

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE LOUIS PASTEUR
DE STRASBOURG

Par

Nigel RIBEIRO

**Synthèse de polycycloprénols et étude biophysique de leurs
propriétés membranaires**

Soutenue le 10 mars 2006 devant la commission d'examen

Docteur	A.M. Albrecht	Président – rapporteur interne
Professeur	G. Ourisson	
Professeur	A. Milon	Rapporteur externe
Professeur	L. Fensterbank	Rapporteur externe
Professeur	Y. Nakatani	Directeur de thèse
Docteur	L. Désaubry	Directeur de thèse

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE LOUIS PASTEUR
DE STRASBOURG

Par

Nigel RIBEIRO

**Synthèse de polycycloprénols et étude biophysique de leurs
propriétés membranaires**

Soutenue le 10 mars 2006 devant la commission d'examen

Docteur	A.M. Albrecht	Président – rapporteur interne
Professeur	G. Ourisson	
Professeur	A. Milon	Rapporteur externe
Professeur	L. Fensterbank	Rapporteur externe
Professeur	Y. Nakatani	Directeur de thèse
Docteur	L. Désaubry	Directeur de thèse

à ma maman
à ma famille

Sommaire

Introduction générale

1. Fonctions des membranes.....	3
2. Structures et organisation des lipides membranaires.....	3
3. Classification des membranes.....	5
4. Théorie de l'évolution.....	8
4.1. Des géohopanoïdes aux biohopanoïdes	8
4.2. Classification phylogénétique	9
4.3. Formation hypothétique des polyprényl phosphates	10
5. Polycycloprénols.....	12
6. But de ma thèse : Synthèse de polycycloprénols et étude biophysique de leurs propriétés membranaires.....	13

Chapitre 1 : Partie chimie

1. Synthèses décrites du tricyclohexaprénol.....	21
2. Stratégie de synthèse des polycycloprénols.....	23
3. Bibliographie.....	25
3.1. Homologation isoprénique	25
3.2. Synthèse d'allylsilane	26
3.2.1. Alkylation de silanes lithiés	26
3.2.2. Synthèse d'allylsilane par réduction lithiatrice	27
3.3. Cyclisation biomimétique contrôlée par un allylsilane	29
4. Résultats.....	30
4.1. 1ère approche : essai d'alkylation d'un allylsilane métallé	30
4.2. Réduction lithiatrice de thioéthers	31
5. Homologation isoprénique du bicyclogéranylgeraniol : synthèse du bicyclogéranylfarnésol 45 et du bicyclofarnésylfarnésol 46.....	34
Publication n°1	39

Chapitre 2 : Partie biophysique

1. Formation spontanée de vésicules en phase aqueuse.....	49
1.1. Théorie d'Israelachvili et coll.	49
1.2. Phosphate de polyprényle et étude microscopique	50
2. Perméabilité à l'eau.....	51
2.1. Diffusion de la lumière par flux à écoulement bloqué	51
2.2. Préparation des vésicules	53
2.2.1. Suspension aqueuse poly-dispersée	53
2.2.2. Suspension aqueuse mono dispersée	53
2.2.3. Méthode sélectionnée	55
2.2.4. Caractérisation du diamètre moyen des vésicules par spectroscopie à corrélation photonique	55
3. Résultats.....	56
3.1. Formation de vésicules de système de géranylgeranyl phosphate/bicyclopolyprénols en fonction du pH	58

3.2. Perméabilité à l'eau d'une membrane de géranylgéranyl phosphate/bicyclopolyprénols	61
Publication n°2	70
Conclusion générale	97
Partie expérimentale	101
Généralités.....	103
Publication N°=1.....	107
Synthèse des bicyclopolyprénols.....	130
Publication N°=2.....	143
Remerciements.....	163

INTRODUCTION GENERALE

Les délibérations de la communauté scientifique sur l'origine moléculaire de la vie portent essentiellement sur la formation des nucléotides, des aminoacides, des sucres et des protéines [1]. Pourtant, une des caractéristiques essentielle de tous les organismes vivant est systématiquement oubliée : l'origine moléculaire des membranes qui délimitent les cellules [2-5]. Le laboratoire des Professeurs Guy Ourisson et Yoichi Nakatani a abordé ce thème en cherchant à comprendre l'origine et l'évolution des membranes [5].

1. Fonction des membranes

Tous les organismes vivants sont composés de cellules qui sont séparés du monde extérieur par une fine couche de lipides, la membrane plasmique. Cette membrane entourant les cellules délimite le volume de la cellule et maintient les différences indispensables entre le cytoplasme et le milieu extracellulaire. Son rôle est d'assurer l'homéostasie face aux contraintes de pression osmotique, de choc mécanique, de variation de pH, de variation de température... En 1972, J. S. Singer et G. Nicolson ont proposé un modèle de membrane, la "mosaïque fluide", constituée d'une double-couche fluide de phospholipides dans laquelle sont insérées les protéines et où les phospholipides et les protéines peuvent bouger latéralement [6]. Bien que la double couche lipidique soit épaisse de seulement deux molécules, elle est hautement imperméable à divers solutés tels que les ions, les sucres, les peptides... Par contre, la membrane plasmique sert de « solvant » aux protéines hydrophobes qui assurent différentes fonctions, dont le passage du matériel biologique.

2. Structures et organisation des lipides membranaires

Les lipides sont des composants fondamentaux pour la formation de la membrane. Ils sont principalement représentés par les phospholipides, les glycolipides et les stérols. Les phospholipides sont des molécules amphiphiles qui possèdent une partie hydrophobe (chaîne hydrocarbonée) et une partie hydrophile (tête polaire) qui s'auto-organisent en milieu aqueux pour former diverses structures tels que les micelles ou les bicouches lipidiques. Il existe une multitude de chaînes hydrocarbonées et de têtes polaires (Figure 1).

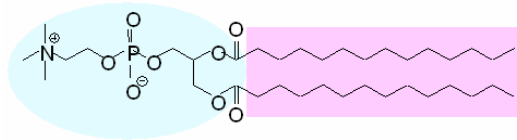


Figure 1 : Exemple de phospholipide, la dimyristoylphosphatidylcholine (bleu : partie polaire ; rouge : partie hydrophobe).

Micelles :

Les surfactants possédant une chaîne lipidique unique donnent surtout naissance à des micelles, agrégats non-lamellaires (Figure 2). Les chaînes hydrophobes se trouvent enfouies dans le volume intérieur de la micelle, qui peut être considéré comme « une goutte d'huile ». Les forces de van der Waals participent à la cohésion de la structure. Les parties hydrophiles forment une couche hydrophile à la surface de la micelle, qui empêche l'eau d'entrer en contact avec les parties hydrophobes. Les micelles sont des édifices stables qui peuvent se présenter sous des formes et des tailles variées.

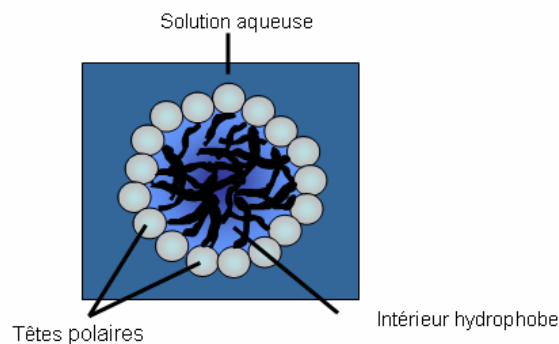


Figure 2 : Vue schématique d'une section de micelle à symétrie de révolution sphérique

Les bicouches lipidiques :

Les amphiphiles portant deux chaînes hydrocarbonées engendrent quant à elles plutôt des structures lamellaires en phase aqueuse. Les vésicules se présentent sous diverses morphologies (Figure 3). La bicouche lipidique est formée de deux feuilletés dans lesquels les têtes polaires des lipides tendent vers la phase aqueuse, tandis que les chaînes hydrophobes pointent vers l'intérieur de la membrane. Les vésicules uni-, multi- et oligo-lamellaires constituées d'un seul surfactant représentent l'exemple minimal de compartimentation (Figure 4).

Il existe cependant dans la littérature de nombreux exemples dans lesquels le nombre de chaînes lipidiques ne permet pas de prédire la morphologie des agrégats moléculaires [7-11].

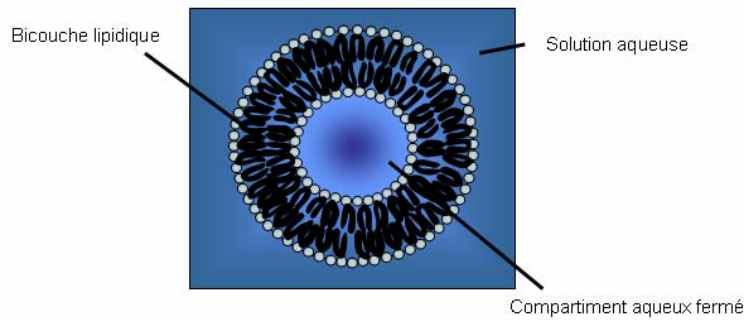


Figure 3 : Vue schématique d'une section d'une vésicule à symétrie de révolution sphérique.

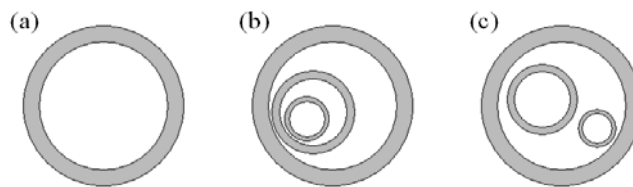


Figure 4 : Vésicules uni- (a), multi- (b) and oligo- (c) lamellaire

3. Classification des membranes

Les organismes vivants sont divisés en deux grandes classes :

- Les eucaryotes (du grec eu, vrai et caryon, noyau) qui possèdent un noyau et regroupent les animaux, les végétaux et les champignons.
- Les procaryotes (du grec pro, avant et caryon, noyau) qui ne possèdent pas de noyau.

Au milieu des années 70, Woese et ses collaborateurs [12] ont mis en évidence deux groupes différents chez les procaryotes : Les bactéries et les archéobactéries.

Dans les systèmes de classification moderne, fondée sur la phylogénie moléculaire, le monde du vivant est divisé en trois règnes : [13-15]

- Les eucaryotes :

C'est le règne le plus récent, qui inclut les animaux, les végétaux et les champignons. Les phospholipides sont les molécules fondamentales pour former la bicouche lipidique et différents stérols sont connus pour être des renforceurs membranaires qui stabilisent la membrane en modifiant la fluidité et la rigidité de celle-ci sur une plage étendue de températures [16]. Ces stérols améliorent les propriétés mécaniques des bicouches lipidiques

par la combinaison des liaisons hydrogènes entre la fonction alcool du stérol et la tête polaire du phospholipide, ainsi que les forces coopératives de van der Waals, grâce aux dimensions de son squelette rigide qui permet d'allonger et d'ordonner les chaînes phospholipidiques. Le cholestérol est le stérol qui renforce les membranes chez les animaux et pour les plantes c'est le sitostérol (Figure 5) [17].

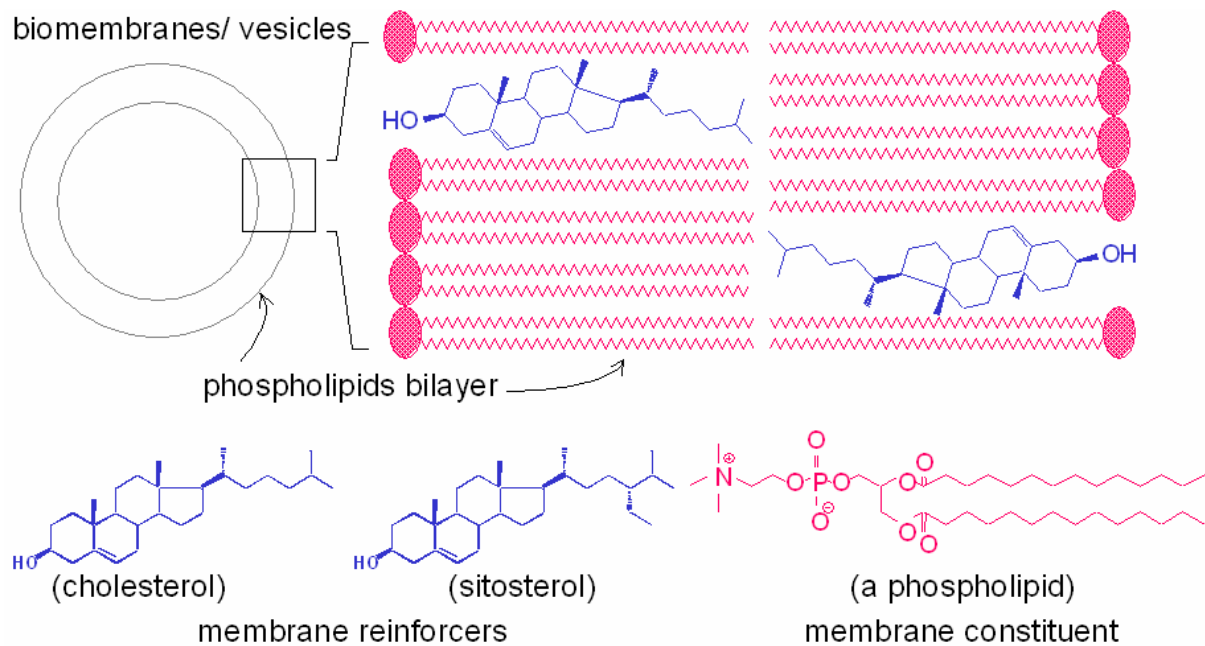


Figure 5 : Exemple de membrane d'eucaryote

•Les bactéries :

Les membranes de bactéries sont composées de phospholipides semblables à ceux des eucaryotes, mais n'ont pas de stérols. Néanmoins, les bactéries possèdent également des renforçateurs membranaires, qui sont d'autres polyterpènes, les hopanoïdes et les caroténoïdes (Figure 6) [18-21].

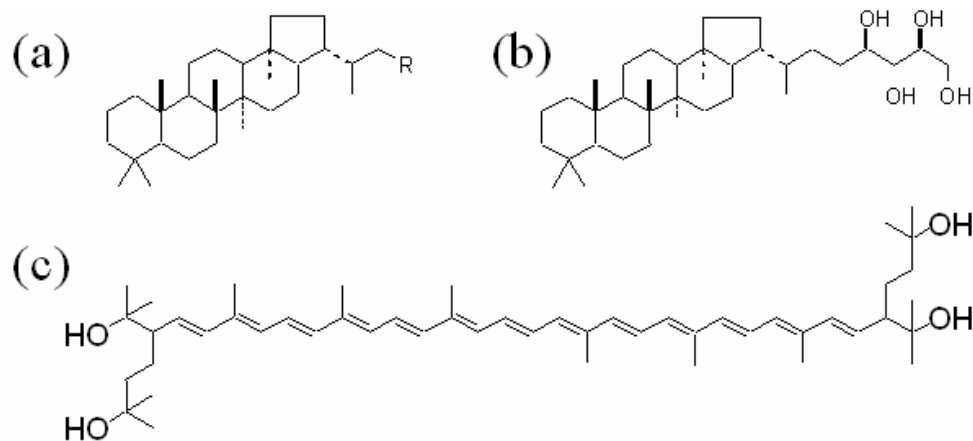


Figure 6 : Renforteurs membranaires des bactéries, hopanoïde (a), bactériohoponetétrol (b) et bactériorubérine (caroténoïdes) (c).

•Les archéobactéries :

Les membranes des archéobactéries sont formées par des lipides que l'on ne retrouve nul part ailleurs dans le monde du vivant [22]. Leurs chaînes carbonées sont des chaînes saturées terpéniques à base de di-phytanyl (C_{20}) ou de di-bisphytanyl (C_{40}) reliées au glycérol par une fonction éther et non ester comme chez les eucaryotes ou les bactéries [23]. Certains lipides, comme par exemple ceux de *Sulfolobus* et *Thermoplasma*, possèdent deux extrémités polaires et une partie apolaire qui traverse la membrane dans toute son épaisseur. Les lipides archéobactériens forment à eux seuls des vésicules et sont responsables de la résistance de ces cellules aux températures et pH extrêmes dans lesquels on les trouve [21, 24, 25, 26]. La stabilisation se fait donc par des « câbles » maintenus tendus par l'insertion de deux têtes polaires dans les compartiments aqueux de part et d'autre de la membrane (Figure 7).

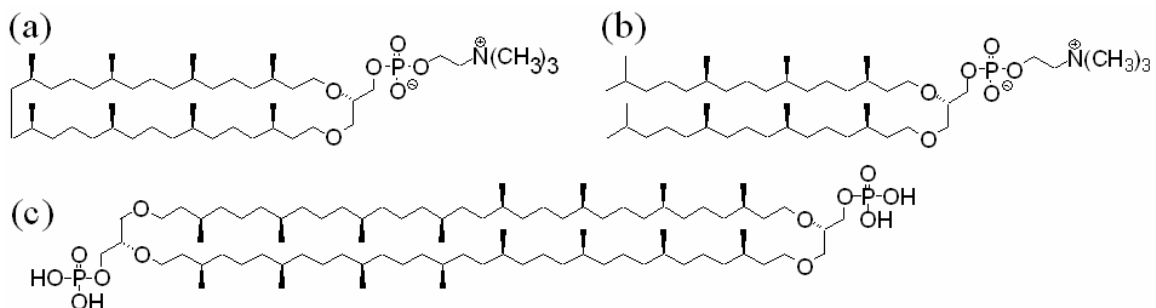


Figure 7 : Constituants membranaires des archéobactéries. Ether de di-phytanyl (a, b) et éther de di-bisphytanyl (c) se retrouvent chez *Methanococcus jannaschii* (a), *Halobacterium* (b) et *Sulfolobus*, *Thermoplasma*, *Methanogenes*(c)

4. Théorie de l'évolution

Les terpénoïdes sont ubiquistes et très variés dans les membranes biologiques (lipides archéobactériens, caroténoïdes, dolichol, cholestérol, hopanoïdes ...). Cette observation a conduit G. Ourisson et Y. Nakatani à insister sur le fait que les terpénoïdes sont présents dans les membranes cellulaires de tous les êtres vivants et les a amenés à se demander comment étaient constituées les membranes primitives [27]

4.1. Des géohopanoïdes aux biohopanoïdes

Il y a une trentaine d'années, G. Ourisson et P. Albrecht ont étudié les constituants complexes de la matière organique de sédiments (de pétrole, terre, schiste, charbon,...). Ils y ont trouvé les fossiles moléculaires d'une famille de triterpènes polycycliques, les géohopanoïdes (Figure 8) [28]. La découverte des géohopanoïdes était surprenante car les dérivés hopaniques n'étaient jusqu'alors connus que dans de rares plantes, mais surtout parce qu'ils renfermaient souvent dans leur structure 5 atomes de carbone de plus que les hopanes végétaux et qu'aucun précurseur naturel n'était connu.

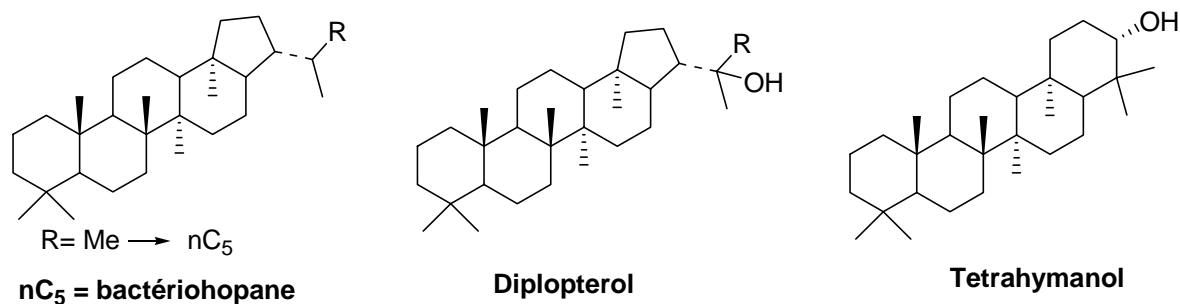


Figure 8 : Structure de quelques géohopanoïdes [29]

Par la suite G. Ourisson et M. Rohmer ont résolu le paradoxe des géohopanoïdes par la découverte d'un triterpène bactérien en C₃₅, le bactériohopanetétrol (Figure 9). La démonstration de sa structure et de nombreuses analyses de bactéries variées ont permis de montrer que les biohopanoïdes constituaient une famille de lipides bactériens répandus, abondants et variés dans toutes les classes de bactéries [30].

La structure du bactériohopanetétrol a suggéré à G. Ourisson qu'il pourrait être un analogue fonctionnel du cholestérol, dont il a les dimensions et le caractère amphiphile. Ceci

est maintenant établi par toute une variété de méthodes physiques portant sur des mono- et bicouches de phospholipides, ainsi que par des arguments biologiques.

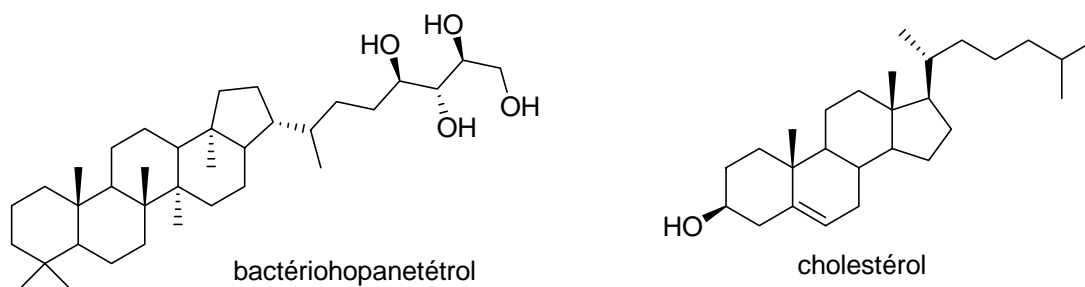


Figure 9 : Terpénoïdes (renforteurs membranaires).

Depuis, de nombreuses structures présentes dans les fossiles ont été identifiées. Elles ont donné dans certains cas des informations sur les processus de biosynthèse, et sur les mécanismes de maturation qui se déroulent dans les sédiments. Grâce aux règles de la biosynthèse des substances naturelles, les structures probables de leurs précurseurs ont pu être postulées. Ces précurseurs se sont souvent révélés être des dérivés terpéniques (Figure 10).

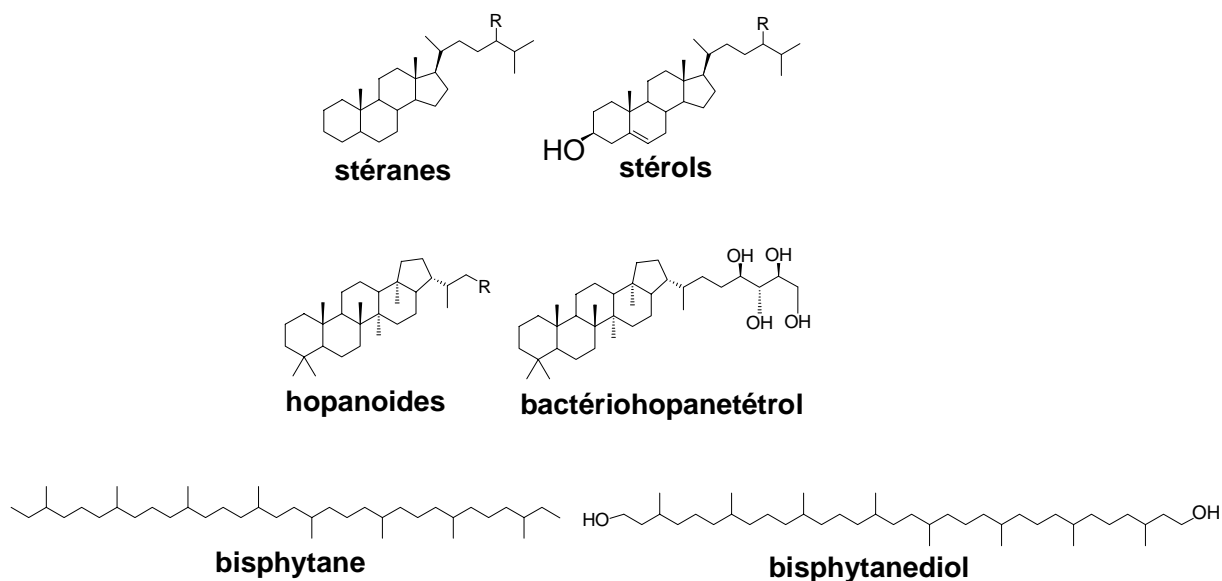


Figure 10 : Terpènes découverts dans différents types de sédiments et leurs précurseurs postulés ou prouvés biogénétiques [28].

4.2. Classification phylogénétique

G. Ourisson et Y. Nakatani ont postulé que tous ces dérivés terpéniques, constituants membranaires prouvés ou postulés, pouvaient être classés en une séquence phylogénétique

raisonnable. Chaque famille donne naissance à la suivante par mise en jeu d'une seule nouvelle étape enzymatique [5].

