

袖岡有機合成化学研究室  
Synthetic Organic Chemistry Laboratory



主任研究員 袖岡 幹子 (薬博)  
SODEOKA, Mikiko (D.Pharm.)

キーセンテンス：

1. 新規生物活性化合物を創製し、細胞内情報伝達の分子機構の解明とその制御を目指す
2. 細胞死制御分子を創製し、細胞死の分子生物学的なメカニズムに迫る
3. 複雑な構造を有する生物活性分子を効率よく合成するための方法論を新たに開発する

キーワード：

細胞内情報伝達、細胞死、生物活性分子、酵素阻害剤、タンパク質脱リン酸化酵素、タンパク質メチル化、  
ガングリオシド、含フッ素化合物、不斉触媒、有機金属化学、天然物全合成

研究概要

当研究室では、有機合成化学を基盤として、1)生物活性物質を効率良く合成する為の新しい反応や方法論の開発、2)新しい生物活性をもつ化合物の創製、3)合成した化合物を用いた生物化学的研究を行っている。研究対象は、遷移金属触媒を用いた不斉反応の開発から、細胞内情報伝達を制御する新しい低分子化合物の創製、ならびにそれを用いた生物化学的研究まで幅広い範囲におよぶ。特に、細胞の増殖などに関わるタンパク質リン酸化酵素や脱リン酸化酵素に着目し、その選択的阻害剤の設計・合成を行うとともに、それを用いて標的酵素の生体内での働きを明らかにすることを目指している。また、独自に開発した新しい作用機序をもつ細胞死制御分子をプローブとして用い、細胞死のメカニズム解明を行っている。さらに、糖脂質であるガングリオシドの機能解明をめざしたプローブ分子の創製も行っている。その他、ユニークな生物活性をもつ天然物の全合成にも取り組んでいる。

1. 新規細胞死制御剤の開発と作用機序解明研究

細胞死(アポトーシスやネクローシス)は、分化や増殖と並んで最も重要な生体内イベントの一つであり、厳密に制御されると同時にその異常は様々な疾患の原因となる。本研究では、疾患に関与する細胞死を制御する化合物(細胞死制御剤)を開発し、これを用いて分子レベルでの細胞死誘導機構の解明を目指す。

これまでに当研究室では、カスパーゼを介して実行されるアポトーシスは抑制せず、酸化ストレスによって誘導されるネクローシス様の細胞死を抑制するユニークな低分子化合物IM (Indolylmaleimide) 誘導体を見いだしている。また、このIM誘導体で抑制可能なネクローシス様の細胞死を誘導する化合物としてNT (NecroTrigger) 化合物の開発にも成功している。ネクローシスは、神経変性疾患(アルツハイマー病、パーキンソン病)や虚血性疾患(脳梗塞、心筋梗塞)をはじめとして様々な疾患への関与が示唆されている。そこで、本研究ではIM誘導体およびNT化合物の作用機序解明を通じて、そのメカニズムを分子レベルで解明することを目的としている。これまでにIM誘導体およびNT化合物の構造展開とプローブ化を行い、これら化合物がミトコンドリアに直接作用することを明らかにし、ミトコンドリアに存在する結合タンパク質の同定に成功している。そこで、これら結合タンパク質の機能解析を進めると共に、IM誘導体およびNT化合物の結合部位同定を目指す。

本研究において、細胞死制御剤の細胞内局在や結合タンパク質・結合部位を明らかにすることは作用機序の解明において重要な命題である。しかしながら既存の方法論には様々な問題点があることから、細胞内局在や結合タンパク質・結合部位を効率的に調べるための化学的方法論の開拓も行う。

(1) 生物活性化合物の結合タンパク質・結合部位同定に向けた方法論の開発(浅沼、大金、早水、寺山、Zhao、閻闡、袖岡;安藤、藤田(阪大工))

生物活性化合物の結合タンパク質および結合部位の同定を目指し、化合物に導入可能な小さなタグとこれを用いた標識・検出法およびアフィニティー精製法の開発を進めた。

これまでの検討でアルキルタグをコバルト錯体固定化ビーズで濃縮・精製することに成功している。そこ

で今年度は、アルキンタグがラマン分光法で検出できることを利用して、化合物の結合部位を同定する **Alkyne-tag Raman Screening (ATRaS)** 法の開発を行った。本手法ではアルキンタグを導入した化合物で結合タンパク質を標識後、ペプチド断片へと酵素消化したのちに、化合物が結合したペプチドをアルキンタグにより検出し、結合部位を同定する。本手法を用いることで、プロテアーゼの一種であるカテプシンBに関して、その阻害剤が結合する部位を同定することに成功した。

