

플로레틴(Phloretin)의 혈관내피수축 융합효과와 관련기전 연구

방준석¹, 제현동², 민영실^{3*}

¹숙명여자대학교 약학부 교수, ²대구가톨릭대학교 약학대학 교수, ³중원대학교 제약공학과 조교수

The Convergence Effect of Phloretin Existent in Plants on Vascular Contractility

Joon Seok Bang¹, Hyun Dong Je², Young Sil Min^{3*}

¹Professor, College of Pharmacy, Sookmyung Women's University

²Professor, Dept. of Pharmacology, College of Pharmacy, Daegu Catholic University,

³Assistant Professor, Dept. of Pharmaceutical Science, Jungwon University

요약 이 실험에서 뇌졸중, 심혈관계 질환 등에 대해 치료 활성이 기대되는 플로레틴(phloretin) - 사과나무 잎과 개살구의 주성분 - 에서의 쥐의 대동맥에서 ROCK(Rho연관 인산화효소) 불활성화를 통해 혈관수축을 억제한다는 기전을 확인하고자 한다. 개체에서 분리되고 내피가 유지되거나 손상된 동맥의 고리 조각은 2개의 금속 고리로 근운동기록기(myograph) 수조 안에 현수되었고 아래쪽 고리는 수조바닥에 고정되었고 위쪽 고리는 등장력 변환기에 연결되었고 등장력 변환기의 전기적 신호는 생리측정기에 표시되었다. 재미있게도 플로레틴은 수축약 (fluoride, phorbol ester)에 의한 혈관 수축을 억제하여 ROCK 또는 MEK(마이토젠 활성화 단백질 키나제 키나제) 비활성화 같은 경로가 혈관이완에 관여할 수 있음을 보였다. 따라서 phloretin은 내피가 완전한 혈관에서의 내피에 의존적인 작용 외에 추가적으로 내피에 비의존적으로 평활근에서 ROCK 또는 MEK 활성 감소에 참여하여 결과적으로 평활근에서 액틴-미오신 상호작용을 억제하여 혈관을 이완하는 것으로 관찰되었다. 또한 phloretin은 thromboxane A2 유도수축을 억제하고 ROCK 및 MEK 억제를 포함하는 기전있음을 주장합니다.

주제어 : 내피, 융합, 플로레틴, 혈관수축, ROCK(Rho연관 인산화효소)

Abstract This study tried to observe the ability to inhibit vasoconstriction in phloretin - the primary ingredient of apple tree leaves and the Manchurian apricot - through ROCK(Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase) inactivation in rat aortae. A piece of artery that was separated from Sprague-Dawley male rats and retained or damaged the endothelium was suspended in myograph tank with two metal rings, the lower ring fixed to the bottom of the tank, and the upper ring connected to the isotonic force transducer. Interestingly, phloretin inhibited fluoride- or phorbol ester-provoked contraction implying that additional pathways dissimilar from endothelial nitric oxide synthesis such as ROCK or MEK (mitogen activated protein kinase kinase) inactivation might be involved in the vasorelaxation. Therefore, this study provides that phloretin participates in the reduction of ROCK or MEK activity in smooth muscle in addition to the endothelial-dependent action of the endothelium in complete blood vessels, and consequently inhibits actin-myosin interaction in smooth muscle. Furthermore, phloretin inhibited thromboxane A2-induced contraction suggesting the mechanism including inhibition of ROCK and MEK.

Key Words : Endothelium, Convergence, Phloretin, Vasoconstriction, ROCK(Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase)

*Corresponding Author : Young Sil Min (youngsil31@jwu.ac.kr)