Ils ont proposé différentes règles pour définir les critères de « primitivité » qui sont :

- Quand deux molécules peuvent assurer la même fonction, la plus primitive est celle qui nécessite le moins de réactions enzymatiques et les plus simples.
- Les additions d'électrophiles sur les doubles liaisons carbone-carbone qui suivent la règle de Markovnikov sont plus primitives que celles qui ne la respectent pas.
- Pour des cycles à six chaînons, les enzymes catalysant les réactions faisant intervenir des états de transition chaise sont plus primitives que celles cyclisant des états de transition bateau.
- Les voies impliquant l'oxygène moléculaire sont moins primitives que celles utilisant des processus anaérobies.

Ces critères ont amené G. Ourisson et Y. Nakatani à penser que les membranes primitives auraient pu être formées par les terpénoïdes les plus simples possibles : des polyprénols acycliques liés à une tête polaire simple, comme un phosphate. Ils ont proposé que les phosphates de polyprényle de sodium pouvaient former des membranes. Ceci a pu être confirmé lorsqu'ils ont été synthétisés et étudiés dans des bicouches [31].

La microscopie électronique ou optique a mis en évidence la formation spontanée de vésicules (du latin *vesicula*, qui signifie vessie) dans l'eau ou liposomes de phosphates de polyprényle, dès que leurs chaînes (une ou deux) comptent au total plus de 15 atomes de carbones [31]. Ces structures élastiques sont thermodynamiquement stables en phase aqueuse et représentent de la sorte d'excellents modèles de protocellules primitives.

4.3. Formation hypothétique des phosphates de polyprényl [5]

La formation des phosphates de polyprényle peut s'expliquer par le schéma hypothétique suivant (Figure 11).

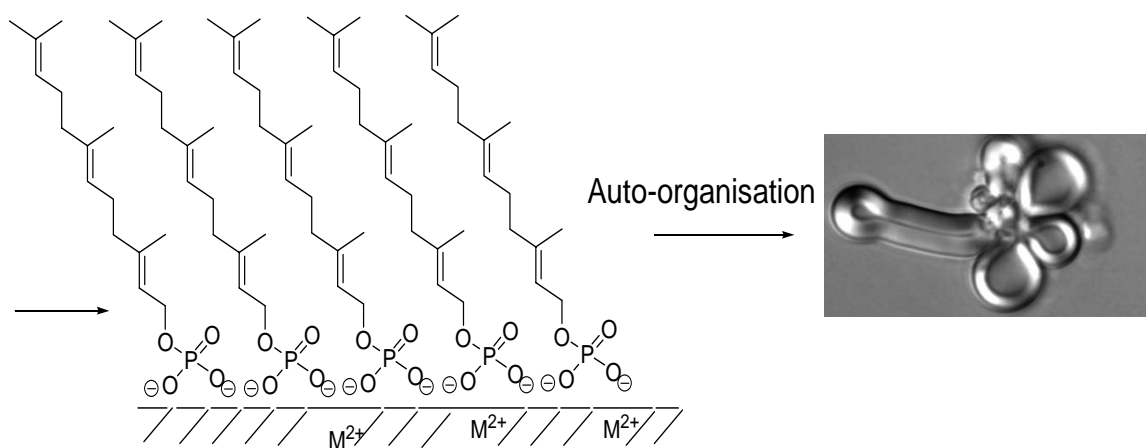
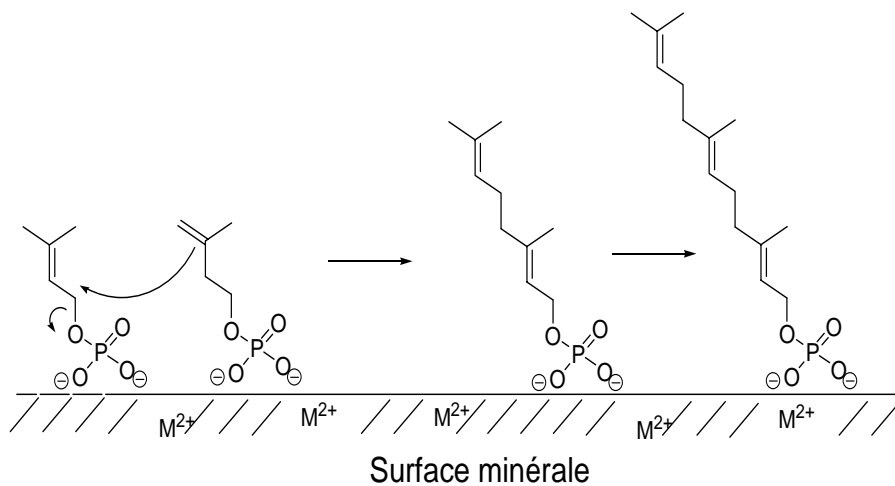


Figure 11 : Formation prébiotique hypothétique des phosphates de polyprényle. Vésicules du farnésylphosphate de sodium, observées en microscopie à contraste de phase.

- Leur squelette carboné pourrait être obtenu par une simple condensation, acido-catalysée, d'alcool en C₅ (isopenténol et alcool α,α -diméthylallylique) (Figure 12). Ceci a été récemment vérifié par Désaubry et coll. [32].

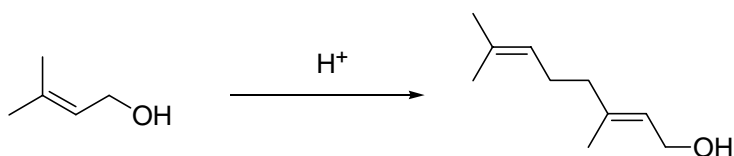


Figure 12 : Formation du géraniol par condensation acido catalysée d'isopenténol.

- Ces alcools en C₅ pouvaient eux-mêmes être obtenus par simple réaction de Prins acido-catalysée (par exemple par de l'acide phosphorique ou des argiles) de formaldéhyde et d'isobutène (Figure 13) [33-35].

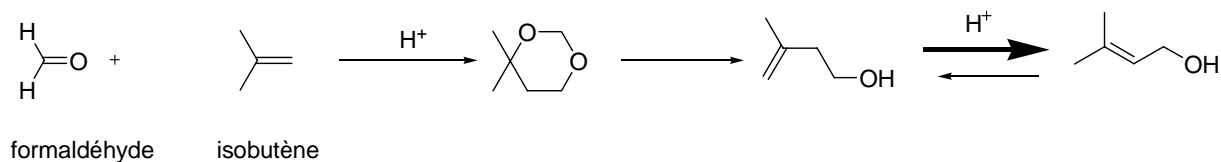


Figure 13: Formation hypothétique de l'unité C₅ (isopenténol) à partir de formaldéhyde et d'isobutène.

La formation des phosphates peut théoriquement être obtenue par action sur les alcools correspondants, de l'anhydride phosphorique ou des acides polyphosphoriques, produits en grande quantité dans les émissions volcaniques [36] ou encore récemment par des mono peptides activant les phosphates inorganiques dans l'eau [37].

5. Polycycloprénols

Dans de nombreux sédiments, des nouvelles familles de terpanes polycycliques ont été trouvées et notamment des structures bicycliques et tricycliques [38,39]. Des traces du précurseur biogéniques des structures bicycliques ont été trouvées dans les plantes, ce qui n'est pas le cas des structures tricycliques (Figure 14) [40]. Néanmoins, l'abondance des structures tricycliques dans différents sédiments et leur complexité impliquent probablement une origine biologique, de même que ce qui est le cas pour les biohopanoïdes bactériens. En déduisant une structure raisonnable des composés tricycliques, nous aboutissons sans ambiguïté à des tricyclopolyprénols dont le tricyclohexaprénol. Cette substance possède des propriétés qui en feraient un substitut du cholestérol par son côté amphiphile, ces dimensions proches et sa rigidité partielle grâce aux cycles [5], bien qu'il y ait des différences structurelles importantes comme la fonction alcool fixée sur la chaîne latérale et le volume moins important de la partie rigide (cycles) pour le tricyclohexaprénol. Une biosynthèse possible d'un tel composé impliquerait la formation de chaînes polypréniques régulières. La cyclisation correspondrait à celle qui mène du squalène au hopanoïdes sans violer la règle de Markownikov pour le troisième cycle. Cette cyclisation, enzymatique ou non, est plus

primitive que celle qui conduit aux hopanes puisqu'elle se déroule en suivant plus rigoureusement les règles valables pour les réactions abiotiques.

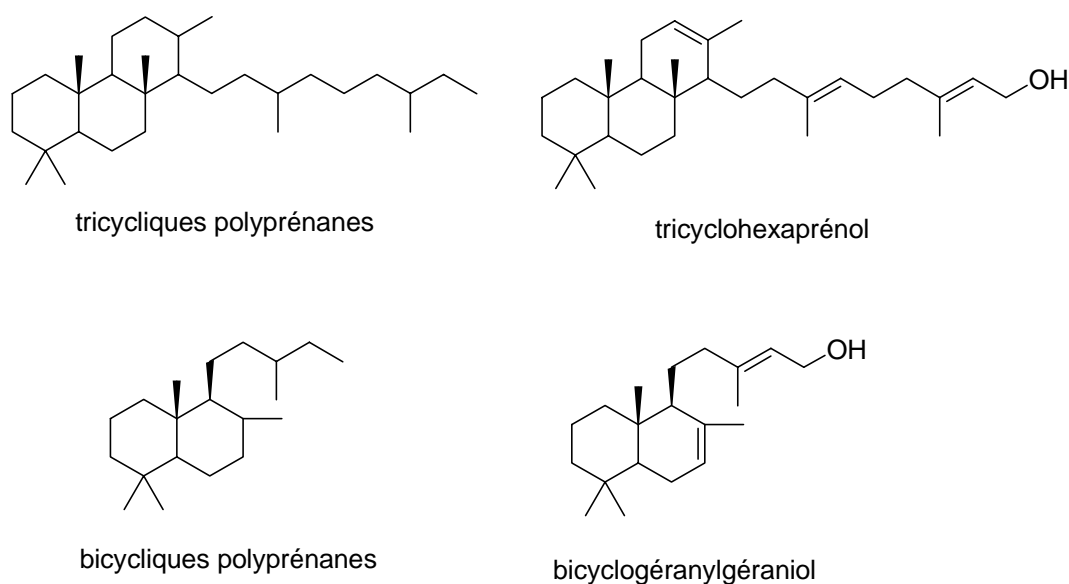


Figure 14 : Terpènes découverts dans différents types de sédiments et leurs précurseurs postulés ou prouvés biogénétiques

6. But de ma thèse : Synthèse de polycycloprénols et étude biophysique de leurs propriétés membranaires

Mon travail de thèse s'est d'abord articulé autour de la synthèse de polycycloprénols (Figure 15). Afin d'accéder aux polycycloprénols en quantité suffisante pour des études biophysiques, nous avons développé une méthode originale basée sur une cyclisation biomimétique contrôlée par un groupement allylsilane au milieu d'une chaîne terpénique afin de contrôler la position de la double liaison et le nombre de cycle. Au cours de ce travail, nous avons développé une nouvelle méthodologie pour synthétiser des allylsilanes régiosélectivement au milieu d'une chaîne terpénique. Cette méthode a été utilisée avec succès pour obtenir des bicyclopolyprénols, ouvrant un accès direct aux polycycloprénols dont le tricyclohexaprénol, un renforteur membranaire « primitif ».

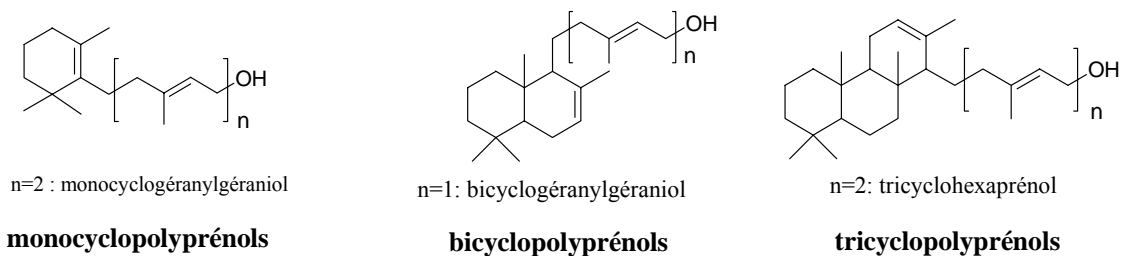


Figure 15 : Polycycloprénols

En ce qui concerne les études biophysiques, des travaux antérieurs ont suggéré que les dérivés terpéniques sont des composants ou des renforceurs membranaires chez tous les êtres vivants. D'autres travaux effectués au laboratoire ont montré que les phosphates de polyprényle, qui ont été postulés pour être des membranes primitives, s'auto-assemblent spontanément dans l'eau pour former des vésicules géantes à partir du phosphate de farnésyle (C₁₅). Suite à ce résultat, nous nous sommes posés la question : quel est le nombre de carbones maximal approprié pour former des vésicules en synthétisant des phosphates de polyprényle de différentes tailles. Ensuite, nous nous sommes intéressés aux types de molécule qui pourraient être des renforceurs membranaires des phosphates de polyprényle comme ce qui existe chez les eucaryotes et les bactéries où nous avons un mélange de phospholipide et de stérol (cholestérol ou hopanoïde). Le taux de phosphorylation ne pouvant être complet dans les conditions prébiotiques, il est probable que les membranes « primitives » aient été composées d'un mélange de phosphates de polyprényle et de polyprénols linéaires ou cycliques car pouvant être obtenu à partir d'une catalyse acide de polyprénols linéaires. Nous avons donc décidé d'étudier ces systèmes de membranes à base de phosphates de polyprényle et de polyprénols. L'objectif de ce travail est d'établir que les polyprénols, cycliques ou acycliques, sont bien des renforceurs membranaires de membranes « primitives » de phosphate de polyprényle. Ainsi, nous avons étudié la formation des vésicules de différents phosphates de polyprényle par microscopie optique en fonction de la quantité d'alcool libre et du pH. Nous nous sommes également intéressés à la perméabilité à l'eau du système phosphate de polyprényle et polyprénol par l'étude de la diffusion de la lumière par flux à écoulement bloqué. Cette technique, initiée au laboratoire par P. Bisseret puis développée par A. Milon en collaboration avec le Dr. A.M. Albrecht, permet de comparer les effets renforceurs d'un alcool libre sur une membrane de polyprényle phosphate.

Références :

- [1] Bada, Jeffrey L.: How life began on Earth: a status report. *Earth and Planetary Science Letters* **2004**, 226: 1-15.
- [2] Deamer D., Davorkin J. P., Sandford S. A., Bernstein M. P., Allamandola L. J.: The first cell membranes. *Astrobiology* **2002**, 2: 371-381.
- [3] Szotack, J.W., Bartel, D.P., Luisi P.L.: Synthesizing life. *Nature* **2001**, 409: 387-390.
- [4] Chen I.A., Roberts R.W., Szostak J.W.: The emergence of competition between model protocells. *Science* **2004**, 305: 1474-1476.
- [5] Ourisson G. and Nakatani Y.: The terpenoid theory of the origin of cellular life: the evolution of terpenoids to cholesterol. *Chem. Biol.* **1994**, 1: 11-23.
- [6] Singer S. J. and Nicolson G. L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* **1972**, 175:720-731.
- [7] Van Meer G.: Lipid traffic in animal cells. *Annu. Rev. Cell. Biol.* **1989**, 5:247-275.
- [8] Hargreaves W. R. and Deamer D. W.: Liposomes from ionic, single chain amphiphiles. *Biochemistry* **1978**, 17, 3759-3768.
- [9] Menger F. M. and Yamasaki Y.: Hyperextended amphiphiles. Bilayer formation from single-tailed compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3840-1.
- [10] Battacharya S., Subramanian M. and Hiremath U. S.: Surfactant lipids containing aromatic units produce vesicular membranes with high thermal stability. *Chem. Phys. Lipids.* **1995**, 78, 651.
- [11] Kunitake T., Okahata Y., Shimomura M., Yasunami S. and Takarabe K.: Formation of stable bilayer assemblies in water from single-chain amphiphiles. Relationship between the amphiphile structure and the aggregate morphology. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 103, 5401-13.
- [12] Woese C. R. and Fox G. E.: Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1977**, 74, 5088-5090.
- [13] Doolittle W. F.: Phylogenetic classification and the universal tree. *Science* **1999**, 284, 2124-2129.
- [14] Iwabe N., Kuma K., Hasegawa M., Osawa S. and Miyata T.: Evolutionary relationship of archaeobacteria, eubacteria, and eukaryotes inferred from phylogenetic trees of duplicated genes/. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1989**, 86, 9355-9359.

- [15] Woese C. R., Kandler O. and Wheelis M. L.: Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucaria. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **1990**, 87, 4576-4579.
- [16] Demel R. A. and De Kruffyff B.: The function of sterols in membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **1976**, 457, 109-132.
- [17] Schuller I., Milon A., Nakatani Y., Ourisson G., Albrecht A.M., Benveviste P., Hartmann M.A. : Differential effects of plant sterols on water permeability and on acyl chain ordering of soybean phosphatidylcholine bilayers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 6926-6930.
- [18] Poralla K. E., Kannenberg E. and Blume A.: A glycolipid-containing hopane isolated from the acidophilic, thermophilic *Bacillus acidocaldarius* has a cholesterol-like function in membranes. *FEBS Lett.* **1980**, 113, 107-110.
- [19] Bissere P., Wolf G., Albrecht A. M., Tanaka T., Nakatani Y. and Ourisson G.: A direct study of the cohesion of lecithin bilayers: the effect of hopanoids and alpha, omega-dihydroxycarotenoids. *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **1983**, 110, 320.
- [20] Milon A., Wolf G., Ourisson G. and Nakatani Y.: Organization of carotenoid-phospholipid bilayer systems. Incorporation of zeaxanthin, astaxanthin, and their C50 homologues into dimyristoyl-phosphatidylcholine vesicles. *Helv. Chim. Acta.* **1986**, 69, 12-24.
- [21] Milon A., Lazrak T., Albrecht A. M., Wolff G., Weill G., Ourisson G. and Nakatani Y.: Osmotic swelling of unilamellar vesicles by the stopped-flow light scattering method. Influence of vesicles size, solute, temperature, cholesterol and three α,ω -dihydroxycarotenoids. *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, 859, 1-9.
- [22] Tornabene T. G.: Phytanyl-glycerol ethers and squalenes in the archaebacterium *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *J. Mol. Evol.* **1978**, 11, 259-266.
- [23] Luzzati V., Gulik A., De Rosa M. and Gambacorta A.: Lipids from *Sulfolobus solfataricus*, life at high temperature and the structure of membranes. *Chem. Scripta* **1987**, 27B, 211-219.
- [24] Kates M. : Ether-linked lipids in extremely halophilic bacteria. In *Ether Lipids : Chemistry and Biology*. Ed : F. Snyder. Academic Press, New York, **1972**, pp. 351-398.
- [25] de Rosa M., de Rosa S., Gambacorta A., Minale L., Bu'Lock J.D.: Chemical structure of the etherlipids of thermophilic acidophilic bacteria of the *Caldariella* group. *Phytochemistry* **1977**, 16, 1961-1965.
- [26] Langworthy T.A.: Long-chain di glycerol tetraethers from *Thermoplasma acidophilum*. *Biochim. Biophys. Acta* **1977**, 487, 37-50.

- [27] Ourisson G. and Nakatani Y.: Comment étaient constituées les membranes les plus primitives ? *Ann. Institut Pasteur-Actualité* **1993**, 4, 100-104.
- [28] Ourisson G. and Albrecht P.: Hopanoids. 1. Geohopanoids: The Most Abundant Natural Products on Earth ? *Acc. Chem. Res.* **1992**, 25, 398-402.
- [29] Ourisson G. and Nakatani Y.: Can the molecular origin of life be studied seriously ? *C.R. Acad. Sci. Paris* **1996**, II:323-334.
- [30] Ourisson G. and Rohmer M.: Biohopanoids. 2. Biohopanoids: A Novel Class of Bacterial Lipids. *Acc. Chem. Res.* **1992**, 25, 403-408.
- [31] Pozzi G., Birault V., Werner B., Dannenmuller O., Nakatani Y., Ourisson G. and Terakawa S.: Single-Chain Polyprenyl Phosphates From "Primitive" Membranes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 177-180.
- [32] Desaubry L., Nakatani Y. and Ourisson G.: Toward higher polyprenols under "prebiotic" conditions. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6959-6961.
- [33] Arundale E. and Mikeska L.A.: The olefin-aldehyde condensation, The Prins reaction. *Chem. Rev.* **1952**, 51, 505-555.
- [34] Brace N.O.: The uncatalyzed thermal addition of formaldehyde to olefins. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 4666-4668.
- [35] Blomquist A.T. and Verdol J.A.: The thermal isobutylene-formaldehyde condensation. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 78-80.
- [36] Yamagata Y., Watanabe H., Saitho M. and Namba T.: Volcanic production of polyphosphate under primitive Earth conditions. *Nature* **1991**, 353, 516-519.
- [37] Biron J.P., Pascal R. : Amino Acid N-Carboxyanhydrides: Activated Peptide Monomers Behaving as Phosphate-Activating Agents in Aqueous Solution. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9198-9199.
- [38] Ourisson G.: Des pétroles à l'évolution des biomembranes. Des hopanoïdes au cholestérol, la longue phylogenèse des terpènes. *L'actualité chimique* **1986**, 23-30.
- [39] Noble R.A., Alexander R., Kagi R.I., Knox, J.: Identification of some diterpenoid hydrocarbons in petroleum. *Org. Geochem.* **1986**, 10, 825-9.
- [40] Urone J.G, Marcos I.S., Basabe P., Diez D., Garrido N.M., Alonso, C, Oliva I.M., Lithgow A.M., Moro, R.F.: Compounds with the labdane skeleton from *Halinium Viscosum*. *Phytochemistry* **1994**, 35, 713-19.

CHAPITRE 1

PARTIE CHIMIE

1. Synthèses décrites du tricyclohexaprénol

Deux synthèses du tricyclohexaprénol ont été décrites par Corey [1] et par Heissler [2-5]. Corey et coll. ont fondé leur stratégie sur un couplage entre une chaîne portant un allylsilane et un noyau tricyclique (schéma 1) [1]. La synthèse du tricycle a été effectuée par une cyclisation biomimétique d'un dérivé du farnésol. Le chlorure **1** a été obtenu en 4 étapes à partir du géraniol, puis a été transformé en allylsilane **2** par action d'un cuprate silylé (schéma 1) [6]. La cétone **3** a été activée sous forme d'éther d'énol silylé **4** puis cyclisée par du trifluoroacétate de mercure. Une protection sous forme d'acétal et une réduction ont conduit à **5** et **6** avec des rendements respectifs de 33 et 30%. L'ester **5** a été réduit en alcool puis transformé en énone **7**. Le greffage de la chaîne latérale **2** a été effectué par une réaction de Sakurai entre l'énone **7** et l'allylsilane **2**. Le tricyclohexaprénol **9** a été obtenu par méthylation de la cétone **8** suivie d'une déshydratation et d'une déprotection du groupement silylé.

