creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000241161

2011年 2月

碩士學位論文

# 모과나무(*Chaenomeles sinensis* Koehne.)의 화학 성분과 IL(interleukin)-6의 저해 효과

朝 鮮 大 學 校 大 學 院

藥 學 科

申 知 恩

# 모과나무(*Chaenomeles sinensis* Koehne.)의 화학 성분과 IL(interleukin)-6의 저해 효과

Phytochemical constituents isolated from *Chaenomeles sinensis* Koehne and their inhibitory effects on IL(interleukin)-6

2011년 2월 25일


朝 鮮 大 學 校 大 學 院

藥 學 科

申 知 恩

# 모과나무(*Chaenomeles sinensis* Koehne.)의 화학 성분과 IL(interleukin)-6의 저해 효과

指 導 敎 授　禹 銀 蘭

이 논문을 약학 석사학위신청 논문으로 제출함

2010년 10월


朝 鮮 大 學 校　大 學 院

藥 學 科

申　知　恩

# 신지은의 석사학위 논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 홍 준 희 (인)

위　원 조선대학교 교수 오 원 근 (인)

위　원 조선대학교 교수 우 은 란 (인)

2010년 12월

# 조선대학교 대학원

# Contents

Contents ····· I
List of Schemes ····· II
List of Tables ····· III
List of Figures ····· IV
Abstract ····· V

Ⅰ. 서 론 ····· 1
Ⅱ. 실 험 ····· 3
1. 실험재료 ····· 3
2. 시약 및 기기 ····· 3
2-1. 시약 ····· 3
2-2. 기기 ····· 4
3. 화합물의 분리 ····· 5
3-1. 추출 및 분획 ····· 5
3-2. $CH_2Cl_2$ 분획으로부터 compound의 분리 ····· 6
3-2-1. Compound 1의 분리 ····· 7
3-2-2. Compound 2의 분리 ····· 8
3-3. n-BuOH 분획으로부터 compound의 분리 ····· 9
3-3-1. Compound 3의 분리 ····· 10
3-3-2. Compound 4의 분리 ····· 11
4. 생리활성 ····· 13

4-1. MG-63에서 IL-6의 유리 확인 ····· 13
Ⅲ. 결과 및 고찰 ····· 14
1. Compound 1의 구조 ····· 14
2. Compound 2의 구조 ····· 14
3. Compound 3의 구조 ····· 15
4. Compound 4의 구조 ····· 15
5. 생리활성 결과 ····· 19
5-1. MG-63에서 IL-6의 유리 확인 ····· 20
Ⅳ. 결 론 ····· 21
Ⅴ. 참 고 문 헌 ····· 22
APPENDIX ····· 25

# List of Schemes

Scheme Ⅰ. Extraction and fractionation of MeOH extract from *Chaenomeles sinensis* Koehne. ····· 5

Scheme Ⅱ. Isolation of compounds 1-2 from $CH_2Cl_2$ extract of *Chaenomeles sinensis* Koehne. ····· 6

Scheme Ⅲ. Isolation of compounds 3-4 from n-BuOH extract of *Chaenomeles sinensis* Koehne. ····· 9

# List of Tables

Table 1. Effect of compounds on IL-6 secretion from TNF-α stimulated MG-63 ····· 19

# List of Figures

Fig. 1. Structures of compounds 1-4 isolated from *Chaenomeles sinensis* Koehne. ····· 16
Fig. 2. Selected $^{1}H$-$^{13}C$ long-range correlations in HMBC spectrum of compound 2 ····· 17
Fig. 3. Selected $^{1}H$-$^{13}C$ long-range correlations in HMBC spectrum of compound 3 ····· 17
Fig. 4. Selected $^{1}H$-$^{13}C$ long-range correlations in HMBC spectrum of compound 4 ····· 18
Fig. 5. Inhibition effect of compound 2-4 on IL-6 production in TNF-α stimulated MG-63 cell ····· 20
Fig. 6. $^{1}H$-NMR spectrum of compound 1 (300 ㎒, $CDCl_3$) ····· 26
Fig. 7. $^{13}C$-NMR spectrum of compound 1 (75 ㎒, $CDCl_3$) ····· 27
Fig. 8. $^{1}H$-NMR spectrum of compound 2 (500 ㎒, $CDCl_3$) ····· 28
Fig. 9. $^{13}C$-NMR spectrum of compound 2 (125 ㎒, $CDCl_3$) ····· 29
Fig. 10. $^{1}H$-NMR spectrum of compound 3 (300 ㎒, DMSO-$d_6$) ····· 30
Fig. 11. $^{13}C$-NMR spectrum of compound 3 (75 ㎒, DMSO-$d_6$) ····· 31
Fig. 12. $^{1}H$-NMR spectrum of compound 4 (500 ㎒, $CD_3OD$) ····· 32
Fig. 13. $^{13}C$-NMR spectrum of compound 4 (125 ㎒, $CD_3OD$) ····· 33

# Abstract

## Phytochemical constituents isolated from *Chaenomeles sinensis* Koehne and their inhibitory effects on IL(interleukin)-6

Shin Ji-Eun
Advisor : Prof. Woo Eun-Rhan Ph.D.
Department of Pharmacy,
Graduate School of Chosun University.

*Chaenomeles sinensis* Koehne (Rosaceae) is an deciduous tree that is found throughout China, Korea and Japan. In previous studies on the fruits of *C. sinensis,* some triterpenoid compouds such as oleanolic acid, tormentic acid were reported. We searched for the phytochemical constituents of the methylene chloride and n-butanol soluble fraction of the branches of *C. sinensis.* β-sitosterol (1), betulin (2), 1-β-D-glucopyranosyloxy-3,4,5-trimethoxybenzene (3), lyoniresinol-2a-O-α-L-rhamnopyranoside (4) were isolated by the repeated use of silica gel, PTLC RP-18 and RP-18 column chromatography. The chemical structures of compounds **1-4** were determined by the basis of physicochemical properties and spectroscopic methods such as 1D and 2D NMR. For the isolated compounds, the inhibitory activity of IL-6 production in TNF-α stimulated MG-63 was examined. Among the isolated compounds, betulin (2), 1-β-D-glucopyranosyloxy-3,4,5-trimethoxybenzene (3), lyoniresinol-2a-O-α-L-rhamnopyranoside (4) showed inhibitory effects on IL-6 production in TNF-α stimulated MG-63.

# Ⅰ. 서론

모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne.)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽 교목으로서 중국 원산지로 한국, 일본 등지에도 분포한다.[1)]

장미과(Rosaceae)는 쌍떡잎식물 갈래꽃류의 한 과로, 세계에 널리 퍼져 있으며 특히 유럽, 북아메리카, 아시아에 많다. 115속 3,200종으로 구성되어 있고 우리나라에는 35속 207종이 있다. 짚신나물, 채진목, 명자나무, 좀낭아초 등이 있다.

모과나무는 전남, 전북, 경북, 충북, 경기도에 야생하고 높이 10m에 달하며, 나무껍질이 조각으로 벗겨져서 흰무늬 형태로 된다. 수피는 밋밋하고 적갈색으로 윤기가 있으며, 수피가 떨어져 나간 곳은 초록빛이 도는 갈색으로 얼룩진다. 줄기에 가지가 변하여 된 가시가 있으며 잎은 호생하고 홑잎이며 가장자리에 톱니가 있고 엽병은 짧으며 탁엽은 크고 꽃은 약간 크며 대개 잎보다 먼저 핀다. 뾰족하게 생긴 턱잎은 일찍 떨어진다.[2)]

꽃은 연한 홍색으로 5월에 피고 지름 2.5～3cm이며 1개씩 달린다. 꽃잎은 달걀을 거꾸로 세운 모양이고 끝이 오목하다. 열매는 이과(梨果)로 타원형 또는 달걀을 거꾸로 세운 모양이고 길이 10～20cm, 지름 8～15cm이며 목질이 발달해 있다. 9월에 황색으로 익으며 향기가 좋으나 신맛이 강하다. 모과를 바구니에 담아 방이나 차안 등의 실내에 놓아두면 은은한 향기가 배어나와 기분을 상쾌하게 해주기도 한다.

얼룩진 나무껍질이 보기 좋아 흔히 분재도 하는데 물이 많은 곳에서는 잘 자라지 못한다. 양지바른 곳에서 잘 자라며 추위에도 잘 견뎌 서울을 포함한 중부지방에서 심고 있지만, 이보다는 따뜻한 남쪽지방에서 모과를 얻기 위해 널리 심는다. 모과와 비슷한 명자나무(*C. lagenaria*)는 관목이고 꽃이 한 꽃대에 여러 송이가 피는 점이 다른데, 가지 끝이 가시로 변형되기도 한다. 흔히 뜰에 많이 심고 봄에 연분홍색 꽃이 피며, 가을에 쭈글쭈글한 못생긴 열매가 맺힌다. 많은 원예품종들이 만들어져 있다.

모과는 술을 빚기도 하고 신진대사와 소화촉진 작용을 도우며 특히 기침의 약제

로 유용하다. 또한 피로회복과 피부미용효과가 있으며 조혈작용을 한다.

지금까지 모과나무에 대한 연구는 열매에 대한 성분 연구가 주로 이루어 졌으며 maslinic acid, tormentic acid 등의 triterpenoid 계열[3] 화합물들이 이미 보고되었다. 모과나무 가지에 대한 연구가 거의 이루어지지 않아 가지에 대한 식물 화학적 성분을 탐색하기 위하여 본 실험을 진행하였으며, 분리한 화합물을 세포 독성이 없는 농도에서 TNF-α에 의해 유도된 IL-6의 억제작용을 알아보기 위하여 MG-63 세포주를 이용한 hIL-6의 유리 억제 실험을 실시하였다.

여기서 IL(humen interleukin)-6는 cytokine 일종으로 항세포 증식 작용, 항미생물 작용, 항종양 작용 등 면역조절에 중요한 역할을 한다. 이러한 여러 기능을 가진 IL-6의 생산 조절이 잘못되어 과잉 생산되면 여러 가지 자기 면역질환과 염증성 신경 관절 질환을 유발하는 것으로 알려졌고 이에 관한 많은 연구가 보고되어져있다.[21-23]

따라서 본 연구에서는 모과나무 지상부의 $CH_2Cl_2$ 분획으로부터 triterpenoid 1종과 sterols 1종을 분리하였고, n-BuOH 분획으로부터 aromatic 1종과 lignan 1종을 분리하였다. 성분 분리는 open column chromatography를 통하여 이루어졌고, 분광학적 분석(NMR)에 의하여 구조가 분석 되었고, 문헌들과의 비교를 토대로 하여 구조가 동정 되었다. 분리한 Compound 2, 3, 4에 대해 MG-63 세포에서 IL-6의 유리정도(%)를 검토한 결과 compound 2,3,4 모두 MG-63 세포로부터 IL-6의 유리가 감소하는 것으로 나타났다. Compound 2 에 대한 IL-6의 유리정도는 46.3±6.5 %로 나타났고, Compound 3 에 대한 IL-6의 유리정도는 39.6±2.3 %로 나타났으며 Compound 4 에 대한 IL-6의 유리정도는 36.8±4 %로 나타났다.

# Ⅱ. 실험

## 1. 실험재료

실험에 이용된 모과나무(*Chaenomeles sinensis* Koehne.)는 조선대학교 약학대학 약초원에서 채취하여 전문가의 동정 과정을 거쳐 사용하였으며, 표본은 조선대학교 약학대학 표본실에 보관 중이다.

## 2. 시약 및 기기

### 2-1. 시약

① 용매

추출 및 분획용 시약은 1급 시약을 사용하였으며, TLC와 chromatography용 시약은 1급 또는 특급 시약을 사용하였다.

