

# 호장근(*Reynoutria elliptica*)으로부터 항균활성 물질의 분리 및 구조결정

황주태<sup>1</sup> · 박영식<sup>1</sup> · 김영신<sup>1</sup> · 김진철<sup>2</sup> · 임치환<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 생물환경화학과, <sup>2</sup>한국화학연구원 바이오 정밀화학연구센터

## Isolation and identification of antifungal compounds from *Reynoutria elliptica*

Joo-Tae Hwang<sup>1</sup>, Young-Sik Park<sup>1</sup>, Young-Shin Kim<sup>1</sup>, Jin-Cheol Kim<sup>2</sup>, Chi-Hwan Lim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Bio Environmental Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>2</sup>Chemical Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

Received on 12 November 2012, revised on 12 December 2012, accepted on 12 December 2012

**Abstract :** In the continued research on natural fungicides for the control of plant diseases by using plant-derived products, we found that *Reynoutria elliptica* had a strong fungicidal activity against several plant pathogens. *R. elliptica* (3.2 kg) were extracted with 80% aq. MeOH and the concentrated extracted was partitioned with *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH and H<sub>2</sub>O successively. The four layers were tested their disease control efficacies against 4 plant disease such as rice blast (RCB), tomato grey mold (TGM), tomato late blight (TLB), and barley powdery mildew (BPM). The *n*-hexane fraction was highly active showing over 95% control against TLB and BPM. and the EtOAc fraction was highly active showing over 95% control against RCB, TLB, and BPM. By using silica gel chromatography, MPLC, and HPLC, three compounds that were expected to have antifungal activity were isolated. Their chemical structures were elucidated as physcion, emodin, and emodie-8-O-glucoside by EI-MS and NMR spectroscopic analyses.

**Key words :** *Reynoutria elliptica*, Physcion, Emodin, Emodin-8-O-glucoside, Antifungal activity

## I. 서론

지구상에는 다양한 종류의 식물이 서식하고 있고 이들은 다양한 2차 대사산물을 만든다. 2차 대사산물은 대부분 isoprenoid, phenylpropanoid, alkaloid, 또는 fatty acid/polyketide pathway를 통해서 생합성된다. 이러한 경로를 통해서 생산된 2차 대사산물중에는 미생물의 공격, 곤충 및 동물의 섭식에 대한 방어 수단으로서 생합성되는 것이 있는데 이를 phytoalexin이라고 한다(VanEtten et al., 1989; Vollekova et al., 1989; Cooper, 1996; Richard, 2001; Soledade et al., 2004). Phytoalexin을 몇가지 분류로 나누어 보면 indoles, alkaloids, isoflavonoids, flavonoids 그리고 isoprenoids로 나눌 수 있다. 옥수수에서 존재하는 DIMBOA는 살아있는 식물체에서 glucosides로 존재하다가 세포가 상처 받으면 생합성된다(Hofman and Hofmanova,

1971). Luteone은 *Lupinus luteus*의 열매에 존재하는 물질로 1973년 antifungal activity가 밝혀졌다(Fukui et al., 1973). Maackiain, medicarpan은 pterocarpan phytoalexins으로서 *Ulex europaeus L.*에서 분리된 maackiain이 antifungal activity가 있음이 밝혀졌고(Sirat and Russell, 1989) *Platymiscium yucatanum*에서 분리된 medicarpan도 antifungal activity가 있는 것으로 확인되었다(Reyes-Chilpa et al., 1989). 이러한 phytoalexin은 일부 유기합성 농약이 야기하는 저항성, 잔류 독성, 그리고 생태계 교란 등의 문제점을 보완 할 수 있는 작물보호제로서 각광 받고 있으며 많은 연구자들에 의해서 연구되고 활용되고 있다.