さらに、当研究室で開発された蛍光アフィニティーラベル化法である **O-NBD**法を用いて、生物活性化合物の結合部位を同定することを検討した。その結果、ミトコンドリア膜蛋白質の化合物結合部位の同定に成功した。また、癌細胞のイメージングに適用可能な蛍光標識化プローブの開発も進めた。

(2) **IM**誘導体のミトコンドリア結合タンパク質の解析 (江越、福田、浅沼、閻闔、袖岡；清水 (東京医科歯科大))

**IM**誘導体がミトコンドリアにどのように影響しているかを調べるため、単離ミトコンドリアを用いて解析を進めた。その際には、(1)で開発された手法を**IM**誘導体の結合タンパク質の解析へと適用し、タンパク質のラベル化とラベル化部位の同定を進めた。

(3) 生物活性化合物の新規イメージング技術の開発 (江越、閻闔、袖岡；安藤、藤田 (阪大工)；上田 (東北大理))

特定の化学構造を持つラマン散乱をもとに、化合物の細胞内局在を調べるイメージング技術の開発を引続き検討した。これまでに、サイレント領域 (細胞内の生体成分がラマン散乱を示さない領域) に強いラマン散乱を持つ官能基としてアルキン、ニトリル、重水素などを見出している。中でもアルキンを二つ持つジインは、非常に強いラマンシグナルを持つことが明らかとなっている。今年度はこのジインを植物毒素コロナチンに導入し、そのラマンイメージングを検討した。その結果、コロナチンがこれまで推定されていた核以外の部分に作用することを明らかにした。

(4) 新たな細胞死制御化合物の開発 (寺山、閻闔、袖岡；田中 (東京薬科大))

酸化ストレスが関連する細胞死を制御する化合物を探索し、見出された新規細胞死制御化合物に関して種々構造展開を行うことでその活性を向上させることに成功した。今後プローブ化を経てターゲット分子の同定を目指す。

(5)  $\gamma$ -linolenic acidによる細胞死誘導機構の解明 (福島、平井、大沼、閻闔、袖岡)

不飽和脂肪酸 $\gamma$ -linolenic acid (GLA)は正常細胞には影響を及ぼさず、癌細胞に選択的に細胞死を誘導することが報告されているが、その作用機序は明らかとなっていない。そこで、我々はGLAをプローブ化し、その作用機序解明を進めることとした。今年度はGLAに対してアルキンタグを導入し、その活性を評価した。その結果、元のGLAと同等の細胞死誘導活性を有する誘導体を得ることに成功した。

## 2. 細胞内情報伝達酵素の活性を制御する低分子化合物の創製

当研究室では、これまでになかった生物活性分子、特に細胞内でタンパク質の翻訳後修飾を制御できる化合物を、天然物や生体分子を元に新たに創製することを基盤として研究を展開している。これら分子のタンパク質レベル、細胞レベルでの活性、結合タンパク質解析を同時に進め、有機分子の構造と機能との相関関係明らかにし、有用分子を提供することを目的としている。

(1) シアリダーゼ耐性型ガングリオシド**GM3**アナログの活性評価とシアリダーゼ機能解析のためのプローブ分子の開発 (深澤、大沼、平井、袖岡)

当研究室では細胞膜マイクロドメインの構成要素の一つと考えられているガングリオシド**GM3**の機能解明を目指した、分子基盤を構築しようと考えている。今年度も引き続き、これまでに創製した**GM3**アナログの細胞レベルでの活性評価に取り組んだ。さらに**GM3**代謝追跡に有用なプローブ分子の開発に成功した。

(2) フィサリン類を基盤とした新規生物活性分子創製 (森田、平井、袖岡)

これまでに、合成と生物活性評価によって、フィサリン類の特徴的な右側構造が作用機序と生物活性に重要であることを見出している。今年度も引き続き、より高活性な化合物の創製、および詳細な作用機序解析を志向した誘導体合成に取り組んだ。

