

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2021년 3월 4일 (04.03.2021)



(10) 국제공개번호
WO 2021/040333 A1

(51) 국제특허분류:

C07C 49/235 (2006.01) A61K 31/12 (2006.01)
C07C 49/213 (2006.01) A61K 31/045 (2006.01)
C07C 49/163 (2006.01) A61K 31/085 (2006.01)
C07C 49/172 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2020/011180

(22) 국제출원일: 2020년 8월 21일 (21.08.2020)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2019-0103522 2019년 8월 23일 (23.08.2019) KR

(71) 출원인: 고려대학교 세종산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION, SEJONG CAMPUS) [KR/KR]; 30019 세종시 조치원읍 세종로 2511, Sejong (KR). 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 02841 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).

(72) 발명자: 변영주 (BYUN, Youngjoo); 30019 세종시 조치원읍 세종로 2511, Sejong (KR). 박희등 (PARK, Hee De-

ung); 13616 경기도 성남시 분당구 정자일로 27, 1402호, Gyeonggi-do (KR). 남상진 (NAM, Sangjin); 30019 세종시 조치원읍 세종로 2511, Sejong (KR). 손상현 (SON, Sang-Hyun); 30019 세종시 조치원읍 세종로 2511, Sejong (KR). 함소영 (HAM, So Young); 13628 경기도 성남시 분당구 미금로 177, 301동 402호, Gyeonggi-do (KR). 김한신 (KIM, Han Shin); 15010 경기도 시흥시 배곧4로 106-26 1014동 803호, Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 특허법인 다해 (DAHAI INTERNATIONAL PATENT & LAW FIRM); 06732 서울시 서초구 서운로 13, 502호, Seoul (KR).

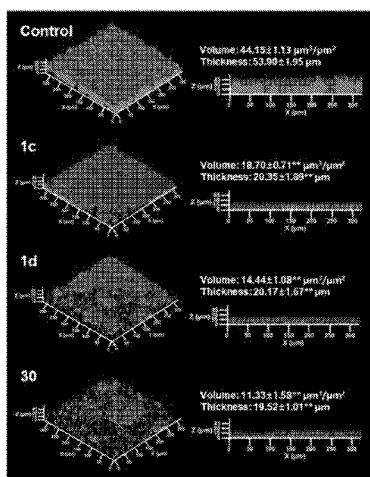
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING BACTERIAL INFECTIOUS DISEASE COMPRISING 4-GINGEROL DERIVATIVE COMPOUND AS ACTIVE INGREDIENT

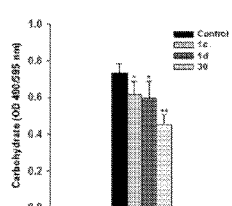
(54) 발명의 명칭: 4-진저롤 유도체 화합물을 유효성분으로 포함하는 세균 감염병의 예방 또는 치료용 조성물

[도 8]

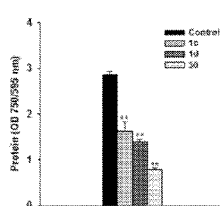
(A)



(B)



(C)



(57) Abstract: The present invention relates to a 4- gingerol derivative compound, or a racemate, isomer, or pharmaceutically acceptable salt thereof, the compound being capable of inhibiting biofilm formation and production of virulence factors. The 4- gingerol derivative compound according to the present invention has binding affinity to RhIR and corresponding RhIR antagonism activity that are significantly improved, and therefore can effectively inhibit biofilm formation and production of virulence factors. Furthermore, various bacterial infectious diseases caused by biofilms can be fundamentally prevented or treated by using a pharmaceutical composition comprising the 4- gingerol derivative compound, or a racemate, isomer, or pharmaceutically acceptable salt thereof as an active ingredient.

(57) 요약서: 본 발명은 바이오필름(biofilm) 형성 및 독성 인자(virulence factor) 생산을 억제할 수 있는 4-진저롤(4- gingerol) 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 4-진저롤 유도체 화합물은 RhIR에 대한 결합 친화성과 그에 따른 RhIR 길항 활성(antagonism activity)이 현저히 향상되었는바, 바이오필름 형성 및 독성 인자 생산을 효과적으로 억제할 수 있을 뿐만 아니라, 상기 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 이용하여 바이오필름에 의해 유발되는 각종 세균 감염병을 근본적으로 예방하거나 치료할 수 있다.

[다음 쪽 계속]



(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))

명세서

발명의 명칭: 4-진저롤 유도체 화합물을 유효성분으로 포함하는 세균 감염병의 예방 또는 치료용 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 바이오필름 형성 및 독성인자 생산을 억제할 수 있는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염 등에 관한 것이다.

[2]

배경기술

- [3] 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*)은 면역결핍증 환자들에게 만성 질환을 유도하는 인간 병원균(human pathogen)으로서, 화상 상처 감염(infections in burn wound), 낭포성 섬유증(cystic fibrosis), 급성 백혈병(acute leukemia), 기관 이식(organ transplantation), 정맥 주사 마약 중독(intravenous drug addiction)을 유발한다. 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에 따르면, 녹농균은 세심한 주의가 요구되는 중요한 병원균 중 하나로서, 대부분 두꺼운 바이오필름(biofilm)을 형성하기 때문에 평범한 항생제에 대해서는 내성을 가지며, 구체적으로 자가 생산된 엑소폴리사카라이드(self-produced exopolysaccharides)로 덮인 바이오필름의 형태로 다양한 표면에 대량 서식한다. 바이오필름은 의학적, 치과의학적, 농업적, 산업적, 및 환경적으로 광범위하게 발견되며, 특히 의학적으로 바이오필름은 인간의 세균 감염에 약 80% 연관되어 있으며, 항생제 내성을 증가시킨다.

[4]

- [5] 정족수 인식(Quorum sensing, QS)은 화학적 신호 분자(chemical signal molecule)를 통한 세균의 세포-세포 의사소통(bacterial cell-to-cell communication) 과정이며, 세균이 환경 변화에 대응하여 서로 정보를 공유할 수 있도록 한다. 세균 밀도(bacterial density)가 특정 한계치에 도달하면 화학적 신호 분자는 공동 행동(collective behaviors)을 조절하기 위해 그들의 인지체 수용체(cognate receptor) 단백질과 결합하고, 유전자 발현을 변화시킨다. 녹농균은 세 가지 주요 QS 시스템을 가지며, 이들은 서로 단단하게 연결된다. 녹농균을 포함한 그람음성균은 AHLs(N-acyl L-homoserine lactones)을 QS 시스템의 신호 분자로 사용한다. 전형적으로, AHLs는 LuxI형 합성효소(예: LasI 및 RhII)에 의해 생산되고, 세포질의 LuxR형 수용체(예: LasR 및 RhIR)에 의해 인식된다. LasI 및 RhII는 각각 신호 분자로서 OdDHL(N-(3-oxo-dodecanoyl)-L-homoserine lactone, 화합물 **1a**) 및 BHL(N-butyryl-L-homoserine lactone, 화합물 **1b**)을 생산한다(도 1). *pqs* 회로(*pqs* circuit)는 QS의 세 번째 시스템으로서, *pqsR*에 의해 인식되는 PQS(*Pseudomonas* quinolone signal)을 통해 조절된다. 상기 세 가지 시스템은

계급적으로 조절된다. *las* 시스템이 *rhl* 및 *pqs* 시스템을 활성화하고, *rhl* 시스템이 *pqs* 시스템을 억제한다. 이러한 녹농균의 상호적인 신호-네트워크 조절은 바이오필름을 형성하고, 독성 인자(virulence factor)를 생산하며, 숙주 면역 반응을 조절하도록 유도한다.

[6]

[7] 대부분의 녹농균의 QS 시스템 저해제는 LasR을 타겟하는데 집중하는데, 이는 *las* 시스템이 신호적으로 녹농균의 QS 시스템의 가장 상위에 위치하기 때문이다. 반면, *rhl*은 QS 시스템에서 중요한 역할임에도 불구하고, RhIR 조절제(modulator)에 대해서는 거의 보고되지 않았다. 최근 BHL과 RhIR간 상호작용의 조절제로서 효현제(agonist) 또는 길항제(antagonist)가 일부 보고된 바 있다. 일례로, RhIR 효현 활성을 가진 BHL 유사체가 피오사이아닌(pyocyanin)과 같은 녹농균의 독성 인자 생산을 감소시킨다는 점과 피오사이아닌 생산을 증가시키는 LasR/RhIR 길항제 혼합물이 개시되었다. 또한, BHL-독립적인 *rhlR* 변이체를 이용한 실험에서, RhIR이 녹농균에서 바이오필름 형성 및 독성인자 생산을 유도한다는 점이 밝혀졌다.

[8] 한편, 본 발명자들은 이전 연구에서 생강에서 추출한 (S)-6-진저롤(화합물 1c, 도 1)이 바이오필름 형성, 독성인자 생산, 및 QS 관련 유전자 발현을 감소시킨다는 점에서 녹농균의 LasR 길항제가 될 수 있음을 밝힌 바 있다.

[9] 전술한 기술적 배경 하에서, 본 발명자들은 진저롤 유사체에 대한 구조-활성 관계(structure-activity relationship, SAR)를 연구하던 중, (S)-6-진저롤보다 짧은 알킬 사슬을 가진 진저롤이 구조적으로 BHL과 유사하기 때문에 RhIR에 더 잘 결합한다는 점을 확인하고, 순수한 RhIR 길항제로서 진저롤 유사체의 디자인, 합성, 및 생화학적 특성을 고려하여 광범위하게 화학적 구조를 변형함으로써 바이오필름 형성 및 독성인자 생산을 저해하는 강력한 RhIR 길항제를 포함하는 본 발명을 완성하였다.

[10]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[11] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 바이오필름 형성 및 독성인자 생산을 억제할 수 있는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 제공하는 것이다.

[12] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이오필름 형성 억제용 조성물을 제공하는 것이다.

[13] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 세균 감염병의 예방, 치료, 또는 진단용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

- [14] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

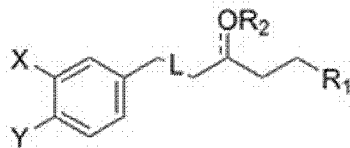
[15]

과제 해결 수단

- [16] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 하기 [화학식 1]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[17] [화학식 1]

[18]



- [19] 본 발명의 일 구현 예로서, 상기 [화학식 1]에서, X 및 Y는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠기, 알킬기, 하이드록실기, 및 O-R', NR'R' 중에서 선택되는 어느 하나이고, 상기 R'는 탄소수 1 내지 2의 알킬기이며, 상기 R₁는 탄소수 1 내지 3의 알킬기일 수 있고, 상기 "는 단일결합 또는 이중결합이고, 상기 "가 이중결합인 경우, OR₂는 O이고, 상기 "가 단일결합인 경우, OR₂는 OH이며, 상기 L은 단일결합, 이중결합, 및 삼중결합 중에서 선택되는 어느 하나인 것일 수 있다.

- [20] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 진저롤 유도체 화합물의 이성질체는 (R)-배열((R)-configuration) 및 (S)-배열((S)-configuration)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

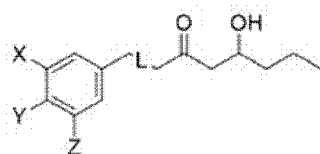
- [21] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 진저롤 유도체 화합물의 이성질체는 (E) 이성질체 또는 (Z) 이성질체로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[22]

- [23] 또한, 본 발명은 하기 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 제공한다.

[24] [화학식 2]

[25]



- [26] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 [화학식 2]에서, X, Y, 및 Z는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠기, 알킬기, 하이드록실기, 및 O-R', NR'R' 중에서 선택되는 어느 하나이고, 상기 R'는 탄소수 1 내지 2의 알킬기이며, 상기 L은 단일결합 또는 이중결합일 수 있다.

[27] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 [화학식 2]로 표시되는 진저롤 유도체는 하기 X, Y, 및 Z 조합 중에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[28] (1) X = OMe, Y = OH, Z = H

[29] (2) X = H, Y = H, Z = H

[30] (3) X = OMe, Y = H, Z = H

[31] (4) X = H, Y = OH, Z = H

[32] (5) X = OH, Y = H, Z = H

[33] (6) X = H, Y = OMe, Z = H

[34] (7) X = H, Y = F, Z = H

[35] (8) X = H, Y = Cl, Z = H

[36] (9) X = H, Y = Me, Z = H

[37] (10) X = H, Y = NMe₂, Z = H

[38] (11) X = OH, Y = OH, Z = H

[39] (12) X = OMe, Y = OMe, Z = H

[40] (13) X = F, Y = OH, Z = H

[41] (14) X = OEt, Y = OH, Z = H

[42] (15) X = F, Y = F, Z = H

[43] (16) X = Me, Y = Me, Z = H

[44] (17) X = OMe, Y = F, Z = H

[45] (18) X = F, Y = H, Z = OMe

[46]

[47] 또한, 본 발명은 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 바이오필름 형성 억제용 조성물을 제공한다.

[48] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 바이오필름은 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 살모넬라균(*Salmonella spp*), 적리균(*Shigella spp*), 장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*), 콜레라균(*Vibrio cholerae*), 대장균 O-157(*Escherichia coli* O-157), 캄필로박터(*Campylobacter jejuni*), 위막성 대장염균(*Clostridium difficile*), 웰치균(*Clostridium perfringens*), 엘시니아 장염균(*Yersinia enterocolitica*), 피로리균(*Helicobacter pylori*), 아메바 적리균(*Entamoeba histolytica*), 세레우스균(*Bacillus cereus*), 보툴리누스균(*Clostridium botulinum*), 인플루엔자균(*Haemophilus influenzae*), 폐렴구균(*Streptococcus pneumoniae*), 클라미디아 폐렴균(*Chlamidia pneumoniae*), 레지오넬라 폐렴균(*Legionella pneumoniae*), 부란하멜라균(*Branhamella catarrhalis*), 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코플라즈마(*Mycoplasma pneumoniae*), A형 용련균(*Streptococcus pyogenes*), 디프테리아균(*Corynebacterium diphtheriae*), 백일해균(*Bordetella pertussis*), 움병균(*Chlamidia psittaci*), 메티실린 내성 황색 포도상 구균(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 대장균(*Escherichia coli*), 폐렴 간균(*Klebsiella*

pneumoniae), 엔테로박터(*Enterobacter spp*), 프로테우스속(*Proteus spp*), 아시네토박터(*Acinetobacter spp*), 장구균(*Enterococcus faecalis*), 포도상 구균(*Staphylococcus saprophyticus*), B형 용련균(*Streptococcus agalactiae*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 균에 의해서 형성되는 것일 수 있다.

[49] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 4-진저롤 유도체 화합물은 BHL과 구조적으로 유사하여 RhIR 결합 친화성을 가진 것으로서, 상대적인 RhIR 길항 활성이 높아 바이오필름 형성 및 독성 인자 생산을 억제할 수 있는 것을 포함한다.

[50] 또한, 본 발명은 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 세균 감염병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[51] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 세균 감염병은 낭포성 섬유증, 폐렴, 충치, 치주염, 중이염, 근골격 감염, 괴사성 근막염, 담관계 감염, 골수염, 세균성 전립선염, 자연 판막의 심내막염, 멜로이도시스 (meloidosis), 병원내 감염 (nosocomial infection), ICU 폐렴, 요로 카테터 방광염 (urinary catheter cystitis), 복막 투석 (CAPD) 복막염 및 담도배액관 폐쇄 (biliary stent blockage)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 감염증일 수 있다.

[52] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 4-진저롤 유도체 화합물은 람노리피드(rhamnolipid) 합성 유전자로서 *rhIA*를 하향조절함으로써 바이오필름 형성 및 독성인자 생산을 억제한다.

[53] 또한, 본 발명은 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 세균 감염병 예방 또는 치료방법을 제공한다.

[54]

발명의 효과

[55] 본 발명은 바이오필름(biofilm) 형성 및 독성 인자(virulence factor) 생산을 억제할 수 있는 4-진저롤(4-gingerol) 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염에 관한 것으로서, 본 발명에 따른 4-진저롤 유도체 화합물은 RhIR에 대한 결합 친화성과 그에 따른 RhIR 길항 활성(antagonism activity)이 현저히 향상되었는바, 바이오필름 형성 및 독성 인자 생산을 효과적으로 억제할 수 있을 뿐만 아니라, 상기 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물을 이용하여 바이오필름에 의해 유발되는 각종 세균 감염병을 근본적으로 예방하거나 치료할 수 있다.

[56]

도면의 간단한 설명

- [57] 도 1은 녹농균의 정족수 인식(Quorum sensing, QS) 수용체와 상호작용하는 내생적인 분자(endogenous molecule) 및 합성 분자(synthetic molecule)의 구조를 나타낸 것이다.
- [58] 도 2는 4-진저롤 유도체 화합물 **23a-23c**의 카이랄 분해능(chiral resolution)을 나타낸 것이다.
- [59] 도 3은 카이랄 HPLC 결과로서, 3,4-difluorophenyl 유도체 (A) 화합물 **33a-33c**, (B) 화합물 **34a-34c**, 및 (C) 화합물 **35a-35c**의 카이랄 분해능(chiral resolution)을 나타낸 것이다.
- [60] 도 4는 RhIR 상동 모델(homology model)과 함께 화합물 **30**(노랑) 및 화합물 **1d**(분홍)의 도킹 포즈(docked pose)를 나타낸 것이다. 빨강 및 검정 점선은 각각 p-p stacking 및 수소결합 상호작용을 나타낸다.
- [61] 도 5는 RhIR 상동 모델(homology model)과 함께 알키닐 케톤(alkynyl ketones) (화합물 **30-32**)의 도킹 포즈(docked pose)를 나타낸 것이다. (A)는 화합물 **30**의 도킹 포즈, (B)는 화합물 **31**의 도킹 포즈, (C)는 화합물 **32**의 도킹 포즈를 나타낸다.
- [62] 도 6은 화합물 **1c**, **1d**, **12a**, 및 **30**의 *in vitro* 생물학적 활성을 나타낸 것이다. DMSO는 음성 대조군, 화합물 **1c**, **1d**, 및 **12a**는 양성 대조군으로 사용되었다. (A)는 상대적인 RhIR 활성 용량-반응 곡선(dose-response curve)을, (B)는 화합물의 0.1 및 10 μM 각각에서의 상대적인 QS 수용체(LasR 및 PqsR) 효현 활성을, (C)는 화합물의 0.1 및 10 μM 각각에서의 상대적인 QS 수용체(LasR 및 PqsR) 길항 활성을, (D)는 화합물의 10 또는 100 μM 에서의 녹농균의 정적 바이오필름 형성을 나타낸 것이다. ((**)) 대조군 대비 $P < 0.005$ 및 (*) 대조군 대비 $P < 0.05$ 를 나타낸다.)
- [63] 도 7은 정적 조건(static condition)에서 10 또는 100 μM 의 화합물 **1c**, **1d**, **12a**, 및 **30**을 처리했을 때 녹농균의 성장을 나타낸 것이다. DMSO가 음성 대조군(C)으로, 화합물 **1c**, **1d**, 및 **12a**가 양성 대조군으로 사용되었다. ((**)) 대조군 대비 $P < 0.005$ 및 (*) 대조군 대비 $P < 0.05$ 를 나타낸다.)
- [64] 도 8은 10 μM 의 화합물 **1c**, **1d**, 및 **30**을 유동 조건(flow condition)으로 녹농균의 바이오필름 형성을 나타낸 것이다. DMSO는 음성 대조군, 화합물 **1c**, **1d**, 및 **12a**는 양성 대조군으로 사용되었다. (A)는 바이오필름 부피 및 두께의 공초점 레이저 스캐닝 현미경(CLSM) 이미지를, (B)는 EPS에서 탄수화물(carbohydrate)의 양을, (C)는 EPS에서 단백질(protein)의 양을 나타낸 것이다. ((**)) 대조군 대비 $P < 0.005$ 및 (*) 대조군 대비 $P < 0.05$ 를 나타낸다.)
- [65] 도 9는 화합물 **1c**, **1d**, **12a**, 및 **30** 처리에 따른 녹농균에 의한 QS-유도된 유전자의 발현과 독성인자의 생산에 관한 것이다. DMSO는 음성 대조군, 화합물 **1c**, **1d**, 및 **12a**는 양성 대조군으로 사용되었다. (A)는 10 또는 100 μM 의 화합물 처리에 따른 야생형 녹농균에 의한 람노리피드 생산을, (B)는 10 μM 의 화합물 처리에 따른 바이오필름 세포의 상대적인 *rhIA* 발현을, (C)는 10 μM 의 화합물

처리에 따른 야생형 녹농균 및 *rhlR* 변이체에 의한 피오사이아닌 생산을, (D)는 야생형 녹농균 및 *rhlR* 변이체의 상대적인 QS-관련 유전자 발현을 나타낸 것이다. ((**)) 대조군 대비 $P < 0.005$ 및 (*) 대조군 대비 $P < 0.05$ 를 나타낸다.)

[66] 도 10은 10 μM 의 화합물 **1c**, **1d**, **12a**, 및 **30** 처리에 따른 녹농균을 주사한 갈색거머리(*T. molitor*)의 사망률을 나타낸 것이다. DMSO는 음성 대조군, 화합물 **1c**, **1d**, 및 **12a**는 양성 대조군으로 사용되었다.

[67] 도 11은 다양한 농도(0.1-10 μM)의 람노리피드를 처리한 경우 녹농균을 주사한 갈색거머리 유충의 사망률을 나타낸 것이다. DMSO가 음성 대조군으로 사용되었다.

[68] 도 12는 화합물 **30** 처리에 따른 녹농균의 QS 시스템을 조절하기 위한 작동 모델(working model)을 나타낸 것이다.

[69]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[70] 본 발명자들은 바이오필름 형성 및 독성 인자 생성 억제를 위한 QS 시스템 조절제(QS system modulator)에 대해 예의 연구한 결과, 4-진저롤 유사체의 *rhl*-RhIR 길항 활성을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[71] 보다 구체적으로, 본 발명자들은 (1) (S)-6-진저롤보다 짧은 알킬 사슬을 가진 진저롤이 구조적으로 BHL과 유사하기 때문에 RhIR에 더 잘 결합한다는 점, (2) 페닐 고리의 3번 자리의 치환기는 크기가 작을수록, 바람직하게는 F인 경우, 더 강한 RhIR 길항 활성을 나타낸다는 점, (3) 페닐 고리의 4번 자리의 치환기는 RhIR과 수소 결합 상호작용을 하는 자리로서 극성 치환기가 존재할수록, 바람직하게는 F 또는 OH인 경우, RhIR에 더 강한 결합력을 가진다는 점, (4) 페닐 고리와 카보닐 기 사이가 삼중결합, 이중결합, 및 단일결합을 가지는 화합물일수록 더 강력한 RhIR 길항제라는 점, (5) (E)-알케닐 화합물이 (Z)-알케닐 화합물보다 더 강한 RhIR 길항 활성을 가진다는 점, (6) 페닐 기로부터 γ -자리에 위치한 카보닐 기 또는 하이드록실 기가 RhIR에 결합하는데 중요하다는 점을 확인하였다.

[72] 상기 결과로부터, 본 발명자들은 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물이 RhIR에 강한 결합 친화력을 가짐으로써 RhIR 길항 활성을 가지는바, 바이오필름 형성 및 독성인자 생산을 억제할 수 있음을 알 수 있었으며, 이에 본 발명은 상기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 세균 감염병의 예방, 치료 또는 진단용 약학적 조성물을 제공할 수 있다.

[73] 본 발명에서 용어, "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 암의 발생, 확산 또는 재발을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를

의미한다.

- [74] 본 발명에서 용어, "약학적 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- [75] 본 발명에서 상기 [화학적식 1] 또는 [화학적식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물 또는 이의 라세미체, 이성질체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않은 화합물의 제형을 의미한다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 본 발명의 화합물을 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 술폰산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 카프릭산, 이소부탄산, 말론산, 석신산, 프탈산, 클루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카르복산과 반응시켜 얻어질 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물을 염기와 반응시켜, 암모니움 염, 나트륨 또는 칼륨염 등의 알칼리 금속염, 칼슘 또는 마그네슘 염 등의 알칼리 토금속염 등의 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸) 메틸아민 등의 유기염기들의 염 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 형성함으로써 얻어질 수도 있다.
- [76] 또한, 상기 [화학적식 1] 또는 [화학적식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물 또는 이의 라세미체, 이성질체는 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함할 수 있다.
- [77] 본 발명에서, "유효성분으로 포함"은 원하는 생물학적 효과를 실현하는데 필요하거나 또는 충분한 양으로 해당 성분이 포함되는 것을 의미한다. 실제 적용에 있어서 유효 성분으로 포함되는 양의 결정은 대상 질병을 치료하기 위한 양으로서, 다른 독성을 야기하지 않는 사항을 고려해서 결정될 수 있으며, 예를 들어 치료되는 질병 또는 병태, 투여되는 조성물의 형태, 피험체의 크기, 또는 질병 또는 병태의 심각도 등과 같은 다양한 인자에 따라서 변화될 수 있다. 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 기술을 지닌 기술자라면 과도한 실험을 동반하지 않고 개별적 조성물의 유효량을 경험적으로 결정할 수 있다.
- [78] 본 발명에서, 세균 감염병은 항균효과로 억제될 수 있는 감염병일 수 있으며, 이는 기존의 소독제, 항생제로 치료하던 감염병과 질병 진단시 감염병이 유발될 수 있는 경우를 포함할 수 있다. 상기 세균 감염병의 예로는, 낭포성 섬유증, 폐렴, 충치, 치주염, 중이염, 근골격 감염, 괴사성 근막염, 담관계 감염, 골수염, 세균성 전립선염, 자연 관막의 심내막염, 멜로이도시스 (meloidosis), 병원 내 감염 (nosocomial infection), ICU 폐렴, 요로 카테터 방광염 (urinary catheter cystitis), 복막 투석(CAPD) 복막염 및 담도 배액관 폐쇄 (biliary stent blockage)를

들 수 있다.

