상 지표가 證을 반영할 수는 없었다. 다만 1990년대부터는 辨病과 辨證의 결합의 형태로 한의학의 진단명에 근거한 변병과 변증보다는 현대병명에 변증을 결합하는 방식이 이루어졌다¹¹⁾.

예를 들어 재생 불량성 빈혈의 辯證論治에 대해서 살펴보면, 중국에서는 1960년대에 재생 불량성 빈혈 환자의 頭暈, 氣短, 乏力, 面色口脣과 爪甲蒼白, 舌淡, 脈細惑弱의 임상증상을 관찰하여 氣血辨證을 氣虛, 血虛, 氣血兩虛로 변증하여 각각에 補中益氣湯, 當歸補血湯, 八珍湯으로 치료에 임하였다. 70년대 이후는 臟腑辨證에 의해서 補腎, 補肝腎의 治法이 주류를 이루며 임상효율을 증가시켜왔다¹²⁾. 여기에 재생 불량성 빈혈에 대한 변증의 객관적 지표를 살펴보기 위해서 周永明¹³⁾은 脾腎陰虛形型的 NK 세포활성도가 陽虛型보다 낮고, IL-2의 생성은 높고, CD4/CD8은 낮았다고 비교를 하였고, 劉寶文¹⁴⁾은 CD4/CD8을 비교하여 陰虛型<陽虛型<兩虛型으로 높았으며, 적혈구의 C3b 수용체에 대한 비율은 陰虛型<兩虛型<陽虛型的 순서로 높았음을 살펴보았다.

이렇듯 한방변증은 객관적 지표에 의거하기 보다는 증상의 조합으로 변증을 나누는 것이 많았고, 객관적 지표도 한두 가지로 제한적이어서 한방의 整體論적 이론에 맞지

않아서 이를 한방 변증에 이용하기에는 한계가 많았다.

하지만 대사체학(Metabolomics)을 이용한 한방 변증론치 및 한방진단의 객관화와 표준화과정은 기존의 실험방식에 비해 대사체의 전체론적 접근(Holistic approach)이 가능하다는 점에서 큰 유의성이 있다.

현재 대사체학(Metabolomics)의 진단학적 연구로, 특정 질병으로 분류된 사람과 정상인과의 프로파일링(profiling)의 분류를 통해서 biomarker를 찾기 위한 노력도 활발하게 진행되고 있다. 예를 들어 핵자기 공명기(NMR spectroscopy)를 사용하여 결장암의 진단에 적용해 본 결과, 작은 개체를 대상으로 결장암 환자와 정상군 사이에서 이들을 정확하게 구별할 수 있었고¹⁵⁾, 파킨슨 환자의 조기 진단을 위해서 66명의 파킨슨병 환자와 25명의 정상인을 대상으로 한 HPLC와 LCECA(electrochemical coulometric array

detection)를 이용한 혈액 대사체 프로파일링을 한 결과 파킨슨 환자와 정상인 사이의 명확한 clustering(Fig. 3.)구분이 되며, 혈액 대사체의 LCECA 결과를 통해서 uric acid 및 glutathion등의 대사체에 특이한 패턴을 보여 파킨슨 병의 biomarker로 활용 가능성¹⁶⁾에 대한 발표가 있었다.

또한 韓方 진단이 洋方의 같은 진단명 안에서도 病因에 따라 다른 辯證論治가 되는 것과 같이, 하나의 양방진단명 안에서 다르게 clustering 되고 있는 것을 대사체 프로파일링(Metabolic profiling) 분석을 통해 확인되고 있다. 즉, 초기 질병 상태에서 pattern clustering을 한 경우로, Matej Oresic 팀은 mass-spectrometry를 기반으로 한 metabolomics(lipidomics)을 이용하여 동물 모델의 phenotype을 분류하여, ob mouse는 비만의 초기 단계의 모델로 ob mouse와 wt mouse의 adipose tissue를 PCA로 분석한 결과 질병의 phenotype에 따라 분류 될 수 있음을 보고하였으며(Fig. 4.), 洋方에서 uterine cervical cancer이라고 진단된 환자의 요내 유기산 프로파일링을 통해서 canonical plot에서 tumor type에 따라 2개의 cluster로 구분¹⁷⁾된다는 보고가 있다.

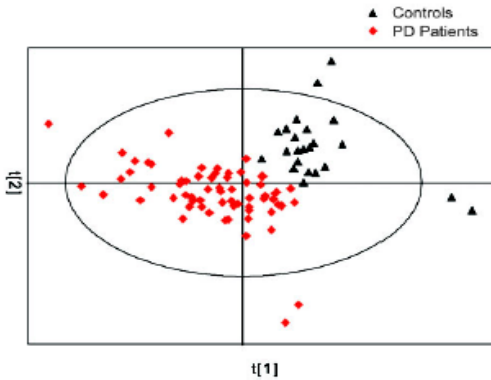


Fig. 3. PLS-DA scores plot showing a significant separation($P < 0.01$ by permutation test-random assignment of samples to different groups) between control subjects ($n=25$) and all PD patients (medicated and unmedicated, $n=66$) using complete digital maps.¹⁶⁾

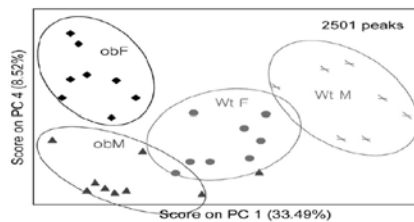


Fig. 4. The result of PCA Clustering based on a mass spectroscopy

이러한 연구 결과는 한방 辨證論治나 한방 진단의 유의성을 제공하는 중요한 단서로, 대사체 프로파일링(Metabolic profiling)을 통하여 辨證에 따른 clustering으로 나누고 이 clustering 간의 차이를 구별해 주는 biomarker를 찾는 방식을 이용하여 양방 진단명 안의 한방 변증 진단에 이용할 수 있다. 또한 양방병명에 관계없이 한방적 辨證論治만으로 진단된 환자들 사이의 공통되는 대사체를 찾음으로써 진단 biomarker를 선별하는 방식으로 辨證論治 진단의 과학화와 표준화가 이루어 질 수 있다.

