

호장근으로부터 분리된 emodin의 혈관신생 억제 활성

이태규¹ · 김종화¹ · 소준노^{*}

우석대학교 생명공학부, ¹우석대학교 식품영양 및 공학부

(2002년 11월 28일 접수, 2003년 1월 13일 수리)

호장근에서 분리한 emodin은 VEGF로 유도된 혈관신생의 한 단계인 혈관내피세포의 이동을 강하게 억제하였다. 또한 emodin은 혈관내피세포 이동을 억제시킨 0.1 µg/ml 농도에서 시험관내 혈관신생을 억제하였으며, 그 효과는 농도의존적인 양상을 보였다. 생체내 혈관신생 모델인 CAM assay에서도 emodin은 혈관신생을 억제하였다. 이러한 결과는 emodin이 현재까지 보고된 여러 가지 생리활성 이외에 혈관신생 억제활성을 가지고 있다는 사실을 보여주는 것이다. 따라서 emodin을 함유하고 있는 호장근은 혈관신생 관련 질환에 대한 천연물 유래 치료제의 개발을 위한 중요한 식물자원으로 활용될 수 있을 것이다.

Key words: 호장근, emodin, 혈관형성억제

서 론

호장근(*Polygonum cuspidatum*)은 천식, 고혈압, 암, 동맥경화 등 여러 가지 질병을 치료하는데 한국을 비롯한 동양권의 전통 의학에서 사용되어온 식물 자원이다.^{1,2)} 천연물로부터 생리활성 물질을 검색하고 분리하는 최근까지의 추세에 더불어 호장근에도 resveratrol, lignan sulfate, piceid, emodin 등 중요한 생리활성을 지닌 많은 종류의 물질이 함유되어 있음이 밝혀졌다.^{3,6)} 특히, emodin은 TNF에 의해 유도되는 NF-κB의 활성을 억제하며, tyrosine kinase의 억제물질로 작용한다고 보고되어 있다.^{5,7)}

비정상적인 혈관신생은 암, rheumatoid arthritis, 만성 염증 등, 여러 가지 질환들의 발생과 진행을 결정하는 한 요인으로 주목받고 있다.⁸⁾ 기존의 혈관으로부터 새로운 혈관이 뻗어 나오는 혈관신생은 혈관 벽의 붕괴, 혈관내피세포의 이동과 증식, 관 형성, 혈관주변세포의 결합 등 여러 가지 단계를 거쳐 이루어진다.⁹⁾ 혈관신생에 의존하는 것으로 알려진 암의 증식과 전이는 이러한 혈관신생의 단계들을 차단함으로써 감소시킬 수 있기 때문에, 질병치료 목적의 혈관신생 억제 물질을 탐색하고 개발하려는 시도들이 매우 활발하게 진행되고 있다.¹⁰⁾ 따라서 천연물로부터 새롭게 분리되는 신물질은 물론이고, 이미 알려진 기존의 물질도 혈관신생 억제 활성을 가지고 있는지의 여부가 시험되고 있으며, 그 결과 새로운 자원으로 재평가되어 가치가 높아진 물질들도 상당하다.^{11,12)}

현재까지 emodin에 의한 생리활성은 여러 가지로 보고되어 있으나, emodin의 혈관신생에 대한 작용은 보고되지 않았기에, 본 연구에서는 혈관신생 관련 질환에 대한 천연물 유래 치료제의 개발을 위한 기초로 삼고자, 호장근에 함유된 emodin의 정제방법을 개선하고 이 emodin이 혈관내피세포의 이동과 혈관

신생에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

조추출액의 제조. 한약재상으로부터 구입한 건조된 호장근(*Polygonum cuspidatum*)을 분쇄하여, 메탄올을 추출 용매로 하여 Soxhlet 추출장치에서 20시간 연속 추출하였다. 추출물을 여과하고 원심분리하여 고형물을 제거한 후, 조추출액으로 하였다.^{1,5)}

