



**HAL**  
open science

## Développement de ligands anticlastogéniques des prohibitines

Redouane Tabti

► **To cite this version:**

Redouane Tabti. Développement de ligands anticlastogéniques des prohibitines. Chimie thérapeutique. Université de Strasbourg; Université Ferhat Abbas (Sétif, Algérie), 2019. Français. NNT : 2019STRAF069 . tel-03384162

**HAL Id: tel-03384162**

**<https://theses.hal.science/tel-03384162>**

Submitted on 18 Oct 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**ÉCOLE DOCTORALE des SCIENCES CHIMIQUES-ED222**

**Laboratoire de Cardio-Oncologie et Chimie Médicinale**

## **THÈSE**

Présentée par :

**Redouane TABTI**

Soutenue le : **18 Décembre 2019**

Pour obtenir le grade de  
**Docteur de l'université de Strasbourg**  
**et de l'université de Sétif-1**

Discipline/ Spécialité : Chimie médicinale

# **Développement de ligands anticlastogéniques des prohibitines**

### **THÈSE dirigée par :**

**Dr DESAUBRY Laurent**

Directeur de recherche au CNRS, Université de Strasbourg

**Pr BENTOUHAMI Embarek**

Professeur, Université de Sétif-1

### **RAPPORTEURS :**

**Dr PELLEGRINI-MOÏSE Nadia**

Maître de conférences, Université de Lorraine

**Pr BAITICHE Milad**

Professeur, Université de Sétif-1

---

### **AUTRES MEMBRES DU JURY :**

**Dr MIESCH Laurence**

Directeur de recherche au CNRS, Université de Strasbourg

**Dr DONNARD Morgan**

Chargé de recherche au CNRS, Université de Strasbourg

**Dr SOBHI Widad**

Maître de conférences, Université de Sétif-1

On peut enlever un général à son armée, mais non à un homme sa volonté

*Confucius*

## Dédicaces

### À LA MEMOIRE DE MA GRAND MERE ROUKAYA

J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes dans sa sainte  
miséricorde

### À MES TRES CHERS PARENTS.

Aucune dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et  
l'amour que je vous porte.

### À MA TRÈS CHÈRE EPOUSE

Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait  
dans les moments pénibles, de solitude et de difficulté.

### À MES ENFANT FATIMA ZAHRA, MOHAMED EL MOSTAFA

Qui sont ma joie et mon bonheur.

### À MES CHERS ET ADORABLE FRERES ET SCEURS

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon  
affection la plus sincère.

### À MES CHERS PETIT S NEVEUX ET NIECES

**Haythem, Amina, Abd Eljalil, Yasser, Abd Elrahim.**

Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos  
vœux les plus chers.

## Remerciements

Cette thèse a été réalisée au sein du Laboratoire de Chimie -Ingénierie des Matériaux et Nanostructures de la faculté de génie des procédés de l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 sous la direction du Pr Embarek BENTOUHAMI et du Laboratoire Cardio-Oncologie et Chimie Médicinale de l'Université de Strasbourg sous la direction du Dr Laurent DESAUBRY.

Je tiens à remercier le Pr. Milad BAITICHE (Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1) le et Dr Pellegrini-Moïse Nadia (Maitre de conférences à l'Université de Lorraine) d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail.

Mes remerciements au Dr Widad SOBHI (Maitre de conférence à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1) et au Dr Morgan DONNARD (Chargé de recherche au CNRS à l'Université de Strasbourg) d'avoir bien voulu évaluer mon manuscrit de thèse.

Mes gratitudes remerciement les équipes du Pr Dominique HEYMAN (Professeur à l'université de Nantes, INSERM UMR1232) et du Dr François LAMOUREUX (INSERM UMR1238, Université de Nantes) d'avoir testé mes produits.

Je tiens à remercier mes amies et mes collègues au laboratoire, Dr Qian ZAHO, Dr Amel DJEHAL, Dr Sabria ELDERWISH, Dr Hussein ABOU HAMDAN, Dr Hassan HAMOUD, pour l'aide qu'ils m'ont apportée, pour leur motivation, leur disponibilité, leurs encouragements. Merci aussi pour leur bonne humeur de tous ces bons moments et pour le temps passé à mener à bien mes travaux. Ce fut un plaisir de travailler à leur côté.

Je voudrais enfin exprimer ma reconnaissance au Dr Hana FERKOUS de l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj pour son soutien et ses encouragements.

Mes remerciements s'adressent aussi à mes amis: Bachir KHELIF, Ammar NOUI, Redouane BOUCHAALA, Moussa BOUDHIYAF et Antar SEGUNI pour leur soutien permanent.

Je remercie également le PHC Tassili de m'avoir accordé un financement pour effectuer mes travaux de recherche en France.

## Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARNm	Acide Ribonucléique message
AKT	Protéine kinase B
BIG3	Background Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 3
Bn	Benzyle
Cbz	Carboxybenzyle
CD14 <sup>+</sup>	Cluster of differentiation 14
DEAD	Diethyl azodicarboxylate
DCM	Dichlorométhane
DMAP	4-Diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
eq.	Equivalent
eIF4A	Eukaryotic initiation factors 4A
EtOAc	Acétate d'éthyle
ER $\alpha$	Récepteurs des œstrogènes $\alpha$
ERK	Extracellular signal-regulated kinase 1
HEK 293 cells	Human embryonic kidney 293 cells
IL6	Interleukine 6
LDA	Lithium diisopropylamide
M-CSF	Macrophage-colony stimulating factor
MITF	Microphthalmia-associated Transcription Factor
MKK6	Mitogen-activated protein kinase kinase 6
MMP-9	Métalloprotéinase matricielle 9

NFATc1	Nuclear factor of activated T-cells
NF-Kb	Nuclear factor-kappa B
NsCl	Chlorure de 4-nitrobenzenesulfonyle
OPA1	Atrophie optique 1
OPG	Ostéoprotégérine
RAF	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RANK	Receptor activator of nuclear factor $\kappa$ B
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
RMN	Résonance magnétique nucléaire
Runx2	Runt-related transcription factor 2
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3
SPFH	Stomatine/Prohibitine/Flotilline/HflK
t.a	Temperature ambiante
TRAP	Tartrate-resistant acid phosphatase
TRAF6	Tumor necrosis factor receptor
Ts	Tosyle
THF	Tétrahydrofurane
Pd/C	Palladium sur charbon
p53	Tumor protein 53
P38	Mitogen-activated protein kinases
PHB	Prohibitine
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
pRB	Protéine du rétinoblastome



## Sommaire

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>9</b>
1.1. PROHIBITINES.....	11
1.2. LIGANDS DES PHBS.....	16
1.2.1. Flavaglines.....	16
1.2.2. Aurilide.....	18
1.2.3. Mélanogénine.....	18
1.2.4. Fluorizoline.....	19
1.2.5. Xanthohumol.....	20
1.2.6. Adipotide.....	21
1.2.7. Capsaïcine.....	21
1.2.8. JI130.....	22
1.2.9. Sulfonylamidine.....	23
1.3. OSTEOCLASTOGENESE ET TRAITEMENT DE L'OSTEOPOROSE.....	28
1.4. METHODES DE SYNTHESE DES SULFONYLAMIDINES.....	31
<b>2. OBJECTIFS.....</b>	<b>39</b>
<b>3. RESULTATS.....</b>	<b>43</b>
3.1. OBTENTION DES SULFONYLAMIDINES PAR CONVERSION D'AMIDES.....	45
3.2. OBTENTION DES SULFONYLAMIDINES VIA UNE REACTION MULTI-COMPOSANTS.....	48
3.3. PREPARATION DES SULFONYLGUANIDINES IN16 ET IN20.....	52
3.4. SYNTHESE D'UN LIGAND CONJUGUE A DE L'AFFIGEL-10.....	53
3.5. SYNTHESE DE DERIVES ET ANALOGUES DE CAPROLACTAMES PAR THERMOLYSE DE DERIVES DE L'ACIDE DE MELDRUM.....	54
3.6. RÉSULTATS BIOLOGIQUES.....	56
<b>4. CONCLUSION.....</b>	<b>65</b>
<b>5. PARTIE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>69</b>
<b>GENERAL EXPERIMENTAL DETAILS.....</b>	<b>71</b>
5.1. GENERAL PROTOCOL FOR THE PREPARATION SULFONYLAMIDINES.....	71
5.1.1. 1 <sup>st</sup> Method: Condensation of amides with p-toluenesulfonyl isocyanate.....	71
5.1.2. 2 <sup>nd</sup> Method: multicomponent reaction.....	88
5.2. PREPARATION OF SULFONYLGUANIDINE.....	120
5.2.1. Preparation of IN16.....	120
5.2.2. Preparation of IN20.....	121
5.3. IN52-CONJUGATED AFFINITY MATRIX.....	125

5.4. PRÉPARATION OF CAPROLACTAMS .....	131
<b>6. REFERENCES.....</b>	<b>137</b>

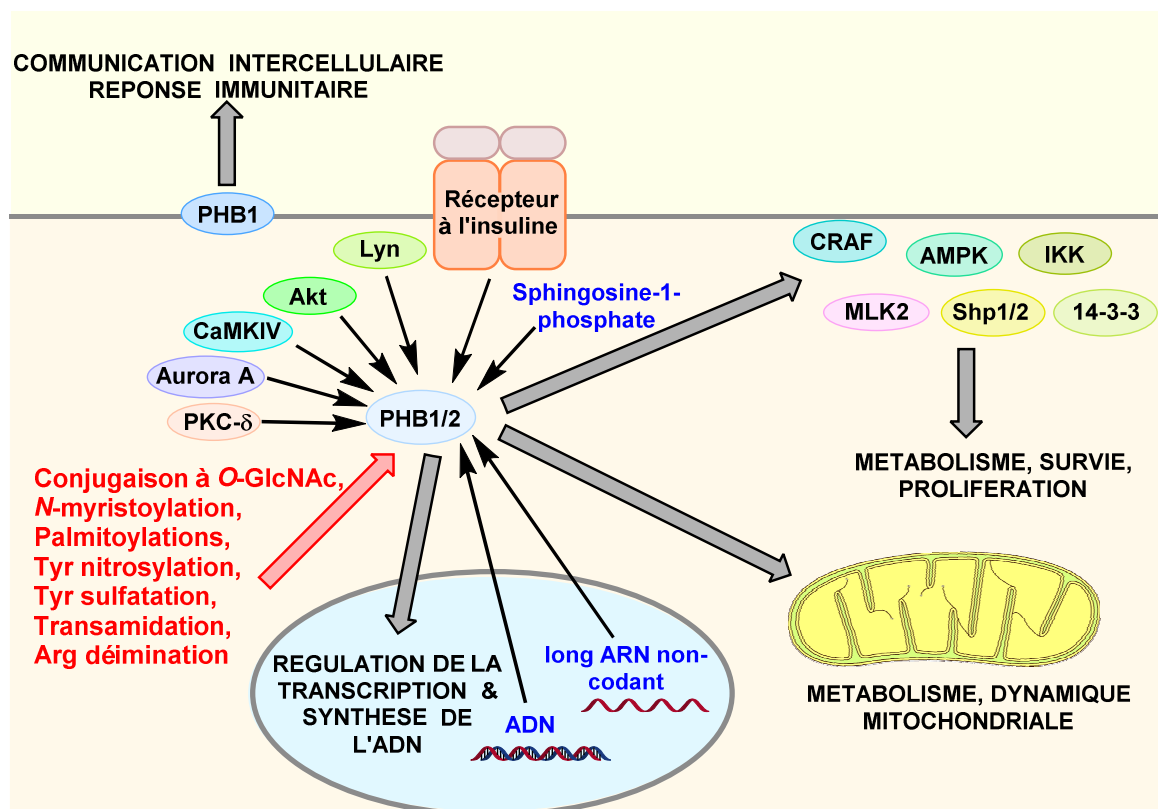
# **1. INTRODUCTION**



## 1.1. Prohibitines

La prohibitine-1 a été initialement isolée et caractérisée comme un gène antiprolifératif dans le foie de rat en 1989.<sup>1</sup> Les prohibitines (PHBs) sont des protéines d'échafaudage qui modulent de nombreuses voies de signalisation qui contrôlent la survie cellulaire, le métabolisme et l'inflammation.<sup>2</sup> Les PHBs sont conservées au cours de l'évolution et existent sous deux formes chez les animaux : la PHB1 et la PHB2.

Diverses fonctions ont été attribuées aux prohibitines, notamment la régulation du cycle cellulaire, l'apoptose, le vieillissement ou la régulation de l'infection virale. Les PHBs sont largement distribuées dans différents compartiments cellulaires tels que les mitochondries, le noyau et la membrane cellulaire (Figure 1).<sup>3</sup>



**Figure 1.** Localisation et rôle des PHBs dans les cellules animales.

Dans le noyau, les PHBs régulent l'activation transcriptionnelles et le cycle cellulaire.

En outre, les PHBs présentes dans les mitochondries jouent un rôle important dans la chaîne respiratoire et la stabilisation des protéines et de l'ADN mitochondrial.

Ces protéines sont caractérisées par 3 domaines importants: -1- un domaine N-terminal transmembranaire; -2- un domaine SPFH ou PHB (*Stomatine/Prohibitine/Flotilline/HflK*) responsable de l'attachement aux lipides membranaires; -3- un domaine C-terminal de type "coiled-coil" impliqué dans des interactions protéine/protéine.<sup>4-5</sup> Chacun de ces domaines confère au PHBs un caractère multifonctionnel. Plusieurs drogues qui ciblent les PHBs ont été identifiées et évaluées dans

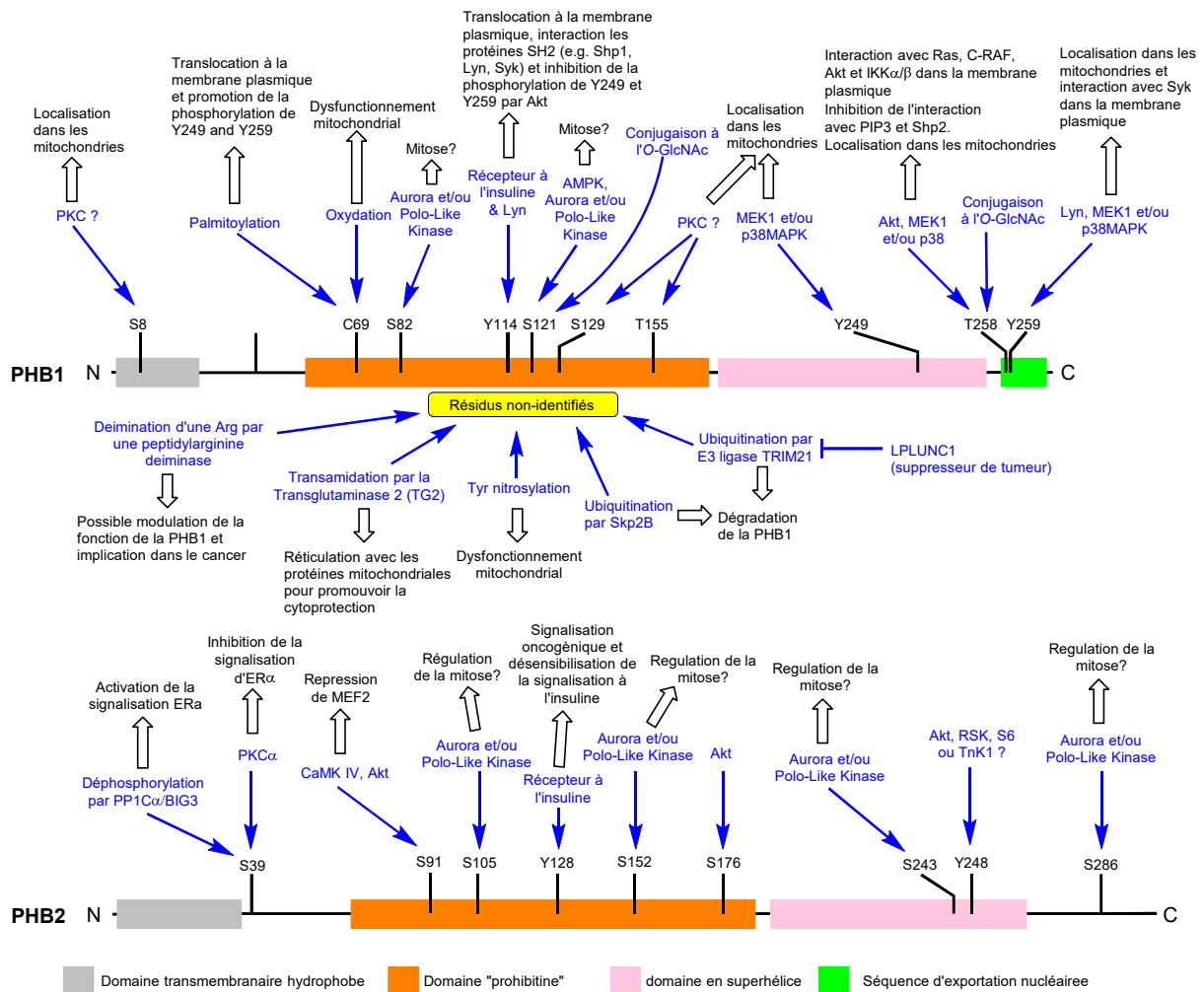
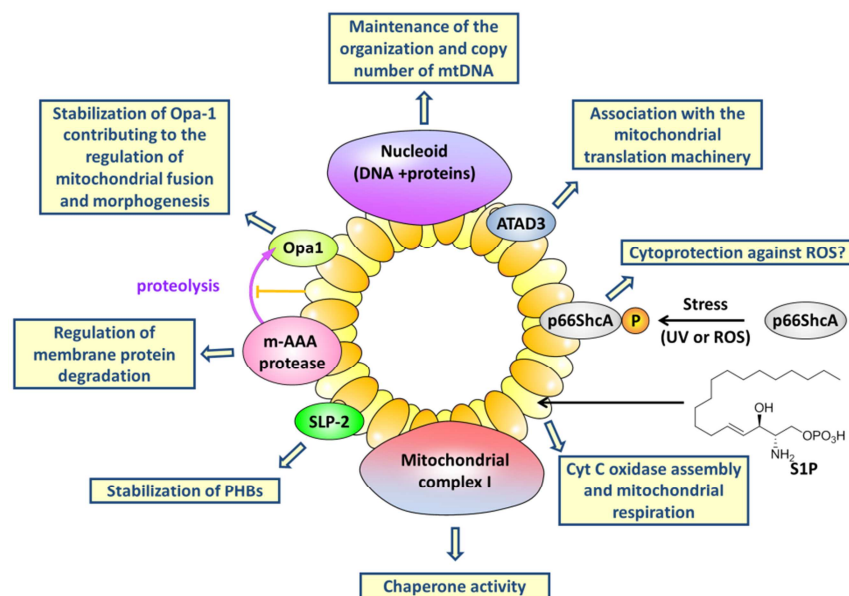


Figure 2. Structure de la PHB1 et de la PHB2.

différents modèles de pathologies (Figure 2).

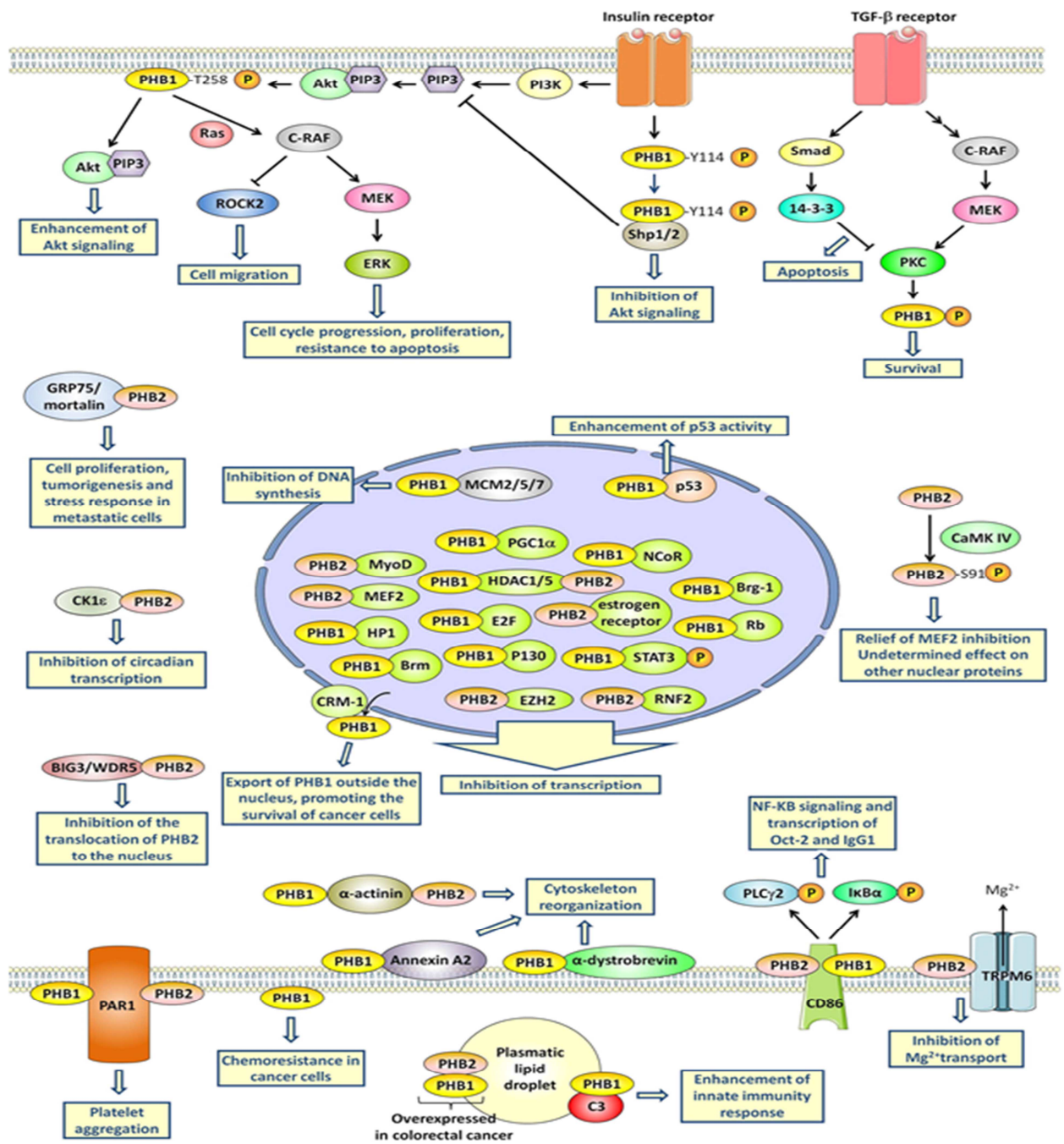
La fonction et la localisation intracellulaire des PHBs sont régulées par phosphorylation sur différents sites, ainsi que par des conjugaisons à des résidus d'O-GlcNAc, des palmitoylations, des transamidations, des acétylations, des succinylations, des nitrosylations de tyrosine (Figure 3).

Dans la membrane interne des mitochondries, la PHB1 interagit avec laPHB2. Dans cette organelle, plusieurs rôles lui sont attribués, en particulier la stabilisation de la membrane mitochondriale, la stabilisation de l'ADN mitochondriale, la formation et le maintien des crêtes mitochondriales, le maintien du réseau mitochondrial et la protection contre les dommages causés par le stress oxydatif.<sup>6-7</sup>



**Figure 3.** Fonctions mitochondriales des PHBs (copié de la référence 2).<sup>2</sup>

En ce qui a trait à son association avec la membrane cytoplasmique, la PHB1 agit comme modulateur dans certaines voies de signalisation. Par exemple, elle s'avère nécessaire, par son interaction avec RAS et RAF, pour l'activation de la cascade RAF/MEK/ERK par la protéine RAS.<sup>8</sup>



**Figure 4.** Présentation générale du rôle des PHBs dans la signalisation cellulaire (copié de la référence 2).<sup>2</sup>

La PHB1 s'associe aussi au récepteur de l'insuline pour activer la voie PI3K/AKT.<sup>9-10</sup> Enfin, la PHB1 agit aussi comme régulateur transcriptionnel. Ainsi, par son association avec divers facteurs de transcription et autres facteurs nucléaires tels ER $\alpha$ , RNF2, p53, pRB et E2F1, la PHB1 est en mesure d'agir comme co-activateur ou co-répresseur transcriptionnel



où sa fonction étant la mieux caractérisée.<sup>5,11-12,13,14</sup> La PHB1 aide au recrutement de protéines associées à la répression transcriptionnelle et au remodelage de la chromatine telles que HDAC1, NCOR1 et BRG1/BRM.<sup>12-13,15,16</sup> La capacité de PHB1 à agir comme un co-activateur transcriptionnel de p53, et comme un co-répresseur transcriptionnel de E2F1, permet de la considérer comme un gène suppresseur de tumeur.<sup>17-18-19-20</sup>

La PHB2 est une petite protéine de 37kDa qui a aussi été appelée BAP37, pour « B cell-associated protein »<sup>21</sup> et REA pour « repressor of estrogen activity ».<sup>22</sup> La PHB2 agit comme un répresseur transcriptionnel en interagissant avec le récepteur nucléaire aux estrogènes ER $\alpha$ ,<sup>23</sup> et aussi MyoD et MEF2, 2 facteurs de transcription stimulateurs de la différenciation des cellules musculaires. L'activité transcriptionnelle d'ER $\alpha$  est positivement liée à la progression tumorale dans les cellules sensibles aux oestrogènes. De ce fait, PHB2 pourrait avoir un rôle de suppresseur de tumeur. Cette hypothèse semble confirmée par les travaux d'Umanskaya *et al.*<sup>24</sup> qui montrent une interaction entre Skp2B et PHB2. Skp2B est fréquemment surexprimée dans les cancers du sein. Or cette surexpression diminue le taux de PHB2 cellulaire.

Des études ont montré qu'Akt2 interagit avec le PHB2, mais ne se lie pas à PHB1. Akt2 joue un rôle précoce dans la sortie du cycle cellulaire et dans la différenciation myogénique, et cette fonction implique son interaction spécifique avec la PHB2.<sup>25</sup>

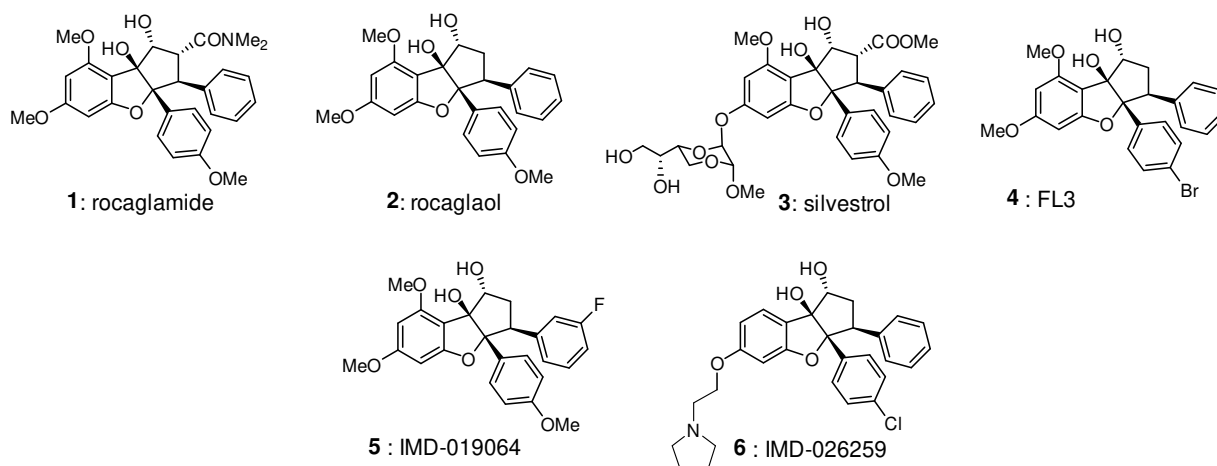
De plus, le complexe PHB1/PHB2 phosphorylé est requis pour l'homéostasie de la mitochondrie et pour la survie des lymphocytes T.<sup>26</sup>

## 1.2. Ligands des PHBs

Les activités des PHBs sont affectées par certains produits naturels (les flavaglines et l'aurilide), des petites molécules entièrement synthétiques (sulfonylamidines, mélanogénine, ...) et un peptide (l'adipotide).

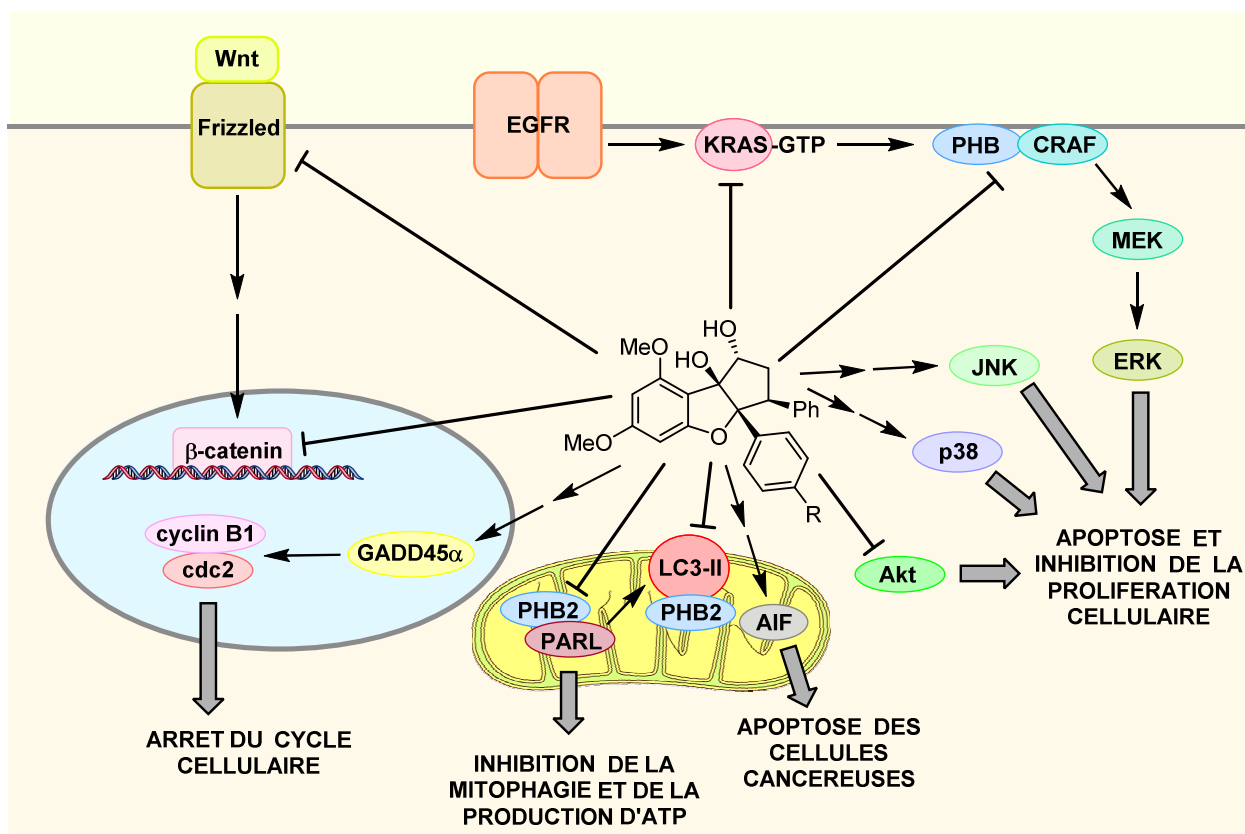
### 1.2.1. Flavaglines

Les flavaglines ont un squelette unique de cyclopenta [b] benzofurane (Schéma 1).<sup>27</sup> Le rocaglamide, le premier de ces composés, a été isolé il y a plus de 30 ans par King et *al.*<sup>28</sup> à partir des plantes médicinales du genre *aglaia* (*Meliaceae*) en Asie du Sud-Est. Ces composés ont montré des activités anticancéreuses et cytoprotectrices exceptionnelles.



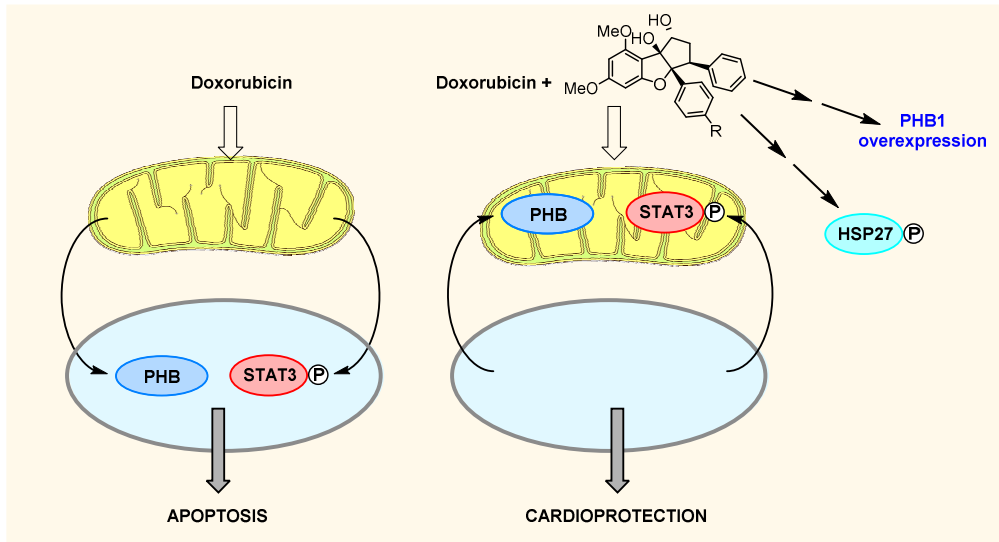
**Schéma 1.** Exemple de flavaglines.

Les flavaglines affichent un profil unique des activités anticancéreuses qui sont médiées par deux classes de protéines non apparentées: les PHBs et le facteur d'initiation de la traduction eIF4A (Figure 5).



**Figure 5.** Résumé du mécanisme d'action des flavaglines dans les cellules cancéreuses impliquant les PHBs.

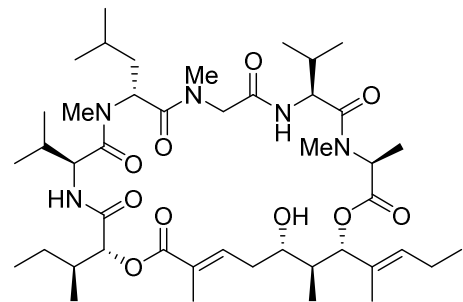
En outre, les flavaglines présentent d'autres activités notamment anti-inflammatoires, cardio- et neuro-protectrices.<sup>29</sup> Elles protègent ainsi la survie des cardiomyocytes contre la toxicité induite par un médicament anticancéreux, la doxorubicine. Le mécanisme de cette activité passe par une induction de la phosphorylation de STAT3 accompagnée par sa translocation dans les mitochondries pour activer des voies de survie (Figure 6).<sup>30</sup>



**Figure 6.** Résumé du mécanisme de cardioprotection des flavaglines contre la toxicité à la doxorubicine.<sup>30</sup>

### 1.2.2. Aurilide

L'aurilide est un produit naturel marin qui présente un pouvoir cytotoxique puissant et qui induit l'apoptose dans des cellules humaines en culture à des doses allant du picomolaire au nanomolaire. Ce ligand se lie sélectivement à la prohibitine 1 (PHB1) dans les mitochondries, activant le traitement protéolytique de l'atrophie optique 1 (OPA1) et conduisant à l'apoptose.<sup>31</sup>



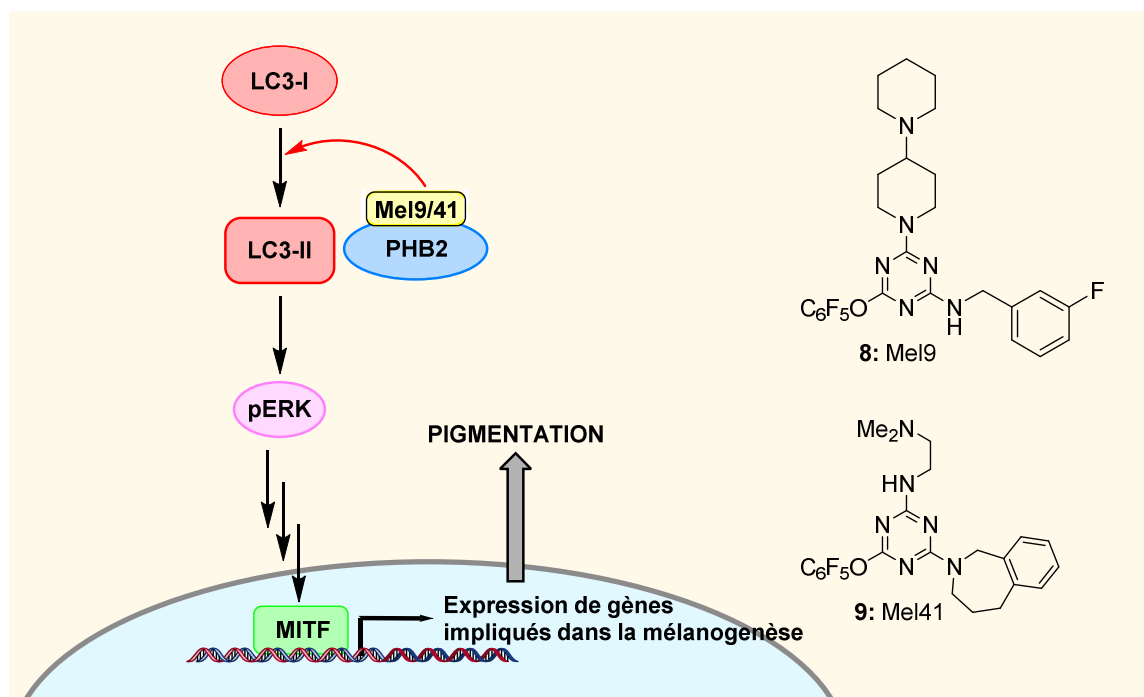
**7:** Aurilide

**Figure 7.** Structure de l'aurilide.

### 1.2.3. Mélanogénine

La mélanogénine a été identifiée comme une petite molécule induisant une pigmentation (formation de la mélanine) dans les mélanocytes (EC50 = 2.5 μM). Des études démontrent que la mélanogénine a besoin de la PHB2 pour exercer ses effets pigmentaires et révèlent un rôle fonctionnel insoupçonné pour cette protéine dans

l'induction de la mélanine.<sup>32</sup> Les travaux menés au laboratoire par Amel Djehal<sup>33</sup> ont permis de développer des analogues de la mélanogénine comme le Mel9 et le Mel41 qui induisent la mélanogenèse dans les mélanocytes de manière plus prononcée que la mélanogénine. En interagissant avec la PHB2 ces composés activent la protéine LC3-I en LC3-II pour induire la surexpression du facteur de transcription MITF (Figure 8). Les mêmes travaux montrent aussi que ses analogues actifs induisent une apoptose dans plusieurs lignées cellulaires cancéreuses, y compris des cellules de mélanome, et que cet effet est provoqué par une inhibition de la voie de survie AKT.