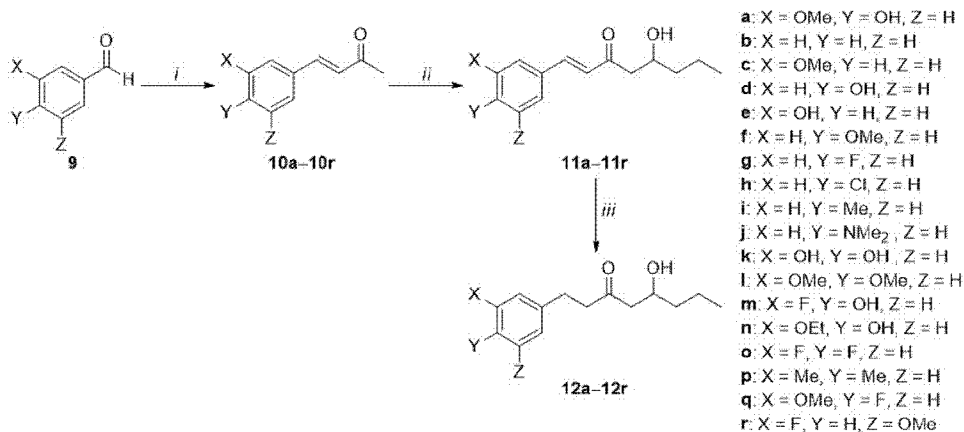
- [79] 본 발명에서, 바이오필름이 형성될 수 있는 위치로는, 봉합, 적출부, 동정맥부, 공막돌출술 (scleral buckle) 부위, 콘택트렌즈, IUD, 기관 튜브, 히크만 카테터 (Hickman catheter), 중심 정맥 카테터, 인공 심장 판막, 판막 그래프트, 정형외과 기기, 음경 보형물 등을 예로 들 수 있으며, 기타 다른 예들이 Costerton J et al 및 Costerton J and Steward (2001 Battling Biofilms, Scientific American pp 75-81)에 의한 논문에서 기재되어 있고, 상기 논문은 원용에 의해 본 명세서에 포함될 수 있다. 기타, 바이오필름이 형성될 수 있는 위치로는, 치주농주 (gum disease) 및 강(cavity)으로 진행될 수 있는 충치, 눈 감염으로 진행될 수 있는 콘택트렌즈, 만성 감염이 될 수 있는 귀 및 폐렴이 될 수 있는 폐를 포함할 수 있다.
- [80] 본 발명에 있어서, 감염은 낭포성 섬유증일 수 있으며, 이는 피부 감염, 화상 감염 및/또는 상처 감염으로부터 초래될 수 있다. 본 발명의 조성물은 면역 저하 개체에서 감염을 치료하는데 특히 적합할 수 있다.
- [81] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 상기 상기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물 또는 이의 라세미체, 이성질체와 함께 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 함유할 수 있다.
- [82] 또한, 본 발명의 조성물은, 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 포함할 수 있다.
- [83] 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 하나 이상의 혼합물일 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수도 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수도 있다. 더 나아가, 당분야의 적절한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Science (Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수도 있다.
- [84] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 투여량은 개체의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 상기 상기 [화학식 1] 또는 [화학식 2]로 표시되는 4-진저롤 유도체 화합물 또는 이의 라세미체, 이성질체의 일일 투여량은 0.5 ~ 30 mg/kg, 바람직하게는 약 10 ~ 20 mg/kg이며, 임상결과에 따라 가감될 수 있으며, 하루 일 회 내지 수회에 걸쳐 분할 투여하는 것이 바람직하다.
- [85] 본 발명에서 용어, “개체”는 쥐, 가축, 생쥐, 인간 등 포유류일 수 있으며, 바람직하게는 인간일 수 있다.
- [86] 본 발명의 조성물은 바이오필름에 의해 유발되는 감염증의 예방 또는 치료

효과를 위하여 단독으로, 또는 기존의 소독제나 항생제, 호르몬 치료, 약물 치료 및 생물학적 반응 조절제와 병용하여 사용될 수도 있다.

- [87] 본 발명에 따른 4-진저롤 유도체 화합물 또는 이의 라세미체, 이성질체는 하기와 같은 합성 과정을 통하여 제조할 수 있으며, 구체적으로 하기 [Scheme 1]은 페닐 고리를 변형하여 화합물 **11** 내지 화합물 **12**을 합성하는 과정을 개략적으로 도시한 것이고, 하기 [Scheme 2]는 회전 강직성(rotational rigidity) 및 절대 배열을 변형하여 화합물 **17** 내지 화합물 **27**을 합성하는 과정을 개략적으로 도시한 것이며, 하기 [Scheme 3]은 화합물 **28** 내지 화합물 **35**을 합성하는 과정을 개략적으로 도시한 것이다.

[88] **[Scheme 1]**

[89]

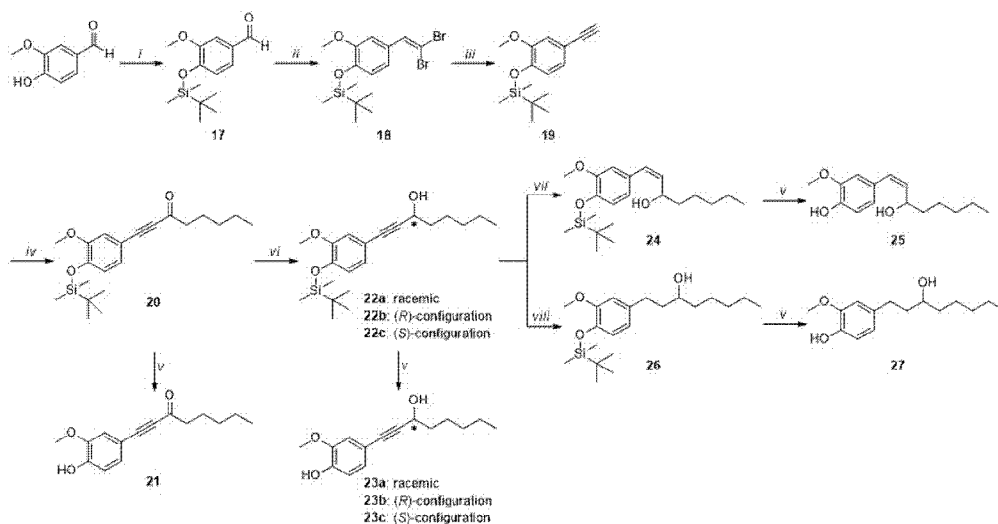


- [90] 각 반응의 조건과 시료는 다음과 같다: (i) 아세톤, 에탄올(또는 물), 10% NaOH, 실온, 2 ~ 24 시간, 32%; (ii) THF/hexanes 하에서 LDA 1.0 M, *n*-butanal, THF, -78 °C, 2 ~ 12 시간, 24 ~ 60%; (iii) H₂ gas, 10% Pd/C, MeOH, 실온, 2 시간, 43 ~ 93%.

[91]

[92] **[Scheme 2]**

[93]



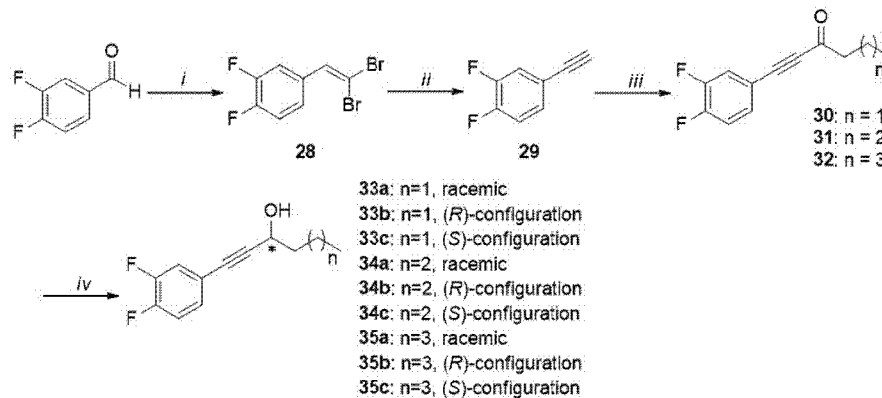
- [94] 각 반응의 조건과 시료는 다음과 같다: (i) *tert*-Butyldimethylsilyl chloride, imidazole, CH₂Cl₂, 실온, 18 시간, 94%; (ii) PPh₃, CBr₄, CH₂Cl₂, 실온, 3 시간, 98%;

(iii) hexanes 하에서 *n*-BuLi 1.6 M (3.0 eq.), THF, 실온, 2 시간, 96%; (iv) hexanes 하에서 *n*-BuLi 1.6 M (1.1 eq.), *N*-methoxy-*N*-methylhexanamide, THF, -78 °C 에서 실온까지, 16 시간, 75%; (v) THF 하에서 *n*-Bu₄NF, 0.1 M, 실온, 1 시간, 94%(화합물 **21**), 94%(화합물 **23a**), 94%(화합물 **23b**), 93%(화합물 **23c**), 70%(화합물 **25**), 및 94%(화합물 **27**); (vi) NaBH₄, MeOH, 실온, 1 시간, 77%(화합물 **22a**), RuCl[(*R,R*)-TsDPEN(mesitylene)], KOH, 2-propanol, 4 시간, 88%(화합물 **22b**), 및 RuCl[(*S,S*)-TsDPEN(mesitylene)], KOH, 2-propanol, 4 시간, 68%(화합물 **22c**); (vii) Lindlar 촉매, H₂ gas, 1,4-benzoquinone, MeOH, 0 °C, 1 시간(화합물 **22a**); (viii) H₂ gas, 10% Pd/C, MeOH, 실온, 2 시간, 94%(화합물 **22a**).

[95]

[96]

[97]

[Scheme 3]

[98]

각 반응의 조건과 시료는 다음과 같다: (i) PPh₃, CBr₄, CH₂Cl₂, 실온, 3 시간, 97%; (ii) hexanes 하에서 *n*-BuLi 1.6 M (3.0 eq.), THF, 실온, 2 시간; (iii) hexanes 하에서 *n*-BuLi 1.6 M (1.1 eq.), 적절한 Weinreb amides, THF, -78 °C에서 실온까지, 16 시간, 72%(화합물 **30**), 88%(화합물 **31**), 및 72%(화합물 **32**); (iv) NaBH₄, MeOH, 실온, 1 시간(화합물 **33a-35a**), 88%(화합물 **33a**), 80%(화합물 **34a**), 및 86%(화합물 **35a**), RuCl[(*R,R*)-TsDPEN(mesitylene)], KOH, 2-propanol, 4 시간(화합물 **33b-35b**), 86%(화합물 **33b**), 82%(화합물 **34b**), 및 80%(화합물 **35b**), 및 RuCl[(*S,S*)-TsDPEN(mesitylene)], KOH, 2-propanol, 4 시간(화합물 **33c-35c**), 86%(화합물 **33c**), 82%(화합물 **34c**), 및 82%(화합물 **35c**).

[99]

[100]

본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

[101]

발명의 실시를 위한 형태

[102] [실험방법]

[103] [실험 재료 및 일반적인 실험 내용]

[104] 반응에 사용된 모든 화학 물질 및 용매는 Sigma-Aldrich, TCI, 및 Acros에서 구입하여 정제하지 않고 사용하였다. 반응은 Merck사(Darmstadt, Germany)의 예비 코팅된 실리카겔 플레이트(60F₂₅₄)의 TLC로 모니터링 하였다. 탐지를 위해 UV254 램프 및/또는 KMnO₄ 염색을 사용하여 가시화하였다. 컬럼 크로마토그래피를 실리카겔 (실리카 겔60; 230-400 메쉬 ASTM, Merck, Darmstadt, Germany)상에서 수행하였다. NMR(Nuclear magnetic resonance) 스펙트럼은 Bruker BioSpin Avance 300 MHz NMR (¹H, 300 MHz; ¹³C, 75 MHz) 또는 Bruker Ultrashield 600 MHz Plus (¹H, 600 MHz; ¹³C, 150 MHz)를 사용하여 실온에서 기록하였다. 모든 화학적 이동(chemical shift)은 TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준으로 사용하여 ppm(parts per million) 단위로 기록하였고, 시료의 용매에 따라 상대적으로 분석되었다 (CDCl₃: δ 7.26 for ¹H NMR, δ 77.0 for ¹³C NMR; MeOH-*d*₄: δ 3.31 for ¹H NMR, δ 49.0 for ¹³C NMR). ¹H NMR 이동 값은 화학적 이동(chemical shift, δ), 상응하는 integral, multiplicity, 커플링 상수(coupling constant, J, Hz)로 표시하였다. HRMS(High-resolution mass spectra)는 Agilent 6530 Accurate Mass Q-TOF LC/MS로 측정하였다. 모든 최종 화합물의 순도는 C18 컬럼 (Phenomenex, 150 mm × 4.6 mm, 3 μ m, 110 Å)을 갖춘 Agilent 1260 Infinity (Agilent)에서 분석 역상 HPLC로 측정하였다. RP-HPLC는 하기의 용매 조건을 사용하여 수행하였다. 방법 A의 경우, 이동상은 아세트ونی트릴 및 물 (30:70, v/v)이었고, 방법 B의 경우 이동상은 아세트ونی트릴 및 0.1% TFA가 첨가된 물 (30:70, v/v)이었고, 방법 C의 경우, 이동상은 아세트ونی트릴 및 물 (40:60, v/v)이었고, 방법 D의 경우, 이동상은 아세트ونی트릴 및 물 (50:50, v/v)이었고, 방법 E의 경우, 이동상은 아세트ونی트릴 및 물 (55:45, v/v)이었고, 방법 F의 경우, 이동상은 아세트ونی트릴 및 물 (60:40, v/v)이었고, 방법 G의 경우, 이동상은 메탄올 및 물 (50:50, v/v)이었고, 방법 H의 경우, 이동상은 메탄올 및 물 (60:40, v/v)이었고, 방법 I의 경우, 이동상은 메탄올 및 물 (70:30, v/v)이었다. 모든 화합물을 1 mL/min의 유속으로 용출시키고 검출기(파장 220 nm 및 254 nm)에서 모니터링 하였다. 시험된 화합물의 순도는 95% 이상이었다.

[105] [화합물 합성]

[106] 화합물 2-8

[107] 하기 화합물 **2** 내지 화합물 **8**은 본 발명자의 선행 특허문헌인 KR 10-2019-0010436에 기재된 방법으로 합성하였다.

[108] [표1]

4-진저롤	화합물 2	5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)octan-3-one
5-진저롤	화합물 3	5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)nonan-3-one
6-진저롤	화합물 4	5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)decan-3-one
7-진저롤	화합물 5	5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)undecan-3-one
8-진저롤	화합물 6	5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)dodecan-3-one
9-진저롤	화합물 7	5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)tridecan-3-one
10-진저롤	화합물 8	5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)tetradecan-3-one

[109] **화합물 11a-11r의 일반적인 제조방법 A**

[110] THF (20 mL) 하에서 교반된 benzylideneacetone 화합물 용액을 -78 °C에서 LDA (1.2-3.6 eq.)에 첨가하였다. 상기 용액을 아르곤 하에서 동일 온도에서 1시간 동안 교반하고, *n*-butanal (10.0 eq.)을 주사기를 이용하여 천천히 적하하였다. 상기 반응물을 TLC 분석한 결과 출발물질이 생성물질로 완전한 전환(conversion)이 나타날 때까지(일반적으로 3 ~ 24시간), 동일 온도에서 과격하게 교반하고, 수용액 NH₄Cl (10 mL)에서 퀀칭한 후, EtOAc (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층을 소금물(brine)로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 여과한 후, 감압 하에 농축시켰다. 순수한 화합물을 제공하기 위해 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다.

[111]

[112] **(E)-5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)oct-1-en-3-one (11a)**

[113] 화합물 11a는 (E)-4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)but-3-en-2-one (300 mg, 1.56 mmol), LDA (4.10 mL, 2.4 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 60% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 3 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Toluene/EtOAc = 6:1 to 3:1, v/v). R_f = 0.40 (Toluene/EtOAc = 2:1, v/v). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.53 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 7.13 (dd, J = 1.8 and 8.2 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 5.94 (s, 1H), 4.23-4.09 (m, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.30 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 2.90 (dd, J = 2.7 and 17.1 Hz, 1H), 2.75 (q, J = 9.0 Hz, 1H), 1.59-1.36 (m, 4H), 0.97 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 201.03, 148.50, 146.89, 143.87, 126.72, 124.15, 123.76, 114.87, 109.51, 67.65, 55.98, 46.52, 38.68, 18.75, 14.05, 13.97. HRMS m/z calculated for C₁₅H₂₀O₄ [M-H]⁻: 263.1289; found: 263.1304. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 6.34 min, method G, t_R = 7.33 min).

[114]

[115] **(E)-5-Hydroxy-1-phenyloct-1-en-3-one (11b)**

[116] 화합물 11b는 (E)-4-phenylbut-3-en-2-one (300 mg, 2.05 mmol), LDA (2.70 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 36% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 2 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Toluene/EtOAc = 6:1 to 3:1, v/v). R_f = 0.40 (Toluene/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.58 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.56-7.54 (m, 2H), 7.43-7.39 (m, 3H), 6.74 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.17 (d, J = 3.30 Hz, 1H), 2.88 (dd, J = 2.6 and 17.3 Hz, 1H), 2.77 (q, J = 9.1 Hz, 1H), 1.62-1.36 (m, 4H), 0.96 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.24, 140.75, 128.56, 128.29, 126.22, 67.36, 49.32, 45.06, 38.59, 29.53, 18.65, 13.98. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_2$ [M-H] $^-$: 217.1234; found: 217.1252. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 12.91 min, method G, t_R = 15.79 min).

[117]

[118] **(E)-5-Hydroxy-1-(3-methoxyphenyl)oct-1-en-3-one (11c)**

[119] 화합물 11c는 (E)-4-(3-methoxyphenyl)but-3-en-2-one (300 mg, 1.70 mmol), LDA (2.23 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 41% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 4 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 6:1, v/v). R_f = 0.48 (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.55 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 7.33 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 4.17 (brs, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.22 (brs, 1H), 2.91-2.88 (m, 1H), 2.80-2.76 (m, 1H), 1.61-1.40 (m, 4H), 0.97 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 201.04, 159.98, 143.48, 135.60, 130.02, 126.65, 121.15, 116.66, 113.20, 67.61, 55.35, 46.86, 38.69, 18.75, 14.04. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$ [M-H] $^-$: 247.1339; found: 247.1344. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 14.25 min, method G, t_R = 19.69 min).

[120]

[121] **(E)-5-Hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)oct-1-en-3-one (11d)**

[122] 화합물 11d는 (E)-4-(4-hydroxyphenyl)but-3-en-2-one (250 mg, 1.54 mmol), LDA (4.10 mL, 2.4 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 43% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 6 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). R_f = 0.42 (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 7.61 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 4.14-4.12 (m, 1H), 2.88-2.84 (m, 1H), 2.78-2.75 (m, 1H), 1.55-1.41 (m, 4H), 0.97 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 200.62, 160.22, 144.09, 130.21, 125.86, 123.16, 115.54, 67.81, 39.25, 18.45, 12.98. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_3$ [M-H] $^-$: 233.1183; found: 233.1213. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R =

6.18 min, method G, t_R = 8.08 min).

[123]

[124] **(E)-5-Hydroxy-1-(3-hydroxyphenyl)oct-1-en-3-one (11e)**

[125] 화합물 11e는 (E)-4-(3-hydroxyphenyl)but-3-en-2-one (250 mg, 1.54 mmol), LDA (4.10 mL, 2.4 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 34% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 6 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). R_f = 0.30 (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 7.58 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 7.24 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 6.87 (dd, J = 8.1 and 1.8 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 4.16-4.11 (m, 1H), 2.90-2.86 (m, 1H), 2.79-2.77 (m, 1H), 1.54-1.40 (m, 4H), 0.97 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 200.49, 157.73, 143.65, 135.85, 129.65, 126.18, 119.78, 117.53, 114.14, 67.66, 39.25, 18.45, 12.96. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_3$ [M-H]⁻: 233.1183; found: 233.1200. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 5.68 min, method G, t_R = 8.17 min).

[126]

[127] **(E)-5-Hydroxy-1-(4-methoxyphenyl)oct-1-en-3-one (11f)**

[128] 화합물 11f는 (E)-4-(4-methoxyphenyl)but-3-en-2-one (300 mg, 1.70 mmol), LDA (2.30 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 48% 수율로 흰색 오일로서 제조하고, 2 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Toluene/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). R_f = 0.55 (Toluene/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.55-7.50 (m, 3H), 6.93 (d, J = 8.7, 2H), 6.62 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 4.14 (brs, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.27 (brs, 1H), 2.88-2.85 (m, 1H), 2.75-2.71 (m, 1H), 1.62-1.42 (m, 4H), 0.95 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 201.01, 161.83, 143.39, 130.19, 126.87, 124.18, 114.49, 67.73, 55.41, 46.71, 38.75, 18.75, 14.04. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$ [M-H]⁻: 247.1339; found: 247.1357. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 12.88 min, method G, t_R = 18.64 min).

[129]

[130] **(E)-1-(4-Fluorophenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11g)**

[131] 화합물 11g는 (E)-4-(4-fluorophenyl)but-3-en-2-one (200 mg, 1.22 mmol), LDA (1.60 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 38% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 2 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 6:1, v/v). R_f = 0.40 (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.56-7.53 (m, 3H), 7.10 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 6.66 (d, J = 16.2 Hz), 4.17 (brs, 1H), 3.13 (s, 1H), 2.88-2.85 (m, 1H), 2.77-2.73 (m, 1H), 1.59-1.40 (m, 4H), 0.96 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 200.74, 165.03, 163.36, 142.15, 130.50, 130.48, 130.35, 130.30, 126.08,

126.07, 116.30, 116.16, 67.61, 47.04, 38.70, 18.74, 14.02. HRMS m/z calculated for $C_{14}H_{17}FO_2$ [M-H]⁻: 235.1140; found: 235.1155. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 14.12 min, method G, t_R = 17.64 min).

[132]

[133] **(E)-1-(4-Chlorophenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11h)**

[134] 화합물 11h는 (E)-4-(4-(dimethylamino)phenyl)but-3-en-2-one (200 mg, 1.11 mmol), LDA (1.40 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 41% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 6 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 12:1 to 6:1, v/v). R_f = 0.35 (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.52 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.70 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 4.15 (brs, 1H), 3.13 (brs, 1H), 2.87-2.84 (m, 1H), 2.78-2.74 (m, 1H), 1.59-1.39 (m, 4H), 0.95 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 200.64, 141.91, 136.66, 132.75, 129.54, 129.28, 126.72, 67.58, 47.21, 38.75, 18.75, 14.02. HRMS m/z calculated for $C_{14}H_{17}ClO_2$ [M-H]⁻: 251.0844; found: 251.0862. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 22.36 min, method G, t_R = 34.88 min).

[135]

[136] **(E)-5-Hydroxy-1-(p-tolyl)oct-1-en-3-one (11i)**

[137] 화합물 11i는 (E)-4-(p-tolyl)but-3-en-2-one (300 mg, 1.87 mmol), LDA (2.48 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 29% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 4 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 8:1 to 4:1, v/v). R_f = 0.45 (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.55 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.69 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 4.16-4.14 (m, 1H), 3.25 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 2.88-2.85 (m, 1H), 2.77-2.72 (m, 1H), 2.38 (s, 1H), 1.59-1.39 (m, 4H), 0.95 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 201.10, 143.63, 141.37, 131.48, 129.77, 128.44, 125.46, 46.77, 38.72, 21.53, 18.75, 14.04. HRMS m/z calculated for $C_{15}H_{20}O_2$ [M-H]⁻: 231.1390; found: 231.1404. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 19.34 min, method G, t_R = 30.62 min).

[138]

[139] **(E)-1-(4-(Dimethylamino)phenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11j)**

[140] 화합물 11j는 (E)-4-(4-(dimethylamino)phenyl)but-3-en-2-one (200 mg, 1.06 mmol), LDA (1.40 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 60% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 8 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). R_f = 0.31 (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.52 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.67 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.54 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 4.13-4.11 (m, 1H), 3.50-3.49 (m, 1H), 3.04 (s, 6H), 2.88-2.84 (m, 1H), 2.71-2.67 (m, 1H),

1.60-1.39 (m, 4H), 0.95 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 201.06, 152.15, 144.52, 130.34, 121.75, 121.40, 111.84, 67.90, 46.22, 40.10, 38.78, 18.77, 14.08. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_2$ [M-H] $^-$: 260.1656; found: 260.1674. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 17.13$ min, method G, $t_R = 30.68$ min).

[141]

[142] **(E)-1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11k)**

[143] 화합물 11k는 (E)-4-(3,4-dihydroxyphenyl)but-3-en-2-one (150 mg, 0.84 mmol), LDA (3.30 mL, 3.6 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 30% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 6 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 3:1 to 1:1, v/v). $R_f = 0.50$ (Hexane/EtOAc = 1:3, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 7.53 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 1.8$ and 8.2 Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 4.18-4.05 (m, 1H), 2.84 (q, $J = 8.2$ Hz, 1H), 2.74 (dd, $J = 4.4$ and 15.4 Hz, 1H), 1.57-1.35 (m, 4H), 0.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 200.69, 148.58, 145.48, 144.61, 126.45, 123.18, 122.21, 115.20, 114.03, 67.86, 39.23, 18.47, 13.00. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$ [M-H] $^-$: 249.1132; found: 249.1232. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method B, $t_R = 5.21$ min, method G, $t_R = 5.60$ min).

[144]

[145] **(E)-1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11l)**

[146] 화합물 11l는 (E)-4-(3,4-dimethoxyphenyl)but-3-en-2-one (200 mg, 0.97 mmol), LDA (1.30 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 54% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 1 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Toluene/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). $R_f = 0.50$ (Toluene/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.53 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.89 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 4.15 (brs, 1H), 3.93 (s, 6H), 3.25 (s, 1H), 2.89-2.86 (m, 1H), 2.77-2.72 (m, 1H), 1.61-1.40 (m, 4H), 0.96 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 200.95, 151.60, 149.30, 143.66, 127.13, 124.41, 123.33, 111.10, 109.74, 67.72, 56.00, 55.91, 46.63, 38.73, 18.74, 14.04. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ [M-H] $^-$: 277.1445; found: 277.1478. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 8.92$ min, method G, $t_R = 11.13$ min).

[147]

[148] **(E)-1-(3-Fluoro-4-hydroxyphenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11m)**

[149] 화합물 11m은 (E)-4-(3-fluoro-4-hydroxyphenyl)but-3-en-2-one (100 mg, 0.55 mmol), LDA (1.50 mL, 2.4 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 45% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 4 시간동안 교반하였다. 잔여물을

실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). $R_f = 0.25$ (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 7.56 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.95 (t, $J = 8.6$ Hz, 3H), 6.73 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 4.14 (brs, 1H), 3.26 (s, 1H), 2.88-2.83 (m, 1H), 2.78-2.75 (m, 1H), 1.53-1.40 (m, 4H), 0.96 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 200.36, 152.43, 150.82, 147.75, 147.66, 142.75, 142.74, 126.70, 126.66, 125.76, 125.74, 124.49, 117.67, 117.65, 115.12, 114.99, 67.73, 39.25, 18.46, 12.99. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{FO}_3$ [M-H] $^-$: 251.1089; found: 251.1117. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 6.49$ min, method G, $t_R = 8.91$ min).