Received September 15, 2020

Revised October 5, 2020

Accepted October 20, 2020

Published October 28, 2020

1. 서론

최근 한국인의 주요 사망원인 경향을 살펴보면 고혈압과 관련이 있는 심장 질환과 뇌혈관 질환이 압도적으로 높은 사망률을 나타내고 있으며 고혈압성 질환에 의한 사망률도 2008년부터 점차 증가하고 있다. 고혈압 자체로는 증상이 없으나 지속적인 경우에 뇌, 신장, 심장의 혈관을 손상시켜 치매, 뇌졸중, 신부전, 심부전, 뇌혈관질환, 관상동맥질환, 말초혈관질환 및 기타 심혈관계 질환의 위험인자로 생각되고 있다. 따라서 평상시 혈압 관리가 중요하며 이러한 혈압 조절에 영향을 주는 인자에 비만, 연령, 음주, 흡연, 고염식, 신체 활동, 스트레스, 가족력 등이 포함된다고 추측된다[1]. 그리고 고혈압과 노화, 당뇨병, 죽상경화증 등 대사성 질병에서 내피의 손상과 기능 억제에 의해 혈압조절 기능이 약화된다. 고혈압에 대해 칼슘 통로 차단제, 베타 차단제, 안지오텐신 수용체 차단제 또는 이노제이 사용되고 있으나 보상성 빈맥, 염분 및 수분 저류, 혈청 지질성분에 대한 악영향 등을 초래하여 현재까지도 더 좋은 소재를 발굴하려고 시도하고 있으며 이러한 시도와 함께 고혈압 발병 관련 기전이 명확해지고 있다.

플로레틴(Phloretin)은 개살구나무 *Prunus mandshurica* 등에 함유되어 있는데 그 외 성분으로 diarylheptanoids[2], flavonoids, monoterpenes, sesquiterpenoids와 stilbenes[3] 등이 확인되었으며 그 중 일부인 alpinetin, dihydrochalcone (phloretin, Fig. 1) 등에 소염, 진해 및 항산화 등의 약리작용이 있는 것으로 알려져 있다[4]. 그리고 최근에 개살구나무 유래 2,4,6-trihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-propionophenone (phloretin)을 이용한 연구에서 항산화(antioxidative activity), 항미생물, 항염증(anti-inflammatory activity) 및 항종양 등의 약리 활성이 발견되었다[5]. 효능제 또는 증가된 혈관내압에 의한 혈관평활근 수축은 칼슘과 칼모듈린(calmodulin)에 의한 미오신의 조절성 라이트체인의 인산화를 포함하는 평활근의 생화학적 경로에 의존하며 이들의 존재는 적출된 혈관 평활근에서 세포내 칼슘에 대한 형광측정과 전기영동상 측정으로 직접적으로 관찰되었다. 혈관 평활근 수축의 시작이 미오신의 20 kDa 라이트체인 인산화의 칼슘의존적 증가에 의해 조절된다고 생각되지만[6] 기타 경로들도 세포내 칼슘이온의 증가와 관계없이 미오신의 20 kDa 라이트체인 인산화를 조절하여 평활근 수축성을 조절한다고

추측하기도 한다[7-9]. 미오신 라이트체인 인산화가 액틴과 미오신의 상호작용 및 평활근 수축을 증가시키지만 미오신 라이트체인 인산화와 수축의 정도는 세포내 칼슘이온농도와 일치하지 않으며 효능제 투여에 의한 미오신 라이트체인 인산화나 수축력의 정도는 보통 세포내 칼슘이온 농도의 증가에 의한 것보다 높아서 칼슘이온 감각이라고 설명된다[6]. 따라서 미오신 라이트체인 인산화 수준과 수축 정도를 조절하는 추가기전이 제안되었다. 즉 arachidonic acid, phosphatase inhibitor protein-17, Rho A(Ras homolog family member A), guanine nucleotide-exchange factors (Rho GEFs), ROCK(Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase) 등에 의한 미오신 인산가수분해효소의 억제[10-13] 또는 Extracellular signal regulated kinase/protein kinase C/mitogen activated protein kinase kinase (ERK/PKC/MEK/) 등이 관련되는 액틴 섬유성 (가는 미세섬유성) 조절 등이 칼슘이온 감각에서 중요한 경로라는 것이 밝혀졌다[14].