**Figure 8.** Structure et mode d'action du Mel9 (8) et Mel41 (9).<sup>33</sup>

#### 1.2.4. Fluorizoline

La fluorizoline **10**, (Figure 9) est une molécule synthétique qui induit l'apoptose en ciblant sélectivement les prohibitines. La fluorizoline se lie sélectivement à PHB1 et PHB2 pour induire l'apoptose dans plusieurs lignées cellulaires cancéreuses.<sup>34</sup>



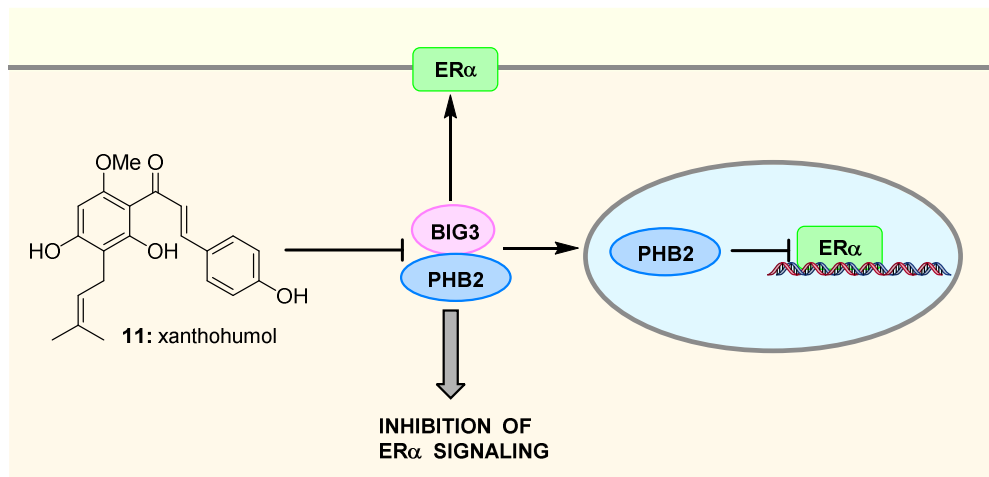
**Figure 9.** Structure de la fluorizoline.

### 1.2.5. Xanthohumol

Le xanthohumol **11** est une chalcone prénylée présente dans le houblon (*Humulus lupulus L.*), qui inhibe la croissance d'une grande variété de lignées cellulaires cancéreuses humaines, y compris des lignées cellulaires de cancer du sein, de l'ovaire, du foie, du colon et de la prostate.

Des études montrent que la réduction ou la perte des fonctions de PHB2 peut causer une suractivation d'ER $\alpha$  et augmenter le risque de cancer du sein chez l'Homme.<sup>35</sup>

De plus, l'interaction PHB2-ER $\alpha$  est également régulée par BIG3, protéine fortement impliquée dans la signalisation oestrogénique dans les cellules cancéreuses du sein. En l'absence de BIG3, la stimulation des cellules par l'œstradiol induit la translocation de PHB2 vers le noyau et augmente l'interaction entre PHB2 et l'ER $\alpha$ . En présence de BIG3, la PHB2 est séquestrée dans le cytoplasme induisant une augmentation de l'activité transcriptionnelle d'ER $\alpha$ .<sup>36</sup> Yoshimaru et al.<sup>37</sup> ont prouvé que le xanthohumol empêche l'interaction BIG3-PHB2, libérant ainsi la PHB2 pour se lier directement à la fois aux ER $\alpha$  nucléaires et cytoplasmiques (Figure 10).



**Figure 10.** Structure et mécanisme d'action du xanthohumol.

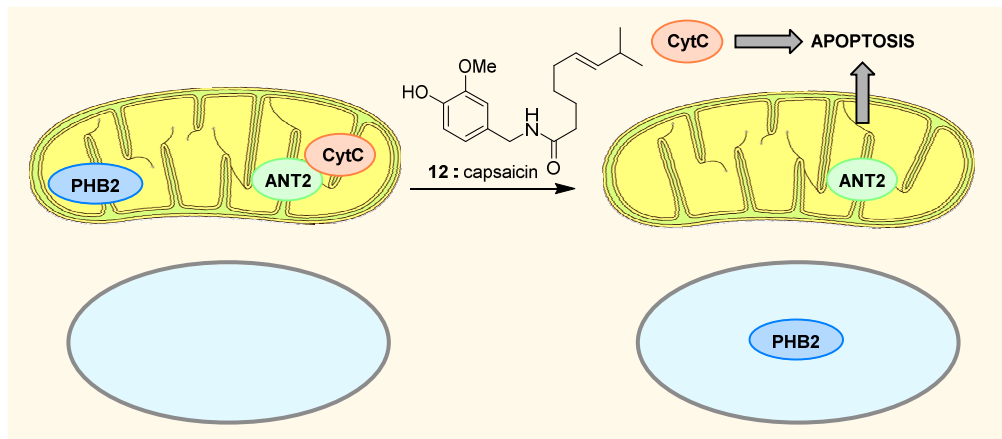
### 1.2.6. Adipotide

En 2002, S. Bacher et *al.*<sup>38</sup> ont identifié l'annexine A2 comme partenaire de liaison pour la PHB1 par un criblage double hybride. Ainsi, les travaux M. G. Kolonin et *al.*<sup>39</sup> F.I. Staquicini et *al.*<sup>40</sup> ont montré que la séquence CKGGRAKDC, homologue à une région de l'annexine A2, s'associe à la PHB1 membranaire qui est un marqueur de l'endothélium vasculaire du tissu adipeux. La fusion de ce peptide au peptide cytotoxique (pro-apoptotique) KLAKLAK a donné le peptide CKGGRAKDC-GG-(KLAKLAK)<sub>2</sub> appelé Adipotide qui induit une réversion rapide de l'obésité.

### 1.2.7. Capsaïcine

La capsaïcine est un ingrédient pharmaceutique actif des piments forts couramment utilisé comme additif alimentaire et comme agent analgésique.<sup>41</sup> Des études ont montré que la capsaïcine induit l'apoptose de cellules NB4 de la leucémie myéloïde humaine<sup>42</sup> et de diverses cellules cancéreuses de la prostate.<sup>43</sup> C.Kuramori et *al.*<sup>44</sup> ont trouvé que la capsaïcine se lie directement à la PHB2 induisant une dissociation de PHB2 de la ANT2 et la

libération de la PHB2 hors des mitochondries. Cette perte de la PHB2 compromet l'intégrité mitochondriale, en partie en inhibant l'ANT2, et induit la libération cytochrome C dans le cytoplasme, contribuant à la mort cellulaire par apoptose. La PHB2 libérée par les mitochondries migre dans le noyau, où elle interagit avec p53 et potentialise son activité de transcription, contribuant ainsi à la mort cellulaire par apoptose. (Figure 11)

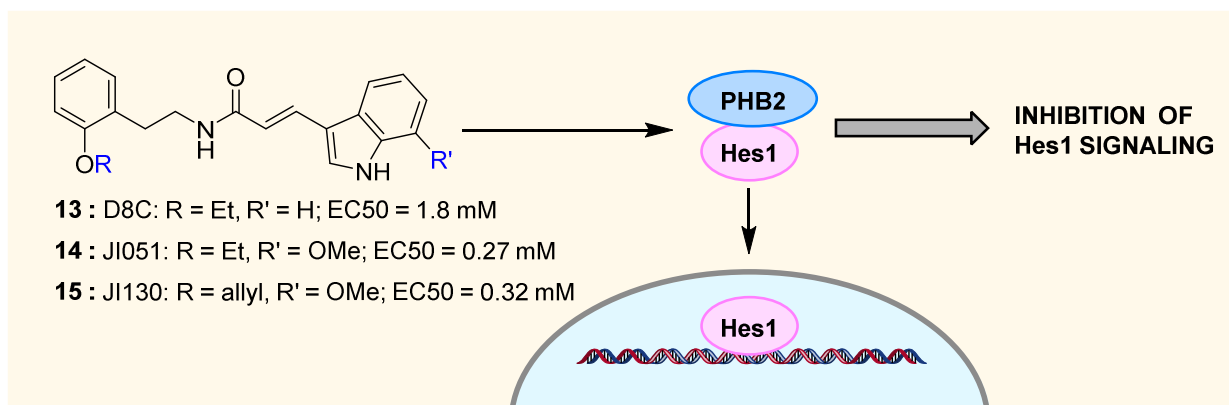


**Figure 11.** Structure et mécanisme de cytotoxicité de la capsaïcine.

### 1.2.8. JI130

A. Perron *et al.*<sup>45</sup> ont rapporté la découverte des petites molécules organiques D8C, JI130 et JI051 qui se lient à la PHB2 pour bloquer l'activité du facteur de transcription Hes1 impliqué dans l'étiologie de certains cancers. Ces auteurs ont montré que le JI051 stabilise l'interaction entre Hes1 et PHB2 dans le cytosol et induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M (Figure 12). *In vivo*, le JI130 induit, diminue de moitié la croissance d'une tumeur pancréatique dans un modèle de xénogreffe.





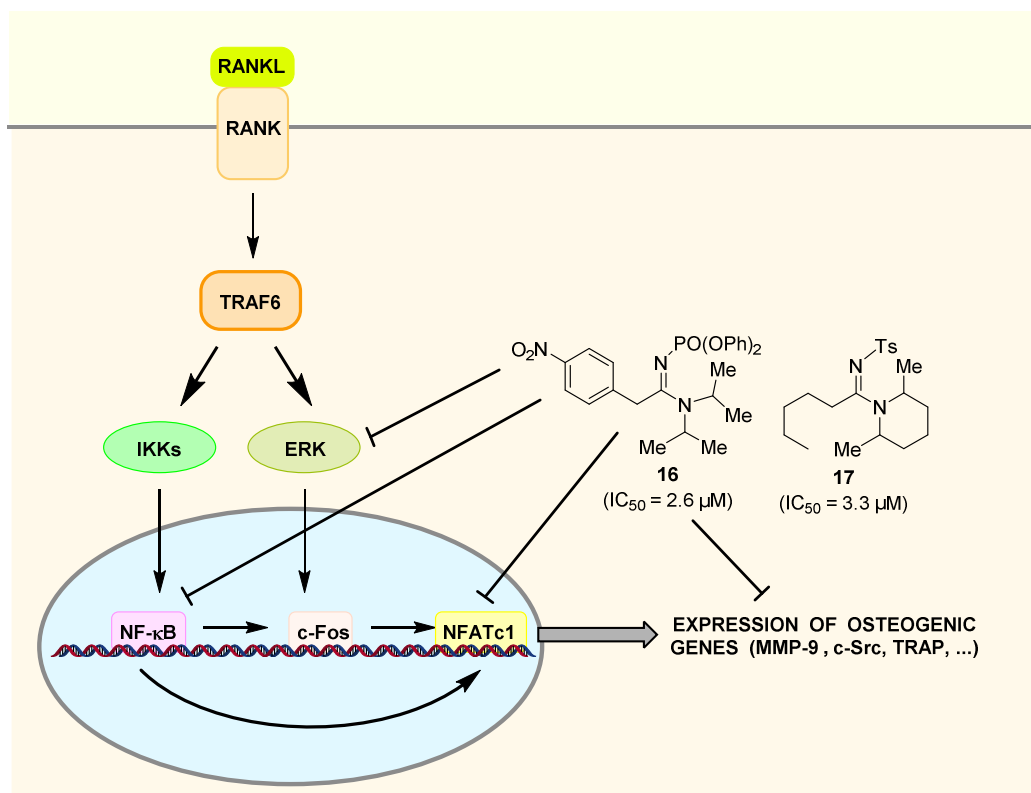
**Figure 12.** Structure, mécanisme d'action et cytotoxicité de D8C, JI051 and JI130 dans les cellules cancéreuses HEK293. La liaison de ces composés à la PHB2 favorise son interaction avec le facteur de transcription Hes1 dans le cytosol, empêchant ainsi son activité transcriptionnelle oncogène.<sup>37</sup>

### 1.2.9. Sulfonylamidine

Les traitements actuels de l'ostéoporose présentent des effets potentiellement indésirables et une efficacité limitée sur la réduction des fractures non vertébrales. En raison de ces limitations et du vieillissement de la population, la découverte de nouveaux agents anti-ostéoporotiques relève de la santé publique. Dans ce contexte, Chang *et al.*<sup>46</sup> ont criblé une bibliothèque de sulfonyl- et phosphoryl-amidines pour leur capacité *in vitro* à bloquer la différenciation des pré-ostéoclastes en ostéoclastes, qui interviennent dans l'élimination des cellules osseuses. Les ostéoclastes sont de grandes cellules multinucléées qui sont uniques par leur capacité à résorber la matrice osseuse minéralisée. Ils se forment par fusion de dérivés de la lignée monocyte/macrophage.

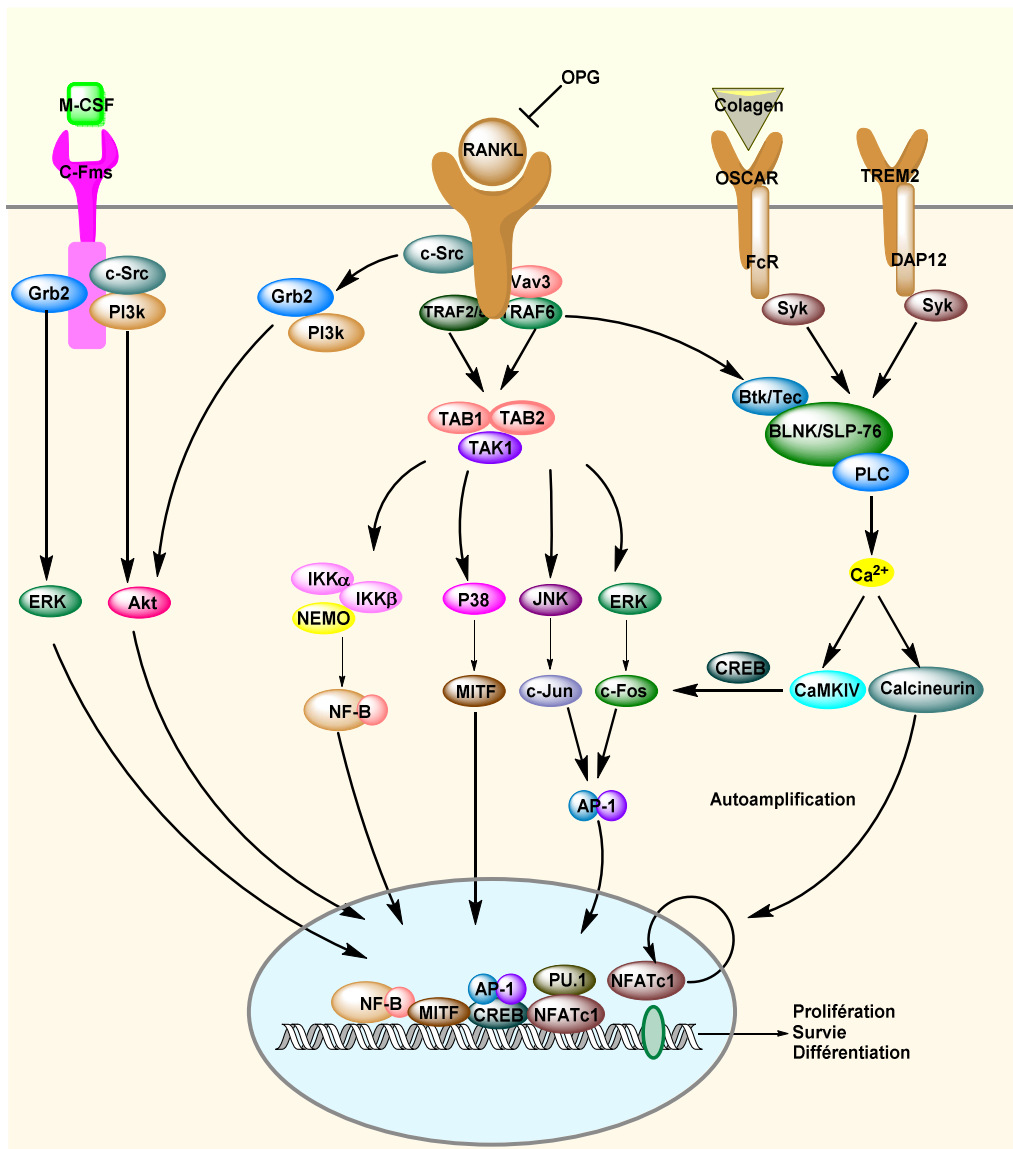
La phosphorylamidine **16** et la sulfonylamidine **17** (Figure 13) se sont révélées être des inhibiteurs particulièrement puissants de la différenciation des ostéoclastes avec une CI50 de 2, 6 et 3.3  $\mu$ M respectivement. Ils bloquent également l'activité de la résorption

osseuse des ostéoclastes matures. En utilisant la chromatographie d'affinité, le PHB1 a été identifié comme la cible moléculaire de ces composés.<sup>47</sup> Depuis lors, il a été démontré que PHB1 inhibe la formation d'ostéoclastes matures,<sup>48</sup> mais l'engagement de PHB1 dans l'activité de **16** et de **17** n'a pas encore été établi. Cependant, certains événements clés du mécanisme d'action de ces composés ont été clarifiés.<sup>49</sup>



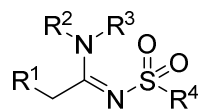
**Figure 13.** Structure et activité des sulfonylamidines **16** et **17**.

La différenciation des ostéoclastes est initiée par la liaison du ligand de RANK (RANKL) à RANK, qui active TRAF6 et consécutivement, IKK et ERK, entraînant l'activation des facteurs de transcription NF-κB, c-Fos et NFATc1 (Figures 13 et 14). Il a été montré que **16** inhibe de manière dose-dépendante l'activation de ERK induite par RANKL et à la fois la translocation vers le noyau et l'activité transcriptionnelle de NF-κB.



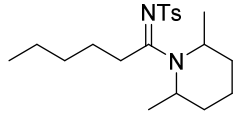
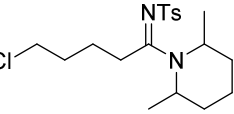
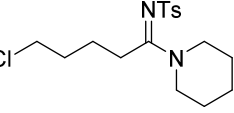
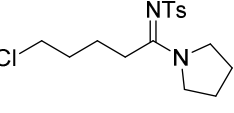
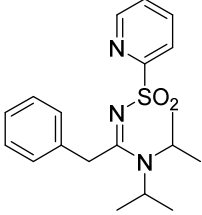
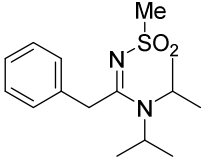
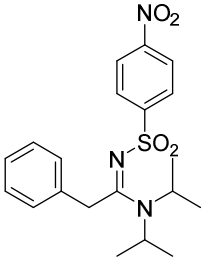
**Figure 14.** Voies de signalisation impliquées dans l'ostéoclastogenèse (Modifier de la référence 50).<sup>50</sup>

En outre, **16** réprime les niveaux d'ex--pression de c-Fos et NFATc1 de l'ARNm induits par RANKL, indiquant que **16** atténue les facteurs de signalisation et de transcription induits par RANKL requis pour la différenciation des ostéoclastes. Le composé **16** inhibe également l'expression de la métalloprotéine matricielle **9** (MMP-9) et de la kinase c-Src qui favorisent toutes deux la résorption osseuse ostéoclastique. *In vivo*, **16** (dose



**Tableau 1.** Activité anticlastogénique des sulfonamidines.

Entrées	Sulfonamidines	Concentrations( $\mu\text{M}$ )	Activité TRAP (%)
<b>1a</b>		10 $\mu\text{M}$	3
<b>1b</b>		10 $\mu\text{M}$	10
<b>1c</b>		10 $\mu\text{M}$	59
<b>1d</b>		10 $\mu\text{M}$	105
<b>1e</b>		10 $\mu\text{M}$	98
<b>1g</b>		10 $\mu\text{M}$	105
<b>1h</b>		10 $\mu\text{M}$	105
<b>1i</b>		10 $\mu\text{M}$	107
<b>1f</b>		10 $\mu\text{M}$	114

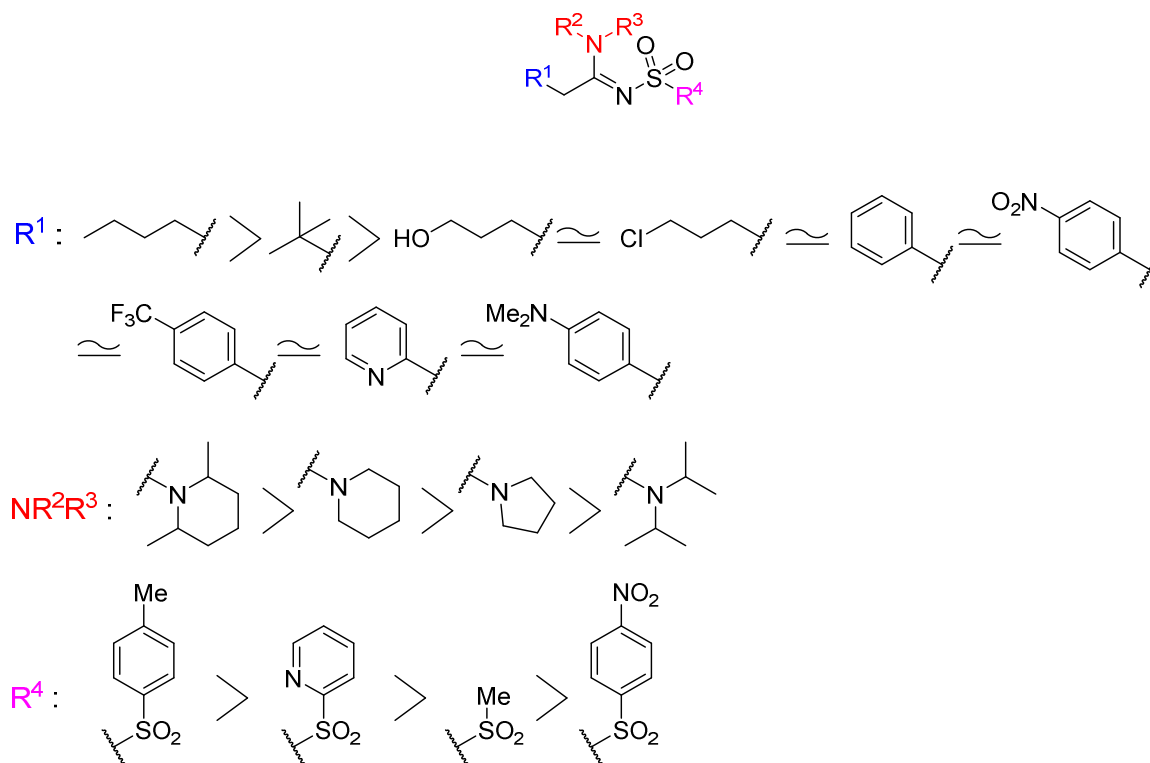
<b>1m</b>		10 $\mu$ M	<b>0</b>
<b>1l</b>		60 $\mu$ M	<b>5</b>
<b>1k</b>		60 $\mu$ M	<b>57</b>
<b>1j</b>		60 $\mu$ M	<b>88</b>
<b>1o</b>		10 $\mu$ M	<b>84</b>
<b>1p</b>		10 $\mu$ M	<b>98</b>
<b>1n</b>		10 $\mu$ M	<b>124</b>

quotidienne de 100 mg/kg pendant 4 semaines) a rétabli la perte d'os trabéculaire dans le fémur de souris ovariectomisées, confortant ainsi son potentiel de traitement de l'ostéoporose.

M. Y. Lee *al.*<sup>46</sup> ont synthétisé des sulfonamidines inhibitrices de la différenciation des ostéoclastes (Tableau 1). Parmi celles-ci, la sulfonamidine **17** (Figure 13) a montré une

activité anti-résoptives particulièrement élevée ( $IC_{50}$  de  $1.75 \pm 0.26 \mu M$ ). En 2011, le même groupe a montré par chromatographie d'affinité que ce type de composés se lie à la PHB1.<sup>47</sup>

On remarque que le composé **1m (17)** est le plus actif. L'effet relatif des différents groupements est résumé dans la figure 15.



**Figure 15.** Requis structuraux pour l'activité anticlastogénique déterminés par M. Y. Lee *al.*<sup>46</sup>

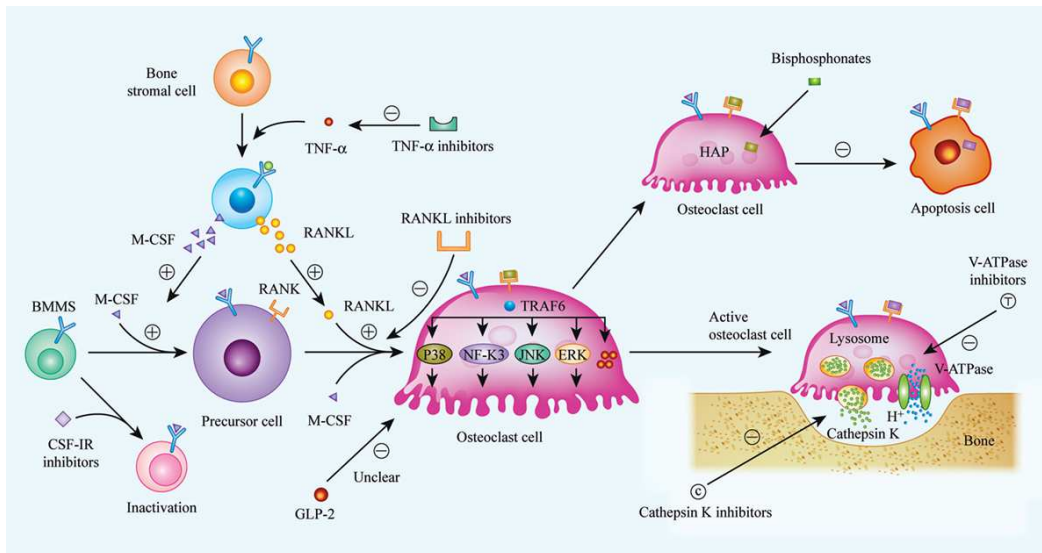
### 1.3. Ostéoclastogénèse et traitement de l'ostéoporose

L'homéostasie osseuse dépend de la résorption des os par les ostéoclastes et de la formation d'os par les ostéoblastes. Le déséquilibre de ce processus étroitement couplé peut provoquer des maladies telles que l'ostéoporose. Ainsi, les mécanismes qui régulent la communication entre ostéoclastes et ostéoblastes sont essentiels à la fonction osseuse.

Les ostéoblastes proviennent de cellules souches de la moelle donnant naissance également aux chondroblastes, aux fibroblastes, aux adipocytes et aux myoblastes. La différenciation ostéoblastique nécessite l'activation du facteur de transcription Runx2 (encore appelé Cbfa1) spécifique des ostéoblastes et implique la voie canonique Wnt/ $\beta$ caténine. Les ostéoblastes assurent la minéralisation de la matrice osseuse. La différenciation des progéniteurs ostéoblastiques en ostéoblastes matures implique de manière prépondérante la voie canonique Wnt/ $\beta$ -caténine.

Les ostéoclastes sont de grandes cellules multinucléées responsables de la résorption de la matrice osseuse minéralisée. Ils proviennent des cellules dérivées de la lignée monocyte/macrophage. La différenciation de ces précurseurs mononucléaires en ostéoclastes est contrôlée par des interactions intercellulaires, ainsi que par trois facteurs extracellulaires que sont le M-CSF (*macrophage-colony stimulating factor*), RANKL, le ligand du récepteur RANK et son antagoniste, l'ostéoprotégérine (OPG) (Figure 14,16).<sup>51</sup>

Le M-CSF est sécrété par les précurseurs ostéoblastiques et induit la production du récepteur RANK. La stimulation de celui-ci par RANKL active les facteurs de transcription NF- $\kappa$ B, c-Fos et NFATc1 via une cascade d'événements impliquant TRAF6, induisant ainsi la fusion des précurseurs ostéoclastiques ainsi la synthèse des protéines impliqués dans la résorption osseuse. L'ostéoprotégérine quant à elle se fixe sur RANKL pour empêcher sa liaison à RANK.



**Figure 16.** Présentation générale de l'ostéoclastogenèse, la résorption osseuse et du mécanisme d'action des médicaments antiostéoporotiques (Copie de la référence 52).<sup>52</sup>

Le remodelage osseux peut faire suite à un micro-dommage ou en réponse à des hormones et des facteurs paracrines. Le remodelage osseux est fréquemment initié par l'apoptose des ostéocytes (ostéoblastes minéralisés), l'activation des ostéoblastes et le recrutement de précurseurs d'ostéoclastes au site de résorption. Durant la résorption osseuse, les ostéoclastes se fixent à la surface de l'os où ils génèrent des ions  $H^+$  et  $HCO_3^-$ , conduisant ainsi à la déminéralisation de la matrice osseuse. Ensuite, des enzymes protéolytiques, notamment la cathepsine K et la métalloprotéinase matricielle 9 (MMP-9) dégradent la partie organique de la matrice osseuse.

Après la résorption, les ostéoclastes meurent par apoptose et les précurseurs ostéoblastiques locaux sont recrutés pour être différenciés en ostéoblastes matures et renouveler la matrice osseuse.



Le rôle des PHBs dans l'ostéoclastogenèse reste mal compris. Chang Hoon Lee *et al.*<sup>48</sup> ont montré que le ligand de RANK augmente l'expression de la PHB1 dans les macrophages dérivés de la moelle osseuse. De plus la PHB1 régule négativement la formation d'ostéoclastes matures en inhibant l'activité de la MKK6, ce qui affecte l'activation de l'axe de signalisation p38/Elk-1/c-Fos /NFATc1.<sup>53</sup>

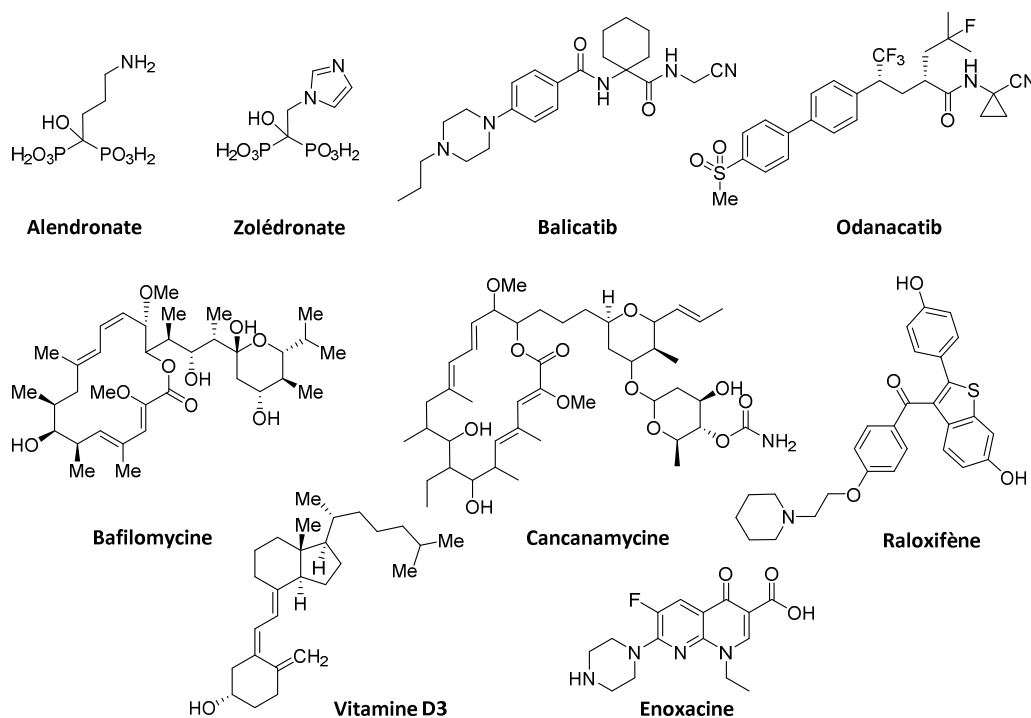
### **1.3.1 Traitement de l'ostéoporose**

Le dysfonctionnement ou la suractivation des ostéoclastes joue un rôle important dans la plupart des maladies osseuses (ostéoporose, ostéolyse périprothétique, polyarthrite rhumatoïde, tumeurs osseuses, maladie osseuse de Paget). Les thérapies qui visent l'inhibition de la formation d'ostéoclastes ainsi la résorption osseuse représentent une approche importante pour traiter ces maladies. Les bisphosphonates, tels que l'alendronate et zoledronate, font partie des médicaments les plus couramment utilisés, bien qu'ils montrent un effet inhibiteur sur la résorption des ostéoclastes. Ces composés ont une forte affinité pour le phosphate de calcium solide. Leur effet thérapeutique est souvent limité par des réactions gastro-intestinales sévères, de nécrose mandibulaire et des fractures atypiques du fémur. L'utilisation d'anticorps monoclonaux qui ciblent le RANKL, tels que le dénosumab, représentent une nouvelle classe de médicaments utilisés pour inhiber la formation d'ostéoclastes. Ceux-ci agissent en bloquant le système de régulation RANK/RANKL/OPG. Cependant, plusieurs effets secondaires du dénosumab ont également été observés, y compris la malignité, l'eczéma, la pancréatite, l'endocardite, la guérison retardée des fractures et les infections. Récemment, des anticorps anti-sclérostine humanisés, tels que le romosozumab (AMG785), le blosozumab (AMG167) et le BSP804, ont été soumis à des essais cliniques. Les essais cliniques sur le romosozumab et le blosozumab montrent une

augmentation de la masse osseuse au niveau de la colonne vertébrale et de la hanche. D'autre approche du traitement visent l'ostéoclaste activé pendant le processus de la dégradation de la matrice osseuse, dans cette classe on trouve les inhibiteurs de la cathepsine K (balicatib, odanacatib) qui sont sous essai clinique, ainsi que les inhibiteurs de la V-ATPase (bafilomycine, concanamycine, enoxacine) dont l'efficacité et l'innocuité restent à confirmer.

Basant sur les rôles clé du TNF- $\alpha$  dans la destruction osseuse, le TNF- $\alpha$  représente une cible puissante pour inhiber la formation des ostéoclastes. Parmi les inhibiteurs du TNF- $\alpha$ , nous avons l'infiximab, l'adalimumab et l'étanercept, qui ont été étudiés dans des essais cliniques dans le traitement de l'arthrite rhumatoïde.