② Packing materials

Column chromatography의 packing material로는 Kieselgel 60(63~200 ㎛, Art. 7734, Merck)와 Kieselgel 60(40-63 ㎛, Art. 9385, Merck), Lipophlic Sephadex LH-20(25-100 ㎛, Lot 81K1092, Sigma), LiChroprep RP-18(40-63 ㎛, L610400 138, Merck), MCI gel CHP20P(75-150 ㎛, Mitsubishi Chemical Corporation) 등을 사용하였다.

③ TLC

Thin layer chromatography용 plate는 precoated silica gel 60 $F_{254}$ plate(layer thickness 0.25 ㎜, 20×20 ㎝. Art. 5715, Merck)와 precoated RP-18 $F_{254}$s plate(layer thickness 0.25 ㎜, 20×20 ㎝. Art. 5423, Merck)를 사용하였다. Preparative thin layer chromatography (PTLC)용은 plate는 precoated silica gel 60 $F_{254}$ plate(layer thickness 0.5 ㎜, 20×20 ㎝. Art. 5744, Merck)와 precoated RP-18 $F_{254}$s plate(layer thickness 1 ㎜, 20×20 ㎝. Art. 5434, Merck)를 사용하였다.

## 2-2. 기기

실험에 사용한 기기는 다음과 같다.

IR : JASCO FT/IR-300E (Jasco Co., Japan)

UV : JASCO V-550 (Jasco Co., Japan)

FAB-MS : JMS 700(JEOL)

$^{1}$H-NMR : Varian Unity Inova 500 ㎒ and 300 ㎒

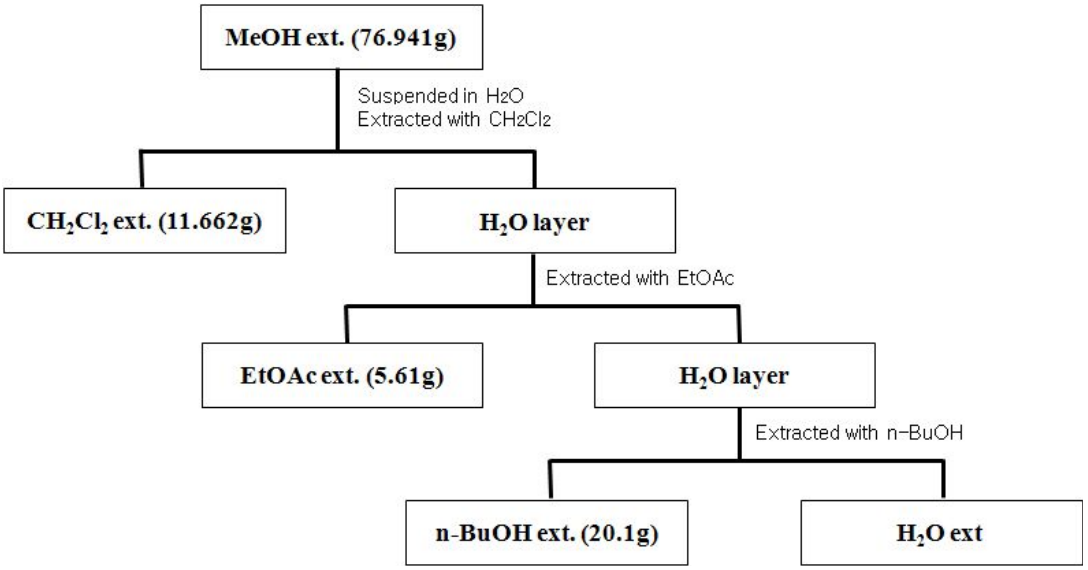
$^{13}$C-NMR : Varian Unity Inova 125 ㎒ and 75 ㎒

Polarimeter : AUTOPOL® IV automatic polarometer
(Rudolph Research Flangers, NJ 07836)

## 3. Compound의 분리

### 3-1. 추출 및 분리

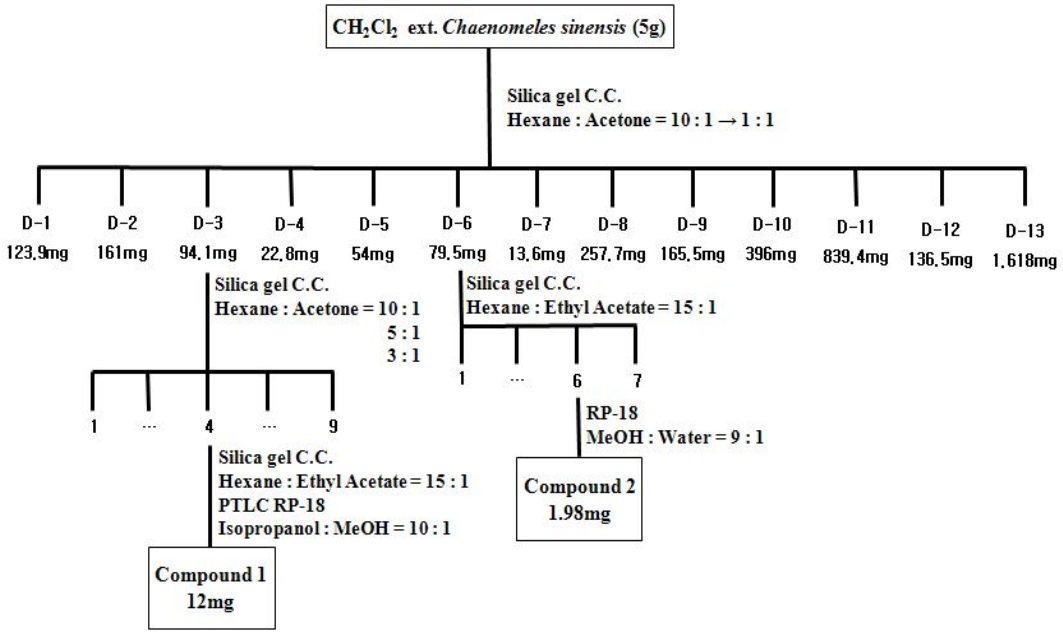
모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne.) 2.7kg을 MeOH 9ℓ로 100℃ 에서 3시간씩 3회에 걸쳐 진탕하면서 추출한 후 여과, 감압 농축하여 76.941g의 MeOH extract를 얻었다. 이를 증류수로 현탁하고 methylene chloride, ethyl acetate (EtOAc), n-butanol (BuOH) 순서의 계통적 분획법으로 분획 하였다. (scheme I).




Scheme I . Extraction and fractionation of the MeOH extract from *Chaenomeles sinensis* Koehne.

## 3-2. $CH_2Cl_2$ 분획으로부터 compound의 분리

모과나무의 $CH_2Cl_2$ frac. 5g을 silica gel 60을 이용하여 column chromatography를 실시하였다. 처음 사용한 전개용매는 Hexane:Acetone = 10:1 ~ 1:1 MeOH 순으로 극성을 높여 주면서 용출시키고 각각의 분획들은 TLC pattern에 따라 유사한 것들을 합쳐 13개의 sub-frac.을 얻었다.(scheme Ⅱ)




Scheme Ⅱ. Isolation of compounds 1-2 from $CH_2Cl_2$ extract of *Chaenomeles sinensis* Koehne.

### 3-2-1. Compound 1의 분리

Subfraction D-3(94.1mg)를 Hexane : Acetone (10 : 1 → 1 : 1) 용매조건으로 Silica gel 60 (40-63 mesh)을 이용하여 open column chromatography를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 $F_{254}$, RP-18 $F_{254}$ TLC pattern으로 확인하여 compound 1 (12mg)을 얻었다. Compound 1 화합물은 UV단파장(245 ㎚)과 장파장(365㎚)에서 모두 흡수를 보이지 않는다. 10% 황산용액으로 발색 하였을 경우 분홍색을 나타낸다.

Compound 1

Colorless white powder

Molecular formula : $C_{29}H_{50}O$

Molecular weight : 414

MP : 140℃

$[\alpha]_D^{25}$ : -37° ($CHCl_3$)

$^1$H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ :

0.68(3H, s, $CH_3$-18), 0.81, 0.83(3H each, d, J=6.6 Hz, $CH_3$-26,27), 0.86(3H, t, J=7.2 Hz, $CH_3$-29), 0.92(3H, d, J=6.6 Hz, $CH_3$-21), 1.01(3H, s, $CH_3$-19), 3.52(1H, m, H-3), 5.35(1H, br d, J=5.1, H-6).

$^{13}$C-NMR(75 MHz, $CDCl_3$) δ :

140.7(s, C-5), 121.7(d, C-6), 71.8(d, C-3), 56.7(d, C-14), 56.0(d, C-17), 50.1(d, C-9), 45.8(d, C-24), 42.3(t, C-4, d, C-13), 39.7(t, C-12), 37.2(t, C-1), 36.5(t, C-10), 36.1(d, C-20), 33.9(t, C-22), 31.9(t, C-7, d, C-8), 31.6(t, C-2), 29.1(d, C-25), 28.2(t, C-16), 26.0(t, C-23), 24.3(d, C-15), 23.0(t, C-28), 21,0(t, C-11), 19.8(q, C-27), 19.4(q, C-19), 19.0(q, C-26), 18.8(q, C-21), 12.0(t, C-29), 11.9(q, C-18).

### 3-2-2. Compound 2의 분리

Subfraction D-6(79.5㎎)을 Hexane : Ethyl acetate (15:1) 용매조건으로 Silica gel 60 (40-63 mesh)을 이용하여 open column chromatography를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 $F_{254}$, RP-18 $F_{254}$ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 7개의 분획으로 나누었다.

분획들 중 D-6-6(4.43㎎)을 90% MeOH을 용매조건으로 하여 RP-18을 이용한 Column chromatography를 실시하여 compound 2(1.98㎎)를 얻었다. 이 화합물 UV파장에서 흡수가 없었다. 10% 황산용액으로 발색 시 갈색으로 나타난다.