[150]

[151] **(E)-1-(3-Ethoxy-4-hydroxyphenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11n)**

[152] 화합물 11n은 (E)-4-(3-ethoxy-4-hydroxyphenyl)but-3-en-2-one (200 mg, 0.97 mmol), LDA (2.60 mL, 2.4 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 39% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 3 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). $R_f = 0.24$ (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.50 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.94 (s, 1H), 4.18-4.15 (q, 7.0 Hz, 2H), 3.26 (s, 1H), 2.88-2.85 (m, 1H), 2.75-2.71 (m, 1H), 1.50-1.47 (m, 4H), 0.95 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 201.02, 148.69, 146.22, 143.98, 126.64, 124.05, 123.59, 114.89, 110.44, 67.76, 64.64, 46.52, 38.70, 18.75, 14.79, 14.05. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ [M-H] $^-$: 277.1445; found: 277.1472. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 8.42$ min, method G, $t_R = 10.65$ min).

[153]

[154] **(E)-1-(3,4-Difluorophenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11o)**

[155] 화합물 11o은 (E)-4-(3,4-difluorophenyl)but-3-en-2-one (200 mg, 1.10 mmol), LDA (1.60 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 38% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 18 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 2:1, v/v). $R_f = 0.38$ (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.38 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.30-7.28 (m, 1H), 7.20 (q, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 4.16 (brs, 1H), 3.09 (s, 1H), 2.86-2.83 (m, 1H), 2.78-2.74 (m, 1H), 1.60-1.36 (m, 4H), 0.96 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 200.32, 152.61, 152.52, 151.52, 151.43, 150.92, 150.84, 149.87, 149.78, 140.88, 131.56, 131.52, 131.49, 127.09, 127.08, 125.26, 125.23, 125.21, 125.19, 118.01, 117.89, 116.58, 116.47. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{O}_2$ [M-H] $^-$: 253.1045; found: 253.1062. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 17.12$ min, method G, $t_R = 22.40$ min).

[156]

[157] **(E)-1-(3,4-Dimethylphenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11p)**

[158] 화합물 11p는 (E)-4-(3,4-dimethylphenyl)but-3-en-2-one (200 mg, 1.15 mmol), LDA (1.50 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 37% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 8 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 8:1 to 4:1, v/v). $R_f = 0.55$ (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.53 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.29 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 4.16-4.12 (m, 1H), 3.29 (brs, 1H), 2.88-2.85 (m, 1H), 2.76-2.72 (m, 1H), 2.28 (s, 6H), 1.60-1.39 (m, 4H), 0.95 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 201.12, 143.86, 140.14, 137.30, 131.87, 130.30, 129.63, 126.10, 125.31, 67.67, 46.73, 38.73, 19.88, 19.75, 18.76, 14.05. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_2$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 245.1547; found: 245.1558. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 28.39$ min, method H, $t_R = 19.67$ min).

[159]

[160] **(E)-1-(4-Fluoro-3-methoxyphenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11q)**

[161] 화합물 11q는 (E)-4-(4-fluoro-3-methoxyphenyl)but-3-en-2-one (120 mg, 0.62 mmol), LDA (0.70 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 46% 수율로 흰색 오일로서 제조하고, 2 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 3:1, v/v). $R_f = 0.48$ (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.51 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.12-7.08 (m, 2H), 6.64 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 4.17-4.14 (m, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.15 (brs, 1H), 2.88-2.85 (m, 1H), 2.78-2.74 (m, 1H), 1.59-1.40 (m, 4H), 0.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 200.74, 154.87, 153.19, 148.18, 148.10, 142.57, 130.89, 130.87, 126.18, 126.16, 122.10, 122.06, 116.67, 116.55, 112.46, 67.62, 56.27, 46.95, 38.71, 18.75, 14.03. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{FO}_3$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 265.1245; found: 265.1496. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 15.14$ min, method G, $t_R = 19.00$ min).

[162]

[163] **(E)-1-(3-Fluoro-5-methoxyphenyl)-5-hydroxyoct-1-en-3-one (11r)**

[164] 화합물 11r은 (E)-4-(3-fluoro-5-methoxyphenyl)but-3-en-2-one (130 mg, 0.67 mmol), LDA (0.88 mL, 1.2 eq.)와 함께 일반적인 제조방법 A에 상술한 바와 같이 24% 수율로 노랑색 오일로서 제조하고, 6 시간동안 교반하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1 to 6:1, v/v). $R_f = 0.40$ (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.86-6.85 (m, 2H), 6.70-6.65 (m, 2H), 4.17-4.14 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.13 (brs, 1H), 2.87-2.84 (m, 1H), 2.79-2.74 (m, 1H), 1.59-1.40 (m, 4H), 0.95 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 200.68, 164.57, 162.93, 161.26, 161.18, 142.14,

142.12, 136.79, 136.72, 127.55, 110.12, 110.11, 107.09, 106.94, 103.86, 103.70, 67.56, 55.69, 47.21, 38.70, 18.74, 14.01. HRMS m/z calculated for $C_{15}H_{19}FO_3$ $[M-H]^-$: 265.1245; found: 265.1262. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 19.07 min, method H, t_R = 11.43 min).

[165]

[166] **화합물 12a-12r의 일반적인 제조방법 B**

[167] MeOH (8 mL)를 용매로 하는 교반된 화합물 11a-11r 용액을 10% Pd/C (0.03 eq.)에 첨가한 후, 수소 기체에서 2시간 동안 교반하였다. 상기 반응물을 Celite 패드로 여과시키고, 감압 하 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 4:1, v/v) 화합물 12a-12r을 수득하였다.

[168]

[169] **5-Hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)octan-3-one (12a)**

[170] 화합물 12a는 화합물 11a (109 mg, 0.412 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 45% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.38 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.73-6.60 (m, 2H), 5.71 (s, 1H), 4.04 (brs, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.06 (brs, 1H), 2.90-2.65 (m, 4H), 2.62-2.41 (m, 2H), 1.56-1.21 (m, 4H), 0.91 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 211.53, 146.45, 143.93, 132.63, 120.74, 114.37, 111.02, 67.38, 67.27, 55.88, 49.34, 45.44, 38.54, 29.28, 18.65, 13.98. HRMS m/z calculated for $C_{15}H_{22}O_3$ $[M-H]^-$: 265.1445; found: 265.1455. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 6.09 min, method G, t_R = 5.49 min).

[171]

[172] **5-Hydroxy-1-phenyloctan-3-one (12b)**

[173] 화합물 12b는 화합물 11b (50 mg, 0.229 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 52% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.65 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.29-7.26 (m, 2H), 7.20-7.17 (m, 3H), 4.05-4.03 (m, 1H), 2.94 (s, 1H), 2.90 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.76 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.57-2.47 (m, 2H), 1.49-1.25 (m, 4H), 0.91 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 211.24, 140.75, 128.56, 128.29, 126.22, 67.36, 49.32, 45.06, 38.59, 29.53, 18.65, 13.98. HRMS m/z calculated for $C_{14}H_{20}O_2$ $[M-H]^-$: 219.1390; found: 219.1414. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 14.38 min, method G, t_R = 16.36 min).

[174]

[175] **5-Hydroxy-1-(3-methoxyphenyl)octan-3-one (12c)**

[176] 화합물 12c는 화합물 11c (50 mg, 0.201 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 72% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.51 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.20 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 6.77-6.72 (m, 3H),

4.05-4.03 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.90 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 2.88 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.76 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.58-2.55 (m, 1H), 2.52-2.47 (m, 1H), 1.50-1.31 (m, 4H), 0.92 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.15, 159.75, 142.38, 129.54, 120.61, 114.13, 111.46, 67.36, 55.16, 49.33, 44.96, 38.61, 29.55, 18.65, 13.98. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ [M-H] $^-$: 250.1569; found: 249.1518. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 13.80 min, method G, t_R = 15.38 min).

[177]

[178] **5-Hydroxy-1-(4-hydroxyphenyl)octan-3-one (12d)**

[179] 화합물 12d는 화합물 11d (88 mg, 0.376 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 72% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.45 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 7.02 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.70 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.04-4.01 (m, 1H), 2.77 (s, 4H), 2.58-2.54 (m, 1H), 2.52-2.48 (m, 1H), 1.46-1.33 (m, 4H), 0.93 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 210.62, 155.21, 131.87, 128.88, 114.78, 67.24, 49.89, 45.03, 39.19, 28.39, 18.37, 12.94. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_3$ [M-H] $^-$: 235.1339; found: 235.1360. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 6.02 min, method G, t_R = 6.14 min).

[180]

[181] **5-Hydroxy-1-(3-hydroxyphenyl)octan-3-one (12e)**

[182] 화합물 12e는 화합물 11e (50 mg, 0.213 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 68% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.35 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 7.07 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.61-6.60 (m, 1H), 4.05-4.02 (m, 1H), 2.80 (s, 4H), 2.59-2.55 (m, 1H), 2.53-2.50 (m, 1H), 1.48-1.31 (m, 4H), 0.94 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 210.35, 157.09, 142.67, 129.03, 119.16, 114.81, 112.55, 67.26, 49.87, 44.58, 39.20, 29.14, 18.37, 12.93. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_3$ [M-H] $^-$: 235.1339; found: 235.1360. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 5.57 min, method G, t_R = 5.23 min).

[183]

[184] **5-Hydroxy-1-(4-methoxyphenyl)octan-3-one (12f)**

[185] 화합물 12f는 화합물 11f (40 mg, 0.161 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 80% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.40 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.09 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.82 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.03 (brs, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.93 (s, 1H), 2.84 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.73 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.57-2.54 (m, 1H), 2.50-2.46 (m, 1H), 1.49-1.29 (m, 4H), 0.91 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.46, 158.03, 132.75, 129.40, 129.22, 113.96, 67.35, 55.27, 49.32, 45.34, 38.57, 28.70, 18.65, 13.98. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ [M-H] $^-$: 249.1496; found: 249.1527. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 13.20 min, method G, t_R = 14.78 min).

[186]

[187] **1-(4-Fluorophenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12g)**

[188] 화합물 12g는 화합물 11g (84 mg, 0.356 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 65% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.41$ (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.14-7.12 (m, 3H), 6.96 (t, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.56 (s, 1H), 4.04-4.03 (brs, 1H), 4.05 (brs, 1H), 2.90 (s, 1H), 2.87 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.74 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.57-2.54 (m, 1H), 2.51-2.47 (m, 1H), 1.49-1.32 (m, 4H), 0.92 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 210.91, 162.22, 160.60, 136.41, 136.40, 129.73, 129.68, 115.35, 115.20, 67.36, 49.38, 45.09, 38.63, 28.64, 18.64, 13.96. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{FO}_2$ [M-H] $^-$: 237.1296; found: 237.1309. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 12.21$ min, method G, $t_R = 18.56$ min).

[189]

[190] **1-(4-Chlorophenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12h)**

[191] 화합물 12h는 화합물 11h (48 mg, 0.190 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 40% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.45$ (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.30-7.26 (m, 2H), 7.21-7.17 (m, 2H), 4.05-4.03 (m, 1H), 2.91 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.76 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.58-2.55 (m, 1H), 2.51-2.47 (m, 1H), 1.51-1.31 (m, 4H), 0.92 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.24, 140.75, 128.56, 128.29, 126.23, 67.36, 49.31, 45.07, 38.59, 29.53, 18.65, 13.98. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{ClO}_2$ [M-H] $^-$: 253.1001; found: 253.1430. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 11.95$ min, method G, $t_R = 16.89$ min).

[192]

[193] **5-Hydroxy-1-(p-tolyl)octan-3-one (12i)**

[194] 화합물 12i는 화합물 11i (107 mg, 0.461 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 70% 수율로 노랑색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.48$ (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.07 (dd, $J = 8.0$ and 18.2 Hz, 4H), 4.05-4.02 (m, 1H), 2.92 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 2.86 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.74 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.57-2.54 (m, 1H), 2.50-2.46 (m, 1H), 2.31 (s, 3H), 1.49-1.31 (m, 4H), 0.91 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.32, 137.66, 135.69, 129.23, 128.17, 67.36, 49.36, 45.21, 38.65, 29.13, 21.00, 18.67, 14.00. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$ [M-H] $^-$: 233.1547; found: 233.1575. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 21.76$ min, method G, $t_R = 32.04$ min).

[195]

[196] **1-(4-(Dimethylamino)phenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12j)**

[197] 화합물 12j는 화합물 11j (80 mg, 0.306 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 63% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.60$ (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.04 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.68 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H),

4.02 (brs, 1H), 2.98 (s, 1H), 2.90 (s, 6H), 2.80 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.70 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.57-2.54 (m, 1H), 2.50-2.45 (m, 1H), 1.47-1.33 (m, 4H), 0.91 (t, J = 6.8 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.83, 149.28, 128.88, 128.66, 113.04, 67.35, 49.30, 45.53, 40.83, 38.59, 28.68, 18.67, 14.00. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 262.1812; found: 262.1828. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method D, t_R = 6.20 min, method G, t_R = 23.83 min).

[198]

[199] **1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12k)**

[200] 화합물 12k는 화합물 11k (36 mg, 0.144 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 93% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.55 (Hexane/EtOAc = 1:3, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 6.67 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.64 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.52 (dd, J = 1.8 and 8.2 Hz, 1H), 4.07-3.98 (m, 1H), 2.80-2.69 (m, 4H), 2.57 (q, J = 8.2 Hz, 1H), 2.50 (dd, J = 4.4 and 15.4 Hz, 1H), 1.53-1.28 (m, 4H), 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 210.85, 144.78, 143.07, 132.68, 119.13, 115.09, 114.95, 67.25, 49.93, 45.01, 39.18, 28.65, 18.36, 12.91. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{NO}_2$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 251.1289; found: 251.1387. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method A, t_R = 4.86 min, method G, t_R = 3.93 min).

[201]

[202] **1-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12l)**

[203] 화합물 12l는 화합물 11l (59 mg, 0.212 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 63% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.33 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.78 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.71-6.70 (m, 2H), 4.04 (brs, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 2.92 (s, 1H), 2.85 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.74 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.58-2.55 (m, 1H), 2.52-2.47 (m, 1H), 1.48-1.32 (m, 4H), 0.92 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.40, 148.93, 147.45, 133.35, 120.07, 111.67, 111.34, 67.38, 55.93, 55.85, 49.37, 45.34, 38.60, 29.20, 18.65, 13.98. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_4$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 279.1602; found: 279.1620. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 8.52 min, method G, t_R = 8.61 min).

[204]

[205] **1-(3-Fluoro-4-hydroxyphenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12m)**

[206] 화합물 12m는 화합물 11m (55 mg, 0.218 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 63% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.66 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, MeOD) δ 6.91 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 6.82-6.81 (m, 2H), 4.04 (brs, 1H), 2.79 (s, 4H), 2.59-2.55 (m, 1H), 2.53-2.49 (m, 1H), 1.46-1.31 (m, 4H), 0.94 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD) δ 210.17, 152.10, 150.51, 142.74, 142.66, 133.11, 133.07, 123.85, 123.83, 117.20, 117.19, 115.41, 115.29, 67.24, 49.85, 44.62, 39.21, 28.11, 18.36, 12.91. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{FO}_3$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 253.1245; found: 253.1275. >95% purity (as determined by

RP-HPLC, method C, t_R = 6.38 min, method G, t_R = 6.04 min).

[207]

[208] **1-(3-Ethoxy-4-hydroxyphenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12n)**

[209] 화합물 12n는 화합물 11n (60 mg, 0.216 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 45% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.35 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.82 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.65 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.56 (s, 1H), 4.10-4.07 (q, J = 7.0 Hz, 1H), 4.05 (brs, 1H), 2.92 (s, 1H), 2.82 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.72 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.57-2.54 (m, 1H), 2.50-2.46 (m, 1H), 1.48-1.31 (m, 7H), 1.25 (s, 1H), 0.91 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.49, 145.73, 144.12, 132.56, 120.65, 114.34, 111.93, 67.38, 64.44, 49.37, 45.46, 38.59, 29.29, 18.65, 14.91, 13.97. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_4$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 279.1602; found: 279.1646. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 8.06 min, method G, t_R = 7.73 min).

[210]

[211] **1-(3,4-Difluorophenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12o)**

[212] 화합물 12o는 화합물 11o (49 mg, 0.193 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 81% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.40 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.05 (q, J = 9.0 Hz, 1H), 6.98 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 6.89-6.87 (m, 1H), 4.07-4.04 (m, 1H), 2.86 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.80 (s, 1H), 2.74 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.58-2.54 (m, 1H), 2.52-2.48 (m, 1H), 1.49-1.33 (m, 4H), 0.92 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 210.35, 151.03, 150.95, 149.77, 149.69, 149.39, 149.31, 148.14, 148.05, 137.78, 137.75, 137.74, 137.72, 124.21, 124.18, 124.16, 124.14, 117.21, 117.19, 117.10, 117.08, 67.38, 49.38, 44.66, 38.66, 28.51, 18.64, 13.94. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{O}_2$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 255.1202; found: 255.1235. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 18.49 min, method G, t_R = 21.95 min).

[213]

[214] **1-(3,4-Dimethylphenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12p)**

[215] 화합물 12p는 화합물 11p (83 mg, 0.337 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 72% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.60 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.04 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.90 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.05-4.01 (m, 1H), 2.94 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 2.83 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.73 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.58-2.55 (m, 1H), 2.51-2.46 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 1.49-1.31 (m, 4H), 0.91 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 211.43, 138.14, 136.67, 134.35, 129.80, 129.64, 125.57, 67.37, 49.32, 45.29, 38.63, 29.12, 19.75, 19.31, 18.67, 14.00. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_2$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 247.1703; found: 247.1725. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 31.01 min, method G, t_R = 21.80 min).

[216]

[217] **1-(4-Fluoro-3-methoxyphenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12q)**

[218] 화합물 12q는 화합물 11q (48 mg, 0.180 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 62% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.50$ (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.97 (dd, $J = 8.2$ Hz, 11.3 Hz, 1H), 6.78 (dd, $J = 8.1$ and 1.9 Hz, 1H), 6.69-6.67 (m, 1H), 4.06-4.03 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 2.88-2.84 (m, 3H), 2.75 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.58-2.55 (m, 1H), 2.52-2.48 (m, 1H), 1.50-1.31 (m, 4H), 0.92 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 210.91, 151.86, 150.24, 147.46, 147.39, 137.10, 137.08, 120.30, 120.25, 115.95, 115.83, 113.67, 67.38, 56.23, 49.40, 45.10, 38.63, 29.15, 18.64, 13.96. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{FO}_3$ [M-H] $^-$: 267.1402; found: 267.1426. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 14.58$ min, method G, $t_R = 14.25$ min).

[219]

[220] **1-(3-Fluoro-5-methoxyphenyl)-5-hydroxyoctan-3-one (12r)**

[221] 화합물 12r는 화합물 11r (43 mg, 0.162 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 40% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.45$ (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.51 (s, 1H), 6.49-6.44 (m, 2H), 4.06-4.04 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.86-2.84 (m, 3H), 2.75 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 2.59-2.55 (m, 1H), 2.52-2.48 (m, 1H), 1.50-1.32 (m, 4H), 0.92 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 210.64, 164.48, 162.85, 160.97, 160.90, 143.85, 143.79, 110.03, 110.01, 107.45, 107.31, 99.37, 99.20, 67.37, 55.47, 49.34, 44.53, 38.62, 29.38, 29.36, 18.65, 13.96. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{FO}_3$ [M-H] $^-$: 267.1402; found: 267.1419. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 17.95$ min, method G, $t_R = 22.68$ min).

[222]

[223] **(E)-1-(3,4-Difluorophenyl)oct-1-en-3-one (13a) (화학식 13a)**

[224] MeOH (8 mL)를 용매로 하는 3,4-difluorobenzaldehyde (500 mg, 3.52 mmol) 용액을 아르곤 하, 25 °C에서 (L)-proline (61.0 mg, 0.53 mmol) 및 heptan-2-one (0.49 mL, 3.52 mmol)에 첨가하였다. 30 분 후, 상기 용액에 trimethylamine (0.12 mL, 0.88 mmol)을 첨가하고, 25 °C에서 72 시간 동안 교반한 후, 물로 쿼칭하고, EtOAc (3 X 25 mL)로 추출하였다. 혼합된 유기층을 MgSO_4 로 건조하고 여과한 후, 감압 하 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (Hexane/EtOAc = 12:1 to 6:1, v/v) 화합물 13a을 50% 수율로 무색 오일로서 수득하였다. $R_f = 0.75$ (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.40-7.35 (m, 1H), 7.30-7.26 (m, 1H), 7.21-7.15 (m, 1H), 6.65 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 2.64 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.40-1.29 (m, 4H), 0.91 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 200.05, 152.38, 152.29, 151.48, 151.40, 150.69, 150.61, 149.83, 149.74, 139.76, 131.93, 131.90, 131.86,

126.95, 126.93, 125.05, 125.02, 125.00, 124.98, 117.90, 117.78, 116.41, 116.30, 41.27, 31.46, 23.91, 22.48, 13.92. HRMS m/z calculated for $C_{14}H_{16}F_2O$ $[M-H]^-$: 237.1096; found: 237.1126. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 16.72 min, method I, t_R = 11.93 min).

[225]

[226] **(E)-1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)oct-1-en-3-one (13b) (화학식 13b)**

[227] 화합물 13b는 화합물 13a 합성 방법에 상술한 바와 동일하나, 3,4-difluorobenzaldehyde 대신 vanillin (500 mg, 3.29 mmol)을 이용하여 30% 수율로 노랑색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.44 (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.48 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.10 (dd, J = 1.6 and 8.2 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 6.00 (brs, 1H), 3.93 (s, 3H), 2.64 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.81-1.69 (m, 2H), 1.49-1.21 (m, 4H), 0.87 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 200.93, 148.23, 146.94, 142.74, 127.05, 124.06, 123.38, 114.88, 109.52, 55.95, 40.64, 31.56, 24.26, 22.52, 13.97. HRMS m/z calculated for $C_{15}H_{20}O_3$ $[M-H]^-$: 247.1339; found: 247.1406. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 18.10 min, method H, t_R = 13.32 min).

[228]

[229] **1-(3,4-Difluorophenyl)octan-3-one (14a) (화학식 14a)**

[230] 화합물 14a는 화합물 13a (30 mg, 0.126 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 76% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.77 (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.10-7.01 (m, 1H), 7.01-6.94 (m, 1H), 6.92-6.82 (m, 1H), 2.85 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.70 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.37 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.59-1.51 (m, 2H), 1.34-1.19 (m, 4H), 0.88 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 209.73, 151.00, 150.92, 149.70, 149.62, 149.36, 149.28, 148.07, 147.99, 138.20, 138.17, 138.14, 124.24, 124.22, 124.21, 124.19, 117.21, 117.12, 117.10, 117.01, 43.80, 43.05, 31.36, 28.80, 23.47, 22.43, 13.89. HRMS m/z calculated for $C_{14}H_{18}F_2O$ $[M-H]^-$: 239.1253; found: 239.1288. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method H, t_R = 10.08 min, method I, t_R = 11.68 min).

[231]

[232] **1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)octan-3-one (14b) (화학식 14b)**

[233] 화합물 14b는 화합물 13b (21 mg, 0.085 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 75% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.51 (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 6.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.67 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.47 (brs, 1H), 3.87 (s, 3H), 2.82 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.69 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.37 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 1.68-1.51 (m, 2H), 1.38-1.21 (m, 6H), 0.87 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 210.65, 146.38, 143.87, 133.15, 120.78, 114.31, 111.06, 55.88, 44.63, 43.12, 31.40, 30.33, 29.71, 29.56, 23.50, 22.46, 13.92. HRMS m/z calculated for $C_{15}H_{22}O_3$ $[M-H]^-$: 249.1496; found: 249.1531. >95% purity (as

determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 17.50$ min, method H, $t_R = 9.64$ min).

[234]

[235] **(E)-1-(3,4-Difluorophenyl)oct-1-en-3-ol (15a) (화학식 15a)**

[236] MeOH (8 mL)를 용매로 하는 교반된 화합물 13a (55.0 mg, 0.231 mmol) 용액을 0 °C에서 NaBH₄ (12.2 mg, 0.315 mmol)에 첨가하였다. 상기 반응물을 실온에서 1 시간동안 교반하고, 농축한 후, EtOAc (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고, MgSO₄로 건조한 후, 여과하고, 감압 하 농축하였다. 잔여물은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 8:1, v/v) 화합물 15a를 94% 수율로 무색 오일로서 수득하였다. $R_f = 0.51$ (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.23-7.16 (m, 1H), 7.14-7.06 (m, 2H), 6.50 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.16 (dd, J = 6.5 and 13.1 Hz, 1H), 4.29 (q, J = 6.5 Hz, 1H), 1.78 (brs, 1H), 1.71-1.55 (m, 2H), 1.51-1.25 (m, 6H), 0.92 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 151.25, 150.65, 150.57, 149.70, 149.61, 149.00, 148.92, 134.12, 134.08, 134.05, 133.76, 133.75, 128.02, 122.66, 122.64, 122.62, 122.60, 117.34, 117.23, 114.79, 114.68, 72.73, 37.35, 31.76, 25.10, 22.60, 14.03. HRMS m/z calculated for C₁₄H₁₈F₂O [M-H]⁺: 239.1253; found: 239.1290. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, $t_R = 10.05$ min, method I, $t_R = 9.67$ min).

[237]

[238] **(E)-4-(3-Hydroxyoct-1-en-1-yl)-2-methoxyphenol (15b) (화학식 15b)**

[239] 화합물 15b는 화합물 15a 합성 방법에 상술한 바와 동일하나, 화합물 13a 대신 화합물 15a를 이용하여 90% 수율로 갈색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.36$ (Hexane/EtOAc = 2:1, v/v). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.94 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 6.92-6.88 (m, 2H), 6.50 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 6.08 (q, J = 7.1 Hz, 1H), 5.67 (s, 1H), 4.27 (dd, J = 6.5 and 13.3 Hz, 1H), 3.93 (s, 3H), 1.72-1.58 (m, 4H), 1.37-1.30 (m, 4H), 0.92 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 146.63, 145.52, 130.33, 130.31, 129.33, 120.29, 114.4, 108.27, 73.33, 55.90, 37.42, 31.81, 25.21, 22.63, 14.07. HRMS m/z calculated for C₁₅H₂₂O₃ [M-H]⁺: 249.1496; found: 249.1525. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 11.86$ min, method H, $t_R = 9.02$ min).