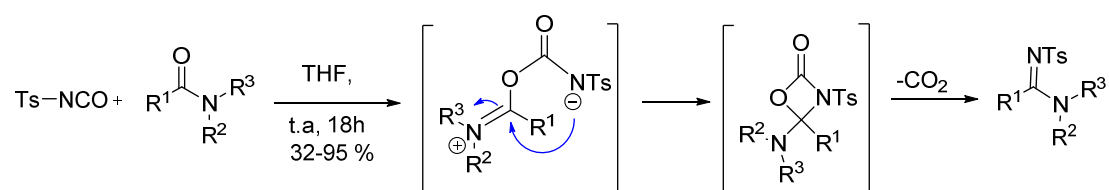
Il existe aussi d'autre traitement de l'ostéoporose qui ne visent pas les ostéoclastes et qui sont couramment utilisés comme le calcium, la vitamine D, le raloxifène, et certains hormone (estrogènes, tériparatide, calcitonine).<sup>52</sup>



**Schéma 2.** Structure chimique des médicaments antiostéoporotiques.<sup>52</sup>

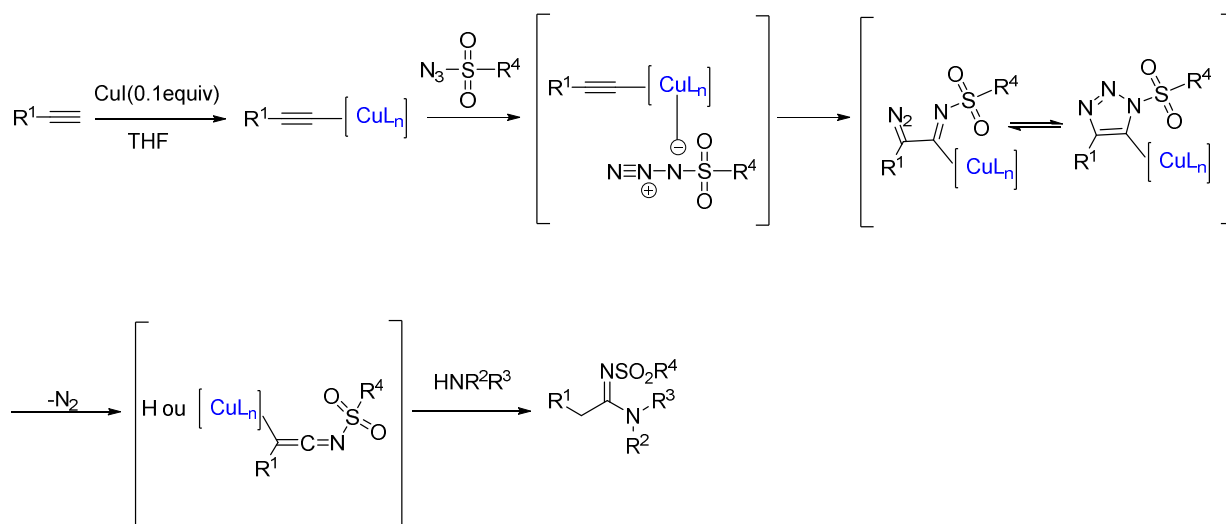
#### 1.4. Méthodes de synthèse des sulfonylamidines

Les sulfonylamidines présentent des activités antitumorales,<sup>54</sup> antifongique, et anti parasitaire.<sup>55</sup> Plusieurs voies synthétiques pour accéder à ces composés polaires et structurellement rigides ont été développées. En 1960 King et *al.*<sup>56</sup> ont synthétisé des tosylamidines par une réaction de cycloaddition entre de l'isocyanate de tosylo et des amides (Schéma3).



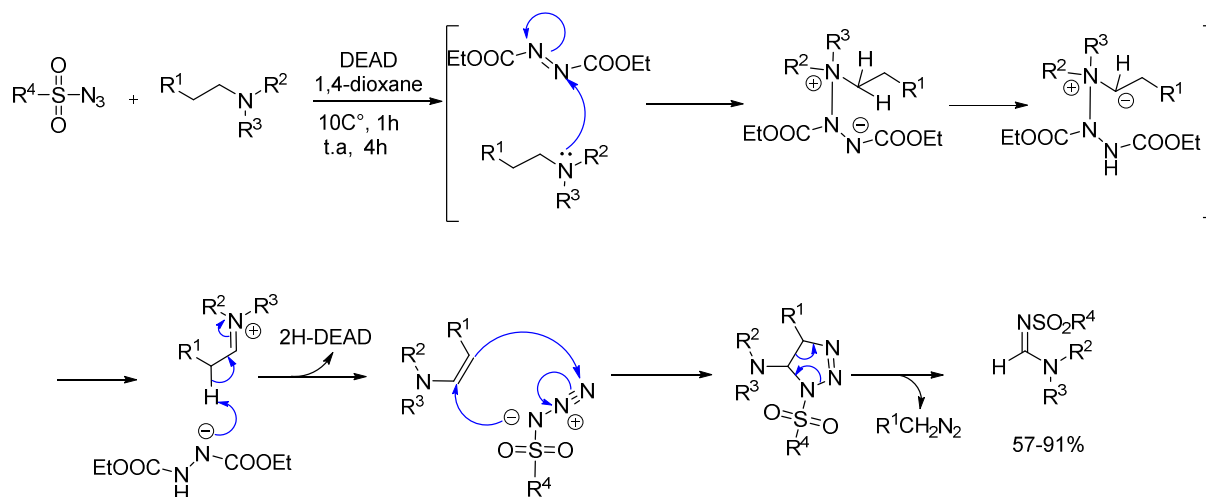
**Schéma 3.** Cycloaddition [2 + 2] entre l'isocyanate de tosylo et des amides.<sup>56</sup>

Chang et collaborateurs ont développé un couplage à trois composants catalysé par le cuivre entre un alcyne terminal, un azoture de sulfonyle et une amine qui permet de générer les sulfonylamidines (Schéma 4). Cette réaction fait intervenir l'addition d'un acétylure de cuivre sur un azoture de sulfonyle pour donner un *N*-sulfonyltriazolyl de cuivre qui s'isomérisse en céténimine avec la libération d'une molécule de diazote. L'addition ultérieure d'amines sur cet intermédiaire céténimine permet d'obtenir les amidines souhaitées.<sup>57</sup>



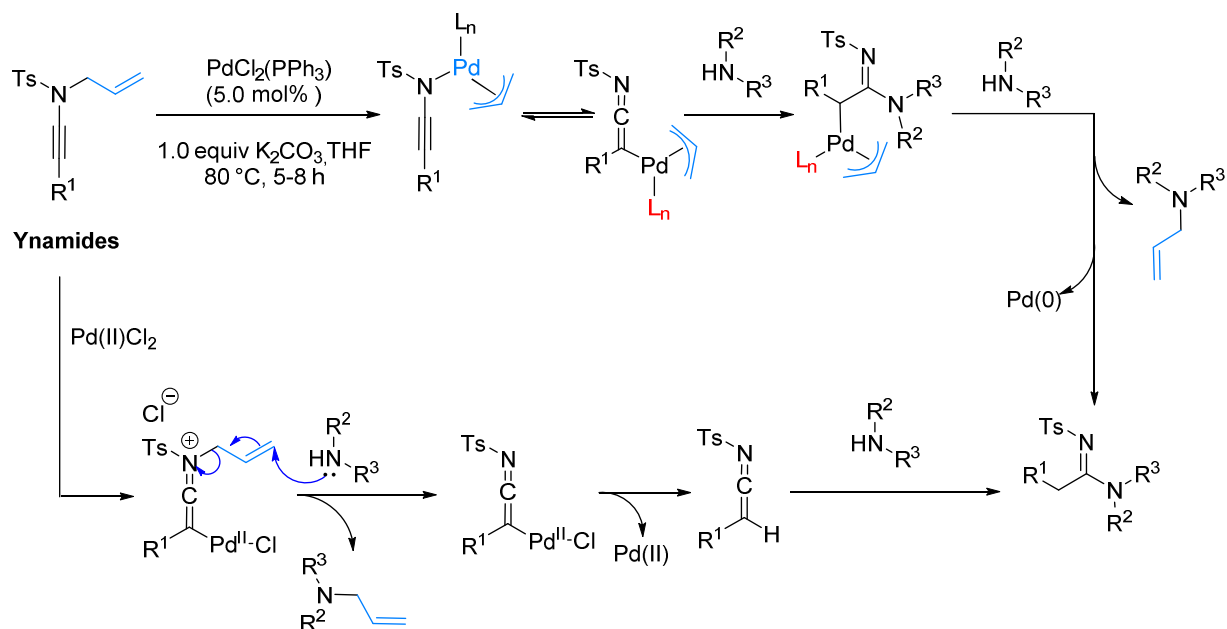
**Schéma 4.** Synthèse à trois composants de sulfonamidines.<sup>57</sup>

X. Xu et al<sup>58</sup> ont décrit la synthèse de sulfonamidines via la déshydrogénation oxydative d'une amine tertiaire pour donner un vinylamine (Schéma 3). Cette étape est suivie d'une réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire avec l'azoture de sulfonyle.



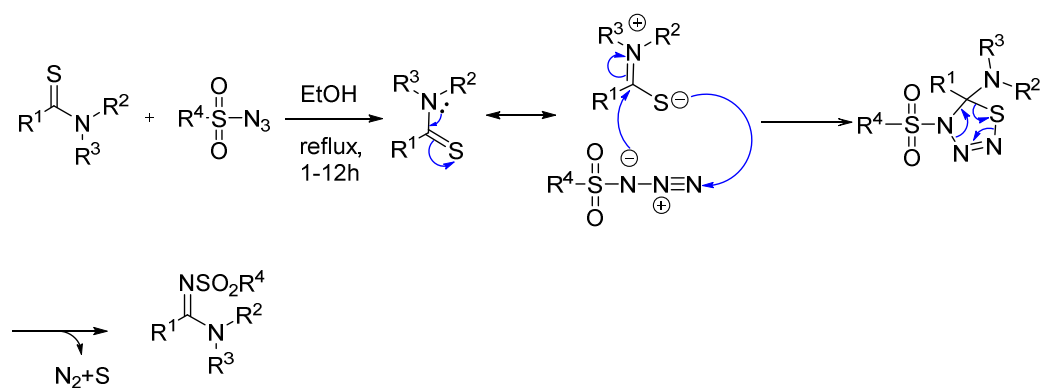
**Schéma 5.** Déshydrogénation d'amines tertiaires couplée à une réaction en tandem avec des azotures de sulfonyle.<sup>58</sup>

Yan-Shi Zhang et *al.*<sup>59</sup> ont montré que les ynamides peuvent aussi servir de précurseurs pour synthétiser des amidines par un transfert allylique de type Tsuji-Trost (Schéma 6).



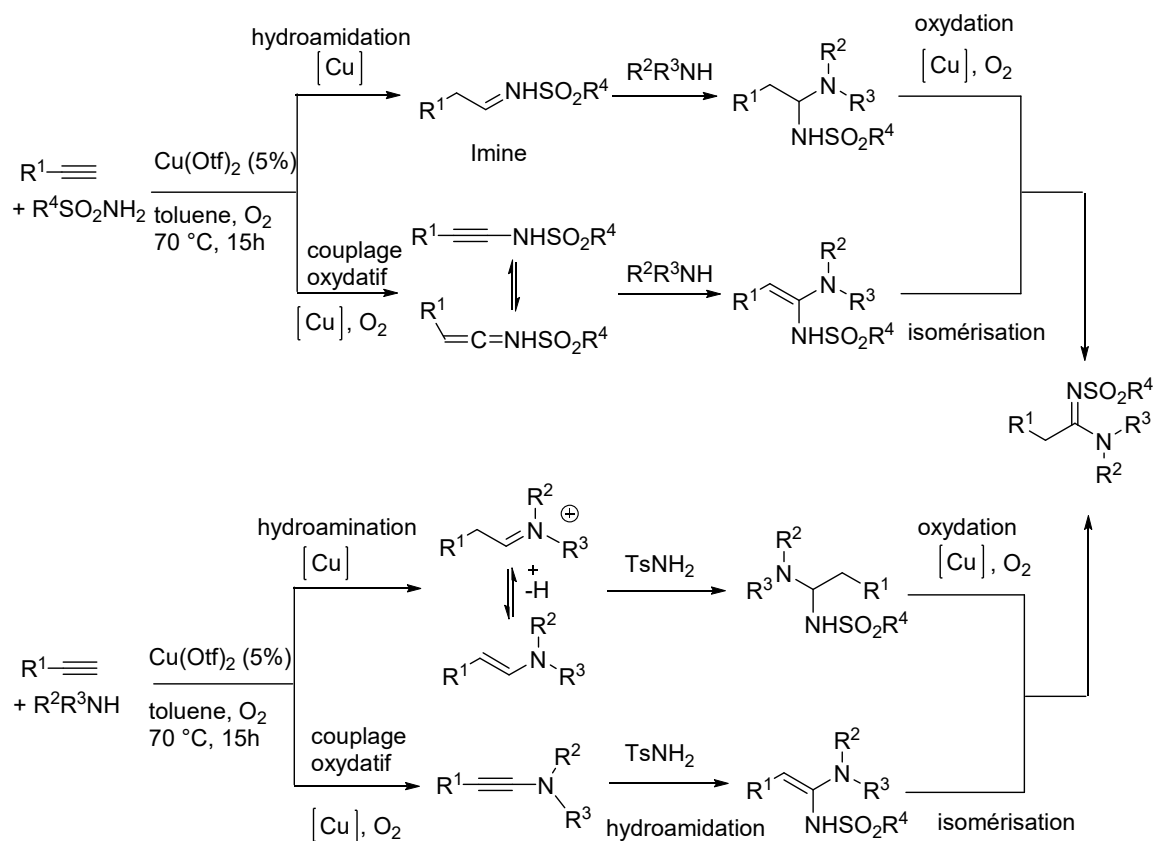
**Schéma 6.** Réarrangement aza-claisen d'un *N*-allylynamide catalysé par du Pd(0).<sup>59</sup>

M. Aswad et *al.*<sup>60</sup> ont décrit un couplage sans catalyseur de thioamides et d'azoture de sulfonyle pour générer des sulfonilamidines à température ambiante (Schéma 7).



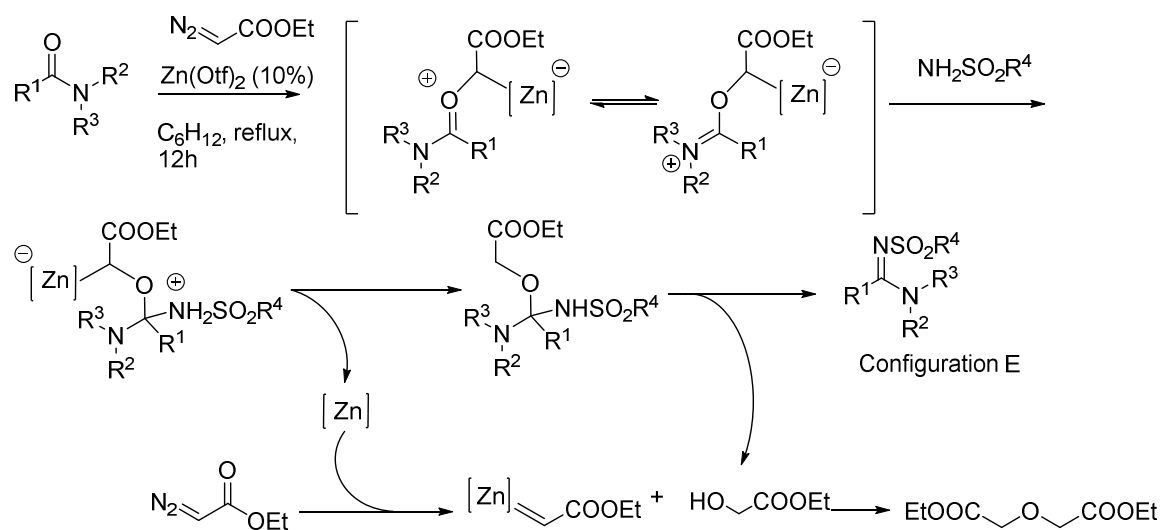
**Schéma 7.** Couplage de thioamides à des azotures de sulfonyle.<sup>60</sup>

En 2015 Kim et *al.*<sup>61</sup> ont présenté une réaction de couplage aérobie à trois composants qui ne se base pas sur les azotures de sulfonyle (Schéma 8). Quatre mécanismes ont été proposés en se basant sur des données de la littérature. Ces mécanismes combinent des réactions d'hydroamidation ou hydroamination couplées à des oxydations catalysées par le cuivre et la condensation (schéma 8).<sup>57a, 62</sup>



**Schéma 8.** Couplage oxydatif aérobie à trois composants.<sup>61</sup>

Jijun Chen et *al.*<sup>63</sup> ont mis au point une autre méthode de synthèse des sulfonamidines basée sur l'activation d'un amide par un complexe zincique de diazoacétate d'éthyle pour générer un ylure intermédiaire qui peut réagir avec un sulfonamide pour donner une sulfonamidine avec la configuration (*E*) (Schéma 9).



**Schéma 9.** Condensation de sulfonamides sur des amides activés par un complexe zincique de diazoacétate d'éthyle.<sup>63</sup>





## **2. OBJECTIES**



Notre objectif consistait à déterminer les requis structuraux sulfonamidines pour leur action sur la différenciation des ostéoclastes et sur la signalisation des prohibitines. Un médicament qui cible les prohibitines pourrait potentiellement améliorer considérablement les traitements des cancers et de l'ostéoporose. De tels composés pourraient de surcroît permettre d'explorer le rôle des prohibitines dans différents types de cellules.



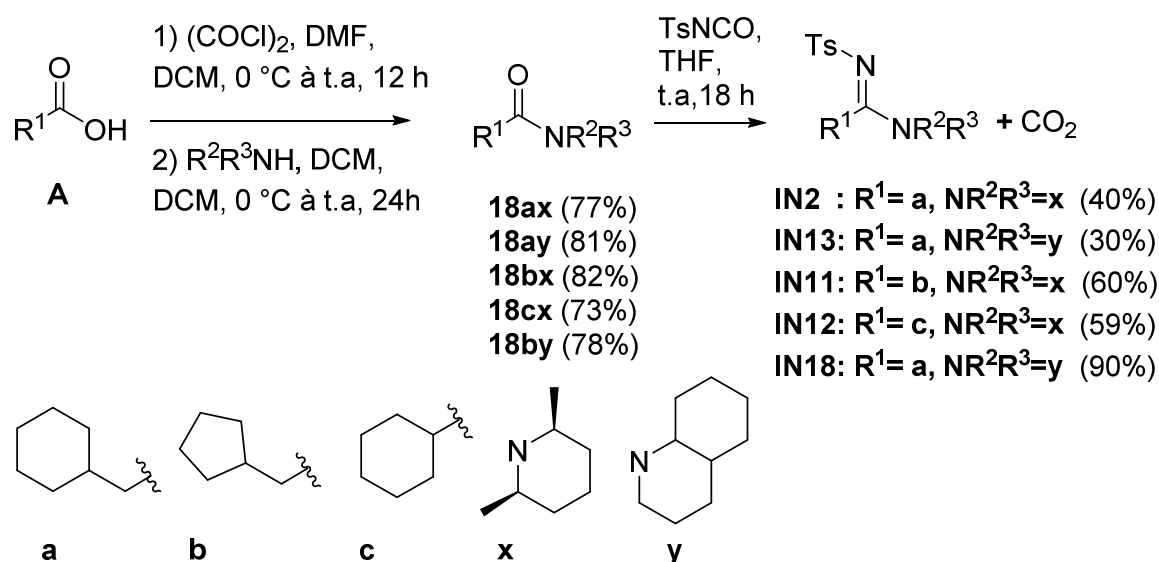
## ***3. RESULTATS***

---



### 3.1. Obtention des sulfonylamidines par conversion d'amides

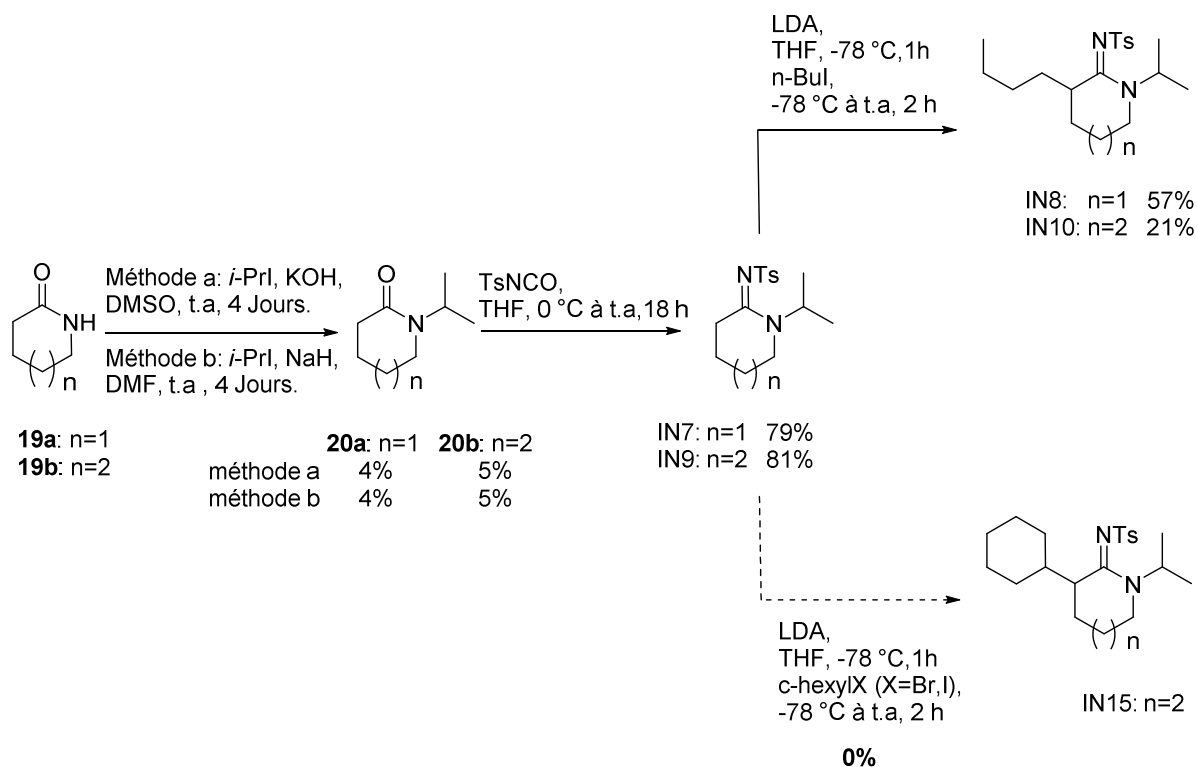
Les composés IN2, IN13, IN11, IN12 et IN18 ont été synthétisés à partir des acides carboxyliques correspondants, après conversion en amides.<sup>64,65</sup> Ceux-ci ont subi une réaction de cycloaddition [2+2] avec l'isocyanate de tosylo<sup>56</sup> pour donner les sulfonylamidines désirées (Schéma 10). Ces adduits présentent une configuration *E*, sauf l'IN12 qui curieusement existe sous un mélange de deux isomères *E/Z* dans un ratio 2:1. Des spectres RMN effectués à différentes températures entre 25 à 120 °C ne montrent pas de variation de ce ratio, indiquant qu'il ne s'agit pas de deux conformères en équilibre.



**Schéma 10.** Préparation des sulfonylamidines IN2, IN13, IN11, IN12, IN18.

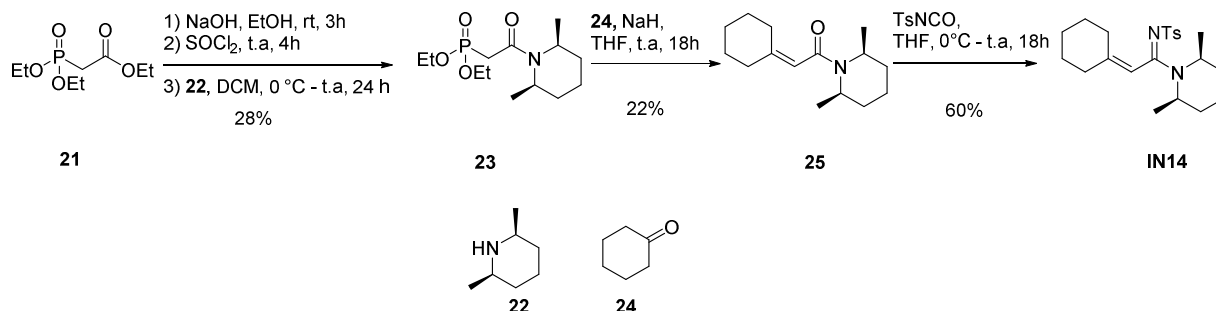
Nous avons synthétisé les composés IN7, IN8, IN9 et IN10 à partir du valérolactame **19a** et du caprolactame **19b** (Schéma 11). La *N*-alkylation de ces amides dans le DMSO ou le DMF avec l'iodure isopropyle donne des faibles rendements<sup>66</sup> (4 et 5%). Une réaction de cycloaddition [2+2] de ces amides avec de l'isocyanate de tosylo permet d'obtenir l'IN7 et l'IN9.<sup>56</sup> Les molécules IN8 et IN10 ont été obtenues par une réaction d' $\alpha$ -alkylation de l'IN7,

IN9 avec du *n*-iodobutane.<sup>67</sup> En revanche l'alkylation de l'IN7 et de l'IN9 avec un bromure ou iodure de cyclohexyle ne se produit pas.



**Schéma 11.** Préparation des molécules IN7, IN8, IN9, IN10.

Pour préparer le composé IN14, nous avons condensé le phosphonoacétate de triéthyle à la diméthylpipéridine **22** pour obtenir le phosphonate **23** qui a été engagé dans une réaction de Horner-Emmons avec la cyclohexanone **24** pour conduire à l'énamide **25**, qui donne après réaction avec l'isocyanate de tosyl<sup>56</sup> la molécule voulue IN14 avec 60% de rendement (Schéma 12).

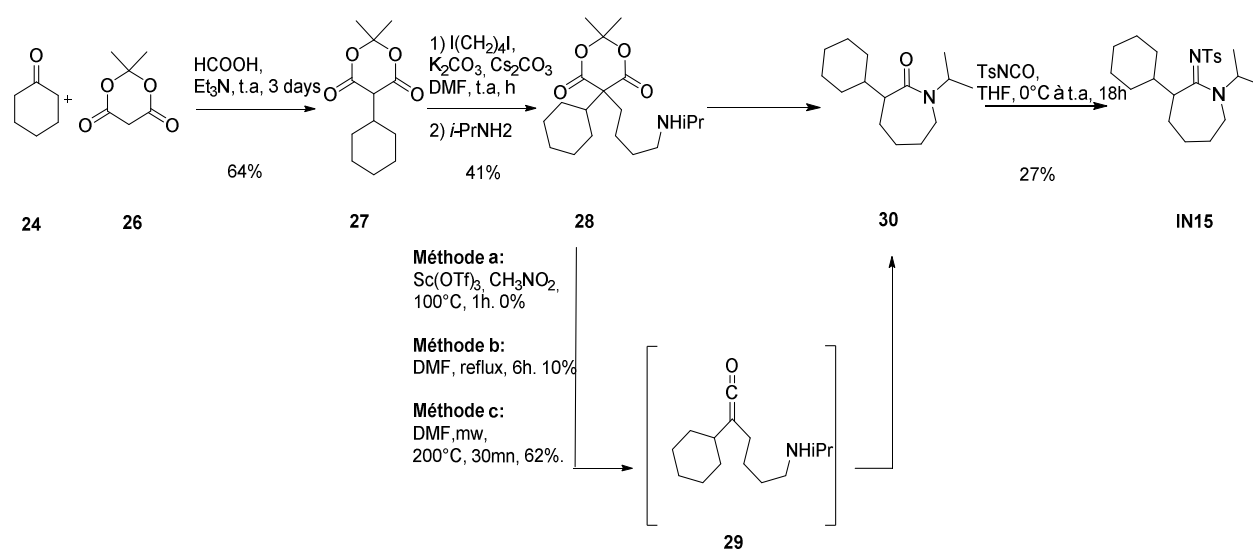


**Schéma 12.** Préparation de la molécule IN14.



N'ayant pu alkyler l'amidine IN9 par du bromure ou iodure de cyclohexyle (Schéma 9), nous avons dû développer une nouvelle stratégie pour préparer le composé IN15 (Schéma 11). Cette approche repose sur la réactivité particulière des acides de Meldrum.<sup>68</sup>

L'alkylation de l'acide de Meldrum par un halogénure d'alkyle donne majoritairement un diadduit.<sup>69</sup> Pour surmonter ce problème, nous avons suivi un protocole qui consiste à condenser de l'acide de Meldrum avec des aldéhydes en présence d'acide formique et de triéthylamine<sup>70</sup> qui a permis de générer le monoadduit **27** avec un rendement 64% (Schéma 13). Cet adduit a été ensuite alkylé par du 1,4-diodobutane selon le protocole de Sautier et *al.*<sup>71</sup> puis a été traité avec un excès d'isopropylamine pour donner le dérivé aminé **28** correspondant avec un rendement de 41%.

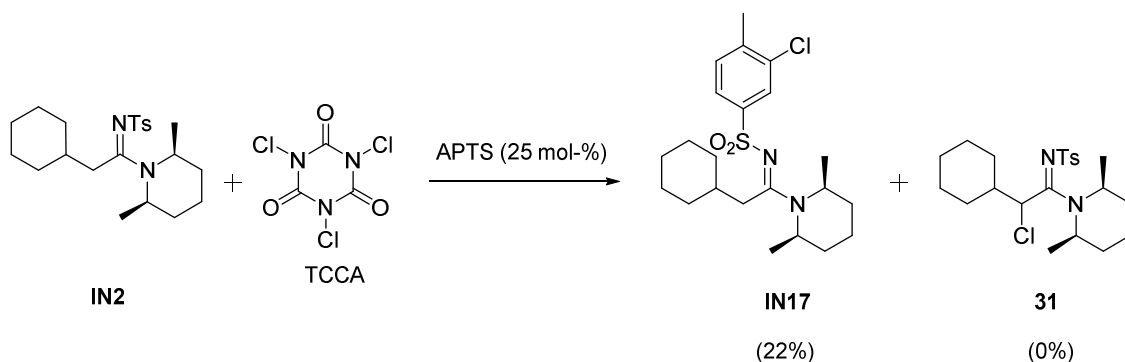


**Schéma 13.** Préparation de la molécule **IN15**.

L'étape cruciale de notre approche repose sur la thermolyse de l'ester de Meldrum **27** qui permet de générer le cétène **29** qui se transforme spontanément en lactame **30**. La réaction de thermolyse dans les mêmes conditions décrites par F. A. Leibfarth et *al.*<sup>72</sup> (méthode a, Schéma 14) était inefficace et nous avons récupéré le produit de départ. Par

contre nous avons pu obtenir quelque milligramme (10% de rendement) du produit désiré par une thermolyse dans le DMF à reflux pendant 6 heures. La réalisation de cette réaction par micro-onde a amélioré le rendement à 62%. La condensation de l'amide obtenue avec l'isocyanate de tosylo<sup>56</sup> permet d'obtenir la molécule voulue **IN15** avec 27% de rendement. Le spectre RMN <sup>1</sup>H de ce composé nous indique qu'il existe en mélange de deux stéréoisomères E/Z dans un ratio 5/1. Comme dans le cas de l'IN12, le chauffage de l'échantillon ne modifie pas ce ratio observé par RMN <sup>1</sup>H.

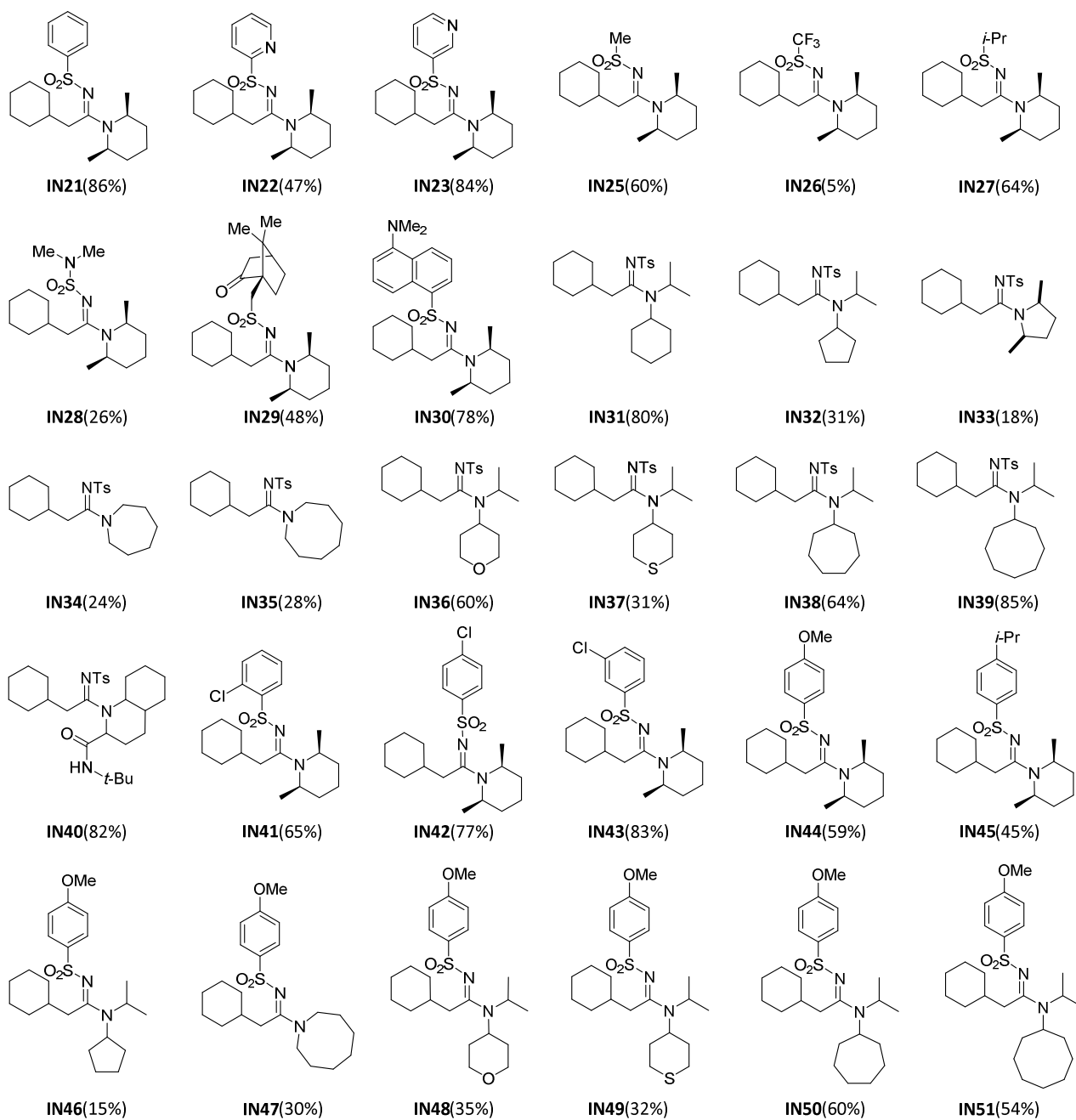
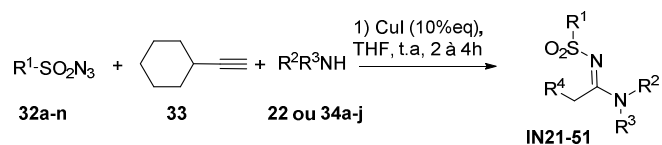
La molécule IN17 est issue d'une réaction de chloration de la molécule IN2 selon le protocole décrit par A. K. Mishra et *al.*<sup>73</sup> Nous espérons une chloration en position  $\alpha$  de la fonction imine mais le spectre d'RMN-<sup>1</sup>H du composé obtenu indique que la chloration a eu lieu sur le tosylo (Schéma 13).



**Schéma 14.** Préparation de la molécule IN17.

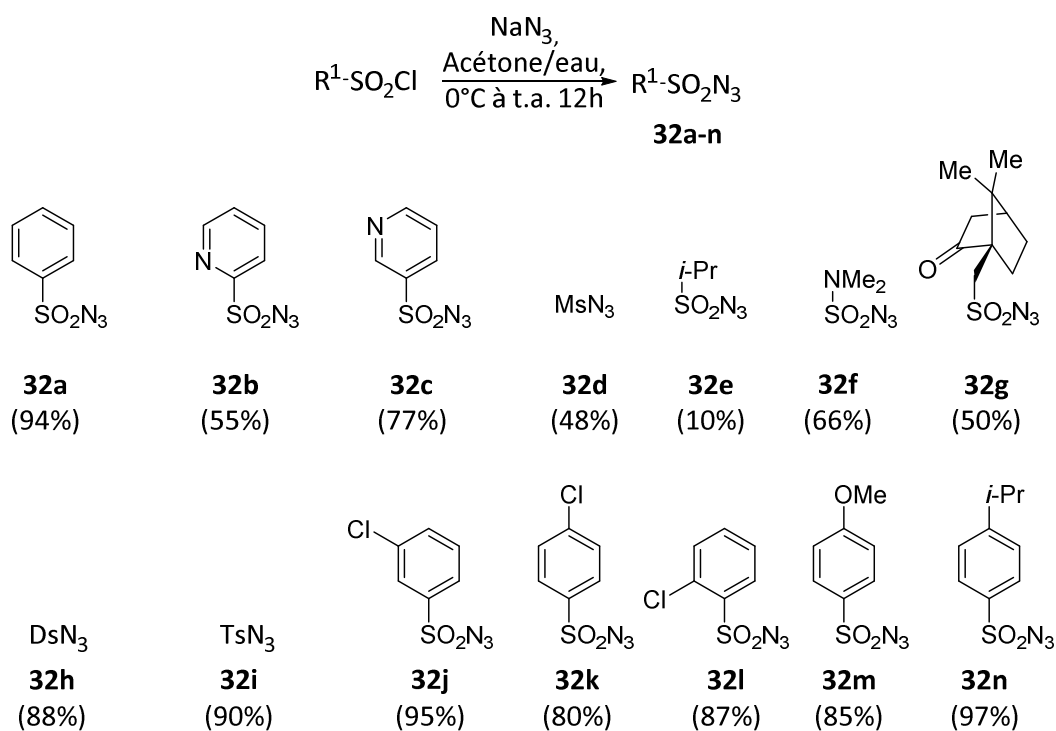
### 3.2. Obtention des sulfonamidines via une réaction multi-composants

Pour synthétiser les composés **IN3**, **IN21-51**, nous avons utilisé la réaction multi-composants développée par Chang et *al.*<sup>57a</sup> qui fait intervenir un azoture de sulfonyle, un alcyne vrai et une amine secondaire (Schéma 15).