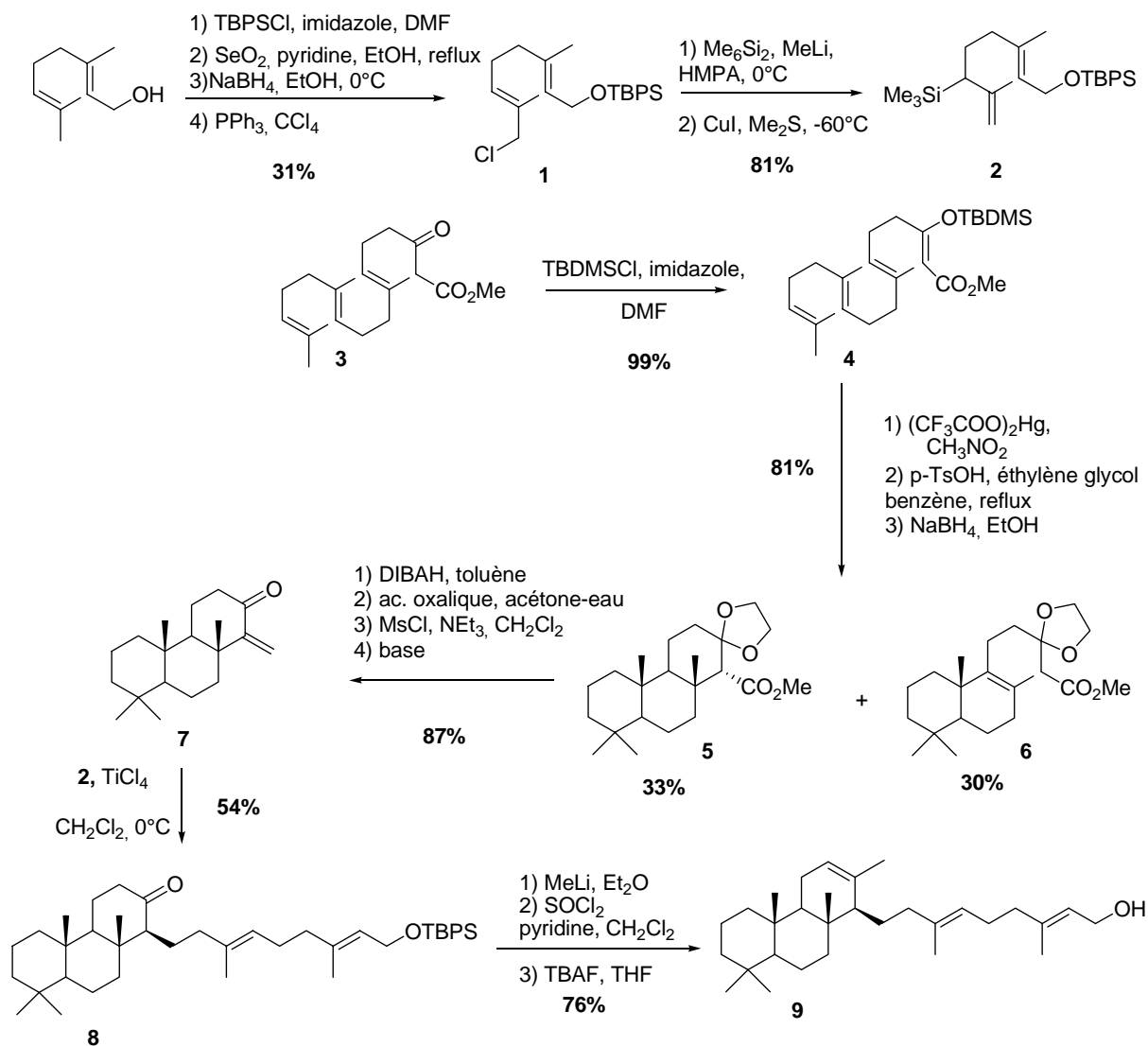


Schéma 1 : Synthèse du tricyclohexaprérol **9** par Corey et coll. [1]

Heissler et coll. ont abordé la synthèse du tricyclohexaprérol en partant d'un composé naturel, le copalate de méthyle **10** [2]. Le traitement de ce dernier par l'acide formique permet d'obtenir le noyau tricyclique **11** qui est ensuite transformé en cinq étapes en cétone **14**. Ce composé **14** a ensuite été homologuée en quatre étapes en tricyclohexaprérol **9** (schéma 2).

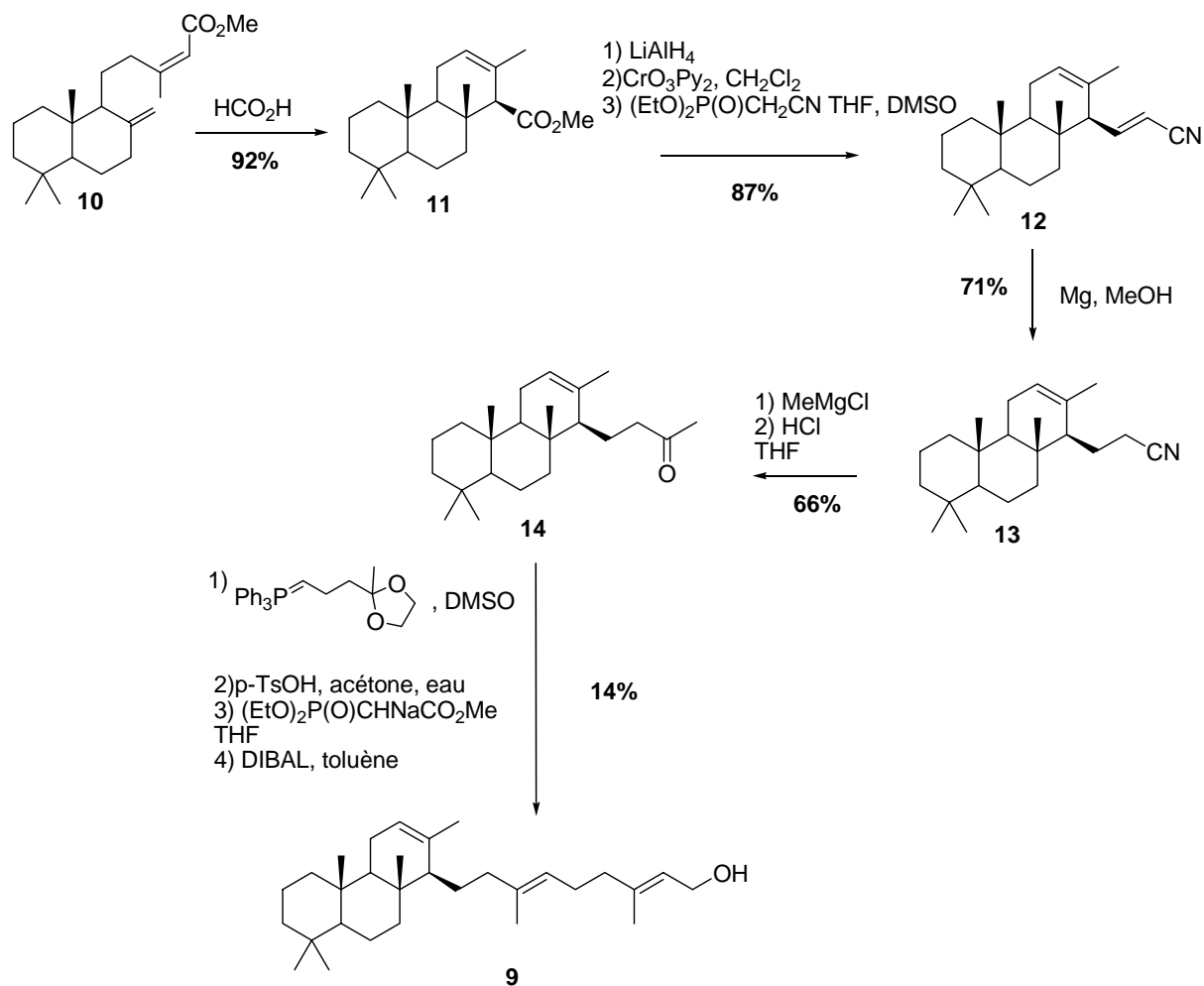


Schéma 2 : Synthèse du tricyclohexaprénil **9** par Heissler et coll. [2]

Les synthèses décrites par les équipes de Corey et de Heissler comportent un grand nombre d'étapes et ne permettent pas d'accéder à des quantités de produit suffisantes pour des études biophysiques approfondies. Par ailleurs, la cyclisation cationique décrite par Corey conduit à un mélange de composés bicycliques et tricycliques. La réaction de Wittig effectuée par Heissler et coll. donne de faibles rendements et le produit de départ, le copalate de méthyle, n'est pas commercial et doit être extrait à partir de la résine d'un arbre brésilien.

2. Stratégie de synthèse des polycycloprénols

Nous avons approché la synthèse des polycycloprénols sous un angle nouveau : l'étape clé de notre synthèse repose sur une cyclisation biomimétique contrôlée par un groupement

allylsilane. L'effet β du silicium devrait permettre de contrôler, à la fois, le nombre de cycles et la régiosélectivité de la double liaison formée (schéma 3) [7].

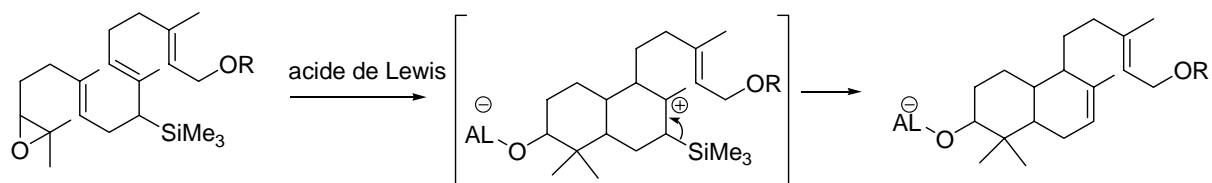


Schéma 3 : Stratégie de synthèse du bicyclogéranylgeraniol.

Pour accéder aux allylsilanes **18** et **20**, nous avons imaginé deux voies de synthèse possibles (schéma 4) : - **Voie 1** : L'allylsilane **20** pourrait être synthétisé par couplage entre une chaîne polyprénique et un allylsilane lithié obtenu à partir du composé **19**.

- **Voie 2** : L'allylsilane **18** pourrait être obtenu après une réduction lithiatrice du composé **17**.

L'application de cette stratégie comporte 3 étapes importantes :

- 1) l'homologation isoprénique ;
- 2) la synthèse d'allylsilane par réduction lithiatrice d'un thioéther ou par alkylation d'un allylsilane lithié ;
- 3) la cyclisation biomimétique de polyènes.

Avant de présenter nos résultats, nous mentionnerons quelques-uns des travaux les plus importants sur ces 3 étapes.

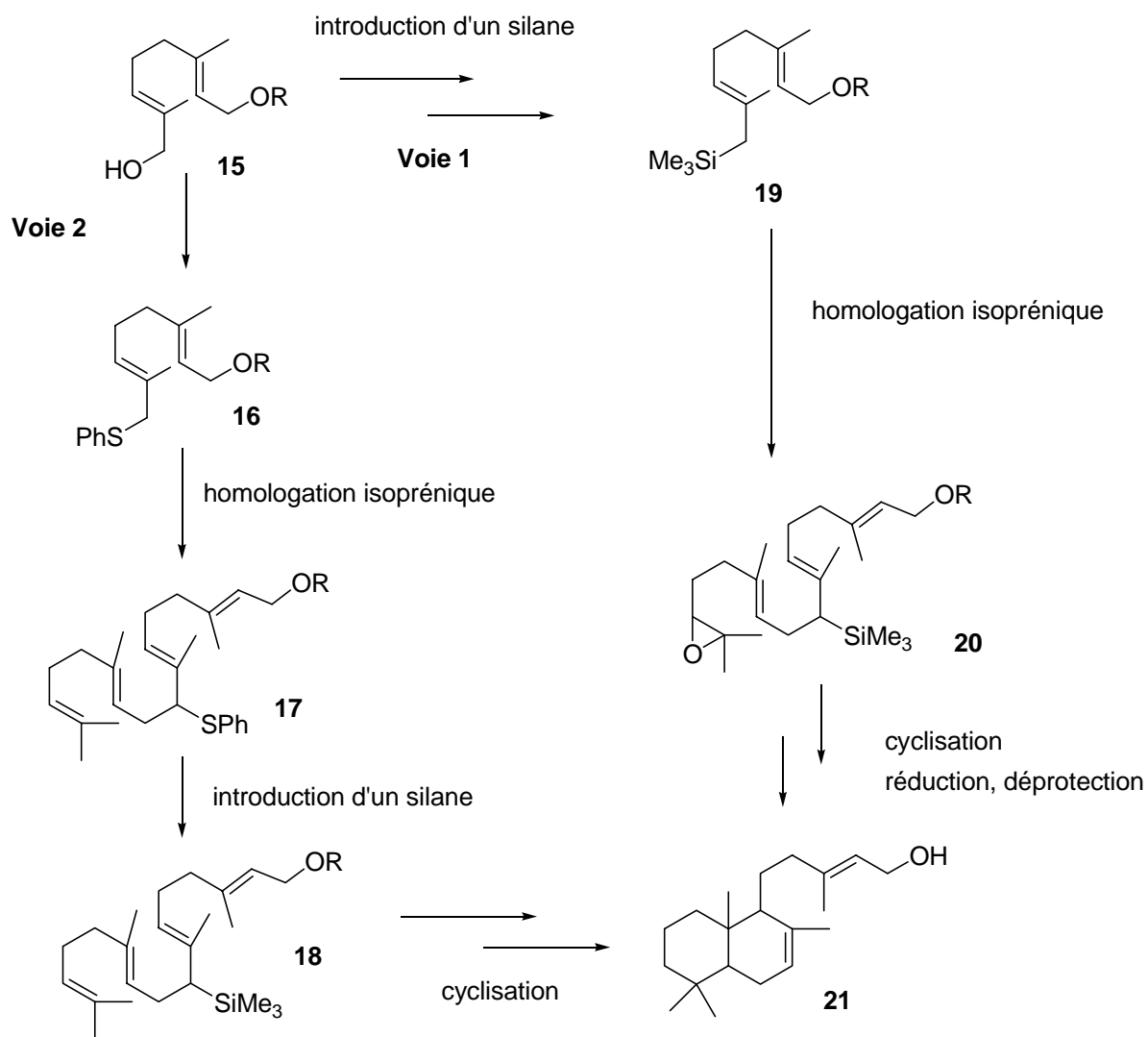


Schéma 4 : Voies de synthèse envisagées pour le bicyclogéranylgeraniol **21**

3. Bibliographie

3.1. Homologation isoprénique :

La méthode développée par Biellmann et Ducep permet d'alkyler essentiellement en position α des thioéthers allyliques métallés par action du n-butyllithium (Schéma 5) [8]. Biellmann et Ducep ont montré que dans cette réaction la configuration de la double liaison reste inchangée [9].

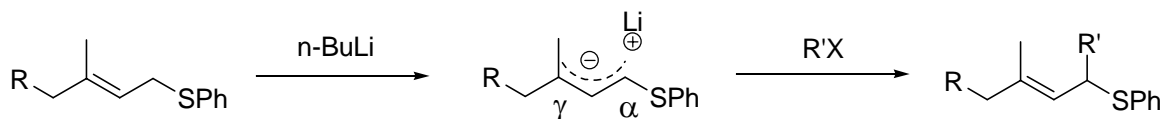


Schéma 5 : Couplage de Biellmann-Ducep

Dans notre cas, il s'agit d'un couplage « tête à queue » qui nécessite une étape de fonctionnalisation de la « tête » de l'une des chaînes isopréniques. C'est sur ce principe qu'Altmann et coll. ont synthétisé le géranylgéranol (schéma 6) [10].

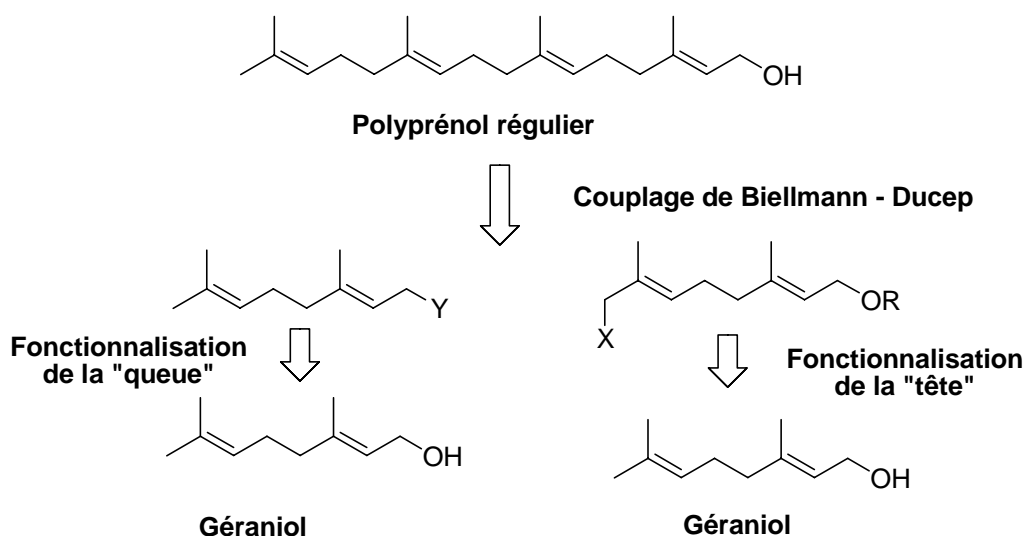


Schéma 6 : Stratégie de synthèse du géranylgéranol.

3.2. Synthèse d'allylsilane

3.2.1. Alkylation de silanes lithiés

En 1973, Corriu et coll. ont été les premiers à préparer un anion allylique en position α d'un groupement silane (schéma 7) [11]. Chan a montré que l'alkylation d'un allylsilane lithié par un halogénure d'alkyle donne un mélange de produits alkylés α et γ dans un rapport 1 : 2 environ. Il est possible de modifier ce rapport en jouant sur la nature des groupements silylés [12].

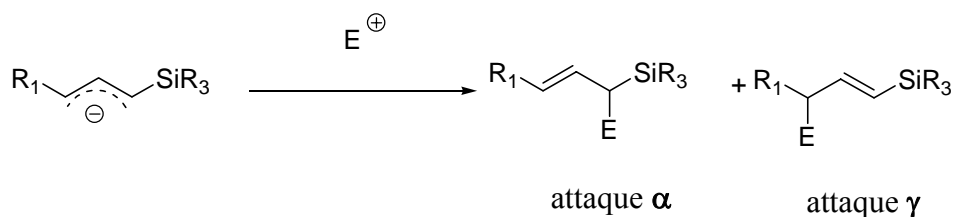


Schéma 7 : attaque d'un anion allylsilane sur un électrophile

3.2.2. Synthèse d'allylsilane par réduction lithiatrice

En 1978, Screttas et coll. ont montré que l'utilisation de naphthalène en présence de lithium permettait d'effectuer des lithiations réductrices de thioéthers [13,14]. Depuis, d'autres transporteurs d'électron ont été développés comme le 1,4'-di-*tert*-butyldiphényl (DBB) [15], le 1-(diméthylamino)-naphthalène (DMAN) [16] et le 2,6-di-*tert*-butylnaphthalène (DBN) (schéma 8) [17].

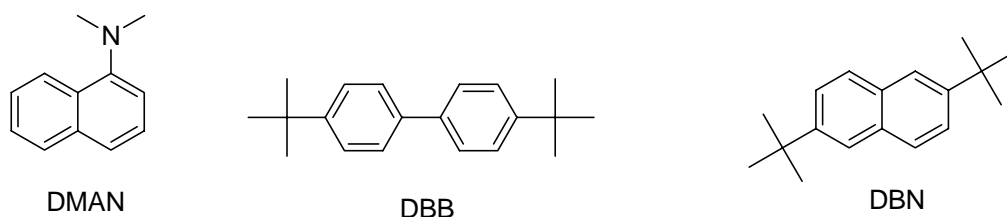


Schéma 8 : Structure de différents transporteurs d'électron.

Yus et Ramón ont amélioré cette réaction en montrant qu'une quantité catalytique de transporteur d'électron est suffisante pour effectuer la lithiation réductrice de phénylthioéthers, ce qui facilite la purification et permet de suivre visuellement l'évolution de la réaction grâce à la couleur caractéristique du radical anion reformé en fin de réaction [18]. Autre avantage : Yus a montré que le transporteur d'électron en quantité catalytique formait une espèce dianionique qui a un pouvoir réducteur supérieur à celui du radical anion [19]. Les laboratoires de Yus, Cohen et d'autres ont montré qu'il était possible de piéger l'anion ainsi engendré par divers électrophiles [20-24]. Depuis, les lithiations réductrices ont été appliquées à une large variété de substrats comme par exemple les chlorures, les époxydes, les thioéthers, ... [25]. Parmi tous les substrats susceptibles d'effectuer une réduction lithiatrice, les thioéthers sont particulièrement intéressants car ils sont faciles à synthétiser et l'anion

engendré lors de la réduction ne peut pas réagir sur le thioéther de départ (contrairement à un chlorure qui peut donner le produit de dimérisation). Il existe de nombreuses applications pour ces réactions en synthèse organique [26].

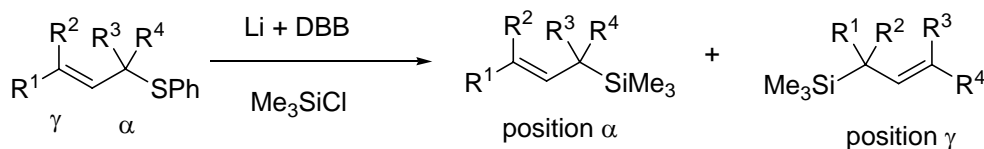


Schéma 9 : Régiosélectivité d'un anion allylique engendré par réduction lithiatrice

Le problème de cette approche est que l'anion engendré par réduction lithiatrice peut donner 2 adduits, les isomères α et γ (schéma 9). Lorsque l'électrophile est un aldéhyde ou une cétone, il est possible d'orienter la régiosélectivité de cette réaction en utilisant un complexe de cérium ou de titane [27]. Le seul cas où il est possible d'orienter sélectivement l'attaque d'un silane électrophile est lorsqu'un éther silylé est présent dans la molécule (schéma 10) [23]. Dans ce cas, il s'agit d'une migration intramoléculaire.

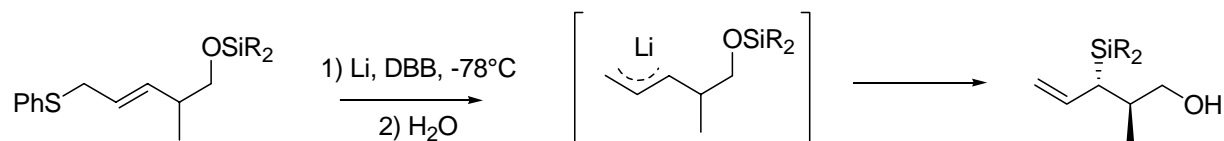


Schéma 10 : Migration intramoléculaire d'un alkylsilyle [23]

Les autres exemples de réductions d'allylthioéthers ont toujours été effectués sur des systèmes symétriques afin d'éviter les problèmes de régiosélectivité (schéma 9, $R_1=R_3$, $R_2=R_4$).

En 1984, Cohen a décrit la formation d'un anion en α d'un groupement silane par réduction lithiatrice d'un thioéther (schéma 12) [28]. Cette méthode a été ensuite utilisée avec succès par les équipes de Dauben et de Corey [29,30].

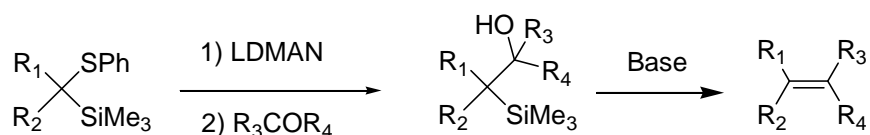


Schéma 12 : préparation d'un synthon pour une oléfination de Peterson.

3.3. Cyclisation biomimétique contrôlée par un allylsilane

Le groupe de Johnson a été le premier à développer la réaction de cyclisation biomimétique de polyènes en stéroïdes et à utiliser un allylsilane pour terminer la réaction de cyclisation (schéma 13) [31].

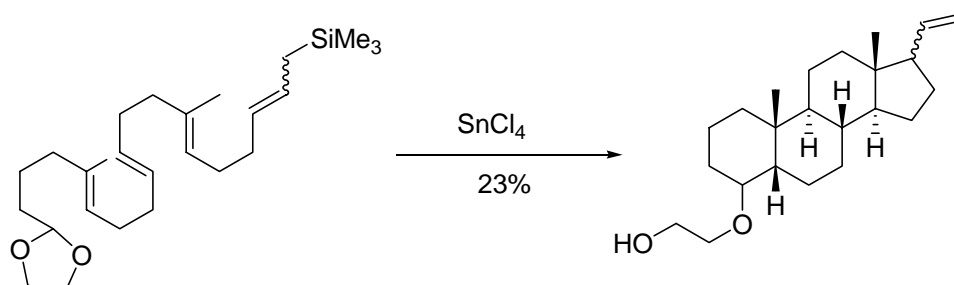


Schéma 13 : Exemple de synthèse biomimétique du noyau stéroïde (Johnson et coll.) [31]

Notre approche de la synthèse des polycycloprénols est originale car elle fait intervenir un allylsilane localisé au milieu d'une chaîne polyprénique. A notre connaissance, seul Kashibuchi et coll. ont utilisée un allylsilane présent en milieu de chaîne pour stopper une réaction de cyclisation (schéma 14) [32]. Tous les autres exemples de cyclisations contrôlées par un groupement allylsilane sont effectués avec des groupements silylés situés en bout de chaîne.

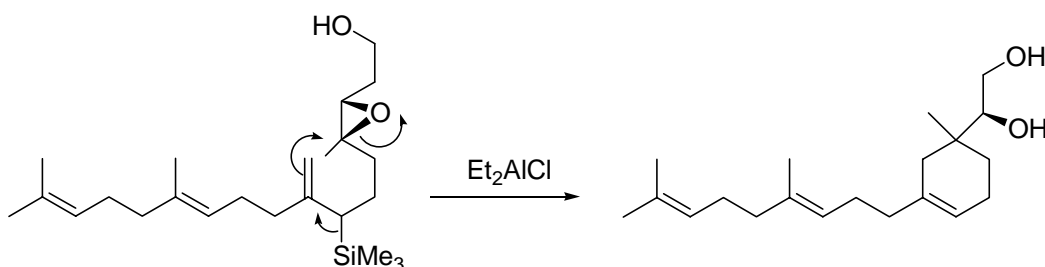


Schéma 14 : Cyclisation d'un polyène contrôlée par un allylsilane (Kashibuchi et coll.) [32]

4. Résultats

4.1. 1^{ère} approche : essai d'alkylation d'un allylsilane métallé

Nous avons synthétisé un composé modèle, le géranyle-triméthylsilane, et nous avons réussi à l'alkyler avec de l'iodure de méthyle par action d'une base de Schlösser à basse température (schéma 15).