[240]

[241] **1-(3,4-Difluorophenyl)octan-3-ol (16a) (화학식 16a)**

[242] 화합물 16a는 화합물 15a (30 mg, 0.125 mmol)를 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 60% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.58$ (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.09-7.02 (m, 1H), 7.02-6.96 (m, 1H), 6.93-6.86 (m, 1H), 3.64-3.55 (m, 1H), 2.81-2.72 (m, 1H), 2.67-2.59 (m, 1H), 1.80-1.64 (m, 2H), 1.53-1.23 (m, 9H), 0.89 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 151.02, 150.94, 149.54, 149.45, 149.38, 149.30, 147.91, 147.83, 139.23, 139.20, 139.17, 124.18, 124.16, 124.14, 124.12, 117.14, 117.03, 117.01, 116.90, 71.09, 38.80, 37.68, 31.84, 31.24, 25.28, 22.62, 14.02. HRMS m/z calculated for C₁₄H₂₀F₂O [M-H]⁺:

241.1409; found: 241.1452. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 12.84 min, method I, t_R = 14.86 min).

[243]

[244] **4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-methoxybenzaldehyde (17)**

[245] 무수 CH_2Cl_2 (50 mL)에 vanillin (1.00 g, 6.57 mmol)을 녹인 후 교반하고, 0 °C에서 imidazole (1.29 g, 18.96 mmol) 및 tert-butyldimethylsilyl chloride (1.42 g, 9.39 mmol)를 첨가하였다. 상기 반응물을 아르곤 하, 실온에서 16 시간동안 교반하고, 물에 킁칭한 후, CH_2Cl_2 (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고, MgSO_4 로 건조하고, 여과한 후, 감압 하 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 4:1, v/v) 화합물 17을 94% 수율로 무색 오일로서 수득하였다. R_f = 0.89 (Hexane/EtOAc = 1:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 9.85 (s, 1H), 7.40 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 4.0 and 8.0 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 1.00 (s, 9H), 0.20 (s, 6H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 191.19, 151.80, 151.51, 131.09, 126.40, 120.87, 110.25, 55.61, 25.74, 18.66, -4.41.

[246]

[247] **tert-Butyl(4-(2,2-dibromovinyl)-2-methoxyphenoxy)dimethylsilane (18)**

[248] 무수 CH_2Cl_2 (30 mL)에 CBr_4 (3.37 g, 10.14 mmol)을 녹인 후 교반하고, 0 °C에서 천천히 PPh_3 (5.32 g, 20.28 mmol)에 첨가하였다. 아르곤 하에서 동일 온도에서 1 시간동안 교반한 후, 무수 CH_2Cl_2 (10 mL)에 있는 화합물 17 (1.35 g, 5.07 mmol)을 10 분이상 천천히 첨가하였다. 상기 반응물을 아르곤 하에서 2 시간동안 교반하고, CH_2Cl_2 (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고, MgSO_4 로 건조하고, 감압 하 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 15:1, v/v) 화합물 18을 98 % 수율로 무색 오일로서 수득하였다. R_f = 0.87 (Hexane/EtOAc = 8:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (s, 1H), 7.19 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.03 (dd, J = 4.1 and 8.3 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 1.02 (s, 9H), 0.19 (s, 6H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 150.62, 145.64, 136.59, 128.77, 121.96, 120.68, 112.03, 87.10, 55.51, 25.69, 25.66, 18.47, -4.58.

[249]

[250] **4-(2,2-Dibromovinyl)-1,2-difluorobenzene (28)**

[251] 화합물 28는 화합물 18 합성 방법에 상술한 바와 동일하나, 화합물 17 대신 3,4-difluorobenzaldehyde (1.35 g, 9.50 mmol)를 이용하여 97% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). R_f = 0.85 (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.46 (q, J = 9.6 Hz, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.23-7.20 (m, 1H), 7.15 (q, J = 9.1 Hz, 1H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.01, 150.94, 150.86, 149.35, 149.29, 149.27, 149.21, 134.73, 132.19, 132.15, 125.18, 125.15, 125.13,

125.11, 117.42, 117.30, 117.26, 117.14, 116.60, 91.07, 91.06.

[252]

[253] **tert-Butyl(4-ethynyl-2-methoxyphenoxy)dimethylsilane (19)**

[254] 무수 THF (20 mL)를 용매로 하는 교반된 화합물 18 (1.41 g, 3.34 mmol)을 -78 °C에서 n-BuLi (1.6 M in hexanes, 5.30 mL, 8.35 mmol)에 첨가하였다. 상기 반응물을 아르곤 하에서 동일 온도에서 2 시간동안 교반하고, 수용액 NH₄Cl (10 mL)로 퀀칭하고, EtOAc (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층은 물로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 감압 하 농축하였다. 잔여물은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 16:1 to 10:1, v/v) 화합물 19를 96% 수율로 무색 오일로서 수득하였다. R_f = 0.80 (Hexane/EtOAc = 8:1, v/v). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.00 (dd, J = 4.0 and 8.1 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 2.99 (s, 1H), 0.99 (s, 9H), 0.15 (s, 6H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 150.66, 146.23, 125.46, 120.90, 115.66, 115.04, 83.96, 75.57, 55.45, 25.67, 18.47, -4.64.

[255]

[256] **4-Ethynyl-1,2-difluorobenzene (29)**

[257] 무수 THF (40 mL)를 용매로 하는 교반된 화합물 28 (800 mg, 2.69 mmol)을 -78 °C에서 n-BuLi (1.6 M in hexanes, 4.30 mL, 6.71 mmol)에 첨가하였다. 상기 반응물을 아르곤 하에서 동일 온도에서 2 시간동안 교반하고, 수용액 NH₄Cl (10 mL)로 퀀칭하고, hexane (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 여과한 후, 저온(20 °C)에서 감압 하 농축함으로써 추가적인 정제 없이 다음 단계에서 사용하게 될 화합물 29를 제조하였다.

[258]

[259] **화합물 20, 및 30-32의 일반적인 제조방법 C**

[260] THF (40 mL)를 용매로 하는 교반된 적절한 ethynylbenzene (400 mg) 용액을 -78 °C에서 n-BuLi (1.1 eq.)를 첨가하였다. 상기 용액을 아르곤 하에서 동일 온도에서 1 시간동안 교반하고, 적절한 Weinreb amides (1.5 eq.)을 천천히 적하하였다. 상기 반응물을 아르곤 하, 동일 온도에서 TLC 분석 결과가 출발물질이 생성물질로 완전한 전환(conversion)을 나타낼 때까지(일반적으로 10-12 시간) 교반하고, 수용액 NH₄Cl (10 mL)으로 퀀칭하고, EtOAc (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층은 소금물(brine)로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 여과한 후, 감압 하에 농축하였다. 잔여물은 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/ether = 120:1 to 80:1, v/v) 화합물 20, 및 30-32를 수득하였다.

[261]

[262] **1-(4-((tert-Butyldimethylsilyloxy)-3-methoxyphenyl)oct-1-yn-3-one (20)**

[263] 화합물 20은 화합물 19 (400 mg, 1.52 mmol) 및 N-methoxy-N-methylhexanamide (364 mg, 2.28 mmol)를 이용하여 일반적인 제조방법 C에 상술한 바와 같이 75% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.75 (Hexane/EtOAc = 8:1, v/v). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.12 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H),

3.82 (s, 3H), 2.65 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.77-1.75 (m, 2H), 1.38-1.37 (m, 4H), 1.00 (s, 9H), 0.93 (t, J = 6.5 Hz, 3H), 0.18 (s, 6H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 188.36, 150.90, 148.19, 127.18, 121.14, 116.48, 112.74, 91.88, 87.48, 55.51, 45.41, 31.21, 25.62, 23.99, 22.43, 18.48, 13.92, -4.59.

[264]

[265] **1-(3,4-Difluorophenyl)hex-1-yn-3-one (30) (화학식 30)**

[266] 화합물 30은 화합물 29 (400 mg, 2.90 mmol) 및 N-methoxy-N-methylhexanamide (577 mg, 4.40 mmol)를 이용하여 일반적인 제조방법 C에 상술한 바와 같이 72% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.69 (Hexane/Ether = 6:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.36-7.32 (m, 1H), 7.19 (q, J = 8.4 Hz, 1H), 2.64 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.82-1.72 (m, 2H), 1.00 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 187.63, 152.92, 152.84, 151.23, 151.14, 150.93, 150.84, 149.26, 149.18, 130.06, 130.04, 130.02, 130.00, 121.97, 121.85, 118.06, 117.94, 116.94, 116.91, 116.89, 116.86, 87.83, 87.53, 47.29, 17.55, 13.48. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{F}_2\text{O}$ [M-H] $^-$: 207.0627; found: 207.0630. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 8.91 min, method I, t_R = 5.56 min).

[267]

[268] **1-(3,4-Difluorophenyl)hept-1-yn-3-one (31) (화학식 31)**

[269] 화합물 31은 화합물 29 (400 mg, 2.90 mmol) 및 N-methoxy-N-methylhexanamide (577 mg, 4.40 mmol)를 이용하여 일반적인 제조방법 C에 상술한 바와 같이 88% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.72 (Hexane/Ether = 6:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.36-7.29 (m, 1H), 7.19 (q, J = 8.4 Hz, 1H), 2.66 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.76-1.68 (m, 2H), 1.44-1.35 (m, 2H), 0.95 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 187.82, 152.96, 152.88, 151.27, 151.19, 150.97, 150.88, 149.31, 149.22, 130.07, 130.05, 130.03, 130.00, 122.03, 121.90, 118.09, 117.97, 116.88, 87.89, 87.60, 45.21, 26.12, 22.14, 13.87. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{O}$ [M-H] $^-$: 221.0783; found: 221.0813. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 12.70 min, method I, t_R = 7.93 min).

[270]

[271] **1-(3,4-Difluorophenyl)oct-1-yn-3-one (32) (화학식 32)**

[272] 화합물 32는 화합물 29 (400 mg, 2.90 mmol) 및 N-methoxy-N-methylhexanamide (577 mg, 4.40 mmol)를 이용하여 일반적인 제조방법 C에 상술한 바와 같이 72% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.79 (Hexane/EtOAc = 6:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.36-7.29 (m, 1H), 7.19 (q, J = 8.4 Hz, 1H), 2.65 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.77-1.69 (m, 2H), 1.41-1.30 (m, 4H), 0.92 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 187.87, 152.89, 151.28, 150.89, 149.23, 130.07, 130.04, 130.02, 130.00, 122.03, 121.91, 118.10, 117.97, 116.96, 87.89, 87.62, 45.46, 31.13, 23.74, 22.39, 13.89. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{O}$ [M-H] $^-$: 235.0940;

found: 235.0971. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 18.50 min, method I, t_R = 12.86 min).

[273]

[274] **화합물 21, 23a, 23b, 23c, 25, 및 27의 일반적인 제조방법 D**

[275] 교반된 실릴 기(silyl)로 보호된 화합물을 무수 THF 용액에 녹인 후 0 °C에서 tetrabutylammonium fluoride solution (1M in THF, 2.0 eq.)에 첨가하였다. 상기 반응물을 아르곤 하에서 동일 온도에서 TLC 분석 결과가 출발물질이 생성물질로 완전한 전환(conversion)을 나타낼 때까지(일반적으로 1 시간) 교반하고, 수용액 NH_4Cl (10 mL)로 퀀칭하고, EtOAc (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층을 소금물(brine)로 세척하고, MgSO_4 로 건조하고, 여과한 후, 감압 하 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc) 화합물을 수득하였다.

[276]

[277] **1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)oct-1-yn-3-one (21) (화학식 21)**

[278] 화합물 21은 화합물 20을 이용하여 일반적인 제조방법 D에 상술한 바와 같이 94% 수율로 흰색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.21 (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.17 (dd, J = 1.8 and 7.8 Hz, 1H), 7.06 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 7.8 Hz), 5.99 (brs, 1H), 3.91 (s, 3H), 2.64 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 1.77-1.71 (m, 2H), 1.42-1.33 (m, 4H), 0.92 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 188.40, 148.53, 146.35, 128.02, 115.18, 114.87, 111.33, 91.93, 87.29, 56.10, 45.37, 31.20, 23.98, 22.43, 13.92. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_3$ [M-H]⁻ : 245.1183; found: 245.1261. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method F, t_R = 5.67 min, method H, t_R = 19.33 min).

[279]

[280] **4-(3-Hydroxyoct-1-yn-1-yl)-2-methoxyphenol (23a) (화학식 23)**

[281] 화합물 23a은 화합물 22a를 이용하여 일반적인 제조방법 D에 상술한 바와 같이 94% 수율로 흰색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.21 (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.98 (dd, J = 1.8 and 15.6 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.77 (brs, 1H), 4.58 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 1.92 (brs, 1H), 1.89-1.79 (m, 2H), 1.45-1.32 (m, 4H), 0.91 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 146.28, 146.13, 125.66, 114.49, 114.23, 113.95, 88.33, 84.97, 63.09, 55.98, 37.97, 31.50, 24.95, 22.59, 14.03. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$ [M-H]⁻ : 247.1339; found: 247.1397. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 12.46 min, method H, t_R = 10.92 min).

[282]

[283] **(R)-4-(3-Hydroxyoct-1-yn-1-yl)-2-methoxyphenol (23b) (화학식 23)**

[284] 화합물 23b는 화합물 22b를 이용하여 일반적인 제조방법 D에 상술한 바와 같이 94% 수율로 흰색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.21 (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). ^1H

NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.98 (dd, J = 1.7 and 8.2 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 5.72 (brs, 1H), 4.58 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H), 1.87-1.73 (m, 3H), 1.58-1.47 (m, 2H), 1.39-1.30 (m, 4H), 0.91 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 146.29, 146.12, 125.67, 114.46, 114.23, 113.93, 88.32, 84.97, 63.10, 55.98, 37.98, 31.50, 24.94, 22.59, 14.03. HRMS m/z calculated for C₁₅H₂₀O₃ [M-H]⁻: 247.1339; found: 247.1397. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 7.43 min, method H, t_R = 10.95 min).

[285]

[286] **(S)-4-(3-Hydroxyoct-1-yn-1-yl)-2-methoxyphenol (23c) (화학식 23)**

[287] 화합물 23c는 화합물 22c를 이용하여 일반적인 제조방법 D에 상술한 바와 같이 93% 수율로 노랑색 오일로서 제조하였다. R_f = 0.21 (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.97 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.58 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 1.89-1.76 (m, 2H), 1.63-1.55 (m, 2H), 1.43-1.31 (m, 4H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 146.30, 146.15, 125.65, 114.50, 114.21, 113.96, 88.34, 84.97, 63.09, 55.97, 37.97, 31.50, 24.95, 22.59, 14.03. HRMS m/z calculated for C₁₅H₂₀O₃ [M-H]⁻: 247.1339; found: 247.1415. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, t_R = 7.70 min, method H, t_R = 10.95 min).

[288]

[289] **1-(4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-methoxyphenyl)oct-1-yn-3-ol (22a)**

[290] MeOH 15 mL를 용매로 하는 교반된 화합물 20 (210 mg, 0.582 mmol) 용액을 0 °C에서 NaBH₄ (33.0 mg, 0.874 mmol)에 첨가하였다. 상기 반응물을 아르곤 하에서 실온에서 1 시간동안 교반하고, 농축한 후, EtOAc (3 X 25 mL)로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고, MgSO₄로 건조하고, 여과한 후, 감압 하에 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 8:1, v/v) 화합물 22a를 77% 수율로 무색 오일로서 수득하였다. R_f = 0.59 (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.94-6.92 (m, 2H), 6.77 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.58 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 1.92 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 1.81-1.76 (m, 2H), 1.53-1.49 (m, 2H), 1.35-1.34 (m, 4H), 0.98 (s, 9H), 0.91 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 0.15 (s, 6H); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ 150.66, 145.84, 124.96, 120.90, 115.69, 115.31, 88.72, 85.01, 63.08, 55.44, 37.97, 31.51, 25.68, 24.95, 22.60, 18.47, 14.04, -4.65.

[291]

[292] **(Z)-4-(3-Hydroxyoct-1-en-1-yl)-2-methoxyphenol (25) (화학식 25)**

[293] MeOH (3 mL) 를 용매로 하는 화합물 22a (70.0 mg, 0.19 mmol) 용액을 quinoline (7 mg, 0.06 mmol) 및 Lindlar catalyst (7 mg, 0.02 mmol)에 첨가하고, 상기 반응물을 수소(hydrogen (balloon)) 하에서 0 °C에서 1 시간동안 교반하였다. 화합물 22a (TLC, toluene/EtOAc = 10:1, v/v)의 완전한 전환(conversion) 이후, 상기

반응물을 Celite 패드를 통해 여과하고, MeOH (3 X 5 mL)로 세척하였다. 상기 여과물을 감압 하에 농축하여 수득한 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 (toluene/EtOAc = 10:1, v/v) 화합물 24를 무색 오일로서 수득하였다. $R_f = 0.36$ (toluene/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.83 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.77 (dd, $J = 1.8$ and 8.1 Hz, 1H), 6.46 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 5.57 (dd, $J = 9.0$ and 12.0 Hz, 1H), 4.60 (dd, $J = 7.2$ and 15.3 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 1.69-1.62 (m, 1H), 1.61 (brs, 1H), 1.59-1.52 (m, 1H), 1.46-1.21 (m, 6H), 1.00 (s, 9H), 0.88 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H), 0.16 (s, 6H).

- [294] 화합물 25는 화합물 24를 이용하여 일반적인 제조방법 D에 상술한 바와 같이 70% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.21$ (toluene/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.88-6.86 (m, 1H), 6.85-6.81 (m, 1H), 6.48 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 5.64 (s, 1H), 5.57 (dd, $J = 9.0$ and 11.7 Hz, 1H), 4.56-4.51 (m, 1H), 3.90 (s, 3H), 1.71-1.63 (m, 1H), 1.61-1.54 (m, 1H), 1.52 (brs, 1H), 1.46-1.23 (m, 6H), 0.88 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 146.36, 145.14, 133.27, 131.25, 129.15, 122.29, 114.34, 111.50, 68.20, 56.01, 37.94, 31.94, 25.31, 22.74, 14.13. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 249.1496; found: 249.1523. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 11.09$ min, method H, $t_R = 8.78$ min).

[295]

[296] **1-(4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-methoxyphenyl)octan-3-ol (26)**

- [297] 화합물 26은 화합물 22a(33.0 mg, 0.091 mmol)를 이용하여 일반적인 제조방법 B에 상술한 바와 같이 94% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.60$ (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.75 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.64 (dd, $J = 2.0$ and 8.0 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.65-3.57 (m, 1H), 2.75-2.66 (m, 1H), 2.64-2.55 (m, 1H), 1.81-1.66 (m, 2H), 1.54-1.38 (m, 3H), 1.38-1.22 (m, 6H), 0.99 (s, 9H), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 0.14 (s, 6H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 150.75, 143.04, 135.66, 120.72, 120.41, 112.50, 71.50, 55.50, 39.22, 37.59, 31.89, 31.81, 25.76, 25.32, 22.65, 18.45, 14.06, -4.63.

[298]

[299] **1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)octan-3-one (27) (화학식 27)**

- [300] 화합물 27은 화합물 26(32.0 mg, 0.087 mmol)를 이용하여 일반적인 제조방법 D에 상술한 바와 같이 94% 수율로 흰색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.21$ (Hexane/EtOAc = 5:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.83 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.72-6.67 (m, 2H), 5.50 (brs, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.65-3.59 (m, 1H), 2.77-2.69 (m, 1H), 2.65-2.55 (m, 1H), 1.82-1.66 (m, 2H), 1.53-1.37 (m, 4H), 1.37-1.22 (m, 6H), 0.89 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 146.41, 143.68, 134.13, 120.90, 114.26, 110.99, 71.52, 55.88, 39.37, 37.59, 31.89, 31.80, 25.30, 22.64, 14.05. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_3$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 251.1652; found: 251.1683. >95% purity (as

determined by RP-HPLC, method C, $t_R = 5.37$ min, method G, $t_R = 29.83$ min).

[301]

[302] **1-(3,4-Difluorophenyl)hex-1-yn-3-ol (33a) (화학식 33)**

[303] 화합물 33a는 화합물 22a합성 방법에 상술한 바와 동일하나, 화합물 20 대신 화합물 30 (50.0 mg, 0.240 mmol)을 이용하여 88% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.25$ (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.26-7.20 (m, 1H), 7.18-7.13 (m, 1H), 7.12-7.05 (m, 1H), 4.59 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 2.11 (brs, 1H), 1.83-1.72 (m, 2H), 1.59-1.49 (m, 2H), 0.98 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.46, 151.37, 150.78, 150.69, 149.79, 149.71, 149.13, 149.04, 135.49, 128.34, 128.31, 128.30, 128.27, 120.69, 120.56, 119.56, 119.53, 119.51, 119.48, 117.48, 117.36, 90.77, 90.75, 82.73, 62.63, 39.83, 18.48, 13.74. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{O}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 209.0783; found: 209.0820. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, $t_R = 5.43$ min, method I, $t_R = 4.90$ min).

[304]

[305] **1-(3,4-Difluorophenyl)hept-1-yn-3-ol (34a) (화학식 34)**

[306] 화합물 34a는 화합물 22a합성 방법에 상술한 바와 동일하나, 화합물 20 대신 화합물 31 (17.0 mg, 0.076 mmol)을 이용하여 80% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.29$ (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.26-7.21 (m, 1H), 7.18-7.14 (m, 1H), 7.10 (q, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.57 (dd, $J = 6.4$ and 12.3 Hz, 1H), 1.88 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 1.85-1.73 (m, 2H), 1.55-1.43 (m, 2H), 1.43-1.34 (m, 2H), 0.94 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.39, 150.79, 150.71, 149.81, 149.72, 149.15, 128.36, 128.33, 128.31, 128.29, 120.71, 120.59, 119.56, 119.50, 117.50, 117.38, 90.76, 82.75, 62.89, 37.50, 27.34, 22.38, 14.01. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{O}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 223.0940; found: 223.0966. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, $t_R = 7.35$ min, method I, $t_R = 6.77$ min).

[307]

[308] **1-(3,4-Difluorophenyl)oct-1-yn-3-ol (35a) (화학식 35)**

[309] 화합물 35a는 화합물 22a합성 방법에 상술한 바와 동일하나, 화합물 20 대신 화합물 32 (58.0 mg, 0.245 mmol)을 이용하여 86% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. $R_f = 0.35$ (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.26-7.20 (m, 1H), 7.18-7.13 (m, 1H), 7.09 (q, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.57 (dd, $J = 6.4$ and 12.3 Hz, 1H), 2.00 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 1.86-1.71 (m, 2H), 1.57-1.43 (m, 2H), 1.40-1.21 (m, 4H), 0.91 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.38, 150.79, 150.70, 149.80, 149.71, 149.14, 149.05, 128.35, 128.32, 128.31, 128.28, 120.70, 120.57, 119.56, 119.54, 119.51, 119.49, 117.49, 117.37, 90.78, 82.74, 62.89, 37.74, 31.45, 24.87, 22.56, 14.00. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{O}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 237.1096; found: 237.1138. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, $t_R = 10.34$ min, method I, $t_R = 9.96$ min).

[310]

[311] **화합물 22b, 22c, 33b, 34b, 35b, 33c, 34c, 및 35c의 일반적인 제조방법 E**

[312] 2-propanol을 용매로 하는 0.1 M의 이논(ynone) 화합물 용액을 KOH 및 촉매에 ynone : catalyst : KOH = 200:1:1.2 비율로 첨가하였다. 상기 반응물의 TLC 분석 결과가 출발물질이 생성물질로 완전한 전환(conversion)을 나타낼 때까지(일반적으로 4 시간) 교반하였고, 감압 하 농축하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 입체선택적 화합물(stereoselective compounds)을 수득하였다. 카이랄 컬럼(chiral column; CHIRALPAK IG, 10% ethanol in hexane)을 사용하여 카이랄 HPLC 분석 결과를 기반으로 거울상이성질 과잉(enantiomeric excess, ee) 값을 결정하였다.

[313]

[314] **(R)-1-(4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-methoxyphenyl)oct-1-yn-3-ol (22b)**

[315] 화합물 22b는 2-propanol (4.16 mL)에서 화합물 20 (150 mg, 0.416 mmol), RuCl[(R,R)-TsDPEN(mesitylene)] (1.29 mg, 2.08 μ mol) 및 KOH (0.138 mg, 2.50 μ mol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 88% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 12:1, v/v) 화합물 22b를 수득하였다. R_f = 0.59 (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.94-6.92 (m, 2H), 6.77 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.58 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 1.90 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 1.81-1.76 (m, 2H), 1.53-1.50 (m, 2H), 1.36-1.33 (m, 4H), 0.98 (s, 9H), 0.91 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 0.15 (s, 6H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 150.66, 145.84, 124.95, 120.90, 115.68, 115.30, 88.71, 85.02, 63.09, 55.44, 37.97, 31.51, 25.68, 24.95, 22.60, 18.47, 14.04, -4.65.

[316]

[317] **(S)-1-(4-((tert-Butyldimethylsilyl)oxy)-3-methoxyphenyl)oct-1-yn-3-ol (22c)**

[318] 화합물 22c는 2-propanol (4.16 mL)에서 화합물 20 (150 mg, 0.416 mmol), RuCl[(S,S)-TsDPEN(mesitylene)] (1.29 mg, 2.08 μ mol) 및 KOH (0.138 mg, 2.50 μ mol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 68% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 12:1, v/v) 화합물 22c를 수득하였다. R_f = 0.59 (Hexane/EtOAc = 4:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 6.94-6.92 (m, 2H), 6.77 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.58 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 1.91 (s, 1H), 1.81-1.76 (m, 2H), 1.53-1.49 (m, 2H), 1.35-1.34 (m, 4H), 0.98 (s, 9H), 0.91 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 0.15 (s, 6H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 150.66, 145.84, 124.95, 120.90, 115.68, 115.31, 88.71, 85.01, 63.08, 55.44, 37.97, 31.51, 25.68, 24.95, 22.60, 18.47, 14.04, -4.65.