따라서 본 연구의 목적은 phloretin을 사용하여 phloretin에 의한 내피비의존성 동맥 혈관 수축 조절의 관찰과 관련 기전으로 내피에 의한 산화질소 생성 외에 칼슘이온 탈감작에 대해 RhoA/ROCK 또는 MEK/ERK 활성 억제의 역할을 설명하는 것이다. 수축제에 의한 혈관 수축에 가는 미세섬유성 조절과 굵은 미세섬유성 조절이 포함되는데 수축제 fluoride와 thromboxane A₂ 유사체에 의한 수축에 RhoA/ROCK 경로 활성화가 포함되며[15,16] 반면에 phorbol ester와 thromboxane A₂ 유사체에서 대개 가는 미세섬유성 경로를 통해 자극되는 것으로 보고되었는데[14,17] 이러한 수축제에 의한 혈관 수축에서 phloretin에 의한 탈감작성 이완에 이런 경로가 관련되었다는 보고가 없었다. 따라서 우리는 phloretin이 내피가 제거되고 기능이 억제된 혈관의 이완에 어떤 역할을 수행할 것으로 생각하였고 혈관내피도 혈관 수축성 조절에 참여하므로 혈관내피가 제거되고 기능이 억제된 혈관이 사용되었고 수축에 의한 기계적 신호는 전기적 신호로 변형되어 컴퓨터에 저장되었다.

노인이나 죽상경화증이나 당뇨병 등 성인병이 유발된 환자에서 내피가 손상되고 내피의 기능이 억제되는데 만약 phloretin이 내피에만 작용한다면 phloretin은 노인이나 성인병 환자에서 효과가 소실될 것이다. 그런

데 내피가 제거되고 기능이 억제된 혈관에서 phloretin 이 효과가 있다면 내피에 의한 산화질소 생성 외에 phloretin이 평활근에 직접 작용하여 노인이나 성인병 환자에서 치료 효과가 나타날 것이다. 따라서 phloretin 투여가 혈압 조절에 중요한 역할을 수행하여 기존의 혈압조절제과의 병용 투여시 다양한 상호작용을 나타낼 수 있다. 다양한 성인병에서 손상되기 쉬운 혈관 내피의 중요성을 인지하고 phloretin의 내피 비의존성 혈관 긴장도 조절 효과와 그 작용기전을 조사하였다.

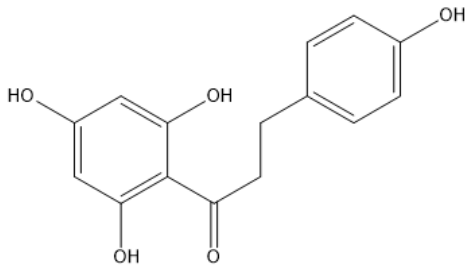


Fig. 1. Chemical structure of phloretin (3-(4-hydroxyphenyl)-1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)propan-1-one).

2. 실험 방법

2.1 재료, 시약 및 기기

아래와 같은 재료와 시약이 사용되었다. Potassium chloride, sodium bicarbonate, phloretin, sodium fluoride, phorbol 12,13-dibutyrate (PDBu), acetylcholine, D-(+)-glucose은 Sigma-Aldrich Chemicals (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, etomidate과 SD (Sprague-Dawley) rat은 Dongwon (Dongwon, Korea)과 Hyochang Science (Hyochang Science, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 다른 시약은 일급(GR) 또는 특급(EP)으로 사용하였다. 약품은 생리식염수나 Krebs 용액에 용해되었다.

2.2 대동맥 적출

본 실험은 본 실험은 중원대학교와 대구가톨릭대학교의 동물실험에 대한 윤리규정 (IACUC-2017-045)과 US National Institute of Health (NIH, 1996)에 의해 출판된 실험동물의 care와 use에 대한 guide에 따