Compound 2

Colorless white powder

Molecular formula : $C_{30}H_{50}O_2$

Molecular weight : 442

MP : 256-257 ℃

$[\alpha]_D^{25}$ : +28° (CHCl$_3$)

$^1$H-NMR (500 MHz, CDCl$_3$) δ :

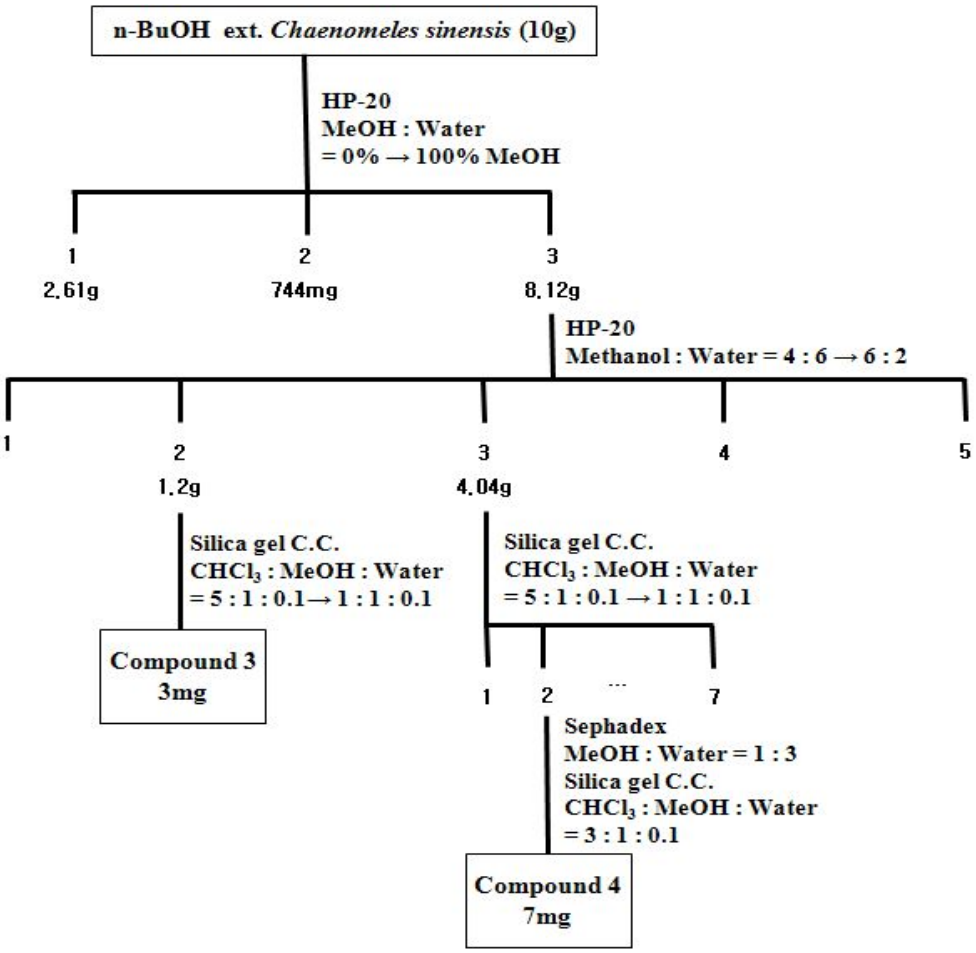
0.76(3H, s, H-24), 0.82(3H, s, H-25), 0.96(3H, s, H-23), 0.98(3H, s, H-27), 1.02(3H, s, H-26), 1.68(3H, s, H-30), 3.17(1H, dd, J= 11.5, 4.5 Hz, H-3), 3.32(1H, d, J=10.5 Hz, H-28$\alpha$), 3.78(1H, d, J=11.0 Hz, H-28$\beta$), 4.58(1H, d, J= 2.0 Hz, H-29$\alpha$), 4.68(1H, d, J= 2.0 Hz, H-29$\beta$).

$^{13}$C-NMR(125 MHz, CDCl$_3$) δ :

150.4(s, C-20), 109.6.0(t, C-29), 78.9(d, C-3), 60.5(t, C-28), 55.2(d, C-5), 50.3(d, C-9), 48.7(d, C-19), 47.7(s, C-17), 47.7(d, C-18), 42.6(s, C-14), 40.8(s, C-8), 38.8(t, C-1), 38.6(s, C-4), 37.2(d, C-13), 37.1(s, C-10), 34.2(t, C-7), 33.9(t, C-22), 29.7(t, C-21), 29.1(t, C-16), 27.9(q, C-23), 27.3(t, C-2), 27.0(t, C-15), 25.1(t, C-12), 20.8(t, C-11), 19.0(q, C-30), 18.2(t, C-6), 16.1(q, C-26), 15.9(q, C-25), 15.3(q, C-24), 14.7(q, C-27).

## 3-3. BuOH 분획으로부터 compound의 분리

모과나무의 BuOH frac. 10g을 HP-20을 이용하여 column chromatography를 실시하였다. 처음 사용한 전개용매는 MeOH : Water= 0% ~ 100% MeOH 순으로 극성을 높여주면서 용출시키고 각각의 분획들은 TLC pattern에 따라 유사한 것들을 합쳐 3개의 sub-frac.을 얻었다. (scheme Ⅲ)




Scheme Ⅲ. Isolation of compounds 3 from n-BuOH extract of *Chaenomeles sinensis* Koehne.

### 3-3-1. Compound 3의 분리

Subfraction B-3(8.12g)을 MeOH : Water (4:6 → 6:4) 용매조건으로 HP-20을 이용하여 open column chromatography를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 $F_{254}$, RP-18 $F_{254}$ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 5개의 분획으로 나누었다.

분획들 중 B-3-2(1.2g)을 $CHCl_3$ : MeOH : Water (5:1:0.1 → 1:1:0.1) 용매조건으로 Silica gel을 이용한 Column chromatography를 실시하여 compound 3(3㎎)을 얻었다. 이 화합물 UV단파장(245 ㎚)에서  흡수를 보였다. 10% 황산용액으로 발색시 황색으로 나타난다.

Compound 3

Colorless white powder

Molecular formula : $C_{14}H_{26}O_8$

Molecular weight : 322

$^1$H-NMR (500 MHz, DMSO-$d_6$) δ :

3.16(m, Glc H-4), 3.22(m, Glc H-2), 3.28(m, Glc H-3), 3.36-3.38(m, Glc H-5), 3.52(1H, s, Glc H-6), 3.66(3H, s, 4-OMe), 3.68(6H, s, 3,5-OMe), 4.71(1H, d, J=8.0Hz, Glu H-1), 6.31(2H, s, H-2,6).

$^{13}$C-NMR(125 MHz, DMSO-$d_6$) δ :

153.2(C-1), 152.4(C-3,5), 131.7(C-4), 93.6(C-2,6), 100.3(Glc C-1), 76.4(Glc C-3), 75.9(Glc C-5), 72.5(Glc C-2), 69.4(Glc C-4), 60.2(Glc C-6), 59.5(4-OMe), 55.0(2×3,5-OMe).

### 3-3-2. Compound 4의 분리

Subfraction B-3(8.12g)을 MeOH : Water (4:6 → 6:4) 용매조건으로 HP-20을 이용하여 open column chromatography를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 $F_{254}$, RP-18 $F_{254}$ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 5개의 분획으로 나누었다.

분획들 중 B-3-3(4.04g)을 $CHCl_3$ : MeOH : Water (5:1:0.1 → 1:1:0.1)을 용매조건으로 하여 Silica gel을 이용한 Column chromatography를 실시하였다. 각각의 silica gel 60 $F_{254}$, RP-18 $F_{254}$ TLC pattern으로 확인하여 분리된 정도에 따라 7개의 분획으로 나누었다.

그 중 B-3-3-2(137.7mg)을 MeOH : Water (1:3), $CHCl_3$ : MeOH : Water (3:1:0.1)을 용매조건으로 하여 각각 Sephadex, Silica gel을 이용한 Column chromatography를 실시하여 compound 4(7mg)을 얻었다. 이 화합물 UV단파장(245 ㎚)에서 흡수를 보였다. 10% 황산용액으로 발색 시 녹색으로 나타난다.

Compound 4

Colorless yellow oil

Molecular formula : $C_{32}H_{50}O_{12}$

Molecular weight : 630

MP : 189-191℃

$[\alpha]_D^{25}$ : -34.7° ($CHCl_3$)

$^1$H-NMR (500 MHz, $CD_3OD$) δ :

1.20*(d, J=6.0 Hz) and 1.31(d, J=6.0 Hz)(3H, Rha-Me), 1.62-1.67(1H, m, H-8), 2.02-2.10(1H, m, H-8'), 2.56-2.76(2H, m, H-7), 3.34(3H, s, 5-OMe), 3.73(6H, s, 3',5'-OMe), 3.85(3H, s, 3-OMe), 4.31(1H, d, J=5.5Hz, H-7'), 4.65(brs) and 4.72*(brs)(1H, Rha $C_1$-H), 6.34*(s) and 6.36(s)(2H, H-2',6'), 6.58(1H, s, H-2).

$^{13}$C-NMR(125 MHz, $CD_3OD$) δ :

149.1 (s, C-3',5'), 148.8(s, C-3), 147.6* and 147.7(s, C-5), 139.3(s, C-1'), 139.0(s, C-4), 134.7(s, C-4'), 130.3(s, C-1), 126.1* and

126.2(s, C-6), 107.8(d, C-2), 106.8* and 106.9(d, C-2',6'), 102.1* and 102.5(d, Rha C-1), 74.0(d, Rha C-4), 72.5(d, Rha C-3), 72.4(d, Rha C-2), 70.4(d, Rha C-5), 70.1* and 70.2(t, C-9'), 66.4(t, C-9), 60.2(q, 5-OMe), 56.9(q, 3',5'-OMe), 56.7(q, 3-OMe), 46.6* and 46.7(d, C-8'), 43.1(d, C-7'), 40.8 and 41.1*(d, C-8), 33.7(t, C-7), 18.0* and 18.3(q, Rha C-6).

## 4. 생리활성

### 4-1. MG-63 cell line에서 IL-6의 유리 확인

세포주는 10% FBS (fetal bovine serum)가 포함된 DMEM (Eulbecco's Modified Eagle Medium) 배지를 사용하여 37℃, 5% $CO_2$ incubator에서 culture dish에 증식시킨 MG-63 세포를 24-well plate에 적정수의 세포($3\times10^4$)를 500 ㎕씩 접종한 후 하루 동안 incubation하고 배지를 교체하였다. 여기에 TNF(Tumor Necrosis Factor)-α와 SRB assay를 통해 얻은 세포독성이 없는 농도의 sample을 처리한 후 37℃ incubator에서 배양한 후 24시간과 48시간 뒤 각각 70 ㎕씩 배지를 채취하여 냉동 보관한다. 96-well plate에 I차 anti-body 100 ㎕(anti-human IL-6 2 ㎍/㎖ in 0.1 M $NaHCO_3$)를 넣은 후 4℃에서 overnight하여 1차 anti-body가 96 well plate에 부착되도록 하였다. 결합되지 않은 1차 anti-body를 씻어내기 위해 washing solution [0.05% Tween 20 in (PBS) phosphate buffered saline] 100 ㎕로 3번 씻어낸 후 blocking solution (3% bovine serum albumin (BSA) in PBS) 200 ㎕를 처리하고 실온에서 2시간 동안 방치한 후 washing solution 200 ㎕로 2번 씻어낸다. 위에서 24시간 후와 48시간 후에 채취한 배양액 50 ㎕와 blocking solution 50 ㎕를 넣어 실온에서 4시간 또는 4℃에서 overnight하여 1차 anti-body와 결합하도록 하였다. 100 ㎕의 washing solution으로 4번 세척한 후 100 ㎕의 2차 anti-body (biotin conjugated rat anti-human IL-6 1 ㎍/㎖ in blocking solution)를 첨가 하여 45분 동안 결합시킨 뒤 결합되지 않은 2차 anti-body를 100 ㎕의 washing solution으로 6번 세척하여 씻어낸다. 100 ㎕의 Streptavidin HRP (0.1% BSA, 0.05% Tween 20 in tris buffered saline, pH 7.3)를 첨가하여 20분 동안 결합시킨 뒤 washing solution으로 6번 세척한다. TMB (Tetra Methyl Benzidine) 100 ㎕를 넣어 발색시킨 즉시 micro plate reader를 사용하여 450 ㎚ 파장에서 흡광도를 측정하였다. 1% DMSO와 TNF-α(15 ng/㎖)가 들어갔을 때 hIL-6의 유리정도(%)를 control로 하였으며 실험의 표준물질로는 dexamethasone을 사용하였다. IL-6의 유리, 확인은 control에 대한 상대적인 퍼센트 즉, (rate of sample reaction/rate of control)× 100으로 표시하였다.[24)]

# Ⅲ. 결과 및 고찰

## 1. Compound 1의 구조

Compound 1은 백색의 분말상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 분홍색으로 발색된다. $^{1}$H-NMR data을 보면 δ 0.85(3H), 0.94 (3H)에 각각 H-18, 19에 기인하는 methyl group peak가 나타났고, δ 0.85(3H)에 H-21에 기인하는 methyl group peak가 *J* = 6.6 Hz의 doublet로 관찰되었다. 또한 $^{13}$C-NMR에서 29개의 carbon signal이 나타나고 있는 것으로 보아 sterol 계열의 화합물임을 예상할 수 있었으며, 특히 δ 71.4에서 hydroxyl group의 존재를 확인 하였으며 δ 121.7과 δ 140.7로부터 C-5와 C-6사이 이중결합의 존재를 확인하였다. EIMS에서는 분자이온이 m/z 414에서 나타났다. 이와 같은 모든 data를 종합하여 기존에 보고된 문헌치[4-7]와 비교하여 β-sitosterol로 확인 동정하였다.