[319]

[320] **(R)-1-(3,4-Difluorophenyl)hex-1-yn-3-ol (33b) (화학식 33)**

[321] 화합물 33b는 2-propanol (4.8 mL)에서 화합물 30(100 mg, 0.48 mmol),

RuCl[(R,R)-TsDPEN(mesitylene)] (1.49 mg, 2.40 μ mol) 및 KOH (0.16 mg, 2.90 μ mol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 86% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 20:1, v/v) 화합물 33b를 수득하였다. R_f = 0.25 (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.25-7.19 (m, 1H), 7.18-7.13 (m, 1H), 7.12-7.04 (m, 1H), 4.59 (t, J = 2.9 Hz, 1H), 2.18 (brs, 1H), 1.83-1.72 (m, 2H), 1.58-1.49 (m, 2H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.45, 151.37, 150.78, 150.69, 149.79, 149.70, 149.12, 149.04, 128.34, 128.31, 128.29, 128.27, 120.68, 120.56, 119.56, 119.53, 119.51, 119.48, 117.48, 117.36, 90.77, 90.76, 82.72, 62.62, 39.83, 18.49, 13.74. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{O}$ [M-H] $^-$: 209.0783; found: 209.0811. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 5.42 min, method I, t_R = 4.86 min).

[322]

[323] **(R)-1-(3,4-Difluorophenyl)hept-1-yn-3-ol (34b) (화학식 34)**

[324] 화합물 34b는 2-propanol (4.5 mL)에서 화합물 31 (100 mg, 2.30 mmol), RuCl[(R,R)-TsDPEN(mesitylene)] (1.40 mg, 2.30 μ mol) 및 KOH (0.15 mg, 2.70 μ mol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 82% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 20:1, v/v) 화합물 34b를 수득하였다. R_f = 0.29 (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.26-7.19 (m, 1H), 7.19-7.13 (m, 1H), 7.12-7.05 (m, 1H), 4.57 (t, J = 2.9 Hz, 1H), 2.18 (brs, 1H), 1.85-1.74 (m, 2H), 1.53-1.45 (m, 2H), 1.42-1.34 (m, 2H), 0.94 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 150.78, 150.69, 149.79, 149.70, 149.12, 149.04, 128.34, 128.32, 128.30, 128.28, 120.69, 120.56, 119.54, 119.49, 117.48, 117.36, 90.80, 82.71, 62.85, 37.48, 27.35, 22.37, 13.99. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{O}$ [M-H] $^-$: 223.0940; found: 223.0973. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 7.32 min, method I, t_R = 6.64 min).

[325]

[326] **(R)-1-(3,4-Difluorophenyl)oct-1-yn-3-ol (35b) (화학식 35)**

[327] 화합물 35b는 2-propanol (4.2 mL)에서 화합물 32 (100 mg, 0.42 mmol), RuCl[(R,R)-TsDPEN(mesitylene)] (1.31 mg, 2.10 μ mol) 및 KOH (0.14 mg, 2.50 μ mol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 80% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 20:1, v/v) 화합물 35b를 수득하였다. R_f = 0.35 (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.25-7.21 (m, 1H), 7.20-7.15 (m, 1H), 7.14-7.03 (m, 1H), 4.57 (dd, J = 6.0 and 10.8 Hz, 1H), 2.28 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 1.89-1.72 (m, 2H), 1.58-1.42 (m, 2H), 1.38-1.33 (m, 4H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.45, 151.36, 150.77, 150.69, 149.78,

149.70, 149.12, 149.04, 128.33, 128.31, 128.29, 128.27, 120.68, 120.55, 119.58, 119.55, 119.53, 119.50, 117.47, 117.35, 90.82, 82.70, 62.85, 37.72, 31.44, 24.88, 22.56, 13.98. HRMS m/z calculated for $C_{14}H_{16}F_2O$ $[M-H]^-$: 237.1096; found: 237.1139. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 10.26 min, method I, t_R = 11.03 min).

[328]

[329] **(S)-1-(3,4-Difluorophenyl)hex-1-yn-3-ol (33c) (화학식 33)**

[330] 화합물 33c는 2-propanol (4.8 mL)에서 화합물 30 (100 mg, 0.48 mmol), $RuCl[(S,S)\text{-TsDPEN(mesitylene)}]$ (1.49 mg, 2.40 μmol) 및 KOH (0.16 mg, 2.90 μmol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 86% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 20:1, v/v) 화합물 33c를 수득하였다. R_f = 0.25 (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.26-7.18 (m, 1H), 7.18-7.12 (m, 1H), 7.12-7.03 (m, 1H), 4.59 (t, J = 2.9 Hz, 1H), 2.39 (brs, 1H), 1.84-1.72 (m, 2H), 1.59-1.47 (m, 2H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 151.44, 151.36, 150.76, 150.68, 149.77, 149.69, 149.12, 149.03, 128.33, 128.30, 128.28, 128.26, 120.67, 120.54, 119.57, 119.54, 119.52, 119.49, 117.46, 117.35, 90.79, 82.71, 82.69, 62.59, 39.81, 18.49, 13.72. HRMS m/z calculated for $C_{12}H_{12}F_2O$ $[M-H]^-$: 209.0783; found: 209.0816. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 5.42 min, method I, t_R = 4.88 min).

[331]

[332] **(S)-1-(3,4-Difluorophenyl)hept-1-yn-3-ol (34c) (화학식 34)**

[333] 화합물 29c는 2-propanol (4.5 mL)에서 화합물 31 (100 mg, 0.45 mmol), $RuCl[(S,S)\text{-TsDPEN(mesitylene)}]$ (1.4 mg, 2.30 μmol) 및 KOH (0.15 mg, 2.70 μmol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 82% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 20:1, v/v) 화합물 34c를 수득하였다. R_f = 0.29 (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ 7.26-7.19 (m, 1H), 7.19-7.12 (m, 1H), 7.12-7.04 (m, 1H), 4.57 (t, J = 2.9 Hz, 1H), 2.37 (brs, 1H), 1.86-1.72 (m, 2H), 1.54-1.43 (m, 2H), 1.43-1.34 (m, 2H), 0.93 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ 151.44, 151.36, 150.77, 150.68, 149.77, 149.69, 149.12, 149.03, 128.33, 128.31, 128.29, 128.27, 120.67, 120.55, 119.58, 119.55, 119.53, 119.50, 117.46, 117.34, 90.83, 90.82, 82.69, 62.82, 37.47, 27.35, 22.37, 13.97. HRMS m/z calculated for $C_{13}H_{14}F_2O$ $[M-H]^-$: 223.0940; found: 223.0971. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 7.32 min, method I, t_R = 6.72 min).

[334]

[335] **(S)-1-(3,4-Difluorophenyl)oct-1-yn-3-ol (35c) (화학식 35)**

[336] 화합물 35c는 2-propanol (4.2 mL)에서 화합물 32 (100 mg, 0.42 mmol),

RuCl[(S,S)-TsDPEN(mesitylene)] (1.31 mg, 2.10 μ mol) 및 KOH (0.14 mg, 2.50 μ mol)와 함께 일반적인 제조방법 E에 상술한 바와 같이 82% 수율로 무색 오일로서 제조하였다. 잔여물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 정제하여(Hexane/EtOAc = 20:1, v/v) 화합물 35c를 수득하였다. R_f = 0.35 (Hexane/EtOAc = 10:1, v/v). ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 7.26-7.19 (m, 1H), 7.19-7.12 (m, 1H), 7.12-7.04 (m, 1H), 4.57 (t, J = 2.9 Hz, 1H), 2.31 (brs, 1H), 1.85-1.72 (m, 2H), 1.56-1.44 (m, 2H), 1.39-1.28 (m, 4H), 0.90 (t, J = 7.2 Hz, 3H); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ 151.44, 151.36, 150.77, 150.68, 149.78, 149.69, 149.12, 149.04, 128.33, 128.31, 128.29, 128.26, 120.67, 120.55, 119.58, 119.55, 119.53, 119.50, 117.47, 117.35, 90.82, 82.70, 62.85, 37.72, 31.44, 24.88, 22.56, 13.97. HRMS m/z calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{O}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$: 237.1096; found: 237.1137. >95% purity (as determined by RP-HPLC, method E, t_R = 10.31 min, method I, t_R = 9.79 min).

[337]

[338] [카이랄 HPLC 분석(Chiral HPLC analysis)]

[339] 화합물의 거울상이성질 과잉(enantiomeric excess, ee)는 카이랄 컬럼(chiral column) (CHIRALPAK IG (4.6 i.d X 250 mm)을 사용하여 카이랄 HPLC 분석을 통해 결정하였다. 크로마토그래피 분석은 하기 두 방법 A 및 B에 의해 고성능 액상 크로마토그래피 (high-performance liquid chromatography) (Agilent 1260 series)로 수행하였다. 방법 A는 hexane (v/v)에서 10% 에탄올로 등용매(isocratic)로 1 mL/min 유속으로 30 분 이상 수행되었다. 자동 샘플러(auto-sampler)와 컬럼 구획 온도(column compartment temperature)는 25 $^{\circ}\text{C}$ 로 설정하고, UV 탐지(UV detection)는 254 nm 파장으로 수행하였으며, 5 μL 의 시료를 주입하였다. 방법 B는 hexane (v/v)에서 1% 에탄올로 등용매(isocratic)로 0.8 mL/min 유속으로 30 분 이상 수행되었다. 자동 샘플러(auto-sampler)와 컬럼 구획 온도(column compartment temperature)는 25 $^{\circ}\text{C}$ 로 설정하고, UV 탐지(UV detection)는 254 nm 파장으로 수행하였으며, 3 μL 의 시료를 주입하였다.

[340]

[341] [QS 리포터 스트레인 분석(QS reporter strain assay)]

[342] *Escherichia coli* (*E. coli*) DH5 α 는 다른 미생물 중, 특히 BHL에 의해 합성된 내생적인 AHL을 탐지하는 LuxR homolog SdiA를 포함한다.

[343] 본 발명은 RhIR 리포터 스트레인 분석을 위해 pJN105R (RhIR 발현 플라스미드) 및 pSC11 (RhIA::lacZ 융합 플라스미드), 상기 두 플라스미드로 공-형질변환된(co-transformed) *sdiA* 변이체를 사용하였다. 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ gentamicin 및 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ampicillin를 첨가한 밤새 배양한 리포터 스트레인(OD 595 nm = 1.0) 1%를 양성 대조군 또는 화합물(0-1000 μM), BHL (0-10 μM) (Sigma-Aldrich)과 함께 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2 시간동안 Luria-Bertani (LB) medium (Difco, Detroit, MI, USA)에서 배양하였다. 0.4% arabinose (Sigma-Aldrich)를 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1.5 시간동안 반응시켰다. β -galactosidase 활성은 Tropix plus kit (Applied Biosystems, CA,

USA)를 사용하여 평가하였고, OD 595 nm 및 발광(luminescence)은 VICTOR x5 multimode plate reader (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)로 측정하였다. 상대적인 RhlR 활성은 OD 595 nm에서 발광을 측정함으로써 정량화하였다. 또한, 본 발명은 LasR 리포터 스트레인 분석을 위해, pJN105L (LasR 발현 플라스미드) 및 pSC11 (lasI::lacZ 융합 플라스미드), 상기 두 플라스미드로 공-형질변환된 *E. coli* DH5 α 및 OdDHL (Sigma-Aldrich)을 사용하였다.

[344] 또한 본 발명은 PqsR 리포터 스트레인 분석을 위해, (PqsR 발현 플라스미드) 및 pSC11 (PqsA::lacZ 융합 플라스미드), 상기 두 플라스미드로 공-형질변환된 *E. coli* DH5 α 및 PQS (Sigma-Aldrich)를 사용하였다.

[345]

[346] [정적 바이오필름 형성 분석(Static biofilm formation assay)]

[347] 녹농균(*P. aeruginosa*) (OD 595 nm = 1.0)을 밤새 배양한 후, AB medium (1:20) (300 mM NaCl, 50 mM MgSO₄, 0.2% vitamin-free casamino acids, 10 mM potassium phosphate, 1 mM L-arginine, 및 1% glucose, pH 7.5)로 양성 대조군 또는 화합물(0.100 μ M)과 함께 borosilicate 병에서 희석하였다. 37 °C에서 24 시간동안 진탕 없이 배양한 후, 성장 저해 활성(growth inhibition activity)을 측정하기 위해 배양액(suspended culture)의 OD 595 nm를 multimode plate reader에서 측정하였다. 병에 부착된 바이오필름 세포를 phosphate-buffered saline (PBS; 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, 및 2 mM KH₂PO₄, pH 7.2)으로 두 번 세척하였다. 이후, 남은 바이오필름 세포를 0.1% 크리스탈 바이올렛(crystal violet)을 사용하여 10 분동안 염색하였고, 결합되지 않은 크리스탈 바이올렛을 제거하기 위해 탈이온수(deionized water)로 세척하였다. 바이오필름 세포에 결합되지 않은 크리스탈 바이올렛을 100% 에탄올로 용출하고, 용출된 에탄올 시료의 OD를 multimode plate reader를 이용하여 545 nm에서 측정하였다.

[348]

[349] [동적 바이오필름 형성 분석(Dynamic biofilm formation assay)]

[350] 유리슬라이드(Glass slides)를 드립-흐름 반응기(drip-flow reactor) 내부에 주입하고, 양성 대조군 또는 화합물(0-10 μ M)과 함께 5% 녹농균(OD 595 nm = 1.0)을 포함하는 AB medium을 반응기 내부에서 0.3 ml/min로 peristaltic pump (Masterflex C/L tubing pumps, Cole-Parmer, IL, USA)를 사용하여 계속적으로 운전하였다. 상기 과정을 37 °C에서 48 시간동안 수행한 후, 부착되지 않은 바이오필름 세포를 PBS로 제거하였다. 남아있는 바이오필름 세포를 10분 동안 DAPI (Sigma-Aldrich)로 염색하고, confocal laser scanning microscopy (CLSM; Carl Zeiss LSM700, Jena, Germany)를 사용하여 관찰하였다. Zen 2011 프로그램의 Z-stack 모드를 이용하여 푸른 형광(blue fluorescence light) (excitation wavelength: 350 nm, emission wavelength: 470 nm) 하에서 20X objective lens (W NAchroplanX20/0.5W (DIC) M27)로 바이오필름 세포의 CLSM 이미지를 획득하였다. 바이오필름의 부피와 두께는 CLSM 이미지를 기반으로 ImageJ

프로그램의 Comstat2로 측정하였다.

[351]

[352] **[EPS 분석(EPS analysis)]**

[353] EPS 분석은 드림-흐름 반응기(drip-flow reactor) 운전 후, 슬라이드에 부착된 바이오필름 세포로 수행되었다. 원심분리된 바이오필름 세포를 0.01M KCl로 재현탁한 후, 탄수화물(carbohydrates) 및 단백질(protein) 분석을 위해 sonicator (VCX 750, SONICS, Newtown, CT, USA)를 이용하여 3.5 Hz 수준으로 5 초씩 세포를 파괴하고, 5 초간 정지하는 것을 4회 반복했다. 세포 파괴된 현탁액의 상층액을 0.22 μ m membrane filter (Millex filter, Carl Roth, Karlsruhe, Germany)로 여과하였다. 단백질 분석을 위해, 40 μ L 여과물 및 200 μ L Lowry 시약(L3540, Sigma-Aldrich)을 포함하는 혼합물을 실온에서 10분 간 배양하였다. 이후 20 μ L Folin-Ciocalteu 시약 (Sigma-Aldrich)을 첨가하고, 실온에서 30 분간 배양하고, multimode plate reader를 사용하여 OD 750 nm를 측정하였다. 단백질 양을 OD 750 nm 또는 OD 595 nm에서 정량화하였다. 탄수화물 분석을 위해, 50 μ L 여과물 및 150 μ L 99.9% 황산(sulfuric acid)을 포함하는 혼합물을 실온에서 30 분간 배양하였다. 이후 5% 페놀(phenol)을 첨가하고, 90 °C에서 5 분간 배양하였다. multimode plate reader를 사용하여 OD 490 nm를 측정하였다. 탄수화물의 양을 OD 490 nm 또는 OD 595 nm에서 정량화하였다.

[354]

[355] **[람노리피드 생산 분석(Rhamnolipid production assay)]**

[356] 밤새 배양한 녹농균(OD 595 nm = 1.0)을 양성 대조균 또는 화합물(0100 μ M)과 함께 AB medium (1:100)에 접종한 후, 37 °C에서 24 시간동안 진탕 배양기를 사용하여 배양하였다. 상기 배양물을 12,000g로 4 °C에서 5 분간 원심분리하였다. 상층액 200 μ L 및 100% diethyl ether (JUNSEI, Tokyo, Japan) 400 μ L를 혼합함으로써 rhamnolipid를 두 번 추출하였다. 상층액을 새로운 튜브에 옮겨담고, 증발시켰다. 건조한 시료를 탈이온수 20 μ L로 용출시키고, 180 μ L의 Orcinal solution (0.19% Orcinal (Sigma-Aldrich) in 53% H₂SO₄)과 반응시켰다. 상기 반응물을 80 °C에서 30 분동안 가열하고, 실온에서 15 분간 냉각하였다. 람노리피드의 양을 OD 421 nm에서 측정하고, multimode plate reader를 이용하여 세포 배양액에서 OD 595 nm로 정상화(normalize)하였다.

[357]

[358] **[피오사이아닌 생산 분석(Pyocyanin production assay)]**

[359] AB medium를 이용하여 양성 대조균 또는 화합물 (010 μ M)과 함께 밤새 배양한 녹농균을 혼합한 후, 37 °C에서 24 시간동안 배양하고, 10,000 rpm으로 10 분간 원심분리하였다. 피오사이아닌을 추출하기 위해, 상층액을 50% Trifluoroacetic acid (TFA, Sigma-Aldrich)과 37 °C에서 1 시간동안 반응시켰다. 상기 반응시킨 상층액을 10,000 rpm으로 10 분간 원심분리하고, 0.22 μ m filter로 여과하였다. 상기 여과액을 1260 Infinity II Prep-HPLC System (Agilent Technologies, Santa

Clara, CA, USA) 및 EC-C18 column (4.6X150 mm, Agilent Technologies)를 이용하여 분석하였다. 구체적인 HPLC 조건은 하기와 같다: 이동상 탈이온수; TFA(99:1). 주입 용량 10 μ L, 온도 25 °C, 유량 0.5 mL/min.

피오사이아닌(Sigma-Aldrich)의 머무름 시간(retention time)은 20 분이다.

피오사이아닌의 양을 측정하기 위해 머무름 시간이 20분일 때, 분석 피크의 높이를 탐지하였다.

[360]

[361] [갈색거저리(*T. molitor*) 유충의 사망률 실험]

[362] 이전 연구와 같은 방법으로 양성 대조군 또는 화합물(010 μ M)과 함께 갈색거저리(*Tenebrio molitor*, *T. molitor*) 유충의 사망률을 측정하였다. 밤새 배양한 녹농균(OD 595 nm = 1.0)을 10,000 rpm에서 10 분동안 원심분리하였다. 상기 상층액을 0.22 μ m filter로 여과한 후, 주사기 바늘을 이용하여 유충에 주사하였다. 유충을 페트리 접시(Petri dishes)에 25 °C에서 20 일간 보관하였다. 유충의 사망률은 매 5 일간 측정하였다.

[363]

[364] [RT-qPCR 분석(RT-qPCR analysis)]

[365] 양성 대조군 또는 화합물(010 μ M)과 함께 밤새 배양한 녹농균(OD 595 nm = 1.0)을 borosilicate 병에서 AB medium에서 희석하였다(1:20). 이후 37 °C에서 24 시간동안 배양한 후, 바이오필름 세포를 RNA 추출을 위해 수집하였다. 총 RNA는 제조사의 지시에 따라 TRI REAGENT (Molecular Research Center, OH, USA)를 이용하여 추출하였다. QS-관련 유전자 발현 수준을 정량화하고, 비교하기 위해 RT-qPCR를 수행하였다. RT-qPCR을 위해 SYBR Premix Ex Taq™ (Takara, Shiga, Japan), CFX-96 real-time system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), 및 QS-관련 유전자 프라이머 세트를 사용하였다. 상기 RT-qPCR의 열적 프로파일은 하기와 같다: 최초 변성(initial denaturation)은 95 °C에서 10 초 수행한 후, 변성(denaturation)을 95 °C에서 10 초, 결합(annealing)을 60 °C에서 10 초, 및 신장(extension)을 63 °C에서 34 초로 40회 반복하였다. 형광 신호 세기는 신장 단계의 마지막에 수집하였다.

[366]

[367] [*In silico* 도킹 연구(*In silico* docking studies)]

[368] 복합체 내 SdiA의 크리스탈 구조를 기반으로 RhlR 상동 모델(homology model)을 3-oxo-C6-homoserine lactone (PDB code 4Y15)와 함께 제작하였다. RhlR의 단백질 서열을 FASTA format으로서 NCBI protein database (<http://ncbi.nlm.nih.gov/protein>)로부터 획득하였다. RhlR 상동 모델을 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>)을 사용하여 제작하였다. 모든 최종 화합물은 Chem3D Pro (ver 12.0)를 이용하여 3D 구조로 제작하였고, 상기 화합물은 .sdf 파일로 저장하였다. 리간드 제조 및 최적화 과정에 'Sanitize' preparation protocol in SYBYL-X 2.1.1 (Tripos Inc., St Louis)을 적용하였다. 제조된

최종 화합물을 *Surflex-Dock GeomX* module of *SYBYL-X 2.1.1*을 사용하여 RhIR 상동 모델에 도킹하였다. 분자 도킹을 위한 단백질 최소화(protein minimization for molecular docking)는 'Tripos' Force Field setting과 함께 'POWELL' 방법으로 수행하였다. 초기 최적화 선택은 없음으로 설정하였다. 'Residues' 방법에서 정의한 바와 같이, 도킹 위치를 가이드하는데 선별된 아미노산(Tyr43, Val60, Tyr64, Trp68, Asp81, Ile84, Ser135; radius setting: 4.0; 상기 아미노산은 SdiA의 활성 부위, RhIR 상동 모델의 템플릿 단백질(template protein)을 기반으로 선별되었다.) 다른 도킹 파라미터는 초기 값을 유지하였다.

[369]

[370] [통계학적 분석(Statistical analysis)]

[371] P 값(p value)은 Student's t test (SigmaPlot version 10, Systat Software Inc., San Jose, CA, USA)에 의해 평가되었다.

[372]

[373] [결과 및 고찰]

[374] [실례 1]: 진저롤의 알킬 사슬 길이에 따른 RhIR 길항 활성

[375] 순수한 RhIR 길항제를 개발하기 위해, 본 발명에서는 4-진저롤부터 10-진저롤에 이르는 다양한 알킬 사슬 길이에 따른 진저롤 유사체의 상대적인 RhIR 활성을 스크리닝하였다(Scheme 1). 본 발명은 *invitro* 생물학적 평가를 위해 DMSO를 음성 대조군으로, (S)-6-진저롤(화합물 1c) 및 *N*-cyclopentylbutyramide(화합물 1d)를 양성 대조군으로 사용하였다(도 1). 알킬 사슬이 짧은 진저롤일수록 RhIR에 대한 높은 친화성을 가지며, 더 강력한 RhIR 길항 활성(antagonism activity)을 나타내었으며, 본 발명의 모든 진저롤은 4% 미만의 매우 낮은 RhIR 효현 활성(agonistic activity)을 나타내었다. 본 발명에서 가장 짧은 알킬 사슬을 가지는 4-진저롤(화합물 2)는 BHL과 가장 유사한 화학적 구조를 가지기 때문에 RhIR에 결합하는데 있어 BHL과 경쟁하는 바, 54%의 가장 강한 상대적인 RhIR 길항 활성을 나타내었다(표 2).

[376]

[377] [표2]

Compound ^a	Relative RhIR activity		Compound	Relative RhIR activity		Compound	Relative RhIR activity	
	Antagonism ^b	Agonism ^c		Antagonism	Agonism		Antagonism	Agonism
1c	75 ^{**}	3 ^{**}	11p	72 ^{**}	2 ^{**}	14b	49 ^{**}	2 ^{**}
1d	54 ^{**}	4 ^{**}	11q	43 ^{**}	1 ^{**}	15a	55 ^{**}	5 ^{**}
2	54 ^{**}	3 ^{**}	11r	74 ^{**}	3 ^{**}	15b	41 ^{**}	2 ^{**}
3	62 ^{**}	2 ^{**}	12a	69 ^{**}	4 ^{**}	16a	61 ^{**}	5 ^{**}
4	76 ^{**}	4 ^{**}	12b	88 ^{**}	4 ^{**}	21	29 ^{**}	3 ^{**}
5	83 ^{**}	3 ^{**}	12c	90 ^{**}	2 ^{**}	23a	32 ^{**}	3 ^{**}
6	90 ^{**}	2 ^{**}	12d	64 ^{**}	3 ^{**}	23b	27 ^{**}	3 ^{**}
7	41 ^{**}	2 ^{**}	12e	81 ^{**}	2 ^{**}	23c	34 ^{**}	3 ^{**}
8	36 ^{**}	2 ^{**}	12f	71 ^{**}	2 ^{**}	25	79 ^{**}	3 ^{**}
11a	65 ^{**}	4 ^{**}	12g	51 ^{**}	2 ^{**}	27	45 ^{**}	2 ^{**}
11b	93 ^{**}	4 ^{**}	12h	69 ^{**}	2 ^{**}	30	12 ^{**}	4 ^{**}
11c	94 ^{**}	2 ^{**}	12i	76 ^{**}	1 ^{**}	31	16 ^{**}	4 ^{**}
11d	51 ^{**}	1 ^{**}	12j	74 ^{**}	1 ^{**}	32	17 ^{**}	3 ^{**}
11e	78 ^{**}	2 ^{**}	12k	47 ^{**}	2 ^{**}	33a	32 ^{**}	3 ^{**}
11f	55 ^{**}	1 ^{**}	12l	94 ^{**}	1 ^{**}	33b	25 ^{**}	3 ^{**}
11g	33 ^{**}	1 ^{**}	12m	73 ^{**}	1 ^{**}	33c	38 ^{**}	3 ^{**}
11h	64 ^{**}	1 ^{**}	12n	98 ^{**}	1 ^{**}	34a	71 ^{**}	4 ^{**}
11i	65 ^{**}	2 ^{**}	12o	49 ^{**}	1 ^{**}	34b	67 ^{**}	3 ^{**}
11j	53 ^{**}	2 ^{**}	12p	82 ^{**}	3 ^{**}	34c	64 ^{**}	2 ^{**}
11k	43 ^{**}	3 ^{**}	12q	79 ^{**}	1 ^{**}	35a	74 ^{**}	3 ^{**}
11l	69 ^{**}	1 ^{**}	12r	85 ^{**}	3 ^{**}	35b	72 ^{**}	3 ^{**}
11m	60 ^{**}	2 ^{**}	13a	51 ^{**}	4 ^{**}	35c	67 ^{**}	4 ^{**}
11n	91 ^{**}	1 ^{**}	13b	41 ^{**}	2 ^{**}			
11o	20 ^{**}	2 ^{**}	14a	55 ^{**}	4 ^{**}			

[378] RhIR 길항제로서 4-진저롤의 구조-활성 관계(structure-activity relationship, SAR)를 정립하기 위해, 본 발명에서는 하기와 같은 구조적 변형을 수행하였다

[379] [실험예 2]: 진저롤 유도체의 페닐 고리 치환기 변형에 따른 RhIR 길항 활성

[380] 페닐 고리 치환기가 RhIR 길항 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 4-진저롤에서 페닐 고리의 3'-OMe 및 4'-OH 기를 다양한 작용기(-F, -Cl, -OH, -OMe, -OEt, -Me, 및 -N(CH₃)₂)로 대체하였다. 상기 Scheme 1에 나타낸 바와 같이, 화합물 **10a-10r**은 benzaldehyde를 25 °C에서 아세톤 및 에탄올(또는 물) 하에서 10% NaOH를 처리하여 합성하였다. 화합물 **11a-11r**은 -78 °C에서 화합물 **10a-10r**을 diisopropylamide(LDA)와 반응시킨 후, *n*-butanol을 첨가함으로써 24~60% 수율로 수득하였다.