(3) **SUMO**化阻害剤スペクトマイシン類の合成研究 (関根、平井、袖岡)

**SUMO**化阻害剤として同定されたスペクトマイシン類の構造活性相関研究に取り組んでいる。今年度は、スペクトマイシン**B1**の合成を志向し、その合成法開発を検討した。

(4) **In-cell NMR**に用いる常磁性プローブの合成研究 (名取、平井、袖岡；伊藤、三島 (首都大学東京))

当研究室ではこれまでに、In-cell NMRに利用可能な改良型ランタノイド錯体の合成に成功した。今年度は、アジド型プローブ、およびヨードアセトアミド型プローブの合成に取り組んだ。

(5)  $\alpha$ -ケトカルボン酸誘導体を利用する光親和性標識法の開発 (太田、大沼、平井、袖岡)

光親和性標識法は、生物活性分子の結合タンパク質を同定する上で、非常に重要な方法である。しかし、これまでに利用されてきた光反応性官能基は、比較的嵩高く、疎水性の高いものが多く、生物活性の変化や非特異的な結合を誘導する原因となっていた。そこで新規光反応性官能基として、本年度はコンパクトで疎水性の低い $\alpha$ -ケトカルボン酸誘導体を利用可能かを検討した。

(6) RK-460の全立体異性体合成 (三瓶、平井、袖岡; 由田、長田 (環境資源センターケミカルバイオロジー研究グループ))

新規アブシジン酸アンタゴニストとして見出されたRK-460の全立体異性体を合成し、それらのアンタゴニスト活性を評価した。

(7) GlcADGの合成 (王、平井、袖岡)

植物成分糖脂質、GlcADGの全合成を達成した。

(8) タンパク質メチル化検出法の開発 (赤壁、五月女、袖岡)

分子タグを導入したSAM (*S*-adenosylmethionine) 誘導体を用いるタンパク質メチル化反応の網羅的検出について検討を進めている。本年度は、昨年度確立した合成手法及び精製法を基盤として、さらなるSAM誘導体の構造展開を行った。

(9) タンパク質メチル化酵素阻害剤の開発 (五月女、赤壁、袖岡)

従来のタンパク質メチル化阻害剤の開発研究では、精製された酵素及びタンパク質或いはペプチドのメチル化を指標に阻害剤のスクリーニングが行われる。一方、我々は、これまでに開発したタンパク質メチル化の網羅的検出系を基盤として、メチル化酵素あるいはタンパク質基質に対し選択的に作用する阻害剤の探索を試みた。その結果、我々が開発を進めてきたエピジチオジケトピペラジン型メチル化阻害剤の新規標的タンパク質基質の同定に成功した。

### 3. 生物活性化合物の効率的合成を指向した新規触媒反応、新規合成法の開発

触媒反応は、省資源・省エネルギー型の化学合成を実現するための理想的な方法である。当研究室では、合成医薬品を含む様々な生物活性化合物の効率的な合成法開発を目指し、金属錯体を駆使した新規触媒反応の開発に取り組んでいる。具体的には、ゼロエミッションを目指した原子効率の高い次世代反応として、様々な分野での用途が期待される含フッ素化合物の新規合成法、プロトン移動型の不斉触媒反応及び酸素を用いた酸化的触媒反応に関する研究を行っている。また、これらの触媒反応により得られる多官能基型分子の構造展開を可能とする新規変換反応の開発にも取り組んでいる。

(1) 含フッ素化合物の新規合成法の開発 (河村、Valverde-Murillo、関根、Henderson、袖岡)

近年、新規に開発された医薬品や農薬の多くにフッ素を含む化合物が見られ、その中でも特にペルフルオロアルキル化合物が注目を集めている。当研究室ではこれまでに、その合成手法として超原子価ヨウ素ペルフルオロアルキル化試薬を用いたアルケンのペルフルオロアルキル化反応の開発を行ってきた。同研究で用いたペルフルオロアルキル化試薬は反応性や選択性に優れる一方、高コストかつ爆発性が報告されていることから実用的な応用に課題が残されていた。そこで本年度、我々は実用的なペルフルオロアルキル化反応の開発を目的に研究を行うことにした。その結果、より安価で有機合成化学に汎用的に用いられているペルフルオロ酸無水物をペルフルオロアルキル源に用いたアルケン類のペルフルオロアルキル化反応の開発に成功した。