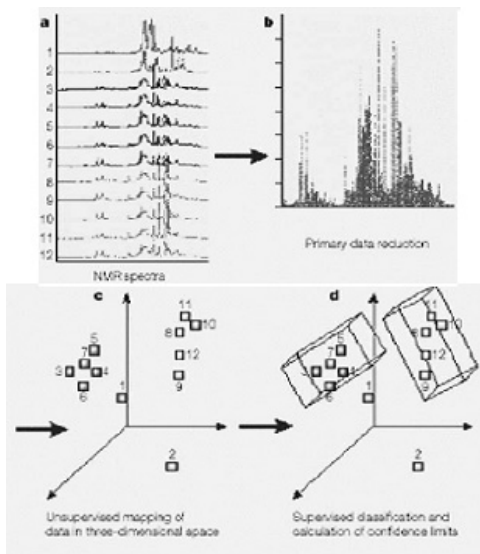


Fig. 5. Analytical method for metabolites with NMR :NMR spectra → primary data reduction→ Unsupervised mapping of data in three-dimensional space→Supervised classification and calculation of confidence limits

2) 한방 개별 처방의 예측 및 객관화를 위한 약물대사체학(Pharmaco-metabolomics)

현재까지의 양약 처방은 동일한 약에 대해 다른 반응을 보일 수 있으며, 때로는 다른 사람에 나타나지 않는 심각한 부작용을 경험할 수 있다는 점을 알면서도 각 사람의 특성에 맞춰서 약을 처방하려면 약의 종류와 양에 대해 각 사람이 어떤 반응을 보일지를 예측할 수 있어야 하기 때문에 개별 처방을 구사할 수 없었다.

반면에 한방처방은 수천 년간의 임상경험의 축적으로 각각 개인에 맞는 처방을 구사해 왔다. 이는 사람마다 形色이 다르면 五臟六腑 역시 다르기 때문에, 外證이 비록 같더라도 治療法은 다르게 해야 한다고 생각한 것으로, 李濟馬는 太陽, 太陰, 少陰, 少陽의 體質論을 정립하여 각각 개인 체질에 따른 처방과 식이요법 그리고 생활 방법에 대해서 이야기 했다. 예를 들면 인삼은 소음인에게만 쓰고 녹용은 태음인에게 지황은 소양인에게 응용된다고 규정 하듯이 다른 類型人에게는 쓰지 않는다¹⁸⁾.

이렇듯 체질별 처방이나 개별 처방의 경우 자신에게 적합하지 않은 처방을 하게 된다며 치료 효과가 현저하게 떨어진다거나 큰 부작용을 낼 수 있기에 한방 개별 처방 또한 임상적 효과는 크나 개인에 맞는 처방인지 알기 위한 객관적인 기준의 필요성이 절실하다.

이러한 객관적 기준을 마련하기 위해서 유전체학(genomics)과 약물 유전체학(Pharmaco-genomics)을 이용하여 각 개인의 유전적 차이로부터 약에 대한 반응을 예측하기 시작하였고, 이를 이용하여 한의학 연구원(Korea Institute of Oriental

Medicine)에서는 2015년까지 ‘이제마 프로젝트’라는 이름으로 사상체질 진단의 객관화와 약물연구에 대한 연구가 진행되고 있다. 사상의학의 경우에는 사상인의 유형이 선천적이기 때문에 후천적인 類型不變의 법칙과 사상인 이외의 다른 유형은 존재하지 않는다는 列外不許의 법칙을 전제로 하기¹⁹⁾ 때문에 의미를 가질 수 있지만, 대부분의 약은 약의 흡수, 분포, 대사, 배출과 같은 과정에 환경적인 요인이 크게 영향을 미치기 때문에 약물 유전체학의 접근법은 근본적인 제약을 가지고 있다. 즉, 특정 약에 대한 반응이 사람마다 달라지는 이유는 개개인의 대사 표현형(metabolic phenotype)의 차이에 기인하는데 이 대사 표현형이 유전적인 차이 외에도 영양상태, 장의 미생물 서식 상태, 나이, 질병의 상태, 다른 약의 복용 등에 의해 영향을 받는다²⁰⁾는 것이다. 이에 기존의 유전적 요인과 외부 환경적 요인에 의한 변화를 함께 보는 것이 약물 대사체학(Pharmaco-metabolomics)이라는 새로운 접근법이다.

약물 대사체학이란 개개인의 drug response phenotype을 예측²¹⁾하는 것으로 약을 복용하기 전에 소변 등의 체액을 이용하여 대사물질의 프로필을 작성하고 컴퓨터 모델링을 통해 이 프로필로부터 약을 복용한 후의 반응을 예측하는 것이다.

예를 들어 Bolesma E는 인삼 복용과 혈류 속도의 관계를 알아보기 위해서 인삼을 복용하고 난 후 혈류 속도를 관찰하였고, 이에 따라 혈류 변화가 없는 그룹, 혈류 속도가 빨라진 그룹, 혈류 속도가 느려진 그룹으

로 3가지 그룹으로 나뉘는 관찰하고, 각각의 그룹에서 인삼의 효과가 다르게 나타나는 원인에 대하여 urine의 대사체(metabolite)를 분석하여 이들 3그룹은 각각 다른 pattern을 나타남²²⁾(Fig. 6.)을 보고하였다.