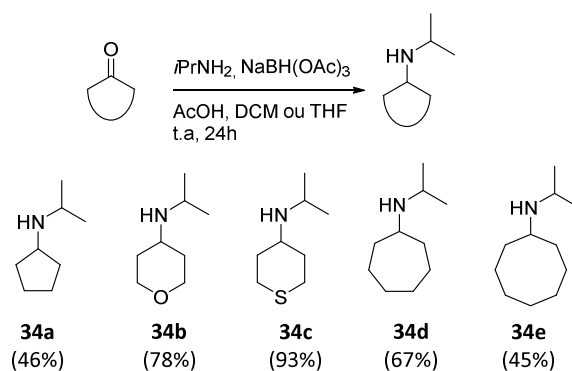
**Schéma 15.** Préparation des composés **IN21-51**.

Les azotures de sulfonyle utilisés dans la réaction ci-dessus ont été préparés par traitement du chlorure de sulfonyle correspondant avec de l'azoture de sodium (Schéma 16).<sup>74</sup>



**Schéma 16.** Préparation des azotures de sulfonyle.

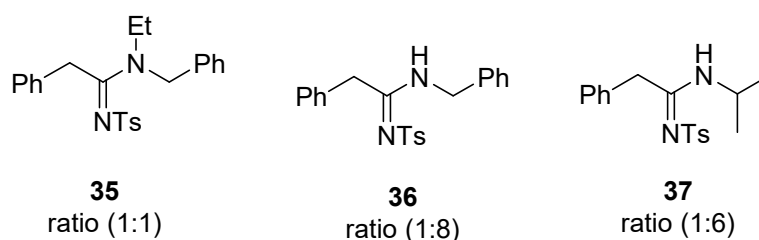
Plusieurs des amines utilisées dans cette synthèse de sulfonylamidines n'étaient pas commerciales. Nous les avons préparées par une réaction d'amination réductrice (Schéma 17).<sup>75</sup>



**Schéma 17.** Synthèse des amines utilisées dans la synthèse multicomposants des sulfonylamidines.

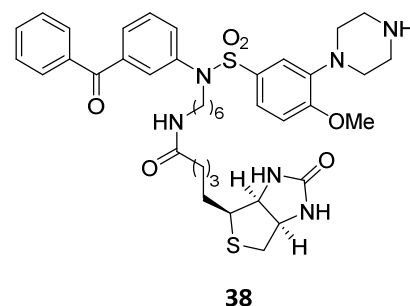
De manière conforme avec les données de la littérature, nos composés présentent une configuration E sauf les composés IN31, IN32, IN34, IN36, IN37, IN38, IN39, IN46, IN47,

IN48, IN49, IN50, IN51 qui existent sous forme de deux stéréoisomère E/Z avec des ratio respectivement de 1:1, 2:1, 2:1, 1:1, 1:1, 2:1, 2.5:1, 2:1, 2:1, 1:1, 1:1, 2:1, 2:1 . A notre connaissance, ce manque de stéréospécificité n'a pas été encore explicitement reporté dans la littérature. En revanche, l'analyse des données RMN des composés **35-37** rapportés dans la littérature (Figure 18) indique que ces composés ont aussi été formés sous forme de mélange Z/E.<sup>57a,76</sup>



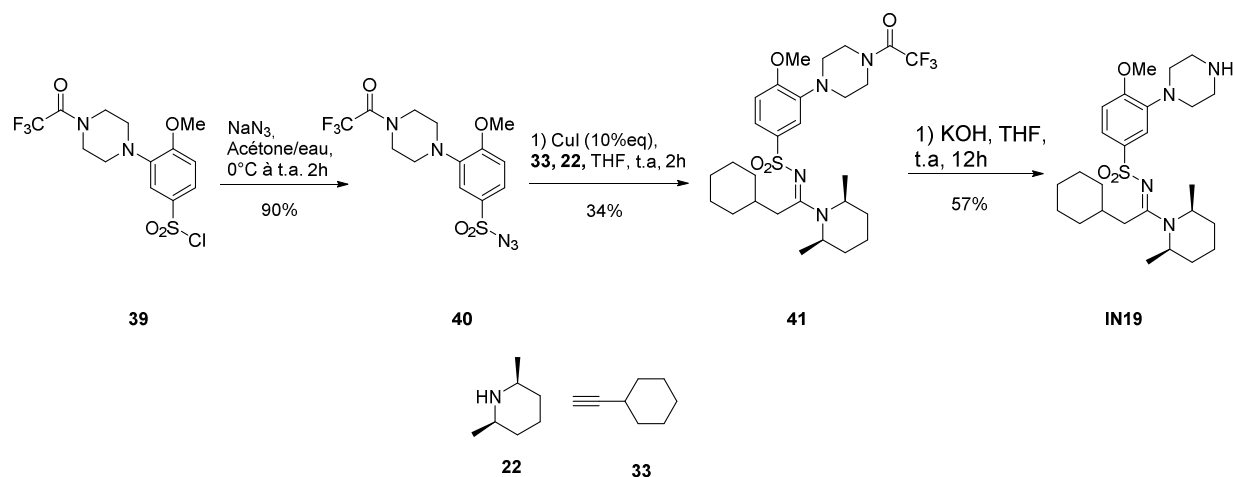
**Figure 17.** Ratio (Z/E) des sulfonamidines décrites dans la littérature.

Ana M. Gamo *al.* ont développé une plate-forme chimio-protéomique basée sur l'utilisation de sondes chimiques pour explorer le profil cible d'un composé dans les systèmes biologiques. Cette nouvelle approche de la recherche pharmacologique leur a permis de capturé avec la sonde **38** la PHB2 ainsi que 30 autres protéines.<sup>77</sup>



**Figure 18.** Structure de la sonde **38**.

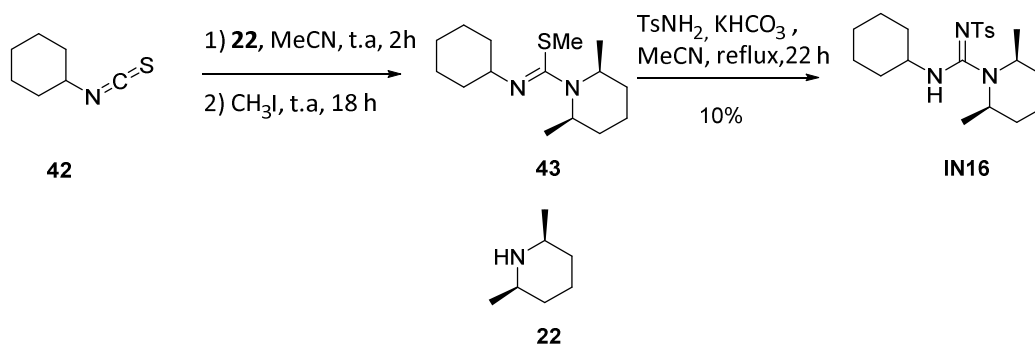
Nous avons émis l'hypothèse que ce composé pourrait partager un pharmacophore commun avec celui des sulfonamidines. Ce qui nous conduit à synthétiser le composé hybride **IN19** par la réaction multicomposants précédemment utilisée (Schéma 18).<sup>57a</sup>



**Schéma 18.** Préparation du composé hybride **IN19**.

### 3.3. Préparation des sulfonylguanidines **IN16** et **IN20**

La sulfonylguanidine **IN16** a été préparée en condition monotopie comme décrit par J. M. Lange et *al.*<sup>78</sup> à partir d'isothiocyanocyclohexane qui a été converti en thiourée par une réaction avec la *cis*-2,6-diméthylpiperidine. La thiourée obtenue est méthylée **43** puis couplés au tosylamide pour donner la sulfonylguanidine **IN16** souhaitée avec 10% de rendement (Schéma 19).



**Schéma 19.** Préparation de la molécule **IN16**.

Le tosylguanidine cyclique **IN20** a été préparée en 4 étapes à partir de la cyclohexylamine nosylée **45**.<sup>79</sup> Celle-ci a été ensuite alkylée par du 1,4-diodobutane<sup>80</sup>, puis traitée par un excès d'isopropylamine pour obtenir l'intermédiaire **46**. Celui-ci a été

déprotégé<sup>81</sup> (73%) pour donner le diamine **47** qui a été condensée au dichlorure de tosylcarbonimide **48**<sup>82</sup> selon le protocole décrit par M. Hernández-Rodríguez et *al.*<sup>83</sup> pour fournir la molécule **IN20** avec 6% de rendement (Schéma 20).

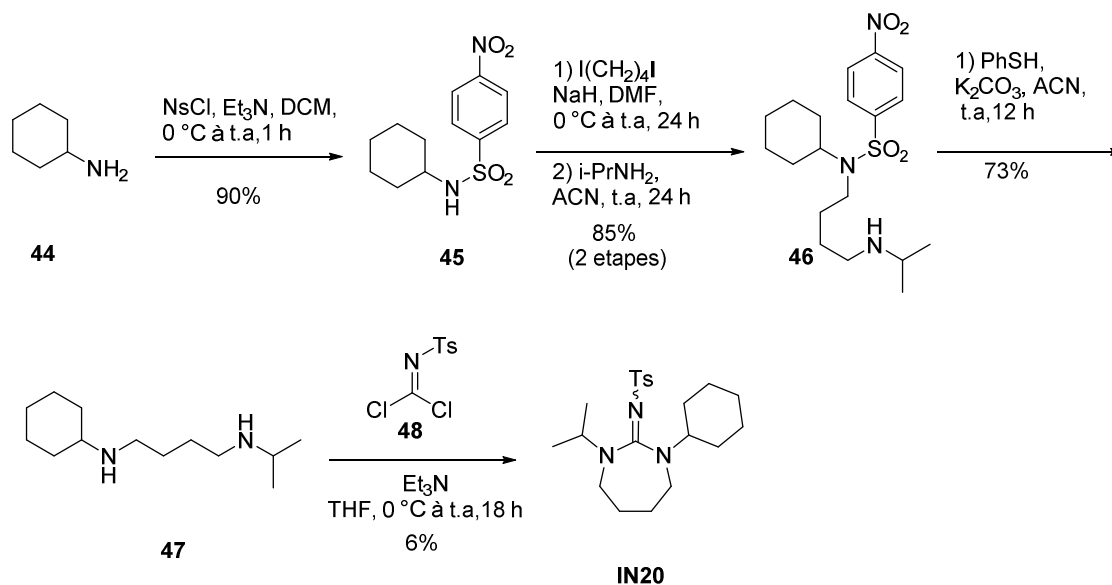
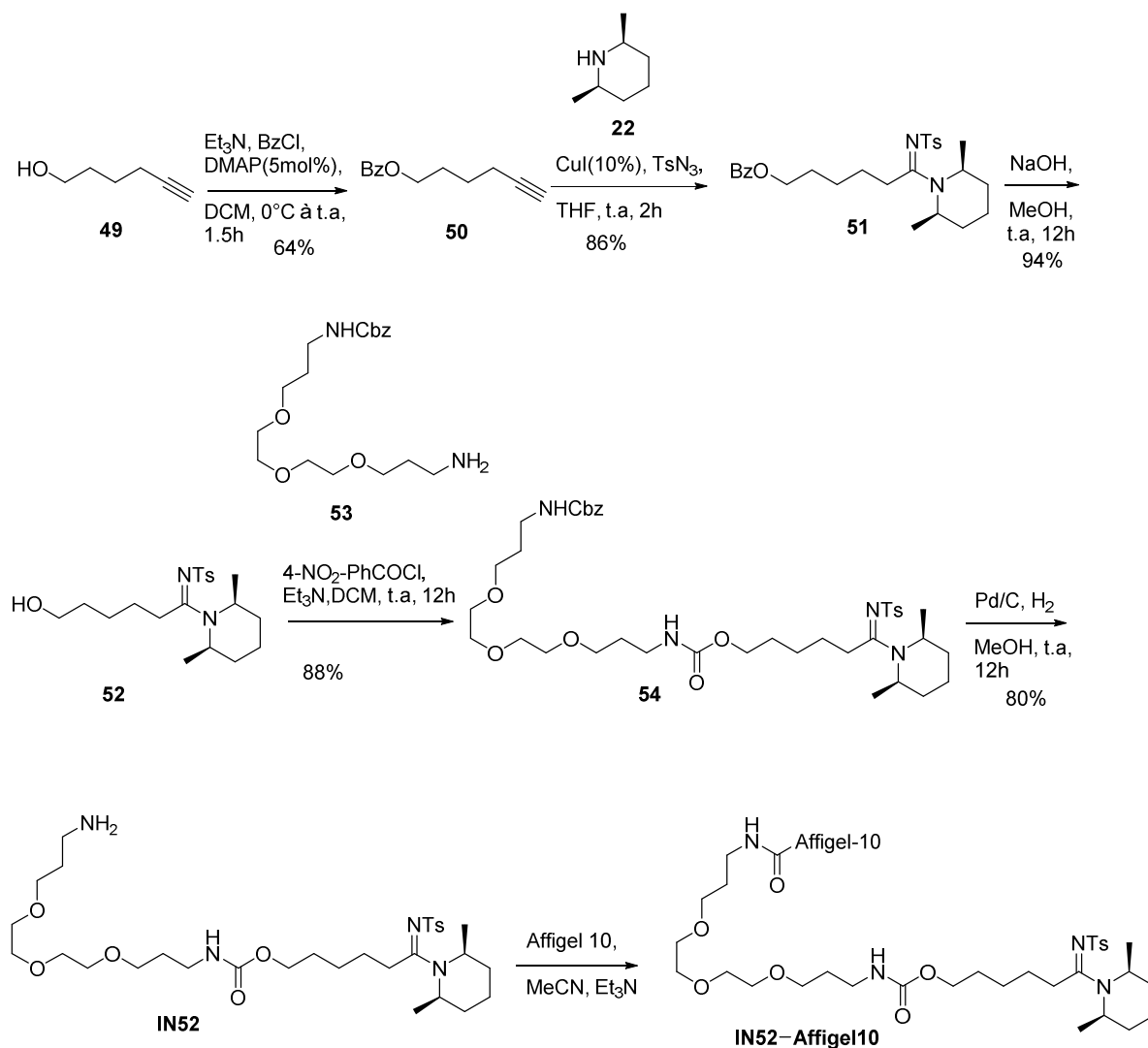


Schéma 20. Préparation de la molécule **IN20**.

### 3.4. Synthèse d'un ligand conjugué à de l'Affigel-10

Pour caractériser par spectrométrie de masse les complexes multiprotéiques reconnus par les sulfonylamidines, nous avons synthétisé le composé **IN52** que nous avons conjugué à de l'Affigel-10 (Schéma 21). L'alcool **49** a été protégé pour donner l'ester **50** (64%).<sup>84</sup> Ensuite une réaction de couplage à trois composants a conduit à la sulfonylamidine **51** avec 86% de rendement.<sup>46</sup> Cet ester a été saponifié<sup>85</sup> et couplé avec l'amine **53**,<sup>86</sup> pour donner le carbamate **54** (88%).<sup>87</sup> Ce dernier a été déprotégé pour fournir le composé désiré **IN52** avec 80% de rendement.<sup>88</sup>

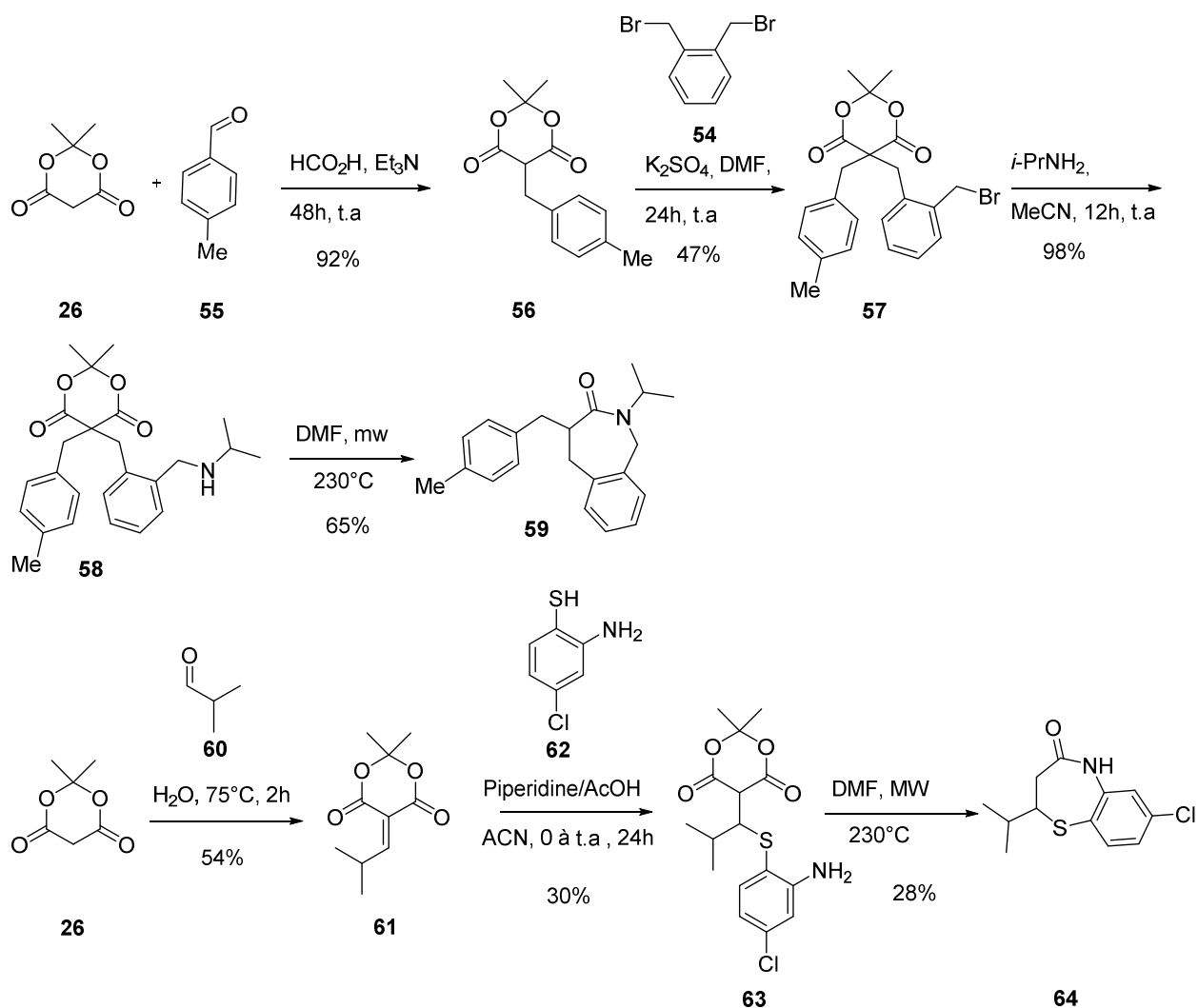


**Schéma 21.** Synthèse de la sulfonamidine IN52 conjuguée à de l’Affigel-10.

### 3.5. Synthèse de dérivés et analogues de caprolactames par thermolyse de dérivés de l’acide de Meldrum

Pour valoriser la méthode de synthèse de l’IN15 faisant appel à un acide de Meldrum nous avons cherché à préparer d’autres caprolactames en utilisant cette approche en vue d’un article dans un journal de chimie (Schéma 22). En utilisant la même stratégie que précédemment,<sup>70</sup> nous avons préparé l’intermédiaire **56** qui a subi une réaction d’alkylation<sup>71</sup>





**Schéma 22.** Exemples d'utilisation de l'acide de Meldrum pour préparer des caprolactames.

puis un traitement par un excès d'isopropylamine pour donner le composé **58**, ce dernier a conduit au caprolactame **59** avec 65% de rendement dans des condition de thermolyse.

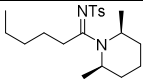

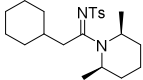
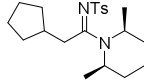
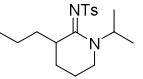
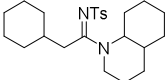
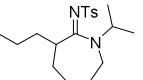
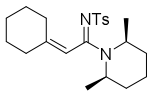

Le benzylidène **61** préparé par une réaction Knoevenagel décrite par Franca Bigi *et al.*<sup>89</sup> a été condensé à l'aminothiophénol **62** pour donner l'intermédiaire **63** avec 30% de rendement.<sup>90</sup> Ensuite la réaction de thermolyse a mené au composé **64** avec 28% de rendement.

### 3.6. Résultats biologiques

Nos composés ont été testés par l'équipe du Dr François Lamoureux et du Pr Dominique Heymann à Nantes pour leur activité anticlastogénique. Pour ce faire des monocytes CD14-positifs isolés à partir de sang circulant (donneur sain, EFS Nantes) ont été traités par nos composés en présence de 100 ng/mL de receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) humain et de 25 ng/mL de macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) humain.<sup>91</sup> La présence des ostéoclastes a été révélée par leur marquage positif pour la phosphatase acide résistante au tartrate (TRAP). Les cellules TRAP<sup>+</sup> ayant au moins trois noyaux sont considérés comme des ostéoclastes et ont été comptées manuellement par observation en microscopie optique.

Dans ce test, le composé de référence IN0 à 10  $\mu$ M inhibe à 54 % l'ostéoclastogénèse (Table 2). Le remplacement du *n*-pentyle par un cyclohexylméthyle (IN2) augmente considérablement l'activité anti-ostéoclastique sans affecter la viabilité des monocytes. Limiter la flexibilité conformationnelle en incluant la chaîne alkyle dans un cycle à 6 est légèrement préjudiciable (IN8), mais le passage à un cycle à 7 chaînons (IN10) a rétabli une bonne activité anti-ostéoclastique. La suppression des substituants *n*-butyle sur ces deux derniers composés (IN7 et IN9) a supprimé l'activité. Le remplacement du cyclohexylméthyle de l'IN2 par un cyclopentylméthyle (IN11) ne modifie pas l'activité, mais son remplacement par un cyclohexyle (IN12) n'est pas été toléré. La combinaison des caractéristiques de l'IN2 et de l'IN3 a conduit à l'IN13, qui est étonnamment moins actif que ces deux derniers composés, ce qui indique que les bénéfices apportés par l'introduction du cyclohexylméthyle et de la décahydroquinoléine ne sont pas additifs. L'introduction d'une insaturation entre le cyclohexyle et le fragment sulfonamide conduit à un composé inactif (IN14).

**Tableau 2.** Inhibition de l'ostéoclastogenèse par la première série de sulfonamidines.

IN	Structure	Inhibition %		IN	Structure	Inhibition %	
		1 $\mu$ M	10 $\mu$ M			1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
IN0		ND	54%	IN9		27.1 $\pm$ 9.5	39.3 $\pm$ 6.1
IN2		34.9 $\pm$ 13.3	97.9 $\pm$ 2.4	IN11		32.7 $\pm$ 11.4	91.5 $\pm$ 6.1
IN8		31.9 $\pm$ 4.1	80.6 $\pm$ 8.1	IN13		33.1 $\pm$ 0.54	78.9 $\pm$ 7.8
IN10		12.1 $\pm$ 5.4	90.1 $\pm$ 2.7	IN14		25.5 $\pm$ 19.2	23.3 $\pm$ 10.8
IN7		27.9 $\pm$ 4.06	93.8 $\pm$ 14.9				

Les composés suivants ont été testés avec des lots différents de monocytes qui peuvent présenter une sensibilité différente au ligand de RANK. Pour pouvoir comparer l'ensemble de ces résultats, le composé IN2 est utilisé comme composé de référence.

En accord avec l'activité observée de l'IN10, la rigidification de l'IN2 dans un cycle à 7 chaînons (IN15) est bénéfique (Tableau 3). Le remplacement isostérique de la tosylamidine par une tosylguanidine (IN16 et IN20) supprime l'activité. L'introduction d'une décahydroquinoléine (IN18) est extrêmement préjudiciable, ce qui indique que les effets de substitution du alkyle et de la tosylamidine sont hautement interdépendants. Le composé IN19, qui combine des caractéristiques structurales de l'IN2 et de la sonde **35** présente une activité inférieure à celle de l'IN2. La chloration en position méta de la partie tosylé (IN17) est bien tolérée.

**Tableau 3.** Inhibition de l'ostéoclastogénèse par la deuxième série de sulfonamidines.

IN	Structure	Inhibition %		IN	Structure	Inhibition %	
		1 $\mu$ M	10 $\mu$ M			1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
IN2		22.2 $\pm$ 4.5	100 $\pm$ 0	IN18		14.6 $\pm$ 4.1	93.1 $\pm$ 7.5
IN15		40.6 $\pm$ 17.3	100 $\pm$ 0	IN19		-17.6 $\pm$ 6.9	99.3 $\pm$ 0.2
IN16		16.6 $\pm$ 11.4	17.1 $\pm$ 9.27	IN17		23.4 $\pm$ 19.3	99.7 $\pm$ 0.3
IN20		13.3 $\pm$ 8.12	41.7 $\pm$ 9.8				

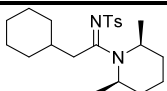
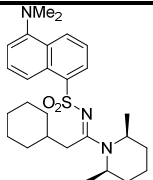
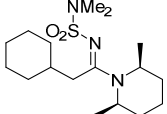
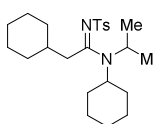
**Tableau 4.** Inhibition de l'ostéoclastogénèse par la troisième série de sulfonamidines.

IN	Structure	Inhibition %		IN	Structure	Inhibition %	
		1 $\mu$ M	10 $\mu$ M			1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
N2		14.4 $\pm$ 13.9	97.6 $\pm$ 2.1	IN23		11.8 $\pm$ 16.5	68.4 $\pm$ 5.5
IN21		3.3 $\pm$ 26.41	97.9 $\pm$ 0.5	IN28		23.8 $\pm$ 3.7	-8.1 $\pm$ 9.7
IN26		-1.1 $\pm$ 22.9	96.1 $\pm$ 3.9	IN25		1.6 $\pm$ 8.96	12.6 $\pm$ 28.1
IN22		-20.2 $\pm$ 35.6	44.9 $\pm$ 49.1	IN27		-1.5 $\pm$ 10.4	57.5 $\pm$ 29.8
IN23		-23.6 $\pm$ 33.9	56.1 $\pm$ 39.7				

Ensuite, nous avons poursuivi notre étude de RSA en modifiant la nature du groupement arylsulfonyl (Tableau 4). Le remplacement du 4-tolyle par un phényle (IN21) ou un trifluorométhyle (IN26) est bien toléré, mais le remplacement par un 2-pyridyle, 3-pyridyle, diméthylamino ou camphre est défavorable (IN22, IN23, IN28, IN29). Cet effet délétère était plus prononcé avec un méthyle ou un isopropyle (IN25 et IN27).

Le remplacement du tosyle par un diméthylaminosulfonyl (IN25) abolit l'activité, alors qu'un camphorsulfonyl (IN29) est bien toléré (Tableau 5). Il est important de noter que le remplacement de la 2,6-diméthylpipéridine par une *N*-isopropylcyclohexylamine (IN31) conserve l'efficacité anti-ostéoclastogénique.

**Tableau 5.** Inhibition de l'ostéoclastogénèse par la quatrième série de sulfonylamidines.

IN	Structure	Inhibition %		IN	Structure	Inhibition %	
		1 $\mu$ M	10 $\mu$ M			1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
IN2		6.5 $\pm$ 14.4	100 $\pm$ 0	IN30		0.3 $\pm$ 23.6	85.6 $\pm$ 4.0
IN25		-21.2 $\pm$ 18.7	8.4 $\pm$ 21.6	IN31		9.2 $\pm$ 17.7	100 $\pm$ 0

Le remplacement de la partie 2,6-diméthylpipéridine par une *N*-isopropylcyclopentylamine (IN32) également hydrophobe préserve bien l'activité anti-ostéoclastogénique (Tableau 6), mais de manière curieuse le passage à une 2,6-diméthylpyrrolidine (IN33) rend la molécule cytotoxique à 10  $\mu$ M et pro-ostéoclastogénique à 1

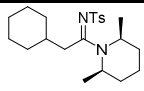
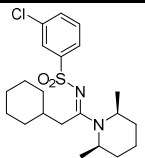
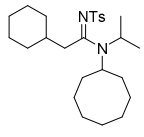
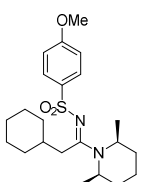
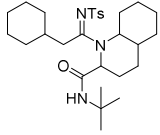
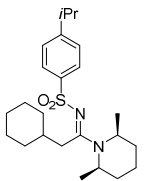
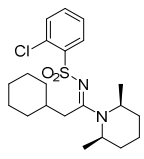
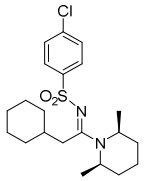
$\mu\text{M}$ . Le passage à un azépane (IN34) a un effet délétère, mais le passage à un azocane (IN35) est mieux toléré. Le dérivé tétrahydropyranique IN36 est moins actif que son isostère soufré plus volumineux et moins polaire IN37. Les dérivés cycloheptaniques (IN38) présente une activité au moins égale à celle de l'IN2.

**Tableau 6.** Inhibition de l'ostéoclastogenèse par la cinquième série de sulfonamidines.

IN	Structure	Inhibition %		IN	Structure	Inhibition %	
		1 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$			1 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{M}$
IN32		22.4 $\pm$ 21.2	100 $\pm$ 0	IN36		9.5 $\pm$ 4.1	52.9 $\pm$ 16.5
IN33		-15.5 $\pm$ 21.5	Cytotoxique	IN37		-23.1 $\pm$ 12.6	99.6 $\pm$ 0.9
IN34		-17.7 $\pm$ 36.1	42.2 $\pm$ 9.9	IN38		-0.6 $\pm$ 6.9	98.6 $\pm$ 2.5
IN35		7.9 $\pm$ 29.1	95.5 $\pm$ 2.1				

Le dérivé cyclooctaniques IN39 présente une activité inférieure à celle de l'IN2 à 1  $\mu\text{M}$ , mais supérieure à 10  $\mu\text{M}$  (Tableau 7). Le dérivé IN40 qui comporte une partie aminée que l'on retrouve dans d'autres ligands des PHBs est quant à lui faiblement actif. L'introduction d'un chlore sur le groupement arylsulfonyle améliore l'activité, surtout en position (IN41). L'introduction d'un méthoxy ou d'un isopropyle dans cette position augmentent aussi l'activité anti-ostéoclastogénique (IN44 et IN45).

**Tableau 7.** Inhibition de l'ostéoclastogénèse par la sixième série de sulfonamidines.

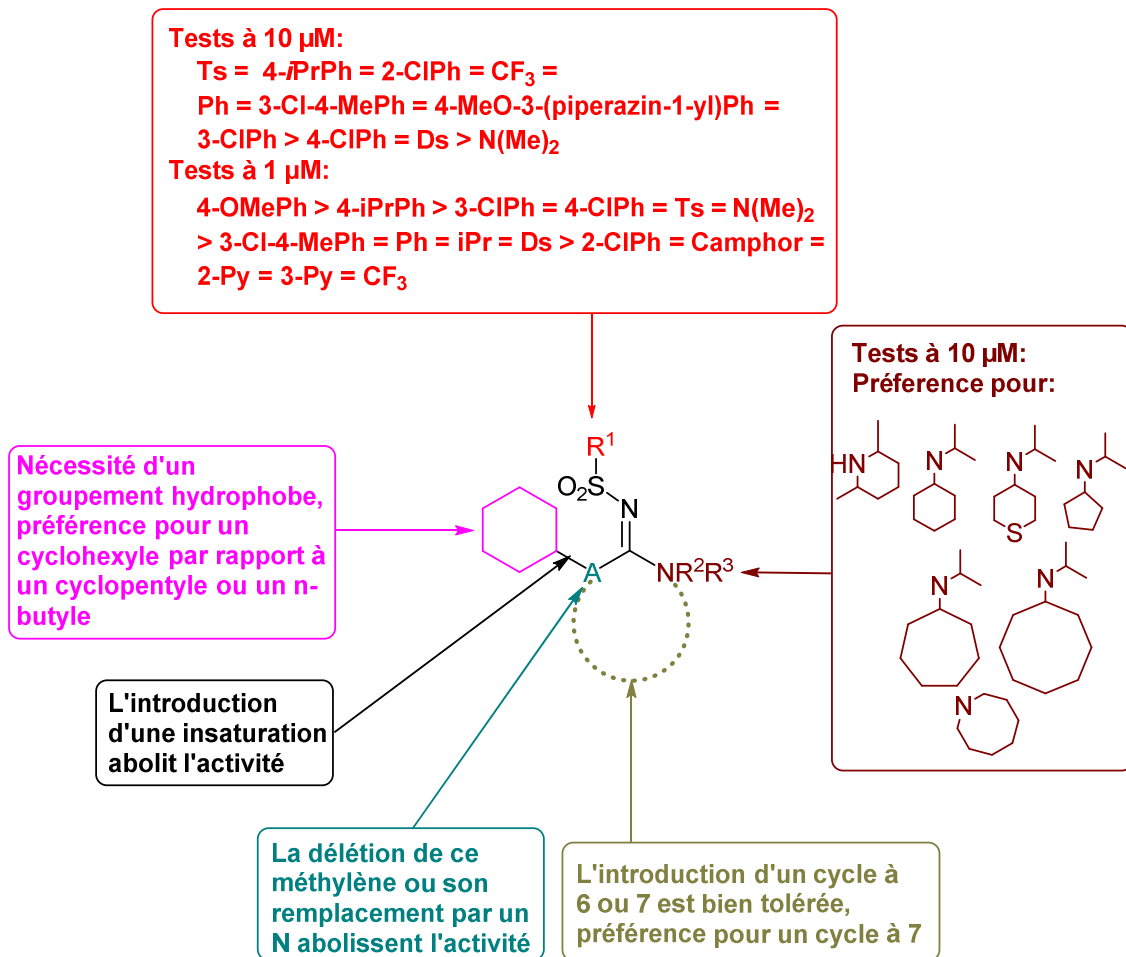
IN	Structure	Inhibition %		IN	Structure	Inhibition %	
		1 $\mu$ M	10 $\mu$ M			1 $\mu$ M	10 $\mu$ M
IN2		26.6 $\pm$ 3.4	73.8 $\pm$ 9.5	IN43		55.5 $\pm$ 25.8	90.4 $\pm$ 4.5
IN39		2.7 $\pm$ 5.9	100 $\pm$ 0	IN44		56.8 $\pm$ 8.8	69.3 $\pm$ 26.6
IN40		19.3 $\pm$ 21.6	5.5 $\pm$ 26.6	IN45		50.9 $\pm$ 19.3	97.8 $\pm$ 3.5
IN41		-38.9 $\pm$ 9.2	100 $\pm$ 0				
IN42		42.4 $\pm$ 22.0	69.8 $\pm$ 4.5				

L'ensemble de ces variations structurales ont permis de préciser les requis structuraux pour l'activité anticlastogénique *in vitro* (Figure 19) et peut être résumée comme suit :

- 1- l'amidine peut être sulfonylée par différents groupement sulfonyles hydrophobes avec une préférence pour un groupement 4-méthoxyphénylsulfonyle ;
- 2- la partie aminée peut être incluse dans un cycle à 7 avec le carbone en  $\alpha$  de la fonction amidine ;
- 3- la délétion ou le remplacement du carbone en  $\alpha$  de la fonction amidine par un azote suppriment toute activité ;

-4- le carbone de l'amidine doit être substitué par une chaîne carbonée hydrophobe, avec une préférence pour un groupement cyclohexylméthyle ;

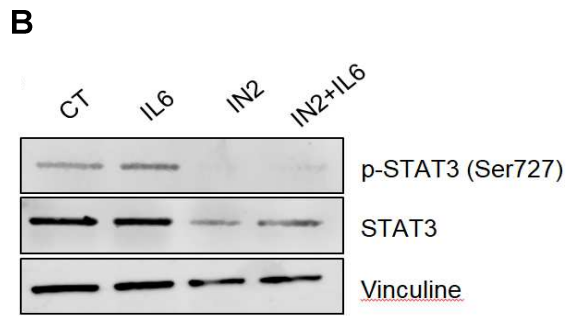
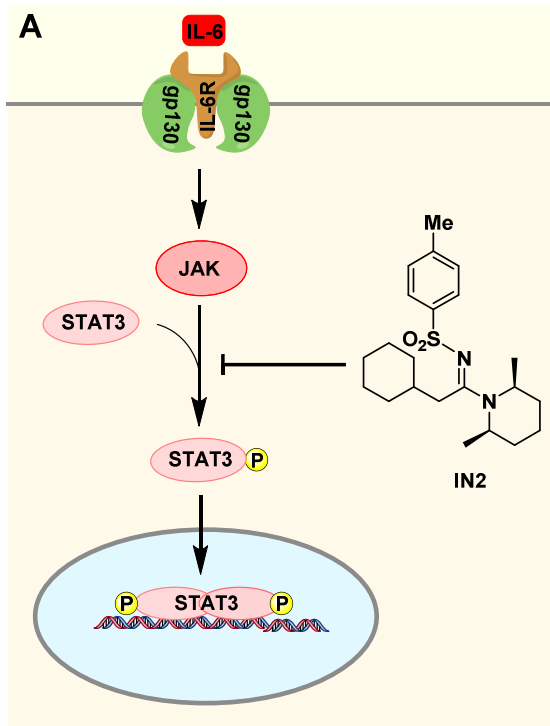
-5- l'introduction d'une insaturation conjuguée à l'amidine abolit l'activité.