Thin Layer Chromatography(TLC). 조추출액을 TLC plate(Silica gel, Merk)에 band상으로 spotting한 후, chloroform과 methanol을 7.5:1로 혼합한 전개용매에서 전개시킨 다음, 암소에서 건조하여 전개된 결과를 보았다. 이때 표준 시약으로 구입한 emodin(Sigma)을 같이 전개시켜 Rf 값이 같은 부분의 band를 절단하여 모은 다음, 메탄올로 추출하여 HPLC에서 분석하였다. HPLC 분석에는 C18 Nova PAK(150 × 3.9 mm) column이 사용되었으며, UV detector(Shimadzu UV 1601)의 파장은 303 nm였다.

Preparative HPLC. Preparative HPLC(LKB2150 dual pump system)는 Delta PAK C18-100 A(300 × 78 mm) column을 이용하여 시행하였다. 용출은 A용액(0.4% phosphoric acid)에 대한 B용액(80% CH₃CN in soln A)의 농도를 20% (10분), 40%(15분), 70%(20분), 75%(25분), 0%(27분) 등의 5단계 구배로 변화시키면서 진행하였다. 이때의 유속조건은 0.8 ml/min이었다.

세포배양. 인간탯줄정맥 내피세포(HUVECs)는 탯줄정맥을 collagenase로 처리하여 분리하였으며, 같은 방법으로 돼지 폐 동맥으로부터 돼지폐동맥 내피세포(PPAECs)를 분리하였다.¹³⁾ HUVECs과 PPAECs는 각각 20% FBS-첨가 M199배지(Sigma)와 10% FBS-첨가 DME배지(Sigma)를 사용하여 배양하였으며, 실험에는 계대 수가 3-5인 세포를 사용하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂-incubator에서 배양하였다.

혈관내피세포의 migration assay. HUVECs의 이동은

*연락처

Phone: 82-63-290-1432, Fax: 82-63-290-1512

E-mail: sojn@woosuk.ac.kr

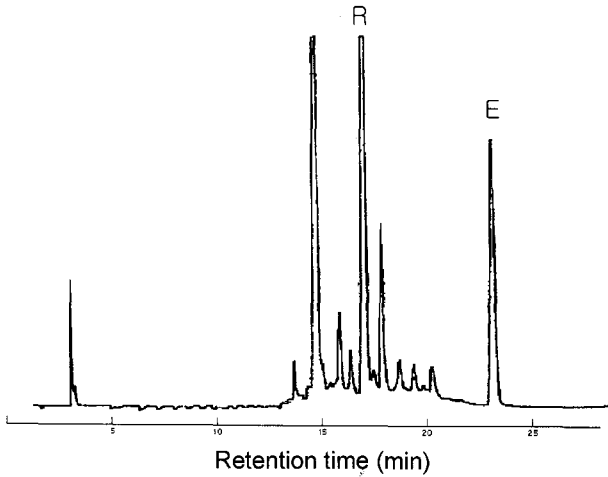


Fig. 1. Chromatogram of methanolic extracts of *P. cuspidatum*. Chromatographic conditions: linear gradient, from 100 to 80% of A in 10 min, from 80 to 40% of A in 15 min, from 40 to 30% of A in 20 min and from 30 to 25% in 25 min; flow rate of 0.8 ml/min. A; 0.4%, v/v phosphoric acid, B; 80% CH₃CN (v/v) in A soln. Column; C18 Nova PAK (150 × 3.9 mm), UV detector (303 nm), R; resveratrol, E; emodin