호장(*Reynoutria elliptica*)은 마디풀과에 속하는 다년생 식물로 그 뿌리를 호장근이라고 한다. 민간에서는 완하, 이뇨, 통경, 진해진정약으로 쓰이고 류마티즘에 의한 근골동통, 습열황달, 임탁, 대하, 산후의 악로체류, 복부의 결괴, 치루출혈 그리고 악창선질의 치료약으로 사용되어 왔다(Chi et al., 1982). 호장근은 우리나라 전지역에 분포해

\*Corresponding author: Tel: +82-42-821-6734

E-mail address: chlim@cnu.ac.kr

있으며 높이가 1 m 또는 그 이상으로 자란다. 잎은 어긋나고 엽병이 있으며 길이 6-15 cm로서 넓은 난형 또는 난상 타원형이고 짧은 점첨두이며 절저이고 톱니가 없다. 백색 또는 담홍색의 꽃은 이가화로서 6-8월에 피고 전체적으로 원추형이다. 화경은 짧고 작으며 화피열편은 5개이고 길이 2.5-3 mm로서 바깥쪽 3개는 뒷면에 날개가 있으며 암꽃의 화피열편은 자라서 길이 6-10 mm로 되고 꽃잎이 없다. 암꽃의 꽃받침은 자라서 열매를 둘러싸며 그 중 3개는 날개가 없으며 수술은 8개, 암술머리는 3개이다. 과실은 수과로서 세모난 넓은 난형이고 길이 2-2.5 mm로서 암갈색의 운채가 있다. 원줄기는 곧게 또는 비스듬히 자라며 거칠고 크다. 줄기는 원주형으로 속이 비어있고 어릴 때에는 적자색 반점이 산포하며 마디에 원줄기를 둘러싼 턱엽이 있거나 탈락하기 쉽다. 근봉모양의 뿌리의 근경은 목질이며 길게 뻗으며 근락을 형성한다. 호장근의 화학성분에 관한 연구로는 일본산 호장근 왕호장의 잎에서 anthraquinones로서 emodin, physcion, chrysophanol과 flavonoids로서 quercitrin, isoquercitrin, reynoutrin을 그리고 어린순에서 malic acid, tartaric acid, citric acid를 단리 보고하였고(Kato and Morita, 1987; Coskun, 1990). 일본산 호장의 뿌리에서 anthraquinones와 stilbenes로서 resveratrol과 그 배당체인 piceid를 단리 보고하였다.

본 연구에서는 호장근의 메탄올 추출물을 이용하여 식물 병원균에 대한 항균 활성을 확인하여 항균 물질을 분리·정제 및 구조 결정하고 환경 친화형 작물보호제로서 가능성을 판단하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 식물체 및 식물 병원균

호장근은 서울 경동시장에서 구입하여 실험에 사용하였으며, 표본품은 충남대학교 농업생명과학대학 천연물 농약 화학연구실에 보관하고 있다. 항균 활성실험에 사용한 벼도열병균(*Magnaporthe oryzae*), 토마토 잿빛 곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 토마토 역병균(*Phytophthora infestans*), 그리고 보리 흰가루병균(*Blumeria graminis* f. sp. hordei)은 한국화학연구원에서 배양하여 실험에 사용하였다.

### 2. 시약 및 기기

활성물질의 추출 및 용매분획에 사용한 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate(EtOAc), methanol(MeOH), *n*-butanol(*n*-BuOH)등의 용매는 국내 삼전순약(18 L, 공업용) 제품을 정제하지 않고 사용하였다. NMR용 용매는 CD<sub>3</sub>OD(Merck, Germany)와 DMSO-d<sub>6</sub>(methyl sulfoxide, Aldrich, USA), HPLC 용매로 사용한 acetonitrile(ACN)은 Burdic & Jackson사의 HPLC grade를, MeOH은 공업용 MeOH를 정제하여 사용하였다. Flash column chromatography 용 silica gel은 Merck사의 제품(70-230 mesh, Merck, Germany), 분석용 및 분취용 silica gel TLC는 Merck사의 Kiesel gel 60F254(0.25 mm) 및 Kiesel gel 60F254(0.5mm) plate를 사용하였다. 발색시약은 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 및 vaniline-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 사용하였으며, UV 254와 365nm로 검출하였다.