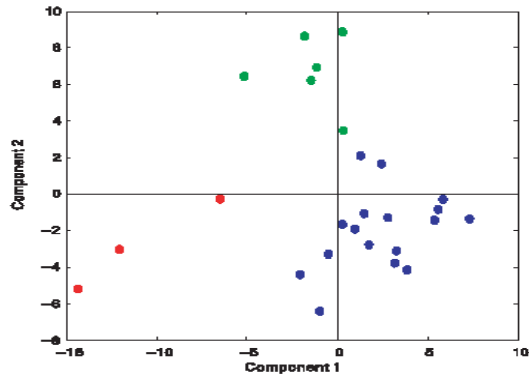


Fig. 6. Effect of Ginkgo on human volunteers. Score plot (red, no effect upon Ginkgo treatment; blue, descending blood flow; green, ascending blood flow) showing urinary NMR spectra of volunteers treated with Ginkgo (each point represents a complete NMR spectrum). Subjects with an increasing blood flow after treatment have a different urinary NMR spectrum, and thus metabolomic composition, than subjects with a decreasing blood flow respectively subjects showing no effect upon treatment²²⁾

또한 Nicolson JK는 약물 대사체 실험의 모델을 제시하고,(Fig. 7.) paracetamol의 예측실험을 진행하였다. 우선 그는 preliminary study를 위하여 rat에게 간독성이 있는 것으로 알려진 galactosamine hydrochloride를 복용시킨 24시간 후 liver 손상에 responder/non-responder그룹의 pre-dose urine 대사체 프로파일링(metabolite profiling)을 통해 간단한 PCA 분석상 확인한 차이가 있음을 확인한 후 (Fig. 8.) 좀 더 복잡한 실험으로 해열 진통제로 많이 사용하는 paracetamol을 rat에게

독성 역치량 만큼 복용한 다음 개별마다 간 독성의 차이가 있음을 보고, pre-dose 대사체 프로파일링과 post-dose outcome 사이에 유의 있는 관계가 있음을 확인하고, pre-dose 대사체 패턴 클러스터링에 따라 간 손상의 차이가 나타남을 알았다.

이를 통해 그는 개별처방을 위해서는 더 많은 작업이 필요하겠지만 내인성 대사체 상태(endogenous metabolic status)와 약물 대사작용 결과 (drug metabolism outcome) 사이의 규명이 하나씩 이루어진다면 비침습적인 간단한 실험을 통하여 개별 처방이 가능하다²³⁾고 설명하였다.

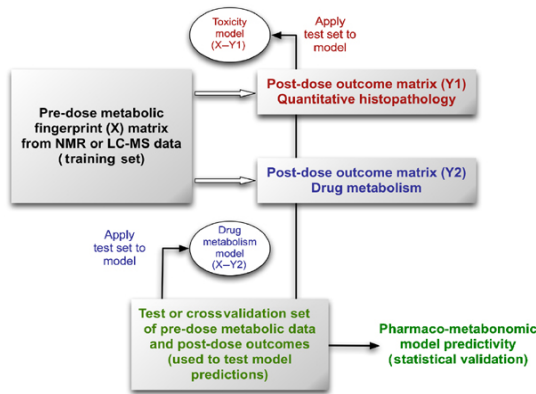


Fig. 7. Pharmaco-metabonomic modelling procedure: spectroscopic data on pre-dose metabolic fingerprints (X matrix) from biofluids such as urine and plasma are statistically linked to outcome (quantitative toxicity (Y1) drug metabolism (Y2) matrixes) of a drug intervention via multivariate statistics such as partial least squares methods. Typically, 20 - 50% of all data is used in the training set construction. The predictive power of the models is then tested using a test set or a cross-validation set to assess modelrobustness. It is also possible as an additional test to avoid overfitting of data, to deliberately permute the training set matrixes to induce a false model that should have a very low predictive capability²³⁾.

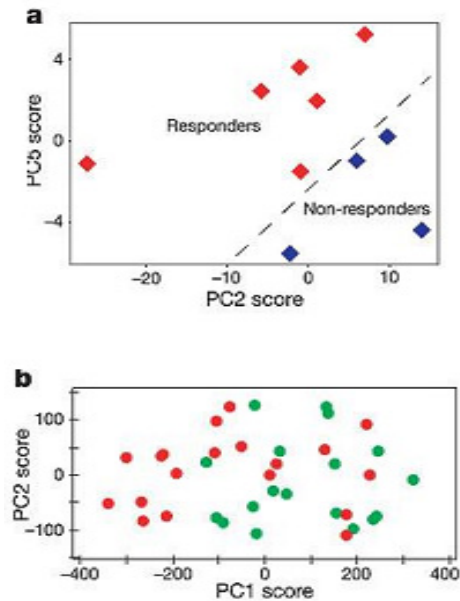


Fig. 8. a, A scores plot from PCA of the 1H NMR spectra of urine samples obtained before dosing male Sprague - Dawley rats with galactosamine hydrochloride (800mgkg^{-1}). Each point represents an individual rat, with colour-coding according to post-dose behaviour. **b,** A scores plot from PCA of urinary data obtained before dosing male Sprague - Dawley²³⁾.