**Figure 19.** Requis structuraux des sulfonamidines pour leur activité anticlastogénique *in vitro*.

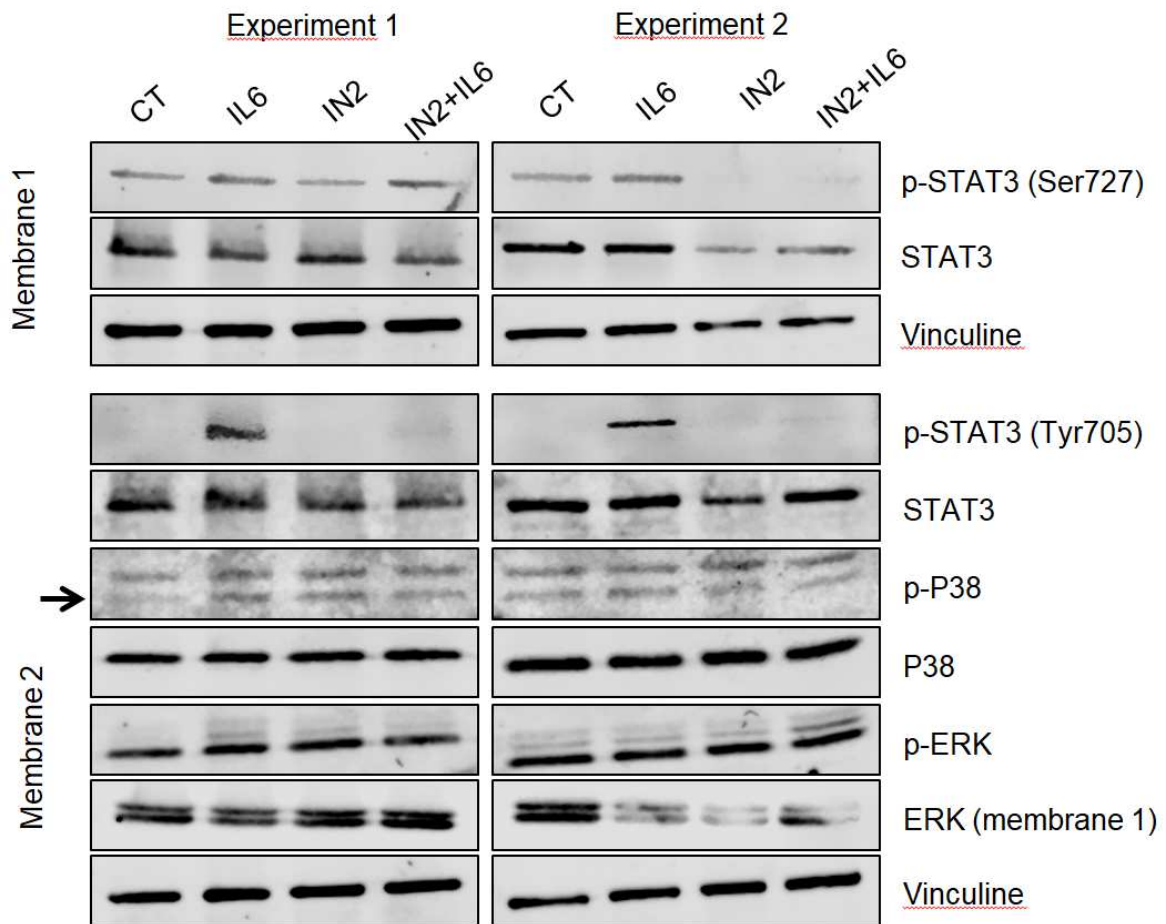
Les premiers travaux sur le mode d'action de ces composés ont montré que l'IN2 bloque la phosphorylation du facteur de transcription STAT3 induite par la signalisation de l'interleukine 6 (IL6), ce qui inhibe l'expression de RANKL nécessaire à la différenciation ostéoclastique (Figures 20 et 21).





**Figure 20 :** Inhibition par la sulfonamide IN2 de la phosphorylation du facteur de transcription STAT3 induite par la signalisation de STAT3. **A.** Schéma illustrant la voie de signalisation mise en jeu. **B.** Western blot de cellules préostéoclastiques traitées par le DMSO (contrôle, CT), l'IL6, l'IN2 et l'IL6+IN2.

L'activité *in vivo* de l'IN44 est actuellement examinée sur des souris ovariectomisées. Ces souris sont opérées à 12 semaines, et traitées 11 jours après (jour J0) avec un premier scanner pour mesurer la densité osseuse. Les souris sont traitées 5 fois par semaine pendant 4 semaines par de l'IN44, du zolédronate (bisphosphonate, molécule anti-ostéoporotique utilisée contrôle positif) ou de l'excipient seul. Les souris subissent un scanner supplémentaire à J14 et J28 et sont ensuite sacrifiées avant que leur sang, tibia, fémur et vertèbres soient prélevés.



**Figure 21.** Effets de l'IN2 sur l'activation de STAT3, P38 et ERK dans des monocytes CD14<sup>+</sup>.

## **4. *CONCLUSION***

---



Ce travail s'inscrit dans la continuité des travaux antérieurs du laboratoire sur la pharmacochimie des ligands des PHBs. Il répond aussi à un besoin médical grandissant. En effet les traitements actuels de l'ostéoporose ne sont pas satisfaisants et avec le vieillissement de la population cette affection devient un problème de santé publique.

Notre objectif consistait à synthétiser des analogues sulfonamidines décrits comme ligand des PHBs, pour identifier les requis structuraux pour leur activités anticlastogénique et développer des outils pharmacologiques pour examiner le rôle des prohibitines dans plusieurs conditions physiologiques et pathophysiologiques.

Nous avons synthétisé une cinquantaine de sulfonamidines, ce qui nous a permis de préciser les relations structure-activités d'identifier les requis structuraux pour cette activité anticlastogénique *in vitro* (Figure 18). Nous avons ainsi identifié des composés plus actifs que les sulfonamidines décrites dans la littérature. Des études *in vivo* sont actuellement en cours en vue d'un dépôt de brevet.

Nous avons aussi conjugué une sulfonamidine à de l'Affigel-10 qui sera utilisée par nos collaborateurs pour caractériser par spectrométrie de masse les complexes multiprotéiques sur lesquels se fixe cette classe de ligand des PHBs.

Pour préparer l'ensemble de ces composés, nous avons fait appel à des méthodes de synthèse déjà établies. Cependant, nous avons été amenés à développer des méthodologies de synthèse originale, notamment pour générer des caprolactames fonctionnalisés.

Cette étude sera poursuivie au laboratoire dont un des objectifs consiste à développer des ligands des PHBs pour diverses affections. Ces composés seront également examinés dans d'autres types de tests cellulaires impliquant la signalisation des PHBs. Ainsi des travaux

antérieurs avaient montré que la sulfonamide **17** inhibe l'entrée du virus du Chikungunya dans les virus en interagissant avec la fonction des PHBs localisés à la surface des cellules.<sup>92</sup> Il est hautement probable que nos composés puissent aussi présenter des effets pharmacologiques intéressants dans d'autres types de cellules.

## ***5. PARTIE EXPERIMENTALE***

---





## General experimental details

All commercial reagents were used without purification. All the anhydrous solvents used are commercial or are conserved on molecular sieves. All reactions sensitive to moisture or oxygen were carried out under argon atmosphere and in flasks dried at 110 °C. Reactions were stirred with a magnetic stirrer. Temperatures for the reactions refer to bath temperatures. Reactions were monitored by TLC (0.2 mm, Merck DC Platten Kieselgel 60 F254) with detection by UV light ( $\lambda = 254$  nm) and treatment with anisaldehyde and potassium permanganate-stain. NMR spectra were acquired on a Bruker DRX-400 spectrometer in CDCl<sub>3</sub> (referenced to 7.26 ppm for <sup>1</sup>H and 77.0 ppm for <sup>13</sup>C) as solvent. Coupling constants (J) are in Hz. Chemical shifts are reported in parts per million (ppm). The multiplicities of the signals are described using the following abbreviations: s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet. High resolution mass spectra were recorded on a Bruker MicroTOF-Q (ESI Q-TOF) spectrometer.

### 5.1. General protocol for the preparation sulfonylamidines

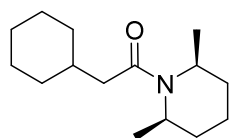
#### 5.1.1. 1<sup>st</sup> Method: Condensation of amides with p-toluenesulfonyl isocyanate

##### 5.1.1.1. Preparation of amides

##### 5.1.1.1.1. Amides 18ax-18by

The corresponding carboxylic acid (1eq) was treated with (COCl)<sub>2</sub> (1.2 eq) and DMF (0.1 ml) in DCM (3 ml/1mmol) and stirred at room temperature for 4 hours under nitrogen atmosphere. Then, the remained (COCl)<sub>2</sub> and solvent were removed by evaporation. The

residue acyl chloride was used without further purification. The residue acyl chloride was diluted with DCM (2ml/1 mmol) for further use. To a stirring solution of amine (1.1 eq), Et<sub>3</sub>N (1.2 eq) in DCM (3 ml/1 mmol) was added dropwise the solution of acyl chloride in DCM at 0-5 °C under nitrogen atmosphere. After the addition, the resulting mixture was warmed to room temperature and stirred overnight. Then, the solvent was removed by evaporation and the residue was quenched with water at 0 °C. The resulting solution was washed sequentially by aqueous HCl (2 ml/1 eq, 1.0 M), saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> and brine. The organic phase was dried over anhydrous Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and then evaporated under vacuum. The residue was purified by column chromatography to afford the corresponding aliphatic amide.



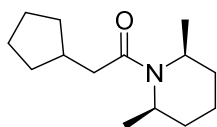
**18ax**

### **2-Cyclohexyl-1-(2,6-dimethylpiperidin-1-yl)ethan-1-one**

Purification by column chromatography (Pentane/AcOEt 60:40) afforded the desired product as a white solid (1.843 g, 77% yield),

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.8 (br, 1H), 4.11 (br, 1H), 2.25 – 2.12 (m, 2H), 1.85 – 1.45 (m, 12H), 1.33 – 1.08 (m, 8H), 0.98 – 0.89 (m, 3H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.6, 47.4, 43.3, 40.9, 35.2, 33.5, 30.7, 30.03, 26.4, 26.2, 21.86, 20.7, 13.9 ppm.



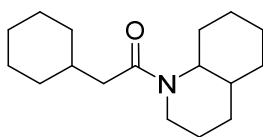
**18bx**

**2-Cyclopentyl-1-(2,6-dimethylpiperidin-1-yl)ethan-1-one**

Purification by column chromatography (Pentane/AcOEt 60:40) afforded the desired product as a white solid (3.63 g, 81% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.8 (br, 1H), 4.12 (br, 1H), 2.45 – 2.22 (m, 3H), 1.86 – 1.45 (m, 12H), 1.26 – 1.14 (m, 8H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.9, 47.3, 43.4, 39.4, 36.96, 32.8, 30.4, 30.08, 25.04, 21.7, 20.7, 13.9 ppm.



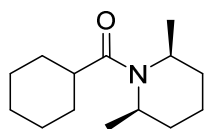
**18ay**

**2-Cyclohexyl-1-[octahydroquinolin-1(2H)-yl]ethan-1-one**

Purification by column chromatography (Pentane/AcOEt 60:40) afforded the desired product as a white solid (1.092 g, 82% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.74 (br, 1H), 3.34 (m, 1H), 3.12 (br, 1H), 2.23 – 2.17 (m, 1H), 2.13 – 2.04 (m, 2H), 1.82 – 1.38 (m, 14H), 1.31 – 0.89 (m, 9H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175.7, 47.2, 43.6, 42.9, 41.1, 30.9, 30.09, 29.5, 29.04, 26.4, 26.05, 25.8, 25.5, 22.5, 20.9, 14.02 ppm.



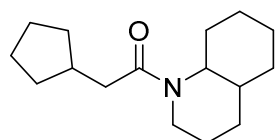
**18cx**

**Cyclohexyl(2,6-dimethylpiperidin-1-yl)methanone**

Purification by column chromatography (Pentane/EtO<sub>2</sub> 80:20) afforded the desired product as a white solid (0.497 mg, 73% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.78 (br, 1H), 4.12 (br, 1H), 2.43 (m, 1H), 2.04 – 1.1 (m, 22H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.9, 61.3, 41.4, 38.50, 35.4, 33.5, 33.4, 33.1, 31.1, 26.4, 26.39, 26.01, 25.5, 23.2 ppm.



**18by**

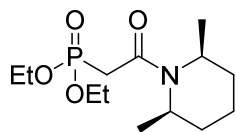
**2-Cyclopentyl-1-[octahydroquinolin-1(2H)-yl]ethan-1-one**

Purification by column chromatography (Pentane/AcOEt 60:40) afforded the desired product as a white solid (0.977 g, 78% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.71 (br, 1H), 3.34 – 3.31 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 3.16 – 3.11 (m, 1H), 2.39 – 2.32 (m, 1H), 2.29 – 2.22 (m, 2H), 2.08 – 2.05 (m, 1H), 1.86 – 1.01 (m, 20H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.2, 61.3, 39.9, 38.4, 37.09, 33.1, 32.7, 31.1, 26.4, 26.0, 25.56, 25.1, 23.2 ppm.

#### 5.1.1.1.2. Preparation of amide 25



#### Diethyl [2-[(2R,6S)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]-2-oxoethyl]phosphonate

##### 1<sup>st</sup> step

Ethyl (diethoxyphosphoryl)acetate (2.2 ml, 11.5 mmol) was added dropwise to 1 M NaOH (22.5 ml). After stirring for 3 h at room temperature, the medium was concentrated and treated with 2 N HCl (until pH 1). The aqueous layer was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The combined organic layers were washed with brine and dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated in vacuo to yield (diethoxyphosphoryl)acetic that was engaged in the next step without further purification. The resulting (diethoxyphosphoryl)acetic acid (2.00 g, 10.20 mmol) was added dropwise to thionyl chloride (3.20 ml, 43.63 mmol). After stirring for 4 h at room temperature, the excess thionyl chloride was evaporated to give 1.45 g of diethyl (2-chloro-2-oxoethyl)phosphonate (56%).

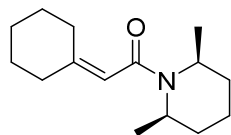
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.23 (m, 4 H), 3.50 (d, J = 21.2, 2 H), 1.38 (t, J = 7.1, 6 H) ppm.

##### 2<sup>nd</sup> step

A solution of the residue acyl chloride (1.3 g, 6 mmol) in DCM (20ml) was added dropwise to a stirring solution of amine (0.747 g, 6.6 mmol), Et<sub>3</sub>N (0.971 ml, 7.2 mmol) in DCM (30 ml) at 0-5 °C under nitrogen atmosphere. The resulting mixture was stirred overnight at room temperature. Then, the medium was concentrated in vacuo, quenched with water at 0 °C, washed sequentially by aqueous HCl (20 ml, 1.0 M), saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (20 ml) and brine (20 ml). The organic phase was dried over anhydrous MgSO<sub>4</sub> and

then evaporated under vacuum. The residue was purified by column chromatography to afford the desired compound **23** (0.5 g, 28%).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz)  $\delta$  4.79 (br, 1H), 4.27– 4.16 (m, 5H), 3.48 (d,  $J = 21.3$ , 1H), 2.97 (dd,  $J = 21.6$ , 10.5 Hz, 1H), 1.85 – 1.59 (m, 6H), 1.34 – 1.21 (m, 12H) ppm.



**25**

### **2-Cyclohexylidene-1-((2R,6S)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl)ethan-1-one**

To a solution of **23** (0.45 g, 1.5 mmol) in anhydrous THF (10 ml) was added a 60% dispersion of sodium hydride in mineral oil (0.126 g, 1.8 mmol) at 0 °C for 1 hour. Then cyclohexanone (0.238 ml, 2.3 mmol) was added to the reaction mixture dropwise. The mixture was allowed to stir overnight. The reaction was quenched with  $\text{H}_2\text{O}$  and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . The organic layer was collected, dried over anhydrous sodium sulfate, filtered and concentrated. Column chromatography purification afforded the parent compound **25** (0.091 g, 22% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.71 (s, 2H), 5.2 – 3.8 (br, 2H), 2.32 – 2.14 (m, 4H), 1.82 – 1.45 (m, 12H), 1.22 (d,  $J = 7.2$  Hz, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.3, 150.03, 116.4, 65.9, 42.2, 36.8, 30.8, 30.3, 28.4, 27.7, 27.1, 26.4, 25.1, 15.4, 14.2 ppm.

#### **5.1.1.1.3. Preparation of amides 20a, 20b**

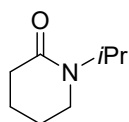
##### **1<sup>st</sup> protocol:**

Amide (50 mmol) was dissolved in DMSO (25 ml). KOH (3.7 g, 65 mmol) was added, followed by 2-iodopropane (6.55ml, 65mmol) and the mixture was stirred for 4 days. The

reaction was quenched by addition water and extracted with EtOAc twice. The combined extracts were washed with brine, dried, filtered and evaporated. The desired product was isolated by silica gel chromatography.

### **2<sup>nd</sup> protocol:**

To a solution of amide (50 mmol) was dissolved in DMF (30 ml) and NaH (2.22 g, 65 mmol) at 0 °C, (6.55 ml, 55mmol) of 2-iodopropane was added. The mixture was stirred for 4 days at room temperature. The work up has been done with the same manner in the 1<sup>st</sup> protocol.



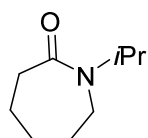
**20a**

### **1-Isopropylpiperidin-2-one**

Purification by column chromatography (20% EtOH in EtOAc) afforded the desired product as yellow oil (1<sup>st</sup> protocol: 0,335 g, 4% yield, 2<sup>nd</sup> protocol: 0.350 g, 5% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.93 – 4.90 (m, 1H), 3.16 – 3.13 (m, 2H), 2.39 – 2.36 (m, 2H), 1.78 – 1.73 (m, 4H), 1.09 (d, J = 6.8Hz, 6H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.3, 43.5, 40.3, 32.5, 23.3, 21.0, 19.1 ppm.



**20b**

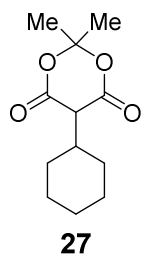
### **1-Isopropylazepan-2-one**

Purification by column chromatography (10% EtOH in AcOEt) afforded the desired product as yellow oil (1<sup>st</sup> protocol: 0,335 g, 4% yield, 2<sup>nd</sup> protocol: 0.425 g, 5% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.87 – 4.84 (m, 1H), 3.21 – 3.19 (m, 2H), 2.49 – 2.52 (m, 2H), 1.70 – 1.56(m, 6H), 1.05 (d,  $J = 6.8\text{Hz}$ , 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  175.2, 44.1, 42.0, 37.6, 30.04, 29.7, 23.5, 20.03 ppm.

#### 5.1.1.1.4. Preparation of amides **29**



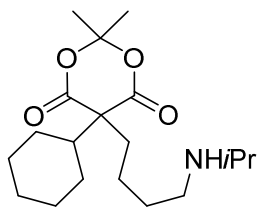
#### 5-Cyclohexyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-dione

To formic acid 8 ml was added dropwise trimethylamine 2 ml. Then, 4-methylbenzaldehyde (1.2 g, 10 mmol) and Meldrum's acid (1.4 g, 10 mmol) were added under ice-cooling, and the mixture was stirred at room temperature for 3 days. The reaction mixture was poured into a mixture of ice 10 ml and 10 ml hydrochloric acid (1 M), and the precipitate was collected by filtration. The title compound **27** was obtained as a white powder (3.47 g, 64% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.31 (d,  $J = 3.3\text{ Hz}$ , 1H), 2.43 – 2.34 (m, 1H), 1.8 – 1.76 (m, 2H), 1.73 (s, 6H), 1.34 – 1.14 (m, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.4, 104.9, 51.6, 39.8, 29.6, 28.4, 27.9, 26.7, 25.7 ppm.





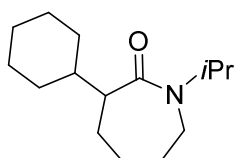
**28**

### 5-Cyclohexyl-5-[4-(isopropylamino)butyl]-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-dione

To a stirred solution of **28** (0.452 g, 2 mmol) in DMF (5 ml), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.651 g, 2 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.276 g, 2 mmol) was added and the solution stirred during 30 min. 1,4-Diiodobutane (1.239 g, 2 mmol) was subsequently added and the reaction stirred at room temperature for 4 days. The reaction was quenched with H<sub>2</sub>O (50 ml), and the aqueous phase extracted with ethyl acetate (3 × 15 ml). The combined organic phases were dried and concentrated in vacuo. The residue was dissolved in CH<sub>3</sub>CN, and treated with isopropylamine (0.685 ml, 8 mmol) for 12 hours to give the desired compound **28** (0.278 g, 41% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.41 (br, 2H), δ 3.58 – 3.52 (m, 1H), 3.00 – 2.98 (m, 2H), 2.08 – 2.02 (m, 4H), 1.98 – 1.92 (m, 1), 1.82 – 1.77 (m, 3H), 1.72 (d, J = 4.8, 6H), 1.66 – 1.62 (m, 2H), 1.55 (d, J = 6.7 Hz, 6H) 1.4 – 1.32 (m, 2H), 1.28 – 1.04 (m, 5H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 176.2, 59.5, 44.1, 40.6, 38.4, 32.1, 29.6, 29.1, 27.6, 26.8, 26.7, 26.6, 25.8, 20.3, 20.2 ppm.



**30**

### 3-Cyclohexyl-1-isopropylazepan-2-one

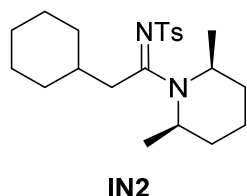
The solution of **28** (0.169 g, 0.5 mmol) in 2.5 ml of DMF was placed in an ampoule. The ampoule was heated in Microwave at 230 °C. The thermolysis was continued for 25 min. After cooling the ampoule to room temperature, the residue was dissolved in H<sub>2</sub>O (25 ml) extracted by AcOEt (3 x 15ml), the organic layer was washed with brine dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated to afford the titled compound **30** as white solid (0.075 g, 62% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.96 – 4.89 (m, 1H), 3.23 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 2.30 – 2.25 (m, 1H), 1.92 – 1.60 (m, 8H), 1.56 – 1.23 (m, 5H), 1.17 – 1.17 (m, 1H), 1.07 (d, J = 6.8Hz, 3H), 1.05 (d, J = 6.8Hz, 3H), 0.98 – 0.87 (m, 1H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 168.7, 106.03, 59.09, 51.4, 48.5, 44.06, 33.05, 31.8, 31.06, 28.8, 26.7, 25.9, 25.8, 23.8, 21.2, 19.7 ppm.

#### 5.1.1.2. Preparation of sulfonylamidines **IN2**, **IN13**, **IN11**, **IN12**, **IN18**, **IN7**, **IN8**, **IN9**, **IN10**, **IN14**, **IN15**

p-Tolylsulfonyl isocyanate (1.0 eq) was slowly added dropwise to a solution of the amide (1.0 eq) in tetrahydrofuran at 0 °C. The mixture was warmed to room temperature, stirred for 18 h. Evaporation of the organic solvent and purification by silica gel column chromatography gave the desired product **IN**.



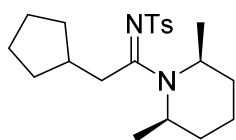
***N*-[(*E*)-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/AcOEt 80:20) afforded the desired product as a white solid (1.118 g, 40% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.83 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.25 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 4.90 (m, 1H), 4.25 (m, 1H), 3.45 – 3.40 (dd,  $J$  = 14.7, 6.4 Hz, 1H), 2.49 – 2.43 (dd,  $J$  = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.89 – 1.51 (m, 12H), 1.31 – 1.11 (m, 11H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.6, 142.3, 141.2, 128.9, 125.9, 48.9, 47.3, 38.001, 37.1, 33.4, 32.6, 30.4, 30.01, 26.5, 26.4, 26.1, 21.8, 21.4, 19.7, 13.6.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 390.2341, found 413.2231 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .



IN11

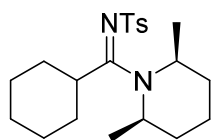
***N*-((*E*)-2-cyclopentyl-1-((2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl)ethylidene)-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/EtO<sub>2</sub> 50:50) afforded the desired product as a white solid (2.225 g, 60% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.83 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.25 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 4.87 (br, 1H), 4.29 (br, 1H), 3.60 – 3.55 (dd,  $J$  = 13.9, 6.7 Hz, 1H), 2.61 – 2.56 (m, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.33 – 2.25 (m, 1H), 1.94 – 1.14 (m, 20H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.2, 142.3, 141.2, 128.9, 125.9, 48.8, 47.3, 39.8, 34.9, 32.5, 32.3, 30.4, 29.9, 24.8, 24.3, 21.8, 21.4, 19.7, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 376.2223, found 377.2257 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



**IN12**

***N*-[Cyclohexyl[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]methylene]-4-methylbenzenesulfonamide**

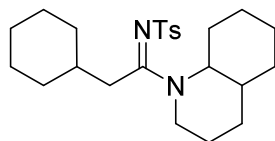
Purification by column chromatography (Pentane/EtO<sub>2</sub> 50:50) afforded the desired product as a white solid (0.225 g, 60% yield).

*E* isomer: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.82 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.25 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.79 (br, 1H), 4.69 (br, 1H), 3.83 (br, 1H), 2.40 (s, 3H), 2.33 – 1.14 (m, 22H) ppm.

*Z* isomer: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.94 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.79 (br, 1H), 4.69 (br, 1H), 3.83 (br, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.33 – 1.14 (m, 22H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 157.8, 143.7, 139.2, 129.8, 129.1, 126.6, 126.09, 49.07, 47.2, 43.5, 41.08, 30.9, 30.2, 30.07, 29.5, 28.9, 28.8, 26.4, 26.03, 22.5, 21.6, 21.5, 20.9, 14.1, 14.002 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 376.2225, found 377.2257 (M + H)<sup>+</sup>.



**IN13**

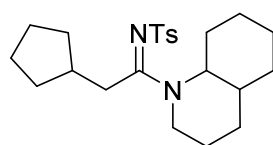
***(E)*-N-[2-Cyclohexyl-1-[octahydroquinolin-1(2*H*)-yl]ethynylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/EtO<sub>2</sub> 50:50) afforded the desired product as a white solid (0.125 g, 30% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 3.68 – 3.54 (m, 2H), 3.26 – 3.23 (br, 1H), 3.04-2.99 (br, 1H), 2.77 – 2.74 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.09 – 2.06 (m, 1H), 1.82 – 1.56 (m, 13H), 1.27 – 1.01 (m, 10H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.5, 142.1, 141.1, 128.7, 125.8, 63.2, 40.01, 38.2, 37.8, 37.28, 33.01, 32.6, 32.5, 30.7, 29.3, 26.2, 26.01, 25.9, 25.1, 24.8, 22.8, 21.2 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 416.2496, found, 417.2570 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



**IN18**

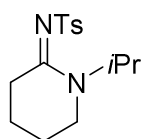
**(*E*)-*N*-[2-Cyclopentyl-1-[octahydroquinolin-1(2H)-yl]ethylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{EtO}_2$  50:50) afforded the desired product as a white solid (0.724 g, 90% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 3.70 – 3.54 (m, 2H), 3.26 – 3.14 (m, 2H), 2.88 (br, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.24 – 2.05 (m, 2H), 1.82 – 1.51 (m, 13H), 1.38 – 1.03 (m, 7H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.3, 142.4, 141.3, 128.9, 126.04, 63.3, 40.1, 39.3, 38.4, 35.9, 32.8, 32.4, 29.7, 26.2, 25.4, 25.1, 24.8, 24.7, 23.05, 21.5 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 402.2303, found 425.22 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .



**IN7**

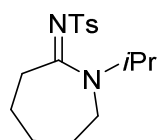
### **(E)-N-[1-Isopropylpiperidin-2-ylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/EtO<sub>2</sub> 55:45) afforded the desired product as a white solid (0.932 g, 79% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.81 (d, J = 7.9, 2H), 7.24 (d, J = 7.9, 2H), 5.05 – 5.01 (m, 1H), 3.22 – 3.20 (m, 2H), 3.10 – 3.07 (m, 2H), 2.39 (s, 3H), 1.74 – 1.58 (m, 4H), 1.1 (d, J = 6.8 Hz, 6H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.3, 141.6, 141.5, 129.05, 126.1, 47.3, 41.1, 28.9, 22.2, 21.44, 19.2, 18.7 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 294.1422, found 317.1294 (M + Na)<sup>+</sup>.



**IN9**

### **(E)-N-[1-Isopropylazepan-2-ylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/AcOEt 70:30) afforded the desired product as a white solid (0.756 g, 81% yield).

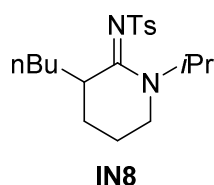
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.81 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 5.09 – 5.06 (m, 1H), 3.36 – 3.33 (m, 2H), 3.11 – 3.08 (m, 2H), 2.40 (s, 3H), 1.69 – 1.56 (m, 6H), 1.1 (d, J = 6.8 Hz, 6H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.6, 141.8, 141.5, 129.08, 126.2, 47.4, 43.01, 31.9, 29.1, 28.4, 23.09, 21.4, 19.5 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 308.1431, found, 309.1631 (M + H)<sup>+</sup>.

#### **5.1.1.3. Preparation of IN8, IN10**

To a solution of lithium diisopropylamide in THF (6 ml) at  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , (0.5 mmol) of amidine in THF (1 ml) was added dropwise. The mixture was stirred at  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 30mn and the electrophile (1mmol) was added. The resulting solution gets  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  and has been stirred for 2 hours until the complete consumption of the starting material. Water was added to the reaction at  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  and the resulting slurry warmed to room temperature. The solution was extracted with  $\text{EtO}_2$  3 times and the combined extracts were washed with brine and dried with  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ . The desired product obtained by chromatography.



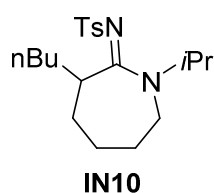
**(E)-N-[3-Butyl-1-isopropylpiperidin-2-ylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/AcOEt 50:50) afforded the desired product as a white solid (0.097 g, 57% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 4.99 – 4.92 (m, 1H), 3.72 – 3.69 (m, 1H), 3.23 – 3.20 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.01 – 1.85 (m, 2H), 1.75 – 1.65 (m, 3H), 1.50 – 1.25 (m, 5H), 1.09 – 1.05 (dd,  $J = 7.9, 6.9$ Hz, 6H), 0.91 – 0.88 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.3, 142.4, 141.2, 128.9, 125.9, 47.5, 40.4, 37.4, 32.57, 29.2, 22.5, 22.2, 21.4, 19.2, 18.9, 18.5, 14.04 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 350.2025, found 373.1920 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .



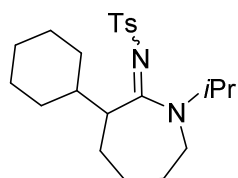
### **(E)-N-(3-Butyl-1-isopropylazepan-2-ylidene)-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/EtOAc 50:50) afforded the desired product as a white solid (0,04 g, 21% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.80 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 5.09 – 5.02 (m, 1H), 4.08 – 4.06 (m, 1H), 3.33 – 3.3 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 1.81 – 1.61 (m, 7H), 1.42 – 1.02 (m, 11H), 0.90 – 0.85 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.36, 142.31, 141.38, 129.01, 126.13, 48.67, 42.36, 41.92, 29.41, 28.58, 28.31, 26.30, 22.89, 22, 79, 21.41, 19.30, 13.97 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 364.2226, found 387.2077 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .



**IN15**

### **N-(3-Cyclohexyl-1-isopropylazepan-2-ylidene)-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/EtOAc 50:50) afforded the desired product as a white solid (0,045 g, 27% yield).

**E isomer:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.79 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 5.13 – 5.01(m, 1H), 3.85 – 3.81(m, 1H), 3.37 – 3.25 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 1.81 – 0.81 (m, 23H) ppm.

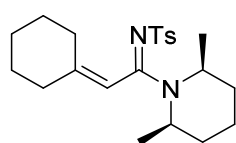
**Z isomer:**  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.92 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.31 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 5.13 – 5.01(m, 1H), 3.85 – 3.81(m, 12H), 3.37 – 3.25 (m, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.81 – 0.81 (m, 23H) ppm.



$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.6, 142.3, 141.4, 129.6, 129.1, 128.5, 126.3, 48.6, 48.05, 44.2, 42.04, 35.5, 34.8, 32.9, 31.25, 30.04, 29.6, 28.6, 26.8, 26.5, 26.1, 26.01, 24.7, 22.9, 21.8, 21.5, 19.5, 19.3 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 390.23, found 413.2233 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .

#### 5.1.1.4. Preparation of IN14



IN14

#### *N*-[(*E*)-2-Cyclohexylidene-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-4-methylbenzenesulfonamide

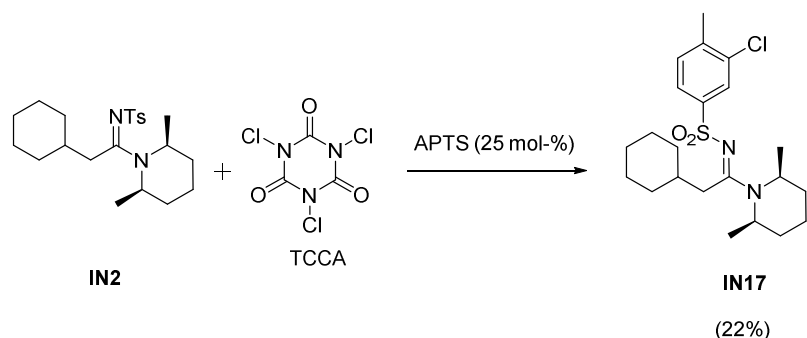
Purification by column chromatography (Pentane/EtOAc 80:20) afforded the desired product as a white solid (0.082 g, 60% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.8 (d,  $J = 8.3$ , 2H), 7.3 (d,  $J = 8.0$ , 2H), 5.71 (s, 2H), 5.2 (br, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.31 – 2.27 (m, 2H), 2.16 – 2.14 (m, 2H), 1.82 – 1.45 (m, 12H), 1.21 (d,  $J = 7.2$  Hz, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.3, 150.03, 143.6, 139.3, 129.8, 126.5, 116.4, 36.8, 31.0, 30.8, 30.3, 28.3, 27.7, 26.4, 21.6, 21.3, 14.4 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 388.2225, found 389.2257 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .

#### 5.1.1.5. Preparation of IN17



Sulfonamidine IN2 (0.1 g, 0.25 mmol), TCCA (0.041 g, 0.17 mmol) and APTS (0.011 g, 0.06 mmol) were introduced into a mortar. The admixture was subsequently milled at an appropriate frequency for 8 hours at room temperature. The solid residue was purified by column chromatographic to afford 0.024 g (22%) of IN17.

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.91 (d,  $J = 1.9$  Hz, 1H), 7.69 (dd,  $J = 6.0, 2.0$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 4.86 (m, 1H), 4.23 (m, 1H), 3.42 (dd,  $J = 14.7, 6.4$  Hz, 1H), 2.46 (dd,  $J = 13.9, 8.3$  Hz, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.86 – 1.51 (m, 12H), 1.31 – 0.87 (m, 11H) ppm.