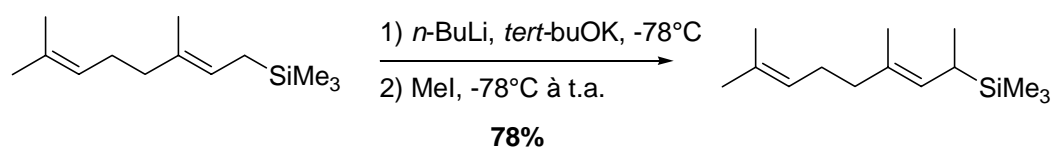


Schéma 15

Encouragé par ce résultat, nous avons cherché à appliquer cette réaction à l'allylsilane **25** (schéma 16). Ce composé a été synthétisé à partir du géraniol qui a été benzylé puis oxydé par du dioxyde de sélénium, selon la procédure de Chappe modifiée par Sharpless, pour conduire à l'alcool allylique **22** avec un rendement de 88% [33]. Cette oxydation permet d'obtenir un alcool allylique, régiosélectivement et de configuration trans. L'acylation de **22** par l'anhydride trifluoroacétique donne **23** qui est converti en allylsilane **24** par une réaction de Tsuji-Trost avec un rendement de 85% [34]. L'action du *n*-Buli sur **24** ne conduit pas au composé désiré, mais au produit **26** ayant subi un réarrangement [2,3] de Wittig. Nous avons déprotégé **24** par réduction lithiatrice, et essayé d'effectuer la lithiation de l'alcool **25**. Après avoir essayé la plupart des protocoles utilisés dans la littérature, nous avons toujours obtenu notre produit de départ, l'allylsilane **25**, même par action du *tert*-butyl lithium en présence de tétraméthyléthylènediamine à température ambiante. Dans ces conditions, le lithien réagit avec le THF. Comme il n'a pas été possible de générer l'anion par action d'une base forte, nous avons décidé de générer l'anion allylique par réduction lithiatrice.

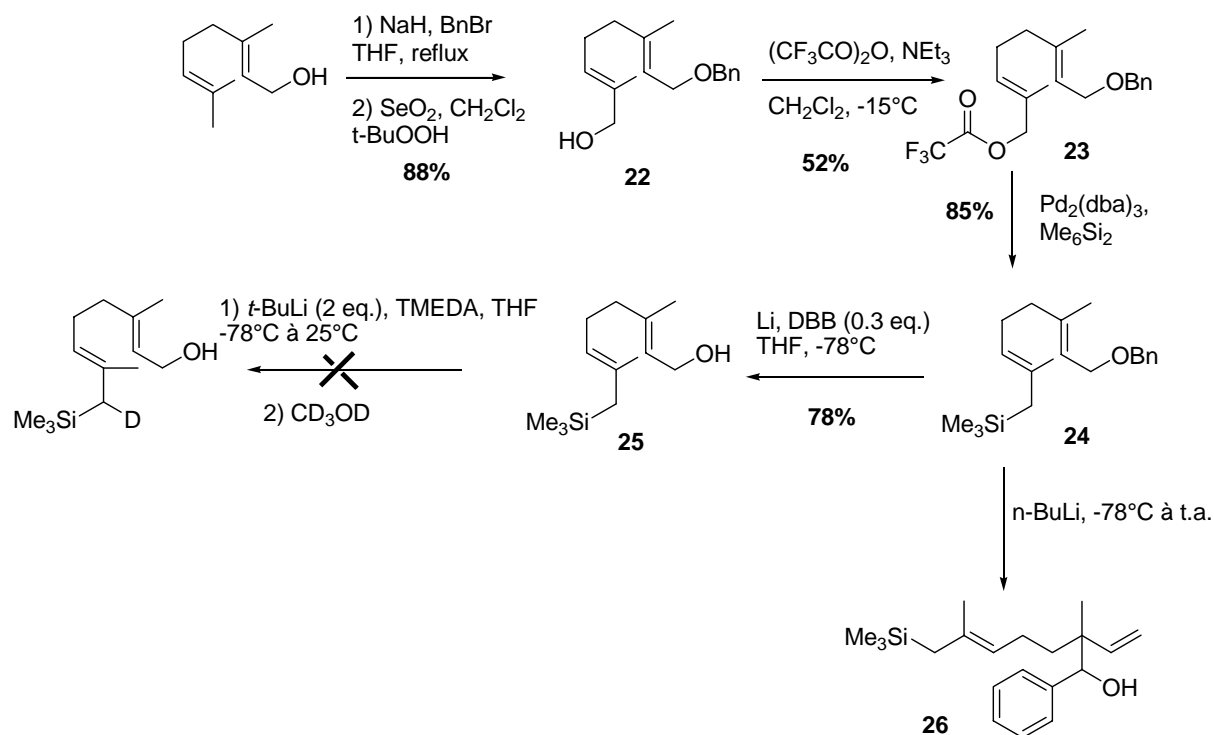


Schéma 16 : Synthèse de l'allylsilane 25

4.2. Réduction lithiatrice de thioéthers

Pour mettre en place le groupement silane en milieu d'une chaîne terpénique, nous avons décidé d'utiliser le groupement thioéther obtenu lors du couplage de Biellmann et Ducep (schéma 17) [8]. Notre idée était de se servir de l'anion généré lors de l'étape de désulfuration pour mettre en place le groupement silane.

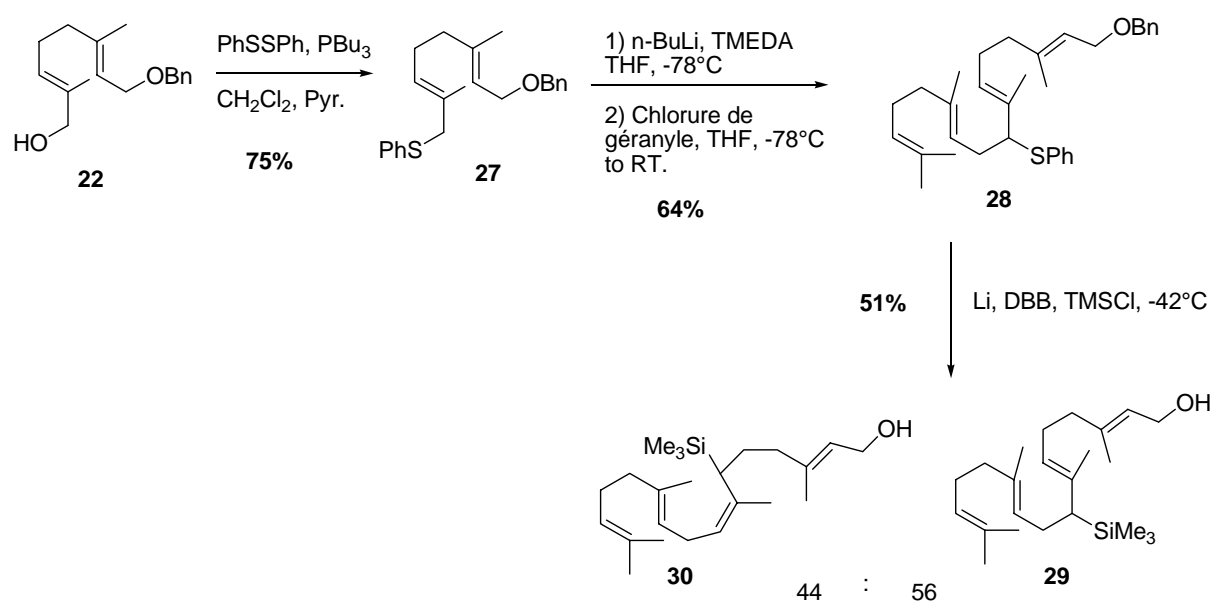


Schéma 17 : Synthèse du précurseur allylsilane 29 du bicyclogéranylgéranol

Le thioéther **27** est synthétisé à partir de l'alcool **22** selon le protocole d'Itô par action du disulfure de diphenyle et du tributylphosphine dans de la pyridine avec un rendement de 75% [35]. Le composé **28** est obtenu par un couplage de Biellmann-Ducep du composé **27** avec un rendement de 64%. La désulfuration du composé **28** par réduction lithiatrice en présence de chlorure de triméthylsilane donne les allylsilanes **29** et **30** avec un rendement de 51%. Les composés **29** et **30** ont été obtenus dans un rapport de 56 : 44 respectivement.

Au cours de ce travail, nous avons effectué *la première étude de la régiosélectivité des réductions lithiatrice d'allylthioéthers dissymétriques*. Nous avons montré que cette régiosélectivité dépend beaucoup des conditions réactionnelles, en particulier de la température et de l'ordre d'addition du silane électrophile, mais qu'il est souvent possible d'orienter cette régiosélectivité en ajustant ces paramètres réactionnels. De plus, nous avons découvert que la sonication d'une solution de LiDBB dans du THF à température ambiante entraînait une ouverture du THF (schéma 18).

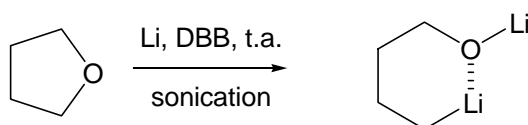


Schéma 18 : Ouverture du THF par réduction lithiatrice

Deux articles mentionnent la sonication de LiDBB à température ambiante mais aucun d'entre eux ne mentionnent l'ouverture du THF dans ces conditions (schéma 19) [36,37].

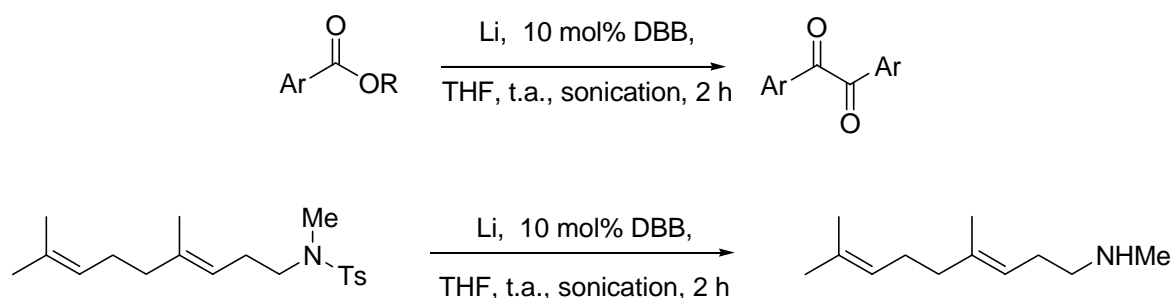


Schéma 19 : Exemples de lithiations réductrices catalysées par du DBB faisant appel à une sonication prolongée

L'ouverture du THF est donc à prendre en compte dans le développement de nouvelles réactions de lithiations réductrices. Les travaux sur la régiosélectivité des réductions

lithiatrices des allylthioéthers et l'ouverture du THF sont décrits dans notre article publié dans le *Journal of Organic Chemistry* en 2004 (Publication n°1, p.35).

Nous n'avons pas pu observer de régiosélectivité significative pour la formation du composé **29**, même en variant les conditions réactionnelles. Le faible rendement et le manque de régiosélectivité de cette réaction, nous ont alors amenés à changer notre approche et à introduire le groupement silane avant la chaîne polyprénique (schéma 20).

L'allylsilane **31** a été obtenu par addition d'une solution de lithium de diisopropylamine dans un mélange de thioéther **27** et de chlorure de triméthylsilane avec un rendement de 75%. L'adduit **31** ainsi obtenu a été réduit dans des conditions non catalytiques avec 2 équivalents de lithium naphthalénide. L'anion ainsi formé a été piégé par le chloroépoxyde **37** pour donner **32** et **33** dans un ratio de 78 : 22 et avec 85% de rendement. La cyclisation du composé **32** permet d'obtenir le composé bicyclique **34** avec un contrôle totale de la position de la double liaison et un rendement de 89%. Le vinylsilane **33** ne réagit pas dans les conditions de cyclisation et est facilement séparé du composé **34** par chromatographie. L'alcool **34** est converti en xanthate **35**, puis réduit par de l'hydrure de tributyl-étain avec un rendement de 60% pour les deux étapes. Finalement, la déprotection du groupement benzyle par réduction lithiatrice permet d'accéder au bicyclogéranylgeraniol **21** avec un rendement de 57% dans un rapport diastéréoisomérique 1 : 1, c'est à dire avec la chaîne latérale en position équatoriale et en position axiale.

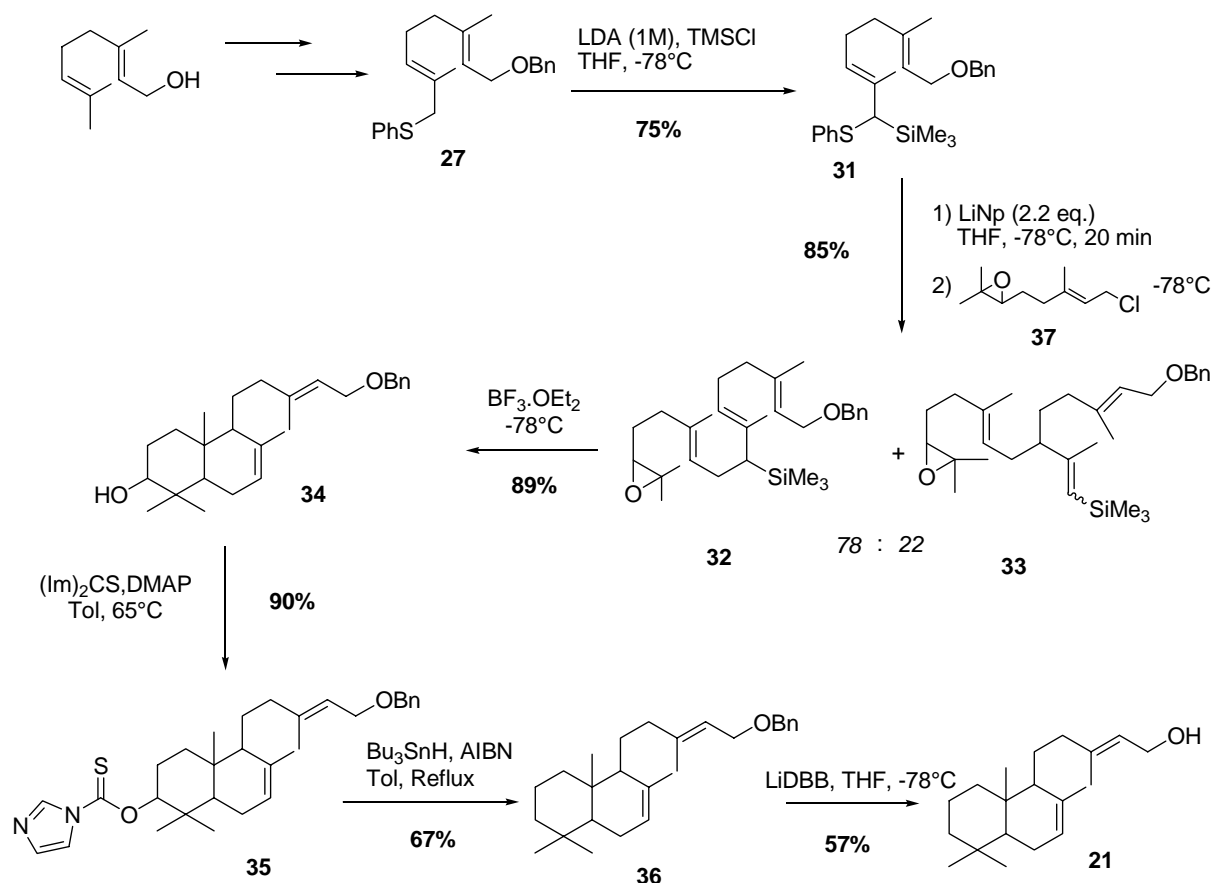


Schéma 20 : Synthèse du bicyclogéranylgéraniol 21

Finalement, cette méthode originale nous a permis d'accéder à un allylsilane hautement fonctionnalisé avec une régiosélectivité de 78% et un rendement de 85%. Nous avons également montré l'efficacité d'un allylsilane en milieu d'une chaîne terpénique pour arrêter une cyclisation cationique en cascade et pour contrôler la formation de la double liaison.

5. Homologation isoprénique du bicyclogéranylgéraniol : synthèse du bicyclogéranylfarnésol 45 et du bicyclogéranylfarnésol 46

La stratégie de synthèse par homologation isoprénique a été évoquée au chapitre 3.1. Le bicyclogéranylgéraniol **21** est transformé en thioéther **42** en présence de disulfure de diphenyle et de tributylphosphine dans de la pyridine avec un rendement de 86% (schéma 22). Les chlorures allyliques **39** et **41** ont été préparés en 4 étapes à partir de l'ispentanol **37** et du géraniol **40** (schéma 21). Ensuite, le thioéther **42** est métallé par action du n-butyllithium, puis couplé aux chlorures **39** et **41** pour conduire aux composés homologués **43** et **44** avec des

rendements de 60% et 61% respectivement (schéma 22). La désulfuration et la débenzylation sont effectuées au moyen de lithium dans de l'éthylamine pour donner le bicyclogéranylfarnésol **45** et le bicyclofarnésylfarnésol **46** avec des rendements respectifs de 80% et de 75%.

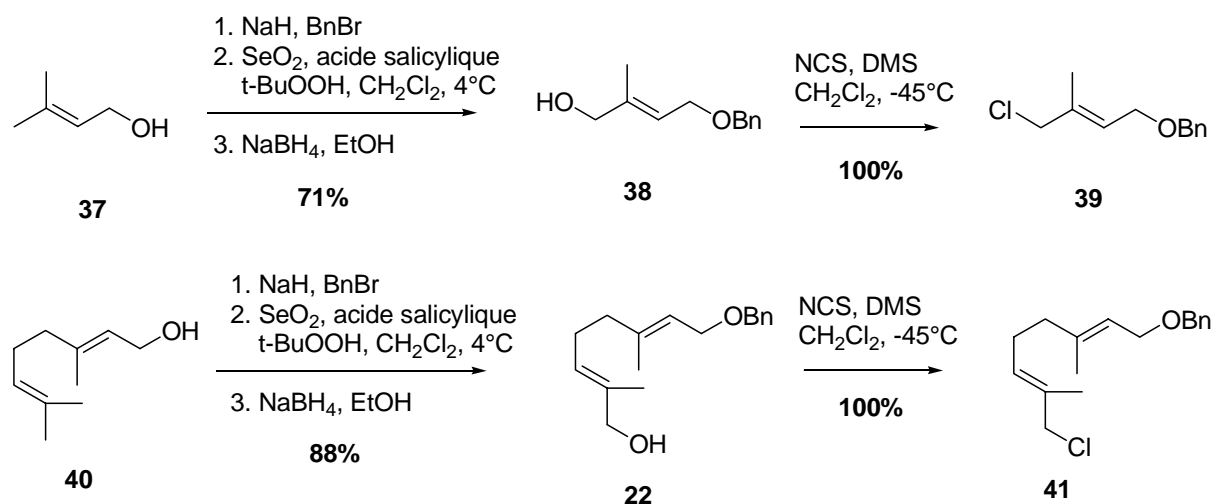


Schéma 21 : Synthèse des chlorures **39** et **41**

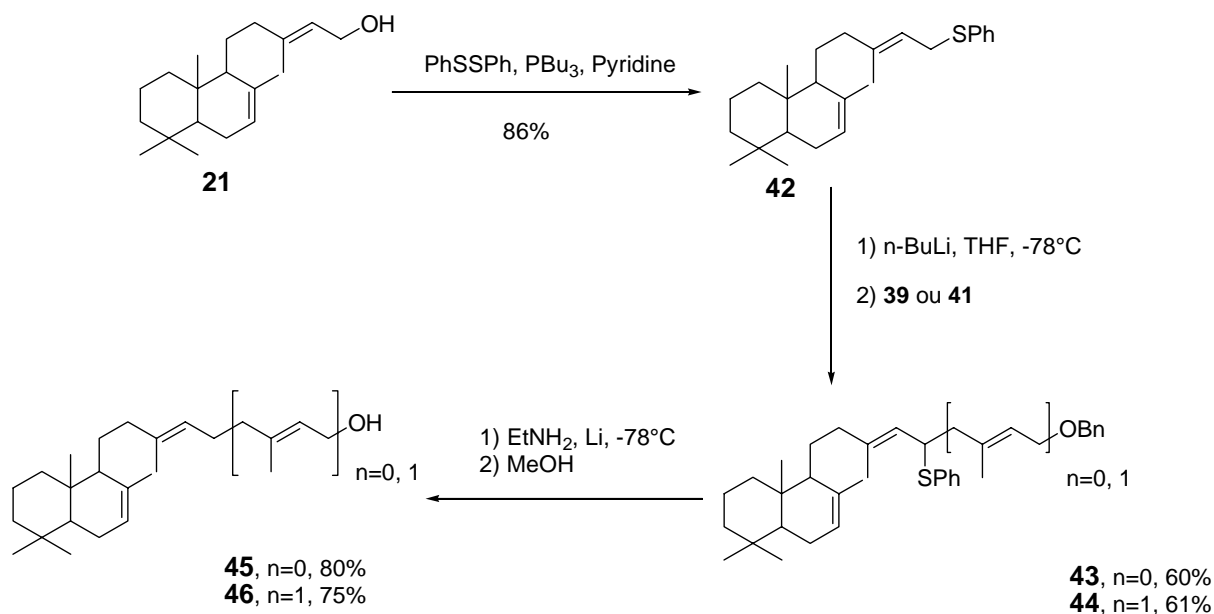


Schéma 22 : Synthèse du bicyclogéranylfarnésol **45** et du bicyclofarnésylfarnésol **46**

Nous avons obtenu les composés bicycliques et à notre connaissance, nous avons ainsi effectué les premières synthèses du bicyclogéranylfarnésol **45** et du bicyclofarnésylfarnésol **46**.

Références :

- [1] Corey E. J. and Burk R. M.: Total Synthesis of (+/-)-Tricyclohexaprenol, A Possible Forerunner of Sterol in the Evolution of Biomembranes. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 6413-6416.
- [2] Heissler D. and Ladenburger C.: Synthesis of (+)-Tricyclohexaprenol, A Possible Precursor of a Family of Tricyclic Geoterpanes, and Synthesis of an Isomer. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 44, 2513-2521.
- [3] Jenn T. and Heissler D.: Synthesis of Tricyclohexaprenols via a Radical Addition and a Stereoselective Elimination. Part I: Methodology. *Tetrahedron* **1998**, 54, 97-106.
- [4] Jenn T. and Heissler D.: A New Synthesis of (E,E)-Tricyclohexaprenol. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 7227-7228.
- [5] Heissler D., Jenn T. and Nagano H.: A Radical-Based Synthesis of (Z,Z)-Tricyclohexaprenol. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 7587-7590.
- [6] Smith J. G., Drozda S. E., Petraglia S. P., Quinn N. R., Rice E. M., Taylor B. S. and Viswanathan M.: *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4112-4117.
- [7] Panek J.S. In *Comprehensive Organic Synthesis: Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry*; Trost B.M., Ed.; Pergamon Press: 1991, Oxford; Vol. 1, pp 579-628.
- [8] Biellmann J. F. and Ducep J. B.: α -alcoylation d'allyl-thioéther: couplage queue à queue d'unité isopréniques. *Tetrahedron Lett.* **1968**, 54, 5629-5630.
- [9] Biellmann J. F. and Ducep J. B.: Synthesis of squalene and its analogs. *Tetrahedron* **1971**, 27, 5861-5872.
- [10] Altman L. J., Ash L. and Marson S.: A new, highly stereoselective synthesis of all trans-geranylgeraniol. *Synthesis* **1974**, 129-131.
- [11] Corriu R., Masse J.: Organometallic allylsilanes. Obtainment and behavior. *Journal of Organometallic Chemistry* **1973**, 57, C5-C8.
- [12] for reviews see: Chan T.H., Wang D.: Silyl Anions in Organic Synthesis: A Study in Regio- and Stereoselectivity. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 1279-1292.
- [13] Screttas C. and Micha-Screttas M.: Hydrolithiation of α -olefins by a regiospecific two-steps Process. Transformation of alkyl phenyl sulfides to alkyl lithium reagents. *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 1064-1071.