라서 수행되었다. 무게 200-250g의 웅성 Sprague-Dawley 쥐가 실험에 이용되었다. 실험 당일에 etomidate (0.3 mg/kg)이 복강으로 투여되어 마취되고 고정되었다. 흉부 절개로 흉곽이 개방되었고 수술도구로 심장과 주변 부위가 노출되었다. 폐와 심장은 분리되지 않았고 대동맥 분리를 위한 공간을 확보하기 위해 좌측으로 이동시켜서 생리식염수로 적셨다. 대동맥은 간 근처에서 심장 부근까지 적출되었고 차가운 Krebs 용액에 넣어졌다. Krebs 용액의 조성은 아래와 같다. CaCl₂, 2.5; KH₂PO₄, 1.2; NaCl, 115; KCl, 4.7; NaHCO₃, 25; glucose, 10; MgCl₂, 1.2. 대동맥내 혈액과 각종 결체 조직은 제거되었다. 대동맥은 4 mm 길이의 고리로 잘려졌고 대동맥 고리의 안쪽으로 pipette tip이 넣어져 부드럽게 3-5 회 긁어서 내피가 물리적으로 제거되었고 nitric oxide synthase (NOS) 억제제인 N^G-monomethyl-L-arginine (L-NMMA, 0.1 mM)이 사용되었다.

2.3 기계적 활성 측정

동맥의 근육 조각은 2개의 금속 고리로 myograph 수조안에 현수되었다. 아래쪽 고리는 수조바닥에 고정되었고 위쪽 고리는 등장력 변환기 (FT03C; Grass Instrument Company, Quincy, MA, USA)에 연결되었다. 변환기의 신호는 생리측정기 (PowerLab/8SP; AD Instruments, Castle Hill, NSW, Australia)에 표시되었다. Myograph 수조의 부피는 10 mL이고 수조안의 용액이 37°C로 유지되었고 혼합 기체 (95% O₂와 5% CO₂)로 포화되었다. 1시간의 항정기간동안 휴지기 장력이 2 * 9.8 mN (2.0g)으로 조정되었다. 항정기간 후 동맥 고리가 1 μM phenylephrine으로 수축되었고 근육이 충분히 수축된 후 1 μM acetylcholine에 의해 최대 수축 대비 20% 이하로 이완되는 경우 내피가 제거되거나 기능이 억제된 것으로 판단하고 실험이 시작되었다. 0.1 μM U-46619, 6 mM NaF 또는 1 μM PDBu에 의한 혈관 수축이 최대 수축에 도달한 후 일부 혈관에 phloretin (10, 30, 100 μM) 투여 후 발생하는 혈관확장의 정도가 0.1 μM U-46619, 6 mM NaF 또는 1 μM PDBu에 의한 혈관 수축을 100%로 해서 상대적으로 표시되었다.

2.4 통계분석

다음 실험결과들이 mean ± s.e. (평균 ± 표준오차)로 표시되었고 통계적 유의성 처리는 Student's *t*-test를 수행하여 *p*<0.05를 기준으로 유의성 유무를 결정하였다. Fig. 2-5에서와 같이 유의성을 *표시하였다.

3. 실험결과

3.1 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 동맥에서

fluoride에 의한 수축에 대한 phloretin의 작용
 적출된 쥐 동맥의 안정기 장력이 60분 후 정상 상태에 도달하였고 안정기 장력을 2 * 9.8 mN으로 조정하였다. 물리적으로 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 대동맥에서 ROCK(Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase)에 대한 full activator로 알려져 있는 fluoride (6 mM)에 의한 자극에 대해 phloretin은 유의성 있는 억제 작용을 Fig. 2에서와 같이 나타내었다.

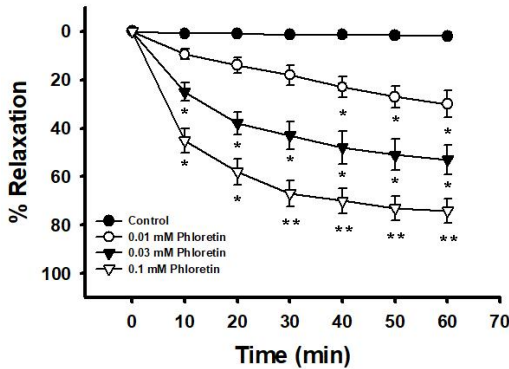


Fig. 2. The effect of phloretin on 6 mM fluoride-induced contraction in the denuded muscle. After 6 mM NaF-induced contraction had reached plateau, phloretin (10, 30, 100 μM) was added into organ bath. The relaxation was expressed as a percentage of the maximal contraction to 6 mM fluoride. Data were expressed as means of 3-5 experiments with vertical bars showing SEM. *P<0.05, **P<0.01, presence versus control.