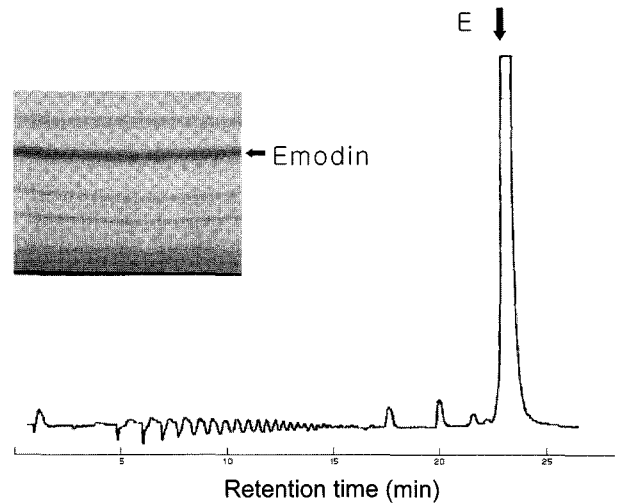


Fig. 2. Chromatogram of the extract from the band corresponding to emodin on TLC plate. Chromatographic conditions are the same as for Fig. 1. E; emodin, Inset shows the bands on silica plate as separated by TLC(chloroform-methanol, 7.5 : 1, v/v).

Boyden chamber(Neuroprobe Inc.)를 이용하여 측정하였다.¹⁴⁾ 시료가 첨가된 1% FBS-첨가 M199배지를 chamber의 아래 well에 넣고 0.2% gelatin으로 coating된 polycarbonate membrane (8 μm pore, Poretics Corp.)을 그 위에 놓은 후, upper chamber를 고정시켰다. HUVECs을 1% FBS-첨가 M199배지에 부유시켜 왼쪽 chamber의 각 well에 2 × 10⁵개의 세포를 넣고 6시간 배양하였다. Polycarbonate membrane은 윗면의 세포를 면봉으로 닦아낸 후, methanol로 고정하고 Diff-Quik 용액으로 염색하였다. 염색된 이동한 세포는 200배 시야의 현미경하에서 관찰하고 그 수를 세었다.

시험관 내 혈관신생과 생체 내 혈관신생 측정. 시험관 내 혈관신생은 fibrin gel을 이용한 PPAECs의 sprouting assay로 측정하였다^{15,16)}. Microcarrier(MC) bead(직경 175 μm)에 PPAECs를 confluent한 상태로 자라게 한 다음, 이 MC bead를 fibrin 용액(2.5 mg/ml)에 넣고 thrombin(2.5 U/ml)을 첨가하여 gel로 만들었다. 이때 시료도 같이 처리해주었으며 gel의 위를 2% FBS첨가 DME배지로 덮어주었다. 48시간 동안 배양하고 MC bead에서 fibrin gel 속으로 뻗어 나온 sprout를 관찰하고 그 수를 측정하였다. MC-bead의 직경보다 더 길게 뻗어 나온 sprout만을 세어서 추출물의 처리 효과를 측정하였다.

생체내 혈관신생은 잘 알려진 CAM assay를 이용하여 측정하였다.¹⁷⁾ 요약하면, 부화 2-3일 경의 닭 수정란의 껍질을 제거하여 자체 제작한 100 mm의 오목 접시에 옮기고, 48시간 37°C 배양기에서 더 배양하였다. Emodin이 첨가된 10 μl의 methylcellulose를 plastic cover slip(Thermanox, Nunc)에 올려 놓고 건조시킨 후, 이를 발생 중인 닭 배아의 chorioallantoic membrane(CAM)에 위치시켜 48-72시간 더 배양하였다. 약물이 함유된 cover-slip을 올려놓은 부위를 stereoscope로 관찰하고 촬영하였다.

통계처리. 유의성은 Student-Newman-Keuls test에 의한 1-

way ANOVA를 사용하여 검사하였다. 통계적 유의성은 p<0.05를 기준으로 하였다.

결 과

Emodin의 분리. 건조된 호장근(15 g)을 Soxhlet 추출장치에서 연속 추출하여 얻은 조추출액을 분석하여 표준 시료의 peak와 비교한 결과, resveratrol, emodin 등 호장근에 함유된 것으로 알려진 주요 물질들의 존재를 확인할 수 있었다(Fig. 1). 조추출물에서 emodin만을 정제하기 위하여, 조추출물을 TLC plate에 band상으로 전개시키고 표준 emodin과 Rf 값이 같은 band를 절단하여(Fig. 2), 메탄올로 용출시켰다. 이 용출액을 HPLC에서 분석한 결과, 표준 emodin을 기준으로 하여 retention time 23분 근처에서 나오는 peak가 emodin peak임을 알 수 있었다(Fig. 2). 동일한 용출 조건에서 반복적으로 preparative HPLC를 시행하여 이후 시험에 사용할 emodin을 수집할 수 있었다.