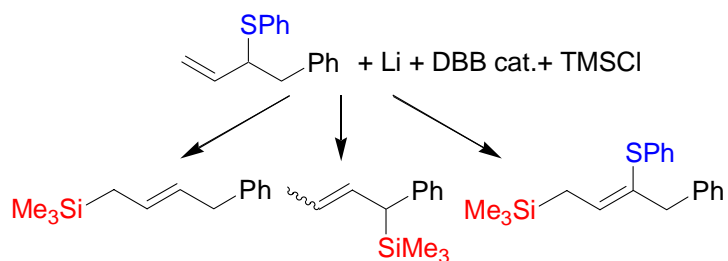
- [14] Screttas C. and Micha-Screttas M.: Markownikoff two-step hydrolithiation of α -olefins. Transformation of secondary and tertiary alkyl phenyl sulfides to relevant alkyllithium reagents. *J. Org. Chem.* **1979**, 44, 713-719.
- [15] Freeman P. and Hutchinson H. L.: Alkyllithium reagents from alkyl halides and lithium radical anions. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 1924-1930.
- [16] Cohen T. and Matz J. R.: Reductive lithiation of some thioketals using lithium &- (dimethylaminonaphthalenide. *Synth. Commun.* **1980**, 10, 311-317.
- [17] Cohen T., Kreethadumrongdat T., Liu X. and Kulkarni V.: Use of aromatic radical-anion in the absence of THF. Tandem formation and cyclisation of benzyllithiums derived from the attack of homo- and bishomoallyllithiums on α -methylstyrenes: two-pot synthesis of cuparene. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3478-3483.
- [18] Yus M. and Ramon D. J.: Arene-catalysed lithiation reaction with lithium at low temperature. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 398-400.
- [19] Yus M., Herrera P., Guijarro A. On the mechanism of arene-catalyzed lithiation: the role of arene dianions-naphthalene radical anion versus naphthalene dianion. *Chemistry--A European Journal* **2002**, 8, 2574-2584.
- [20] Guo B. S., Doubleday W. and Cohen T.: Allylcerium(III) compounds, powerful new synthetic reagents. A new stereocontrolled approach to olefins and methylene-interrupted polyenes. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 4710-4711.
- [21] Cabral J. A., Cohen T., Doubleday W., Duchelle E. F., Fraenkel G., Guo B. S. and Yu S. H.: Preparation and remarkable reactivity of the elusive (1,1,3,3-tetramethylallyl)lithium. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3680-4.
- [22] Ager D. J.: A new method for preparing 1-phenylthio-1-trimethylsilylalkanes: the preparation of α -silylcarbanion and olefins. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 2923-2926.
- [23] Ramon D. J. and Yus M.: New methodologies based on arene catalyzed lithiation reactions and their application to synthetic organic chemistry. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 225-237.
- [24] Alonso E., Guijarro D. and Yus M.: Direct transformation of allylic and benzylic alcohols or their silylated derivatives into organolithium compounds. *Tetrahedron* **1995**, 51, 11457-11464.
- [25] Yus M. and Foubelo F.: Reductive Opening of Saturated Oxa-, Aza-, and Thia-Cycles by Means of an Arene-Promoted Lithiation: Synthetic Application. *Heteroatom Chemistry* **1997**, 17, 73-107.

- [26] Cohen T. and Bhpathy M.: Organoalkali compounds by radical anion induced reductive metalation of phenyl thioethers. *Acc. Chem. Res.* **1989**, 22, 152-161.
- [27] Ahn Y. and Cohen T.: A general diastereoselective synthesis of spiroacetals related to those in ionophores via the reaction of lactones with cerium(III) - γ -cerioalkoxide. MAD reverses the diastereoselectivity of the addition of methylmetallics to a β -keyo ether. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3142-3150.
- [28] Cohen T., Sherbine J.P., Matz J.R., Hutchins R.R., McHenry B.M., Willey P.R.: A General Procedure for Preparing α -Lithiosilanes. Generalization of the Peterson Olefination. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 3245-3252.
- [29] Dauben W.G., Kowalczyk B.A.: Total Synthesis of (13Z)-Spata-13(15),17-diene, and the Formal Synthesis of Spatol. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 5, 635-638.
- [30] Corey E.J., Chen Z.: Enantioselective Synthesis of γ -Hydroxysilanes, 1,3-Diols and Cyclopropanes by Reactions of a Chiral Epoxide with a Racemic α -Silyl Organolithium Reagent. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 47, 8731-8734.
- [31] Johnson W. S., Chen Y. Q. and Kellogg M. S.: Termination of biomimetic cyclizations by the allylsilane function. Formation of the steroid nucleus in one step of an acyclic polyenic chain. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 6653-6656.
- [32] Kashibuchi Y., Kukumoto T., Oguchi M., Hirukawa T. and Kato T.: Synthesis of 6-epoxygeranylgeraniol and its application to the construction of A/B acyclic pimarane type diterpene. *Heterocycles* **1998**, 49, 255-260.
- [33] Umbreit M.A., Sharpless K.B.: Allylic oxidation of olefins by catalytic and stoichiometric selenium dioxide with tert-butyl hydroperoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 5526-5528.
- [34] Tsuji Y., Funato M., Ozawa M., Ogiyama H., Kajita S., Kawamura T.: Silylation of Allylic Trifluoroacetates and Acetates Using Organodisilanes Catalyzed by Palladium Complex. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 5779-5787.
- [35] Kodama M., Matsuki Y., Ito S.: Syntheses of macrocyclic terpenoids by intramolecular cyclization. I. (+)-Cembrene-A, a termite trail pheromone, and (+)-nephtenol. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 35, 3065-3068.
- [36] Karaman R. and Fry J. L.: Deoxidation / reduction of aromatic esters, α -diketones, acyloins, and epoxides to the corresponding bibenzyl products with lithium 4,4'-di-*t*-butylbiphenyl radical anion. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 6267-6270.
- [37] Neipp C. E., Himpfrey J. M. and Martin S. F.: Synthesis of homoallylic amines utilizing a cuprate-based 1,2-metalate rearrangement. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 531-537.

Publication N°=1

Graphical abstract

Allylsilanes were prepared by catalytic reductive lithiation of thioethers. Depending on reaction conditions, up to three different allylsilanes were selectively obtained.



[Signalement bibliographique ajouté par : ULP – SICD – Service des thèses électroniques]

Synthesis of Allylsilanes by Reductive Lithiation of Thioethers

Stéphane Streiff, Nigel Ribeiro et Laurent Désaubry

Journal of Organic Chemistry, 2004, Vol. 69, Pages 7592-7598

Pages 7592 à 7598 :

La publication présentée ici dans la thèse est soumise à des droits détenus par un éditeur commercial.

Pour les utilisateurs ULP, il est possible de consulter cette publication sur le site de l'éditeur :

<http://pubs.acs.org/cgi-bin/article.cgi/jocean/2004/69/i22/html/jo049237u.html>

Il est également possible de consulter la thèse sous sa forme papier ou d'en faire une demande via le service de prêt entre bibliothèques (PEB), auprès du Service Commun de Documentation de l'ULP: peb.sciences@scd-ulp.u-strasbg.fr

CHAPITRE 2

PARTIE BIOPHYSIQUE

Selon la théorie de G. Ourisson et de Y. Nakatani sur l'évolution des membranes, les phosphates de polyprényle pourraient être les constituants membranaires les plus primitives. Le taux de phosphorylation des polyprénols ne pouvant ne pas être quantitatif dans les conditions prébiotiques, les membranes auraient été constituées d'un mélange d'alcool et de phosphate.

Est-ce que les polyprénols sont capables de renforcer les membranes de phosphates de polyprényle et d'améliorer ainsi la fonction de barrière physique?

1. Formation spontanée de vésicules en phase aqueuse

1.1. Théorie d'Israelachvili et coll.

Israelachvili, Mitchell et Ninham ont proposé un paramètre d'empilement (P) permettant de prévoir les structures moléculaires auto-organisées [1]. Le schéma 1 rassemble les divers modèles d'assemblages moléculaires de structures colloïdales auto-associées, en fonction de la géométrie des amphiphiles considérés individuellement. Il convient toutefois de noter que ce modèle très simplifié présente le défaut majeur de ne pas tenir compte du pH, de la force ionique, de la température et de la pression. Il est cependant efficacement bien prédictif.

Le paramètre d'empilement (P) est défini par la relation :

$$P = v / a_0 L_C$$

- où :
- * v = *volume de la portion hydrophobe de la molécule,*
 - * a_0 = *aire de la section principale du groupement de la tête polaire,*
 - * L_C = *longueur de la chaîne hydrocarbonée totalement étirée.*

Le volume de la tête polaire d'un amphiphile à chaîne unique est plus important que celui de sa portion hydrophobe : le paramètre (P) est donc inférieur à 1/2 et suggère ainsi la formation de micelles. Un paramètre d'empilement voisin de la valeur 1 impose la formation de structures lamellaires et un paramètre (P) compris entre 1/2 et 1 engendre la formation de vésicules. De nombreuses modifications de ce modèle d'empilement ont été proposées, afin d'inclure des paramètres importants tels que le pH, la concentration ionique, la température, la pression ou la saturation de la chaîne lipidique [2]. Cependant, ceci aboutit à des modélisations complexes sans bénéfice réel, et le modèle couramment utilisé est finalement celui d'Israelachvili.



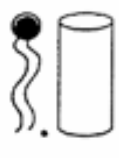
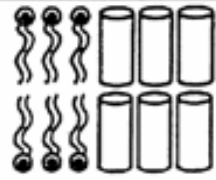


Lipides	Géométrie moléculaire	Morphologie des structures moléculaires auto-organisées
Savons Détergents Lysophospholipides	 $P < \frac{1}{2}$	 <i>Micelle</i>
Phosphatidylcholine Sphingomyéline	 $P = 1$	 Arrangement lamellaire
Acides phosphatidiques Cholestérol	 $P > 1$	 <i>Micelle inverse</i>

Schéma 1 : Modèle d'empilements moléculaires de structures colloïdales auto-organisées en fonction de la géométrie des amphiphiles considérés individuellement.

1.2. Phosphate de polyprényle et étude microscopique

Les phosphates de polyprényle et les pyrophosphates sont des intermédiaires importants intervenant dans la biosynthèse des polyterpénoïdes [3]. Brody et Gutsche ont été les premiers à mentionner la présence de micelles pour le phosphate de farnésyle dispersé dans l'eau [4], tandis que Julia a rapporté la solubilité du géranyl phosphate dans l'eau [5].

Dans notre laboratoire, il a été démontré que les phosphates de di-polyprényle forment des vésicules dans l'eau [6]. De même, en collaboration avec l'équipe du Prof. Hajime Nagano (université d'Ochanomizu, Tokyo), différents phosphates de polyprényle linéaires ou ramifiés ont été synthétisés et il a également été démontré que ces phosphates forment des vésicules [7-9].

Nous avons décidé d'étudier la formation spontanée de vésicules de phosphate de polyprényle avec ou sans alcool terpénique en fonction du pH, par des techniques de microscopie optique. Cette étude a permis de comparer l'influence structurale de différents phosphates et alcools sur la formation des vésicules dans l'eau en fonction du pH et de confirmer la théorie d'Israelachvili pour les phosphates de polyprényle.

2. Perméabilité à l'eau

Après avoir étudié la formation des vésicules dans l'eau des phosphates de polyprényle en présence ou non d'alcool, nous nous sommes intéressés à leurs propriétés de barrière physique. La perméabilité à l'eau est l'une des plus importantes propriétés physico-chimique des lipides membranaires pour évaluer leur rigidité et leur propriété la plus fondamentale : leur efficacité en tant que barrière. En fonction des conditions de pression osmotique, les vésicules présentent des changements volumiques. Le gonflement osmotique de vésicules a été mis à profit pour la détermination de la perméabilité membranaire à l'eau.

2.1. Diffusion de la lumière par flux à écoulement bloqué

En collaboration avec le Dr. A.M. Albrecht (Strasbourg) et pour la partie théorique des Prs T. Tanaka (M.I.T.) et G. Weill (Strasbourg), le laboratoire a développé une méthode directe de qui permet d'évaluer la perméabilité à l'eau des membranes [6,9-15]

Nous avons utilisé la diffusion de la lumière par flux à écoulement bloqué pour évaluer et comparer les propriétés mécaniques de vésicules unilamellaires de phosphates de polyprényle contenant ou non des polyprénols. La grandeur macroscopique, déterminée photométriquement pour quantifier les propriétés de barrière des bicouches lipidiques, est la perméabilité membranaire à l'eau. Cette technique s'appuie sur le modèle théorique de Tanaka [10] mettant en évidence qu'un gonflement osmotique d'une suspension aqueuse de vésicules de rayon initial R_0 mono-dispersée obéit à une cinétique de premier ordre contrôlée par la perméabilité à l'eau $k(R_0)$ de la bicouche lipidique :

$$I(t) = I_0 + [\Delta I.(1 - \exp(-k(R_0).t))] \quad (1)$$

Avec

$$\Delta I = I_\infty - I_0$$

où : I_0 est l'intensité lumineuse diffusée à l'état initial (avant mélange),
 I_∞ est l'intensité lumineuse diffusée à l'équilibre osmotique.

Le changement de pression osmotique cause un influx d'eau au travers des membranes, conduisant à une augmentation du rayon des vésicules (dans le cas où l'espace intra-membranaire est hypertonique par rapport à l'espace extra-membranaire). La perméabilité à l'eau $k(R_0)$ de la bicouche lipidique découle donc de la mesure directe de la dépendance temporelle de l'intensité lumineuse diffusée par la suspension aqueuse (schéma 2). L'équation (1) exprime la perméabilité membranaire à l'eau $k(R_0)$, qui dépend du rayon moyen R_0 de la distribution de vésicules. Les comparaisons des propriétés de barrière des bicouches lipidiques ne pourront donc s'opérer que pour des préparations de vésicules de tailles voisines [9].

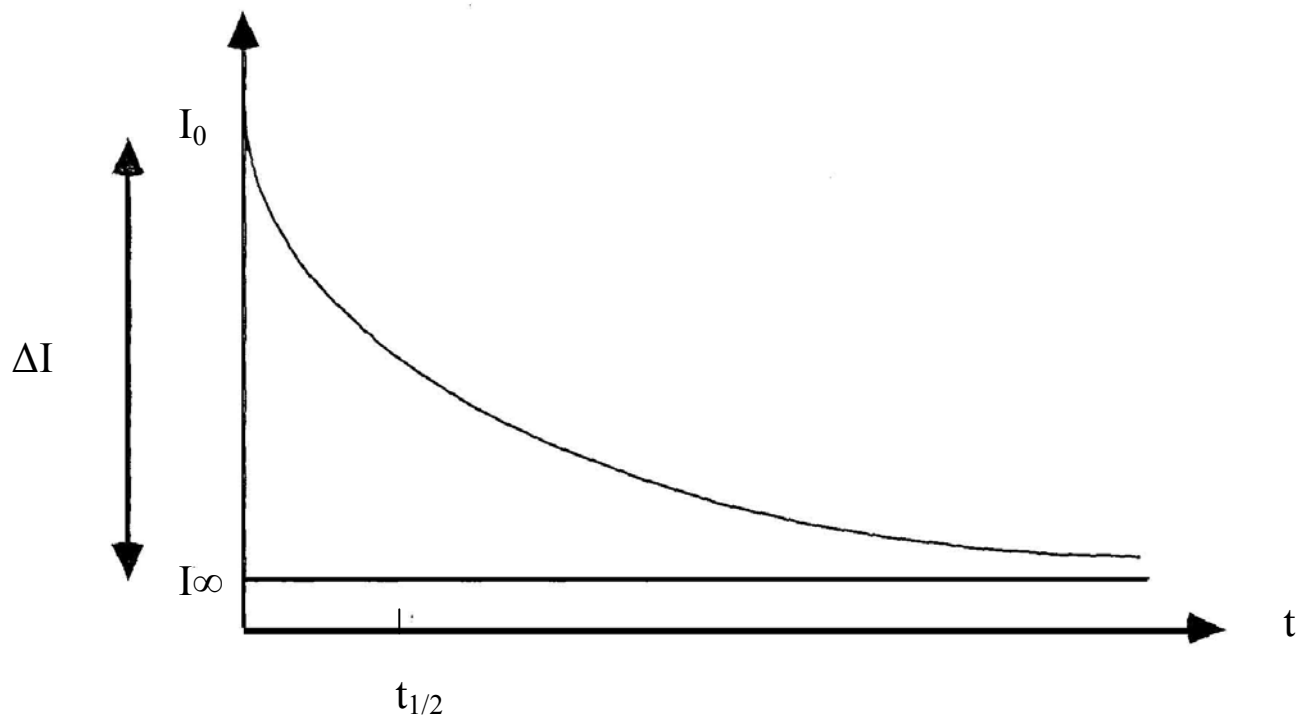


Schéma 2 : Variation de l'intensité diffusée par une suspension aqueuse vésiculaire mono-dispersée au cours de son gonflement osmotique.

2.2. Préparation des vésicules

2.2.1. Suspension aqueuse poly-dispersée

-Sonication [16,17]

Il s'agit de la technique préparative qui permet l'obtention des vésicules les plus petites. L'hydratation d'un film de phospholipide à l'aide d'un tampon aqueux conduit à la formation de vésicules multilamellaires (MLV) ou liposomes. Ces assemblages moléculaires sont détruits par les ultrasons et se réorganisent en petites vésicules unilamellaires (SUV's). Cette réorganisation dépend de nombreux paramètres physiques et chimiques tels que le temps, la puissance de sonication, la forme du ballon, la nature de la sonde et la nature des lipides qui se réarrangent plus ou moins facilement en petites vésicules.

-Injection à l'éther [18,19]

Une solution lipidique dans un mélange éther éthylique / méthanol est injectée lentement à la température de 70°C dans un tampon aqueux. L'éther s'évapore et le lipide est ainsi dispersé dans la phase aqueuse sous la forme de grandes vésicules unilamellaires (LUV). A l'issue d'une séquence de dialyse pour éliminer les solvants, on obtient des vésicules unilamellaires. Cette technique conduit à des vésicules de tailles comprises entre 300 et 600 nm.

-Congélation / décongélation [20-25]

L'hydratation d'un film mince de phospholipides à l'aide d'un tampon aqueux conduit à la formation de vésicules multilamellaires (MLV) ou liposomes. Des séquences de congélation / décongélation contribuent à augmenter le volume aqueux encapsulé des vésicules multilamellaires (MLV) et à induire un relargage de petites vésicules unilamellaires (SUV) et de grandes vésicules unilamellaires (LUV).

2.2.2. Suspension aqueuse mono dispersée

-Filtration sur gel [26-29]

La filtration sur gel (ou chromatographie d'exclusion) sépare les molécules selon leur taille ou leur poids moléculaire. Cette technique a été appliquée pour la première fois aux petites vésicules unilamellaires (SUV) par Huang, qui a montré qu'une filtration sur gel permettait de

séparer les petites vésicules obtenues par sonication des grandes vésicules. L'inconvénient de cette méthode est qu'une partie des vésicules reste adsorbée sur le gel et ceci peut entraîner des problèmes de contamination des échantillons si l'on souhaite utiliser la même colonne pour différentes préparations.

-Filtration sur les membranes de polycarbonates [30,31]

En 1979, Papahadjopoulos et coll. ont montré qu'il est possible de rendre homogène une population poly-dispersée de vésicules par filtration séquentielle au travers de filtres de polycarbonate. Ces filtres (Figure 1 et 2) sont produits par bombardement de membranes par des ions lourds (ions de californium $Z=98$) et possèdent des pores à symétrie de révolution cylindrique de diamètre bien défini. Les vésicules, forcées à passer au travers des pores de ces membranes, acquièrent approximativement la dimension de ces mêmes pores.

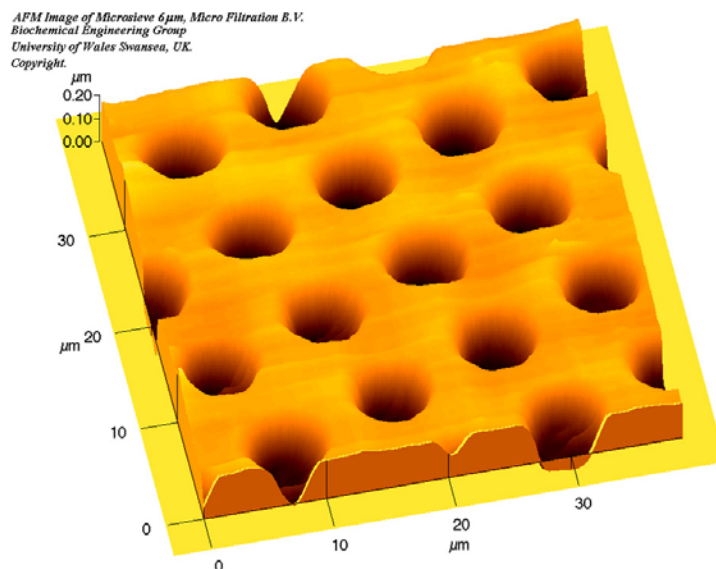


Figure 1 : Schéma de la membrane de polycarbonate.

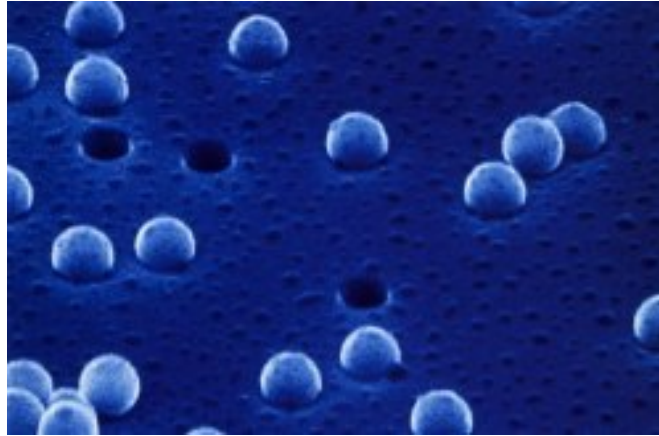


Figure 2 : Micrographie d'une membrane de polycarbonate (diamètre de pores : $\varnothing = 0,4 \mu\text{m}$) avec des billes de $0,5 \mu\text{m}$) obtenue par microscopie électronique à balayage (provenance : catalogue Corning Costar).

2.2.3. Méthode sélectionnée.

La filtration sur gel permet l'obtention de fractions homogènes de vésicules de différents rayons à partir de solutions poly dispersées. Le principal inconvénient de cette technique réside dans l'adsorption vésiculaire sur le gel de chromatographie, qui impose l'utilisation de grandes quantités initiales de vésicules et suscite quelques inquiétudes quant à la contamination potentielle des échantillons filtrés successivement sur une même colonne. La filtration sur des membranes de polycarbonates permet, pour sa part, d'homogénéiser une préparation de vésicules de taille aléatoire plus simplement et rapidement qu'une filtration sur gel.

Nous avons choisi de préparer nos suspensions aqueuses de vésicules unilamellaires de tailles contrôlées par la technique de la congélation / décongélation suivie de la méthode de la filtration sur les membranes de polycarbonate.

2.2.4. Caractérisation du diamètre moyen des vésicules par spectroscopie à corrélation photonique [32]

Cette technique de caractérisation des polymères permet d'étudier les émulsions, les suspensions de particules ou de colloïdes et les molécules en solution, dont les tailles sont comprises entre 5 et 3000 nm. Elle permet de calculer la distribution statistique de la taille ou du poids moléculaire des particules à partir de la mesure du coefficient de diffusion de l'échantillon. Le principe est le suivant :

Il s'agit d'un diffusomètre dans lequel on étudie la lumière diffusée par l'échantillon. Cependant, on s'intéresse non pas à l'intensité de la lumière diffusée, mais aux fluctuations dans le temps de cette intensité. Ces fluctuations sont dues aux mouvements des particules diffusantes et comportent donc l'information relative à la taille de ces particules.

Dans le cas de particules sphériques de rayon R diffusant dans un milieu de viscosité η_0 , cette fonction est de la forme :

$$C(\Gamma) = 1 + \alpha \exp(-2\Gamma\tau)$$

Avec $\Gamma = Dh^2$

$D = kT / 6\pi\eta_0R$ coefficient de diffusion de la particule

$h = (4\pi/\lambda) \sin(\theta/2)$ vecteur de diffusion dans la direction θ

Un appareil de diffusion quasi-élastique comporte un « corrélateur » qui détermine la fonction de corrélation de l'intensité diffusée. Des programmes d'ajustement de courbes mono- ou multi exponentielles permettent de déterminer Γ , donc le rayon des particules diffusantes (ou la distribution en taille).

3. Résultats

Les phosphates de polyprényle ont été postulés comme étant des constituants membranaires "primitifs" et les alcools correspondants comme étant des renforçateurs membranaires. Différents phosphates de polyprényle ainsi que des polyprénols ont été synthétisés. En utilisant la technique de microscopie optique, nous avons étudié l'impact de plusieurs paramètres (tels que la longueur de la chaîne isoprénique, le nombre de doubles liaisons, la présence ou l'absence d'un cycle et la température), qui pourraient influencer la formation de vésicules dans l'eau des phosphates de polyprényle avec ou sans polyprénols. Nous avons trouvé que les phosphates de polyprényle ayant 15 ou 30 atomes de carbone

forment des vésicules géantes dans une large gamme de pH. L'effet renforçateur des polyprénols sur les membranes de phosphates de polyprényle a été prouvé par la mesure de la cinétique de perméabilité à l'eau par diffusion de la lumière par flux à écoulement bloqué. Cette étude a également révélé que certains polyprénols réduisent plus efficacement la perméabilité à l'eau des membranes de phosphates de polyprényle que le cholestérol, le renforçateur membranaire des eucaryotes. Ces résultats sont présentés dans notre publication n°2 (p.66).