이렇게 개별에 맞는 처방은 약물 뿐 아니라 식단에서도 중요하다. 그래서 최근의 연구들은 nutrients를 중심으로 많이 이루어고 있다. Emory 대학의 Dean Jones 팀은²⁴⁾ NMR을 이용하여 사람의 Plasma에서 nutritional metabolomics 연구를 수행하였고, 박²⁵⁾은 특정 식이 조절군과 비식이 조절군의 요중 대사체의 차이와 흡연자와 비흡연자 사이의 요중 대사체를 분석하였다. 이러한 nutritional metabolomics 연구는 면역성 테스트에 반응하는 대사 pattern이나 pattern 변화로부터 질병을 예측할 수 있으

며, 이러한 질병과 관련이 되는 영양물을 확인할 수 있다. 이렇게 나이나 환경, 유전적 요인들이 다르므로 이러한 pattern을 구분함으로써 건강 유지나 질병을 예방할 수 있는 식품들을 섭취할 수 있다. 한의학에서도 체질에 맞는 다른 음식을 먹어야 한다고 설명하는데, “태양인의 음식은 淸平疏淡하고 담백한 음식이 좋고, 또한 補肝하는 음식으로 지방이 적은 해물류 음식이 좋으며, 반대로 辛熱한 음식을 먹으면 열격과 反胃증이 생기게 되며 소양인은 脾胃臟에 열이 많으므로 음식은 氣가 서늘하고 生冷한 음식이나 과일, 채소 등이 좋고 陰虛하기 쉬우므로 補陰하는 음식이나 해물류가 좋으며, 태음인은 체격이 크고 소화기능이 비교적 발달하여 음식에 크게 구애됨이 없어 동식물성 단백질이 풍부한 음식이나 味가 重厚한 음식이 좋다. 소음인은 소화력이 약하고 비위장이 냉하여 항상 더운 음식물이 좋고 辛熱한 조미료를 많이 섭취하는 것이 좋다. 生冷한 음식이나 지방질이 많은 음식은 설사를 유발하기 쉽다.”²⁶⁾라고 하여 사상체질에 따라서 체질 식이지도를 하는데 이에 대한 객관적 근거도 제시할 수 있게 된다.

3) 한약재의 품질 및 품종 평가 등을 위한 식물 대사체학(Plant metabolomics)

한의학에서 한약재를 이용하는 것은 서양 의학처럼 유효 물질에 기준을 두지 않는다. 즉, 한의학적 藥理 연구는 藥物이 지니고 있는 氣味와 性質에 의거한다. 그러므로 각종 藥物의 基源과 四氣와 五味 그리고 升降浮沈, 歸經, 補瀉, 또는 有毒과 無毒 등의 주요

한 측면을 귀결하여 藥物의 性能을 파악한다. 이런 藥物들이 지니고 있는 性能의 인식은 장기간에 걸친 醫療人의 임상 경험에서 얻은 결과이며 아울러 陰陽五行 및 臟腑 經絡의 이론을 기초로 삼은 것이다.²⁷⁾ 그렇기에 인삼의 補氣효과를 단순히 사포닌의 효과로 歸結시켜서 설명하는 것은 한의학적 설명방법으로는 맞지 않으며, 약재의 생산지와 修治방법에 따라서도 한약의 氣味가 변화하여 효과가 달라지게 된다.

또한 한약 처방의 80%이상은 식물로 구성되어있으며, 이 식물의 생리 주기 각 단계와 그 당시의 환경에 따라서 식물의 구성 물질을 천차만별로 변한다. 특히 병원체의 침입에 대한 화학적 방어를 하고 또는 자신이 원하는 것을 특별한 향기나 냄새로 끌어들이는 역할을 하는 2차 대사체들은 식물에서 수천 개 이상을 만들어지는데, 인간에게 있어서 이는 건강을 위해 광범위하고 다양하게 사용할 수 있는 치료제가 가득 들어있는 자연의 寶庫라고 할 수 있고²⁸⁾, 한의학 또한 한약재 안에 존재하는 이 2차 대사체들을 이용한다.

이렇게 한약재는 수많은 성분들로 구성되어 있고, 이들 사이의 복합 작용에 의해서 효능이 나타나기 때문에 한약재에 존재하는 지표 성분을 찾기가 쉽지 않다. 하지만 식물에 존재하는 모든 대사산물의 시간적·공간적 변화를 추적 조사하는 식물 대사체학(Plant metabolomics)의 발전으로 이를 가능케 하고 있다. 즉 HPLC, LC/MS, GC/MS, NMR 등을 함께 사용하는 Hyphenated tech를 통하여 식물체 안의 수많은 대사체들

(metabolites)의 분석이 가능해짐에 따라 다 성분 복합체인 한약재의 특성 분석을 정확하고 빠르게 수행할 수 있게 된 것이다.

더욱이 서로 다른 품종이나 품질에 대한 대사체 프로파일링(metabolic profiling)을 통하여 판별하려고 한다면 굳이 각 품종의 구성 화합물을 정성적으로 결정할 필요는 없게 되었다. ¹H-NMR과 같은 분석기기를 이용한 결과를 PCA와 같은 기법을 이용하여 대사체 프로파일의 패턴 인식법을 이용하게 되면 식물의 개개의 구성 물질에 대해서는 외면한 채 단지 프로파일의 패턴만으로 유전적으로 동일한 한약재라 하더라도 재배 원산지, 재배 시기, 농산물의 연령 구별 등을 할 수 있기 때문이다.