[381] 화합물 **11b**는 페닐 고리에 치환기가 없는 것으로서, 완전히 길항 활성을 잃었으며(93%), 이를 통해 페닐 고리의 극성 작용기가 RhIR에 결합하는데 필요하다는 점을 확인하였다. RhIR 길항 활성에 있어 페닐 고리의 4'-OH 및

3'-OMe의 필요성을 평가하기 위해, 4'-OH(화합물 **11c**) 및 3'-OMe(화합물 **11d**)를 제거하였다.

- [382] 화합물 **11c**는 화합물 **11a**(65%)에 비해 RhIR을 저해하는 능력이 감소했으나, 화합물 **11d**(51%)는 화합물 **11a**에 비해 RhIR 길항 활성이 다소 증가하였다. 4'-OMe를 가지는 화합물 **11f**(55%)는 화합물 **11d**에 비해 RhIR 길항 활성이 덜 강력했으며, 이를 통해 4번 자리에 극성 기가 존재하는 것이 RhIR 결합 능력을 높이는데 적합하다는 점을 확인하였다. 3'-OH 만을 가지는 화합물 **11e**(78%)는 3'-OMe 만을 가지는 화합물 **11c**보다 강한 RhIR 길항 활성을 가졌다.

[383]

- [384] 4-진저롤의 구조-활성 관계를 확장하기 위해, 단일 치환 화합물(화합물 **11g-11j**)과 이중 치환 화합물(화합물 **11k-11r**)을 합성하였다. 단일 치환 화합물 중에서 4'-F를 가지는 화합물 **11g**가 33%로 상대적인 RhIR 길항 활성이 가장 높았다. 4'-N(CH₃)₂를 가지는 화합물 **11j**(53%)는 화합물 **11a**보다 더 강력했으나, 4'-Cl을 가지는 화합물 **11h**(64%) 및 4'-Me를 가지는 화합물 **11i**(65%)는 화합물 **11a**와 비슷했다. 이중 치환 화합물에서도 비슷한 경향이 나타났다. 3'4'-di-F를 가지는 화합물 **11o**(20%)는 본 발명에서 가장 강력한 RhIR 길항 활성을 나타내었다. 이를 통해 페닐 고리의 구조적 변형에서 F 치환기가 선호된다는 점을 확인하였다. 3'-OMe 및 4'-F를 가지는 화합물 **11q**(43%)는 3'-OMe 및 4'-OH를 가지는 화합물 **11a**보다 길항 활성을 가졌으나, 3'-F 및 5'-OMe를 가지는 화합물 **11r**(74%)은 화합물 **11a**보다 강력하지 않았다. 이를 통해 4번 자리에 작은 극성 기(예: -F, -OH)가 필요하다는 점을 확인하였다. 3번 및 4번 자리에 소수성인 -Me기를 가지는 화합물 **11p**(72%)는 감소된 RhIR 저해 활성을 보였다. 3'-OEt 및 4'-OH를 가지는 화합물 **11n**(91%)은 RhIR 길항 활성을 급격하게 감소시켰다. 이를 통해 4-진저롤의 3번 자리와 상호작용하는 RhIR 부위는 치환기의 크기에 매우 민감하다는 점을 확인하였다. 상기 구조-활성 관계 결과는 4번 자리는 RhIR과의 수소 결합 상호작용과 관련이 있는 반면, 3번 자리는 치환기의 크기에 민감하다는 점을 나타내었다.

[385]

- [386] [실험예 3]: 진저롤 유도체의 회전 강직성에 따른 RhIR 길항 활성

- [387] 회전 강직성(rotational rigidity)이 RhIR 길항 활성에 미치는 영향을 평가하기 위해, 페닐 고리와 카보닐 기 사이에 단일 결합을 가지는 화합물(화합물 **12a-12r**)을 합성하였다. 상기 Scheme 1에 나타난 바와 같이, 화합물 **12a-12r**은 화합물 **11a-11r**을 10% Pd/C 존재하에 수소 기체로 환원시킴으로써 40~93% 수율로 수득하였다.

- [388] 페닐 고리와 카보닐 기 사이에 이중 결합을 가지는 화합물(화합물 **11a-11r**)과 단일 결합을 가지는 화합물(화합물 **12a-12r**)을 비교한 결과, 이중 결합을 가지는 화합물(화합물 **11a-11r**)은 페닐 고리의 치환기에 상관없이 단일 결합을 가지는 화합물(화합물 **12a-12r**)보다 더 강한 RhIR 길항 활성을 나타내었다. 상기 결과를

통해 페닐 고리와 카보닐 기 사이의 회전 강직성이 RhIR의 결합 친화력을 상당히 증가시킨다는 점을 확인하였다. 전반적으로, 3번 및 4번 자리에 F기가 치환된 이중결합 화합물 **11o**는 페닐 고리가 변형된 화합물 중에 가장 강력한 RhIR 길항 활성 및 낮은 RhIR 효현 활성(2%)을 나타내었다.

[389]

[390] [실험예 4]: 진저롤 유도체의 β -하이드록시 기의 제거에 따른 RhIR 길항 활성

[391] 25 °C에서 72 시간 동안 염기성 조건 하에서 2-heptanone을 vanillin 또는 3,4-difluorobenzaldehyde와 반응시켜 β -하이드록시 기가 없는 4-진저롤 유도체(화합물 **13a-13b**)를 30 ~ 50% 수율로 수득하였다. 화합물 **14a-14b**는 화합물 **13a-13b**의 α , β -불포화 카보닐 기에 H₂ 및 Pd/C를 처리함으로써 촉매 수소화 반응(catalytic hydrogenation)을 통해 약 76% 수율로 수득하였다. 화합물 **15a-15b**는 화합물 **13a-13b**의 α , β -불포화 카보닐 기에 NaBH₄를 처리하여 2차 알코올로 환원됨으로써 각각 94% 및 90% 수율로 수득하였다. 화합물 **16a**는 화합물 **15a**가 단일 결합으로 환원됨으로써 60% 수율로 수득하였다.

[392] β -하이드록시 기가 없는 화합물 **13b**(41%)는 화합물 **11a**(65%)보다 더 강력했으며, 이를 통해 β -하이드록시 기는 RhIR에 결합하는데 필수적이지 않음을 확인하였다. α , β -불포화 카보닐 유사체(화합물 **13b**)는 α , β -포화 카보닐 유사체(화합물 **14b**)보다 더 강력하였다. α , β -불포화 카보닐 기를 알코올로 환원한 화합물 **15b**(41%)는 RhIR 결합 친화성을 유지하였다. 그러나, 3,4-difluorophenyl ring 유사체(화합물 **13a-15a**)의 RhIR 길항 활성은 거의 유사하였다.

[393]

[394] [실험예 5]: 진저롤 유도체의 회전 강직성 및 절대 배열 변화에 따른 RhIR 길항 활성

[395] 상기 Scheme 2에 나타난 바와 같이, 삼중 결합을 가지는 화합물을 합성하였다. 화합물 **17**은 vanillin의 페놀성 OH를 *tert*-butyldimethylsilyl(TBDMS)기로 보호함으로써 수득하였다. 화합물 **18**은 dibromo 알켄으로서, 화합물 **17**을 dichloromethane 하에서 CBr₄ 및 PPh₃를 처리함으로써 98% 수율로 수득하였다. 화합물 **19**는 말단 알카인(terminal alkyne)으로서, *n*-BuLi 3 당량 존재 하에 화합물 **18**의 제거 반응(elimination) 및 리튬치환 반응(lithiation)을 통해 96% 수율로 수득하였다. 화합물 **20**은 화합물 **19**와 Weinreb amide를 반응시킴으로써 수득하였다. 화합물 **21**은 알키닐 케톤(alkynyl ketone)으로서, 화합물 **20**에 tetrabutylammoniumfluoride(TBAF)를 처리함으로써 94% 수율로 수득하였다. 거울상 이성질체가 강화된 알키닐 알코올 유사체(enantiomerically-enriched alkynyl alcohol analogs)(화합물 **23b-23c**)는 화합물 **20**에 RuCl[(*R,R*)-TsDPEN(mesitylene)] or RuCl[(*S,S*)-TsDPEN(mesitylene)]와 같은 카이랄 촉매(chiral catalyst)를 처리한 후, TBAF로 탈실릴화(desilylation)하여 수득하였다. 화합물 **23a**는 라세미체(racemic mixture)로서, 화합물 **20**에 NaBH₄를 처리한 후,

탈실릴화하여 수득하였다.

- [396] 알키닐 알코올(화합물 **23a-23b**)는 카이랄 역상 고성능 액체 크로마토그래피(chiral reversed phase HPLC)를 이용하여 분석하였다. 카이랄 HPLC 결과, 화합물 **23a**는 라세미체이므로, 9.91 분 및 12.58 분에서 두 개의 명확한 피크가 1:1 비율로 나타났다. 화합물 **23b**는 (R)-배열로서, 12.54 분에 용출된 반면, 화합물 **23c**는 (S)-배열로서, 9.88 분에 용출되었으며, 이 때 거울상이성질 과잉(enantiomeric excess, ee) 값은 99%를 초과하였다(도 2). 화합물 **25**는 cis 이성질체로서, 화합물 **22a**의 Z-선택적인 환원(Z-selective reduction)으로 합성하였으며, 구체적으로, 수소 기체 하에서 화합물 **22a**에 Lindlar 촉매 및 1,4-benzoquinone를 처리한 후, TBAF로 탈실릴화하여 수득하였다. 화합물 **27**은 알카닐 알코올(alkanyl alcohol)로서, 화합물 **22a**를 촉매 수소화 및 탈실릴화를 통해 94% 수율로 수득하였다.
- [397] 화합물 **21**(29%)은 알키닐 케톤(alkynyl ketone)으로서, 알케닐 케톤(alkenyl ketone)인 화합물 **13b**(41%) 및 알카닐 케톤(alkanyl ketone)인 화합물 **14b**(49%)보다 더 강한 상대적인 RhIR 활성을 나타내었다(표 1). 마찬가지로, 화합물 **23a**(32%)는 알키닐 알코올(alkynyl alcohol)으로서, 알켄(alkene)인 화합물 **15b**(41%) 및 알케인(alkane)인 화합물 **27**(45%)보다 더 강한 상대적인 RhIR 활성을 나타내었다. 즉, 알키닐 케톤(화합물 **21**) 또는 알키닐 알코올(화합물 **23a-23c**)의 상대적인 RhIR 활성은 34% 미만으로 나타났으며, 이는 기존에 보고된 RhIR 길항제(화합물 **1d**, 54%)보다 더 강한 활성이다.
- [398] RhIR 친화도에 대한 절대배열의 영향을 살펴보면, (R)-이성질체인 화합물 **23b**(27%)가 (S)-이성질체인 화합물 **23c**(34%) 및 라세미체인 **23a**(32%)보다 더 강한 RhIR 길항 활성을 나타내었다. (Z)-알케닐 알코올인 화합물 **25**의 상대적인 RhIR 활성은 79%로 (E)-알케닐 알코올인 화합물 **15b**(41%)보다 약한 활성을 나타내었으며, 이를 통해 cis-이성질체가 RhIR의 활성 부위에 적절하게 위치하지 않음을 확인하였다. 전반적으로, 구조-활성 관계 결과를 통해 페닐 기로부터 γ -자리에 위치한 카보닐 기 또는 하이드록실 기가 RhIR에 결합하는데 중요하다는 점을 확인하였다.
- [399]
- [400] [실험예 6] : 3,4-difluorophenyl 유도체의 회전 강직성 및 절대 배열 변화에 따른 RhIR 길항 활성
- [401] 본 발명에서는 4-진저롤 유사체의 구조-활성 관계 연구를 바탕으로, 페닐 고리 치환기 변형으로 가장 강력한 RhIR 결합 활성을 가지는 3,4-difluorophenyl 유사체를 합성하였다. 상기 Scheme 3에 나타난 바와 같이, 4-진저롤 유사체와 동일한 합성 방법으로 3,4-difluorophenyl을 이용하여 알키닐 케톤(화합물 **30-32**), 및 알키닐 알코올(**33a-33c**, **34a-34c**, 및 **35a-35c**)을 제조하였다. 상기 화합물들의 순도 및 거울상이성질 과잉은 카이랄 HPLC를 사용하여 분석되었다(도 3).

[402]

[403] 알킬닐 케톤(화합물 **30-32**)는 100 μ M에서 상대적인 RhlR 활성이 17% 미만으로 상응하는 알켄 및 알케인 화합물보다 더 강력했다. 또한, (R)-이성질체(화합물 **33b-35b**)는 상응하는 (S)-이성질체(화합물 **33c-35c**) 및 라세미체(화합물 **33a-35a**)보다 더 활성이 높았다. 더욱이, 짧은 알킬 사슬을 가진 화합물(화합물 **30** 및 **33a-33c**)은 상응하는 긴 알킬 사슬을 가진 화합물(화합물 **31, 32, 34a-34c**, 및 **35a-35c**)보다 더 활성이 높았다. *n*-propyl기를 가진 알킬닐 케톤(화합물 **30**)은 상대적인 RhlR 활성이 12%로서, 3,4-difluorophenyl 유도체 중 가장 활성이 높았으며, 이는 기존에 보고된 길항제(화합물 **1d**, 54%)보다 훨씬 강한 활성이었다.

[404]

[405] 화합물 **30**이 RhlR에 결합하는 방식을 설명하기 위해, RhlR 상동성 모델(homology model)을 이용하여 화합물 **30** 및 화합물 **1d**의 *in silico* 분자 도킹 분석(molecular docking studies)을 수행하였다. 그 결과, 화합물 **30**은 Tyr72와 함께 π - π stacking 상호작용을 통해 RhlR과 상호작용하고, Trp68과 수소결합을 하나, 화합물 **1d**는 Asp81, Thr121, 및 Ser135와 수소결합을 한다는 점을 확인하였다(도 4). Trp68은 BHL-독립적이고 활성을 가진 *rhlR* 변이체에서 핵심인 아미노산으로 보고되어 있으며(이 때, 상기 *rhlR* 변이체는 QS 관련 유전자인 *rhlR*을 녹아웃(knock-out)한 변이체를 의미한다.), 본 발명은 알킬 사슬의 길이가 길어질수록(화합물 **30, 31**, 및 **32**), 페닐 모이어티(phenyl moiety)의 Tyr72와의 π - π stacking 상호작용이 약해진다는 점을 확인하였다(도 5).

[406]

[407] [*in vitro* - 상대적인 생물학적 활성 결과]

[408] 동일한 실험 조건에서 구조-활성 관계 결과를 입증하고, 활성을 비교하기 위해, 상술한 화합물 중 본 발명의 대표적인 화합물(화합물 **11a, 11c, 11k, 11o, 13a, 30-32**, 및 **33a-33c**)을 선별하고, 상대적인 생물학적 활성로서 RhlR 길항 활성, RhlR 효현 활성, 정적 바이오필름 형성, 세균 성장 및 람노리피드 생산을 하기 표 3에 나타내었다. 페닐 고리의 4'-OH 기를 제거한 경우, RhlR의 길항 활성이 상당히 감소했으며(화합물 **11c**), 페닐 고리의 3'-OMe를 3'-OH로 대체한 경우, RhlR 길항 활성이 증가하였다(화합물 **11k**). 화합물 **11o** 및 **13a**를 비교한 결과, 가운데 부분의 β -하이드록실 기의 유무는 RhlR 활성에 필수적이지 않았다. 회전 강직성을 가진 알킬닐 케톤 화합물(화합물 **30-32**)은 RhlR 활성을 증가시켰다. 또한, (R)-알키놀(alkynol)(화합물 **33b**)은 (S)-알키놀(화합물 **33c**) 및 라세미체(화합물 **33a**)보다 더 나은 RhlR 길항 활성을 갖는다. 표 3에 나타낸 바와 같이, 상술한 합성 화합물은 1000 μ M에서도 RhlR 효현 활성을 나타내지 않았다. 한편, 기존에 보고된 RhlR 길항제(화합물 **1d**)는 1000 μ M에서 상대적인 RhlR 효현 활성이 37%였다. 대조군과 비교했을 때, 화합물 **11o, 13a, 30, 31**, 및 **32**는 100 μ M에서 상당히 바이오필름 형성을 저해하였다. 특히, 화합물 **30**은 상대적으로 녹농균의 바이오필름 형성을 약 47% 저해했으며, 이는

(S)-6-진저롤(화합물 **1c**) 및 기존의 길항제(화합물 **1d**)보다 더 강력했다. 또한, 본 발명의 화합물들의 세균 성장 저해 효과를 측정한 결과, 화합물 **31** 및 **32**는 100 μ M에서 세균 성장을 약간 저해했으나, 화합물 **30**은 동일 농도에서 세균 성장에 아무런 영향이 없었다. 더욱이, RhIR은 녹농균의 대표적인 독성 인자인 람노리피드 생산 효소의 발현을 직접적으로 조절하는 것으로 알려진 바, 람노리피드의 생산 여부를 측정한 결과, 가장 강력한 RhIR 길항제인 화합물 **30** (상대적인 RhIR 활성이 13%)은 선별된 화합물 중 가장 낮은 람노리피드 생산(42%)을 나타내었다. 또한, 화합물 **30**은 강한 RhIR 활성을 가지나 대표적인 화합물에 포함되지 않는 다른 화합물(화합물 **7**, **8**, **11d**, **11f**, **21**, **23a**, **23b**, 및 **23c**)보다 세균 성장을 저해하지 않으면서 바이오필름 형성 및 람노리피드 생산을 더 강하게 억제하였다(표 4).

[409] [표3]

Compound ^a	Relative RhIR activity (%)				Relative biological activity (%)					
	Antagonism ^b		Agonism ^c		Biofilm formation ^d		Bacterial growth ^e		Rhamnolipid production ^f	
	10	100	100	1000	10	100	10	100	10	100
1c	86*	75**	3**	5**	86	71**	96*	101	76*	68*
1d	74*	54**	4**	37**	84	69**	95*	98	58**	45**
11a	73**	65**	4**	5**	82	65**	102	95	73*	57*
11c	89	94	2**	4**	88	73**	96	95*	91	83
11k	60**	43**	3**	5**	84*	72**	99	104*	56*	50*
11o	60**	20**	2**	5**	72*	53**	101	105*	63*	50**
13a	53**	51**	4**	3**	80*	61**	103	103	64**	62*
30	31**	12**	4**	4**	68*	47**	103	99	57**	42*
31	29**	16**	4**	6**	75*	55**	100	89**	59**	49**
32	39**	17**	3**	5**	71*	56**	100	88**	60**	58**
33a	45**	32**	3**	5**	73**	60**	100	104*	73*	49**
33b	45**	25**	3**	5**	74*	60**	98	102	60*	48**
33c	59**	38**	3**	5**	79*	64**	98	99	59*	52**

[410] [표4]

Compound ^a	Relative RhlR activity (%)		Relative biological activity (%)		
	Antagonism ^b	Agonism ^c	Biofilm formation ^d	Bacterial growth ^e	Rhamnolipid production ^f
1c	75**	3**	81*	97	75*
1d	54**	4**	81*	95	68*
7	41**	2**	79**	89	69*
8	36**	2**	80**	80**	60*
11a	65**	4**	81*	101	67*
11c	94	2**	82*	101	95
11d	51**	1**	74*	105	83
11f	55**	1**	75*	102	88
21	29**	3**	72*	102	81*
23a	32**	3**	80*	98	85
23b	27**	3**	79*	100	77*
23c	34**	3**	67*	104	86
30	12**	4**	68*	102	51*

[411] 본 발명에서는 녹농균에 대항하여 가장 강력한 RhlR 길항제인 화합물 **30**의 종합적인 생물학적 분석을 수행했다. 이 때, 양성 대조군으로 화합물 **1c**, **1d**, 및 4-진저롤(화합물 **12a**)를 사용하였다. 첫째, 상기 네 화합물의 RhlR IC₅₀ 값을 다른 농도(0-100 μ M)에서 측정하였다. 그 결과 화합물 **1c**, **1d**, **12a**, 및 **30**의 IC₅₀은 각각 945, 86, 218, 및 26 μ M였으며(도 6A), 이로써 화합물 **30**이 가장 강력한 RhlR 길항제임을 확인하였다. 또한, 본 발명은 *las* 및 *pqs* 시스템의 LasR 및 PqsR에 대항하여 화합물의 효현 및 길항 활성이 녹농균의 QS 시스템에 관여한다는 점을 확인하였다. 상기 네 화합물은 각각 0.1 및 10 μ M에서 LasR- 및 PqsR의 효현 활성은 물론, PqsR의 길항 활성을 나타내지 않았다(도 6B 및 6C). 그러나, (S)-6-진저롤(화합물 **1c**)의 LasR 길항 활성은 이전에 보고되었으며, 본 발명은 4-진저롤(화합물 **12a**)은 LasR 길항 활성이 없다는 점을 확인한 바, 이전 연구의 결과와 일치하였다. 가장 강력한 RhlR 길항제인 화합물 **30**은 LasR 및 PqsR과 비교하여 RhlR에 높은 선택성을 보이는 바, 순수한 RhlR 길항제임이 확인되었다.

[412] 한편, 상기 네 화합물은 세균 성장에 영향을 주지 않으면서(도 7), 10 μ M에서 14 ~ 32%, 100 μ M에서 29 ~ 53% 녹농균의 바이오필름 형성을 강하게 저해했다(도 6D). 드립 흐름 반응기(drip flow reactor)를 사용하여 동적 바이오필름 저해(dynamic biofilm inhibition)를 48시간동안 분석을 수행하였다. 대조군은 전형적인 버섯 형태로 44.15 μ m³/ μ m²의 부피 및 53.90 μ m의 두께를 나타내었다(도 8A). 다른 화합물(화합물 **1c**, **1d**, 및 **30**)을 처리한 경우, 더 얇고 분산된 형태의 바이오필름을 형성했으며, 대조군보다 작은 부피와 두께를 나타내었다. 특히, 화합물 **30**은 바이오필름 형성을 74% 저해했으며, 탄수화물 및 단백질의 양도 각각 39 및 72% 감소시켰다(도 8B 및 8C).

[413] 독성인자 생산 실험에서, 화합물 **30**은 10 및 100 μ M에서 녹농균의 람노리피드

생산을 상당히 감소시켰으며(도 9A), 이를 통해 RhIR 길항제는 람노리피드 생산을 조절할 수 있으며, 바이오필름 성장 단계에 중요한 역할을 한다는 점을 확인하였다. 일반적으로, 람노리피드는 세포의 소수성 및 세균 연속 운동성(bacterial twitching motility)을 증가시키므로, 바이오필름 형성 단계에서 부착 및 성숙에 영향을 미친다. 람노리피드 합성을 하향 조절하는 녹농균 *rhlA* 변이체는 버섯 형태의 바이오필름을 형성하지 않았으며, 이는 RhIR 길항제에 의해 유도된 람노리피드 생산 저해는 녹농균의 바이오필름 형성을 조절할 수 있다는 점을 나타낸다. (이 때, 상기 *rhlA* 변이체는 람노리피드 합성 유전자인 *rhlA*를 녹아웃(knock-out)한 변이체를 의미한다.)

- [414] 본 발명은 RT-qPCR을 이용하여 화합물 **30**이 처리된 바이오필름 세포에서 람노리피드 합성 유전자(*rhlA*)의 발현을 측정함으로써(도 9B), 화합물 **30**에 의해 유도된 바이오필름 형성 및 독성인자 생산 저해가 *rhl* 시스템과 밀접하게 연관되어 있다는 것을 확인하였다. RhIR 길항제(화합물 **1d**, **12a**, 및 **30**)는 화합물 **1c**(38%) 보다 바이오필름 세포의 *rhlA* 발현을 상당히 하향 조절하며(65-79%), 이는 *rhlA* 발현이 RhIR 길항제를 조절할 수 있음을 나타낸다. 즉, 본 발명은 상기 RT-qPCR 결과를 통해 화합물 **30**이 녹농균의 *rhlA* 발현을 하향 조절함으로써 바이오필름 형성 및 독성인자 생산을 억제한다는 점을 확인하였다. 한편, *rhl* 시스템을 *pqs* 시스템을 음성적으로 조절하여 피오사이아닌 생산의 증가를 유도한다는 점이 보고되었으며, *rhl* 및 *pqs* 시스템 간의 관계를 고려하여, RhIR 효현제를 개발하여 병원균에 대항하는 항-독성 전략으로 사용하고, RhIR 효현제는 *pqs* 신호전달을 저해함으로써 피오사이아닌 생산을 강하게 억제한 선행 연구가 존재한다. 본 발명의 *rhlR* 변이체는 놀랍게도 야생형(wild-type) 녹농균보다 피오사이아닌을 덜 생산하였다(도 9C). 또한 화합물 **30**은 대조군보다 피오사이아닌 생산을 44% 감소시켰다. 그러나, 화합물 **30**과 *rhlR* 변이체의 대조군 간의 독성 인자 생산에는 차이가 없었으며(도 9C), 이는 화합물 **30**이 RhIR을 방해함으로써 피오사이아닌 생산을 감소시키기 때문이다. 이러한 차이는 녹농균에서 피오사이아닌을 생산하는 단계와 관련이 있다. RhIR 효현제는 기초적인 피오사이아닌이 생산되기 직전에 *pqs* 시스템을 억제한다고 알려져 있다. 선행 연구에서, *rhlR* 변이체는 *rhl* 시스템 관련 유전자, 특히 람노리피드 생산 관련 유전자(*rhlA* 및 *rhlB*)를 억제하나, *las*- 또는 *pqs*- 관련 유전자는 거의 영향을 미치지 않았다. 피오사이아닌 생산 관련 유전자(*phzA-D*)도 *rhlR* 변이체에서 하향 조절되었다. 다른 선행연구에서는 *rhlR* 변이체에서 피오사이아닌 생화학적 유전자(*phzA1-G1*)의 하향조절 및 감소된 피오사이아닌 생산을 보고한 바 있다. 마찬가지로, 본 발명의 RT-qPCR 실험 결과에 따르면, *rhlR* 변이체는 다른 QS 관련 유전자(*lasR*, *lasB*, 및 *pqsR*) 발현에 영향을 주지 않고, *rhlA* 및 *phzC1* 발현을 감소시켰다($p < 0.005$)(도 9D).