3.2 내피가 유지된 쥐 혈관에서 fluoride에 의한 수축에 대한 phloretin의 작용

내피가 제거되지 않은 쥐 동맥에서 fluoride (6 mM)에 의한 자극에 대해 phloretin은 10⁻⁵ M 이상의 농도에서 내피와 평활근에 동시에 작용하여 유의성 있는 이완작용을 Fig. 3에서와 같이 나타내었다. 그리고 내피가 제거된 쥐 동맥에서의 수축성과 비교시 이완효과가 다소 증가되었다.

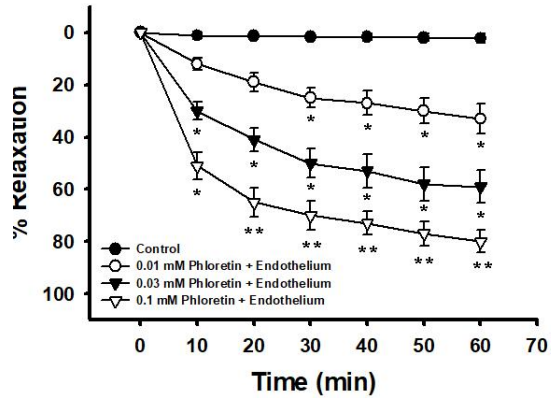


Fig. 3. The effect of phloretin on 6 mM fluoride-induced contraction in intact muscles. After 6 mM NaF-induced contraction had reached plateau, phloretin (10, 30, 100 μM) was added into organ bath. The relaxation was expressed as a percentage of the maximal contraction to 6 mM fluoride. Data were expressed as means of 3-5 experiments with vertical bars showing SEM. *P<0.05, **P<0.01, presence versus control.

3.3 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 혈관에서 thromboxane A2 mimetic에 의한 수축에 대한 phloretin의 효과

물리적으로 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 동맥에서 일종의 유사체인 U-46619 (10⁻⁷ M)에 의한 자극에 대해 phloretin은 억제 효과가 있었음을 Fig. 4에서와 같이 나타내었다. 따라서 phloretin에 ROCK 활성화 억제 및 MEK/ERK 등이 관여하는 가는 미세섬유성 조절 기능이 있는 것으로 추측된다.

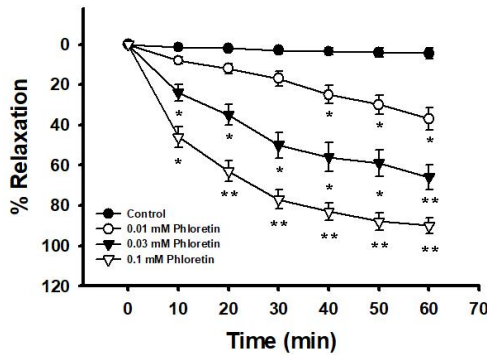


Fig. 4. The effect of phloretin on 0.1 μ M thromboxane A₂ mimetic-induced vascular contraction in denuded muscles. After 1 μ M 0.1 μ M U-46619-induced contraction had reached plateau, phloretin (10, 30, 100 μ M) was added into organ bath. The relaxation was expressed as a percentage of the maximal contraction to 0.1 μ M U-46619. Data were expressed as means of 3-5 experiments with vertical bars showing SEM. *P<0.05, **P<0.01, presence versus control.

3.4 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 동맥에서 phorbol ester에 의한 수축에 대한 phloretin의 작용

물리적으로 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 동맥에서 phorbol 12,13-dibutyrate(PDBu) (10^{-6} M)에 의한 자극에 대해 phloretin은 억제 효과가 Fig. 5에서와 같이 있었다. 따라서 phloretin에 MEK/ERK 등이 관여하는 가는 미세섬유성 경로 조절 기능이 있는 것으로 생각된다.