(2) 遷移金属触媒を用いる新規環化反応の開発 (Bartlett、五月女、袖岡; Johnson (University of North Carolina))

本年度は、これまで進めてきた触媒的不斉[3+2]環化付加型反応の基質適用範囲の拡張を目指し、 $\alpha$ -ケトエステルとニトリルオキシドとの反応の開発に焦点を当てた。ニトリルオキシドは反応性が高く単離することが困難であり、二量化反応をはじめ様々な副反応が問題となる。一方、我々は、 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ -ジアミン錯体を用いることで、 $\alpha$ -ケトエステルとニトリルオキシドとの触媒的不斉[3+2]環化付加型反応が選択的に進行することを見出した。

(3) 酸素を用いる酸化的触媒反応の開発 (Pünner、山口、菅原、五月女、袖岡)

触媒的不斉反応により分子の複雑性を効率的に増幅するために、分子状酸素を用いる不斉ヒドロキシル化反応や酸化的炭素-炭素結合形成反応の開発に取り組んでいる。本年度は、特に $\beta,\gamma$ -不飽和ヒドラゾンを用い、

酸素雰囲気下、酸化的環化反応の開発に焦点を当てた。その結果、i) Cu(OAc)<sub>2</sub>/EtOHを用いた場合には5位にケトンが導入された3置換型ピラゾールが得られるのに対し、ii) Cu(OAc)<sub>2</sub>/HFIP (ヘキサフルオロイソプロパノール)を用いる系ではオレフィン部分の開裂を伴い2置換型ピラゾールが得られることを見出した。

(4) 連続四級炭素の新規合成法の開発 (菅原、五月女、袖岡)

連続四級炭素は多くの生物活性化合物に含まれる重要な骨格である。本年度は、*N*-Bocオキシインドールの酸化反応により得られる二量体を出発原料として用い、連続四級炭素の新規構築法の開発を行った。まず本二量体のX線結晶構造解析、溶液スペクトル解析及びDFT計算を行い、二量体のC(3)-C(3')結合は開裂しやすく、炭素ラジカル種が生じることを明らかとした。更に、炭素ラジカル活性種とアゾ化合物とのヘテロカップリング反応の開発を行い、異なる連続四級炭素骨格を有する分子を効率的に供給することが可能となった。

-----

#### Key Sentences :

1. Create novel bioactive compounds to control intracellular signal transductions.
2. Clarify the molecular mechanism of cell death by using novel cell death control molecules.
3. Develop new and efficient methodologies for the synthesis of complex molecules having important biological activities.

#### Key Words :

intracellular signal transduction, cell death, bioactive molecule, enzyme inhibitor, protein phosphatase, protein methyltransferase, ganglioside, fluorine-containing molecule, asymmetric catalysis, organometallic chemistry, total synthesis of natural product

#### Outline

Our laboratory focuses on the following research areas based on synthetic organic chemistry: 1) development of new reactions and methodologies for the efficient synthesis of bioactive molecules, 2) design and synthesis of molecules having unique biological activity, 3) biological researches using these unique molecules as biological probes. Our research interests encompass from transition metal-catalyzed enantioselective reactions to the design and synthesis of intracellular signal transduction modulators and their application to cell biology research. Design and synthesis of selective inhibitors of protein kinases and phosphatases, which are involved in the signal transduction of cell proliferation, aiming for the clarification of the functions of their target enzymes are of particular interest. Clarification of the molecular mechanism of cell death, especially necrosis, by using our original cell death control molecules is also currently underway. We are also working on the synthesis of ganglioside analogues and several other natural products having interesting biological activities.

#### 1. Development and Mechanistic Studies of Novel Cell Death Control Molecules

Cell death is one of the most important events for multicellular organisms to live in healthy conditions and should be strictly regulated. Abnormal acceleration or suppression of cell death causes various diseases. In this study, we aim to develop cell death control molecules, by which we try to clarify the molecular mechanism of cell death related to diseases.

We have already found that indolylmaleimide (IM) derivatives are selective inhibitors for necrotic cell death induced by oxidative stress. Moreover, we developed NecroTrigger (NT) derivatives as a novel inducer of necrosis. Necrosis was found to play an important role in pathological cell death, for example, in neurodegenerative disorders and ischemia-reperfusion injury. By using IM derivatives and NT derivatives as biological tools, we intended to clarify the molecular mechanism of necrosis.