Emodin이 혈관내피세포의 이동에 미치는 영향. 혈관내피세포의 이동에 emodin이 어떤 영향을 주는지 알아보기 위하여, 혈관내피세포에 VEGF의 존재 하에서 또는 부재 하에서 호장근으로부터 추출한 emodin을 첨가하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 혈관내피세포에 특이적으로 작용하는 성장인자인 VEGF는 내피세포의 이동을 무처리군에 비해 10배 정도 증가시켰으며, 이와 같은 VEGF에 의한 혈관내피세포 이동의 증가를 emodin은 0.1 μg/ml 처리시 75.4 % 억제하였고, 1 μg/ml 처리시 90% 이상으로 억제하였다. 따라서 호장근에서 추출된 emodin은 혈관신생의 주요 과정인 혈관내피세포의 이동을 강하게 차단하는 활성을 가졌다고 추정된다.

Emodin에 의한 혈관형성 억제. 혈관내피세포의 이동을 억제하는 emodin이 혈관신생도 억제하는지를 시험관내 혈관신생 시험법인 sprout formation assay와 생체 내 혈관신생 모델을

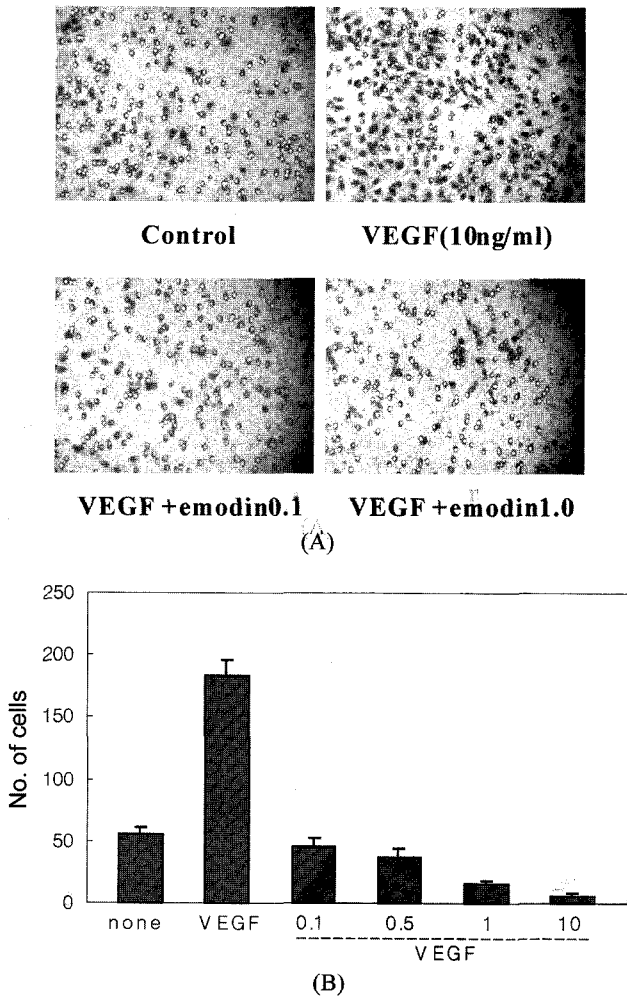


Fig. 3. Inhibition of emodin on VEGF-induced endothelial cell migration. A modified Boyden chamber was used to examine migratory activity of HUVECs. HUVECs were grown to confluence on the NC membrane, and the VEGF (10 ng/ml) and/or various concentrations of emodin (0.1-1.0 µg/ml) were added to the bottom well of the chamber. The cells were incubated for 6 hours to examine migratory activity of endothelial cells. A) Representative photographs of cells migrated (dark blue). The cells were stained with Diff-Quick solution. Magnification are 100X. B) Quantification of migratory activities. Data are the mean + SD from five experiments. *, p<0.05 versus control.