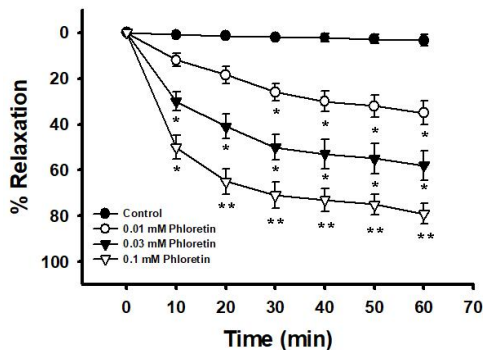


Fig. 5. The effect of phloretin on 1 μ M phorbol 12,13-dibutyrate-induced contraction in

denuded muscles. After 1 μ M phorbol 12,13- dibutyrate-induced contraction had reached plateau, phloretin (10, 30, 100 μ M) was added into organ bath. The relaxation was expressed as a percentage of the maximal contraction to 1 μ M phorbol 12,13-dibutyrate. Data were expressed as means of 3-5 experiments with vertical bars showing SEM. *P<0.05, **P<0.01, presence versus control.

4. 고찰

개살구나무는 한방에서 과피를 제거한 종자로 사용되어 기관지염, 기관지천식, 기관지확장증, 변비(윤장제)의 증상을 완화시키는 것으로 알려져 있으며 최근 연구 결과에 의하면 주요 성분인 phloretin에서 항산화, 항염증 및 항종양 효과 등이 발견되었고[18,19] 항고혈압 작용에서 내피에 의한 산화질소 생성에 의한 작용이 제안되었다. 따라서 이번 실험에서 내피를 제거하고 기능을 억제한 혈관을 이용하여 유효 성분인 phloretin의 추가 기전을 조사하게 되었다. 한편 혈관 수축 기전에 효능제 투여에 의한 미오신 라이트체인 인산화나 수축력의 정도는 보통 세포내 칼슘이온 농도의 증가에 의한 것보다 높으며 이 현상은 칼슘이온 감각이라고 설명된다[6]. 따라서 미오신 라이트체인 인산화 수준과 수축 정도를 조절하는 추가기전이 제시되었다. 즉 protein kinase C(PKC), MEK, ERK에 의한 가는 미세섬유성 경로나 arachidonic acid, Rho GEFs, Rho A, ROCK 등에 의한 미오신 인산가수분해효소의 억제가 칼슘이온 감각에서 중요한 경로라는 것이 밝혀졌다. 예를 들어 phorbol ester는 PKC, MEK, ERK에 의한 가는 미세섬유성 경로를 경유해서, fluoride, thromboxane A₂, phenylephrine 등은 굵은섬유성 RhoA/ROCK 활성화를 통해 칼슘이온 감각을 유발한다고 알려져 있다 [20-23].

그 중 fluoride는 Fig. 2와 Fig. 3에서 관찰된 결과와 같이 주로 RhoA/ROCK를 활성화시켜 평활근을 수축시킨다고 알려져 있는데[15] 내피가 유지되거나 내피가 제거된 쥐 동맥에서 phloretin은 fluoride에 의한 수축에 대해 억제 작용을 나타내었다. 따라서 phloretin은 내피 의존성 산화질소 생성 외에 ROCK 활성화 억제 효과가 있는 것으로 추측되며 fluoride에 의

한 혈관 평활근 수축에서 phloretin은 RhoA/ROCK를 불활성화시켜 작용하는 것으로 생각되었다. 한편 Phorbol ester(PDBu)의 경우 대개 MEK/ERK가 관여되는 액틴 섬유성 (가는 미세섬유성) 경로를 자극하여 혈관 평활근을 수축시킨다고 알려져 있는데[20,21] 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 동맥에서 phloretin은 phorbol ester에 의한 동맥 수축에 대해 억제 작용을 Fig. 5에서와 같이 나타내었다. 따라서 Fig. 4와 Fig. 5에서 관찰된 바와 같이 phorbol ester 또는 thromboxane A₂ 유사체에 의한 혈관 평활근 수축에서 phloretin은 MEK, ERK 등을 불활성화시켜 작용하는 것으로 추측되었다.