예를 들면 버지니아 오일의 lipoxygenase에 의한 2차 대사물의 대사체군(metabolome) 분석을 통해 산지별 올리브 오일을 구분할 수 있는 생체 지표물질을 선정하여 객관적인 평가 지표 선정이 가능하였으며²⁹⁾, Targeted analysis를 이용한 토마토의 휘발성 성분의 프로파일링을 통해 토마토 종류 구별 및 시료내의 숙성 정도를 구분하는 보고³⁰⁾가 있고, 일본산 녹차의 휘발성 성분 중 주요 화합물을 biomarker로 선정하여 분석한 연구에서는 녹차 시료의 품질과 등급을 결정하는데 이용된 바가 있다³¹⁾.

또한 한약은 대부분이 생약이므로, 그 중에 일부 생약은 반드시 특정한 修治로 처리를 해야만 치료목적에 맞는 충분한 약효를 발휘할 수 있게 된다. 따라서 각기 다른 藥性和 치료 요구에 따라서 여러 가지 修治의

방법이 발달해 왔다.

修治 방법에는 크게 水製法, 火製法, 水火共製法이 있으며 이외에 熟, 制膠, 制霜, 制珠, 生衣, 複製의 방법이 활용하고 있으며, 이를 통하여 약물의 효능이 변화하고, 치료 효능이 增大되고, 引經 부위를 변화시키고, 해독하였으며, 偏性된 藥性を 완화하고, 雜質을 제거하는 등의 효능이 나타난다³²⁾고 보았다. 이렇게 수처에 따른 약물의 성분 변화에 대한 대사체학적 연구도 진행되고 있는데, 최³³⁾ 등은 인삼이 九蒸九暴의 과정 안에서 변화하는 대사체에 대한 프로파일링의 변화를 0,1,2,4,8,16시간단위로 살펴서 PCA로 통계 처리 결과 clustering됨을 확인하고, 이를 바탕으로 시중에 유통되고 있는 각종 홍삼에 대한 가공시간에 대해서 판별하였다.

이렇게 식물 대사체학을 통해서 약재, 식물, 複方, 추출물 등에 구성되어 있는 대사체에 대한 전체적인 분석을 제공하고, 이들에 대한 패턴 인식을 통하여 생산지, 품질 등을 나누고 표준화 할 수 있는 근거를 제시하고 있다.

4) 한약과 한방처방(複方) 효과/독성 평가를 위한 대사체학(Metabolomics).

한약에 대한 품질평가 끝났다면 다음 단계는 이들의 생체 내 작용에 대한 분석이 필요하다. 이는 앞에서 이야기 했던 body fluid의 분석을 통하여 이루어진다. 즉, 한약재나 複方 등을 복용한 후의 body fluid를 NMR등을 통하여 분석하고 이 자료를 multivariate data analysis(MVDA)를 통해서 생체 작용에 대한 clustering을 통하여

약효, 부작용 등에 대해서 조사하는 것이다.

특히 한의학에서는 약재의 사용을 약물의 구성 성분에 의거한 용법이라기보다는 氣味, 歸經, 升降浮沈 등에 의한 사용을 주로 하고, 약재 분류 또한 補氣藥類, 補陰藥類, 清熱藥類, 溫熱藥類 등으로 구성 성분에 의거하지 않고, 생체 효과로 나누었다. 하지만 확인 되지 않은 화합물이나 추출물의 동물에서 나타나는 현상을 일정한 간격으로 관찰하는 것으로 새로운 작용을 알아내는 과거의 방식(Hippocratic screening)³⁴⁾으로는 한의학의 약재 분류 체계를 객관화, 표준화하기에는 어려움이 많았고, 이에 따른 補陽力이나 補陰力 등에 대한 평가도 쉽지 않았다.

하지만 대사체학(Metabolomics)을 통해 약재나 複方의 특별한 작용에 대해 대사체 clustering의 pattern 분류를 통하여 생체 작용에 대해서 쉽게 알 수 있게 되었고, 이는 효능별 한약재의 분류 뿐 아니라 위에서 말한 한의학의 “證”에 대한 규명을 할 수 있을 듯하다. 즉, 補氣藥類, 補陰藥類, 清熱藥類 등의 기존 분류 약재를 복용한 후에 나타나는 대사체 clustering의 pattern 분류를 통하거나, 滋陰한 약재들이나 六味地黃丸과 같은 대표처방을 통해서 ‘陰虛證’을 연구하고, 活血化癥 한 약재들이나 桂枝茯苓丸과 같은 처방 통하여 ‘血癥證’을 연구하며, 解表한 약재들이나 桂枝湯과 같은 처방으로 ‘表證’ 등을 연구하는 것을 통해서 “證”에 대한 인체 전체적인 관점에서의 또 다른 연구법을 통해 밝힐 수 있다.

더욱이 한약 처방은 여러 한약재의 구성

으로 구성되었고, 때때로는 50종이 넘는 약재와 수천개의 화합물로 구성된다. 이렇게 여러 종류의 약재로 구성되어 있는 처방은 “複方”이라고 하고, 複方은 한 가지 약물에서 볼 수 없던 相乘효과를 나타낼 뿐만 아니라, 전혀 새로운 효과를 나타내기도 하며, 또 한 가지 약물만을 사용하였을 때 생길 수 있는 부작용도 극소화 시킨다. 이렇듯 한방의 방제 구성 원리는 辨證과 개인 체질을 고려하여 한의학적 이론에 입각하여 이루어진다.