MPLC는 Combi Flash(Isco, USA)를, high performance liquid chromatography(HPLC)는 JASCO LC 900(Japan), rotary vacuum evaporator는 Rotavapor R200(B chi, Swiss), nuclear magnetic resonance(NMR) spectrometer는 JNM-AL400(400MHz/100MHz, JEOL Ltd, Japan)을 사용하였다. 내부표준물질은 tetramethylsilane(TMS)를 사용하였으며, chemical shift는 ppm( $\delta$ )으로 나타내었다. EI-MS는(AD SCIEX, USA) 4000Q Trap로 측정하였다.

### 3. 항균 활성 검정

6종의 식물 병원균에 대한 추출 용매별 예방효과를 조사하였다. 호장근 분획물(*n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH, H<sub>2</sub>O) 각 80 mg을 10 mL의 acetone이나 5 mL의 MeOH에 녹이고 Tween 20(250  $\mu$ L/mL) 용액을 가하여 최종 부피가 40 mL이 되도록 시료를 제조하였다(물질 최종 농도: 2,000 ppm). 실험에 사용한 벼와 토마토, 그리고 보리는 지름 4.5 cm의 플라스틱 포트에 수도용 상토 또는 원예용 상토를 70% 정도 채운 후, 종자를 파종하여 25 $\pm$ 5  $^{\circ}$ C의 온실에서 1주 내지 4주간 재배하여 사용하였다. 시료가 식물체에 골고루 분무될 수 있도록 turn table에 놓고 처리구는 2000 ppm의 시료 50 mL를, 대조구는 Tween 20 solution 50 mL를 살포하고 풍건한 다음 실온에서 1일 동안 방치한 후 병원균을 접종하고 3일 내지 8일 후에 발병도를 조사하였다(Kim et

al., 2001; Cho et al., 2006). 각각의 실험은 3반복으로 실시하였으며 방제가는 다음 식에 따라 계산 하였다.

$$\text{방제가(\%)} = (1 - \frac{\text{처리구의 병반면적율}}{\text{대조구의 병반면적율}}) \times 100$$

각 병원균에 대한 활성은 80%이상의 저해율을 나타내는 시료에 대하여 항균활성이 있다고 판단하고 항균 물질 분리에 이용하였다.

#### 4. 항균 활성 물질의 분리

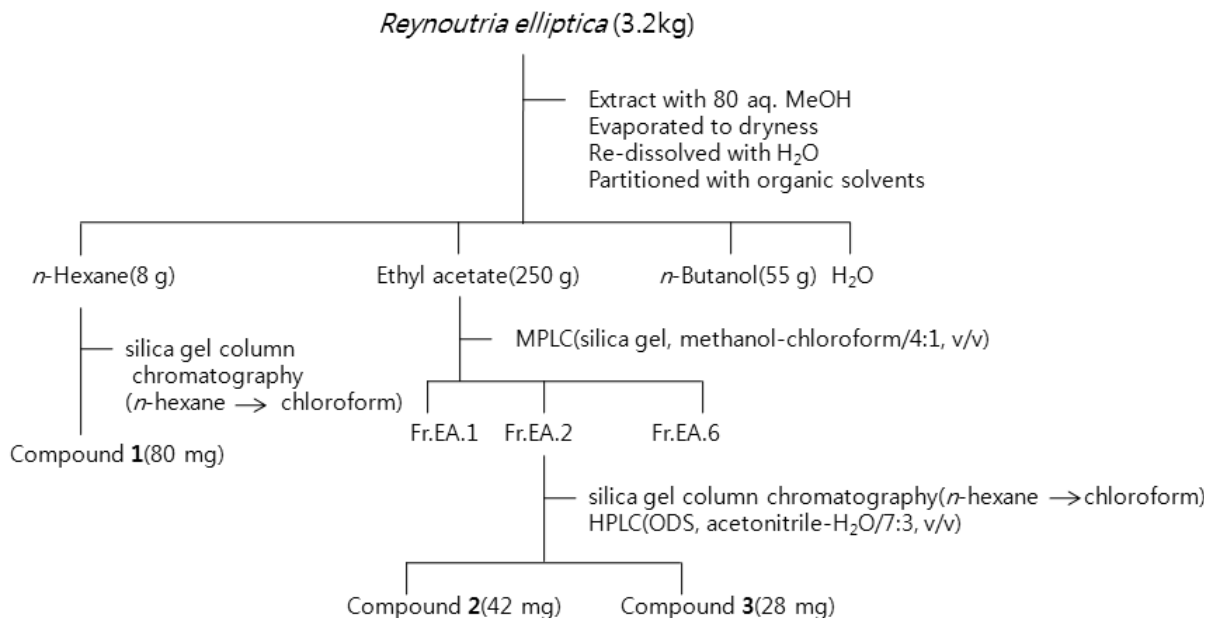
음건한 후 세절한 호장근 3.2 kg을 80% aq. MeOH에 침지한 후 상온에서 3회 추출하고 감압 농축하여 추출물 313 g을 얻었다. 추출물을 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH의 순으로 분획한 후 감압 농축하여 각각 8 g, 250 g, 55 g의 분획물을 얻었다. 이 분획물을 이용해 벼 도열병균, 토마토 잿빛곰팡이병, 토마토 역병 그리고 보리 흰가루병을 대상으로 항균활성을 확인한 결과 *n*-hexane 분획과 EtOAc 분획이 90% 이상의 활성을 보였다. 우선 *n*-hexane 분획으로부터 잔사를 여과하여 silica gel column chromatography (*n*-hexane → chloroform)를 수행하여 7개의 소분획 (H1-H7)을 얻었으며 H1 분획의 잔사를 여과하여 노란색의 화합물 1(80 mg)을 분리하였다. 이어서 EtOAc 분획을 이용