[415]

[416] [*in vivo* - 상대적인 생물학적 활성 결과]

[417] 본 발명은 갈색거저리(*Tenebrio molitor*) 유충의 사망률에 대한 화합물 **30**의 영향을 분석하였다. 유충에 녹농균을 주사한 결과, 최초 배양 시간부터 죽기 시작하여 배양한 지 20일만에 70%가 사망했다(도 10). 화합물 **30**을 처리한 유충의 생존율은 상당히 향상되어 약 80%의 유충이 배양 기간 끝까지 생존하였다. 또한, 녹농균의 *rhIR* 변이체를 주사한 유충은 배양한 지 20일 후 90%의 생존율을 나타내었다. 또한, 유충에 다양한 농도(0.01 ~ 10 μ M)의 람노리피드와 함께 *rhIR* 변이체를 처리한 경우, 그들의 사망률은 람노리피드의 농도에 따라 증가했으며, 이를 통해 **RhlR**이 독성인자 생산에 중요한 역할이라는 점을 확인하였다(도 11). 따라서, 본 발명의 순수한 **RhlR** 길항제인 화합물 **30**은 독성 인자 생산 유전자 발현을 불활성화함으로써 람노리피드 및 피오사이아닌 생산을 저해한다(도 12).

[418]

[419] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[420]

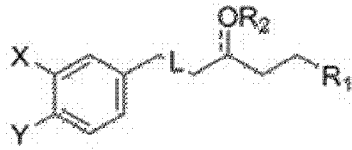
산업상 이용가능성

[421] 본 발명은 바이오필름(biofilm) 형성 및 독성 인자(virulence factor) 생산을 억제할 수 있는 4-진저롤(4-gingerol) 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염은 **RhlR**에 대한 결합 친화성과 그에 따른 **RhlR** 길항 활성(antagonism activity)이 현저히 향상되었는바, 바이오필름 형성 및 독성 인자 생산을 효과적으로 억제할 수 있는 효과가 있다. 따라서 상기 화합물 또는 이의 염은 바이오필름에 의해 유발되는 각종 세균 감염병의 치료 분야에서 유용하게 이용이 가능하다.

청구범위

[청구항 1] 하기 [화학식 1]로 표시되는 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 1]



상기 [화학식 1]에서,

상기 X 및 Y는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠기, 알킬기, 하이드록실기, 및 O-R', NR'R' 중에서 선택되는 어느 하나이고(단, 상기 R'는 탄소수 1 내지 2의 알킬기임),

상기 R₁는 탄소수 1 내지 3의 알킬기이고,

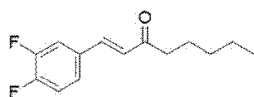
상기 "는 단일결합 또는 이중결합이고(단, 상기 "가 이중결합인 경우, OR₂는 O이고, 상기 "가 단일결합인 경우, OR₂는 OH임),

상기 L은 단일결합, 이중결합, 및 삼중결합 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용가능한 염.

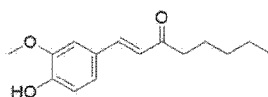
[청구항 2] 제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]로 표시되는 진저롤 유도체 화합물은 하기 [화학식 13a-b] 내지 [화학식 15a-b], [화학식 16a], [화학식 21], [화학식 23], [화학식 25], [화학식 27], 및 [화학식 30] 내지 [화학식 35]으로 표시되는 유도체 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염.

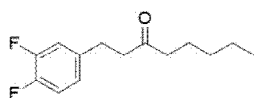
[화학식 13a]



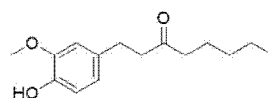
[화학식 13b]



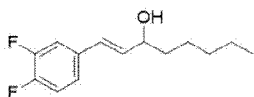
[화학식 14a]



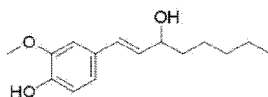
[화학식 14b]



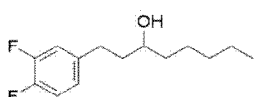
[화학식 15a]



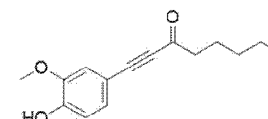
[화학식 15b]



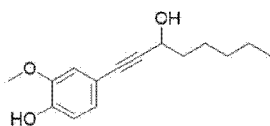
[화학식 16a]



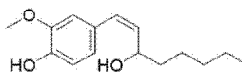
[화학식 21]



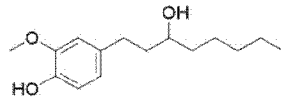
[화학식 23]



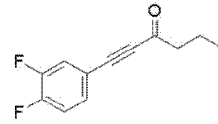
[화학식 25]



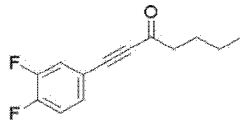
[화학식 27]



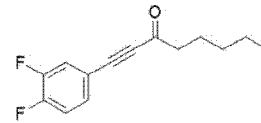
[화학식 30]



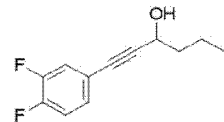
[화학식 31]



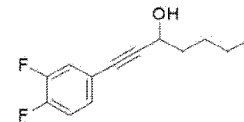
[화학식 32]



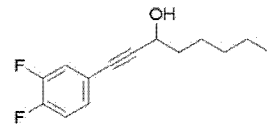
[화학식 33]



[화학식 34]

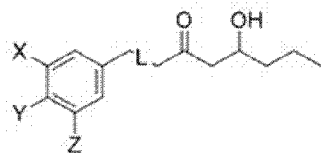


[화학식 35]



[청구항 3] 하기 [화학식 2]로 표시되는 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염:

[화학식 2]



상기 [화학식 2]에서,

상기 X, Y 및 Z는 서로 동일하거나 상이하고, 각각 독립적으로 수소, 할로젠기, 하이드록실기, 아미노기, 및 O-R' 중에서 선택되는 어느 하나이고 (상기 R'는 탄소수 1 내지 2의 알킬기임),

상기 L은 단일결합 또는 이중결합인 것을 특징으로 하는 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염.

[청구항 4] 제3항에 있어서,

상기 [화학식 2]로 표시되는 진저롤 유도체 화합물은 하기 X, Y, 및 Z 조합 중에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염.

(1) X = OMe, Y = OH, Z = H

- (2) X = H, Y = H, Z = H
- (3) X = OMe, Y = H, Z = H
- (4) X = H, Y = OH, Z = H
- (5) X = OH, Y = H, Z = H
- (6) X = H, Y = OMe, Z = H
- (7) X = H, Y = F, Z = H
- (8) X = H, Y = Cl, Z = H
- (9) X = H, Y = Me, Z = H
- (10) X = H, Y = NMe₂, Z = H
- (11) X = OH, Y = OH, Z = H
- (12) X = OMe, Y = OMe, Z = H
- (13) X = F, Y = OH, Z = H
- (14) X = OEt, Y = OH, Z = H
- (15) X = F, Y = F, Z = H
- (16) X = Me, Y = Me, Z = H
- (17) X = OMe, Y = F, Z = H
- (18) X = F, Y = H, Z = OMe

[청구항 5] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
 바이오필름 형성 및 독성 인자 생산을 억제하는 것을 특징으로 하는
 진저롤 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로
 허용 가능한 염.

[청구항 6] 제5항에 있어서,
 상기 바이오필름은 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 살모넬라균(*Salmonella spp*), 적리균(*Shigella spp*), 장염비브리오(*Vibrio parahaemolyticus*), 콜레라균(*Vibrio choreae*), 대장균 O-157(*Escherichia coli* O-157), 캄필로박터(*Campylobacter jejuni*), 위막성 대장염균(*Clostridium difficile*), 웰치균(*Clostridium perfringens*), 엘시니아 장염균(*Yersinia enterocolitica*), 피로리균(*Helicobacter pylori*), 아메바 적리균(*Entamoeba histolytica*), 세레우스균(*Bacillus cereus*), 보툴리누스균(*Clostridium botulinum*), 인플루엔자균(*Haemophilus influenzae*), 폐렴구균(*Streptococcus pneumoniae*), 클라미디아 폐렴균(*Chlamidia pneumoniae*), 레지오넬라 폐렴균(*Legionella pneumoniae*), 부란하멜라균(*Branhamella catarrhalis*), 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 마이코플라즈마(*Mycoplasma pneumoniae*), A형 용련균(*Streptococcus pyogenes*), 디프테리아균(*Corynebacterium diphtheriae*), 백일해균(*Bordetella pertussis*), 음병균(*Chlamidia psittaci*), 메티실린 내성 황색 포도상 구균(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 대장균(*Escherichia coli*), 폐렴 간균(*Klebsiella pneumoniae*), 엔테로박터(*Enterobacter spp*), 프로테우스속(*Proteus spp*),

Proteus spp), 아시네토박터(*Acinetobacter spp*), 장구균(*Enterococcus faecalis*), 포도상 구균(*Staphylococcus saprophyticus*), B형 용련균(*Streptococcus agalactiae*)으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 균에 의해서 형성되는 것을 특징으로 하는 진저를 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염.

[청구항 7] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 진저를 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하는 바이오필름 형성 억제용 조성물.

[청구항 8] 제7항에 있어서,
상기 진저를 유도체 화합물은 RhlR 결합 친화성을 가진 것을 특징으로 하는 바이오필름 형성 억제용 조성물.

[청구항 9] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 진저를 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 세균 감염병 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[청구항 10] 제9항에 있어서,
상기 세균 감염병은 낭포성 섬유증, 폐렴, 충치, 치주염, 중이염, 근골격 감염, 괴사성 근막염, 담관계 감염, 골수염, 세균성 전립선염, 자연 판막의 심내막염, 멜로이도시스 (meloidosis), 병원내 감염 (nosocomial infection), ICU 폐렴, 요로 카테터 방광염 (urinary catheter cystitis), 복막 투석 (CAPD) 복막염 및 담도배액관 폐쇄 (biliary stent blockage)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 감염증인 것을 특징으로 하는 세균 감염병 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

[청구항 11] 제9항에 있어서,
상기 진저를 유도체 화합물은 *rhlA* 발현을 하향 조절(down-regulation)하는 것을 특징으로 하는 세균 감염병 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

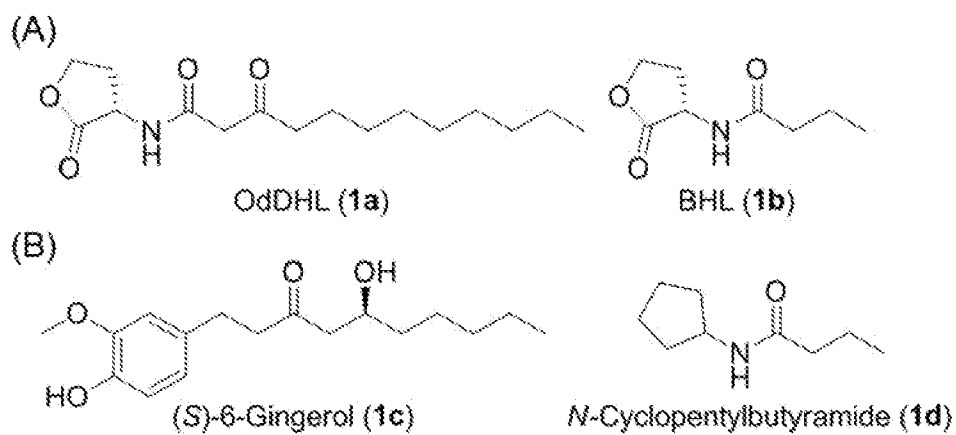
[청구항 12] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 따른 진저를 유도체 화합물, 또는 이의 라세미체, 이성질체, 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 세균 감염병 예방 또는 치료방법.

[청구항 13] 제12항에 있어서,
상기 세균 감염병은 낭포성 섬유증, 폐렴, 충치, 치주염, 중이염, 근골격 감염, 괴사성 근막염, 담관계 감염, 골수염, 세균성 전립선염, 자연 판막의 심내막염, 멜로이도시스 (meloidosis), 병원내 감염 (nosocomial infection), ICU 폐렴, 요로 카테터 방광염 (urinary catheter cystitis), 복막 투석 (CAPD) 복막염 및 담도배액관 폐쇄 (biliary stent blockage)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 감염증인 것을 특징으로 하는 세균 감염병 예방 또는 치료방법.

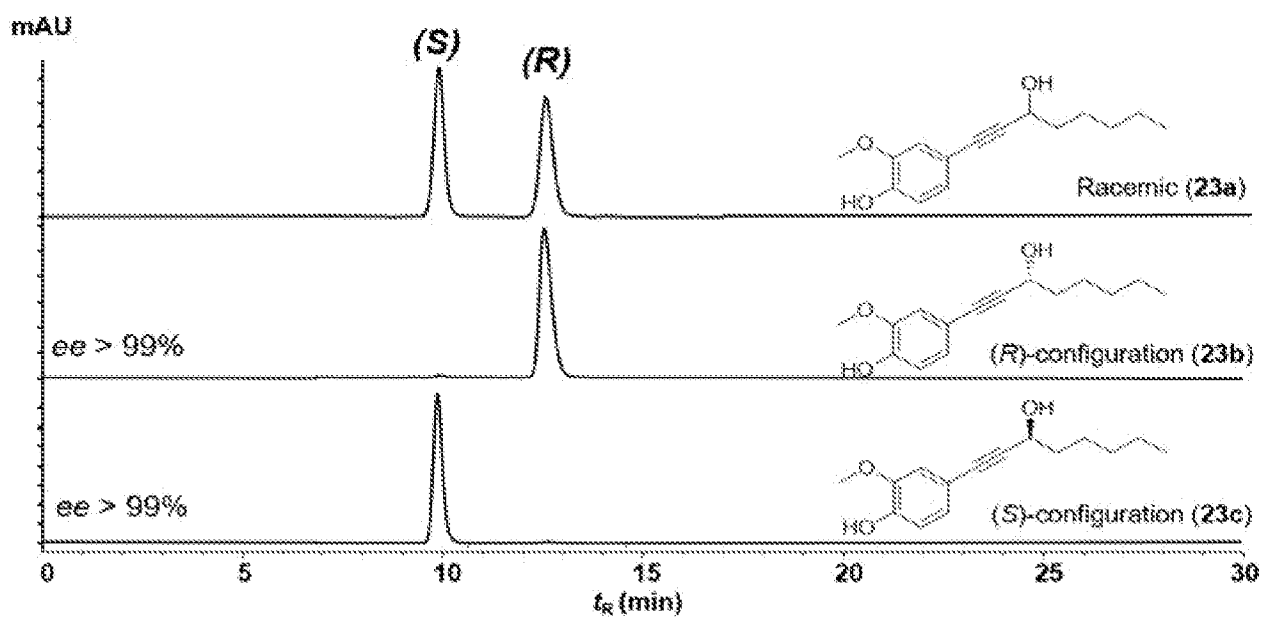
[청구항 14] 제12항에 있어서,
상기 진저를 유도체 화합물은 *rhlA* 발현을 하향 조절(down-regulation)하는

것을 특징으로 하는 세균 감염병 예방 또는 치료방법.

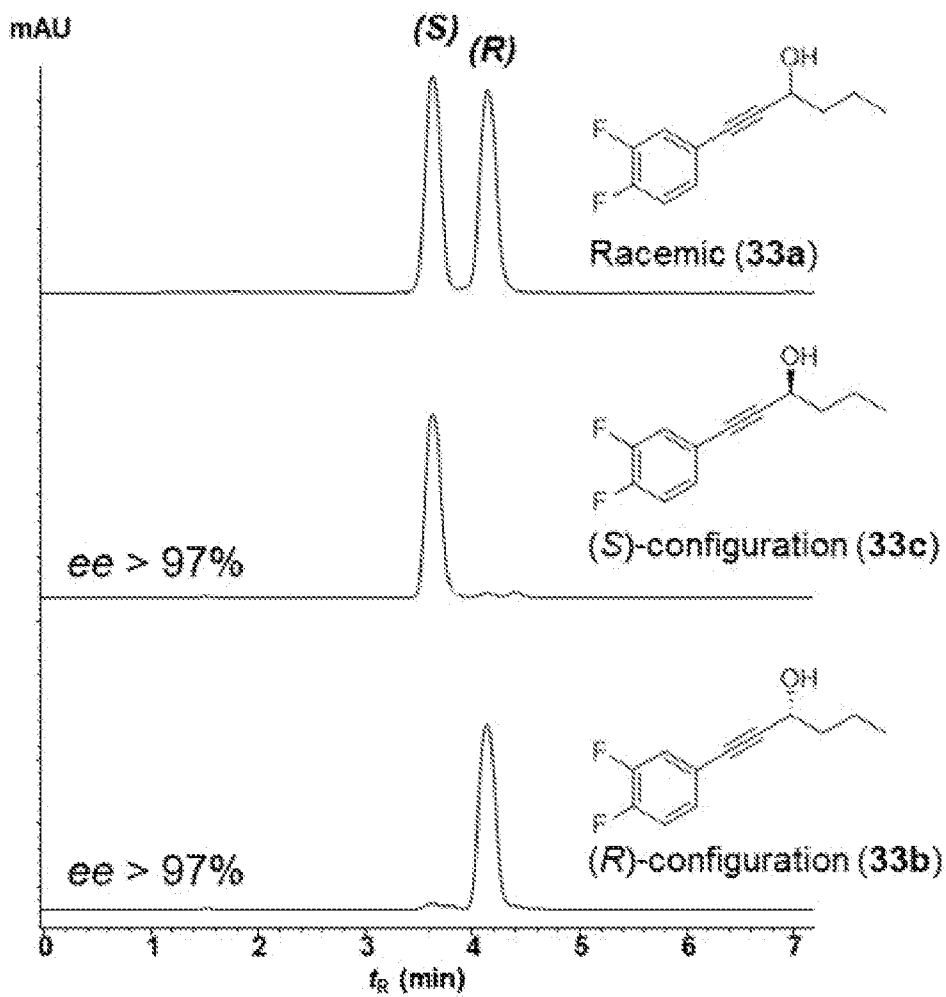
[도1]



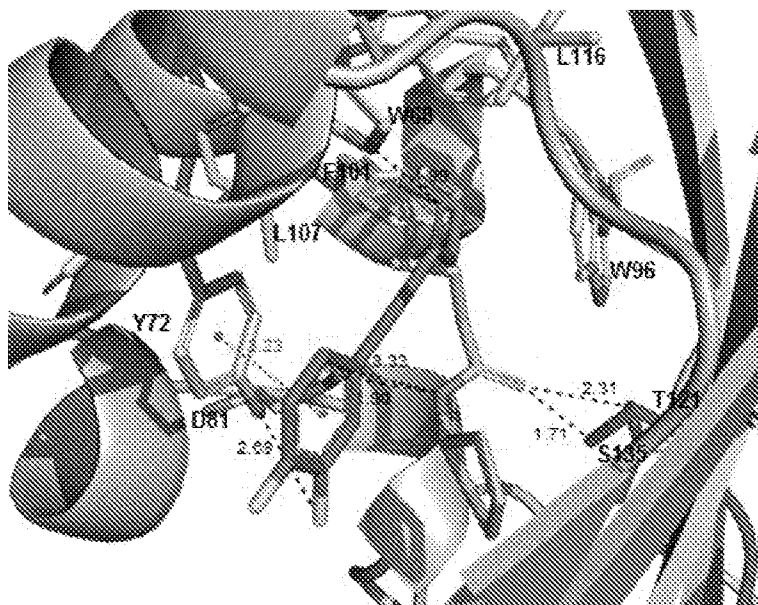
[도2]



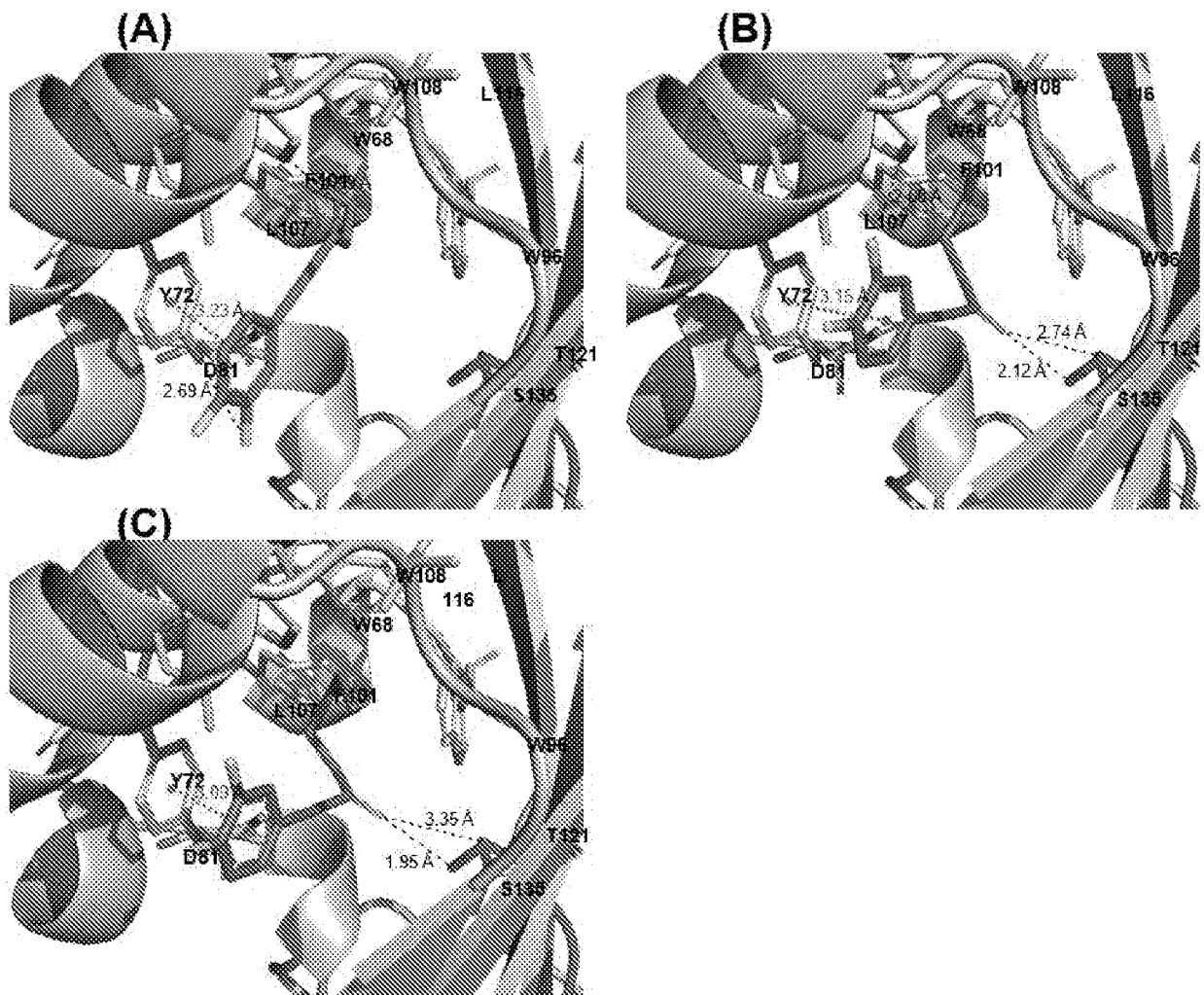
[도3]