Nous avons également synthétisé une famille de terpènes bicycliques et nous avons étudié leurs propriétés membranaires dans des membranes de géranylgeranylphosphate de disodium (figure 3). Nous comparerons également les propriétés biophysiques des terpènes monocycliques avec celles des terpènes bicycliques.

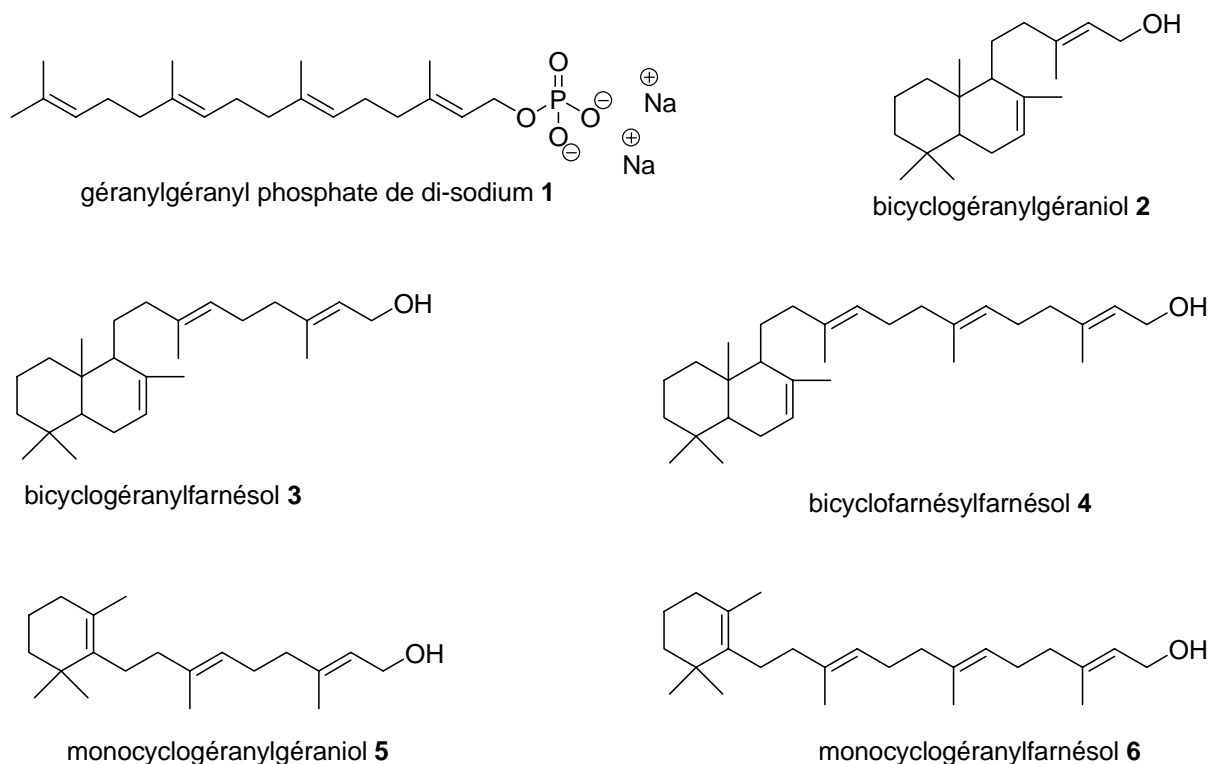


Figure 3 : Polyprényl phosphate **1** et polycyclopolyprénols **2, 3, 4, 5** et **6**

3.1. Formation de vésicules de système de géranylgeranyl phosphate/bicyclopolyprénols en fonction du pH

Nous avons étudié par microscopie optique à contraste de phase différentiel interférentiel la formation de liposomes de géranylgeranyl phosphate en présence de bicyclopolyprénols. Le géranylgeranyl phosphate de di-sodium forme spontanément dans l'eau des vésicules entre les pHs 2,2 et 8,6. L'addition de bicyclopolyprénols dans les membranes de géranylgeranyl phosphate influence la formation des vésicules dans l'eau en fonction du pH (tableau 1).

Le bicyclogéranylgeraniol **2** (C₂₀) s'incorpore dans la bicouche membranaire du géranylgeranyl phosphate **1**. En effet, si nous incorporons 10 mol % de **2**, nous observons la formation spontanée de vésicules entre les pHs 4,0 et 12,6. Le composé **2** améliore énormément la stabilité des vésicules de phosphate **1** dans les milieux basiques et les déstabilise en milieu acide fort. En augmentant le rapport molaire, nous continuons à observer que l'addition de **2** déstabilise la formation de vésicule en milieu acide et à 40 mol %, nous observons la formation spontanée de vésicules entre pH 5,3 et 13,2.

Le bicyclogéranylfarnésol **3** (C₂₅) s'incorpore également dans la bicouche membranaire du phosphate **1** et à 10 mol % nous observons la formation de vésicules dans la même gamme de pH que l'alcool **2** (pH 4,0 – 12,6). Par contre, en augmentant le rapport molaire de l'alcool **3**, nous continuons à observer des vésicules à pH 4,0. Cela pourrait suggérer que le taux d'incorporation du composé **3** soit atteint entre 20 mol% et 30 mol%.

De même pour le bicyclofarnésylfarnésol **4** (C₃₀), l'incorporation de 10 mol % permet la formation de vésicules stables en milieu basique et la déstabilise en milieu acide (pH 4,0 – 12,6). La saturation du taux d'incorporation de l'alcool **4** semble également atteinte entre 20 mol% et 30 mol %.

Tableau 1 : Formation de vésicules en fonction du pH d'un mélange de géranylgeranyl phosphate (pH 2,2 – 8,6) + x mol % de bicycloprénols (T = 25°C)

Alcools	Ratio (mol%)	pH
2	10	4,0 – 12,6
	20	4,0 – 12,6
	30	4,5 – 13,2
	40	5,3 – 13,2
	50	5,3 – 13,2
3	10	4,0 – 12,6
	20	4,0 – 13,2
	30	4,0 – 13,2
	40	4,0 – 13,2
	50	4,5 – 13,2
4	10	4,0 – 12,6
	20	4,0 – 12,6
	30	4,0 – 13,2
	40	4,0 – 13,2
	50	4,5 – 13,2

En comparant ces résultats avec ceux obtenus avec les monocyclopolyprénols (Tableau 2), nous constatons que le monocyclogéranylgeraniol **5** (C₂₀) suit la même tendance que le bicyclogéranylgeraniol **2** (C₂₀) : plus le rapport molaire augmente, plus les vésicules sont déstabilisées en milieu acide.

Le monocyclogéranylfarnésol **6** (C₂₅) à 10 mol % favorise la formation de vésicules en milieu basique et les déstabilise en milieu acide (pH 6,34 -12,28). Par contre, nous observons une très forte déstabilisation en milieu basique à 20 mol % (pH 6,6 – 9,22) et l'incorporation de **6** semble saturée entre 20 mol % et 30 mol %.

Tableau 2 : Formation de vésicules en fonction du pH d'un mélange de géranylgeranyl phosphate (pH 2,2 – 8,6) + x mol % de monocycloprénols (T = 25°C)

alcools	Ratio (mol%)	pH
5	10	3,42 – 12,47
	20	5,8 – 13,26
	30	7,2 – 13,26
	40	8,3 – 13,26
	50	9,6 – 13,26
6	10	6,34 – 12,28
	20	6,6 – 9,22
	30	6,6 – 7,76
	40	6,6 – 7,76
	50	6,6 – 7,38

L'ajout d'alcool dans les membranes entraîne une augmentation du volume hydrophobe ce qui permet de compenser la répulsion des charges de la tête polaire en milieu basique. Les bicyclopolyprénols stabilisent les vésicules de géranylgeranyl phosphate dans une large gamme de pH allant d'un milieu acide faible vers un milieu basique fort.

De même, les monocyclopolyprénols stabilisent les membranes de géranylgeranyl phosphate en milieu basique et les déstabilisent en milieu acide. Par contre, l'augmentation du rapport molaire du monocyclogéranylfarnésol **6** perturbe énormément les membranes en milieu basique.

Nous avons également constaté par l'étude des pKas du géranylgeranyle phosphate ($pK_{a1} = 2.4$, $pK_{a2} = 6.5$) que la présence de la forme mono-anionique du phosphate est importante pour la formation de vésicules (pH 2.2 – 8.6). En effet, la forme di-anionique présenterait une tête polaire trop grande pour permettre une géométrie en bicouche. Probablement, en raison d'un rayon de courbure trop importante, nous avons une formation de micelles. Par contre, l'addition d'alcools (grâce à leurs liaisons hydrogène) permettrait également d'engendrer un réseau de liaisons hydrogènes, ce qui diminuerait le rayon de courbure à la surface de la membrane (Figure 4) et permettrait d'observer la formation de vésicules en milieu basique. Tous ces résultats sont en accord avec la théorie d'Israelachvili et coll. sur la géométrie de compacité des molécules amphiphiles [1].

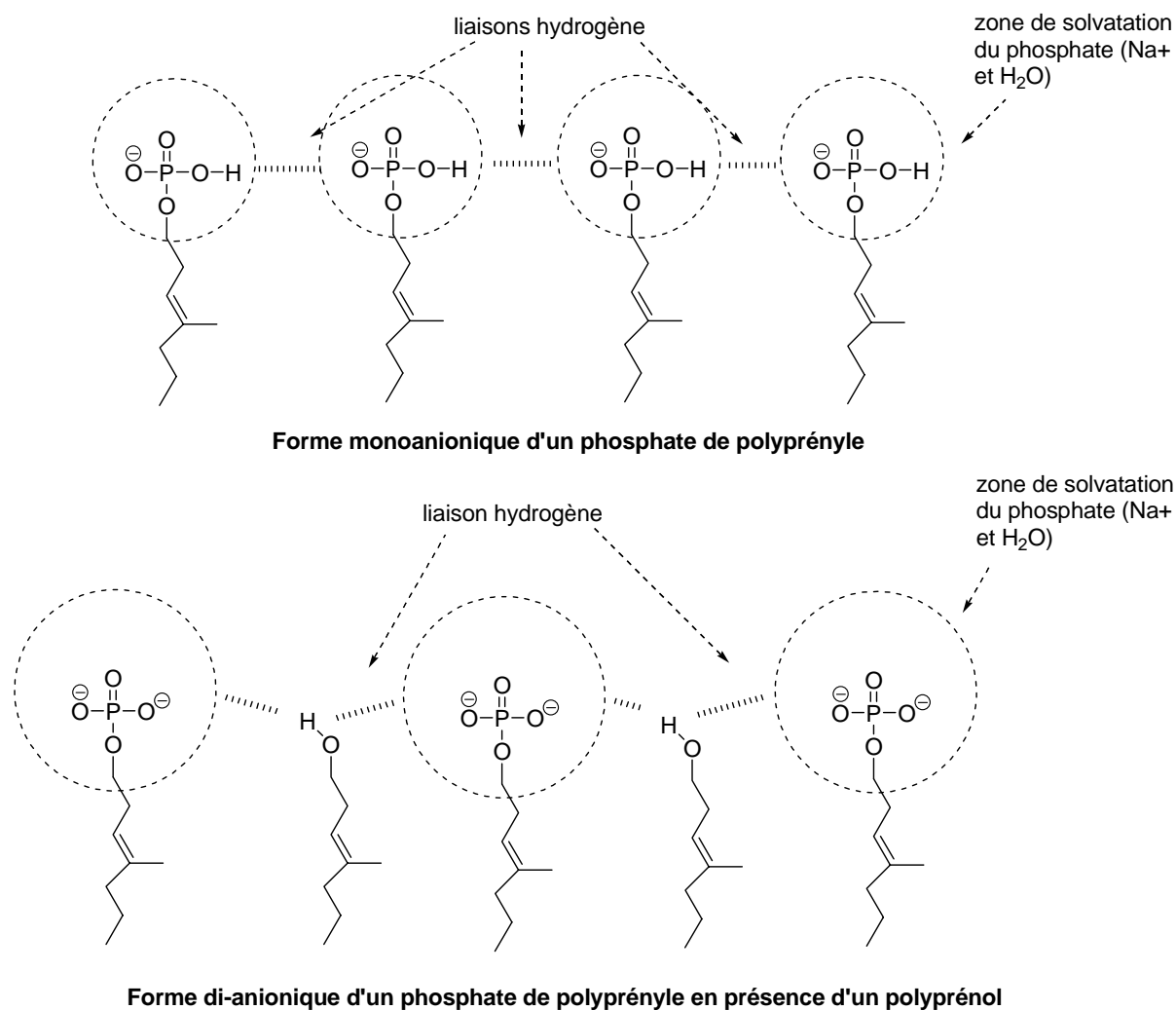


Figure 4 : Liaison hydrogène à la surface des membranes de phosphate de polyprényle.

3.2. Perméabilité à l'eau d'une membrane de géranylgéranyl phosphate/bicyclopolyprénols

Nous avons étudié l'influence des bicyclopolyprénols **2**, **3** et **4** sur la perméabilité à l'eau de vésicules de géranylgéranyl phosphate **1** et nous avons constaté qu'il n'y a pas de renforcement significatif (tableau 3, entrées 1, 2, 3 et 4).

Tableau 3 : Perméabilité membranaire à l'eau de vésicules unilamellaires de géranylgeranyl phosphate de di-sodium **1** contenant 10 mol d'alcool terpénique mesurée par diffusion de la lumière par flux à écoulement bloqué à la température de $15 \pm 0,1^\circ\text{C}$ et à $\text{pH} = 5,81$.

Entrée	Polycyclopolyprénols	Diamètre (nm)	Déviat ion standard (nm)	Constante de vitesse k (s-1)	$t_{1/2}$ (ms)
1	Référence 1	180	16	34.8 +/- 0.7	19.9 +/- 1.0
2	2	176	faible	22.4 +/- 6.1	33.3 +/- 9.8
3	3	179	faible	26.8 +/- 8.4	28.1 +/- 8.5
4	4	183	faible	36.9 +/- 8.8	19.7 +/- 4.3
5	5	187	26	41.6 +/- 2.1	16.6 +/- 1.9
6	6	190	21	2.76 +/- 0.08	251.1 +/- 5.6

Nous nous sommes demandé pourquoi les bicyclopolyprénols **2**, **3** et **4** ne renforcent pas les membranes de géranylgeranyl phosphate **1** alors que le monocyclogéranylfarnésol **6** la renforce avec un facteur de 12.

D'un point de vue prébiotique, nous avons synthétisé des bicyclopolyprénols diastéréomériques (Figure 5). La position de la chaîne latérale des bicyclopolyprénols peut soit être équatoriale, soit être axiale. Les rapports entre la chaîne en position équatoriale et en position axiale sont de 1 : 1.

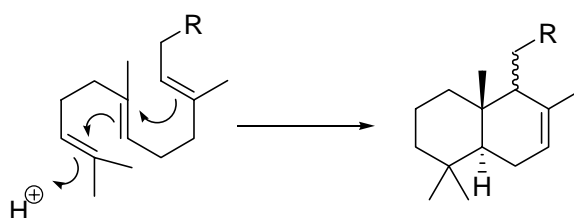


Figure 5 : cyclisation en milieu acide d'un polyprényle régulier

Pour expliquer ces observations, la longueur, le volume et la modélisation des bicyclopolyprénols (les deux diastéréomères de **2**, **3** et **4**) ainsi que des monocyclopolyprénols **5** et **6** ont été calculés par la méthode de calcul PM3 MM avec le programme GAUSSIAN03 (Tableau 4) (Figure 6-13) [33].

Tableau 4 : Calcul du volume et de la distance de polycycloprénols

Entrée	Polycycloprénols	Distance (Å) ^[c]
1	Référence : géranylgeraniol	18.059
2	2a ^[a]	10.944
3	2b ^[b]	9.706
4	3a ^[a]	15.568
5	3b ^[b]	12.963
6	4a ^[a]	20.253
7	4b ^[b]	17.412
8	5	13.192
9	6	17.973

[a] chaîne latérale en position équatoriale

[b] chaîne latérale en position axiale

[c] distance entre C1 (carbone portant la fonction alcool) et le carbone le plus éloigné de C1

Si nous comparons les modélisations de plus basse énergie des diastéréomères des bicyclopolyprénols **2a**, **3a** et **4a**, avec la chaîne latérale en position équatoriale, nous remarquons qu'elle forme un plan avec la structure bicyclique (Figure 6, 8 et 10). A l'inverse pour **2b**, **3b** et **4b**, lorsque la chaîne est en position axiale, nous avons une importante courbure par rapport au plan des bicycles (Figure 7, 9 et 11). Probablement, les diastéréomères avec la chaîne en position axiale perturbe la cohésion de la membrane du phosphate **1**. Nous remarquons que le mélange des deux diastéréomères à 10 mol% ne diminue pas la perméabilité à l'eau des vésicules du phosphate **1**.

Les monocyclopolyprénols **5** et **6** forment aussi un plan avec leur cycle (Figure 12 et 13). En comparant la longueur des deux monocyclopolyprénols, nous constatons que **6** a la même longueur que le géranylgeraniol alors que **5** est plus court (table 4, entrée 1, 8 et 9). Ceci pourrait expliquer que le monocyclogéranylfarnésol **6** renforce les vésicules de géranylgeranyl phosphate **1** et pas le monocyclogéranylgeraniol **5**. Une longueur de chaîne adéquate favorise la cohésion des chaînes lipidiques sur toute leur longueur par des interactions de van der Waals. L'assemblage moléculaire se retrouve plus compact ce qui entraîne une diminution de la perméabilité à l'eau.

Il est probable que l'un des diastéréomères **2a**, **3a** et **4a** (avec la chaîne latérale en position équatoriale) ayant une longueur adéquate, par rapport au lipide membranaire, puisse renforcer celle-ci.

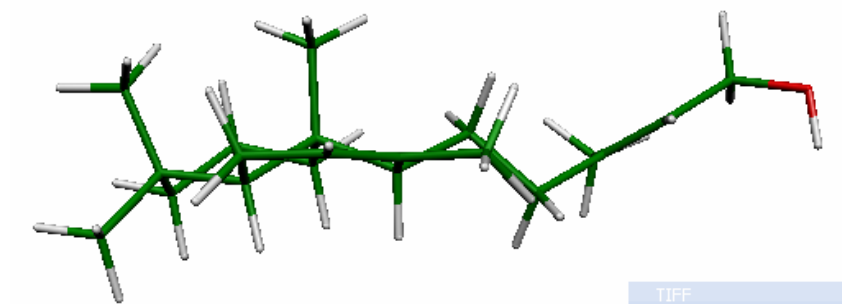


Figure 6 : Monocyclogéranylgéraniol **2a** avec chaîne en position équatoriale

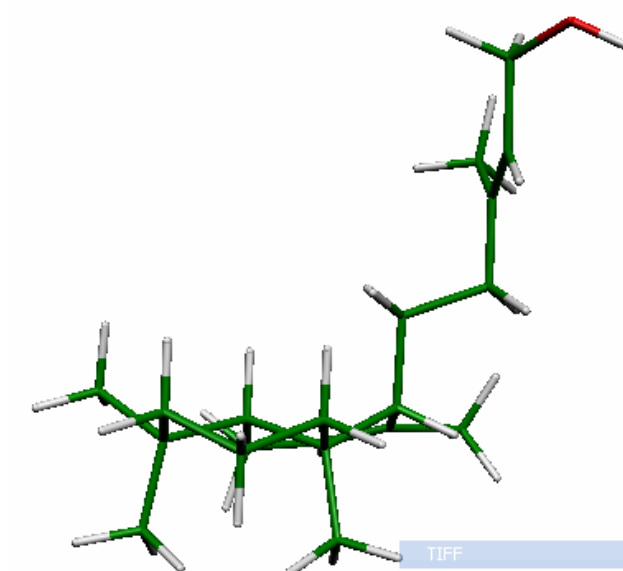


Figure 7 : Monocyclogéranylgéraniol **2b** avec chaîne en position axiale

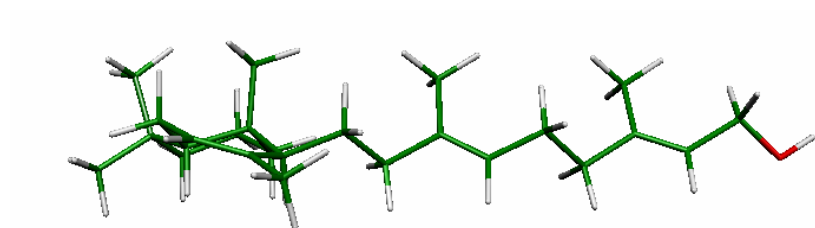


Figure 8 : Bicyclogéranylfarnésol **3a** avec la chaîne en position équatoriale

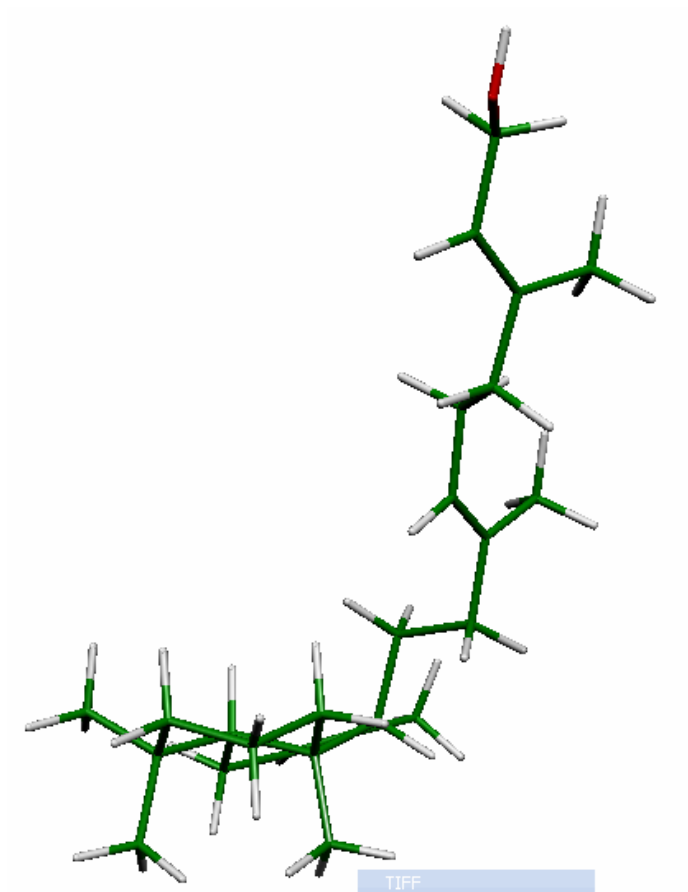


Figure 9 : Bicyclogéranylfarnésol **3b** avec la chaîne en position axiale

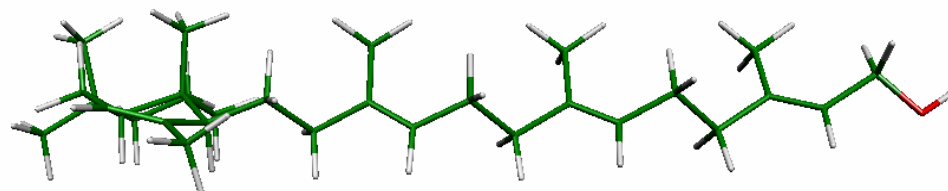


Figure 10 : Bicyclobornéylfarnésol **4a** avec la chaîne en position équatoriale

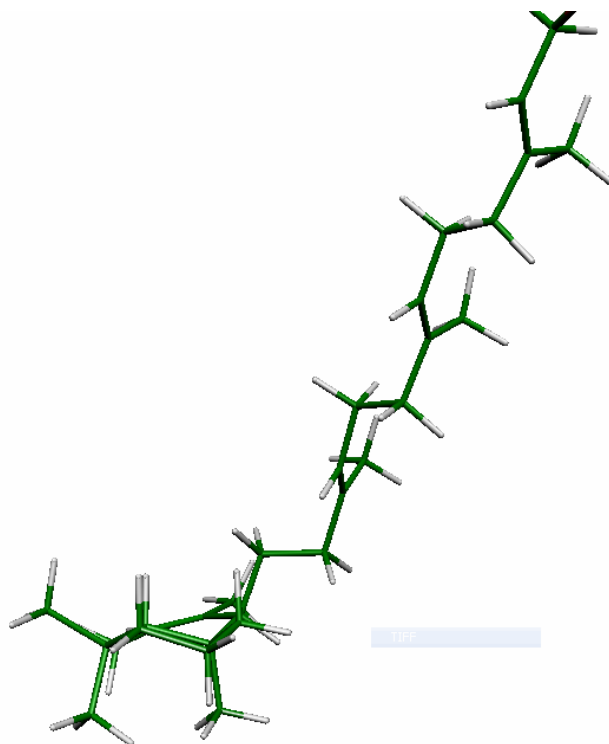


Figure 11 : Bicyclofarnésylfarnésol **4b** avec la chaîne en position axiale

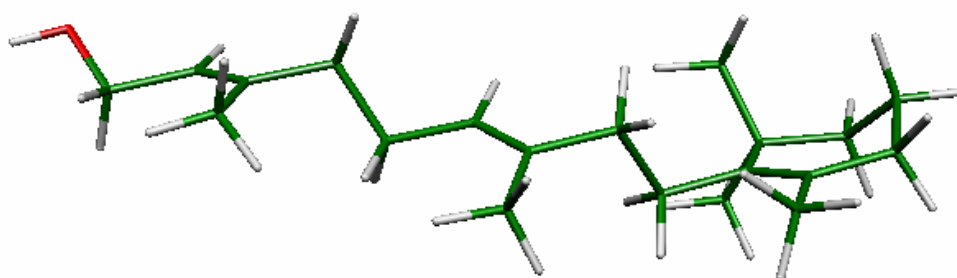


Figure 12 : Monocyclogéranylgéraniol **5**

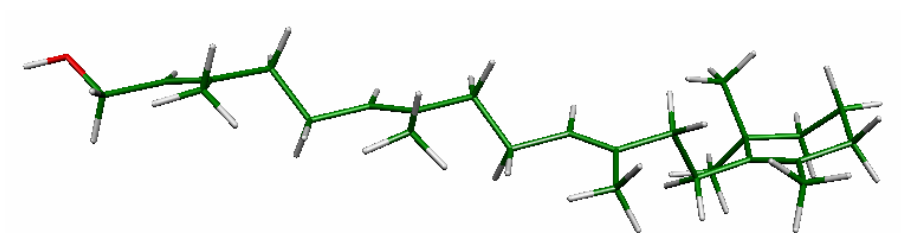


Figure 13 : Monocyclofarnésylfarnésol **6**

Références :