이용하여 알아보았다. 시험관내 혈관신생 모델에서, emodin은 혈관내피세포 성장인자인 VEGF(10 ng/ml)에 의해 증가된 혈관신생을 억제하였다(Fig. 4). 이런 효과는 처리농도에 의존적이었으며, emodin 0.1 µg/ml 처리에 의해서는 71.4%, emodin 1 µg/ml 처리에 의해서는 75.2% 정도 씩 억제되었다(Fig. 4). 이러한 emodin의 혈관신생 억제효과가 *in vivo*에서도 나타나는지를 보기 위하여 발생 초기의 chorioallantoic membrane (CAM)에 emodin 1 µg을 처리하였다. 그 결과 emodin의 처리에 의해 정상적인 CAM에 형성되는 혈관들의 밀도가 감소하며, 이로 인해 형성되는 무혈관 지역이 나타나는 것을 볼 수 있었다(Fig. 5). 이러한 결과들은 emodin이 시험관 내의 혈관신생은 물론 생체 내에서의 혈관신생도 강하게 억제한다는 점을 보여주는 것이다.

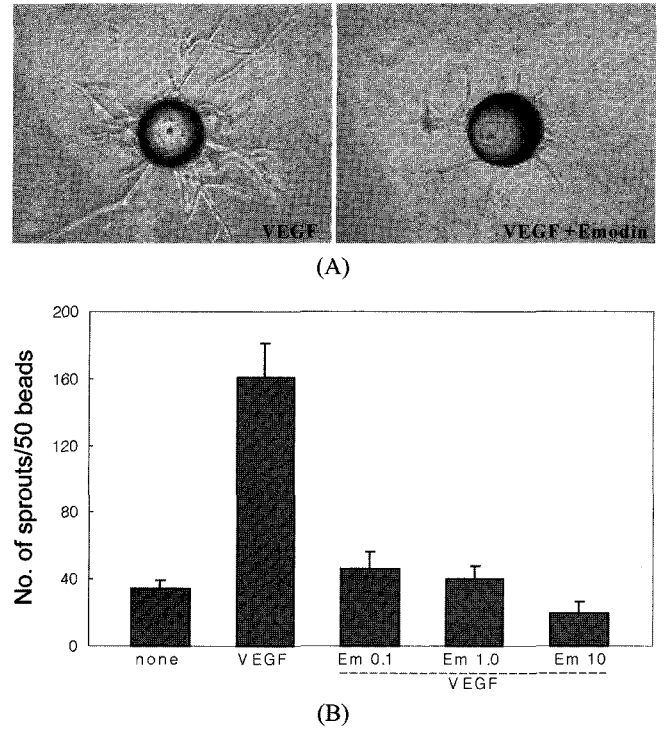


Fig. 4. Inhibition of emodin on VEGF-induced sprout formation of endothelial cells *in vitro*. Cells (PPAECs) grown on microcarrier beads were placed in fibrin gels containing vehicle, emodin, and/or VEGF (10 ng/ml), and were incubated with the same amount of this agent with daily supplementation. A) Representative phase-contrast photographs of endothelial cell sprouts. Magnifications are 200X. B) Quantification of sprouting activities. The number of endothelial sprouts per 50 microcarrier beads was counted after 2-3 days. Bar represent the mean + SD from three experiments. *, p<0.05 versus control.

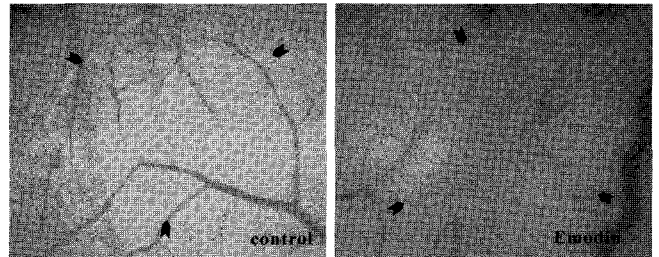


Fig. 5. Inhibition of emodin on angiogenesis *in vivo* CAM of chick embryos. For CAM assay, emodin or vehicle containing cover slip was located on CAMs of 4-5 day chicken embryos as described in material and methods. After 48-72 hours, the formation of avascular zones was analyzed and photographed under stereomicroscope. Representative photographs of an example of control and emodin(1 µg per cover-slip)-treated CAM. The experiment was repeated three times.