해 MPLC(silica gel packed column, MeOH-chloroform/4:1, v/v)를 수행하여 6개의 소분획(Fr.EA.1-Fr.EA.6)을 얻었다. 이중 Fr.EA.2 분획을 이용해 silica column chromatography (chloroform → MeOH)를 수행하여 12개의 소분획(Fr.EA.2.1-Fr.EA.2.12)을 얻었다. Fr.EA.2.2와 Fr.EA.2.3 분획을 Prep-HPLC(ODS, ACN-water/7:3, v/v)를 이용하여 화합물 2(42 mg)와 화합물 3(28 mg)을 분리하였다(Scheme 1).

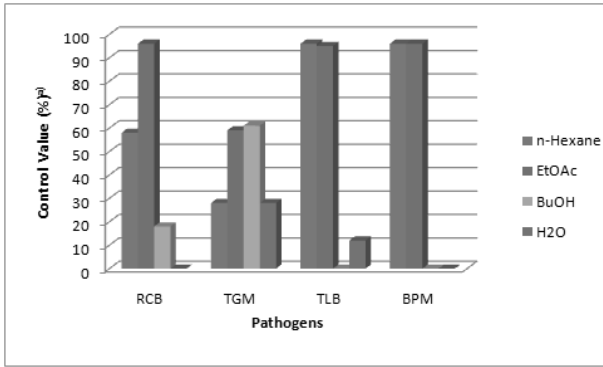
### III. 결과 및 고찰

#### 1. 식물 병원균에 대한 항균 활성

호장근의 분획별 *in vitro* 항균활성을 검정한 결과, *n*-hexane 분획은 토마토 역병에 95%와 보리 흰가루병에 대하여 96%의 강한 저해활성을 보였다. EtOAc 분획은 벼도열병에 96%, 토마토 역병에 95% 그리고 보리 흰가루병에 대하여 96%의 강한 항균활성을 보였다. 그러나 BuOH층과 물층은 모든 공시균주에 대하여 30%이하의 낮은 활성을 보였으며 토마토 잿빛곰팡이병균에는 모든 분획물이 활성을 보이지 않았다(Fig. 1). 본 연구에서는 강한 항균활성을 가지는 *n*-hexane 분획과 EtOAc 분획을 이용하여 항균활성물질의 분리를 실시하여, 3종의 활성물질을 분리하고 구조결정을 하였다.



Scheme 1. Isolation of active compounds from *Reynoutria elliptica*.



**Fig. 1.** Antifungal activity of four fractions obtained by solvent partitioning of 80% aqueous methanol extracts of *Reynoutria elliptica* against four fungal pathogens<sup>9)</sup>.