- [1] Israelachvili J. N., Mitchell J. and Ninham B. W., Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. *Biochim. Biophys. Acta*, 1977, 470, 185-201.
- [2] Chong P. and Weber G.: *Biochemistry* **1983**, 22:5544.
- [3] Spurgeon S. L. and Proter J. W.: *In Biosynthesis of Isoprenoid Compounds*. Edited by Wiley J. New-York; **1981**.
- [4] Brody E. P. and Gutsche C. D.: The mechanism of the acid-catalyzed decomposition of the farnesyl phosphates. *Tetrahedron* **1977**, 33:723-729.
- [5] Julia M., Mestdagh H. and Rolando C.: A simple method for the synthesis of primary and tertiary terpene allylic phosphates. *Tetrahedron* **1986**, 42:3841-3849.
- [6] Birault V., Pozzi G., Plobeck N., Eifler S., Schmutz M., Palanché T., Raya J., Brisson A., Nakatani Y. and Ourisson G.: Di(polyprenyl) Phosphate as Model for Primitive Membrane Constituents: Synthesis and Phase Properties. *Chem. Eur. J.* **1996**, 2:789-799.
- [7] Pozzi G., Birault V., Werner B., Dannenmuller O., Nakatani Y., Ourisson G. and Terakawa S.: Single-Chain Polyprenyl Phosphates From "Primitive" Membranes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35:177-180.
- [8] Takajo S., Nagano H., Dannenmuller O., Ghosh S., Albrecht A. M., Nakatani Y. and Ourisson G.: Membrane properties of sodium 2- and 6-(poly)prenyl-substituted polyprenyl phosphates. *New J. Chem.* **2001**, 25:917-929.
- [9] Milon A., Lazrak T., Albrecht A. M., Wolf G., Weill G., Ourisson G. and Nakatani Y.: Osmotic swelling of unilamellar vesicles by the stopped-flow light scattering method. Influence of vesicle size, solute, temperature, cholesterol and three α,ω -dihydroxycarotenoids. *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, 859:1-9.
- [10] Sun S. T., Milon A., Tanaka Y., Ourisson G. and Nakatani Y.: Dynamic light scattering study of osmotic swelling of unilamellar phospholipid vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* **1986**, 860:525-530.
- [11] Lazrak T., Milon A., Wolff G., Albrecht A., Miehé M., Ourisson G., Nakatani Y.: Comparison of the effects of inserted C₄₀- and C₅₀-terminally dihydroxylated carotenoids on the mechanical properties of various phospholipid vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, 903, 132-141.

- [12] Krajewski-Bertrand M.A., Hayer M., Wolff G., Milon A., Albrecht A.M., Heissler D., Nakatani Y., Ourisson G.: Tricyclohexaprenol and an octaprenediol, two of the "primitive" amphiphilic lipids, do improve phospholipidic membranes. *Tetrahedron* **1990**, 46, 3143-3154.
- [13] Schuller I., Milon A., Nakatani Y., Ourisson G., Albrecht A.M., Benveniste P., Hartmann M.A.: Differential effects of plant sterols on water permeability and on acyl chain ordering of soybean phosphatidylcholine bilayers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 6926-6930.
- [14] Dannenmuller O., Arakawa K., Eguchi T., Kakinuma K., Blanc S., Albrecht A.M., Schmutz M., Nakatani Y., Ourisson G.: Membrane Properties of Archæal Macrocyclic Diether Phospholipids. *Chem. Eur. J.* **2000**, 6, 645-654.
- [15] Bisseret P., Wolff G., Albrecht A.M., Tanaka T., Nakatani Y., Ourisson G.: A Direct Study of the Cohesion of Lecithin Bilayers : the Effect of Hopanoids and α - ω -dihydroxylcarotenoids. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1983**, 110, 320-324.
- [16] Huang C.: Studies on phosphatidylcholine vesicles. Formation and physical characteristics. *Biochemistry* **1969**, 8:344-352.
- [17] Barenholz Y., Gibbes D., Litman B. J., Goll J., Thompson T. E. and Carlson R. D.: A simple method for the preparation of homogeneous phospholipid vesicles. *Biochemistry* **1977**, 16:2806-2810.
- [18] Deamer D. and Bangham A. D.: Large volume liposomes by an ether vaporization method. *Biochim Biophys Acta* **1976**, 443:629-634.
- [19] Kremer J. M., Esker M. W., Pathmamanoharan C. and Wiersema P. H.: Vesicles of variable diameter prepared by a modified injection method. *Biochemistry* **1977**, 16:3932-3935.
- [20] Rendi R.: Water extrusion in isolated subcellular fractions. VI. Osmotic properties of swollen phospholipid suspensions. *Biochim. Biophys. Acta* **1967**, 135:333-346.
- [21] Siminovitch D. and Chapman D.: *FEBS Lett.* **1971**, 16:207.
- [22] Pick U.: Liposomes with a large trapping capacity prepared by freezing and thawing of sonicated phospholipid mixtures. *Arch. Biochem. Biophys.* **1981**, 212:186-194.
- [23] Mayer L. D., Hope M. J., Cullis P. R. and Janoff A. S.: Solute distributions and trapping efficiencies observed in freeze-thawed multilamellar vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, 817:193-196.
- [24] Hope M. J., Bally M. B., Mayer L. D., Janoff A. S. and Cullis P. R.: *Chem. Phys. Lipids* **1986**, 40:89.
- [25] Chen P. S., Toribara T. Y. and Warner H.: Microdetermination of phosphorus. *Anal. Chem.* **1956**, 28:1756-1758.

- [26] Rosset R., Caude M. and Jardy A.: *Manuel pratique de chromatographie en phase liquide*. Edited by Masson; **1982**.
- [27] Knox J. H.: *High performance liquid chromatography*: Edinburgh University press; **1982**.
- [28] Nozaki Y., Lasic D. D. and Tanford J. A.: Size analysis of phospholipid vesicle preparations. *Science* **1982**, 217:366-367.
- [29] Pervucnik G., Schurtenberger P., Lasic D. D. and Hauser H.: Size analysis of biological membrane vesicles by gel filtration, dynamic light scattering and electron microscopy. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, 821:169-173.
- [30] Olson F., Hunt C. A., Szoka F. C., Vail W. J. and Papahadjopoulos D.: Preparation of liposomes of defined size distribution by extrusion through polycarbonate membranes. *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, 557:9-23.
- [31] Szoka F. C., Olson F., Heath T., Vail W. J., Mayhew E. and Papahadjopoulos D.: *Biochim. Biophys. Acta* **1980**, 601:559-571.
- [32] Berne B. J. and Pecora R.: *Dynamic light scattering with applications to chemistry, biology and physics*. Edited by sons J.W.a.; **1976**.
- [33] Frisch M. J., Gaussian 03, Revision B.03, Gaussian Inc., Pittsburgh PA, 2003.

Publication N°=2

Accepté dans Chem. Eur. J

Membrane formation from polyprenyl phosphates/polyprenyl alcohols, postulated as primitive membranes

Stéphane Streiff^[a], Nigel Ribeiro^[a], Zhengyan Wu^[a], Elzbieta Gumienna-Kontecka^[b], Mourad Elhabiri^[b], Anne Marie Albrecht-Gary^[b], Guy Ourisson^[a] and Yoichi Nakatani^{*[a]}

We dedicate this work to the memory of Marie-Claire Dillenseger.

[a] Prof. Y. Nakatani, Prof. G. Ourisson, Dr. S. Streiff, N. Ribeiro and Dr. Z. Wu
Centre de Neurochimie CNRS, Institut de Chimie LC3-UMR 7177, Université Louis Pasteur
5, rue Blaise Pascal, F-67084 Strasbourg (France)
Fax : (+33) 3 88 60 76 20
e-mail : nakatani@chimie.u-strasbg.fr

[b] Dr. E. Gumienna-Kontecka, Dr. M. Elhabiri, and Dr. A.M. Albrecht-Gary
Laboratoire de Physicochimie Bioorganique
Ecole Européenne de Chimie Polymères et Matériaux, UMR 7509 CNRS
25, rue Becquerel, F-67200 Strasbourg (France)
e-mail : amalbre@chimie.u-strasbg.fr

Abstract

We have postulated that polyprenyl phosphates could be “primitive” membrane constituents and that polyprenyl alcohols might play the role of their membrane reinforcers. Polyprenyl phosphates as well as polyprenyl alcohols bearing different isopentenyl C₅ units have been synthesized. Using fluorescence microscopy, we have studied different parameters (such as chain length, degree of unsaturation, acyclic or cyclic chain, temperature), which might affect the formation of vesicles from the system: polyprenyl phosphate/H₂O with or without polyprenyl alcohol. We have found that polyprenyl phosphates containing 15 to 30 C-atoms form giant vesicles in a wide pH range. We also confirmed that the lipophilicity/hydrophobicity ratio is important for vesicle formation, which is compatible with the theory of Israelachvili. Stopped-flow/light-scattering experiments, which evaluate the water permeability through the membrane of unilamellar vesicles prepared from polyprenyl phosphate/polyprenyl alcohol/H₂O, revealed that some polyprenyl alcohols do reduce the water permeability even more efficiently than cholesterol, the ubiquitous reinforcer of eukaryotic membranes. These results give a favourable argument for the hypothesis that polyprenyl alcohols might have been reinforcers of “primitive” membranes made of polyprenyl phosphates.

Key words

amphiphiles – polyprenol - polyprenyl phosphate – reinforcer - vesicles

Introduction

Life is cellular and a thin lipidic membrane separates the living organism from the outside world. We have observed that terpenoids are universal, necessary constituents of all living organisms and postulated an original scenario of the early formation of membranes and their evolution. It was possible to arrange the known membrane terpenoids in a phylogenetic sequence and a retrograde analysis has led us to conceive that polyprenyl phosphates might have been primitive membrane constituents.^[1] On the other hand, archaeal membrane lipids in C₂₀ and C₄₀ display some characteristics much more primitive than those of Eucaryotes (Figure 1). The polyprenyl chains of Archaea are biosynthesized by C₅ increments, and the chemistry involved in these elongation steps are simple alkylations of double bonds.^[2] The duplication of C₅ units has been realized by simple treatment of monoprenols at room temperature in the presence of montmorillonite.^[3] These steps could be repeated, and could lead from C₁₀ to C₁₅, then C₂₀. Selectivity would be ensured as soon as there is a phase separation at a certain length of the lipophilic chain, with the proper polar head-group. We have postulated that the simplest possible polar head could be a phosphate.

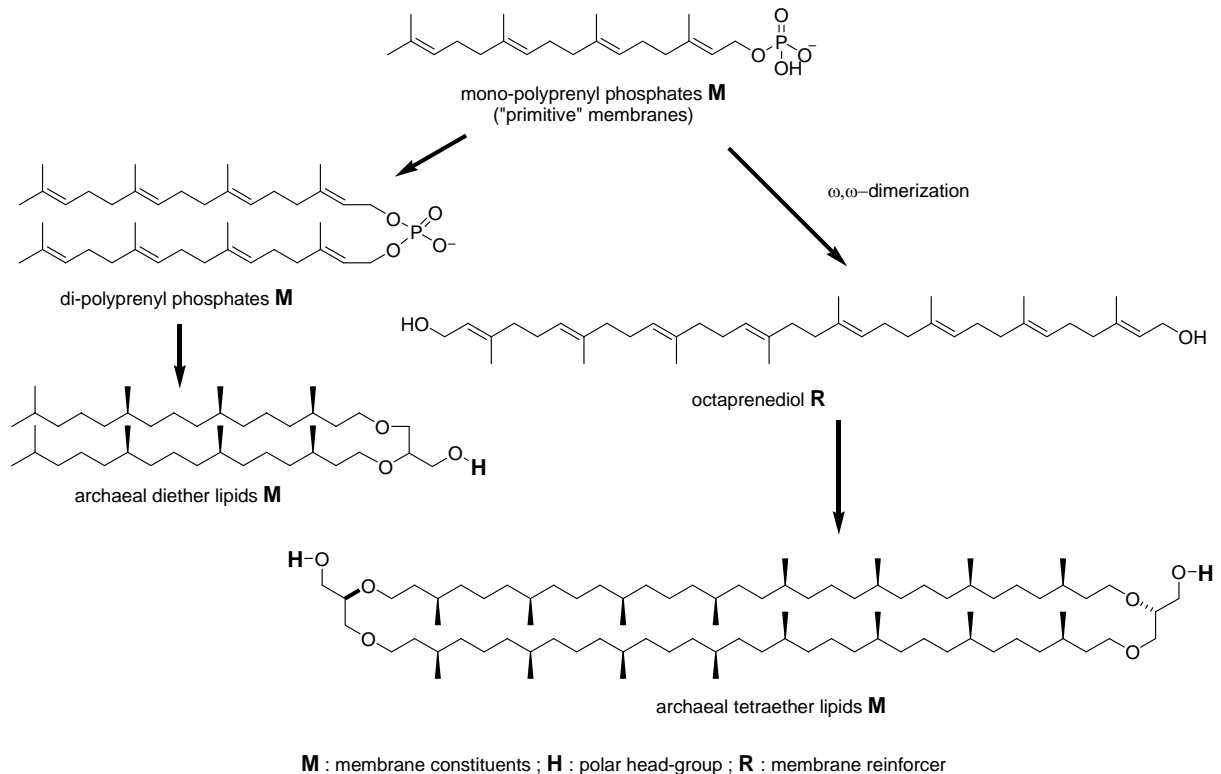


Figure 1: Postulated evolution of membranes constituents: from polyprenyl phosphates towards archaeal lipids (C_{20} , C_{40})

Based on these observations, we have synthesized several phosphate esters containing one or two polyprenyl chains, and have demonstrated that indeed single- or double-chain polyprenyl phosphates do form vesicles.^[4a,b] The monolayer properties of some single-chain polyprenyl phosphates were also investigated at the air-water interface by surface pressure-area isotherm measurements.^[5] In brief, single-chain polyprenyl phosphates occupy a central position in the phylogenetic sequence of membrane terpenoids, in which they are biosynthetic intermediates of all terpenoids and form vesicles by themselves.^[2]

On the other hand, some terpenoids are membrane reinforcers in Eukaryotes (cholesterol, other sterols) and in Bacteria (hopanoids, α,ω -dihydroxylated carotenoids)^[6]. Which components could be reinforcers of polyprenyl phosphates, which we had postulated as the most "primitive" membrane constituents ? Polyprenyl phosphates could be obtained by

phosphorylation of polyprenyl alcohols under prebiotic conditions.^[7] We speculated that the “primitive” membranes might be made up of a mixture of phosphates and alcohols, and we now show that the free alcohols do stabilize the vesicles made of their phosphates.

Here, we will first present a more detailed study on the formation of vesicles from a series of synthesized single-chain polyprenyl phosphates in order to analyze different parameters to form vesicles (chain length, degree of unsaturation, acyclic or cyclic chain, pH and presence or absence of the free alcohol). We found that polyprenyl phosphates containing 15 to 30 C-atoms form vesicles in a large pH range. Polyprenyl phosphate containing C₁₀ (a shorter chain) or C₄₅ atoms (a longer chain) do not spontaneously form vesicles. Next, we will discuss the formation of vesicles from the mixed systems composed of a single-chain polyprenyl phosphate and a free polyprenyl alcohol as a function of pH. We also studied the reinforcing effect of polyprenyl alcohols on polyprenyl phosphate membranes, by use of our stopped-flow/light scattering method to evaluate the water permeability.^[8] We demonstrate here that some polyprenyl alcohols can more effectively reduce the water permeability of some polyprenyl phosphate vesicles than cholesterol; thus, these polyprenyl alcohols are suitable reinforcers of polyprenyl phosphate membranes.

Results and Discussion

Synthesis of polyprenyl phosphates and polyprenyl alcohols

Phosphorylation of polyprenyl alcohols: A number of phosphorylation methods leading to polyprenyl phosphates have been described.^[9] We have synthesized a series of monopolyprenyl phosphates – those of farnesol **2**, geranylgeraniol **3**, farnesylfarnesol **7**, mono-cyclogeranylgeraniol **6**, phytol **4** (Figure 2) - as their sodium salts, by the Cramer phosphorylation procedure modified by Danilov and coll.,^[10] and isolated the products from the reaction mixture as the cyclohexylammonium salts, as reported by Julia and coll. (Scheme 1).^[11] For the synthesis of phytanyl phosphate **5**, we used the synthetic method of Nishikawa and coll. (Scheme 2).^[12] After cation exchange (CM Sepharose[®] column, Na⁺ form) the sodium salts were obtained and the products were characterized by ¹H, ¹³C, ³¹P NMR and MS spectra. The nonaprenyl phosphate **8** was gift of Nishin Flour Milling Co.

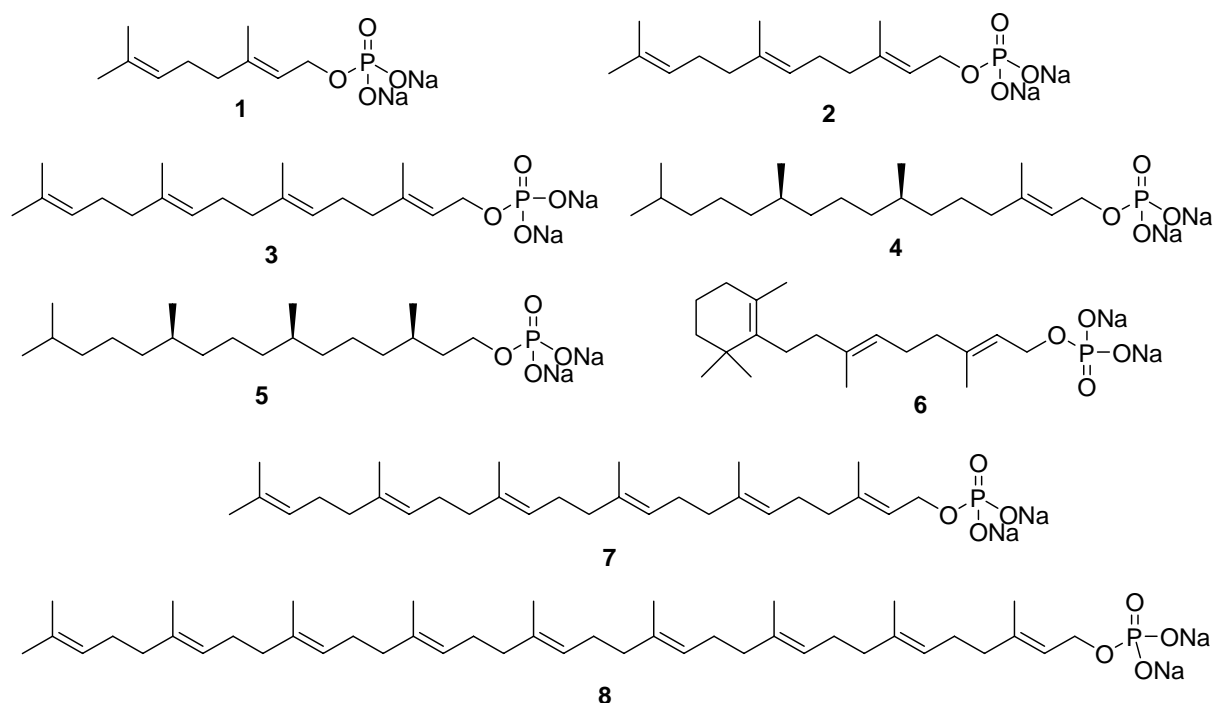
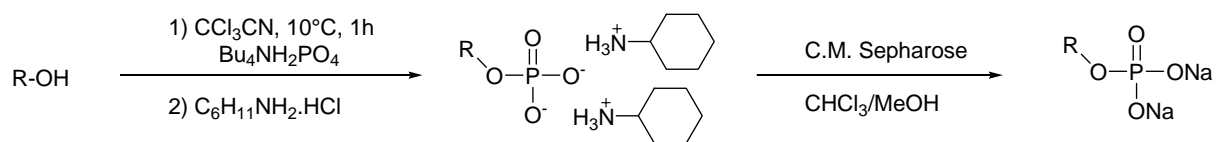
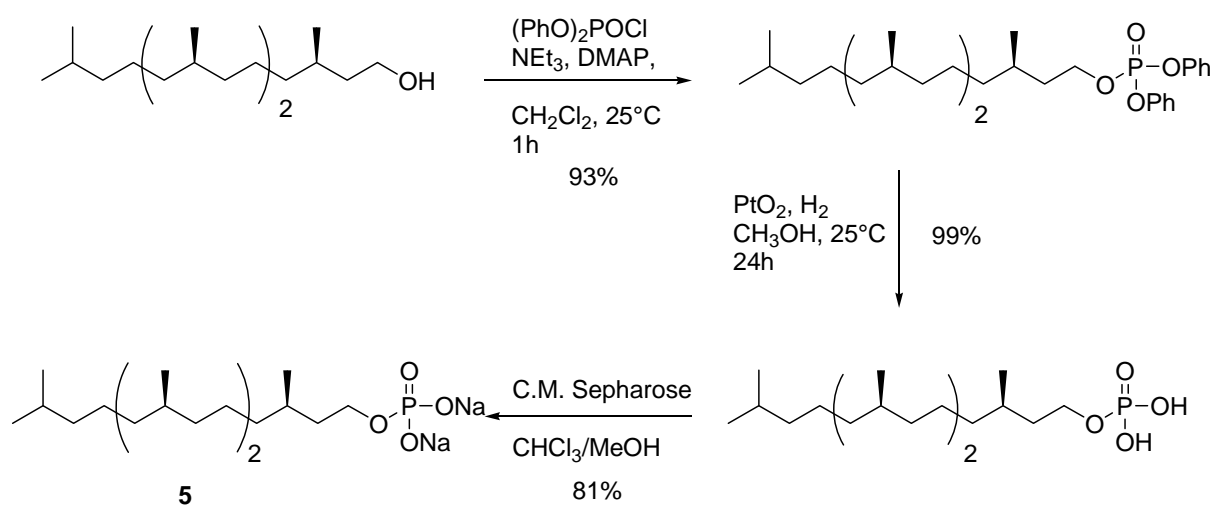