5. 결론

본 실험에서는 뇌졸중, 심혈관계 질환 등에 대해 치료와 예방을 목적으로 사용될 수 있는 phloretin에서의 혈관 확장 기전에 대해 조사하여 천연물 유래 phloretin을 이용한 항고혈압 치료제 개발 가능성을 확인하고자 하였다. Phloretin은 내피에 대한 자극 외에 보조적인 기전으로 내피에 비의존적으로 평활근 자체의 미세/굵은섬유성 액틴-미오신 상호작용을 억제하여 작용하는 것으로 추측되며 구체적으로 ROCK 불활성화에 관여하는 것으로 생각된다. Thromboxane A₂ mimetic의 경우 ROCK를 활성화시키고 MEK/ERK가 관련되는 액틴 섬유성 (가는 미세섬유성) 조절을 활성화시켜 평활근을 수축시킨다고 알려져 있다[22,23]. Fig. 4에서와 같이 물리적으로 내피가 제거되고 기능이 억제된 쥐 동맥에서 일종의 유사체인 U-46619 (10⁻⁷ M)에 의한 자극에 대해 phloretin은 억제 효과가 있었다. 후속연구로 aequorin이나 fura-2 등의 광단백질로 phloretin의 Ca²⁺ 유입에 대한 효과를 확인하고 공초점 현미경 등으로 효소 단백질의 세포막 이동을 관찰하여 phloretin의 RhoA/ROCK 활성 억제 작용, MEK, ERK 의존성 가는 미세섬유성 경로 조절 등에 대해 보다 직접적인 방법으로 확인하고자 한다.

REFERENCES

- [1] L. J. Appel et al. (2003). Effects of comprehensive lifestyle modification on blood pressure control: main results of the PREMIER clinical trial. *JAMA*, 289(16), 2083-2093. DOI : 10.1001/jama.289.16.2083
- [2] M. Kuroyanagi, T. Noro & S. Fukushima. (1983). Studies on the constituents of the seeds of *Alpinia katsumadai* Hayata. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31(5), 1544-1550. DOI : 10.1248/cpb.31.1544
- [3] Y. Yang et al. (1999). Two novel anti-emetic principles of *Alpinia katsumadai*. *J Natl Prod*, 62(12), 1672-1674. DOI : 10.1021/np990096e
- [4] H. J. Choi & S. I. Lee. (1989). *Alpiniae katsumadaii Semen*, In *Korean Herbal Pharmacopoeia*, Korean Medical Index Co., Seoul, Korea, p. 373. (Online). <http://www.law.go.kr/LSW//admRulInfoP.do?admRulSeq=4329#>
- [5] H. Duan et al. (2017). Phloretin induces apoptosis of human esophageal cancer via a mitochondria-dependent pathway. *Oncol Lett*, 14(6), 6763-6768. DOI : 10.3892/ol.2017.7037
- [6] A. P. Somlyo & A. V. Somlyo. (1994). Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature*, 372(6503), 231-236. DOI : 10.1038/372231a0
- [7] A. P. Somlyo & A. V. Somlyo. (1998). From pharmacomechanical coupling to G-proteins and myosin phosphatase. *Acta Physiol Scand.*, 164(4), 437-448. DOI : 10.1046/j.1365-201X.1998.00454.x
- [8] M. Uehata et al (1997). Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature*, 389(6654), 990-994. DOI : 10.1038/40187
- [9] S. Sakurada et al. (2003). Ca²⁺-dependent activation of Rho and Rho-kinase in membrane depolarization-induced and receptor stimulation-induced vascular smooth muscle contraction. *Circ Res*, 93(6), 548-556. DOI : 10.1161/01.RES.0000090998.08629.60
- [10] T. Kitazawa, M. Masuo & A.P. Somlyo. (1991). G protein-mediated inhibition of myosin light-chain phosphatase in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88(20), 9307-9310.
- [11] A. Gohla, G. Schultz & S. Offermanns. (2000). Roles for G(12)/G(13) in agonist-induced vascular smooth muscle cell contraction. *Circ Res*, 87(3), 221-227. DOI : 10.1161/01.res.87.3.221

[12] T. Leung et al. (1995), A novel serine/threonine kinase binding the Ras- related RhoA GTPase which translocates the kinase to peripheral membranes. *J Biol Chem*, 270(49), 29051-29054. DOI : 10.1074/jbc.270.49.29051