## 2. Compound 2의 구조

Compound 2은 백색의 분말상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 갈색으로 발색된다. $^{1}$H-NMR data을 보면 δ 0.76 (3H), 0.82 (3H), 0.96 (3H), 0.98 (3H), 1.02(3H), 1.68 (3H)에서 6개의 angular methyl기가 singlet로, δ 3.17 (1H) 에서 1개의 secondary methyl기가 doublet of doublets(J = 11.5, 4.5 Hz)로 나타나고 있다. 또한 $^{13}$C-NMR에서 30개의 carbon signal이 나타나고 있는 것으로 보아 triterpenoid 계열의 화합물임을 예상할 수 있었으며, 특히 δ 78.9에서 hydroxyl group의 존재를 확인하였다.δ 1. 68(3H)에서 methyl group을 따라 δ 4.58, 4.68에서 2개의 proton이 Doublet으로 lupeol-type triterpene 계열의 화합물임을 예상할 수 있다. lupeol의 이중결합 δ 150.4, 109.6에서 화학적 이동이 관찰되었다. 각각 C-3과 C-28의 Oxygenated cabon shifts는 δ 78.9과 δ 60.5에서 관찰되었다. 이와 같은 모든 data를 종합하여 기존에 보고된 문헌치[5,8-9] 와 비교하여 20(29)-lupene-3,28-diol으로 동정하였다.

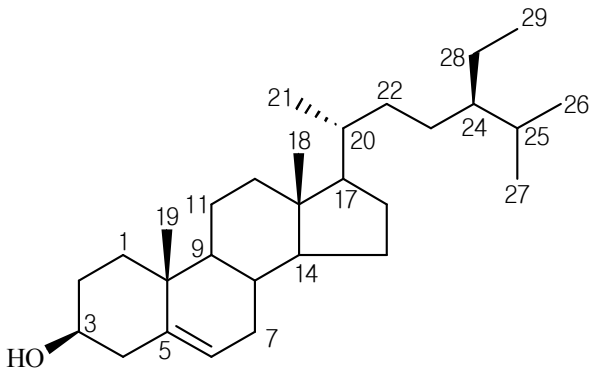
## 3. Compound 3의 구조

Compound 3은 백색의 분말상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 황색으로 발색된다. $^{1}$H-NMR data을 보면 δ6.31(2H, s, C-2,6) peak는 방향족환 proton으로 추정하였고, 당의 anomeric proton peak로 예상되는 δ4.71(1H, d, J=8.0Hz, Glc C-1)로 관찰되어 1개의 당이 존재함을 추정하였다. δ3.68(6H, s, 3,5-OMe)및 δ3.66(3H, s, 4-OMe)의 3개의 peak가 methyl group으로 존재함을 알 수 있었다. 당의 peak가 averlapping 되어 δ3.16-3.52 범위에서 관측 할 수 있었다. 또한 $^{13}$C-NMR에서 aromatic carbon은 δ153.2(C-1), 152.4(C-3,5), 131.7(C-4), 93.6(C-2,6) 에서 관찰하였고, 당의 chemical shift는 δ100.3(Glc C-1), δ76.3(Glc C-3), δ75.9(Glc C-5), δ72.5(Glc C-2), δ69.4(Glc C-4), δ60.2(Glc C-6) 등에서 관찰할 수 있었다. 이와 같은 모든 data를 종합하여 기존에 보고된 문헌치[10-13]와 비교하여 1-β-D-glucopyranosyloxy-3,4,5-trimethoxybenzenedm로 확인 동정하였다.

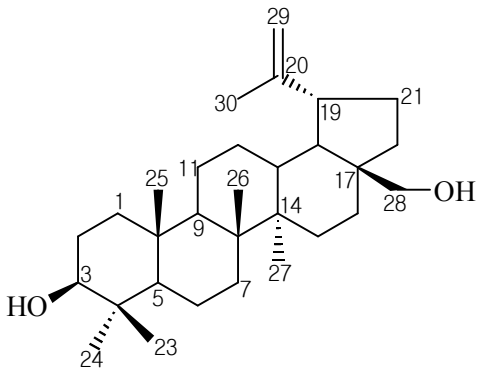
## 4. Compound 4의 구조

compound 4는 노란색의 oil상태의 화합물로서 10% 황산용액에 의하여 녹색으로 발색된다. $^{1}$H-NMR data을 보면 당의 anomeric proton peak로 예상되는 δ4.72, δ4.65 (brs)(1H, Rha $C_1$-H) 로 관찰되어 2개의 당이 존재함을 추정하였다. aliphatic proton 지역에서 δ1.20*, δ1.31(d, J=6.0 Hz)(3H, Rha-Me)이 관찰됨으로써 $^{1}$H-NMR 및 $^{13}$C-NMR 스펙트럼을 통해서 ±α-rhamnose이 존재함을 알 수 있었다. δ3.34(3H, s, 5-OMe), δ3.73(6H, s, 3',5'-OMe), δ3.85(3H, s, 3-OMe)의 peaks는 4개의 methyl groups들이 존재함을 알 수 있었다.

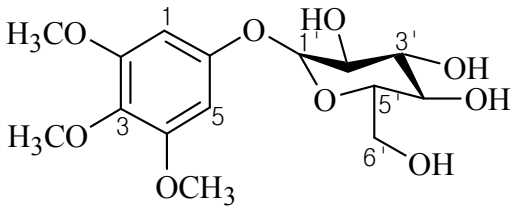
$^{13}$C-NMR 스펙트럼에서 2개의 lignan rhamnoside 거울상 이성질체로 혼합되어 나타남을 알 수 있었다. 이와 같은 모든 data를 종합하여 기존에 보고된 문헌치[5,14-20]와 비교하여 lyoniresinol-2a-O-α-L-rhamnopyranoside로 확인 동정하였다.



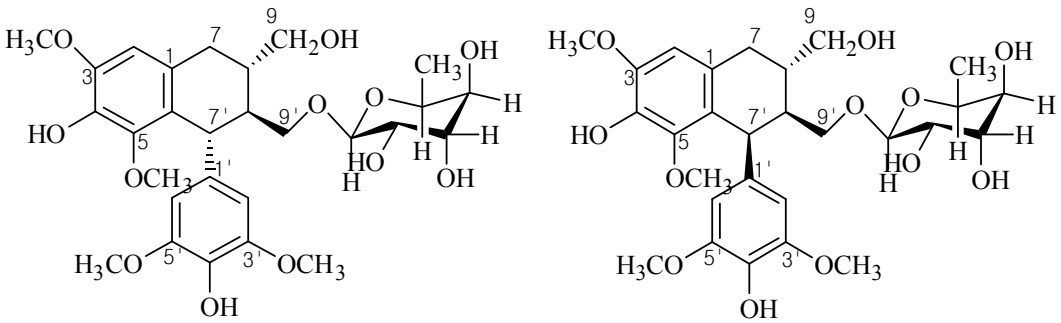

compound 1




compound 2




compound 3




compound 4

Fig. 1. Structures of compounds 1-4 isolated from *Chaenomeles sinensis* Koehne.

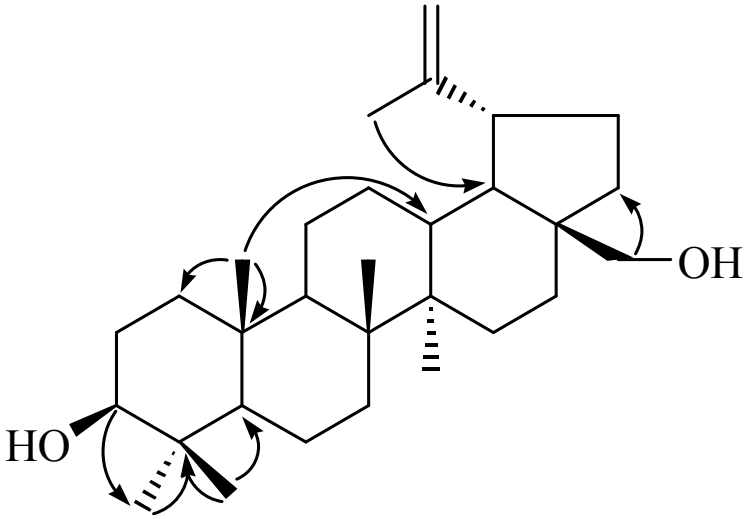



Fig. 2. Selected $^{1}H-^{13}C$ long-range correlations in HMBC spectrum of compound 2

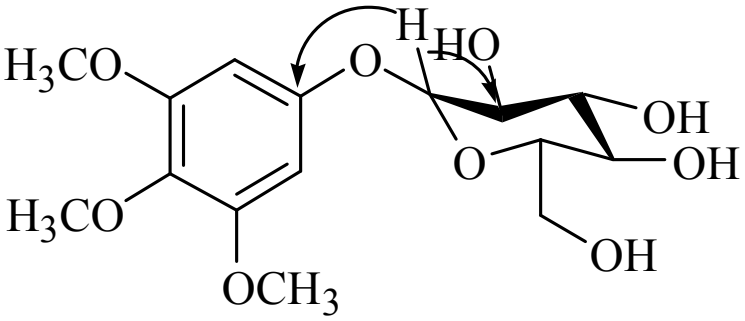



Fig. 3. Selected $^{1}H-^{13}C$ long-range correlations in HMBC spectrum of compound 3

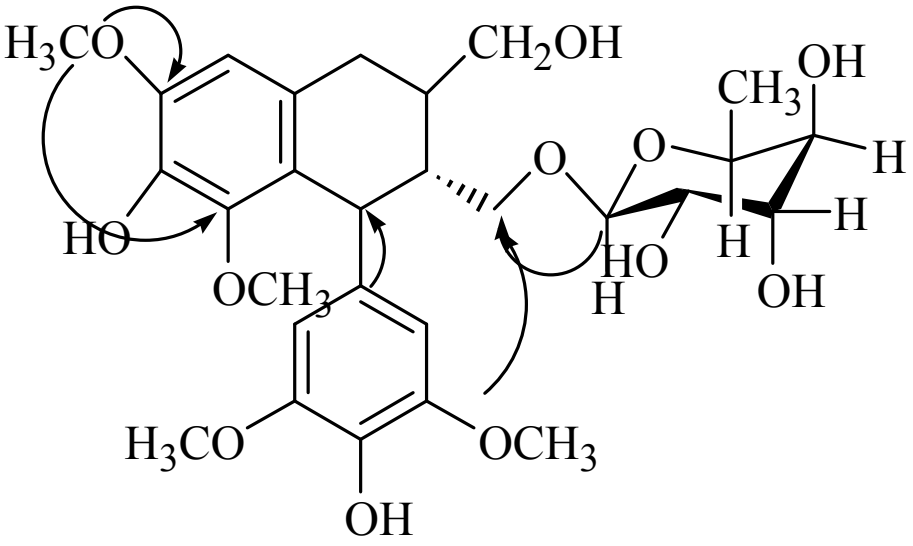



Fig. 4. Selected $^{1}H-^{13}C$ long-range correlations in HMBC spectrum of compound 4