方劑 原理 중 대표적인 것은 君臣佐使論으로, 각각의 처방에는 질병의 증상에 대한 主症에 대한 치료 작용을 하는 君藥이 존재하고, 君藥을 補助하고 君藥의 부족한 藥力을 더욱 협조하는 臣藥과 君臣藥의 藥性이 너무 峻烈하거나 毒性이 있을 때 이를 制約하는 藥과 또는 兼證 治療를 하는 佐藥 그리고 藥物을 病所에 이르도록 하거나 모든 藥劑의 氣味の 調和를 위하여 사용되는 使藥으로 구성되는 것이 方劑의 기본 원칙이 되는 것이다.³⁵⁾

하지만 효과가 있는 단일 성분을 발견하기 위한 방식으로는 이런 方劑原則에 따른 相乘효과(synergy effect)는 무시되어 신약 개발에 제약이 있다. 예를 들어 미국의 NCI(National Cancer Institute)와 농산물 USD 부서에서 12000종의 다른 조직의 35000개의 sample을 screening한 결과 오직 3개의 새로운 신약이 발견되었을 뿐이었다³⁶⁾. 그러나 相乘효과에 대한 보고는 많다. 예를 들어 황련, 황백의 유효성분으로 알려져 있는 alkaloid berberine의 항균 능력은

같은 식물 안에 있는 5' MHC(methoxy-hydnocarpin)와 함께 있을 때 100배 증가된다. 그러나 5' MHC(methoxyhydno-carpin) 단독으로는 항균 능력은 없는데, alkaloid berberine와 함께 함으로써 相乘 효과가 발휘³⁷⁾하는 것이다. 또한 大麻의 경우 THC(tetrahydrocannabinol)가 중요 효능 물질로 간주 되어 왔으나, 이미 1970년대에 大麻 추출액 안에 다른 화합물과 함께 할 경우 相乘효과가 있는 것으로 보고³⁸⁾되었고, 최근에는 大麻 안에 있는 THC와 CBD (canabidiol)가 함께 있음으로 相乘효과가 있다는 것이 증명³⁹⁾되었다. 또한 싹튼 감자에 존재하는 solanine과 chaconine의 항진균 작용(antifungal activity)은 다양한 범위의 glycoalkaloid 비율에서 함께 있을 때 相乘작용이 있는 것으로 나타났다⁴⁰⁾.

이렇듯 같은 식물 種에서 기원하는 다른 화합물 사이의 相乘효과에 대해서 많은 연구 보고가 있다. 하지만 複方의 효과를 증명하기 위해서 살아있는 생물에서 혼합된 구성물들과 相乘 효과를 목적으로 한 muti-target을 단일한 bioassay만을 통해서 는 불가능하다.

하지만 system biology의 대두로 단일 약재뿐만 아니라 複方의 효과에 대한 다각적인 입증이 가능하게 되고, 처방의 조성규칙을 연구할 수 있다.

그리하여 대사체학의 분석법을 이용하여 약재와 처방이 효과에 대하여 연구가 진행되고 있다. WIPM(Wuhan Institute of Physics and Mathematics)에서는 HPLC (high-performance liquid chromatography)

와 diode-array detection, solid phase extraction, 핵자기 공명기(nuclear magnetic resonance spectroscopy), 질량분석기(mass spectrometry)등을 포함한 muti-hyphenated detection system을 갖추어 urine이나 blood와 같은 body fluid안에 있는 구성물질의 80%을 분석하여 複方의 효과와 안정성에 대해서 실험하고 있으며, Wang⁴¹⁾등은 급성 추위 스트레스에 대한 인삼 추출물 중의 ginsenosides의 효과에 대해서 살펴보았으며 또 가벼운 스트레스를 준 후에 인삼잎 추출물을 rat에게 주었을 때의 효과를 clustering pattern 구분을 통해서 확실한 차이를 밝힌 연구⁴²⁾(Fig. 9.)가 이루어졌다.

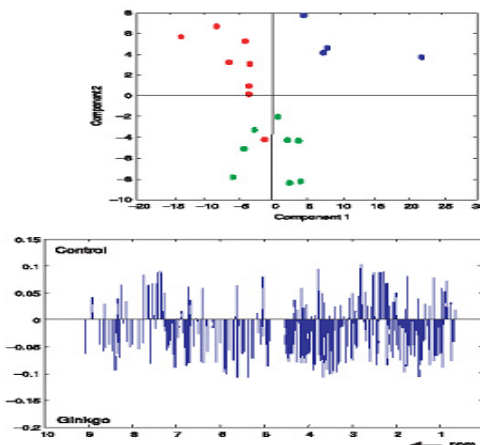


Fig. 9. Effects of Ginkgo leaf extracts on rat. Score plot(blue, controls; red, Ginkgo treated; green, Ginkgo treated, mildly stressed) of urinary NMR spectra of rats treated with Ginkgo versus control rats (left, each point represents a complete NMR spectrum). The shift of Ginkgo treated groups in horizontal direction away from the controls can be ascribed to an effect of Ginkgo. The shift in vertical direction is supposed to reflect stress. The factor spectrum(right) represents NMR signals, and thus metabolites, that are lower in control than treated animals(negative direction) and larger in control than in treated animals(positive direction) in urine of rats treated with Ginkgo⁴²⁾.

뿐만 아니라 腎虛證에 대한 肉苁蓉의 효과
 과가 나타나는 과정에 대해 대사체 프로파일링⁴³⁾(Fig. 10, 11.)을 통하여 분석한 보고
 가 있다.

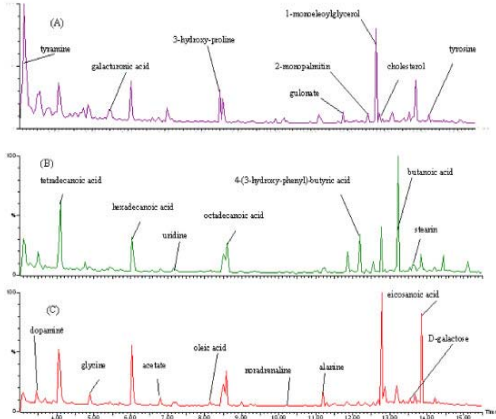


Fig. 10. Typical GC-MS total ion current (TIC) chromatograms of urine on day 10 from the treatment group (A), model group (B) and control group (C)⁴³⁾.