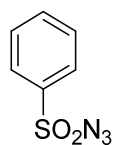
$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.7, 144.1, 139.2, 134.2, 130.8, 126.7, 124.08, 49.09, 47.5, 38.04, 37.2, 33.4, 32.6, 30.4, 29.9, 26.5, 26.4, 26.1, 21.8, 20.09, 19.8, 13.5 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 424.20, found 425.2235 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .

### 5.1.2. 2<sup>nd</sup> Method: multicomponent reaction

#### 5.1.2.1. Preparation of azides

To a solution of sulfonyl chloride (1 eq) in acetone (2 ml/1 mmol) and water (2 ml/1 mmol) at 0 °C,  $\text{NaN}_3$  (1 eq) was added. The reaction was stirred for 2 hours. Then acetone was removed under vacuum and the remaining water layer was extracted with EtOAc, the EtOAc layer was washed with brine, dried on  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated. The sulfonyl azide was obtained for future use without purification.



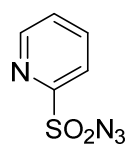
**32a**

### Benzenesulfonyl azide

The compound was obtained as white solid (0.692 g, 94% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.98 – 7.95 (m, 2H), 7.76 – 7.71 (m, 2H), 7.65 – 7.60 (m, 2H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  138.70, 134.92, 129.83, 127.63 ppm.



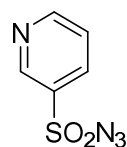
**32b**

### Pyridine-3-sulfonyl azide

The compound was obtained as white solid (0.274 g, 55%).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.78 (d,  $J$  = 4.7 Hz, 1H), 8.03 – 7.98 (m, 2H), 7.65 – 7.61 (m, 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.16, 150.74, 138.69, 128.4, 122.14 ppm.



**32c**

### Pyridine-2-sulfonyl azide

The compound was obtained as a white solid (0.474 g, 83% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.17 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 8.95 (d,  $J$  = 3.7 Hz, 1H), 8.22 – 8.25 (dt,  $J$  = 8.1, 1.8 Hz, 1H), 7.59 – 7.55 (dd,  $J$  = 8.2, 4.2 Hz, 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  155.28, 148.28, 135.66, 135.22, 124.31 ppm.



**32d**

**Methanesulfonyl azide**

The compound was obtained as white solid (0.220 g, 48% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  3.26 (s, 3H) ppm.



**32e**

**Propane-2-sulfonyl azide**

The compound was obtained as white solid (0.06 g, 10% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.49 – 3.46 (m, 1H), 1.50 (d,  $J = 6.8$  Hz, 2H) ppm.



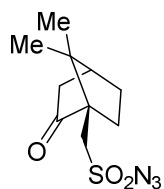
**32f**

***N,N*-Dimethylsulfonyl azide**

The compound was obtained as white solid (1 g, 66% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.94 (s, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  38.86 ppm.



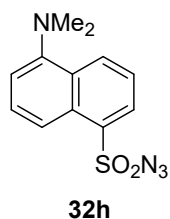
**32g**

**[(1*R*)-7,7-Dimethyl-2-oxobicyclo[2.2.1]heptan-1-yl]methanesulfonyl azide**

The compound was obtained as white solid (0.278 g, 50% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.81 (d,  $J = 14.9$  Hz, 1H), 3.21 (d,  $J = 14.9$  Hz, 1H), 2.44 – 2.31 (m, 2H), 2.17 – 2.15 (t,  $J = 4.4$  Hz, 1H), 2.12 – 2.03 (m, 1H), 1.98 (d,  $J = 18.96$  Hz, 1H), 1.83 – 1.76 (m, 1H), 1.52 – 1.48 (m, 1H), 1.08 (s, 3H), 0.89 (s, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  214.174, 58.65, 53.63, 48.61, 42.91, 42.63, 27.11, 25.15, 19.85, 19.77 ppm.

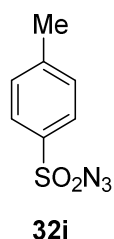


#### 5-(Dimethylamino)naphthalene-1-sulfonyl azide

The compound was obtained as white solid (0.488 g, 88% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.66 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 8.34 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 8.21 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.65 – 7.56 (m,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.24 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 2.91 (s, 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  152.24, 133.86, 132.79, 130.24, 130.20, 129.78, 129.37, 123.09, 118.95, 115.99, 45.56 ppm.

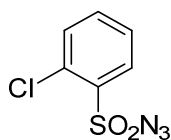


#### 4-Methylbenzenesulfonyl azide

The compound was obtained as colorless oil (1.77 g, 90% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.84 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H), 7.4 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 2.84 (s, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.3, 135.4, 130.3, 127.4, 21.7 ppm.



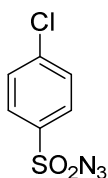
**32j**

### 2-Chlorobenzenesulfonyl azide

The compound was obtained as yellow oil (0.692 g, 94% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.12 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.61 (d,  $J = 3.4$  Hz, 2H), 7.51 – 7.46 (m, 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  136.8, 135.52, 132.98, 132.42, 131.63, 127.52 ppm.



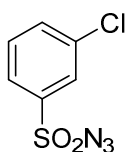
**32k**

### 4-Chlorobenzenesulfonyl azide

The compound was obtained as yellow oil (0.352 g, 80% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.9 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.6 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  141.86, 137.05, 130.21, 129.07 ppm.



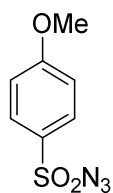
**32l**

### 3-Chlorobenzenesulfonyl azide

The compound was obtained as yellow oil (0.380 g, 87% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.95 (s, 1H), 7.85 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 7.7 (d,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.57 (t,  $J = 7.9$  Hz, 1H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  140.18, 136.18, 135.08, 130.1, 127.65, 125.68 ppm.



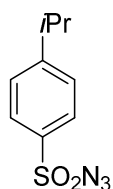
**32m**

#### 4-Methoxybenzenesulfonyl azide

The compound was obtained as yellow oil (0.550 g, 85% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.9 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 7.05 (d,  $J = 9.1$  Hz, 2H), 3.91 (s, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.75, 130.04, 129.97, 114.95, 56.008 ppm.



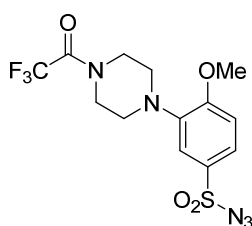
**32n**

#### 4-Isopropylbenzenesulfonyl azide

The compound was obtained as colorless oil (0.652 g, 97% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  7.87 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.45 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 3.04 – 3.01 (m, 1H), 1.29 (d,  $J = 6.9$  Hz, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  156.90, 135.96, 127.93, 127.86, 34.56, 23.69 ppm.



**37**

#### 4-Methoxy-3-[4-(2,2,2-trifluoroacetyl)piperazin-1-yl]benzenesulfonyl azide

The compound was obtained as yellow oil (0.85 g, 83% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  7.68 (dd,  $J = 8.7, 2.4$  Hz, 1H), 7.38 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 3.99 (br, 7H), 3.2 (t,  $J = 5.0$  Hz, 4H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  159.58, 157.45, 141.51, 130.46, 124.19, 117.47, 111.46, 93.01, 56.40, 50.07 ppm.

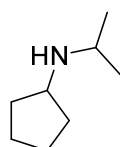
### 5.1.2.2. Preparation of amines

#### Procedure A

Over a solution of the ketone (1 eq) in dry THF (0.33 M) and 3 Å molecular sieves under a  $\text{N}_2$  atmosphere, acetic acid (2 eq), the corresponding amine (2 eq) and sodium triacetoxyborohydride (1.4 eq) were successively added. The resulting suspension was then stirred for 15 h at 20°C. The mixture was afterwards quenched with NaOH 1M (5 ml/1 mmol) and extracted with EtOAc. The organic layers were combined, dried over anhydrous  $\text{MgSO}_4$  and the solvent evaporated under reduced pressure.

#### Procedure B

To a stirred solution of the ketone (1.0 eq) and the amine (1.0 eq) in DCM (0.33 M) were added sodium triacetoxyborohydride (1.4 eq) and AcOH (1.0 eq). Upon reaction completion (24-48 h) 1 N aqueous NaOH was added and the mixture was extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$ . The combined organic layers were dried upon  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentrated in vacuo.



**34a**

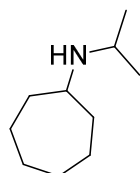
#### *N*-Isopropylcyclopentanamine



Following the procedure **A**, we obtained the desired compound as brown oil isolated (0.13 g, 10% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.5 – 3.45 (m, 1H), 3.33 – 3.29 (m, 1H), 2.1 – 1.42 (m, 14H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  56.09, 48.36, 30.33, 23.96, 20.14 ppm.



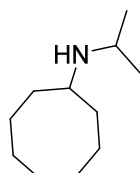
**34b**

### ***N*-Isopropylcycloheptanamine**

Following the procedure **B**, we obtained the desired compound as yellow oil isolated (0.626 g, 67% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.91 – 2.82 (m, 1H), 2.73 – 2.64 (m, 1H), 1.83 – 1.25 (m, 13H), 1.01 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  55.76, 45.31, 35.54, 28.38, 24.66, 23.59 ppm.



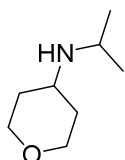
**34c**

### ***N*-Isopropylcyclooctanamine**

Following the procedure **B**, we obtained the desired compound as colorless oil (0.466 g, 45% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.95 – 2.86 (m, 1H), 2.77 (br, 1H), 1.78 – 1.42 (m, 14H), 1.05 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  54.32, 45.22, 33.2, 27.5, 26.06, 24.35, 23.53 ppm.



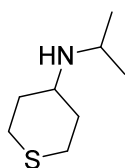
**34e**

#### ***N*-Isopropyltetrahydro-2*H*-pyran-4-amine**

Following the procedure **A**, we obtained the desired compound as colorless oil (0.337 g, 78% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.94 (ddd,  $J = 12.0, 4.3, 2.5$  Hz, 2H), 3.37 (td,  $J = 11.8, 2.2$  Hz, 2H), 3.01 (m, 1H), 2.75 (tt,  $J = 10.8, 4.1$  Hz, 1H), 1.8 (ddd,  $J = 12.9, 4.2, 2.2$  Hz, 2H), 1.66 – 1.22 (m, 4H), 1.05 (d,  $J = 6.2$  Hz, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  67.22, 50.92, 44.43, 34.4, 23.4 ppm.



**34f**

#### ***N*-Isopropyltetrahydro-2*H*-thiopyran-4-amine**

Following the procedure **A**, we obtained the desired compound as colorless oil (0.445 g, 93% yield).

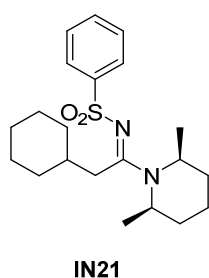
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.97 (m, 1H), 2.65 (dd,  $J = 7.5, 3.5$  Hz, 4H), 2.50 (tt,  $J = 10.3, 3.5$  Hz, 1H), 2.19 – 2.11 (m, 2H), 1.51 – 1.38 (m, 3H), 1.03 (d,  $J = 6.3$  Hz, 6H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  52.8, 44.6, 35.3, 27.9, 23.5 ppm.

#### **5.1.2.3. Preparation of IN19, IN21-IN51**

To a stirred mixture of alkyne (0.5 mmol, 1.0 eq), azide (0.6 mmol, 1.2 eq), and CuI (0.05 mmol, 10 mol %) in THF (1 ml) was slowly added amine nucleophile (0.6 mmol, 1.2 eq)

at room temperature under an N<sub>2</sub> atmosphere. After the reaction was completed, which was monitored with TLC, the reaction mixture was diluted by adding CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml) and aqueous NH<sub>4</sub>Cl solution (3 ml). The mixture was stirred for an additional 30 min and two layers were separated. After the aqueous layer was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 ml × 3), the combined organic layers were dried over Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated in vacuo. The crude residue was purified by flash column chromatograph with an appropriate eluting solvent system.



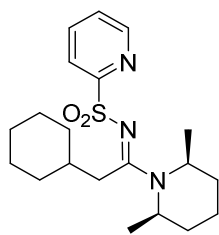
***N*-[*(E)*-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]benzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 80:20) afforded the desired product as a white solid (0.163 g, 86% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.94 – 7.91 (m, 2H), 7.45 – 7.40 (m, 2H), 4.90 – 4.86 (m, 1H), 4.24 – 4.21 (m, 1H), 3.43 – 3.38 (dd, *J* = 14.7, 6.4 Hz, 1H), 2.47 – 2.41 (dd, *J* = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 1.87 – 1.48(m, 12H), 1.29 – 1.07 (m, 11H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.8, 145.25, 131.07, 128.4, 126.04, 49.1, 47.5, 38.1, 37.3, 33.5, 32.7, 30.5, 30.1, 26.6, 26.5, 26.2, 21.9, 19.9, 13.7 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 376.2096, found 399.2077 (M + Na)<sup>+</sup>.



IN22

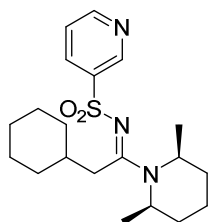
***N*-[(*E*)-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]pyridine-2-sulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 65:45) afforded the desired product as a white solid (0.09 g, 47% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.63 (dd, *J* = 4.8, 0.9 Hz, 1H), 8.04 (dt, *J* = 7.9, 1Hz, 1H), 7.82 (td, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.35 (ddd, *J* = 7.7, 4.8, 1.1 Hz, 1H), 4.90 – 4.86 (m, 1H), 4.24 – 4.21 (m, 1H), 3.53 (dd, *J* = 13.7, 6.3 Hz, 1H), 2.46 (dd, *J* = 13.7, 8.3 Hz, 1H), 1.91 – 1.46 (m, 12H), 1.29 – 0.98 (m, 11H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 168.3, 161.1, 149.34, 137.5, 125.3, 120.6, 49.3, 47.6, 38.5, 37.5, 33.4, 32.8, 30.6, 30.1, 26.1, 26.5, 26.2, 21.8, 19.7, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S: 377.2207, found 378.2207 (M + H)<sup>+</sup>.



IN23

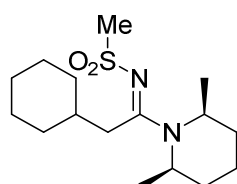
***N*-[(*E*)-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]pyridine-3-sulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 50:0) afforded the desired product as a white solid (0.163 g, 86%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.15 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 2H), 8.2 (dt, J = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 8.1, 4.9 Hz, 1H), 4.85 (br, 1H), 4.24 (br, 1H), 3.41 (dd, J = 13.8, 6.3 Hz, 1H), 2.47 – 2.41 (dd, J = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 1.93 – 1.07 (m, 23H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.1, 151.6, 147.4, 141.4, 133.5, 123.2, 49.3, 47.8, 38.1, 37.7, 33.5, 32.7, 30.5, 30.1, 26.6, 26.5, 26.1, 21.9, 19.9, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S: 377.2210, found 378.2210 (M + H)<sup>+</sup>.



**IN25**

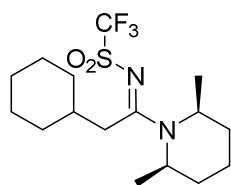
***N*-[(*E*)-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]methanesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 80:20) afforded the desired product as a white solid (0.178 g, 60% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.88 – 4.84 (m, 1H), 4.22 – 4.17 (m, 1H), 3.43 – 3.38 (dd, J = 13.9, 6.4 Hz, 1H), 2.98 (s, 3H), 2.47 – 2.41 (dd, J = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 1.87 – 1.48 (m, 12H), 1.29 – 1.07 (m, 11H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.5, 48.7, 47.1, 44.04, 37.8, 37.2, 33.3, 32.6, 30.4, 30.1, 26.47, 26.4, 26.1, 21.7, 19.4, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 314.2071, found 315.2101 (M + H)<sup>+</sup>.



IN26

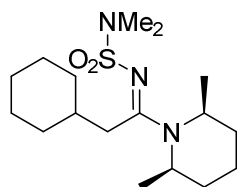
***N*-[(*E*)-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-1,1,1-trifluoromethanesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 65:35) afforded the desired product as a brown solid (0.018 g, 5% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.5 – 4.97 (br, 1H), 4.3 – 4.25 (br, 1H), 3.22 (dd, *J* = 13.8, 6.2 Hz, 1H), 2.74 (s, 6H), 2.47 (dd, *J* = 13.8, 8.5 Hz, 1H), 2.04 – 1.04 (m, 23H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.01, 120.9, 50.1, 48.8, 38.5, 38.4, 33.4, 32.7, 30.5, 29.9, 26.3, 26.3, 26.03, 21.8, 19.9, 13.3 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 390.1614, found 391.1638 (M + H)<sup>+</sup>.



IN27

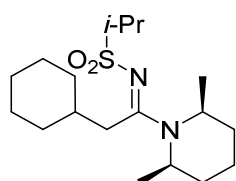
***N*-[(*E*)-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]dimethyl-1-sulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 50:50) afforded the desired product as a white solid (0.045 g, 26% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.93 (br, 1H), 4.20 (br, 1H), 3.28 – 3.22 (dd,  $J = 14.7, 6.4$  Hz, 1H), 2.74 (s, 6H), 2.42 – 2.37 (dd,  $J = 13.9, 8.3$  Hz, 1H), 1.81 – 1.1 (m, 13H), 1.29 – 1.09 (m, 10H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.5, 48.9, 46.8, 39.3, 37.8, 37.08, 33.4, 32.8, 30.5, 30.1, 26.6, 26.5, 26.1, 21.8, 19.6, 13.7 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ : 342.2411, found 343.2411 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



IN28

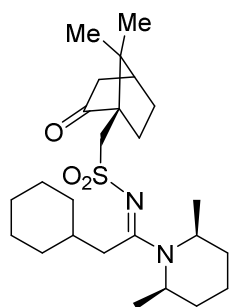
***N*-[*(E)*-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]propane-2-sulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  50:50) afforded the desired product as a white solid (0.077 g, 64% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.90 – 4.86 (m, 1H), 4.22 – 4.19 (m, 1H), 3.43 – 3.38 (dd,  $J = 13.8, 6.4$  Hz, 1H), 3.11 (m, 3H), 2.47 – 2.41 (dd,  $J = 13.8, 8.3$  Hz, 1H), 1.89 – 1.5 (m, 12H), 1.29 – 1.07 (m, 11H), 1.37 (d,  $J = 6.8$  Hz, 6H), 1.28 – 1.03 (m, 11H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.3, 54.9, 48.8, 47.1, 38.001, 37.6, 33.5, 32.8, 30.6, 30.2, 26.6, 26.5, 26.2, 21.8, 19.8, 17.3, 16.9, 13.7 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 365.2166, found 366.2186 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



IN29

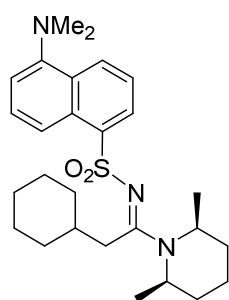
***N*-[*(E)*-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-1-[(1*R*)-7,7-dimethyl-2-oxobicyclo[2.2.1]heptan-1-yl]methanesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as a white solid (0.11 g, 48% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.9 (br, 1H), 4.2 (br, 1H), 3.65(t, *J* = 15.6, 1H), 3.343 – 3.22 (m, 1H), 2.98 (t, 1H), 2.78 – 2.68 (m, 1H), 2.49 – 2.31 (m, 2H), 2.08 – 1.07 (m, 31H), 0.865 (s, 3H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 215.8, 166.6, 58.6, 51.6, 48.9, 48.1, 47.2, 42.9, 42.6, 37.9, 37.4, 37.2, 33.5, 32.7, 30.6, 30.2, 27.1, 26.6, 26.1, 24.4, 21.8, 20.2, 19.9, 19.7, 16.9, 13.7 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>25</sub>H<sub>42</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: 450.2973, found 451.2989 (M + H)<sup>+</sup>.



IN30

***N*-[*(E)*-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-5-[dimethylamino]naphthalene-1-sulfonamide**

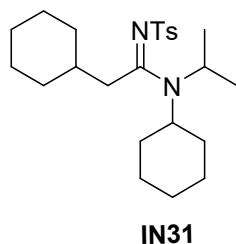


Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as a white solid (0.488 g, 88% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.52 (d, J = 8.7Hz, 1H), 8.43 (d, J = 8.5Hz, 1H), 8.28 (dd, J = 7.3, 1.2Hz), 7.47 (dd, J = 16.3, 7.5, 2H), 7.11 (d, J = 7.5Hz, 1H), 4.85 – 4.82 (m, 1H), 4.22 – 4.20 (m, 1H), 3.4 (dd, J = 13.8, 6.2 Hz, 1H), 2.47 – 2.86 (s, 6H), 2.49 (dd, J = 13.6, 8.4 Hz, 1H), 1.83 – 1.44 (m, 12H), 1.25 – 0.95 (m, 11H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.6, 151.2, 140.4, 130.1, 129.9, 128.7, 126.9, 126.3, 123.3, 121.4, 49.1, 47.4, 45.5, 38.01, 37.3, 33.4, 32.7, 30.5, 30.08, 26.6, 26.5, 26.1, 21.9, 20.1, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>27</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S: 469.2820, found 470.2836 (M + H)<sup>+</sup>.



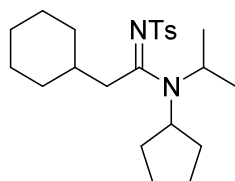
### ***N*,2-Dicyclohexyl-*N*-isopropyl-*N'*-tosylacetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as a white solid (0.169 g, 80% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a 1:1 ratio).

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.8 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.78 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 4.14 – 4.09 (m, 1H), 3.61 – 3.49 (m, 1H), 2.91 – 2.89 (m, 4H), 2.44 – 2.38 (m, 8H), 1.87 – 0.74 (m, 54H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.08, 142.16, 142.13, 141.3, 59.6, 57.6, 50.4, 49.3, 49.3, 39.1, 39.01, 37.5, 37.3, 32.8, 32.7, 31.4, 29.1, 26.67, 26.62, 26.6, 26.1, 25.9, 25.2, 21.5, 20.8, 20.2 ppm.

HR-MS calculated for  $C_{24}H_{38}N_2O_2S$ : 418.2728, found 441.2546 ( $M + Na$ )<sup>+</sup>.



**IN32**

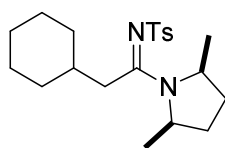
### **2-Cyclohexyl-*N*-cyclopentyl-*N*-isopropyl-*N'*-tosylacetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as a white solid (0.064 g, 31% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:2).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.8 – 7.74 (m, 2H), 7.24 – 7.2 (m, 2H), 4.19 – 4.08 (m, 1H), 3.59 – 3.32 (m, 1H), 2.93 (d, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.21 – 1.19 (m, 25H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.5, 142.1, 141.989, 141.989, 141.4, 141.3, 129.06, 128.9, 126.1, 60.6, 56.8, 50.1, 49.5, 39.1, 38.8, 37.4, 37.3, 32.8, 32.7, 29.4, 29.1, 26.6, 26.1, 25.7, 24.3, 21.5, 21.2, 20.3 ppm.

HR-MS calculated for  $C_{23}H_{36}N_2O_2S$ : 404.2569, found 427.2369 ( $M + Na$ )<sup>+</sup>.



**IN33**

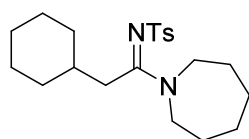
### ***N*-[2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,5*S*)-2,5-dimethylpyrrolidin-1-yl]ethylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 60:40) afforded the desired product as a white solid (0.034 g, 18% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.8 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.21 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 4.2 – 4.13 (m, 2H), 3.27 (dd,  $J$  = 13.4, 5.4 Hz, 1H), 2.4 – 2.43 (m, 14H), 2.15 – 2.08 (m, 2H), 1.91 – 1.58 (m, 2H), 1.73 – 1.63 (m, 6H), 1.42 – 0.96 (m, 11H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.8, 142.2, 141.3, 129.02, 126.08, 55.8, 55.7, 39.1, 37.8, 33.9, 32.7, 31.4, 30.9, 26.49, 26.42, 26.3, 21.8, 21.7, 21.5 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 376.2236, found 377.2257 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



**IN34**

#### ***N*-[1-(Azepan-1-yl)-2-cyclohexylethylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  40:60) afforded the desired product as a white solid (0.049 g, 24% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:2).

##### Isomer E

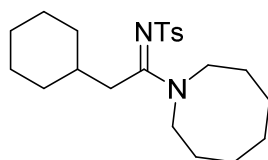
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.79 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.21 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 3.60 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 3.53 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 2H), 2.88 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 1.96 – 1.05 (m, 19H) ppm.

##### Isomer Z

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.39 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 3.60 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 3.53 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 2H), 2.88 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 2.42 (s, 3H), 1.96 – 1.05 (m, 19H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.1, 142.5, 141.5, 129.9, 129.1, 126.7, 126.1, 50.2, 50.03, 37.7, 37.4, 33.3, 29.5, 27.2, 26.5, 26.2, 26.1, 21.6 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 376.2247, found 377.2257 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



**IN35**

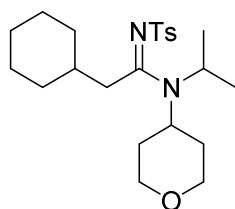
***N*-[1-(Azocan-1-yl)-2-cyclohexylethylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 60:40) afforded the desired product as a white solid (0.056 g, 28% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.21 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 3.52 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.46 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.9 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 1.91 – 1.55 (m, 12H), 1.46 – 1.22 (m, 9H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.8, 142.3, 141.4, 129.04, 126.07, 51.3, 50.01, 37.7, 37.6, 33.2, 26.96, 26.92, 26.5, 26.1, 25.9, 25.7, 23.7, 21.5 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 390.2438, found 391.2414 (M + H)<sup>+</sup>.



**IN36**

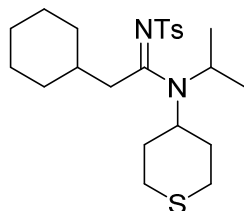
**2-Cyclohexyl-*N*-isopropyl-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-*N'*-tosylacetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 60:40) afforded the desired product as a white solid (0.128 g, 60% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:1).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.70 (dd, J = 20.5, 8.2 Hz, 4H), 7.23 (m, 4H), 4.23 – 4.12 (m, 1H), 4.05 (dd, J = 11.6, 4.4 Hz, 2H), 3.94 – 3.78 (m, 3H), 3.59 – 3.45 (m, 1H), 3.42 – 3.24 (m, 5H), 3.03 – 2.76 (m, 5H), 2.38 (s, 6H), 2.02 – 1.05 (m, 41H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.3, 165.1, 141.8, 141.6, 141.5, 141.4, 129.1, 129.06, 126.2, 126.1, 67.9, 67.3, 56.5, 54.5, 50.4, 49.4, 38.8, 38.6, 37.6, 37.3, 32.8, 32.7, 31.04, 29.5, 26.5, 26.03, 25.9, 21.5, 20.9, 20.1 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 420.2360, found 443.2339 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .



**IN37**

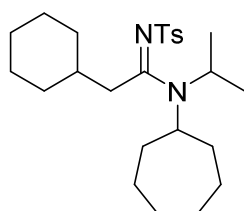
### 2-Cyclohexyl-*N*-isopropyl-*N'*-(tetrahydro-2H-thiopyran-4-yl)-*N'*-tosylacetimidamide

Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  60:40) afforded the desired product as a yellow solid (0.445 g, 93% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:1).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.89 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.79 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.31 – 7.22 (m, 4H), 4.16 – 4.13 (m, 1H), 3.62 – 3.42 (m, 2H), 3.06 – 2.51 (m, 14H), 2.32 (s, 6H), 2.09 – 1.04 (m, 41H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.9, 141.8, 141.5, 141.5, 129.7, 129.1, 129.09, 126.5, 126.4, 126.1, 59.04, 56.8, 50.4, 49.8, 38.8, 38.5, 37.6, 37.3, 32.8, 32.7, 31.08, 29.5, 28.9, 26.6, 26.5, 26.06, 26.01, 21.5, 20.8, 20.3 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ : 436.2289, found 459.2110 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .



**IN38**

### ***N*-Cycloheptyl-2-cyclohexyl-*N*-isopropyl-*N'*-tosylacetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 60:40) afforded the desired product as a white solid (0.139 g, 64% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:2).

#### Isomer E

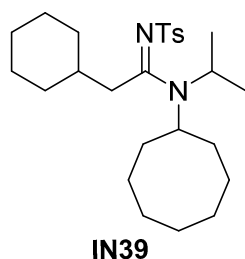
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2, 2H), 4.18 – 4.07 (m, 1H), 3.17 – 3.03 (m, 1H), 2.88 (d, J = 7.4Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.35 – 2.19 (m, 2H) 1.94 – 0.94 (m, 29H) ppm.

#### Isomer Z

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.2, 2H), 3.82 – 3.62 (m, 1H), 3.5 – 3.37 (m, 1H), 2.88 (d, J = 7.4Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.35 – 2.19 (m, 1H) 1.94 – 0.94 (m, 29H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 164.4, 164.1, 142.1, 141.2, 128.9, 128.8, 126.1, 126.09, 61.5, 58.6, 50.2, 50.06, 38.8, 38.5, 37.5, 37.3, 33.1, 32.9, 32.7, 32.2, 28.2, 27.2, 26.7, 26.6, 26.5, 26.06, 25.4, 21.5, 20.9, 20.5 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>25</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 422.2718, found 455.2703 (M + Na)<sup>+</sup>.



### ***2*-Cyclohexyl-*N*-cyclooctyl-*N*-isopropyl-*N'*-tosylacetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 60:40) afforded the desired product as a white solid (0.191 g, 85% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:2).

### Isomer E

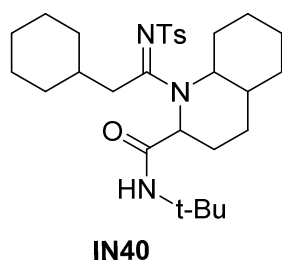
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.78 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.2$ , 2H), 4.18 – 4.07 (m, 1H), 3.29 – 3.17 (m, 1H), 2.88 (d,  $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 2.35 – 2.19 (m, 1H) 1.94 – 0.94 (m, 30H) ppm.

### Isomer Z

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.78 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J = 8.2$ , 2H), 3.99 – 3.87 (m, 1H), 3.5 – 3.33 (m, 1H), 2.88 (d,  $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.35 – 2.19 (m, 1H) 1.94 – 0.94 (m, 29H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.2, 1643.7, 142.1, 141.2, 128.9, 128.8, 126.1, 126.06, 59.8, 57.4, 50.1, 50.06, 38.89, 38.3, 37.54, 37.3, 32.9, 32.7, 32.6, 32.5, 26.6, 26.55, 26.52, 26.3, 26.03, 25.9, 25.8, 24.9, 21.4, 21.1, 20.6 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ : 446.3178, found 485.2599 ( $\text{M} + \text{K}$ ) $^+$ .



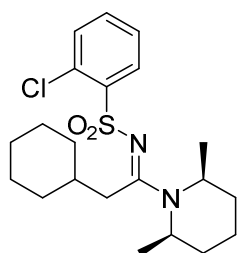
### **[E]-N-[tert-Butyl]-1-[2-cyclohexyl-1-(tosylimino)ethyl]decahydroquinoline-2-carboxamide**

Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  80:20) afforded the desired product as a white solid (0.034 g, 18% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.76 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.22 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 5.9 (s, 1H), 5.06 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1H), 3.75 – 3.59 (m, 1H), 3.29 (t,  $J = 11.9$  Hz, 1H), 3.07 (dd,  $J = 13.4, 6.7$  Hz, 1H), 2.8 (dd,  $J = 13.6, 8.3$  Hz, 1H), 2.38 (s, 3H), 2.23 – 2.16 (m, 1H), 1.9 – 1.17 (m, 31H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  169.17, 167.8, 142.05, 141.62, 129.2, 126.2, 56.06, 51.3, 46.6, 37.8, 37.1, 34.9, 33.2, 32.9, 31.6, 28.9, 28.7, 28.6, 27.8, 26.4, 26.04, 24.3, 22.5, 21.5 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{29}\text{H}_{45}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ : 538.3058, found 538.3074 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .



**IN41**

**2-Chloro-*N*-[(*E*)-2-cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]benzenesulfonamide**

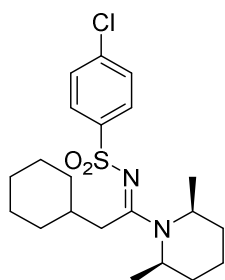
Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  60:40) afforded the desired product as a white solid (0.16 g, 65% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.19 – 8.17 (dd,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.44 – 7.31 (m, 2H), 4.92 – 4.88 (m, 1H), 4.27 – 4.23 (m, 1H), 3.54 (dd,  $J = 14.7, 6.4$  Hz, 1H), 2.46 (dd,  $J = 13.9, 8.3$  Hz, 1H), 1.85 – 1.05 (m, 23H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.4, 132.07, 131.8, 131.3, 129.1, 126.7, 49.1, 47.5, 38.3, 37.1, 33.4, 32.9, 30.6, 30.1, 26.6, 26.5, 26.2, 21.9, 20.06, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$ : 433.1700, found 433.1687 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .





**IN42**

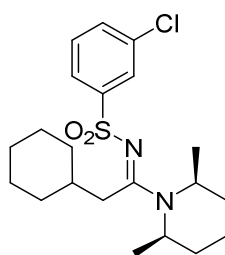
**4-Chloro-N-[(E)-2-cyclohexyl-1-[(2R,6S)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]benzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 60:40) afforded the desired product as a yellow solid (0.158 g, 77% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.38 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 4.88 – 4.8 (m, 1H), 4.23 – 4.21 (m, 1H), 3.38 – 3.33 (dd, J = 14.7, 6.4 Hz, 1H), 2.47 – 2.41 (dd, J = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 1.85 – 1.05 (m, 23H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.8, 143.7, 137.1, 128.6, 127.4, 49.2, 47.6, 38.1, 37.3, 33.5, 32.7, 30.5, 30.05, 26.5, 26.4, 26.1, 21.9, 19.8, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 411.1883, found 411.1868 (M + H)<sup>+</sup>.



**IN43**

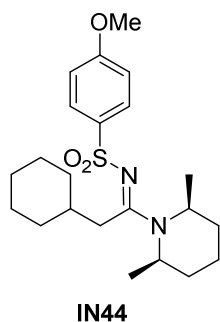
**3-Chloro-N-[(E)-2-cyclohexyl-1-[(2R,6S)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]benzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 60:40) afforded the desired product as yellow oil (0.172 g, 83% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.92 (br, 1H), 7.8 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.43 – 7.4 (m, 1H), 7.38 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 4.88 – 4.84 (m, 1H), 4.25 – 4.22 (m, 1H), 3.36 (dd, J = 14.7, 6.4 Hz, 1H), 2.46 (dd, J = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 1.88 – 1.08 (m, 23H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.9, 146.8, 134.4, 131.1, 129.4, 126.4, 124.1, 49.2, 47.7, 38.1, 33.5, 32.7, 30.5, 30.08, 26.5, 26.5, 26.1, 21.9, 19.9, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S: 449.1418, found 449.1426 (M + K)<sup>+</sup>.



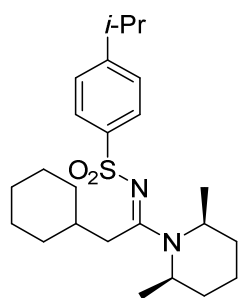
***N*-[(*E*)-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-4-methoxybenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 50:50) afforded the desired product as a yellow solid (0.12 g, 59% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.86 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.9 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.85 (br, 1H), 4.22 – 4.21 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.39 (dd, J = 14.7, 6.4 Hz, 1H), 2.44 (dd, J = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 1.87 – 1.08 (m, 23H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.55, 146.65, 137.59, 127.96, 113.59, 55.58, 49.04, 47.45, 38.11, 37.15, 33.54, 32.77, 30.58, 30.13, 26.63, 26.55, 26.22, 21.95, 19.90, 13.73 ppm.

HR-MS calculated for  $C_{22}H_{34}N_2O_3S$ : 429.2193, found 429.2182 (M + Na)<sup>+</sup>.



IN45

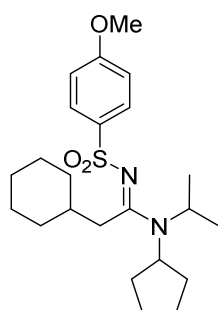
***N*-[*(E)*-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-4-isopropylbenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 50:50) afforded the desired product as yellow oil (0.094 g, 45% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.84 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.93 – 4.89 (m, 1H), 4.24 – 4.21 (m, 1H), 3.4 (dd, J = 14.7, 6.4 Hz, 1H), 2.97 – 2.9 (m, 1H), 2.44 (dd, J = 13.9, 8.3 Hz, 1H), 1.87 – 1.03 (m, 28H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.7, 152.2, 142.6, 126.5, 126.1, 49.07, 47.4, 38.05, 37.2, 34.2, 33.5, 32.7, 30.5, 30.1, 26.6, 26.5, 26.1, 23.9, 21.9, 19.9, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for  $C_{24}H_{38}N_2O_2S$ : 419.2729, found 419.2727 (M + H)<sup>+</sup>.