## 5. 생리활성 결과

### 5-1.MG-63에서 hIL-6의 유리 확인

Compound 2, 3, 4에 대해 MG-63 세포에서 IL-6의 유리정도(%)를 검토하였다. 그 결과 Compound 2 에 대한 IL-6의 유리정도는 46.3±6.5 %로 나타났고, Compound 3 에 대한 IL-6의 유리정도는 39.6±2.3 %로 나타났으며 Compound 4 에 대한 IL-6의 유리정도는 36.8±4 %로 나타났다.(Table 1. Fig. 5.)

| Treatment | IL-6 (pg/ml) | Inhibition (%) |
|---|---|---|
| None | 10.6 ± 4.0 | - |
| TNF-α | 250.3±2.2 | - |
| Compound 2 (μM) | | |
| 10 | 185.2±0.8* | 26 |
| 25 | 172.9±2.0* | 30.9 |
| 50 | 137.3±1.7** | 45.2 |
| 100 | 92.2±1.3** | 63.2 |
| Compound 3 (μM) | | |
| 10 | 269.6±4.4 | - |
| 25 | 216.5±4.4 | 13.5 |
| 50 | 182.8±3.7 | 26.9 |
| 100 | 115.9±3.2** | 53.7 |
| Compound 4 (μM) | | |
| 10 | 277.45±3.8 | - |
| 25 | 236.7±3.2 | 5.5 |
| 50 | 188.1±2.3* | 24.9 |
| 100 | 99.1±1.8** | 60.4 |

MG-63 cell ($3\times10^4$) were incubated for 24hr. Culture were incubated with or without compounds for 30min and then stimulated with TNF-α (15ng/ml) for 24hr. IL-6 in the supernatant was measured by ELAISA as described in Materials and Methods. Results are expressed as the mean ± S.E. from three different experiments. *P<0.05or**P<0.01comparedwithTNF-α treated value.

Table 1. Inhibition effect of compound 2-4 on IL-6 production in TNF-α stimulated MG-63 cell

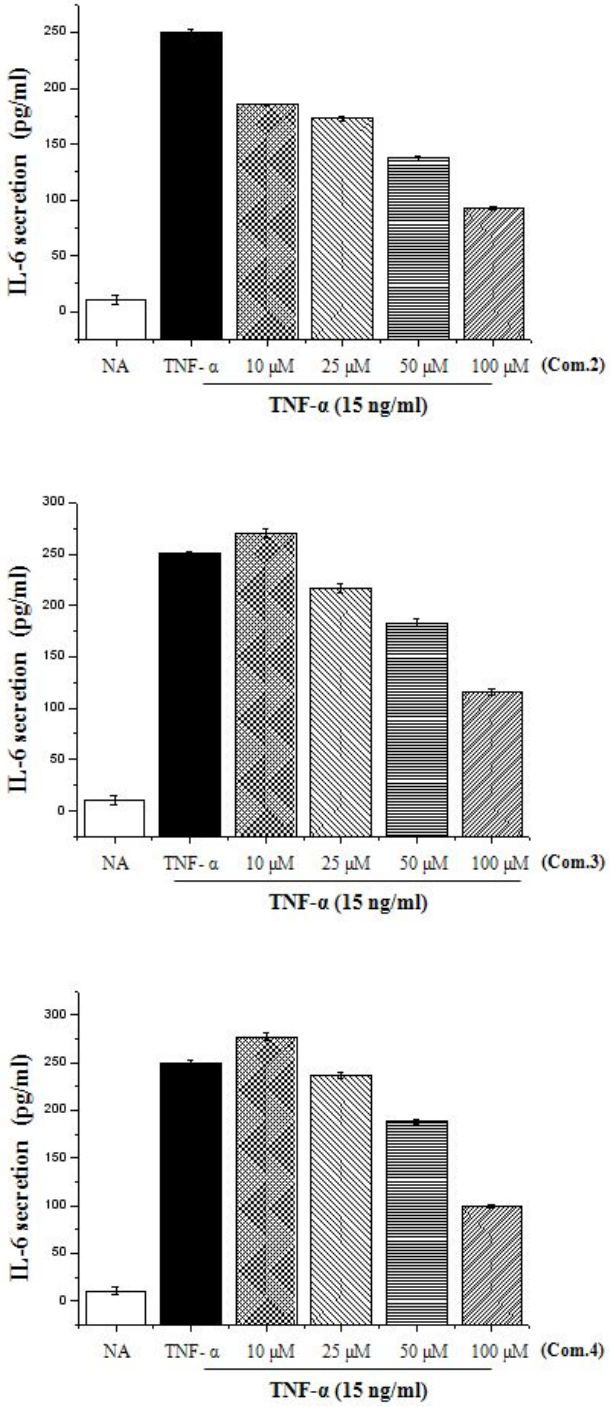



Fig. 5. Inhibition effect of compound 2-4 on IL-6 production in TNF-α stimulated MG-63 cell

# Ⅳ. 결 론

모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne.)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽 교목으로서 중국 원산지로 한국, 일본 등지에도 분포한다.

성분에 관한 연구를 보면 지금까지 모과나무에 대한 연구는 거의 열매에 대한 성분만 진행되였으며 maslinic acid, tormentic acid 등의 triterpenoid 계열 화합물들이 이미 보고 되었다. 모과나무 지상부에 대한 연구는 거의 이루어지지 않은 것으로 조사되어 모과나무에 존재하는 식물화학적 성분을 탐색하기 위하여 본 실험을 진행하였다.

모과나무 (*Chaenomeles sinensis* Koehne.) $CH_2Cl_2$ 분획과 n-BuOH 분획으로부터 Silica gel, Sephadex LH-20, MCI gel, PTLC를 이용한 column chromatography를 반복 실행하여 triterpenoid 1종과 sterols 1종, lignan 1종 그리고 aromatic 1종을 분리하였다. 분리된 화합물은 분광학적 분석방법과 화학적 기기분석, 및 표품, 그리고 문헌과의 비교를 토대로 하여 그 화학구조를 확인, 동정할수 있었다. 이 화합물들은 β-sitosterol (1), betulin (2), 1-β-D-glucopyranosyloxy-3,4,5-trimethoxybenzene (3), lyoniresinol-2a-O-α-L-rhamnopyranoside (4)로 각각 확인 동정하였다.

모과나무 지상부의 $CH_2Cl_2$층과 BuOH층 분획으로부터 분리한 화합물을 세포독성이 없는 농도에서 TNF-α에 의해 유도된 IL-6의 억제작용을 알아보고자 하여 MG-63 세포주를 이용한 IL-6의 유리, 억제 실험을 실시한 결과 compound 2,compound 3,compound 4는 IL-6의 유리를 억제하는 것으로 확인되었다. 따라서 compound 2,compound 3,compound 4는 염증 반응 및 IL-6의 과다 발현으로 인한 질병을 개선시키는 효과가 있을 것으로 판단된다.

# Ⅴ. 참 고 문 헌


1) 박종희.『한약백과 도감(상)』, 도서출판, 2002, p.245

2) 김태정.『한국의 자원식물 Ⅱ』, 서울대학교 출판부, 1996, p.179

3) 노승배, 장은하, 임광식. 모과로부터 산성 트리테르펜의 분리 및 동정. 약학회지. 39(6), 610-615 (1995)

4) Sanghyun Lee, Sun Ha Paek, Seung-Ki Kim, Bak-Kwang Kim, and Kuk Hy-un Shin. Triterpenoids from *Orostachys japonicus*. *Natural Product Sciences*. 10(6): 306-309 (2004)

5) Huiyuan Gao, Lijun Wu, Masanori Kuroyanagi, Kazunori Harada, Nobuo Kawahara, Takahisa Nakane, Kaoru Umehara, Ayako Hirasawa, and Yoshiyuki Nakamura. Antitumor-Promoting Constituents from *Chaenomeles sinensis* Koehne and Their Activities in JB6 Mouse Epidermal Cells. *Chem.Pham.Bull*. 51(11), 1318-1321 (2003)

6) Akihisa T., Ghosh P., Thakur S., Oshikiri S., Tamura T., Matsumoto T.. 24β-Methylcholesta-5, 22*E*, 25-trien-3β-ol and 24α-ethyl-5α-cholest-22*E*-en-3β-ol from *Clerodendrum Fragrans*. *Phytochemistry*. 27(1), 241-244 (1988)

7) Khan R. A., Singh A. K., Agrawal P. K.. Sitosterol sucroside from the suckers of *Mentha Arvensis*. *Phytochemistry.* 4(6), 1295-1296 (1997)

8) Wai-Haan Hui and Man-Moon Li. Triterpenoids of the sterms of six *Castanopsis* species of Hong Kong. Phytochemistry. 15, 427-429 (1976)

9) Bang Yeon Hwang, Hee-Byung Chai, Leonardus B. S. Kardono, Soedarsono Riswan, Norman R. Farnsworth, Geoffrey A. Cordell, John M. Pezzuto, A. Douglas Kinghorn. Cytotoxic triterpenes from the twigs og *Celtis philippinensis*. *Phytochemistry.* 62, 197-201 (2003)

10) 김도훈, 양민철, 이규하, 김기현, 이강노. 접시꽃뿌리의 페놀성 성분. 생약학회지. 38(3). 222-226 (2007)

11) Jaconnet O. Andrianaivoravelona, Chrisrian Terrea ux, Sevser Sahpaz, Jocelyne Rasolondrananitra, Kurt Hostettmann. A phenolic glycoside and N-(p-coumaroyl)-tryptamine from R*avensara anisata*. *Phytochemistry*. 52, 1145-114

8 (1999)

12) Konstantia Graikou, Nektarios Aligiannis, Ioanna Chinou, Alwxious-Leandros Skaltsounis, Francois Tillequin, and Marc Litaudon. Chemical Constituents from *Croton insularis*. Helvetica Chimica Acta. 88 (2005)

13) Shimomura H., Sashida Y., Oohara M., Tenma H., *Phytochemistry*. 27, 644-646 (1988)

14) Hostettler, F. D and Seikel, M K. *Tetrahedron*. 25, 2325 (1969)

15) Tanaka, O. *Yakugaku Zasshi*. 105, 323 (1985)

16) Kasai, R, Okihara, M., Asakawa, J., Mizutani, K and Tanaka, O. *tetrahedron*. 35, 1427 (1979)

17) Ietidal E. Mohamed, El Bushrq E. El Nur, Muhammad I. Choudhary and Shamsun N. Khan. Bioactive Natural Products from Two Sudanese Medicinal Plants Diospyros mespiliformis and Croton zambesicus. Rec. Nat. Prod. 3:4 198-203 (2009)

18) Tadahiro Yahagi, Yumiko Yamashita, Akihiro Daikonnya, Jin-bin Wu, and Susumu Kitanaka. New Feruloyl Tyramine Glycoside from Stephania hispidula Yamamoto. Chem. Pharm. Bull. 58(3), 415-417 (2010)

19) Siddiqui S., Hafeez F., Begum S., Siddiqui B. S., *J. Nat Prod.*, 51, 229-233 (1998)

20) N Kaneda, A. D. Kinghorn, N R. Farnsworth, P. Tuchinda, J. Udchachon, T. Santisuk and V Reutrakul. Two Diarylheptanoids and a Lignan from *Casuarina Junghuhniana*. Phytochemistry. 29(10), 3366-3368 (1990)

21) Mysliwice J., Kretowski A., Topolska J., Stepien A., Kinalska I. T-he influence of corticosteroids on IL-6/IL-6R system in patients w-ith graves ophthalmopathy. *Pol. Arch. Med. Wewn*. 108, 739-744, (2002)

22) Ragab A. A., Nalepka J. L., Bi Y., Breenfield E. M.. Cytokine synergistically induce osteoblast differentiation support by immortaliz-ed or normal calvarial cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol*. 283, 679-687, (2002).