Clarification of the binding proteins/sites and cellular localization of cell death control molecules is of key significance in these studies. However, there are various difficulties encountered in their clarification using traditional methods. We also developed new chemical methods in order to achieve

more efficient identification of the binding proteins/sites and cellular localization of bioactive compounds.

1) Development of novel methods for the identification of binding proteins/sites of bioactive compounds (Asanuma, Ohgane, Hayamizu, Terayama, Zhao, Dodo, Sodeoka; Ando, Fujita (Osaka University))

We explored small tags and purification/labeling methods for the identification of binding proteins/sites of bioactive compounds. We previously succeeded in the purification of alkyne-tagged molecules by using cobalt-complex-immobilized beads. In this fiscal year, we also developed a novel method for the identification of binding sites, named as Alkyne-tag Raman Screening (ATRaS). In this method, binding proteins are labeled with alkyne-tagged compounds and digested into peptide mixture, and then labeled peptides are detected by Raman analysis leading to the identification of binding sites. By using this method, we succeeded in identifying binding sites of a cathepsin B inhibitor.

We have established the *O*-NBD method, a Turn-ON fluorescent affinity labeling method for binding proteins. From the previous fiscal year, we have been applying this method for the identification of binding sites. This year, we succeeded in identifying the binding sites of mitochondrial membrane proteins. In addition, we also started to develop novel labeling probe for tumor imaging.

2) Analysis of IM-binding proteins in mitochondria (Egoshi, Fukuda, Asanuma, Dodo, Sodeoka; Shimizu (Tokyo Medical and Dental University))

We examined the effects of IM derivatives on mitochondria. By using the novel methods developed in the previous section 1), we analyzed the IM-binding proteins in isolated mitochondria.

3) Development of a novel imaging method of bioactive compounds (Egoshi, Dodo, Sodeoka; Ando, Fujita (Osaka University); Ueda (Tohoku University))

We have developed a novel Raman imaging method for the determination of cellular localization of bioactive compounds. We previously found the several functional groups, such as alkyne, nitrile, and deuterium, showed strong Raman scattering in the Raman silent region in live cells, in which endogenous molecules showed negligible Raman peaks. Especially, diyne was found to show very strong Raman signal. This year, we synthesized and analyzed diyne-tagged coronatine, a virulence factor in plants. As a result, we revealed that coronatine localized at non-nuclear region, suggesting the existence of novel target protein different from the known nuclear protein.

4) Development of novel cell death control molecules (Terayama, Dodo, Sodeoka; Tanaka (Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences))

We found novel compounds controlling oxidative-stress-related cell death, and we successfully improved the activity of the seed compound through the structure-activity relationship study. Based on this compound, we next planned to develop chemical probes to identify the target molecule.

5) Mechanistic studies of tumor-selective cell death induction by  $\gamma$ -linolenic acid (Fukushima, Hirai, Oonuma, Dodo, Sodeoka)

$\gamma$ -Linolenic acid (GLA) has been reported to kill tumor cells without affecting normal cells, but the molecular mechanism has not yet been clarified. We planned to develop new chemical probes to clarify the molecular mechanism of GLA-induced cell death. This year, we synthesized GLA derivatives having an alkyne tag and examined their cell-death-inducing activity. As a result, we successfully obtained alkyne-tagged derivatives showing the same cell death induction as GLA.

## 2. Synthesis of small molecule modulators of enzymes controlling intracellular signal transduction

This laboratory also focuses on the development of novel biologically-active molecules especially regulators of post-translational modifications of proteins, based on natural products and biomolecules. Evaluation of their biological activities at both protein and cell levels and analyzing their binding proteins would contribute to understanding the relationship between the structure of molecules and their functions.

1) Biological evaluation of sialidase-resistant ganglioside GM3 analogues and development of the functional probes for analysis of functions of sialidases (Fukazawa, Oonuma, Hirai, Sodeoka)

For clarification of molecular functions of ganglioside GM3, which is thought to be a component of membrane microdomains, we have developed sialidase-resistant GM3 analogues. This year, evaluation of synthetic GM3 analogues at the cellular level was continuously investigated. Probe molecules for analyzing functions of sialidases were designed based on new concept and synthesized.