고찰

본 연구는 호장근으로부터 emodin을 분리하고, 분리된 emodin이 혈관내피세포의 이동과 혈관신생에 어떻게 작용하는지를 알고자 수행되었다. 호장근에서 분리한 emodin은 혈관내피세포의 이동과 혈관신생을 억제하였다. 혈관신생은 혈관내피세포의 활성화, 내피세포의 이동과 증식, tube formation, 혈관

벽의 안정화 등, 여러 단계를 거쳐 진행되며, 이 과정 중 하나로도 차단되면 혈관신생은 완성될 수 없다.¹⁸⁾ 특히 초기 단계가 억제되면 억제정도에 따라 차이가 있지만, 혈관신생은 미미한 정도로 일어나거나, 거의 일어나지 않게 된다. 따라서 본 실험의 시험관내 및 생체내 혈관신생이 세포의 이동을 억제한 0.1-1.0 µg/ml 수준 농도의 emodin 처리에 의해서 강하게 억제되었기 때문에, 이러한 혈관신생의 억제는 emodin에 의한 혈관내피세포 이동의 차단에 기인된 것이라 추정된다.

Emodin(1,3,8-trihydroxy-6-methylantraquinone)은 자연계에 존재하는 anthraquinone의 일종으로서 *Cassia*, *Rhamnus*, *Rheum*, *Frangula* 등의 식물에 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며,^{19,21)} *Polygonum* 속의 식물의 줄기와 뿌리에도 많은 양이 함유되어 있는 것으로 밝혀지고 있다.^{22,23)} 이러한 식물들로부터 연구자들이 emodin을 분리하는 데에는 capillary electrophoresis, HPLC 등 여러 가지 다양한 수단을 이용하고 있다.^{5,6,24,25)} 다양한 식물군에 포함된 emodin은 항산화활성, 항염증작용, tyrosine kinase 억제 활성 등, 여러 가지 유용한 활성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다.

Pecere 등²⁶⁾은 emodin이 neuroectodermal tumor에 선택적인 새로운 종류의 항암물질이란 사실과 더불어, 이와 같은 항암활성은 emodin의 암세포에 대한 세포독성 때문이라고 보고하였다. 특히 면역결핍 생쥐에 이식된 암세포의 증식은 emodin이 억제하였지만 숙주 동물 자체에는 뚜렷한 독성이 없었다고 보고하였다. 하지만, 이러한 형태의 항암작용은 기존에 보고된 emodin의 활성만으로는 충분히 설명될 수 없는 것이며, 본 연구 결과에서 제시된 emodin의 혈관신생 억제활성과 같은 또 다른 활성이 관여하고 있다고 추정할 수 있다. 따라서, 본 연구 결과는 emodin의 항암작용 메커니즘을 보다 잘 이해하는 데에 도움을 주는 것이라 생각된다. 또한 본 연구에서 사용된 방법을 이용하면, 국내산 식물이 함유하고 있는 새로운 종류의 혈관신생 억제물질들을 찾아내어 자원화 할 수 있을 것이다.

본 연구는 emodin이 현재까지 보고된 여러 가지 생리활성 이외에 혈관신생 억제활성을 가지고 있다는 사실을 보여주는 것으로서, 혈관신생 관련 질환의 천연물 유래 치료제를 개발하는데, emodin을 함유하고 있는 호장근이 중요한 식물자원으로 활용될 수 있다는 점을 시사한다.