23) Joo S. S., Kang H. C., Lee M. W., Choi Yo W. and Lee D. I.. Inhibition of IL-6 in osteoblast-like cell by isoflavones extracted from Sophorae fructus. Arch Pham Res. 26, 1029-1035, (2003)

24) Kim J. H., Cho Y. H., Park S. M.m Lee K. E., Lee J. J., Lee B. C., Pyo H. B., Song K. S., Park H. D. and Yun Y. P.. Antioxidants and inhibitor of m atrix metalloproteinase-1 expression from leaves of Zostera m-arina L. Ar ch. Pharm. Res. 27, 177-183, (2004)

# APPENDIX

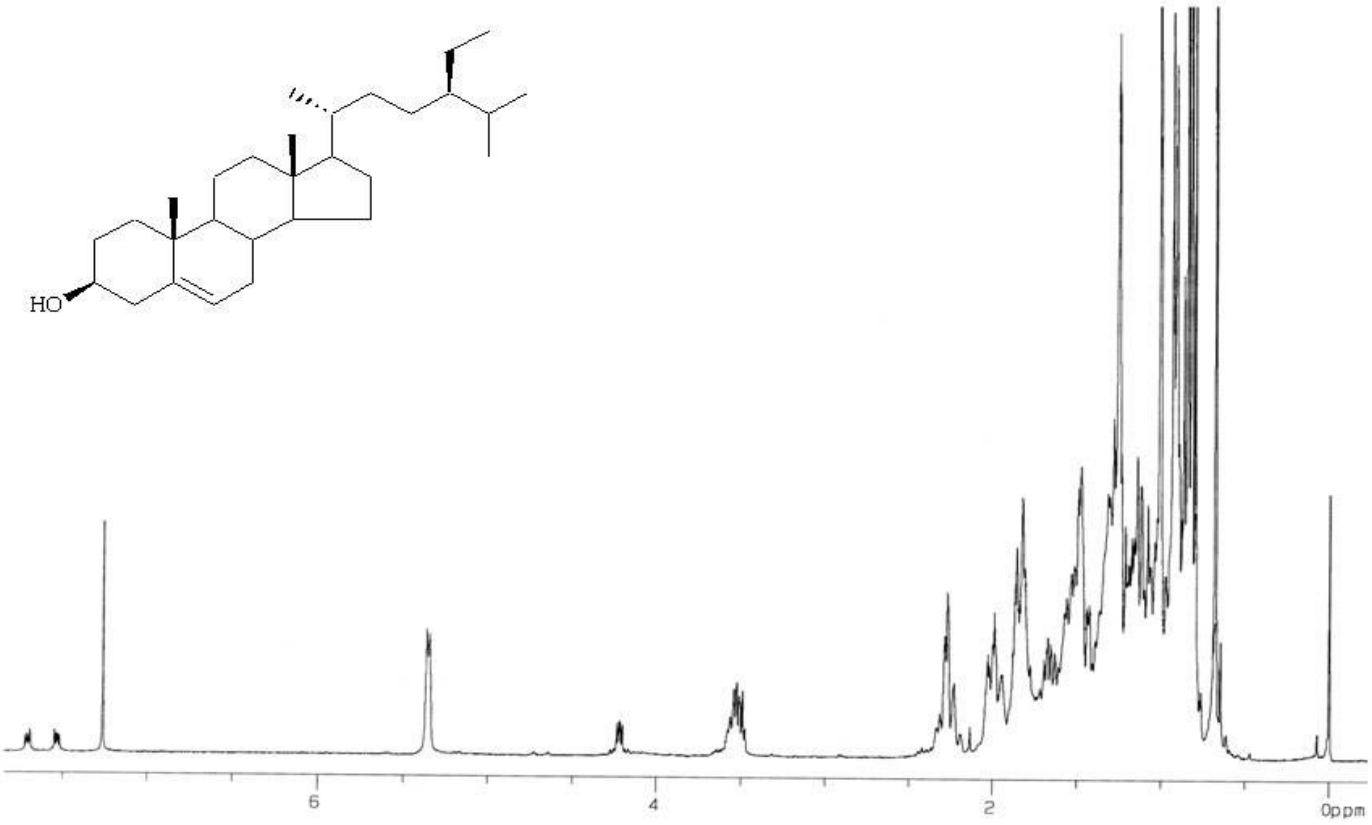



**Fig. 6. $^{1}$H-NMR spectrum of compound 1 (300MHz, $CDCl_3$)**

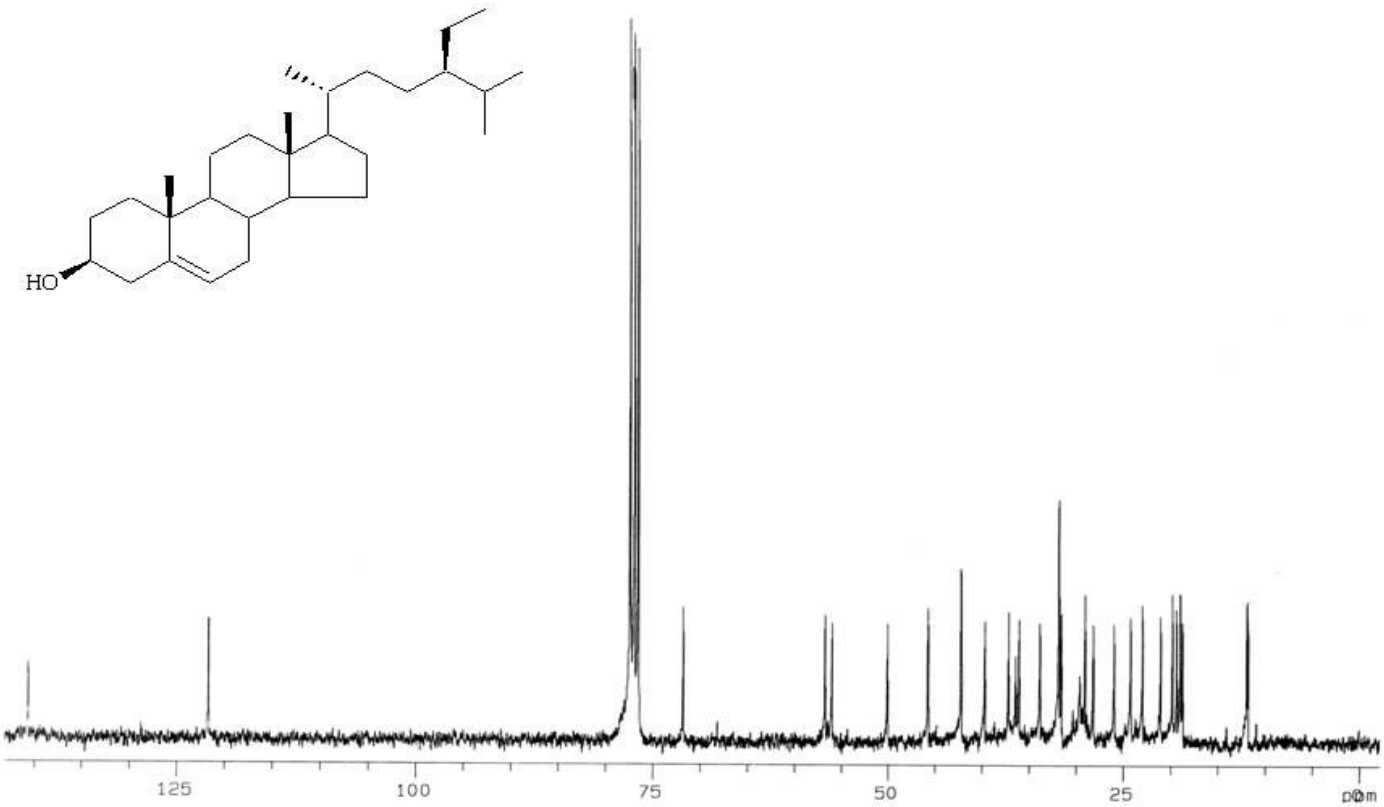



**Fig. 7. $^{13}$C-NMR spectrum of compound 1 (75MHz, $CDCl_3$)**

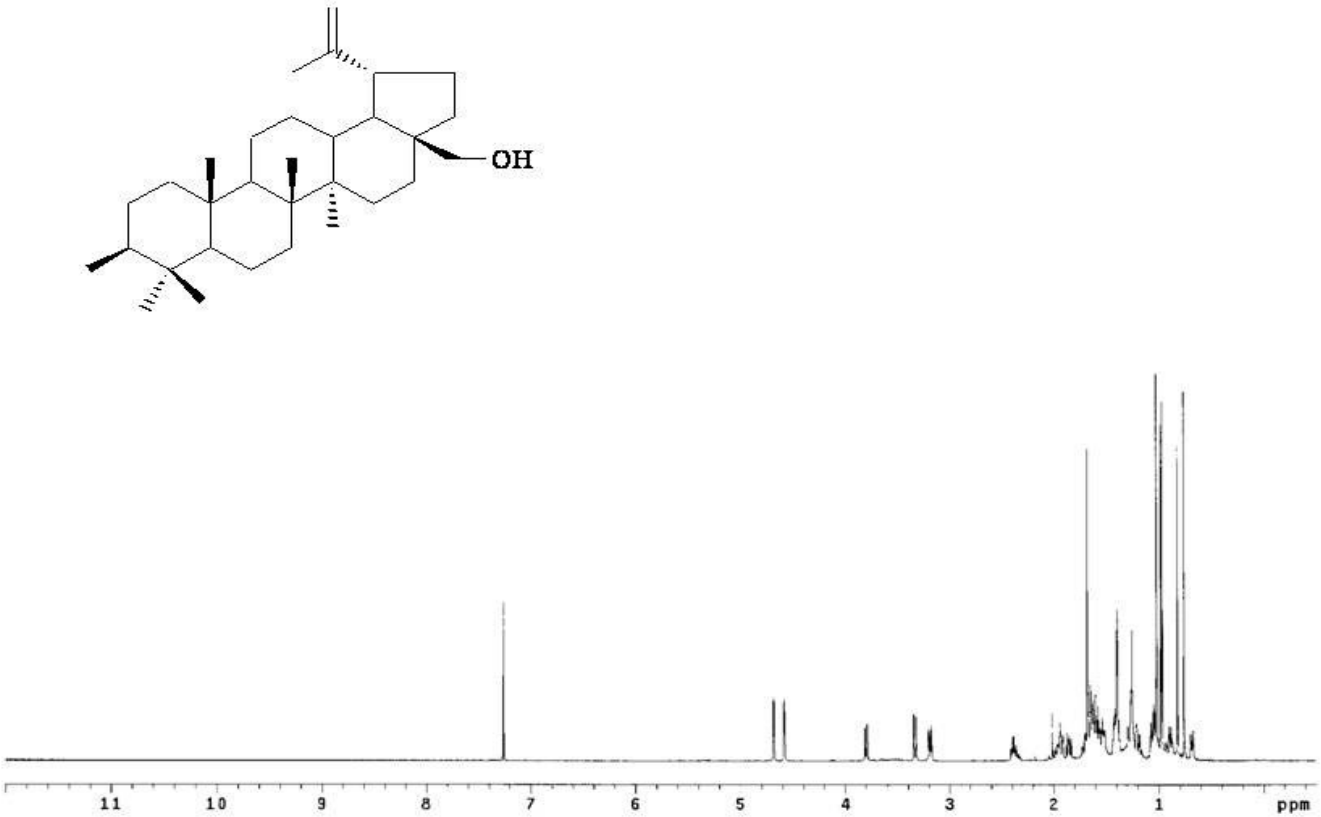



**Fig. 8. $^{1}$H-NMR spectrum of compound 2 (500MHz, $CDCl_3$)**

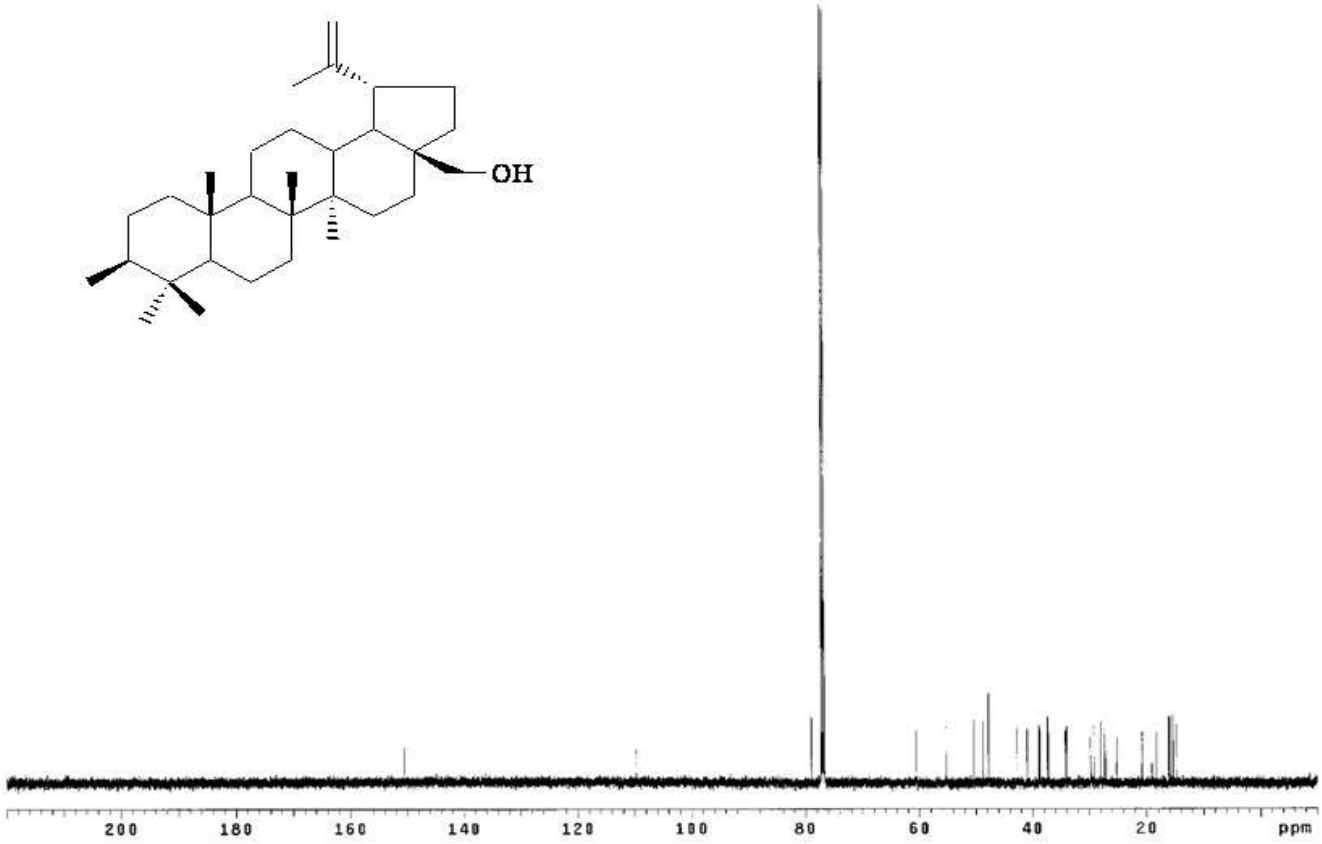



**Fig. 9. $^{13}$C-NMR spectrum of compound 2 (125MHz, $CDCl_3$)**

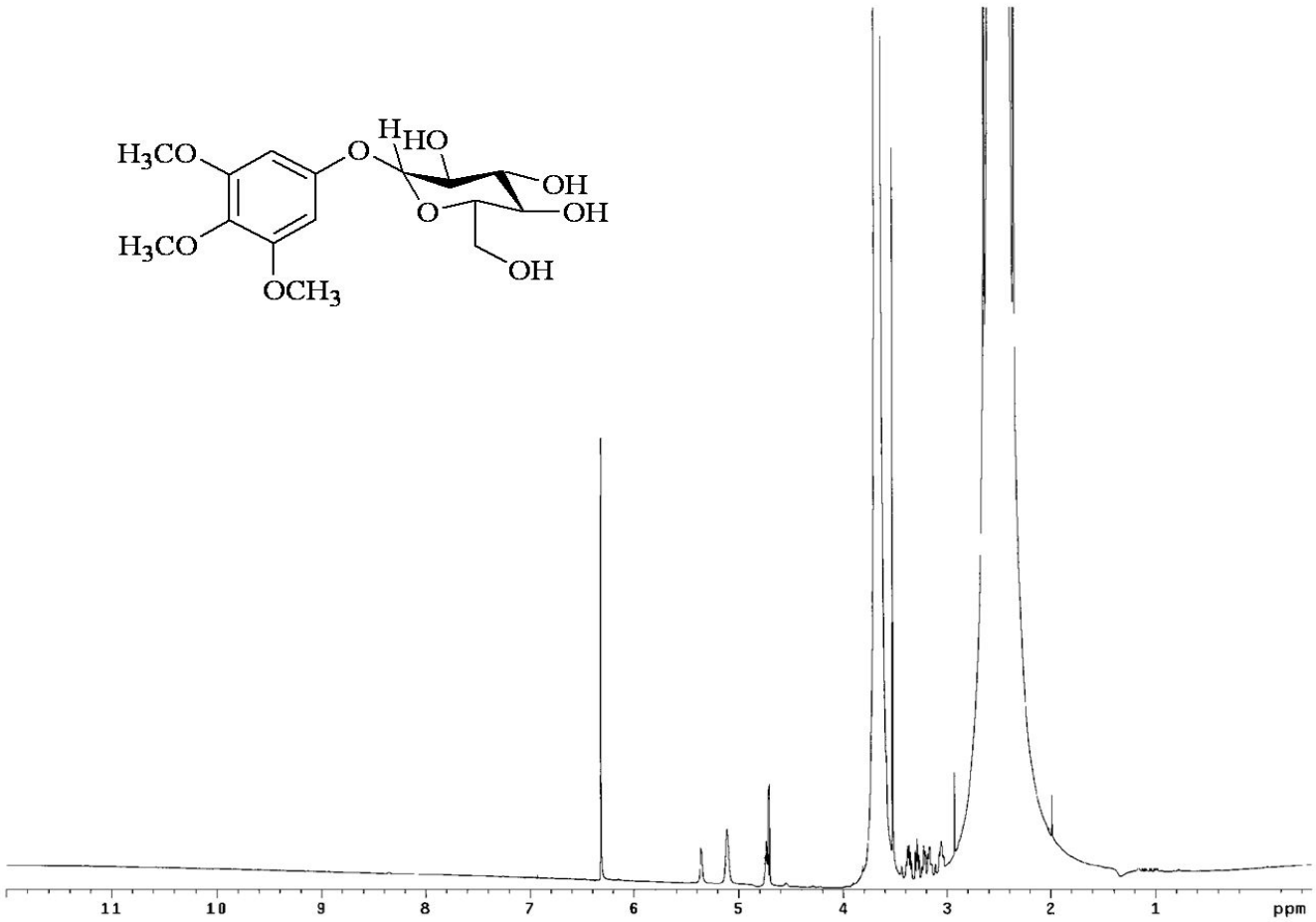



**Fig. 10. $^{1}$H-NMR spectrum of compound 3 (500MHz, DMSO-$d_6$)**

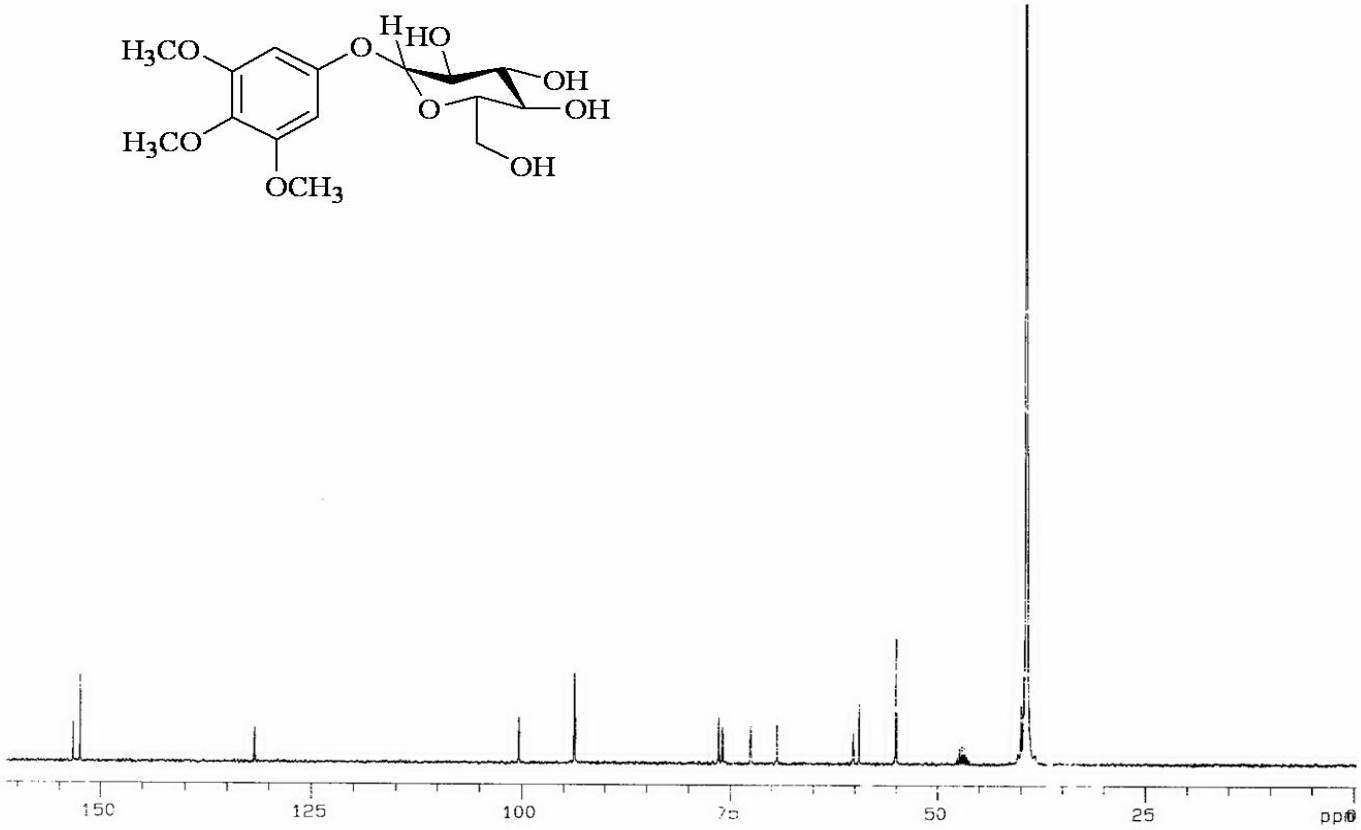