## 2. 항균 활성 물질의 구조 결정

**화합물 1** - 화합물 1의 화학구조는 EI-MS spectrum, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR의 해석에 의하여 결정되었다. EI-MS 측정결과 *m/z* 284에서 M<sup>+</sup> peak를 나타내어 분자량이 284임을 확인하였고 269(M-CH<sub>3</sub>), 253(M-OCH<sub>3</sub>) fragment ion peak가 측정되어 methyl group과 methoxy group이 존재함을 확인 할 수 있었다. 그리고 UV 221, 253, 265, 285 nm 그리고 435 nm에서 λ<sub>max</sub>(MeOH)를 나타내었다.

<sup>1</sup>H-NMR spectrum을 해석한 결과, 2.46 ppm(3H, s)에서 aromatic ring에 결합되어 있는 methyl proton peak가 singlet으로 나타났고 3.95 ppm(3H, s)에서 methoxy group의 proton peak가 확인되었다. 6.69 ppm(1H, d, *J*=2.4 Hz)과 7.37 ppm(1H, d, *J*=2.4 Hz)에서 meta coupling하는 aromatic proton peak를 확인하였으며 7.08 ppm(1H, d, *J*=1.4 Hz)과 7.63 ppm(1H, d, *J*=1.4 Hz)과 meta coupling하는 peak를 확인하였다. 12.1 ppm과 12.3 ppm에서 인접 carboxyl group의 산소원자와 수소결합을 이루고 있는 hydroxyl group의 proton peak를 확인 할 수 있었다.

<sup>13</sup>C-NMR spectrum을 해석한 결과 22.5 ppm에서 methyl group의 carbon peak 그리고 56.4 ppm에서 methoxy group의 carbon peak를 확인하였다. 182.3 ppm과 191.1 ppm에서 carboxyl group의 carbon peak를 확인하였고 162.8 ppm과 166.9 ppm에서 oxygenated methine carbon의 peak를 확인하였다. 107.1, 108.5, 110.6, 114.0, 121.6, 124.8, 133.6 135.6, 148.8 ppm에서 poly aromatic ring을 구성하는 methine carbon peak가 관측되었다.

이상의 결과를 종합하여 문헌(Kato and Morita, 1987;

Coskun et al., 1990)과 비교한 결과, 화합물 1은 분자량이 284이고 분자식이 C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>인 anthraquinon계인 physcion으로 동정하였다.

**화합물 2** - 화합물 2의 화학구조는 EI-MS spectrum, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR의 해석에 의하여 결정되었다. EI-MS spectrum 해석 결과, molecular ion peak가 *m/z* 271에서 나타나 이 화합물의 분자량이 270임을 확인 할 수 있었다. 그리고 221, 252, 265, 287 nm 그리고 440 nm에서 λ<sub>max</sub>(MeOH)를 보였다. 화합물 2의 NMR data는 화합물 1의 NMR data와 유사하여 anthraquinon계 화합물로 추정하였다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum을 해석한 결과, 화합물 1에서 관측되었던 methoxy group의 proton peak는 관측되지 않았고, 2.3 ppm에서 methyl group의 proton peak, 12.0 ppm에서 인접 carboxyl group의 산소 원자와 수소결합을 하고 있는 hydroxyl group의 proton peak를 확인하였다. 그리고 6.56 ppm(1H, d, 2.4Hz)과 7.18(1H, d, 2.4Hz)에서 서로 meta coupling하는 proton peak, 7.10 ppm(1H, d, *J*=1.4Hz)과 7.48 ppm(1H, d, *J*=1.4Hz)에서 meta coupling하는 의 proton peak를 확인하였다.

<sup>13</sup>C-NMR spectrum을 해석한 결과, 화합물 1의 <sup>13</sup>C-NMR에서 관측되었던 56.4 ppm에서의 methoxy group의 carbon peak가 관측되지 않았으나, 22.3 ppm에서 methyl group의 carbon peak, 182.3 ppm과 190.3 ppm에서 carbonyl group의 carbon peak, 162.2 ppm과 166.9 ppm에서 oxygenated carbon의 peak를 확인하였다. 108.7, 109.9, 114.2, 121.2, 124.9, 133.6, 135.9, 148.8, 165.3 ppm에서 poly aromatic ring을 구성하는 carbon peak를 확인하였다.