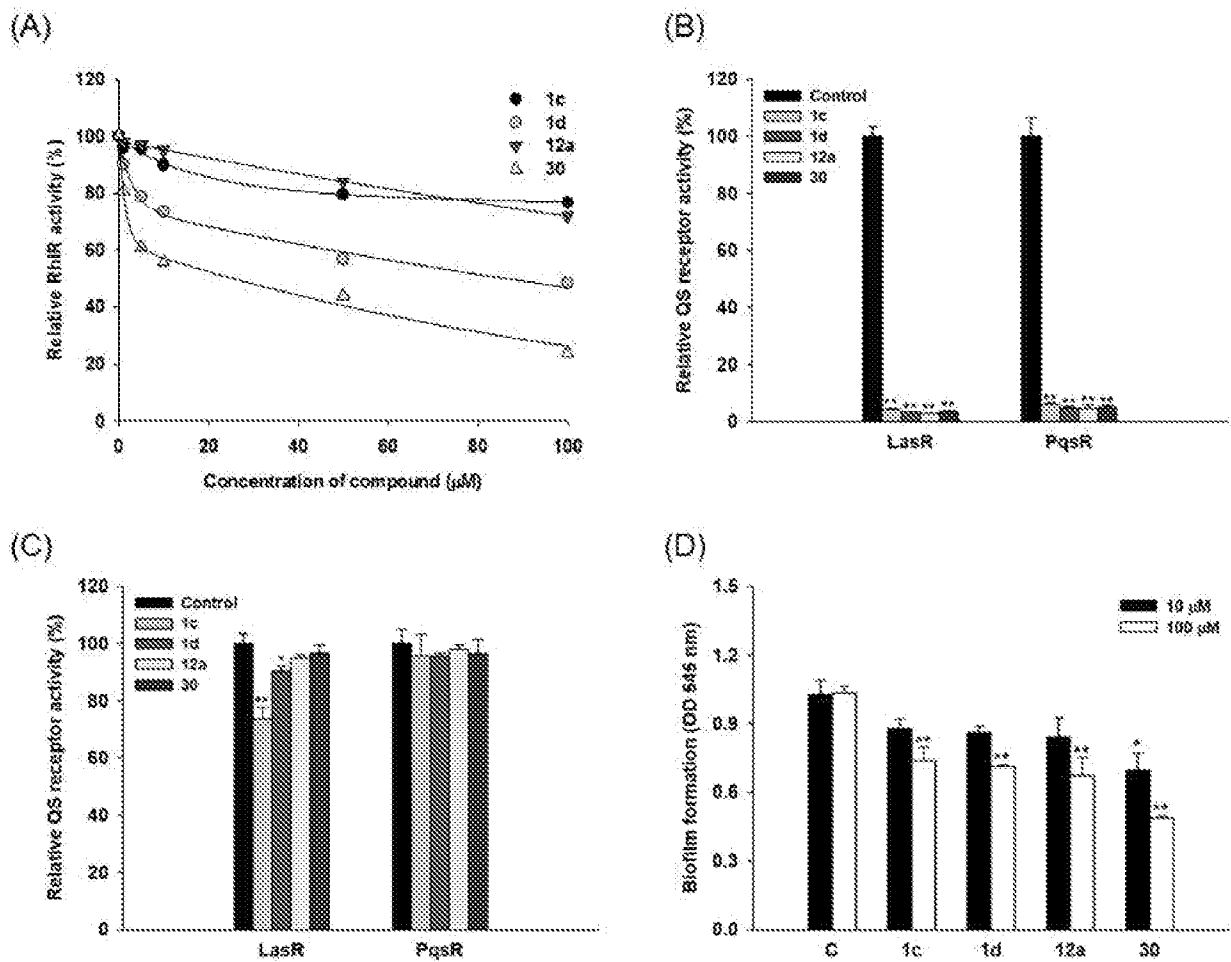
[도4]



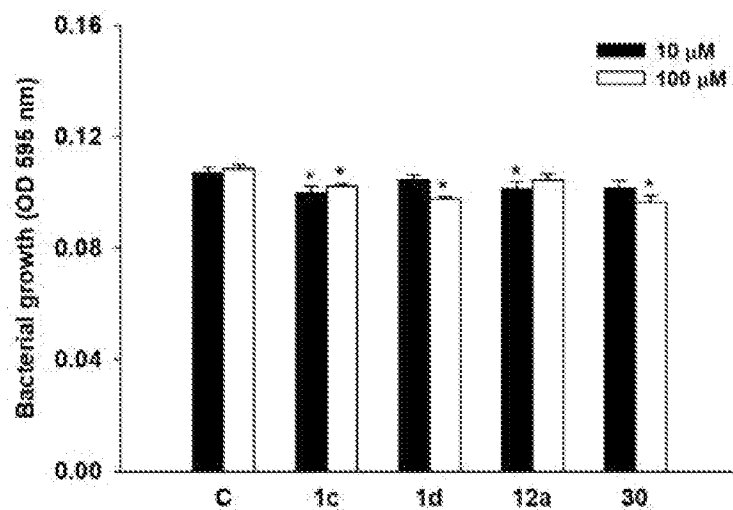
[도5]



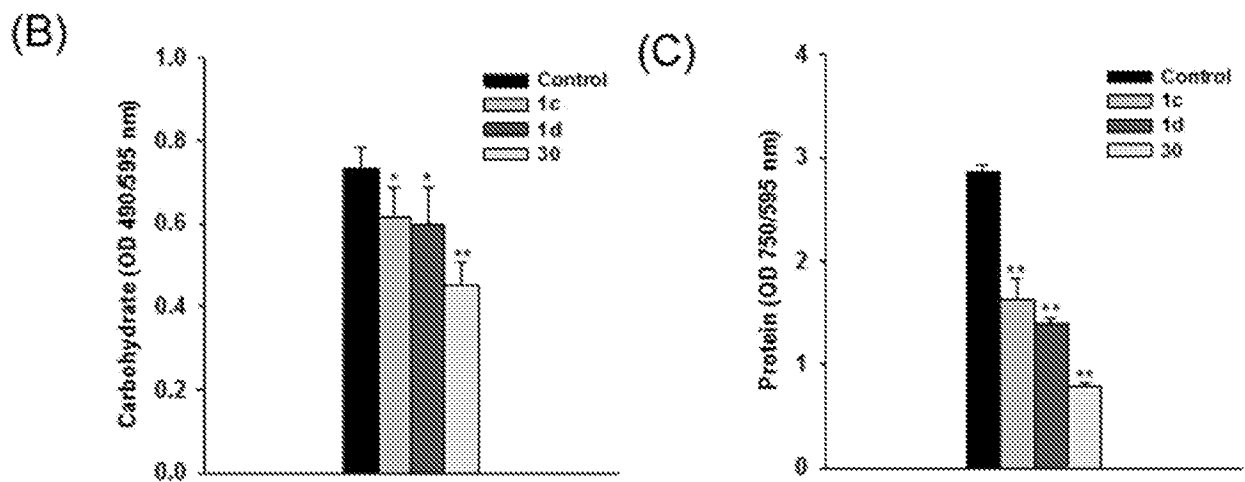
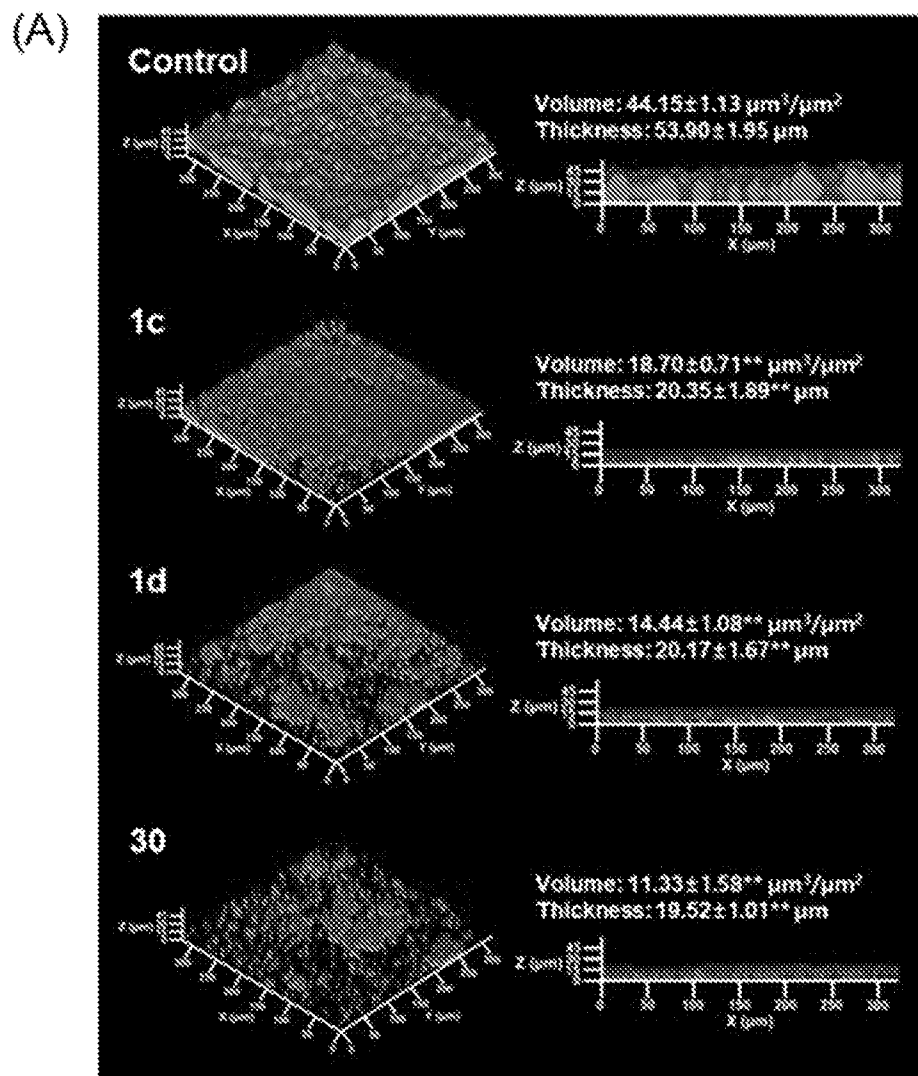
[도6]



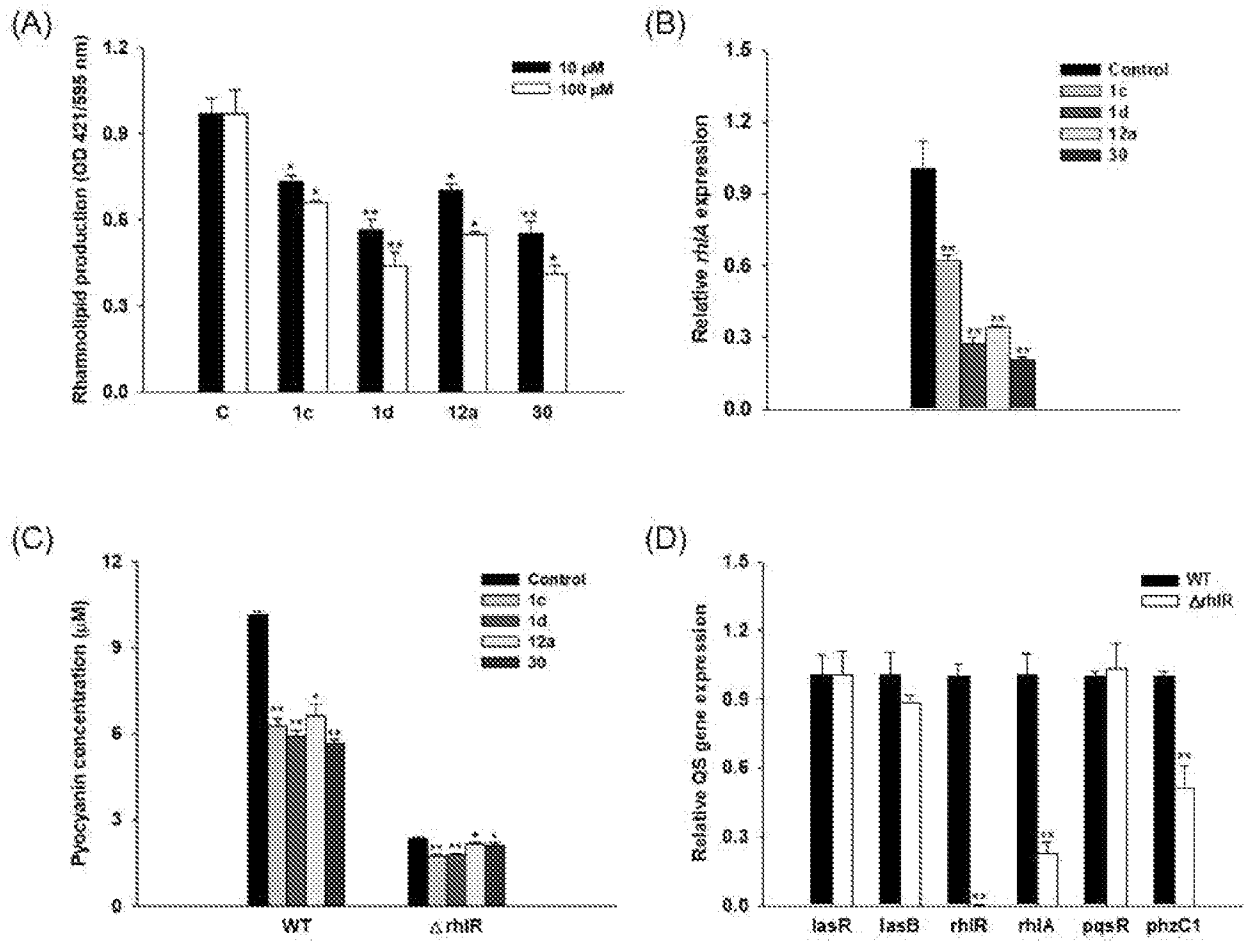
[도7]



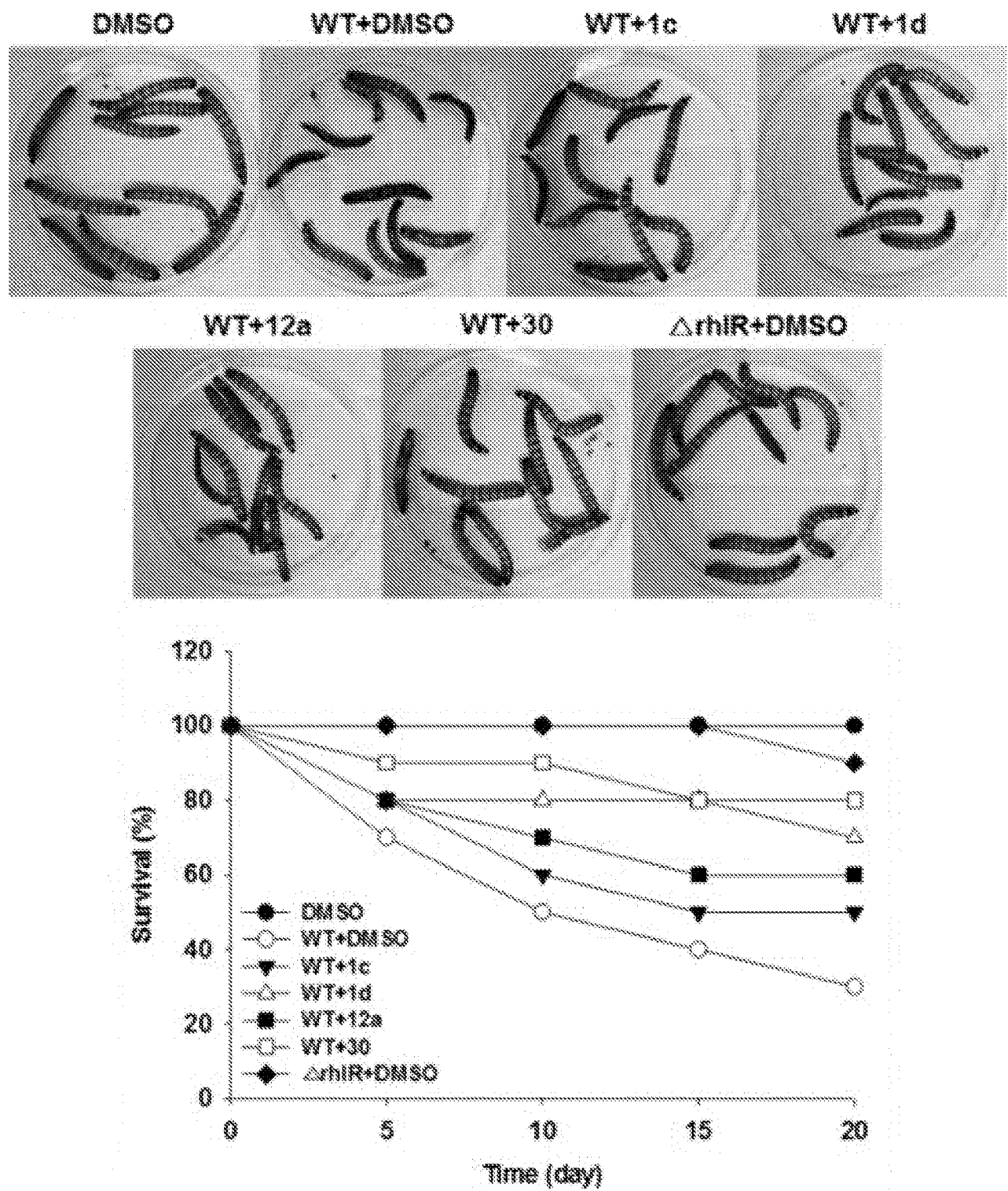
[도8]



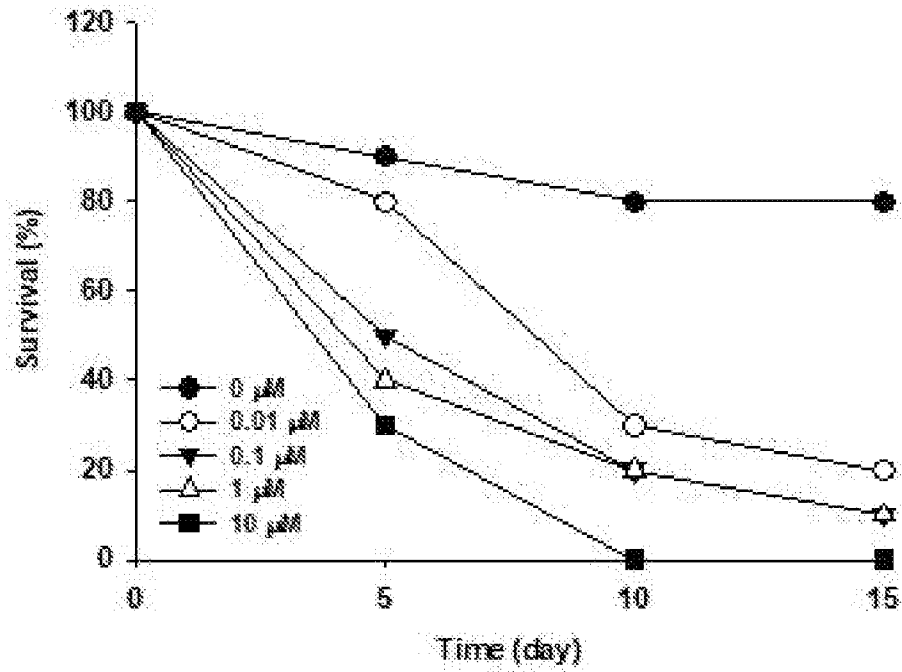
[도9]



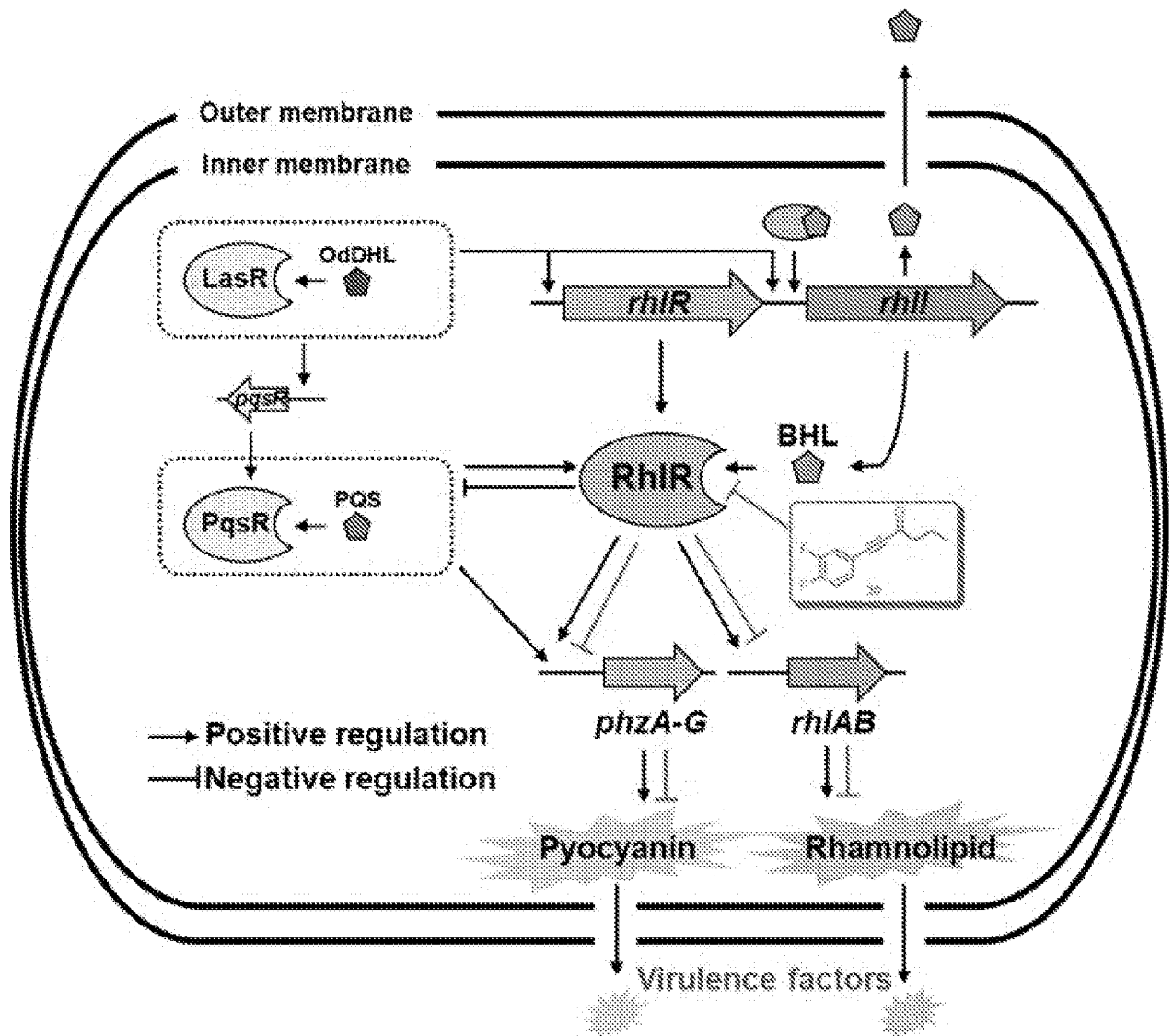
[도10]



[도11]



[도 12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2020/011180

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 49/235(2006.01)i; **C07C 49/213**(2006.01)i; **C07C 49/163**(2006.01)i; **C07C 49/172**(2006.01)i; **A61K 31/12**(2006.01)i; **A61K 31/045**(2006.01)i; **A61K 31/085**(2006.01)i; **A61P 31/04**(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C 49/235(2006.01); C07C 43/23(2006.01); C07C 45/62(2006.01); C07C 49/245(2006.01); C07C 49/255(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), STN (Registry, Caplus), Google & keywords: 진저롤 (gingerol), 바이오필름 (biofilm), 감염 (infection)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GAIRE, B. P. et al. Neuroprotective effect of 6-paradol in focal cerebral ischemia involves the attenuation of neuroinflammatory responses in activated microglia. PLoS One. 2015, vol. 10, article no. e0120203, inner pp. 1-17. See figure 1.	1-5
X	KR 10-2019-0010436 A (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION, SEJONG CAMPUS et al.) 30 January 2019 (2019-01-30) See abstract; paragraph [0004]; and claims 1-7.	3-11
X	KIM, H. -S. et al. 6-Gingerol reduces Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and virulence via quorum sensing inhibition. Science Reports. 2015, vol. 5, article no. 8656, inner pp. 1-7. See abstract; and figure 1.	3-11
X	CN 103159599 A (ZHU, Z.) 19 June 2013 (2013-06-19) See paragraph [0013].	1,5



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
“D” document cited by the applicant in the international application
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 December 2020

Date of mailing of the international search report

16 December 2020

Name and mailing address of the ISA/KR

**Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea**

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2020/011180

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHOI, H. et al. Structure-activity relationships of 6-and 8-gingerol analogs as anti-biofilm agents. Journal of Medicinal Chemistry. 2017, vol. 60, pp. 9821-9837. See abstract; compounds 4 and 24a; page 9824, right column, paragraph [0003]; and formulas 1 and 3.	1-11
PX	NAM, S. et al. Discovery and characterization of pure RhIR antagonists against Pseudomonas aeruginosa infections. Journal of Medicinal Chemistry. [electronic publication]22 July 2020, vol. 63, pp. 8388-8407. See abstract; formulas 1-3; and table 2.	1-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2020/011180

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **12-14**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 12-14 pertain to a method for treatment of the human body by surgery or therapy (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv)).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2020/011180

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2019-0010436	A	30 January 2019	US	2020-0283364	A1	10 September 2020
				WO	2019-017709	A1	24 January 2019
CN	103159599	A	19 June 2013	None			

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C07C 49/235(2006.01)i; C07C 49/213(2006.01)i; C07C 49/163(2006.01)i; C07C 49/172(2006.01)i; A61K 31/12(2006.01)i; A61K 31/045(2006.01)i; A61K 31/085(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C07C 49/235(2006.01); C07C 43/23(2006.01); C07C 45/62(2006.01); C07C 49/245(2006.01); C07C 49/255(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부검색 시스템), STN (Registry, Caplus), Google & 키워드:진저롤 (gingerol), 바이오필름 (biofilm), 감염 (infection)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	GAIRE, B. P. 등, "Neuroprotective effect of 6-paradol in focal cerebral ischemia involves the attenuation of neuroinflammatory responses in activated microglia", PLoS One, 2015, 10권, 아티클 넘버, e0120203, 내부 페이지 1-17 도면 1	1-5
X	KR 10-2019-0010436 A (고려대학교 세종산학협력단 등) 2019.01.30 요약; 단락 [0004]; 청구항 1-7	3-11
X	KIM, H. -S. 등, "6-Gingerol reduces Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and virulence via quorum sensing inhibition", Science Reports, 2015, 5권, 아티클 넘버 8656, 내부 페이지 1-7 초록; 도면 1	3-11
X	CN 103159599 A (ZHU, Z.) 2013.06.19 단락 [0013]	1,5
☒ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2020년12월16일(16.12.2020)		국제조사보고서 발송일 2020년12월16일(16.12.2020)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578		심사관 허주형 전화번호 +82-42-481-5373

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	CHOI, H. 등, "Structure-activity relationships of 6-and 8-gingerol analogs as anti-biofilm agents", Journal of Medicinal Chemistry, 2017, 60권, 페이지 9821-9837 초록; 화합물 4, 24a; 페이지 9824, 우컬럼, 단락 3; 도식 1, 3	1-11
PX	NAM, S. 등, "Discovery and characterization of pure RhIR antagonists against Pseudomonas aeruginosa infections", Journal of Medicinal Chemistry, [전자공개]2020.07.22, 63권, 페이지 8388-8407 초록; 도식 1-3; 표 2	1-11

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: **12-14**
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
청구항 12-14는 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료방법에 관한 것입니다 (PCT 제 17조(2)(a)(i) 및 조약규칙 39.1(iv)).
2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,
3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2019-0010436 A	2019/01/30	US 2020-0283364 A1	2020/09/10
		WO 2019-017709 A1	2019/01/24
CN 103159599 A	2013/06/19	없음	