**Fig. 11. $^{13}$C-NMR spectrum of compound 3 (75MHz, DMSO-$d_6$)**

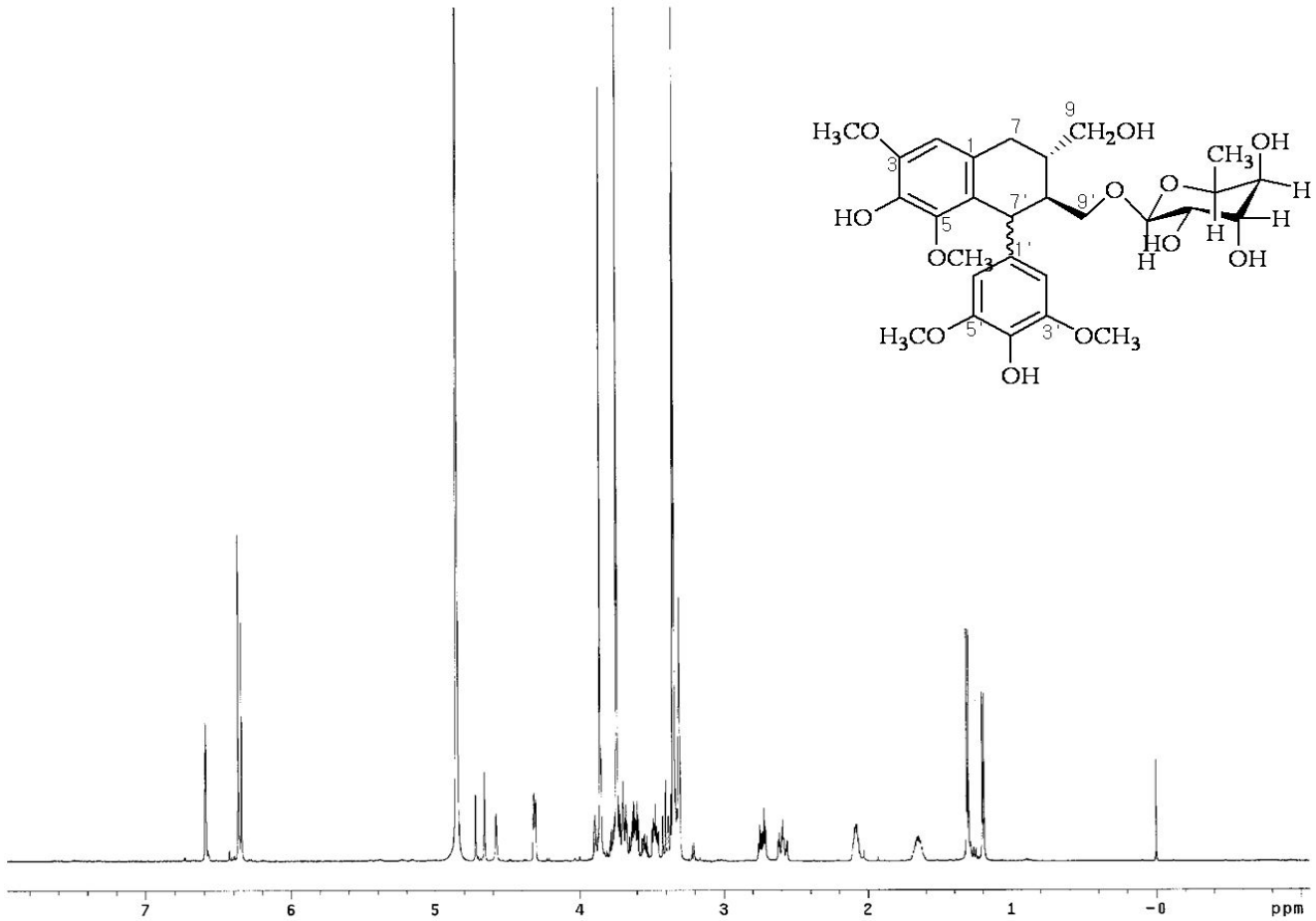



**Fig. 12. $^{1}$H-NMR spectrum of compound 4 (500MHz, $CD_3OD$)**

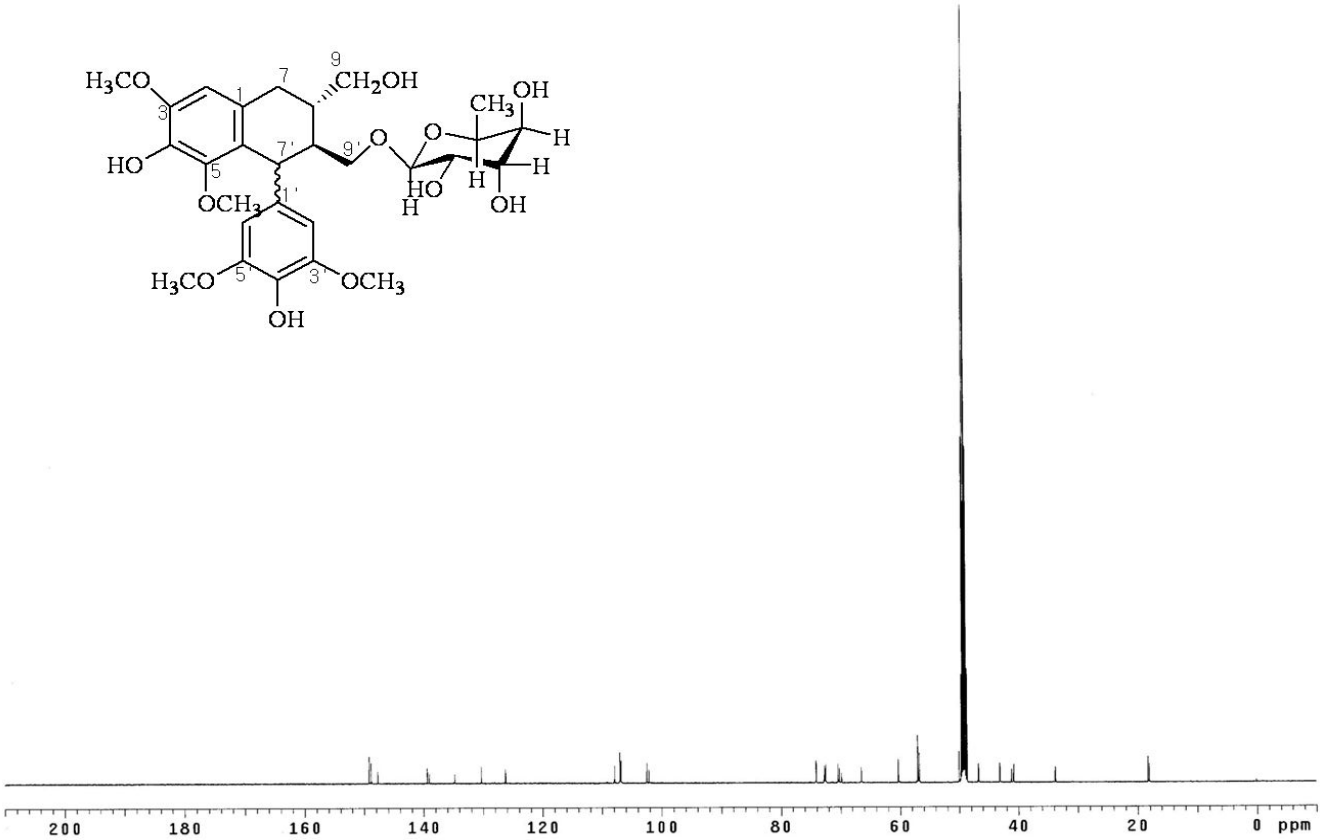



**Fig. 13. $^{13}$C-NMR spectrum of compound 4 (125MHz, $CD_3OD$)**

# 감사의 글

길다면 길고 짧다면 짧을 수 있는 석사 과정 2년 동안 참 많은 일들을 겪고, 보아오면서 이 자리까지 올 수 있었습니다. 이곳에서 좋은 사람들을 만나 행복한 시간들을 보냈고, 제가 한 층 더 성장하고 성숙 할 수 있었던 소중한 시간을 보냈습니다.

2년 동안 저를 자식처럼 따뜻한 사랑과 포옹으로 감싸 주시고 때론 보다 나은 길로 인도하기 위해 사랑의 채찍과 조언을 해주신 저의 지도교수님 우은란 교수님께 감사의 말씀을 전하고 싶습니다. 교수님의 지도하에 많은 걸 배우고 마치게 되어 영광스럽습니다. 그리고 바쁘신 와중에서 저의 석사논문 심사를 해주시느라 수고하신 심사위원장이신 오원근 교수님과 심사위원이신 홍준희 교수님께 감사의 말씀을 전합니다. 또한 석사과정 때 저에게 많은 지식을 갖도록 가르쳐 주신 약대 모든 교수님들께 감사의 말씀을 전합니다.

그리고 석사과정 동안 가족보다 더 많이 보고 생활한 정말 한 가족이나 다름없는 실험실 식구들에게 감사의 말을 전하고 싶습니다. 우선 아무것도 모르는 저에게 처음부터 지금까지 많이 가르쳐주고 정말 친오빠처럼 대해준 청룡이 오빠, 철없이 행동해도 이해해주고 힘든 일도 마다않고 도와주면서 챙겨줘서 정말 고맙습니다. 또 저보다 1년 늦게 들어와 한국이라는 나라가 적응하기 힘들었을 홍광이 오빠, 제가 뭘 물어보아도 항상 다정하게 대해줘서 고맙습니다. 그리고 저와 비슷하게 들어온 친절한 BK 유희언니, 언니가 없었으면 여자 혼자라 많이 외로웠을 텐데 항상 말동무도 되어주고 가끔 저의 실험도 도와줘서 고맙습니다.