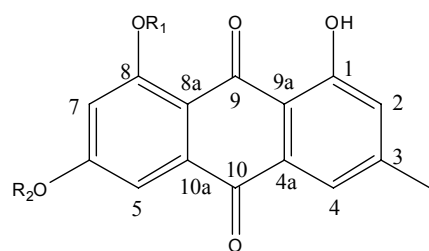
이상의 결과를 종합하여 문헌(Kato and Morita, 1987; Coskun et al., 1990)과 비교 검색한 결과 화합물 2는 분자량이 270이고 분자식이 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>인 emodin으로 동정하였다.

**화합물 3** - 화합물 3의 NMR data 또한 화합물 1과 화합물 2의 NMR data와 유사하였다. <sup>1</sup>H-NMR spectrum 해석 결과, 2.5 ppm에서 methyl group의 proton peak를 확인하였고 13.1 ppm에서 hydroxyl group의 proton peak를 확인하였다. 그리고 3.0~5.5 ppm에서 당분자로 예상되는 proton peak와 6.99, 7.14, 7.26 그리고 7.44 ppm에서 poly aromatic ring의 proton peak를 확인할 수 있었다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum 해석 결과, 22.2 ppm에서 methyl

**Table 1.** NMR(<sup>1</sup>H, 400MHz; <sup>13</sup>C, 100MHz) data of compound 1, 2, 3.

position	Compound 1		Compound 2		Compound 3	
	$\delta$ H (J, in Hz)	$\delta$ C	$\delta$ H (J, in Hz)	$\delta$ C	$\delta$ H (J, in Hz)	$\delta$ C
1	-	166.7	-	165.3	-	162.5
2	7.08(1H, d, 1.4Hz)	124.8	7.10(1H, d, 1.4Hz)	124.9	6.98(1H, d, 1.4Hz)	125.0
3	-	148.8	-	148.8	-	147.7
4	7.63(1H, d, 1.4Hz)	121.6	7.48(1H, d, 1.4Hz)	121.2	7.44(1H, d, 1.4Hz)	120.0
5	7.37(1H, d, 2.4Hz)	107.1	7.18(1H, d, 2.4Hz)	109.9	7.2(1H, d, 2.4Hz)	109.2
6	-	166.9	-	166.9	-	165.3
7	6.69(1H, d, 2.4Hz)	108.5	6.56(1H, d, 2.4Hz)	108.7	7.14(1H, d, 2.4Hz)	109.2
8	-	162.8	-	162.2	-	161.9
9	-	191.1	-	190.3	-	187.2
10	-	182.3	-	182.3	-	183.0
11	2.46(3H, s)	22.5	2.41(3H, s)	22.3	2.49(3H, s)	22.2
4a	-	135.6	-	133.6	-	132.9
8a	-	110.6	-	114.2	-	113.9
9a	-	114.0	-	109.9	-	115.3
10a	-	133.6	-	135.9	-	132.9
OCH <sub>3</sub>	3.95(3H, s)	56.4	-	-	-	-
Glu-C <sub>1</sub>	-	-	-	-	5.01(1H) <sup>b</sup>	101.2
Glu-C <sub>2</sub>	-	-	-	-	4.77(1H) <sup>b</sup>	74.1
Glu-C <sub>3</sub>	-	-	-	-	5.02(1H) <sup>b</sup>	77.2
Glu-C <sub>4</sub>	-	-	-	-	5.02(1H) <sup>b</sup>	70.3
Glu-C <sub>5</sub>	-	-	-	-	4.98(1H) <sup>b</sup>	78.1
Glu-C <sub>6</sub>	-	-	-	-	3.88(2H, m)	61.4

<sup>a</sup>)Proton signal multiplicity and coupling constant( $J=$ Hz) are parentheses, the characters denote s, singlet; d, doublet; dd, double doublet; m, multiplet, <sup>b</sup>)Overlapping multiplet signal.