2) Development of novel biologically-active molecules based on physalins (Morita, Hirai, Sodeoka)

We have shown that right side partial structure of physalins played an important role both in potency of compounds and determination of the mode-of-action, which was clarified by natural and synthetic molecules. This year, development of more potent compounds was continuously investigated.

3) Synthetic studies of a novel SUMOylation inhibitor, spectomycin B1 (Sekine, Hirai, Sodeoka)

We are investigating the structure-activity relationship study of spectomycins, promising candidates as protein SUMOylation inhibitors. This year, the synthesis of dimeric structure of spectomycin B1 was examined.

4) Synthetic studies of paramagnetic probes for In-cell NMR (Natori, Hirai, Sodeoka; Ito, Mishima (Tokyo Metropolitan University))

Last year, we developed a modified paramagnetic NMR probe molecule having DOTA scaffold for in-cell NMR. This year, the synthetic method for azide-type and iodoacetamide-type compounds were investigated.

5) Development of new photo-reactive group for photo-affinity labeling (Ota, Oonuma, Hirai, Sodeoka)

Photo-affinity-labeling is one of the most important methodology to identify binding proteins of bioactive molecules. Although several useful photo-reactive groups have been developed so far, they are relatively bulky and hydrophobic, which can cause decrease of biological activities or nonspecific binding to unrelated proteins. This year, the use of compact and less hydrophobic  $\alpha$ -ketocarboxylic acid derivatives as new photo-reactive groups was investigated.

6) Synthesis of all-possible stereoisomers of RK-460 (Mikame, Hirai, Sodeoka; Yoshida, Osada (RIKEN-CSRS); Nagasawa (TAT))

Synthesis and evaluation of all possible stereoisomers of RK-460, which has been identified as a new abscisic acid antagonist, was performed.

7) Synthesis of GlcADG (Wang, Hirai, Sodeoka)

We completed the total synthesis of GlcADG, glycolipids obtained from plants.

8) Development of chemical strategies to analyze protein methylation (Akakabe, Sohtome, Sodeoka)

We have working on the development of a chemical methodology to detect and analyze protein methylations by utilizing *S*-adenosylmethionine (SAM) analogues that can transfer bioorthogonal reactive groups using protein methyl transferases (PMTs). This year, we have continued the structural development of SAM analogues on the basis of the previously established procedures for the synthesis and purification.

9) Exploring protein methyltransferase inhibitors (Sohtome, Akakabe, Sodeoka)

High-throughput screening using a set of purified enzyme/protein (or peptide) is the most widely used technologies to search the hit compounds that possess the potent PMT inhibitory activity. In contrast, this year, we applied the developed random visualization strategy using the SAM analog to evaluate the PMT inhibitory activity of small molecules with the cell lysate. This investigation led us to identify the new protein substrates, which are effectively suppressed the PMT-catalyzed methylation by the addition of epidithiodiketopiperazine-type methylation inhibitor.

### 3. Development of novel catalytic reactions and synthetic transformations for the synthesis of bioactive molecules

Reflecting the growing importance of environmentally friendly chemical processes, catalytic reactions with high atom-economy have attracted much attention in modern organic chemistry. We have been working on the development of unexplored metal-catalyzed organic reactions, particularly focusing on atom-economical proton-transfer reactions as well as novel reactions for the synthesis of organofluorine compounds, as useful organic transformations for the synthesis of complex bioactive molecules. We have also focused on exploring new strategies for synthetic derivatizations of highly fictionalized products that can be obtained by our original catalytic reactions.

1) Development of novel synthetic methods for fluorinated compounds (Kawamura, Valverde-Murrilo, Sekine, Henderson, Sodeoka)

Fluorine-containing compounds are often found in recently developed drugs and agrochemicals, and perfluoroalkylated compounds have been particularly attracted much attention. Our group has been developed synthetic methods for perfluoroalkylated compounds by the aid of a hypervalent iodine

perfluoroalkylating reagent. Although this reagent shows excellent reactivity and selectivity toward perfluoroalkylation reactions of olefins, its high cost and reported explosibility restrict practical applications to synthesis of bioactive compounds. In this fiscal year, we focused on development of practical perfluoroalkylations. And we succeeded to use perfluoro acid anhydrides, which are inexpensive and commonly used in organic synthesis, as perfluoroalkyl sources in alkene perfluoroalkylations.