감 사

본 논문은 2002년 우석대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Vastano, B. C., Chen, Y., Zhu, N., Ho, C., Zhu, Z. and Rosen, R. T. (2000) Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 253-256.
- Jayatilake, G. S., Jayasuriya, H., Lee, E. S., Koonchanok, N. M., Geahlen, R. L., Ashendel, C. L., McLaughlin, J. L. and Chang, C. J. (1993) Kinase inhibitors from *Polygonum cuspidatum*. *J. Nat. Prod.* **56**, 1805-1810.
- Chen, L., Han, Y., Yang, F. and Zhang, T. (2001) High-speed counter-current chromatography separation and purification of resveratrol and piceid from *Polygonum cuspidatum*. *J. Chromatogr. A* **907**, 343-346.
- Yang, F., Zhang, T. and Ito, Y. (2001) Large scale separation of resveratrol, anthraglycoside A and anthraglycoside B from *Polygonum cuspidatum*. Sieb, et Zucc by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr. A* **919**, 443-448.
- Jayasuriya, H., Koonchanok, N. M., Geahlen, R. L., MacLaughlin, J. L. and Chang, C. J. (1992) Emodin, a protein kinase inhibitor from *Polygonum cuspidatum*. *J. Nat. Prod.* **55**, 696-698.
- Xiao, K., Xuan, L., Xu, Y., Bai, D. and Zhong, D. (2002) Constituents from *Polygonum cuspidatum*. *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 605-608.
- Kumar, A., Dhawan, S. and Aggarwal, B. B. (1998) Emodin (3-methyl-1,6,8-trihydroxyanthraquinone) inhibits TNF-induced NF-κB activation, IκB degradation, and expression of cell surface adhesion proteins in human vascular endothelial cells. *Oncogene* **17**, 913-918.
- Folkman, J. (1995) Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Med.* **1**, 27-31.
- Friesel, R. E. and Maciag, T. (1995) Molecular mechanism of angiogenesis: fibroblast growth factor signal transduction. *FASEB J.* **9**, 919-925.
- Griffioen, A. W. and Molema, G. (2000) Angiogenesis: Potentials for pharmacologic intervention in the treatment of cancer, cardiovascular diseases, and chronic inflammation. *Pharmacol. Rev.* **52**, 237-268.
- Fife, R. S., G. Sledge, W., Sissons, Jr. S. and B. Zerler (2000) Effects of tetracyclines on angiogenesis *in vitro*. *Cancer Lett.* **153**, 75-78.
- Rajkumar, S.V. and Witzig, T. E. (200) A review of angiogenesis and antiangiogenic therapy with thalidomide in multiple myeloma. *Cancer Treatment Rev.* **26**, 351-362.
- Kwak, H. J., So, J. N., Lee, S. J., Kim, I. and Koh, G. Y. (1999) Angiopoietin-1 is an apoptosis survival factor for endothelial cells. *FEBS Lett.* **448**, 249-253.
- Isaji, M., Miyata, H., Ajisawa, Y., Takehana, Y. and Yoshimura, N. (1997) Tranilast inhibits the proliferation, chemotaxis and tube formation of human microvascular endothelial cells *in vitro* and angiogenesis *in vivo*. *Br. J. Pharmacol.* **122**, 1061-1066.
- Nehls, V. and Drenkhahn, D. (1995), A novel, microcarrier-based *in vitro* assay for rapid and reliable quantification of three-dimensional cell migration and angiogenesis. *Microvascular Res.* **50**, 311-322.
- Kim, I., Kim, H. G., Moon, S. O., Chae, S. W., So, J. N., Koh, K. N., Ahn, B. C. and Koh, G. Y. (2000) Angiopoietin-1 induces endothelial cell sprouting through the activation of focal adhesion kinase and plasmin secretion. *Circ. Res.* **86**, 952-959.
- Cao, R, Wu, H., Veitonmaki, N., Linden, P., Farnebo, J., Shi, G. and Cao, Y. (1999) Suppression of angiogenesis and tumor growth by the inhibitor K1-5 generated by plasmin-mediated proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 5728-5733.