Compound 1: R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>  
 Compound 2: R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H  
 Compound 3: R<sub>1</sub>=Glc, R<sub>2</sub>=H

**Fig. 2.** Chemical structures of compounds 1-3 isolated from *Reynoutria elliptica*.

group의 carbon peak를 확인하였으며 183.0, 187.2 ppm에서 carboxyl group의 carbon peak를 확인 할 수 있었다. 그리고 101.6, 109.2, 113.9, 115.3, 120.0, 125.0, 132.9, 137.3, 147.7, 161.9, 162.5, 165.3 ppm에서 poly aromatic

ring을 구성하는 carbon peak를, 49.5, 61.4, 70.3, 74.1, 77.2, 78.1 ppm에서 glucose를 구성하는 carbon peak를 확인하였다.

이상의 결과를 종합하여 문헌(Kato and Morita, 1987; Coskun et al., 1990)과 비교 검색한 결과 화합물 **3**은 분자식이 C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>이고 분자량이 432인 emodin-8-O-glucoside로 동정하였다.

#### IV. 결론

Quinone구조를 갖는 천연물중에서 가장 큰 group인 anthraquinone계 화합물은 고등 식물 이외에 지의류, 극피동물, 곰팡이류 등에 분포하고, 특히 마디풀과, 백합과, 갈매나무과, 꼭두서니과, 백합과 등에 많이 분포한다. Anthraquinone계 화합물은 생체내 항생물질 생성에 중요

한 중간체로서 rhein과 aloe-emodin 등은 항균작용이 있고 chrysophanol은 항염증작용, 항암작용이 있는 것으로 보고되었다(Kim et al., 2001).

본 연구에서 분리 정제된 emodin은 당뇨병의 치료에 강한 효과(Feng et al., 2010)뿐만 아니라 protein tyrosine kinase p65lck의 저해활성, 항암작용도 가지고 있는 것으로 보고(Srinivas et al., 2007)되었으며, physcion은 대황(*Rheum officinale* Bail)의 주요 성분으로 중국에서는 보리 흰가루병 방제제로 시판되고 있다(Ma et al., 2010). 그리고 emodin-3-O-glucoside은 조골세포의 증식 작용을 갖는 것으로 보고(Xiang et al., 2011), 신경보호기능(Chaoyun et al., 2007)등이 보고되어 있다. 본 연구에서는 호장근 추출물을 이용하여 우리나라에 발병 빈도가 높고 큰 피해를 주고 있는 벼 도열병균, 토마토 잿빛 곰팡이병균, 토마토 역병균, 그리고 보리 흰가루병균 등 4 가지 식물 병원균을 대상으로 항균활성을 검정한 결과 *n*-hexane층과 EtOAc층에서 높은 항균활성을 보임을 확인 하였고 3종의 활성물질을 분리 정제하여 physcion, emodin, emodin-8-O-glucoside로 화학구조를 동정하였다. 따라서 호장근 추출물을 이용한 다양한 식물병 방제가 가능할 것으로 기대되며, 분리한 화합물들의 작용기작 또한 규명해야 할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 화학비료·농약 대체 자원 이용 기술 개발(Project No.: 200901OFT102966197)의 지원에 의하여 이루어진 연구 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고 문헌