2) Transition metal-catalyzed novel cyclizations (Bartlett, Sohtome, Sodeoka; Johnson (University of North Carolina))

Aiming at expanding the substrate scope of the developed catalytic asymmetric [3+2] cycloaddition of  $\alpha$ -keto esters, we have focused on the use of the nitrile oxide as a 1,3-dipole. Due to the instability of the nitrile oxide, the combination of  $\alpha$ -keto ester and nitrile oxide potentially cause multiple side reactions. In sharp contrast, we uncovered that  $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ -diamine complex is extraordinary effective to selectively promote the catalytic asymmetric [3+2] cycloaddition of  $\alpha$ -keto esters with nitrile oxides.

3) Synthetic methodologies for oxidative functionalization of small molecules using transition metal catalysts (Pünner, Yamaguchi, Sugawara, Sohtome, Sodeoka)

In order to efficiently increase the molecular complexity via bond-forming processes, we have studied on the development of methodologies for catalytic hydroxylation and catalytic oxidative functionalization under aerobic conditions. This year, we have focused on the aerobic oxidative cyclization of readily available  $\beta,\gamma$ -unsaturated hydrazones, enabling to produce two distinct classes of pyrazoles depending on the solvent. For example,  $\text{Cu}(\text{OAc})_2/\text{EtOH}$  gave 1,3,5-trisubstituted products with ketone functionality. On the other hand, when  $\text{Cu}(\text{OAc})_2/\text{HFIP}$  (hexafluoroisopropanol) was used, the C–C bond-cleavage occurred to selectively afford 1,3-disubstituted pyrazoles.

4) Synthetic methodologies for construction of contiguous all-carbon quaternary centers (Sugawara, Sohtome, Sodeoka)

Molecules containing vicinal all-carbon quaternary centers are found in many biologically active compounds. This year, we have developed a new synthetic methodology to construct the molecular framework having vicinal all-carbon quaternary centers starting from the *N*-Boc oxindole dimer, which can be easily prepared from corresponding monomer by oxidation reaction. First, on the basis of X-ray and solution state analyses together with DFT calculation, we revealed that C(3)–C(3') bond of the dimer is labile to easily generate the corresponding monomeric carbon radical species. Second, we have successfully trapped the monomeric carbon radical species using azo compounds, facilitating to provide the functionalized molecules that bear two distinct vicinal all-carbon quaternary centers.

***Principal Investigator***

袖岡 幹子 Mikiko Sodeoka

***Vice Chief Scientist***

越野 広雪 Hiroyuki Koshino

***Research Staffs***

平井 剛 Go Hirai  
闖闖 孝介 Kosuke Dodo  
五月女 宜裕 Yoshihiro Sohtome  
浅沼 三和子 Miwako Asanuma  
大金 賢司 Kenji Ohgane  
森田 昌樹 Masaki Morita  
Elena Valverde-Murillo  
江越 脩祐 Syusuke Egoshi  
太田 英介 Eisuke Ota  
菅原 真純 Masumi Sugawara  
早水 健二 Kenji Hayamizu

***Technical Staff***

寺山 直樹 Naoki Terayama  
赤壁 麻依 Mai Akakabe  
関根 大介 Daisuke Sekine

***Students***

赵 倩 Qian Zhao  
深澤 亮 Ryo Fukazawa  
三瓶 悠 Yu Mikame  
福島 翔 Sho Fukushima  
名取 文彦 Fumihiko Natori  
Cassandra Joan Henderson  
Manuel Gemander

***Assistants, Part-timers, Visiting Technicians***

齊藤 泉 Izumi Saito  
王 秀玲 Xiuling Wang  
福田 智美 Tomomi Fukuda

***Cooperative members***

河村 伸太郎 Shintaro Kawamura  
Florian Pünner  
山口 滋 Shigeru Yamaguchi  
王 倩倩 Qianqian Wang  
大沼 可奈 Kana Oonuma

***Visiting Members***

藤田 克昌 Katsumasa Fujita  
上田 実 Minoru Ueda  
長澤 和夫 Kazuo Nagasawa  
安藤 潤 Jun Ando