IN46

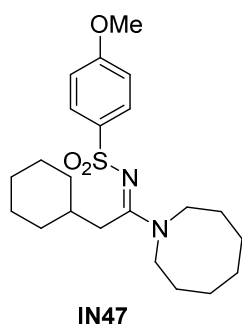
**2-cyclohexyl-N-cyclopentyl-N-isopropyl-N'-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]acetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 50:50) afforded the desired product as yellow oil (0.031 g, 15% yield, a mixture of isomers).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.06 – 7.76 (m, 2H), 7.07 – 6.86 (m, 2H), 4.24 – 4.05 (m, 1H), 3.92 – 3.80 (m, 3H), 3.63 – 3.29(m, 1H), 2.93 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 2.29 – 1.03 (m, 25H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.3, 164.104, 164.103, 161.6, 137.3, 137.1, 130.8, 130.8, 128.09, 114.17, 113.5, 113.5, 60.67, 56.8, 55.6, 55.5, 55.5, 50.1, 49.5, 39.06, 38.8, 37.4, 37.3, 32.8, 32.7, 29.4, 29.1, 26.6, 26.1, 25.8, 24.3, 21.2, 20.4 ppm.

HR-MS calculated C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: 420.2465, found 459.2078 (M + K)<sup>+</sup>.



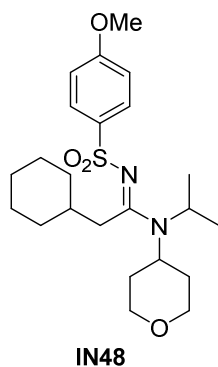
#### **N-[1-(azocan-1-yl)-2-cyclohexylethylidene]-4-methoxybenzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as yellow oil (0.06 g, 30 % yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.84 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 6.9 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 3.52 (t, J = 6.2 Hz, 2H), 3.46 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.9 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 2.04 – 1.05 (m, 21H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.7, 161.6, 137.3, 127.9, 113.5, 55.5, 51.3, 49.9, 37.6, 37.5, 33.2, 26.9, 26.8, 26.5, 26.1, 25.9, 25.7, 23.7 ppm.

HR-MS calculated C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S: 406.2305, found 459.2078 (M + K)<sup>+</sup>.



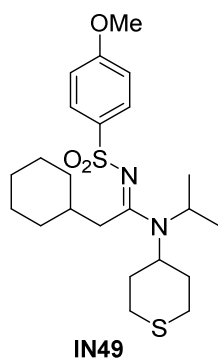
**(E)-2-cyclohexyl-N-isopropyl-N'-((4-methoxyphenyl)sulfonyl)-N-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)acetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as yellow oil (0.076 g, 35% yield, a mixture of tow isomers (Z/E) with a ratio of (1:1)).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.86 (dd, J = 21.6, 9.0 Hz, 4H), 7.23 (dd, J = 8.8, 6.6 Hz, 4H), 4.23 – 4.12 (m, 1H), 4.05 (dd, J = 11.6, 4.5 Hz, 2H), 3.95 – 3.77 (m, 9H), 3.45 – 3.35 (td, J = 11.9, 1.5, 2 H), 3.35 – 3.23 (td, J = 12.3, 1.6, 3 H), 3.02 – 2.08 (m, 5H), 2.01 – 1.5 (m, 19H), 1.34 – 1.1 (m, 22H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 165.08, 161.79, 161.71, 136.9, 136.7, 128.2, 128.1, 113.69, 113.61, 67.9, 67.3, 56.5, 55.59, 54.53, 49.4, 38.5, 37.6, 37.4, 32.9, 32.8, 31.1, 29.5, 26.6, 26.6, 26.08, 26.04, 21.01, 20.2 ppm.

HR-MS calculated C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S: 436.24, found 475.2027 (M + K)<sup>+</sup>.



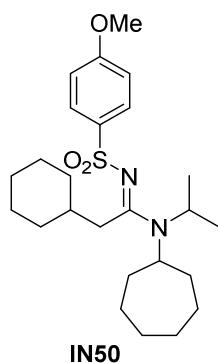
**(E)-2-cyclohexyl-N-isopropyl-N'-((4-methoxyphenyl)sulfonyl)-N-(tetrahydro-2H-thiopyran-4-yl)acetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as yellow oil (0.072 g, 32% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio of (1:1)).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.96 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.95 (dd, J = 10.7, 8.8 Hz, 2H), 4.23 – 4.1 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.61 – 3.51 (m, 2H), 3.12 – 2.51 (m, 14H), 2.13 – 1.04 (m, 41H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 164.7, 161.7, 161.6, 136.9, 136.6, 128.4, 128.1, 113.6, 113.6, 59.02, 56.8, 55.65, 55.63, 55.5, 50.3, 49.838, 49.837, 38.8, 38.5, 37.648, 37.647, 37.3, 32.933, 32.932, 32.8, 32.7, 31.09, 29.6, 29.001, 26.66, 26.60, 26.08, 26.04 ppm.

HR-MS calculated C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: 452.2223, found 453.2240 (M + H)<sup>+</sup>.



**N-cycloheptyl-2-cyclohexyl-N-isopropyl-N'-((4-methoxyphenyl)sulfonyl)acetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/Et<sub>2</sub>O 40:60) afforded the desired product as yellow Solid (0.138 g, 60% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:2).

Isomer E

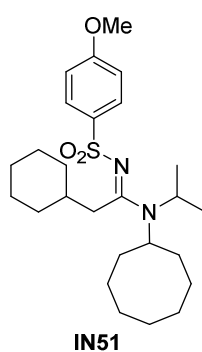
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (dd, J = 8.9, 3.0 Hz, 2H), 6.96 – 6.86 (m, 2H), 4.18 – 4.07 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.17 – 3.03 (m, 1H), 2.89 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 2.45 – 2.23 (m, 1H) 1.94 – 0.94 (m, 28H) ppm.

### Isomer Z

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.78 (dd,  $J = 8.9, 3.0$  Hz, 2H), 6.96 – 6.86 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.82 – 3.69 (m, 1H), 3.5 – 3.37 (m, 1H), 2.88 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 2.35 – 2.19 (m, 1H) 1.94 – 0.94 (m, 29H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.3, 164.05, 161.6, 161.5, 137.4, 128.1, 128.06, 113.5, 113.4, 61.6, 58.6, 55.63, 55.5, 50.2, 55.08, 38.8, 38.5, 37.6, 37.3, 33.2, 33.003, 32.8, 32.3, 28.3, 27.3, 26.8, 26.7, 26.6, 26.1, 25.4, 21.04, 20.6 ppm.

HR-MS calculated  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ : 448.2822, found 449.2832 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



### **(E)-2-cyclohexyl-N-cyclooctyl-N-isopropyl-N'-((4-methoxyphenyl)sulfonyl)acetimidamide**

Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  40:60) afforded the desired product as yellow oil (0.104 g, 54% yield, a mixture of two isomers (Z/E) with a ratio 1:2.5).

### Isomer E

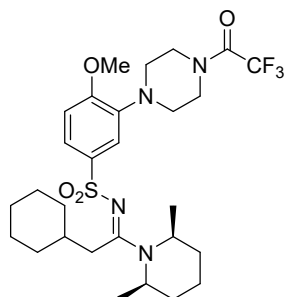
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.86 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 6.91 (d,  $J = 8.9$ , 2H), 4.18 – 4.03 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.29 – 3.17 (m, 1H), 2.89 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 2.35 – 1.08 (m, 30H) ppm.

### Isomer Z

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.86 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 6.91 (d,  $J = 8.9$ , 2H), 3.97 – 3.97 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.47 – 3.34 (m, 1H), 2.89 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 2.35 – 1.08 (m, 30H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  164.2, 163.7, 161.5, 161.54, 137.4, 128.1, 128.07, 113.5, 113.47, 59.9, 57.45, 57.44, 55.6, 55.5, 50.5, 50.1, 39.03, 38.4, 37.5, 37.4, 33.002, 32.8, 32.7, 32.6, 26.7, 26.69, 26.63, 26.4, 26.1, 26.06, 25.9, 25.06, 21.2, 20.08 ppm.

HR-MS calculated  $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ : 462.2921, **found** 463.2989 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .



38

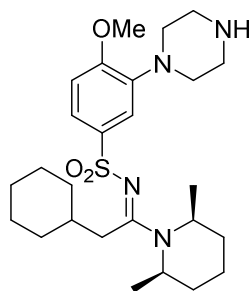
***N*-[*(E)*-2-Cyclohexyl-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-4-methoxy-3-[4-[2,2,2-trifluoroacetyl]piperazin-1-yl]benzenesulfonamide**

Purification by column chromatography (Pentane/ $\text{Et}_2\text{O}$  55:45) afforded the desired product as yellow oil (0.13 g, 43% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.62 (dd,  $J = 8.7, 2.4$  Hz, 1H), 7.45 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.88 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 6.23 (s, 1H), 4.85 (br, 1H), 4.21 (br, 1H), 3.91 – 3.79 (m, 7H), 3.35 (dd,  $J = 13.7, 6.1$  Hz, 1H), 3.15 – 3.07 (m, 4H), 2.42 (dd,  $J = 13.7, 8.3$  Hz, 1H), 1.84 – 1.07 (m, 23H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.7, 162.2, 154.3, 140.1, 137.8, 122.03, 116.7, 110.6, 65.8, 55.9, 50.3, 49.09, 47.4, 46.7, 43.4, 38.08, 37.2, 33.7, 32.7, 30.5, 30.1, 26.5, 26.5, 26.1, 21.9, 20.008, 13.6 ppm.





**IN19**

***N*-[*(E)*-2-Cyclohexyl-1-[(*2R,6S*)-2,6-dimethylpiperidin-1-yl]ethylidene]-4-methoxy-3-[piperazin-1-yl]benzenesulfonamide**

To a solution of KOH (0.1 mmol) in MeOH (2 ml), the compound 38 (0.06 g, 0.1 mmol) was added. The reaction stirred for 1 night at room temperature, then the solvent was removed and the crude was purified by flash column chromatograph to give the desired compound IN 19 as a white solid (0.027 g, 57% yield).

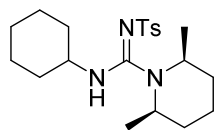
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.61 (dd,  $J = 8.5, 2.3$  Hz, 1H), 7.45 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 6.88 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 4.87 (br, 1H), 4.51 (br, 2H), 4.21 (br, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.35 (dd,  $J = 13.7, 6.1$  Hz, 1H), 3.21 (br, 7H), 2.42 (dd,  $J = 13.7, 8.3$  Hz, 1H), 1.84 – 1.48 (m, 12H), 1.34 – 1.03 (m, 11H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.54, 154.31, 140.38, 137.73, 121.76, 116.62, 110.57, 55.93, 49.74, 49.09, 47.52, 45.72, 38.11, 37.19, 33.53, 32.76, 30.56, 30.12, 26.61, 26.54, 26.20, 21.97, 20.06, 13.72 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ : 491.3021, found 491.3015 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .

## 5.2. Preparation of sulfonylguanidine

### 5.2.1. Preparation of IN16



IN16

#### **(2*R*,6*S*,*E*)-*N*-cyclohexyl-2,6-dimethyl-*N'*-tosylpiperidine-1-carboximidamide**

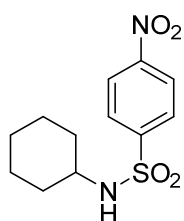
To a solution of *cis*-2,6-Dimethylpiperidine (**22**) (0.552 g, 4.00 mmol) in CH<sub>3</sub>CN (2.4 ml) was added dropwise to a stirred solution of cyclohexyl isothiocyanate (**42**) (0.62 mg, 4.4 mmol) in CH<sub>3</sub>CN (8 ml, anhydrous puresolve™) under cooling in an ice-bath to keep the reaction temperature below 10 °C. The ice-bath was removed and stirring was continued at room temperature for 2 h to furnish a yellow-colored solution of the intermediate. The nitrogen flow was stopped (to prevent evaporation of volatile CH<sub>3</sub>I in the subsequent reaction), a CH<sub>3</sub>I (0.496 ml, 8.0 mmol) was added in one portion. Stirring was continued at room temperature for 18 h after which TLC (Hexane/EtOAc 50:50) showed full conversion of **42** into **43**. The solvent and excess CH<sub>3</sub>I were removed in vacuo and CH<sub>3</sub>CN (10 ml) was added in order to dissolve the resulting dark-yellow solid. KHCO<sub>3</sub> (0.56 g, 5.6 mmol) and *p*-Toluenesulfonamide (0.719 g, 4.2 mmol) were added successively and the resulting mixture was stirred at reflux temperature for 4 h. After cooling to room temperature, 20 ml of NaOH (2N) was added and the mixture was extracted with EtOAc (3 × 20 ml). The combined organic layers were washed with brine (20 ml), dried with Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, and evaporated in vacuo to give pale brown oil. The crude was purified by flash chromatography to furnish the desired compound **IN16** as a white solid (0.175 g, 10% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.78 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.22(d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 6.78 (br, 1H), 3.78 (br, 2H), 3.46 (br, 1H), 2.38 (s, 3H), 1.82 – 1.11 (m, 22H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161.25, 141.67, 141.27, 129.01, 126.12, 54.34, 51.75, 33.72, 31.22, 30.91, 25.27, 24.97, 21.43, 20.71, 16.9 ppm.

HR-MS calculated for  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ : 392.2343, found 392.236 ( $\text{M} + \text{H}$ ) $^+$ .

### 5.2.2. Preparation of IN20



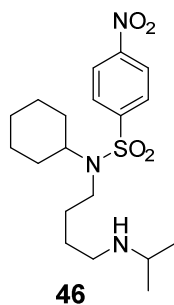
**45**

#### ***N*-Cyclohexyl-4-nitrobenzenesulfonamide**

To a solution of *p*-nitrosulphonyl chloride (2.216 g, 10 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 ml) was added cyclohexylamine (**44**) (1.14 ml, 10 mmol) and triethylamine (2.78 ml, 20 mmol). The resulting solution was stirred for 1hour at room temperature, and was then quenched with water (20 ml). The mixture was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 ml), dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered and concentrated to give the crude sulfonamide as a white solid (2.576 g, 90% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.37 (d,  $J$  = 9.1 Hz, 2H), 8.07 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 2H), 4.87 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 3.22 – 3.17 (m, 1H), 1.77 – 1.61 (m, 4H), 1.55 – 1.51 (m, 1H), 1.27 – 1.09 (m, 5H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  150.05, 147.6, 128.25, 124.5, 53.26, 34.11, 25.10, 24.72 ppm.



### ***N*-Cyclohexyl-*N*-[4-(isopropylamino)butyl]-4-nitrobenzenesulfonamide**

#### **1<sup>st</sup> step**

To a solution of **45** (2 g, 7mmol) in dry DMF (10 ml), was added NaH (60 % oil suspension, 1.2 eq.) in three portions at 0 °C under a nitrogen atmosphere. The reaction mixture was stirred for 1 h at the same temperature. 1,4-Diiodobutane (4 eq.) was then added at 0 °C, and the mixture was stirred for 24 h. After completion of the reaction as monitored by TLC, the reaction mixture was quenched with water (100 ml). The mixture was extracted with AcOEt (3 x 70 ml).The combined organic layer was washed with brine (100 ml) and dried with anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The solvent was evaporated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography to furnish the desired primary halide ***N*-Cyclohexyl-*N*-(4-iodobutyl)-4-nitrobenzenesulfonamide** as a white solid (2.88 g, 88% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.32 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.98(d, J = 8.8 Hz, 2H), 4.10 – 3.52 (m, 3H), 3.2 – 3.16 (m, 2H), 1.83 – 1.71 (m, 6H), 1.61 – 1.54 (m, 3H), 1.4 – 1.19 (m, 4H), 1.07 – 0.96 (m, 1H) ppm.

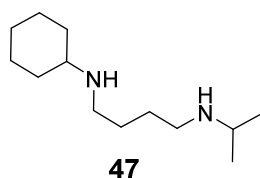
<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 149.79, 147.53, 127.99, 124.39, 58.59, 44.43, 43.54, 31.95, 29.76, 29.17, 26.06, 25.19 ppm.

#### **2<sup>nd</sup> step**

To the primary halide (1.9, 4 mmol) dissolved in CH<sub>3</sub>CN (16 ml) was added isopropyl amine (4 eq). The mixture was stirred for 3h at room temperature. The solvent was evaporated under reduced pressure to afford the desired compound **46** (2.36 g, 100%).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.35 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.04 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 3.61 – 3.56 (m, 2H), 3.25 – 3.21 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.1 – 3.06 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.11 – 2.03 (m, 2H), 1.84 – 1.72 (m, 4H), 1.61 – 1.48 (m, 9H), 1.4 – 1.17 (m, 5H), 1.07 – 1.01 (m, 1H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 149.79, 147.53, 127.99, 124.39, 58.59, 44.43, 43.54, 31.95, 29.76, 29.17, 26.06, 25.19 ppm.



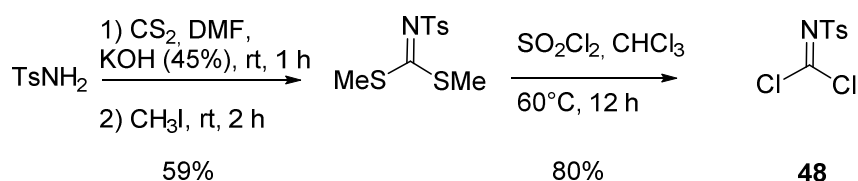
#### ***N*<sup>1</sup>-Cyclohexyl-*N*<sup>4</sup>-isopropylbutane-1,4-diamine**

To a solution of **46** (1.191 g, 3 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 eq) in acetonitrile (16 ml) thiophenol (1.2 eq) was added. The reaction mixture was vigorously stirred for 2 h, after which the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude product was dissolved in diethyl ether (40 ml), and extracted with 1 M HCl (2 x 15 ml). The combined aqueous layer was basified with 1 M NaOH followed by extraction with Et<sub>2</sub>O (3 x 15 ml). The combined organic layer was dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, concentrated under reduced pressure to give pale yellow oil (0.464 g, 73% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.79 – 2.75 (m, 1H), 2.63 – 2.57 (m, 4H), 2.43 – 2.34 (tt, J = 10.4, 3.8 Hz, 1H), 1.88 – 1.83 (m, 2H), 1.73 – 1.69 (m, 2H), 1.62 – 1.48 (m, 6H), 1.29 – 1.02 (m, 12H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 56.99, 48.85, 47.51, 46.97, 33.79, 28.57, 28.49, 26.34, 25.26, 23.11 ppm.

## Préparation of tosylcarbonimidic dichloride



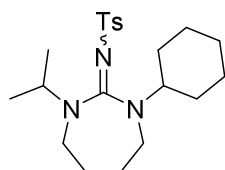
### 1<sup>st</sup> step

To a magnetically stirred solution of p-toluenesulfonamide (2.05 g, 12 mmol) in DMF (12 ml) was added CS<sub>2</sub> (1.15 eq). KOH (2.24 ml of a 45% aqueous solution) was slowly added while keeping the temperature < 15 °C. The resulting red solution was stirred for 1 hour and CH<sub>3</sub>I was slowly added (2 eq) to give a yellow solution which was stirred for 2 hours. Water (60 ml) was added and the resulting precipitate was collected by filtration, washed with pentane to give **dimethyl tosylcarbonimidodithioate** (1.975 g, 59% yield).

### 2<sup>nd</sup> step

A solution of **dimethyl tosylcarbonimidodithioate** (1.1 g, 4 mmol) and CH<sub>3</sub>Cl (2.66 ml) is heated to 60°C, sulphurylchloride (8 eq) are added dropwise at this temperature. The mixture is subsequently stirred at 60°C for 1 hour until the evolution of gas has ended. It's then concentrated and the residue is triturated with Et<sub>2</sub>O, filtered off and dried to give **48** (0.803 g, 80% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.85 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 2.46 (s, 3H) ppm.



**IN20**

### ***N*-(1-Cyclohexyl-3-isopropyl-1,3-diazepan-2-ylidene)-4-methylbenzenesulfonamide**

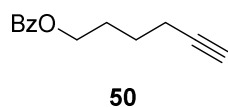
In a round-bottom flask were placed (0.359 g, 1.7 mmol) of *N*<sup>1</sup>-cyclohexyl-*N*<sup>4</sup>-isopropylbutane-1,4-diamine **47** (0.473 ml, 3.4 mmol) of Et<sub>3</sub>N, and 12 ml of dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The resulting solution was cooled to 0 °C and then it was treated slowly with a solution of (0.213 g, 0.85 mmol) of tosylcarbonimidic dichloride (**48**) in 4 ml of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The reaction mixture was stirred for 2 h at 0 °C and for 18 h at room temperature, before the addition of 15 ml of HCl (1 M) The organic layer was washed with 15 ml of brine, dried, and concentrated. The product was purified by flash chromatography (Pentane/EtOAc, 7:3) yielding a white solid (0.014 g, 6% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.81 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.81 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 4.42 – 4.36 (m, 1H), 3.75 – 3.69 (m, 1H), 3.2 (br, 4H), 2.37 (s, 3H), 1.89 – 1.52 (m, 9H), 1.37 – 1.21 (m, 8H), 1.13 – 0.95 (m, 3H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 160.83, 142.8, 139.7, 127.9, 124.6, 59.2, 51.1, 44.8, 43.9, 30.7, 25.6, 25.5, 24.8, 24.7, 20.4 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S: 392.2371, found 392.2366 (M + H)<sup>+</sup>.

### **5.3. IN52-conjugated affinity matrix**



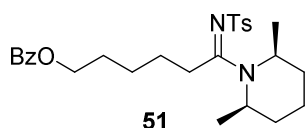
#### **Hex-5-yn-1-yl benzoate**

To a solution of 5-hexyn-1-ol (1.11 ml, 10 mmol) in DCM (25 ml) was added 4-Dimethylaminopyridine (0.061 mg, 0.5 mmol) and Et<sub>3</sub>N (1.66 ml, 12.0 mmol). The solution was cooled down to 0 °C and benzoyl chloride (1.38 ml, 12 mmol) was added dropwise. The

resulting solution was stirred at room temperature during 90 min, filtrated trough a short pad of silica and evaporated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography using (Pentane/Et<sub>2</sub>O 97:3) to give the desired compound **50** as a colorless oil (1.3 g, 64% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.05 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.56 (tt, J = 6.7, 1.3 Hz, 1H), 7.43 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 4.35 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.28 (td, J = 7.0, 2.6 Hz, 2H), 1.98 – 1.86 (m, 3H), 1.75 – 1.65 (m, 2H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.75, 133.03, 130.45, 129.65, 128.48, 84.02, 68.92, 64.58, 27.91, 25.2, 18.28 ppm.



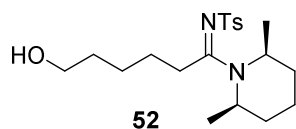
#### **(E)-6-[(2R,6S)-2,6-Dimethylpiperidin-1-yl]-6-(tosylimino)hexyl benzoate**

To a stirred mixture of alkyne (**50**) (0.202 g, 5 mmol), azide (0.197 g, 6 mmol), and CuI (0.094 g, 0.5 mmol) in THF (10 ml) was slowly added amine nucleophile (0.113 g, 6 mmol) at room temperature under an N<sub>2</sub> atmosphere. After the reaction was completed, which was monitored with TLC, the reaction mixture was diluted by adding CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml) and aqueous NH<sub>4</sub>Cl solution (3 ml). The mixture was stirred for an additional 30 min and two layers were separated. After the aqueous layer was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 ml × 3), the combined organic layers were dried over Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated in vacuo. The crude residue was purified by flash column chromatograph with an appropriate eluting solvent system. The desired compound **51** was obtained as white solid (2.09 g, 86% yield).



$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.05 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 7.82 (d,  $J = 8.3$ , 2H), 7.56 (tt,  $J = 6.7$ , 1.5 Hz, 1H), 7.43 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 4.84 (br, 1H), 4.35 (m, 2H), 4.09 (br, 1H), 3.41 – 3.31 (m, 1H), 2.55 – 2.39 (m, 4H), 1.98 – 1.47 (m, 12H), 1.31 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.18 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.64, 166.79, 141.98, 141.69, 133.03, 130.50, 129.71, 129.18, 128.49, 126.16, 126.15, 64.84, 48.58, 47.23, 31.34, 31.10, 30.76, 29.93, 28.47, 27.75, 26.58, 22.03, 21.58, 19.75, 13.62 ppm.

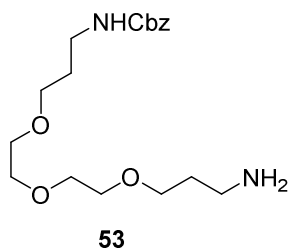


***N*-[(*E*)-1-[(2*R*,6*S*)-2,6-Dimethylpiperidin-1-yl]-6-hydroxyhexylidene]-4-methylbenzenesulfonamide**

To a solution of **51** (0.484 g, 2.5 mmol) in MeOH (15 ml) was added NaOH (25 mmol). After the mixture had been stirred for 12h, the solvent was evaporated and the mixture was extracted with  $\text{Et}_2\text{O}$ . The organic layer was washed with brine, dried, and concentrated to afford crude product, which was purified by flash chromatography to give **52** as colorless oil (0.9 g, 94% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.23(d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 4.82 (br, 1H), 4.1 (br, 1H), 3.66 (t, 2H), 3.33 (m, 1H), 2.54 – 2.38 (m, 4H), 1.95 – 1.47 (m, 13H), 1.31 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.18 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3H) ppm.

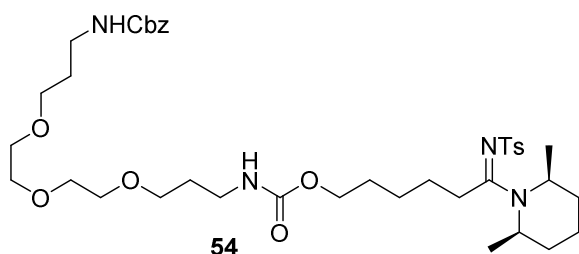
$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.8, 141.94, 141.66, 129.16, 126.11, 62.61, 48.58, 47.21, 32.04, 31.41, 30.76, 29.91, 27.68, 26.2, 22.01, 21.57, 19.75, 13.6 ppm.



### Benzyl [3-[2-[2-(3-aminopropoxy)ethoxy]ethoxy]propyl]carbamate

Into a flask were added THF (100 ml), 4,7,10-trioxa-1,13-tridecanediamine (11 ml, 50 mmol), triethylamine (1.38 ml, 10 mmol), and MeOH (35 ml). The flask was maintained under a nitrogen atmosphere, and cooled in an ice bath. Benzyl chloroformate (1.42 ml, 10 mmol) was dissolved in THF (50 ml) and added dropwise to the reaction mixture. The reaction was allowed to warm to ambient temperature and stirred for 30 min. Volatiles were removed under reduced pressure. The crude mixture was diluted with brine (100 ml) and sodium carbonate (10% aqueous, 40 ml), extracted with ether (75 ml x 3), washed with brine (50 ml), and dried with sodium sulfate. Volatiles were removed under reduced pressure, to yield a mixture of monocarbamate and dicarbonate, which was purified by silica column chromatography to give **53** as yellow oil (0.759 g, 21% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.35 – 7.28 (m, 5H), 5.54 (br, 1H), 5.08 (s, 2H), 3.65 – 3.46 (m, 12H), 3.33 – 3.27 (m, 2H), 2.84 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H), 1.80 – 1.66 (m, 4H) ppm.



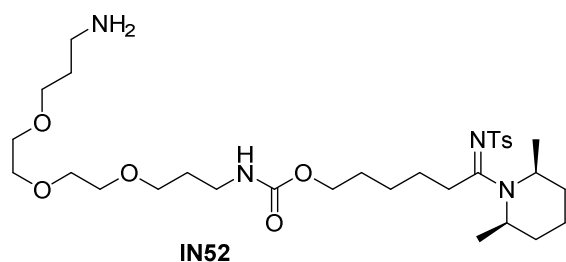
**(E)-6-[(2R,6S)-2,6-Dimethylpiperidin-1-yl]-6-(tosylimino)hexyl(3-oxo-1-phenyl-2,8,11,14-tetraoxa-4-azaheptadecan-17-yl)carbamate**

A solution of **53** (0.095 g, 0.25 mmol) and Et<sub>3</sub>N (0.034 ml, 0.25 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 ml) was added dropwise to a solution of 4-nitrophenyl chloroformate (0.071 g, 0.35 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (25 ml) at 0 °C. After stirring overnight at room temperature, the solution was added dropwise to a solution of **52** (0.115 g, 0.32 mmol) and Et<sub>3</sub>N (0.034 ml, 0.25 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 ml) at 0 °C cover 1 hour. The stirring was continued for 20 hours at room temperature. The solution was washed with 1M NaOH solution (3 × 20 ml), dried over MgSO<sub>4</sub>, and concentrated to dryness. The residue was purified by silica column chromatography to get the product as colorless oil (0.168 g, 88% yield).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.13 (d, J = 9.1 Hz, 1.4H), 7.81 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.35 – 7.28 (m, 5H), 7.23 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 6.91 (d, J = 9.2, 1.4H), 5.47 (br, 1H), 5.32 (br, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.8 (br, 1H), 4.03 (m, 3H), 3.65 – 3.46 (m, 12H), 3.34 – 3.24 (m, 5H), 2.51 – 2.36 (m, 4H), 1.94 – 1.16 (m, 27H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.75, 162.6, 157.07, 156.74, 141.83, 136.84, 129.22, 128.61, 128.24, 128.17, 126.27, 126.08, 115.79, 70.65, 70.29, 69.79, 69.57, 66.67, 64.67, 48.63, 47.30, 39.42, 39.1, 31.38, 31.1, 30.76, 29.91, 29.55, 29.47, 28.67, 27.81, 26.5, 22.01, 21.57, 19.75, 13.6 ppm.

HR-MS calculated for C<sub>39</sub>H<sub>60</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S: 760.41, found 783.40 (M + Na)<sup>+</sup>.



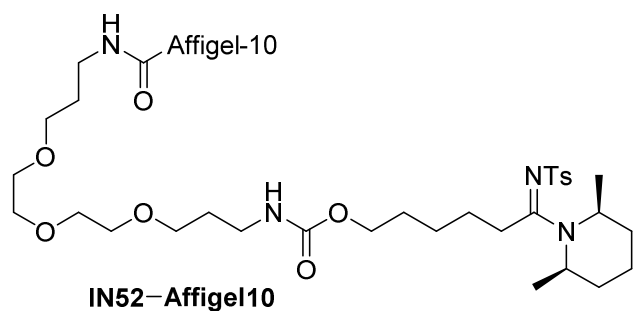
**(E)-6-[(2*R*,6*S*)-2,6-Dimethylpiperidin-1-yl]-6-(tosylimino)hexyl [3-[2-[2-(3-minopropoxy)ethoxy]ethoxy]propyl]carbamate**

To a mixture of **54** (0.125 g, 0.15 mmol) and 10% Pd/C (0.207 g, 0.195 mmol) was added MeOH (19.2 ml). The mixture was stirred under a hydrogen atmosphere (1atm) at room temperature for 4 h. The reaction mixture was filtered through a pad of celite and the filtrate was concentrated under reduced pressure to afford analytical pure a pale brown oil (90 mg, 96% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.81 (d,  $J = 8.3$  Hz, 2H), 7.23 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 4.81 (br, 1H), 4.03 (m, 3H), 3.65 – 3.46 (m, 11H), 3.34 – 3.24 (m, 3H), 2.95 – 2.81 (m, 5H), 2.51 – 2.36 (m, 4H), 1.95 – 1.16 (m, 22H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.70, 157.21, 157.04, 141.83, 141.69, 129.22, 126.08, 70.60, 70.33, 70.25, 70.15, 70.14, 69.49, 64.56, 48.61, 47.23, 39.76, 38.9, 31.35, 31.08, 30.76, 29.91, 29.55, 29.67, 28.7, 27.81, 26.5, 22.01, 21.57, 19.75, 13.6 ppm.

LR-MS calculated for  $\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$ : 626.37, found 627.37 ( $\text{M} + \text{Na}$ ) $^+$ .

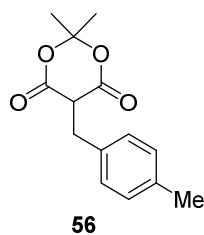


### IN52-conjugated affinity matrix

A volume of 2 ml of packed Affigel-10 (Bio-Rad) was washed on a glass filter with  $\text{CH}_3\text{CN}$  and added to a solution of amine IN52 (25 mg, 40  $\mu\text{mol}$ ) in  $\text{CH}_3\text{CN}$  (1.6) and triethylamine (40  $\mu\text{l}$ ). This suspension was gently rotated for 12 h at room temperature. Ethanolamine (100  $\mu\text{l}$ ) was added and after 4 h, the resin was thoroughly washed with water and ethanol, and conserved in  $\text{CH}_3\text{CN}$ .

## 5.4. Préparation of caprolactams

### 5.4.1. Préparation of caprolactam 60



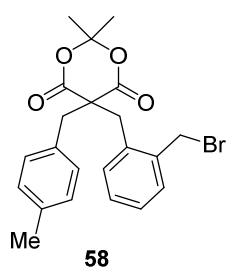
### 2,2-Dimethyl-5-(4-methylbenzyl)-1,3-dioxane-4,6-dione

To formic acid 8 ml was added dropwise triethylamine 2 ml. Then, 4-methylbenzaldehyde (1.2 g, 10 mmol) and Meldrum's acid (1.4 g, 10 mmol) were added under ice-cooling, and the mixture was stirred at room temperature for 3 days. The reaction mixture was poured into a mixture of ice 10 ml and 10 ml hydrochloric acid (1 M), and the

precipitate was collected by filtration. The title compound **56** was obtained as a white powder (1.02 g, 47% yield).

$^1\text{H-NMR}$  (400Mz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.2 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 7.09 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 3.73 (t,  $J = 4.9$  Hz, 1H), 3.44 (d,  $J = 5.0$  Hz, 2H), 2.3 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 1.49 (s, 3H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.2, 162.8, 136.5, 134.0, 129.4, 129.01, 106.05, 105.02, 47.9, 35.9, 31.4, 28.2, 27.3, 26.9, 20.8 ppm.

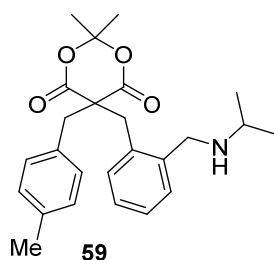


### **5-[2-(Bromomethyl)benzyl]-2,2-dimethyl-5-(4-methylbenzyl)-1,3-dioxane-4,6-dione**

To a stirred solution of **56** (1.24 g, 5 mmol) in DMF (10 ml),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.38 g, 2 mmol) was added and the solution stirred during 30 min. 1,2-bis(bromomethyl)benzene (**57**) (2.635 g, 2 mmol) was subsequently added and the reaction stirred at room temperature for 2 days. The reaction was quenched with  $\text{H}_2\text{O}$  (50 ml), and the aqueous phase extracted with ethyl acetate ( $3 \times 15$  ml), washed with brine, dried and concentrated. The residue was purified by silica column chromatography to get the product **58** as yellow solid (1.02 g, 47% yield).

$^1\text{H-NMR}$  (400Mz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.51 – 7.37 (m, 4H), 7.26 (br, 4H), 4.84 (s, 2H), 3.8 (s, 2H), 3.64 (m, 2H), 2.49 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.84 (s, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.73, 137.75, 137.3, 134.02, 131.64, 131.45, 130.28, 129.6, 129.22, 128.55, 106.16, 59.38, 45.09, 40.52, 31.8, 28.88, 21.16 ppm.

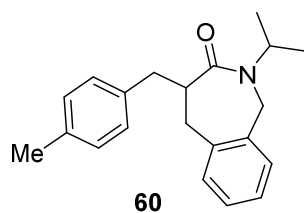


### 5-[2-[(Isopropylamino)methyl]benzyl]-2,2-dimethyl-5-(4-methylbenzyl)-1,3-dioxane-4,6-dione

To a stirred solution of **58** (0.43 g, 1 mmol) in MeCN (10 ml), isopropylamine (0.342 ml, 4 mmol) was subsequently added and the reaction stirred at room temperature for 12 hours. The solvent was removed to give the desired compound **59** as brown oil (0.404 g, 98% yield).

$^1\text{H}$  NMR (400Mz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.5 – 7.28 (m, 8H), 3.8 (s, 2H), 3.64 (s, 2H), 3.56 (m, 2H), 2.75 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 1.52 (d,  $J = 4.8$ , 6H), 0.96(s, 3H), 0.84 (s, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  168.73, 137.75, 137.3, 134.02, 131.64, 131.45, 130.28, 129.6, 129.22, 128.55, 106.16, 46.42, 45.13, 42.39, 37.47, 35.22, 27.02, 21.15, 21.01, 20.29 ppm.