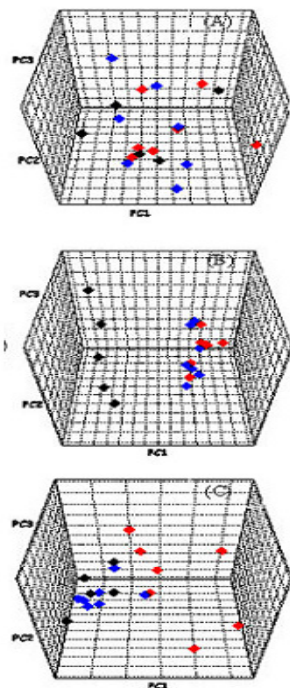


Fig. 11. Comparison of metabolic profiles from the control group (black diamond), model group (red diamond), and treatment group (blue diamond) at different time points: pre-dose (A), day 3 (B) and day 10 (C). Each dot in the PCA scores plot represents the data obtained from a rat⁴³⁾.

IV. 결론

대사체학(Metabolomics)의 대사체 분석법
 과 통계 방법을 통해서 얻어지는 clustering
 과 pattern 분류는 인체를 有機的 關係로 인
 식하는 한의학 이론의 객관화를 위한 다양
 한 정보를 제공한다.

특히 분석하는 대사물에 따라 biofluid의
 분석을 통하여 한의학 진단의 객관화에 대
 한 근거 및 약물의 한의학적 효능의 평가 기
 준을 제시하며, 한약재의 분석을 통해서
 한약재의 품종, 품질 등의 평가에 대한 객관
 화 및 표준화 근거를 제시하였다.

이렇게 대사체학(Metabolomics)을 한의
 학적 관점에서 응용하게 된다면 다양한 한
 의학 치료법의 진단 및 치료 효과의 객관화
 에 근거를 제시할 것으로 보인다.

참고문헌

1. Ter Kuile BH, Westerhoff HV. Transcriptome meets metabolome: Transcriptome meets metabolome: hierarchical and metabolic regulation of the glycolytic pathway. FEBS Lett. 2001 ; 500(3) : 169-71.
2. 노영범. 임상방제학강좌. 서울 : 대성의학사. 2000 : 5.
3. 조황성. 유전자 분석법에 의한 사상체질

- 진단의 객관화 연구. 한국한의학연구원. 1997 : 1-106.
4. Ogawa K, Kojima T, Matsumoto C, Kamegai S, Oyama T, Shibagaki Y, Muramoto H, et al. Identification of a predictive biomarker for the beneficial effect of a Kampo (Japanese traditional) medicine keishibukuryogan in rheumatoid arthritis patients. *Clin Biochem.* 2007 ; 40(15) : 1113-21.
 5. Dunne VG, Bhattachayya S, Besser M, Rae C, Griffin JL. Metabolites from cerebrospinal fluid in aneurysmal subarachnoid haemorrhage correlate with vasospasm and clinical outcome: a pattern-recognition 1H NMR study. *NMR Biomed.* 2005 ; 18(1) : 24-33.
 6. Raamsdonk LM, Teusink B, Broadhurst D, Zhang N, Hayes A, Walsh MC, et al. A functional genomics strategy that uses metabolome data to reveal the phenotype of silent mutations. *Nat Biotechnol.* 2001 ; 19(1) : 45-50.
 7. Sabatine MS, Liu E, Morrow DA, Heller E, McCarroll R, Wiegand R, et al. Metabolomic identification of novel biomaker of myocardical ischemia. *Circulation.* 2005 ; 112(25) : 3868-75.
 8. 전국한외과대학 병리학교실. 한방 병리학. 서울 : 일중사. 2002 : 172-9.
 9. 梁茂新. 中醫證研究的 困惑與 對策. 中國 : 人民衛生出版社, 1998 : 1-6, 48-55, 82-3, 128-9, 134-5, 158.
 10. 孫孝洪. 中醫治療學原理. 中國 : 四川科學技術出版社 : 1990 : 17-24, 35-6.
 11. 陳家旭. 中醫“證”研究的回顧與展望. 北京 : 中醫藥大學學報. 1998 : 40-3.
 12. 姜長玲, 薄紅, 敦勁松. 中醫藥治療再障進况概略, 中醫藥學報. 1999 : 62-3.
 13. 周永明, 黃振翹, 薛志忠, 黃韜. 健脾補腎活血方對再生障礙性貧血有關免疫指標的影響. 上海中醫藥雜誌. 1998 ; 12 : 12-4.
 14. 劉寶文, 陶淑春, 李曉英, 石偉, 張紹蕊, 李心 春. 再障靈對60例慢性再障各證型T淋巴細胞亞群, 紅細胞C3b受體的調整作用及療效觀察. 實用中西醫結合雜誌. 1998 ; 1(1) : 1-2.
 15. Bathen TF, Engan T, Krane J, Axelson D. Analysis and classification of proton NMR spectra of lipoprotein fractions from healthy volunteers and patients with cancer or CHD. *Anticancer Res.* 2000 ; 20(4) : 2393-408.
 16. Bogdanov M, Matson WR, Wang L, Matson T, Saunders-Pullman R, Bressman SS, et al. Metabolomic profiling to develop blood biomarkers for Parkinson's disease. *Brain.* 2008 ; 131(Pt 2) : 389-96.
 17. Kim KR, Park HG, Paik MJ, Ryu HS, OH KS, Myung SW, Liebich HM: Gas chromatographic profiling and pattern recognition analysis of urinary organic acids from uterine myoma patients and cervical cancer patients. *J*