18. Davis, G. E., Bayless, K. J. and Mavila, A. (2002) Molecular basis of endothelial cell morphogenesis in three-dimensional extracellular matrices. *Anat. Rec.* **268**, 252-275.
19. Mueller, S. O., Schmitt, M., Dekant, W., Syopper, H., Schlatter, J., Schreier, P. and Lutz, W. K. (1999) Occurrence of emodin, chrysophanol and physcion in vegetables, herbs, and liquors; Genotoxicity and anti-genotoxicity of the anthraquinones and the whole plants. *Food Chem. Toxicol.* **37**, 481-491.
20. Choi, J. C., Chung, H. Y., Jung, H. A., Park, H. J. and Yokozawa, T. (2000) Comparative evaluation of antioxidant potential of alaternin(2-hydroxyemodin) and emodin. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 6347-6351.
21. Agarwal, S. K., Singh, S. S., Verma, S. and Kumar, S. (2000) Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. *J. Ethnopharmacol.* **72**, 43-46.
22. Kuo, Y. C., Tsai, W. J., Meng, H. C., Chen, W. P., Yang, L. Y. Lin, C. Y. (2001) Immune responses in human mesangial cells regulated by emodin from *Polygonum hypoleucum Ohwi*. *Life Sci.* **68**, 1271-1286.
23. Kuo, Y. C., Meng, H. C. and Tsai, W. J. (2001) Regulation of cell proliferation, inflammatory cytokine production and calcium mobilization in primary human T lymphocytes by emodin from *Polygonum hypoleucum Ohwi*. *Inflamm. Res.* **50**, 73-82.
24. Weng, W. C. and Sheu, S. J. (2000) Separation of anthraquinones by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *J. high Resol. Chromatogr.* **23**, 143-148.
25. Koyama, J., Morita, I., Tagahara, K., Bakari, J. and Aqil, M. (2002) Capillary electrophoresis of anthraquinones from *Cassia siamea*. *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 1103-1105.
26. Pecere, T., Gazzola, M. V., Mucignat, C., Parolin, C., Vecchia, D. F., Cavaggioni, A., Basso, G., Diaspro, A., Salvato, B., Carli, M. and Palu, G. (2000) Aloe-emodin is a new type of anticancer agent with selective activity against neuroectodermal tumors. *Cancer Res.* **60**, 2800-2804.

Emodin from *Polygonum cuspidatum* showed Angiogenesis Inhibiting Activity *in vitro*

Tae-Kyoo Lee¹, Jong-Hwa Kim¹ and June-No So* (Division of Bioscience & Biotechnology, Woosuk University, Jeonbuk, 565-701, Korea; ¹Division of Food Science and Nutrition, Woosuk University, Jeonbuk, 565-701, Korea)

Abstract: *Polygonum cuspidatum* has been used as a folk medicine for a long time. Emodin was purified from the root of *P. cuspidatum* by thin layer chromatography (TLC) and preparative high performance liquid chromatography (HPLC). The effects of emodin on the migration of endothelial cells and *in vitro* angiogenesis stimulated with vascular endothelial cell growth factor (VEGF) were examined, using human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and porcine pulmonary arterial endothelial cells (PPAECs). Emodin potently inhibited the VEGF-induced migration of HUVECs at relatively low concentrations (0.1-10 µg/ml); the inhibition of endothelial cells by emodin was 75.4% at 0.1 µg/ml and about 90 % at 1 µg/ml. Emodin also inhibited VEGF-induced sprout formation *in vitro* at concentrations of 0.1-10 µg/ml. Emodin was also evaluated for the inhibitory potential on *in vivo* angiogenesis in a growing chick embryo chorioallantoic membranes (CAM). At a concentration of 1.0 µg per disc, emodin was able to induce avascular zone in the CAMs. These findings suggest that emodin is a potent angiogenesis inhibitor and *P. cuspidatum* is a useful herb in the development of therapeutics for angiogenesis dependent diseases.

Key words: *Polygonum cuspidatum*, emodin, angiogenesis inhibition

*Corresponding author