### 2-Isopropyl-4-(4-methylbenzyl)-1,2,4,5-tetrahydro-3H-benzo[c]azepin-3-one

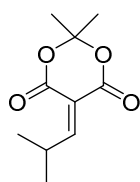
The solution of **59** (0.169 g, 0.5 mmol) in of DMF (2.5 ml) was placed in an ampoule. The ampoule was heated in Microwave at 230 °C. The thermolysis was continued for 25 min. After cooling the ampoule to room temperature, the residue was dissolved in  $\text{H}_2\text{O}$  (25 ml)

extracted by AcOEt (3 x 15 ml), the organic layer was washed with brine dried over  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , concentrated to afford the titled compound **60** as white solide (0.1 g, 65% yield).

$^1\text{H-NMR}$  (400Mz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.17 – 7.01 (m, 8H), 4.98 – 4.93 (m, 1H), 4.87 (d,  $J = 16.7$  Hz, 1H), 3.97(d,  $J = 16.7$  Hz, 1H), 3.5 – 3.44 (m, 1H), 3.33 (dd,  $J = 14.1, 5.1$  Hz, 1H), 3.03 – 2.87 (m, 2H), 2.66 (dd,  $J = 14.1, 8.5$  Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 1.17 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 0.94 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  174.36, 137.52, 137.29, 135.68, 135.56, 130.88, 129.34, 129.18, 128.39, 127.64, 126.003, 45.48, 44.78, 42.40, 37.57, 35.19, 27.04, 21.15, 21.02, 20.29 ppm.

#### 5.4.2. Préparation of caprolactam **65**



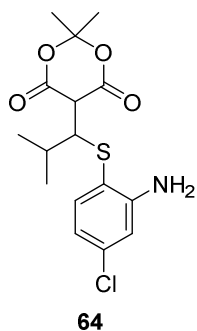
**62**

#### 2,2-Dimethyl-5-(2-methylpropylidene)-1,3-dioxane-4,6-dione

A mixture of Meldrum's acid (**26**) (1.4 g, 10 mmol) and isobutyraldehyde (**61**) (1 ml, 11 mmol) in water (20 ml) was stirred at 75 °C for 2 hours. After cooling to room temperature the solid product was filtered on Buchner and dried under vacuum to furnish the desired compound **62** (0.67 g, 34% yield).

$^1\text{H-NMR}$  (400Mz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.68 (d,  $J = 10.6$  Hz, 1H), 3.82 – 3.73 (m, 1H), 1.73 (s, 6H), 1.15 (d,  $J = 6.6$  Hz, 6H) ppm.



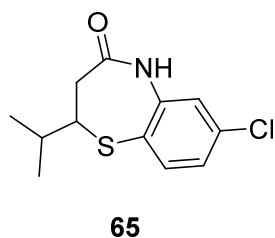


### 5-[1-[(2-Amino-4-chlorophenyl)thio]-2-methylpropyl]-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-dione

According to Martin Eberle *and al.*<sup>90</sup> Crystalline piperidinium acetate (0.1 eq) was added with stirring to a cooled solution of **62** (0.198 g, 1 mmol), 2-amino-4-chlorobenzenethiol (**63**) (0.158 g, 1 mmol) in MeCN (2 ml). After 1 hour, the cooling bath was removed and stirring was continued for 24 hours. The solvent was removed and the crude product was purified by silica column chromatography to give the desired compound **64** (0.12 g, 33% yield).

<sup>1</sup>H-NMR (400Mz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.55 (dd, J = 8.2, 2.2 Hz, 1H), 4.5 (br, 2H), 3.43 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 2.03 – 1.97 (m, 2H), 1.78 (d, J = 15.3 Hz, 6H), 0.96 (d, J = 6.5 Hz, 6H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.06, 149.47, 137.9, 137.67, 118.35, 116.62, 114.78, 104.91, 44.25, 35.39, 28.64, 26.9, 25.97, 22.16 ppm.



### 7-Chloro-2-isopropyl-2,3-dihydrobenzo[b][1,4]thiazepin-4(5H)-one

The solution of **64** (0.12 g, 0.33 mmol) in of DMF (2 ml) was placed in an ampoule. The ampoule was heated in microwave at 230 °C. The thermolysis was continued for 25 min. After cooling the ampoule to room temperature, the residue was dissolved in H<sub>2</sub>O (25ml) extracted by AcOEt (15 ml x 3), the organic layer was washed with brain, dried over MgSO<sub>4</sub>, concentrated to afford the titled compound **65** as brown oil (0.023 g, 28% yield).

<sup>1</sup>H-NMR (400Mz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.22 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.98 (dd, J = 8.2, 2.2 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 4.5 (br, 2H), 3.46 (dd, J = 9.5, 6.4 Hz, 1H), 1.89 – 1.8 (m, 1), 1.74 – 1.68 (m, 1H), 1.52 – 1.46 (m, 1H), 1.42 – 1.25 (m, 1H), 0.94 (dd, J = 24.1, 6.1 Hz, 6H) ppm.

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 168.46, 137.67, 132.64, 129.27, 123.93, 117.12, 116.9, 40.65, 38.31, 25.25, 22.82, 21.52 ppm.

## ***6. REFERENCES***

---



1. McClung, J. K.; Danner, D. B.; Stewart, D. A.; Smith, J. R.; Schneider, E. L.; Lumpkin, C. K.; Dell'Orco, R. T.; Nuell, M. J., Isolation of a cDNA that hybrid selects antiproliferative mRNA from rat liver. *Biochemical and biophysical research communications* **1989**, *164* (3), 1316-1322.
2. Thuaud, F.; Ribeiro, N.; Nebigil, Canan G.; Désaubry, L., Prohibitin Ligands in Cell Death and Survival: Mode of Action and Therapeutic Potential. *Chemistry & Biology* **2013**, *20* (3), 316-331.
3. Yang, J.; Li, B.; He, Q.-Y., Significance of prohibitin domain family in tumorigenesis and its implication in cancer diagnosis and treatment. *Cell Death & Disease* **2018**, *9* (6), 580.
4. Morrow, I. C.; Parton, R. G., Flotillins and the PHB Domain Protein Family: Rafts, Worms and Anaesthetics. *Traffic* **2005**, *6* (9), 725-740.
5. Joshi, B.; Ko, D.; Ordonez-Ercan, D.; Chellappan, S. P., A putative coiled-coil domain of prohibitin is sufficient to repress E2F1-mediated transcription and induce apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2003**, *312* (2), 459-466.
6. Mishra, S.; Murphy, L. C.; Murphy, L. J., The Prohibitins: emerging roles in diverse functions. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **2006**, *10* (2), 353-363.
7. Nijtmans, L. G. J.; de Jong, L.; Artal Sanz, M.; Coates, P. J.; Berden, J. A.; Back, J. W.; Muijsers, A. O.; van der Spek, H.; Grivell, L. A., Prohibitins act as a membrane-bound chaperone for the stabilization of mitochondrial proteins. *The EMBO Journal* **2000**, *19* (11), 2444-2451.
8. Rajalingam, K.; Wunder, C.; Brinkmann, V.; Churin, Y.; Hekman, M.; Sievers, C.; Rapp, U. R.; Rudel, T., Prohibitin is required for Ras-induced Raf-MEK-ERK activation and epithelial cell migration. *Nat Cell Biol* **2005**, *7* (8), 837-843.
9. Ande, S. R.; Gu, Y.; Nyomba, B. L.; Mishra, S., Insulin induced phosphorylation of prohibitin at tyrosine 114 recruits Shp1. *Biochim Biophys Acta* **2009**, *1793* (8), 1372-8.
10. Ande, S. R.; Mishra, S., Prohibitin interacts with phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate (PIP3) and modulates insulin signaling. *Biochem Biophys Res Commun* **2009**, *390* (3), 1023-8.
11. Wang, S.; Nath, N.; Fusaro, G.; Chellappan, S., Rb and prohibitin target distinct regions of E2F1 for repression and respond to different upstream signals. *Mol Cell Biol* **1999**, *19* (11), 7447-60.
12. Wang, S.; Fusaro, G.; Padmanabhan, J.; Chellappan, S. P., Prohibitin co-localizes with Rb in the nucleus and recruits N-CoR and HDAC1 for transcriptional repression. *Oncogene* **2002**, *21* (55), 8388-96.
13. Wang, S.; Zhang, B.; Faller, D. V., BRG1/BRM and prohibitin are required for growth suppression by estrogen antagonists. *EMBO J* **2004**, *23* (11), 2293-303.
14. Fusaro, G.; Dasgupta, P.; Rastogi, S.; Joshi, B.; Chellappan, S., Prohibitin induces the transcriptional activity of p53 and is exported from the nucleus upon apoptotic signaling. *J Biol Chem* **2003**, *278* (48), 47853-61.
15. Wang, S.; Zhang, B.; Faller, D. V., Prohibitin requires Brg-1 and Brm for the repression of E2F and cell growth. *EMBO J* **2002**, *21* (12), 3019-28.
16. Zhang, B.; Chambers, K. J.; Faller, D. V.; Wang, S., Reprogramming of the SWI/SNF complex for co-activation or co-repression in prohibitin-mediated estrogen receptor regulation. *Oncogene* **2007**, *26* (50), 7153-7.
17. Dell'Orco, R. T.; McClung, J. K.; Jupe, E. R.; Liu, X. T., Prohibitin and the senescent phenotype. *Exp Gerontol* **1996**, *31* (1-2), 245-52.
18. Liu, X. T.; Stewart, C. A.; King, R. L.; Danner, D. A.; Dell'Orco, R. T.; McClung, J. K., Prohibitin expression during cellular senescence of human diploid fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* **1994**, *201* (1), 409-14.
19. Guo, W.; Xu, H.; Chen, J.; Yang, Y.; Jin, J. W.; Fu, R.; Liu, H. M.; Zha, X. L.; Zhang, Z. G.; Huang, W. Y., Prohibitin suppresses renal interstitial fibroblasts proliferation and phenotypic change induced by transforming growth factor-beta1. *Mol Cell Biochem* **2007**, *295* (1-2), 167-77.

20. Nuell, M. J.; Stewart, D. A.; Walker, L.; Friedman, V.; Wood, C. M.; Owens, G. A.; Smith, J. R.; Schneider, E. L.; Dell' Orco, R.; Lumpkin, C. K.; et al., Prohibitin, an evolutionarily conserved intracellular protein that blocks DNA synthesis in normal fibroblasts and HeLa cells. *Mol Cell Biol* **1991**, *11* (3), 1372-81.
21. Terashima, M.; Kim, K. M.; Adachi, T.; Nielsen, P. J.; Reth, M.; Kohler, G.; Lamers, M. C., The IgM antigen receptor of B lymphocytes is associated with prohibitin and a prohibitin-related protein. *EMBO J* **1994**, *13* (16), 3782-92.
22. Montano, M. M.; Ekena, K.; Delage-Mourroux, R.; Chang, W.; Martini, P.; Katzenellenbogen, B. S., An estrogen receptor-selective coregulator that potentiates the effectiveness of antiestrogens and represses the activity of estrogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1999**, *96* (12), 6947-52.
23. Kurtev, V.; Margueron, R.; Kroboth, K.; Ogris, E.; Cavailles, V.; Seiser, C., Transcriptional regulation by the repressor of estrogen receptor activity via recruitment of histone deacetylases. *The Journal of biological chemistry* **2004**, *279* (23), 24834-43.
24. Umanskaya, K.; Radke, S.; Chander, H.; Monardo, R.; Xu, X.; Pan, Z. Q.; O'Connell, M. J.; Germain, D., Skp2B stimulates mammary gland development by inhibiting REA, the repressor of the estrogen receptor. *Mol Cell Biol* **2007**, *27* (21), 7615-22.
25. Heron-Milhavet, L.; Mamaeva, D.; Rochat, A.; Lamb, N. J.; Fernandez, A., Akt2 is implicated in skeletal muscle differentiation and specifically binds Prohibitin2/REA. *Journal of cellular physiology* **2008**, *214* (1), 158-65.
26. Ross, J. A.; Nagy, Z. S.; Kirken, R. A., The PHB1/2 phosphocomplex is required for mitochondrial homeostasis and survival of human T cells. *The Journal of biological chemistry* **2008**, *283* (8), 4699-713.
27. Ebada, S. S.; Lajkiewicz, N.; Porco, J. A.; Li-Weber, M.; Proksch, P., Chemistry and Biology of Rocaglamides (= Flavaglines) and Related Derivatives from *Aglaia* Species (Meliaceae). In *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products Vol. 94*, Kinghorn, A. D.; Falk, H.; Kobayashi, J., Eds. Springer Vienna: Vienna, 2011; pp 1-58.
28. Lu King, M.; Chiang, C.-C.; Ling, H.-C.; Fujita, E.; Ochiai, M.; McPhail, A. T., X-Ray crystal structure of rocaglamide, a novel antileulemic 1H-cyclopenta[b]benzofuran from *Aglaia elliptifolia*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1982**, (20), 1150-1151.
29. Basmadjian, C.; Thuaud, F.; Ribeiro, N.; Désaubry, L., Flavaglines: potent anticancer drugs that target prohibitins and the helicase eIF4A. *Future Medicinal Chemistry* **2013**, *5* (18), 2185-2197.
30. Qureshi, R.; Yildirim, O.; Gasser, A.; Basmadjian, C.; Zhao, Q.; Wilmet, J.-P.; Désaubry, L.; Nebigil, C. G., FL3, a Synthetic Flavagline and Ligand of Prohibitins, Protects Cardiomyocytes via STAT3 from Doxorubicin Toxicity. *PLOS ONE* **2015**, *10* (11), e0141826.
31. Sato, S.-i.; Murata, A.; Orihara, T.; Shirakawa, T.; Suenaga, K.; Kigoshi, H.; Uesugi, M., Marine Natural Product Aurilide Activates the OPA1-Mediated Apoptosis by Binding to Prohibitin. *Chemistry & Biology* **2011**, *18* (1), 131-139.
32. Snyder, J. R.; Hall, A.; Ni-Komatsu, L.; Khersonsky, S. M.; Chang, Y.-T.; Orlow, S. J., Dissection of melanogenesis with small molecules identifies prohibitin as a regulator. *Chemistry & Biology* **2005**, *12* (4), 477-484.
33. Djehal, A.; Krayem, M.; Najem, A.; Hammoud, H.; Cresteil, T.; Nebigil, C. G.; Wang, D.; Yu, P.; Bentouhami, E.; Ghanem, G. E.; Désaubry, L., Targeting prohibitin with small molecules to promote melanogenesis and apoptosis in melanoma cells. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *155*, 880-888.
34. Cosialls, A. M.; Pomares, H.; Iglesias-Serret, D.; Saura-Esteller, J.; Núñez-Vázquez, S.; González-Gironès, D. M.; de la Banda, E.; Preciado, S.; Albericio, F.; Lavilla, R.; Pons, G.; González-Barca, E. M.; Gil, J., The prohibitin-binding compound fluorizoline induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells

through the upregulation of NOXA and synergizes with ibrutinib, 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside or venetoclax. *Haematologica* **2017**, *102* (9), 1587-1593.

35. Mussi, P.; Liao, L.; Park, S.-E.; Ciana, P.; Maggi, A.; Katzenellenbogen, B. S.; Xu, J.; O'Malley, B. W., Haploinsufficiency of the corepressor of estrogen receptor activity (REA) enhances estrogen receptor function in the mammary gland. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, *103* (45), 16716-16721.

36. Kim, J.-W.; Akiyama, M.; Park, J.-H.; Lin, M.-L.; Shimo, A.; Ueki, T.; Daigo, Y.; Tsunoda, T.; Nishidate, T.; Nakamura, Y.; Katagiri, T., Activation of an estrogen/estrogen receptor signaling by BIG3 through its inhibitory effect on nuclear transport of PHB2/REA in breast cancer. *Cancer Science* **2009**, *100* (8), 1468-1478.

37. Yoshimaru, T.; Komatsu, M.; Tashiro, E.; Imoto, M.; Osada, H.; Miyoshi, Y.; Honda, J.; Sasa, M.; Katagiri, T., Xanthohumol suppresses oestrogen-signalling in breast cancer through the inhibition of BIG3-PHB2 interactions. *Scientific Reports* **2014**, *4*, 7355.

38. Bacher, S.; Achatz, G.; Schmitz, M. L.; Lamers, M. C., Prohibitin and prohibitone are contained in high-molecular weight complexes and interact with alpha-actinin and annexin A2. *Biochimie* **2002**, *84* (12), 1207-1220.

39. Kolonin, M. G.; Saha, P. K.; Chan, L.; Pasqualini, R.; Arap, W., Reversal of obesity by targeted ablation of adipose tissue. *Nature Medicine* **2004**, *10*, 625.

40. Staquicini, F. I.; Cardó-Vila, M.; Kolonin, M. G.; Trepel, M.; Edwards, J. K.; Nunes, D. N.; Sergeeva, A.; Efstathiou, E.; Sun, J.; Almeida, N. F.; Tu, S.-M.; Botz, G. H.; Wallace, M. J.; O'Connell, D. J.; Krajewski, S.; Gershenwald, J. E.; Mollndrem, J. J.; Flamm, A. L.; Koivunen, E.; Pentz, R. D.; Dias-Neto, E.; Setubal, J. C.; Cahill, D. J.; Troncoso, P.; Do, K.-A.; Logothetis, C. J.; Sidman, R. L.; Pasqualini, R.; Arap, W., Vascular ligand-receptor mapping by direct combinatorial selection in cancer patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2011**.

41. Holzer, P., Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacological Reviews* **1991**, *43* (2), 143.

42. Ito, K.; Nakazato, T.; Yamato, K.; Miyakawa, Y.; Yamada, T.; Hozumi, N.; Segawa, K.; Ikeda, Y.; Kizaki, M., Induction of Apoptosis in Leukemic Cells by Homovanillic Acid Derivative, Capsaicin, through Oxidative Stress. *Cancer Research* **2004**, *64* (3), 1071.

43. Mori, A.; Lehmann, S.; Kelly, J.; Kumagai, T.; Desmond, J. C.; Pervan, M.; McBride, W. H.; Kizaki, M.; Koeffler, H. P., Capsaicin, a Component of Red Peppers, Inhibits the Growth of Androgen-Independent, p53 Mutant Prostate Cancer Cells. *Cancer Research* **2006**, *66* (6), 3222.

44. Kuramori, C.; Azuma, M.; Kume, K.; Kaneko, Y.; Inoue, A.; Yamaguchi, Y.; Kabe, Y.; Hosoya, T.; Kizaki, M.; Suematsu, M.; Handa, H., Capsaicin binds to prohibitin 2 and displaces it from the mitochondria to the nucleus. *Biochemical and biophysical research communications* **2009**, *379* (2), 519-525.

45. Perron, A.; Nishikawa, Y.; Iwata, J.; Shimojo, H.; Takaya, J.; Kobayashi, K.; Imayoshi, I.; Mbenza, N. M.; Takenoya, M.; Kageyama, R., Small-molecule screening yields a compound that inhibits the cancer-associated transcription factor Hes1 via the PHB2 chaperone. *Journal of Biological Chemistry* **2018**, *293* (21), 8285-8294.

46. Lee, M. Y.; Kim, M. H.; Kim, J.; Kim, S. H.; Kim, B. T.; Jeong, I. H.; Chang, S.; Kim, S. H.; Chang, S.-Y., Synthesis and SAR of sulfonyl- and phosphoryl amidine compounds as anti-resorptive agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (2), 541-545.

47. Chang, S.-Y.; Bae, S. J.; Lee, M. Y.; Baek, S.-h.; Chang, S.; Kim, S. H., Chemical affinity matrix-based identification of prohibitin as a binding protein to anti-resorptive sulfonyl amidine compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (2), 727-729.

48. Lee, C. H.; Choi, S.-W.; Kim, J.-Y.; Kim, S. H.; Yoon, K.-H.; Oh, J.; Lee, M. S., Overexpression of prohibitin-1 inhibits RANKL-induced activation of p38-Elk-1-SRE signaling axis blocking MKK6 activity. *Biochemical and biophysical research communications* **2015**, *463* (4), 1028-1033.
49. Kim, M. H.; Park, M.; Song, J. S.; Park, S.-J.; Kim, S. H., Anti-resorptive activity and pharmacokinetic study of N(1),N(1)-diisopropyl-N(2)-(diphenylphosphoryl)-2-(4-nitrophenyl)acetamide. *Bioorg Med Chem Lett* **2011**, *21* (14), 4263-4266.
50. Amarasekara, D. S.; Yun, H.; Kim, S.; Lee, N.; Kim, H.; Rho, J., Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune Netw* **2018**, *18* (1), e8-e8.
51. Crockett, J. C.; Mellis, D. J.; Scott, D. I.; Helfrich, M. H., New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporosis International* **2011**, *22* (1), 1-20.
52. Bi, H.; Chen, X.; Gao, S.; Yu, X.; Xiao, J.; Zhang, B.; Liu, X.; Dai, M., Key Triggers of Osteoclast-Related Diseases and Available Strategies for Targeted Therapies: A Review. *Frontiers in Medicine* **2017**, *4* (234).
53. Lee, C. H.; Choi, S. W.; Kim, J. Y.; Kim, S. H.; Yoon, K. H.; Oh, J.; Lee, M. S., Overexpression of prohibitin-1 inhibits RANKL-induced activation of p38-Elk-1-SRE signaling axis blocking MKK6 activity. *Biochemical and biophysical research communications* **2015**, *463* (4), 1028-33.
54. (a) Suja, T. D.; Divya, K. V. L.; Naik, L. V.; Ravi Kumar, A.; Kamal, A., Copper-catalyzed three-component synthesis of aminonaphthoquinone-sulfonylamidine conjugates and in vitro evaluation of their antiproliferative activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2016**, *26* (8), 2072-2076; (b) Song, Z.-L.; Chen, H.-L.; Wang, Y.-H.; Goto, M.; Gao, W.-J.; Cheng, P.-L.; Morris-Natschke, S. L.; Liu, Y.-Q.; Zhu, G.-X.; Wang, M.-J.; Lee, K.-H., Design and synthesis of novel PEG-conjugated 20(S)-camptothecin sulfonylamidine derivatives with potent in vitro antitumor activity via Cu-catalyzed three-component reaction. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2015**, *25* (13), 2690-2693; (c) Wang, M.-J.; Liu, Y.-Q.; Chang, L.-C.; Wang, C.-Y.; Zhao, Y.-L.; Zhao, X.-B.; Qian, K.; Nan, X.; Yang, L.; Yang, X.-M.; Hung, H.-Y.; Yang, J.-S.; Kuo, D.-H.; Goto, M.; Morris-Natschke, S. L.; Pan, S.-L.; Teng, C.-M.; Kuo, S.-C.; Wu, T.-S.; Wu, Y.-C.; Lee, K.-H., Design, Synthesis, Mechanisms of Action, and Toxicity of Novel 20(S)-Sulfonylamidine Derivatives of Camptothecin as Potent Antitumor Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *57* (14), 6008-6018.
55. Yang, L.; Zhao, Y.-L.; Zhao, C.-Y.; Li, H.-H.; Wang, M.-J.; Morris-Natschke, S. L.; Qian, K.; Lee, K.-H.; Liu, Y.-Q., Design, synthesis, crystal structure, bioactivity, and molecular docking studies of novel sulfonylamidine-derived neonicotinoid analogs. *Medicinal Chemistry Research* **2014**, *23* (12), 5043-5057.
56. King, C., Some Reactions of p-Toluenesulfonyl Isocyanate. *The Journal of Organic Chemistry* **1960**, *25* (3), 352-356.
57. (a) Bae, I.; Han, H.; Chang, S., Highly Efficient One-Pot Synthesis of N-Sulfonylamidines by Cu-Catalyzed Three-Component Coupling of Sulfonyl Azide, Alkyne, and Amine. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (7), 2038-2039; (b) Yoo, E. J.; Ahlquist, M.; Bae, I.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Chang, S., Mechanistic Studies on the Cu-Catalyzed Three-Component Reactions of Sulfonyl Azides, 1-Alkynes and Amines, Alcohols, or Water: Dichotomy via a Common Pathway. *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, *73* (14), 5520-5528.
58. Xu, X.; Li, X.; Ma, L.; Ye, N.; Weng, B., An Unexpected Diethyl Azodicarboxylate-Promoted Dehydrogenation of Tertiaryamine and Tandem Reaction with Sulfonyl Azide. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (43), 14048-14049.
59. DeKorver, K. A.; Johnson, W. L.; Zhang, Y.; Hsung, R. P.; Dai, H.; Deng, J.; Lohse, A. G.; Zhang, Y.-S., N-Allyl-N-sulfonyl Ynamides as Synthetic Precursors to Amidines and Vinylogous Amidines. An Unexpected N-to-C 1,3-Sulfonyl Shift in Nitrile Synthesis. *The Journal of Organic Chemistry* **2011**, *76* (12), 5092-5103.



60. Aswad, M.; Chiba, J.; Tomohiro, T.; Hatanaka, Y., Coupling reaction of thioamides with sulfonyl azides: an efficient catalyst-free click-type ligation under mild conditions. *Chemical Communications* **2013**, 49 (87), 10242-10244.
61. Kim, J.; Stahl, S. S., Cu-Catalyzed Aerobic Oxidative Three-Component Coupling Route to N-Sulfonyl Amidines via an Ynamine Intermediate. *The Journal of Organic Chemistry* **2015**, 80 (4), 2448-2454.
62. (a) Martín, R.; Rodríguez Rivero, M.; Buchwald, S. L., Domino Cu-Catalyzed C<sup>2</sup> N Coupling/Hydroamidation: A Highly Efficient Synthesis of Nitrogen Heterocycles. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, 45 (42), 7079-7082; (b) Ackermann, L.; Barfuesser, S.; Potukuchi, H. K., Copper-Catalyzed N-Arylation/Hydroamination Domino Synthesis of Indoles and its Application to the Preparation of a Chek1/KDR Kinase Inhibitor Pharmacophore. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2009**, 351 (7-8), 1064-1072; (c) Zhou, L.; Bohle, D. S.; Jiang, H.-F.; Li, C.-J., Synthesis of propargylamines by a copper-catalyzed tandem anti-Markovnikov hydroamination and alkyne addition. *Synlett* **2009**, 2009 (06), 937-940; (d) Fukumoto, Y.; Asai, H.; Shimizu, M.; Chatani, N., Anti-Markovnikov Addition of Both Primary and Secondary Amines to Terminal Alkynes Catalyzed by the TpRh (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sub>2</sub>/PPh<sub>3</sub> System. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, 129 (45), 13792-13793.
63. Chen, J.; Long, W.; Fang, S.; Yang, Y.; Wan, X., Interception of amide ylides with sulfonamides: synthesis of (E)-N-sulfonyl amidines catalyzed by Zn(OTf)<sub>2</sub>. *Chemical Communications* **2017**, 53 (99), 13256-13259.
64. Krebs, O.; Dubuis, S., Processes for making zilpaterol and salts thereof. Google Patents: 2013.
65. Volkov, A.; Tinnis, F.; Adolfsson, H., Catalytic Reductive Dehydration of Tertiary Amides to Enamines under Hydrosilylation Conditions. *Organic Letters* **2014**, 16 (3), 680-683.
66. Green, J.; Wilson, D. M.; Kong, L. C. C.; Das, S. K.; Poisson, C.; Tang, Q.; Li, P.; Collier, P. N.; Waal, N.; Lauffer, D. J., Compounds and methods for the treatment or prevention of flavivirus infections. Google Patents: 2013.
67. Magnus, P.; Moursounidis, J., Reactions and diastereoselectivity of N<sup>2</sup>-arylsulfonyl amidine anions. *The Journal of Organic Chemistry* **1991**, 56 (4), 1529-1534.
68. Dumas, A. M.; Fillion, E., Meldrum's Acids and 5-Alkylidene Meldrum's Acids in Catalytic Carbon-Carbon Bond-Forming Processes. *Accounts of Chemical Research* **2010**, 43 (3), 440-454.
69. Desai, U. V.; Pore, D. M.; Mane, R. B.; Solabannavar, S. B.; Wadgaonkar, P. P., One Pot Synthesis of Monoalkylated and Mixed, Dialkylated Meldrum's Acid Derivatives. *Synthetic Communications* **2004**, 34 (1), 25-32.
70. Tóth, G.; Kövér, K. E., Simple, safe, large scale synthesis of 5-arylmethyl-2, 2-dimethyl-1, 3-dioxane-4, 6-diones and 3-arylpropanoic acids. *Synthetic Communications* **1995**, 25 (19), 3067-3074.
71. Sautier, B.; Lyons, S. E.; Webb, M. R.; Procter, D. J., Radical cyclization cascades of unsaturated meldrum's acid derivatives. *Organic Letters* **2011**, 14 (1), 146-149.
72. Leibfarth, F. A.; Wolffs, M.; Campos, L. M.; Delany, K.; Treat, N.; Kade, M. J.; Moon, B.; Hawker, C. J., Low-temperature ketene formation in materials chemistry through molecular engineering. *Chemical Science* **2012**, 3 (3), 766-771.
73. Mishra, A. K.; Nagarajaiah, H.; Moorthy, J. N., Trihaloisocyanuric Acids as Atom-Economic Reagents for Halogenation of Aromatics and Carbonyl Compounds in the Solid State by Ball Milling. *European Journal of Organic Chemistry* **2015**, 2015 (12), 2733-2738.
74. McElwee-White, L.; Goddard Iii, W. A.; Dougherty, D. A., Theoretical studies on 1,4,6,9-spiro[4.4]nonatetrayl, an organic tetradical. *Journal of the American Chemical Society* **1984**, 106 (12), 3461-3466.
75. (a) Aleku, G. A.; France, S. P.; Man, H.; Mangas-Sanchez, J.; Montgomery, S. L.; Sharma, M.; Leipold, F.; Hussain, S.; Grogan, G.; Turner, N. J., A reductive aminase from *Aspergillus oryzae*. *Nature*

- Chemistry* **2017**, *9*, 961; (b) Su, B.; Lee, T.; Hartwig, J. F., Iridium-Catalyzed,  $\beta$ -Selective C(sp<sup>3</sup>)-H Silylation of Aliphatic Amines To Form Silapyrrolidines and 1,2-Amino Alcohols. *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140* (51), 18032-18038; (c) Odabachian, Y.; Wang, Q.; Zhu, J., Tertiary Amines as Synthetic Equivalents of Vinyl Cations: Zinc Bromide Promoted Coupling of Propargylamines with  $\alpha$ -Isocyanoacetamides To Give 2,4,5-Trisubstituted Oxazoles Initiated by an Internal Redox Process. *Chemistry – A European Journal* **2013**, *19* (37), 12229-12233.
76. Kim, M. J.; Kim, B. R.; Lee, C. Y.; Kim, J., N-Sulfonyl amidine synthesis via three-component coupling reaction using heterogeneous copper catalyst derived from metal-organic frameworks. *Tetrahedron Letters* **2016**, *57* (36), 4070-4073.
77. Gamo, A. M.; González-Vera, J. A.; Rueda-Zubiaurre, A.; Alonso, D.; Vázquez-Villa, H.; Martín-Couce, L.; Palomares, Ó.; López, J. A.; Martín-Fontecha, M.; Benhamú, B., Chemoproteomic Approach to Explore the Target Profile of GPCR ligands: Application to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>6</sub> Receptors. *Chemistry-A European Journal* **2016**, *22* (4), 1313-1321.
78. Lange, J. H. M.; Verhoog, S.; Sanders, H. J.; van Loevezijn, A.; Kruse, C. G., A novel atom-efficient, one-pot synthesis of sulfonylguanidines and sulfamoylguanidines. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52* (25), 3198-3200.
79. Saidykhan, A.; Bowen, R. D.; Gallagher, R. T.; Martin, W. H. C., Intramolecular NC rearrangements involving sulfonamide protecting groups. *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56* (1), 66-68.
80. Kumar, V.; Kaushik, M. P.; Mazumdar, A., An Efficient Approach for the Synthesis of N-1 Substituted Hydantoins. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008* (11), 1910-1916.
81. Nikalje, M. D.; Sasikumar, M.; Muthukrishnan, M., A facile enantioselective synthesis of enantiomerically pure (R)-phenoxybenzamine hydrochloride using the hydrolytic kinetic resolution method. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21* (23), 2825-2829.
82. Fest, C.; Riebel, H.-J.; Santel, H.-J.; Schmidt, R. R.; Strang, R. H., Phenylsulphonylisourea herbicides. Google Patents: 1989.
83. Hernández-Rodríguez, M.; Avila-Ortiz, C. G.; del Campo, J. M.; Hernández-Romero, D.; Rosales-Hoz, M. J.; Juaristi, E., Synthesis of Novel Chiral (Thio)ureas and Their Application as Organocatalysts and Ligands in Asymmetric Synthesis. *Australian Journal of Chemistry* **2008**, *61* (5), 364-375.
84. Cornelissen, L.; Vercruyse, S.; Sanhadji, A.; Riant, O., Copper-Catalyzed Vinylsilane Allylation. *European Journal of Organic Chemistry* **2014**, *2014* (1), 35-38.
85. Makabe, H.; Hattori, Y.; Kimura, Y.; Konno, H.; Abe, M.; Miyoshi, H.; Tanaka, A.; Oritani, T., Total synthesis of cis-solamin and its inhibitory action with bovine heart mitochondrial complex I. *Tetrahedron* **2004**, *60* (47), 10651-10657.
86. Jakobsche, C. E.; McEnaney, P. J.; Zhang, A. X.; Spiegel, D. A., Reprogramming Urokinase into an Antibody-Recruiting Anticancer Agent. *ACS Chemical Biology* **2012**, *7* (2), 316-321.
87. Wang, X.; Wicher, B.; Ferrand, Y.; Huc, I., Orchestrating Directional Molecular Motions: Kinetically Controlled Supramolecular Pathways of a Helical Host on Rodlike Guests. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139* (27), 9350-9358.
88. Chen, T.-Y.; Tsutsumi, R.; Montgomery, T. P.; Volchkov, I.; Krische, M. J., Ruthenium-Catalyzed C-C Coupling of Amino Alcohols with Dienes via Transfer Hydrogenation: Redox-Triggered Imine Addition and Related Hydroaminoalkylations. *Journal of the American Chemical Society* **2015**, *137* (5), 1798-1801.
89. Bigi, F.; Carloni, S.; Ferrari, L.; Maggi, R.; Mazzacani, A.; Sartori, G., Clean synthesis in water. Part 2: Uncatalysed condensation reaction of Meldrum's acid and aldehydes. *Tetrahedron Letters* **2001**, *42* (31), 5203-5205.
90. Eberle, M.; Lawton, R. G., Thioalkylation of Meldrum's Acid: Protected alkylidene derivatives of isopropylidene malonate. *Helvetica Chimica Acta* **1988**, *71* (8), 1974-1982.

91. Baud'huin, M.; Lamoureux, F.; Jacques, C.; Calleja, L. R.; Quillard, T.; Charrier, C.; Amiaud, J.; Berreur, M.; Brounais-LeRoyer, B.; Owen, R.; Reilly, G. C.; Bradner, J. E.; Heymann, D.; Ory, B., Inhibition of BET proteins and epigenetic signaling as a potential treatment for osteoporosis. *Bone* **2017**, *94*, 10-21.
92. Wintachai, P.; Thuaud, F.; Basmadjian, C.; Roytrakul, S.; Ubol, S.; Désaubry, L.; Smith, D. R., Assessment of flavaglines as potential chikungunya virus entry inhibitors. *Microbiology and Immunology* **2015**, *59* (3), 129-141.

# Redouane TABTI

## Développement de ligands anticlastogéniques des prohibitines

### Résumé

Avec le vieillissement de la population, il y a un besoin urgent d'améliorer le traitement de l'ostéoporose. Les prohibitines (PHBs) sont des protéines d'échafaudage qui contrôlent de nombreuses fonctions biologiques, notamment la production d'ostéoclastes responsables de la résorption du tissu osseux.

Notre objectif a consisté à déterminer les requis structuraux de sulfonamidines ligands des PHBs pour leur action sur la différenciation des ostéoclastes.

Nous avons synthétisé une cinquantaine de sulfonamidines, ce qui nous a permis de préciser les relations structure-activités de ces composés et d'identifier des composés plus actifs que les sulfonamidines décrites dans la littérature. En plus de cette activité antiostéoporotique, ces nouveaux ligands seront utiles pour caractériser la signalisation des PHBs dans différents types cellulaires.

Pour préparer ces composés, nous avons été amenés à développer des méthodologies de synthèse originale, notamment pour générer des caprolactames fonctionnalisés.

**Mots-clés** : chimie médicinale, prohibitines, ostéoporose, caprolactames.

### Résumé en anglais

With the aging of the population, there is an urgent need to improve the treatment of osteoporosis. Prohibitins (PHBs) are scaffold proteins that control many biological functions, including the production of osteoclasts responsible for bone resorption.

Our goal was to determine the structural requirements of ligands PHBs belonging to the class of sulfonamidines for their action on the differentiation of osteoclasts.

We have synthesized about fifty sulfonamidines, which allowed us to specify the structure-activity relationships of these compounds and to identify more active compounds than the sulfonamidines described in the literature. In addition to this antiosteoporotic activity, these novel ligands will be useful for characterizing the signaling of PHBs in different cell types.

To prepare these compounds, we have been led to develop original synthesis methodologies, in particular to generate functionalized caprolactams.

**Keywords**: medicinal chemistry, prohibitine, osteoporosis, caprolactams.