[13] T. Matsui et al. (1996). Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for small GTP binding protein Rho. *EMBO J*, 15(9), 2208-2216

[14] W. G. Wier & K. G. Morgan. (2003). Alpha1-adrenergic signaling mechanisms in contraction of resistance arteries. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 150, 91-139. DOI : 10.1007/s10254-003-0019-8

[15] S. B. Jeon et al. (2006). A role for Rho kinase in vascular contraction evoked by sodium fluoride. *Biochem Biophys Res Commun*, 343(1), 27-33. DOI : 10.1016/j.bbrc.2006.02.120

[16] D. P. Wilson et al. (2005). Thromboxane A₂-induced contraction of rat caudal arterial smooth muscle involves activation of Ca²⁺ entry and Ca²⁺ sensitization: Rho-associated kinase-mediated phosphorylation of MYPT1 at Thr-855, but not Thr-697. *Biochem J*, 389(Pt3), 763-774. DOI : 10.1042/BJ20050237

[17] B. Bhattacharya & R. E. Roberts. (2003). Enhancement of alpha2-adrenoceptor-mediated vasoconstriction by the thromboxane-mimetic U46619 in the porcine isolated ear artery: role of the ERK-MAP kinase signal transduction cascade. *Br J Pharmacol*, 139(1), 156-162. DOI : 10.1038/sj.bjp.0705208

[18] W. Zheng et al (2018). The protective effect of phloretin in osteoarthritis: an in vitro and in vivo study. *Food Funct*, 9(1), 263-278. DOI : 10.1039/c7fo01199g

[19] H. Duan et al (2017). Phloretin induces apoptosis of human esophageal cancer via a mitochondria-dependent pathway. *Oncol Lett*, 14(6), 6763-6768. DOI : 10.3892/ol.2017.7037

[20] R. S. Garcha, P. S. Sever, & A. D. Hughes. (2001). Mechanism of action of angiotensin II in human isolated subcutaneous resistance arteries. *Br J Pharmacol*, 134(1), 188-196. DOI : 10.1038/sj.bjp.0704222

[21] Y. S. Min et al. (2018). Endothelium Independent

Effect of Pelargonidin on Vasoconstriction in Rat Aorta. *Biomol Ther(Seoul)*, 26(4), 374-379. DOI : 10.4062/biomolther.2017.197

[22] M. Grann et al. (2016). Mechanisms Involved in Thromboxane A₂ -induced Vasoconstriction of Rat Intracavernous Small Penile Arteries. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 119(3), 86-95. DOI : 10.1111/bcpt.12544

[23] H. H. Chung et al. (2010). The xanthine derivative KMUP-1 inhibits models of pulmonary artery hypertension via increased NO and cGMP-dependent inhibition of RhoA/Rho kinase. *Br J Pharmacol*, 160(4), 971-986. DOI : 10.1111/j.1476-5381.2010.00740.x

방 준 석(Joon Seok Bang)

[정회원]



- 2006년 1월 : 미국 세인트존스대학교 (Pharm. D.)
- 2010년 2월 : 중앙대학교 대학원 (약리학박사)
- 2013년 9월 ~ 현재 : 숙명여자대학교 약학부 교수

- 관심분야 : 약물치료학, 의학정보학, 스마트헬스케어
- E-Mail : jsbang@sm.ac.kr

제 현 동(Hyun Dong Je)

[정회원]



- 1999년 2월 : 중앙대학교 대학원 (약학박사)
- 1999년 3월 : 미국생물의학연구소 연구원
- 2005년 9월 ~ 현재 : 대구가톨릭대학교 약학과 교수

- 관심분야 : 약물학, 순환기약리, 생약추출물, 정신건강
- E-Mail : hyundong@cu.ac.kr

민 영 실(Young Sil Min)

[정회원]



- 2004년 2월: 중앙대학교 (약학박사)
- 2009년 3월 ~ 현재 : 중원대학교 제약공학과 조교수
- 관심분야 : 건강, 생리활성물질, 식생활
- E-Mail : youngsil31@jwu.ac.kr