- Chaoyun W, Dalei Z, Hongmei M, Juntian L. 2007. Neuroprotective effects of emodin-8-O-β-d-glucoside *in vivo* and *in vitro*. *European Journal of Pharmacology* 577:58-63.
- Chi HJ, Choi JR, Yu SC. 1982. Pharmacognostical studies on Ho-Jang. *Korea Journal of Pharmacology* 13(4):145-152. [in Korean]
- Cho JY, Choi GJ, Lee SW, Lim H, Jang KS, Lim CH, Cho KY, Kim JC. 2006. *In vivo* antifungal activity against various plant pathogenic fungi of curcuminoids isolated from *Curcuma longa* L. rhizomes. *Plant Pathology Journal* 22:94-96.
- Chun G. 2010. Anti-tumor activity of emodin against human chronic myelocytic leukemia K562 cell lines *in vitro* and *in vivo*. *European Journal of Pharmacology* 627:33-40.
- Cooper RM. 1996. Detection and cellular localization of elemental sulphur in disease-resistant genotypes of *Theobroma cacao*. *Nature* 379:159-162.
- Coskun M, Satake T, Hori K, Saiki Y, Tanker M. 1990. A new anthraquinone glycoside, physcion 8-O-β-rutinoside, was isolated from the bark of *R. libanoticus* together with emodin, its 6-O-α-L-rhamnoside and 8-O-β-D-glucoside, and kaempferol. *Phytochemistry* 29(6):2018-2020.
- Feng Y, Huang SL, Dou W, Zhang S, Chen JH, Shen Y, Shen JH, Leng Y. 2010. Emodin, a natural product, selectively inhibits 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and ameliorates metabolic disorder in diet-induced obese mice. *British Journal of Pharmacology* 161(1):113-126.
- Fukui H, Egawa H, Koshimizu K, Mitsui T. 1973. New isoflavone with antifungal activity from immature fruits of *Lupinus luteus*. *Agricultural and Biological Chemistry* 37(2):417-421.
- Hector RB, Waldo L. 1996. Antialgal and antifungal activity of natural hydroxamic acids and related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44:1569-1571.
- Hofman J, Hofmanova O. 1971. 1,4-Benzoxazine derivatives in plants absence of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one from uninjured *Zea mays* plants. *Phytochemistry* 10:1441-1444.
- Kato T, Morita Y. 1987. Anthraquinone components in *Rumex acetosa* L. *Shoyakugaku Zasshi* 41(1):67-74.
- Kim DK, Choi SU. 1998. Cytotoxic constituents of *Rumex japonicus*. *Yakhak Hoeji* 42:233-237.
- Kim JC, Choi G., Park JH, Kim HT, Cho KY. 2001. Activity against plant pathogenic fungi of phomalactone isolated from *Nigrospora sphaerica*. *Pest Management Science* 57:554-559.
- Ma X, Yang X, Zeng F, Yang L, Yu D, Ni H. 2010. Physcion, a natural anthraquinone derivative, enhances the gene expression of leaf-specific thionin of barley against *Blumeria graminis*. *Pest Management Science* 66(7):718-724.
- Reyes-Chilpa R, Gomez-Garibay F, Moreno-Torres G, Jimenez-Estrada M, Quiroz-Vasquez, RI. 1998. Flavonoids and isoflavonoids with antifungal properties from *Platymiscium yucatanum* heartwood. *Holzforchung* 52(5):459-462.
- Richard AD. 2001. Natural products and plant disease resistance. *Nature* 411:843-847.
- Sirat HM, Russell GB. 1989. The isolation and identification of two antifungal pterocarpanes from *Ulex europaeus* L. *Pertanika* 12(3):395-398.
- Srinivas G, Babykutty S, Sathiadevan PP, Srinivas P. 2007. Molecular mechanism of emodin action: transition from laxative ingredient to an antitumor agent. *Medicinal Research Reviews* 27(5):591-608.
- Soledade M, Pedras C, Jun L. 2004. Designer phytoalexin: probing calmalexin detoxification pathways in the phytopathogen *Rhizoctonia solani*. *Organic Biomolecular Chemistry* 2:1070-1076.

- Vanetten HD, Matthews DE, Matthews PS. 1989. Phytoalexin detoxification: importance for pathogenicity and practical implications. *Annual Review of Phytopathology* 27:143-164.
- Vollekova A, Kost'alova D, Kettmann V, Toth J. 2003. Antifungal activity of *Mahonia aquifolium* extract and its major protoberberine alkaloids. *Phytotherapy Research* 17(7):834-837.
- Xiang MX , Xu , Su HW, Hu J, Yan Y. 2011. Emodin-8-O- $\beta$ -D-glucoside from *Polygonum Amplexicaule* D. Don var. *Sinense* Forb. promotes proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Molecules* 16(1):728-737.
- Ye M, Han J, Chen H, Zheng J, Guo D. 2007. Analysis of phenolic compounds in rhubarbs using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 18(1):82-91.