- Chromatogr B Biomed Sci Appl. 1998 ; 712(1-2) : 11-22.
18. 이을호. 이을호 전서 7. 서울: 예문서원. 2000 : 463.
 19. 이병채. 동무 이제마 사상의학과 철학에 대한 고찰. 익산 : 원광대학교 대학원. 2007 : 52.
 20. Clayton TA, Lindon JC, Cloarec O, Antti H, Charuel C, Hanton G, et al. Pharmaco-metabonomic phenotyping and personalized drug treatment. *Nature*. 2006 ; 440(7087) : 1073-7.
 21. Kaddurah-Daouk R, Kristal BS, Weinshilboum RM. Metabolomics: a global biochemical approach to drug response and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2008 ; 48 : 653-83.
 22. Boelsma E, Lamers RJ, Hendriks HF, van Nesselrooij JH, Roza L. Evidence of the regulatory effect of Ginkgo biloba extract on skin blood flow and study of its effects on urinary metabolites in healthy humans. *Planta Med*. 2004 ; 70(11) : 1052-7.
 23. Nicholson JK. Global systems biology, personalized medicine and molecular epidemiology. *Mol Syst Biol*. 2006 ; 2 : 52.
 24. Cho HW, Kim SB, Jeong MK, Park Y, Miller NG, Ziegler TR, et al. Discovery of metabolite feature for the modelling and analysis of high resolution NMR spectra. *Int J Data Min Bioinform*. 2008 ; 2(2) : 176-92.
 25. 박은미. 메타볼로믹스를 이용한 노 중 대사체 프로파일의 개체내 개체간 변이. 서울: 고려대학교. 2007: 2, 10-70, 71.
 26. 송일병. 四象體質과 體質飲食. *Koean J. Dietary culture*, 1988 ; 3(4) : 347-9.
 27. 신민교: 臨床本草學. 서울 : 영림사. 2000 : 112.
 28. Verpoorte R, Van der Hijden R, Hoopen HJG, Memelink J. Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnol Lett*. 1999 : 21 : 467-79.
 29. Cavaliere B, De Nino A, Hayet F, Lazez A, Macchione B, Moncef C, et al. A metabolomic approach to the evaluation of the origin of extra virgin olive oil: a convenient statistical treatment of mass spectrometric analytical data. *J Agric Food Chem*. 2007 ; 55(4) : 1454-62.
 30. Tikunov Y, Lommen A, de Vos CH, Verhoeven HA, Bino RJ, Hall RD, et al. A novel approach for nontargeted data analysis for metabolomics: Large-scale profiling of tomato fruit volatiles. *Plant Physiol*. 2005 ; 139(3) : 1125-37.
 31. Pongsuwan W, Fukusaki E, Bamba T, Yonetani T, Yamahara T, Kobayashi A. Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass

- spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting. *J Agric Food Chem.* 2007 ; 55(2) : 231-6.
32. 변성희, 서부일. 汪昂의 藥物 理論에 관한 연구(-修治 理論에 關하여). *大韓韓醫學方劑學會誌*, 1999 ; 7(1) : 177-87.
33. 최문영, 김경민, 최민석, 허윤석, 이해나, 이충우, 권성원. 가공시간에 따른 인삼의 대사체학 분석. *J. Kor. Pharm Sci.* 2008 ; 38(1) : 23-9.
34. Malone MH, Robichaud RC. A Hippocratic screen for pure or crude drug materials. *Lloydla.* 1962 ; 25 : 320-31.
35. 윤용갑. *東醫方劑와 處方解說*. 서울: 의성당. 2002 : 25-41.
36. Yuan R, Lin Y. Traditional Chinese medicine: an approach to scientific proof and clinical validation. *Pharmacol Ther.* 2000 ; 86(2) : 191-8.
37. Stermitz FR, Lorenz P, Tawara JN, Zenewicz LA, Lewis K. Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydnoctarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proc Natl Acad Sci.* 2000 ; 97(4) : 1433-7.
38. Mechoulam R, Crawn J, Paton WDM(eds). *Cannabis and its Derivatives*. London: Oxford University Press. 1972 : 1-13.
39. Williamson EM, Whalley BJ. Cannabis as a medicine: evidence for synergy. 26th LOF Symposium 15 February 2002. Leiden: Leiden University Press. 2002 : 7-8.
40. Roddick JG, Rijnenberg AL, Osman SF. Synergistic interaction between potato glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in relation to destabilization of cell membranes: ecological implication. *J Chem Ecol.* 1998 ; 14 : 889-902.
41. Wang X, Su M, Qiu Y, Ni Y, Zhao T, Zhou M, et al. Metabolic regulatory network alterations in response to acute cold stress and ginsenoside intervention. *J Proteome Res.* 2007 ; 6(9) : 3449-55.
42. Wang M, Lamers RJ, Korthout HA, van Nesselrooij JH, Witkamp RF, van der Heijden R, et al. Metabolomics in the context of systems biology: bridging traditional Chinese medicine and molecular pharmacology. *Phytother Res.* 2005 ; 19(3) : 173-82.
43. Qui Y, Chen M, Su M, Xie G, Li X, Zhou M, et al. Metabolic profiling reveals therapeutic effects of *Herba Cistanches* in an animal model of hydrocortisone-induced kidney-deficiency syndrome. *China Med.* 2008 ; 3 : 3.