지금은 실험실에 없지만 맏언니였던 은진이 언니, 지금의 제가 있기까지 언니의 도움이 정말 컸습니다. 정말 친언니처럼 잘해주고, 제가 바른 길도 가도록 조언을 많이 해줬습니다. 지금 다른 곳에 있지만 그 곳에서 항상 좋은 일만 가득하실 거라 믿습니다.

그리고 우리 가족. 저를 낳아서 이렇게 성장할 수 있도록 뒷바라지 해주신 부모님께 감사드리고, 저를 데리고 살면서 고생 많은 셋째 언니께 고맙다는 말을 전합니다. 그리고 큰언니, 둘째언니, 울 막내한테도 항상 든든한 지원자가 되어줘서 고맙다고 전하고 싶습니다. 마지막으로 윤아오빠, 항상 옆에서 지켜주면서 저의 투정들을 다 받아줘서 고맙습니다. 오빠의 진심어린 조언과 충고 잊지 않고 새겨듣겠습니다. 그리고 사랑합니다.

2010년 11월 석사과정을 마치며...

신지은 올림.

# 저작물 이용 허락서

| 학 과 | 약학과 | 학 번 | 20097135 | 과정 | 석 사 |
|---|---|---|---|---|---|
| 성 명 | 한글 신지은 | 한문 申知恩 | 영문 Shin Ji-Eun | | |
| 주 소 | 광주광역시 조선대학교 약학대학 생약학 실험실 | | | | |
| 연락처 | E-mail : qufqlcdudn@nate.com | | | | |
| 논문제목 | 한글 : 모과나무(*Chaenomeles sinensis* Koehne.)의 화학 성분과 IL(interleukin)-6의 저해 효과 | | | | |
| | 영문 : Phytochemical constituents isolate from *Chaenomeles sinensis* Koehne and their inhibitory effects on IL(interleukin)-6 | | | | |

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

**동의여부 : 동의( O ) 반대( )**

2011년 2월

저작자: 신지은 (인)

# 조선대학교 총장 귀하