Figure 2: Structure of polyprenyl phosphates



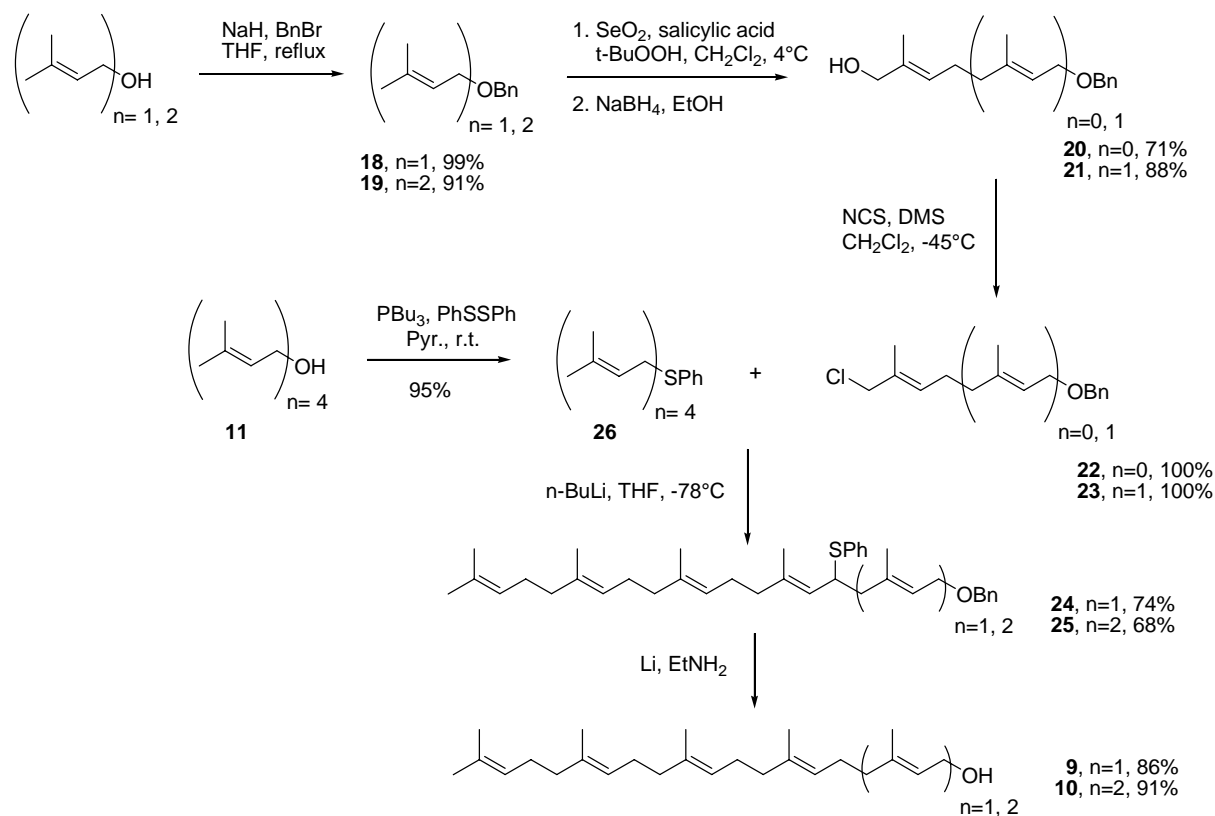
Scheme 1: Synthesis of phosphates **2**, **3**, **4** and **6** (R = farnesyl, geranylgeranyl, mono-cyclogeranylgeranyl, phytyl) (Yield between 60 to 80 %)



Scheme 2: Synthesis of disodium phytanyl phosphate **5**

Synthesis of geranylarnesol 9 and farnesylarnesol 10: For the preparation of **9** and **10**, we used the method developed by Altman and coll. for the synthesis of geranylgeraniol **11** (Scheme 3).^[13] The alcohol **11** has been converted to geranylgeranylphenylsulfide **26** by Ito's method in a 95% yield.^[14] Allylic oxidation with selenium dioxide of the isopentanylbenzylether **18** and the geranylbenzylether **19** using the Chappe procedure modified by Sharpless and coll.^[15], afforded the allylic alcohols **20** and **21** after reduction by sodium borohydride in 71% and 88% yield. The corresponding chlorides **22** and **23** were prepared by Corey's procedure^[16] and their alkylation with geranylgeranylphenylsulfide **26** by Biemann-Ducep method^[17] afforded **24** and **25** in respectively 74% and 68% yields. Reductive cleavage of the phenylthioether and benzyl groups from the alkylated sulfides was

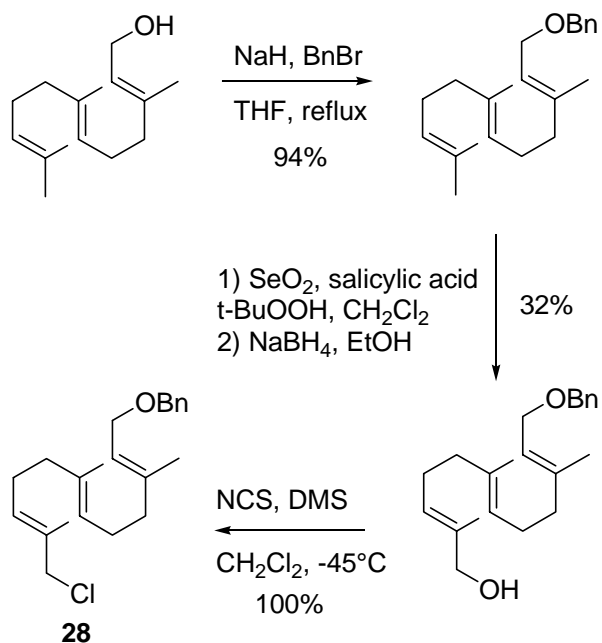
conveniently accomplished by exposure to lithium in ethylamine solution to give **9** and **10** with the corresponding yields of 86% and 91%.



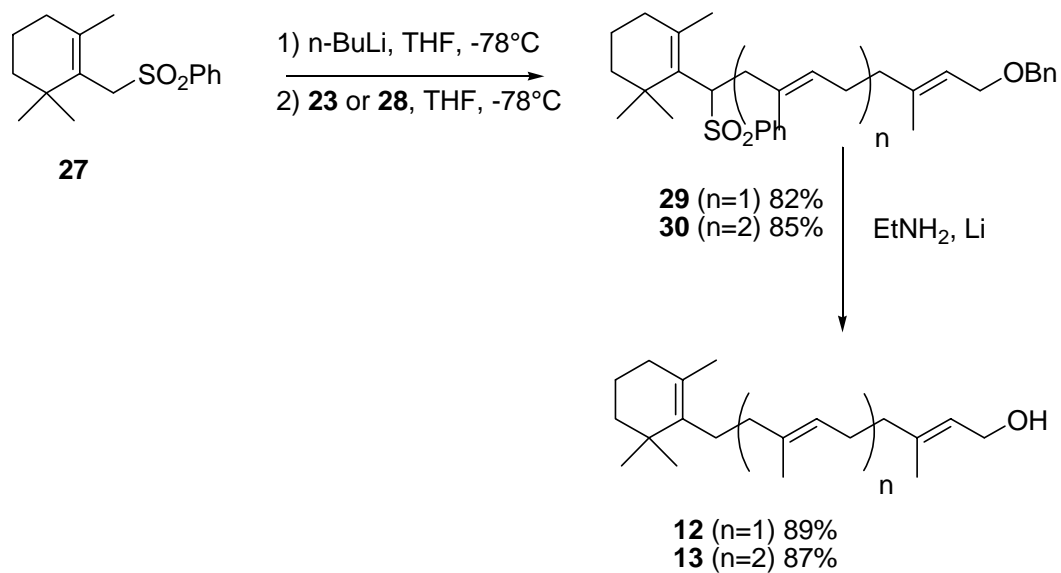
Scheme 3: Synthesis of all-trans-geranyl-farnesol **9** and all-trans-farnesyl-farnesol **10**

Synthesis of mono-cyclopolyprenyl alcohols: The β -cyclogeranylphenylsulfone **27** was given by Kuraray Co and was utilized for the synthesis of the mono-cyclopolyprenyl alcohols. As shown in Scheme 4, 12-chlorofarnesylbenzylether **28** was synthesized by the same procedure as 8-chlorogeranylbenzylether **23** and both were coupled with the β -cyclogeranylphenylsulfone **27** by Biemann-Ducep method^[17] to afford **29** and **30** in respectively 82% and 85% yields. Reductive cleavage of the phenylthio and benzyl groups of the alkylated sulfides was accomplished with the same procedure as the polyprenyl alcohols,

by exposure to lithium in ethylamine solution to give monocyclogeranylgeraniol **12** and monocyclogeranylfarnesol **25** in respectively 89% and 87% yields (Scheme 5).



Scheme 4: Synthesis of 12-chlorofarnesyl-benzylether **28**



Scheme 5: Synthesis of all-trans-monocyclopolyprenyl alcohols (**12**, **13**)

Microscopic studies of vesicle formation

Spontaneous vesicle formation is related on the relative sizes of the hydrophilic and hydrophobic parts in the molecule. Israelachvili^[18] proposed a theory on the vesicle formation of lipids: it depends on the critical packing parameter $P = v/a_0lc$ (a_0 = the optimal area per molecule at the lipid-water interface; lc = chain length; v = hydrocarbon volume) and the value P must lie between $\frac{1}{2}$ and 1. The surface area a_0 depends on the charge repulsion of the phosphate polar head and it increases according to the following order: diacid < monoanion < dianion.

First, we have studied the spontaneous vesicle formation of polyprenyl phosphates alone in the function of pH of the medium at 25°C and studied the following different parameters:

(1) polyprenyl chain length, (2) degree of unsaturation and (3) presence of one ring.

Next, we have studied the effect of different polyprenyl alcohols at different ratio relative to the polyprenyl phosphate on the vesicle formation in the function of pH.

Vesicle formation with polyprenyl phosphates: In Figure 3, the pH range of spontaneous vesicle formation of farnesyl phosphate **2** (pH 1.9 to 5.7), geranylgeranyl phosphate **3** (pH 2.2 to 8.6), phytol phosphate **4** (pH 2.2 to 9.6) and phytanyl phosphate **5** (pH 2.9 to 10.7) has been confirmed^[5b] at 25°C by use of optical or confocal microscopy using Nile Red as a selective fluorescent probe.

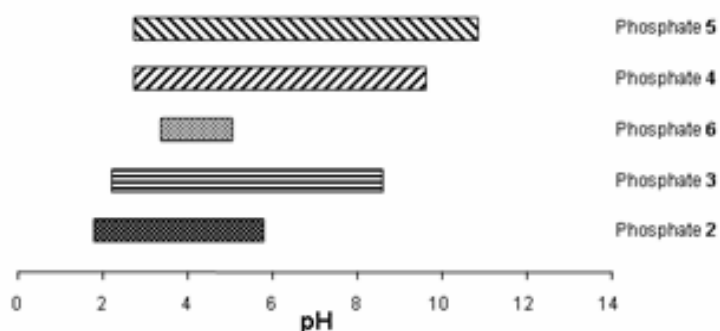


Figure 3: Vesicle formation from polyprenyl phosphates/H₂O as a function of pH

Different structural parameters of polyprenyl phosphate have been studied:

(1) *Polyprenyl chain length*: Geranylgeranyl phosphate **3** forms vesicles in alkaline conditions (until pH 8.6), but farnesyl phosphate **2** doesn't do in pH above 5.7. Potentiometric titration (Table 1) of a vesicle solution of **2** afforded $pK_{a1} = 2.2$ and $pK_{a2} = 6.8$. This implies that the presence of the mono anion form of farnesyl phosphate is important for the vesicle formation. Geranylgeranyl phosphate **3** has a longer chain (C₂₀) than farnesyl phosphate **2** (C₁₅), so the lipophilicity/hydrophilicity ratio is favorable to ensure spontaneous vesicle in higher pHs for the former in comparison to the latter. In addition, the presence of the mono anion form of geranylgeranyl phosphate ($pK_{a1} = 2.4$; $pK_{a2} = 6.5$) is also important for the vesicle formation (pH 2.2 – 8.6).

Extensive studies of farnesylfarnesyl phosphate **7** (C₃₀) were not possible as the amount available was too small and spontaneous vesicle formation of this phosphate has been observed only at pH 8.2. Nonaprenyl phosphate **8** (C₄₅) as well as geranyl phosphate **1** (C₁₀) do not form vesicles at any tested pH (2.0 – 11.0), as judged by optical microscopy observation. We can conclude that farnesyl phosphate **2** is the smallest polyprenyl phosphate (C₁₅) for the formation of the vesicles and the upper limit would be between C₃₀ and C₄₀.

Table 1: Acid dissociation constant of polyprenyl phosphates (**2**, **3**, **4** and **5**) in bilayer states.

phosphates	pKa1	pKa2
2	2.2	6.8
3 ^[a]	2.4	6.5
4 ^[a]	2.8	6.6
5 ^[a]	2.9	7.8

[a] Values from ref. [5]

(2) *Degree of unsaturation*: Phytol phosphate **4** and phytanyl phosphate **5** have the same number of carbon atoms (C₂₀) as geranylgeranyl phosphate **3**, but they form vesicles in more alkaline conditions: respectively until pH 9.6 and pH 10.7. To explain this observation, we calculated the volume and length of geranylgeraniol **11**, phytol **15** and phytanol **16** by the GAUSSIAN03 program package using the PM3 MM method (Table 2).^[19] Judging from the calculation performed on this analogous serie, the hydrophobic part of the phytol phosphate **4** and phytanyl phosphate **5** increases by almost 15% on volume in comparison with geranylgeranyl phosphate **3**, so they could be balanced with the volume of their hydrophilic head group even at higher pHs. We can observe again the importance of the mono anion form for the vesicle formation in the case of phytol phosphate **4** and phytanyl phosphate **5**, according to their pKa values (Table 1).

Table 2: Calculated molecular volume and molecular length of polyprenyl alcohols **11** (geranylgeraniol), **12** (phytol) and **13** (phytanol) by Gaussian03 method using PM3 MM

Polyprenyl alcohol	Volume [a] (cm ³ /mol)	Length [b] (Å)
11	269.331	18.059
15	308.076	18.483
16	308.380	18.059

[a] total volume of polyprenyl alcohol

[b] total length of polyprenyl alcohol

(3) *Presence of one ring*: We have observed that monocyclogeranylgeranyl phosphate **6** spontaneously forms vesicles in buffers in a narrow range of pH, between 3.4 and 5.0 (Figure 4), though the length of this compound **6** is approximately the same as that of farnesyl phosphate **2** which forms vesicles between pH 1.9 and pH 5.7. The presence of the cyclohexenyl nucleus might perturb the coherence with surrounding molecules.

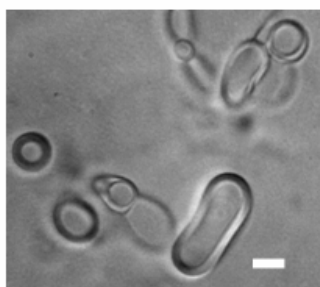


Figure 4: Phase contrast image of giant vesicles of phosphate **6** with spherical and discoid shapes at pH = 4.8 (phosphate buffer) and T = 25°C. Bar: 10 μ m.

Vesicle formation of mixed vesicles of polyprenyl phosphates with polyprenyl alcohols: The pH range of vesicle formation was studied on a mixture of a polyprenyl phosphate and a polyprenyl alcohol using the same procedure described above.

*Geranylgeranyl phosphate **3** + x mol % geranylgeraniol **11***: Addition of 10 mol% of geranylgeraniol **11** to geranylgeranyl phosphate **3** remarkably shifted the range of the vesicle formation towards higher pHs (3.8 - 13.0) higher than the phosphate alone (pH 2.2 - 8.6). We have observed that increasing the ratio of geranylgeraniol **11** to the geranylgeranyl phosphate **3** disturbed vesicle formation in acidic conditions (Figure 5). The presence of the alcohol **11** in the phosphate membrane increases the ratio of the hydrophobic part to the hydrophilic part in the system and the vesicle formation becomes more favorable at higher pHs.

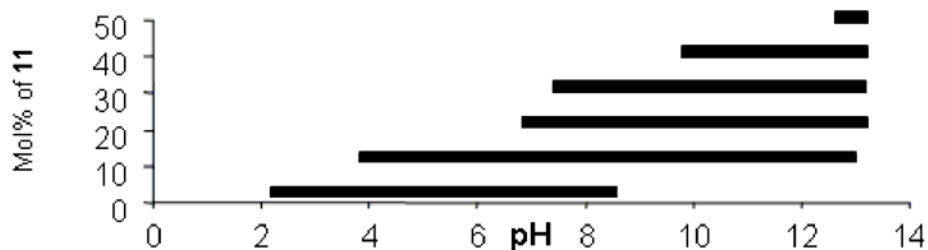


Figure 5: Vesicle formation as a function of the pH from a mixture of geranylgeranyl phosphate **3** and x mol% of geranylgeraniol **11** in water

Geranylgeranyl phosphate 3 + polyprenyl alcohol: In Figure 6, vesicle formation as a function of pH was compared in the presence of 10 mol% of geranylarnesol **9** (C₂₅) or farnesylarnesol **10** (C₃₀) in geranylgeranyl phosphate **3** membranes. The pH range of vesicle formation is narrower for the alcohols **9** (pH 3.86 - 9.22) and **10** (pH 4.0 - 9.75) than for the alcohol **11** (pH 3.8 - 13.0). A better compactness could be achieved in the membrane of phosphate **3**/alcohol **11**, since both have the same structure of the hydrophobic part.

Monocyclogeranylgeraniol **12** (C₂₀) at 10 mol % permits the vesicle formation of geranylgeranyl phosphate **3** in higher basic conditions (pH 3.42 - 12.42) with a small destabilization effect in acidic conditions, whereas monocyclogeranylarnesol **13** (C₂₅) at 10 mol % is more strongly destabilized in acidic conditions (pH 6.34 - 12.28).

From these results, we conclude that if the structure of the alcohol is similar to that of the phosphate, we have a better system for the formation of vesicles in a large range of pH. The presence of one ring shifted the range of vesicle formation to higher pHs.

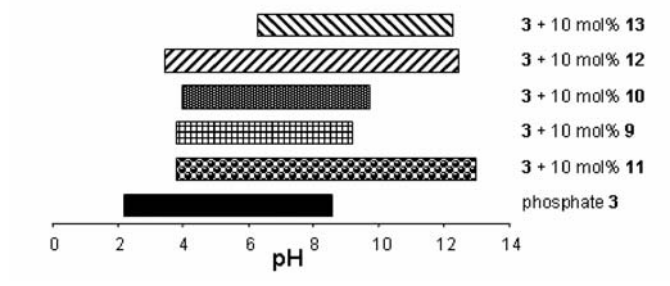


Figure 6: Vesicle formation as a function of the pH from a mixture of geranylgeranyl phosphate **3** and 10 mol% of alcohols (**9**, **10**, **11**, **12**, **13**) in water

Phytyl phosphate 4 + 10 mol% polyprenyl alcohol: Phytyl phosphate **4** has a larger hydrophobic volume than geranylgeranyl phosphate **3**. So the vesicle formation of phytyl phosphate **4** (pH 2.2 – 9.6) can occur at higher pHs than with geranylgeranyl phosphate **3** (pH 2.2 – 8.6).

The presence of geranylarnesol **9** at 10 mol% does not improve significantly the vesicle formation of phytyl phosphate **4** in basic pHs (pH 4.0 - 9.75) and causes a strong destabilization in acidic pHs. On the contrary, monocyclogeranylgeraniol **12** at 10 mol% in phytyl phosphate **4** improves remarkably the formation of vesicles in higher pHs (pH 4.0 - 13.0). The presence of one ring shifts again the range of vesicle formation towards more basic pHs (Figure 7).

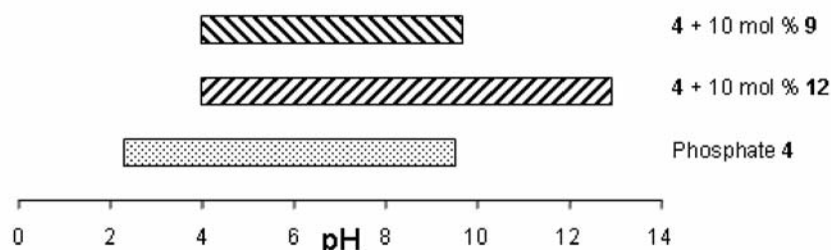


Figure 7: Vesicle formation as a function of the pH from a mixture of phytyl phosphate **4** and 10 mol% of alcohols (**9**, **12**) in water

Phytanyl phosphate 5 + 10 mol% polyprenyl alcohol: The phytanyl group is very hydrophobic^[20] and its phosphate **5** proves to be very stable in basic conditions (pH 2.9 - 10.7) (Figure 8). The addition of 10 mol% of phytanol **16** showed no significant change in the range of vesicle formation (pH 4.0 – 10.7). The presence of monocyclogeranylarnesol **13** at 10 mol% destabilizes vesicle formation in acidic and basic pHs (pH 3.70 – 9.75).

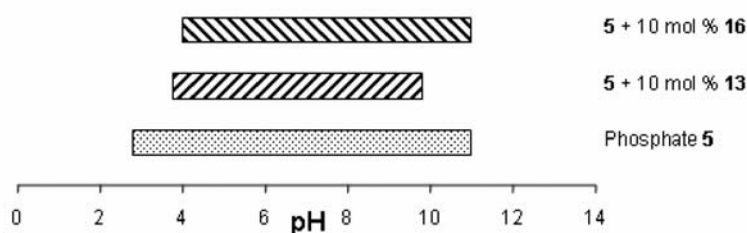


Figure 8: Vesicle formation as a function of the pH from a mixture of phytanyl phosphate **5** and 10 mol % of alcohol (**13**, **16**) in water

The microscopic observation allowed us to determine the pH range of the spontaneous vesicle formation with polyprenyl phosphates, with or without polyprenyl alcohols. We have shown that acyclic or monocyclic polyprenyl phosphates can form stable vesicles in water in a wide range of pHs. We also observed that the length and the number of unsaturations are important factors for the vesicle formation of polyprenyl phosphates as a function of pH.

Moreover, the addition of polyprenyl alcohols allows the vesicle formation of polyprenyl phosphate at higher pHs by increasing the ratio of the hydrophobic volume to hydrophilic volume in the system. The addition of a polyprenyl alcohol bearing a longer chain than the polyprenyl phosphate does not significantly change the pH range of the vesicle formation. The closer the length and the structure of the polyprenyl alcohol are closed to most of the polyprenyl phosphate, the better is probably the incorporation of this polyprenyl alcohol in the

membrane. These results agree with the importance of the ratio of hydrophobic part to hydrophilic part in the system for the formation of vesicle.^[18]

Water permeability

In order to evaluate the reinforcing effect of polyprenyl alcohols, the water permeability of polyprenyl phosphate vesicles with or without 10 mol% of free alcohol has been studied by osmotic swelling of a suspension of unilamellar vesicles of homogeneous size using the stopped flow/light scattering method, following procedures described previously.^[8]

First, we have studied the water permeability of the polyprenyl phosphates alone following these different parameters: (1) *temperature* and (2) *number of unsaturations*.

(1) *Effect of the temperature*: A suspension of unilamellar vesicles of phytol phosphate **4** has been prepared and the water permeability has been measured at different temperatures (15°C, 21°C, 28°C and 37°C) and at pH = 5.81. The results show that the rate constant increases with temperature. This implies that the fluidity of the membrane increases as temperature increases, and the water permeability increases in the consequence (Figure 9).

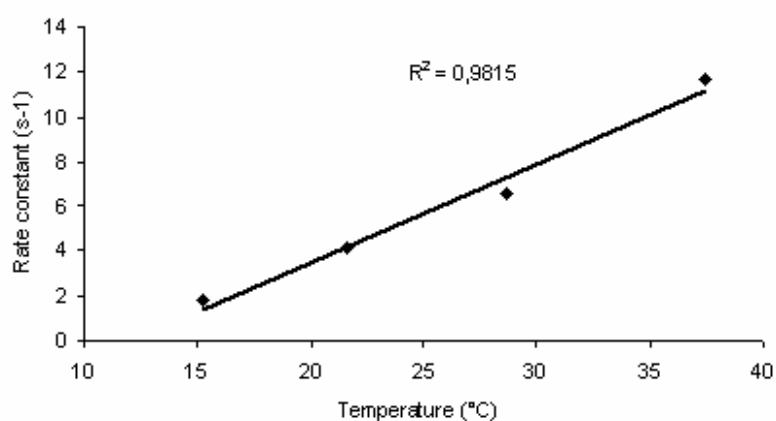


Figure 9: Variation of the rate constant of the water permeability of phytol phosphates **4** vesicles as a function of the temperature

(2) *Effect of unsaturations:* Vesicles of geranylgeranyl phosphate **3**, phytyl phosphate **4** and phytanyl phosphate **5** have been prepared and the water permeability has been measured at 15°C and at pH 5.81 (Table 3). The water permeability of phytyl phosphate **4** vesicles and that of phytanyl phosphate **5** vesicles are respectively 3.5 times and 5 times lower than for geranylgeranyl phosphate **3** vesicles (entry 1, 2 and 3, Table 3). This might be due to the fact that the van der Waals interactions of the hydrophobic part is stronger in phytyl phosphate **4** and phytanyl phosphate **5** than in geranylgeranyl phosphate **3** and the membranes of phosphates **4** and **5** become more compact than those of phosphate **3**.

Table 3: Water permeability of unilamellar vesicle of phosphates (**3**, **4**, **5**) at 15 ± 0.1 °C and pH 5.81 measured by stopped flow light scattering method

Entry	Phosphates	Diameter [a] (nm)	k [b] (s^{-1})	$t_{1/2}$ [c] (ms)
1	3	180 ± 16	34.8 ± 0.7	19.9 ± 1.0
2	4	187 ± 31	9.8 ± 0.7	70.7 ± 4.9
3	5	190 ± 43	6.4 ± 0.8	108.3 ± 7.7

[a] Average diameter \pm Standard deviation. [b] Average rate constant \pm Standard deviation.

[c] Average $t_{1/2}$ \pm Standard deviation.

Next, we have studied a mixture of phosphate and 10 mol % of free alcohol (Figure 10) in order to compare the effect of these alcohols on the water permeability following different parameters of the alcohols: (1) *chain length*, (2) *cyclic moieties* and (3) *number of unsaturations*.

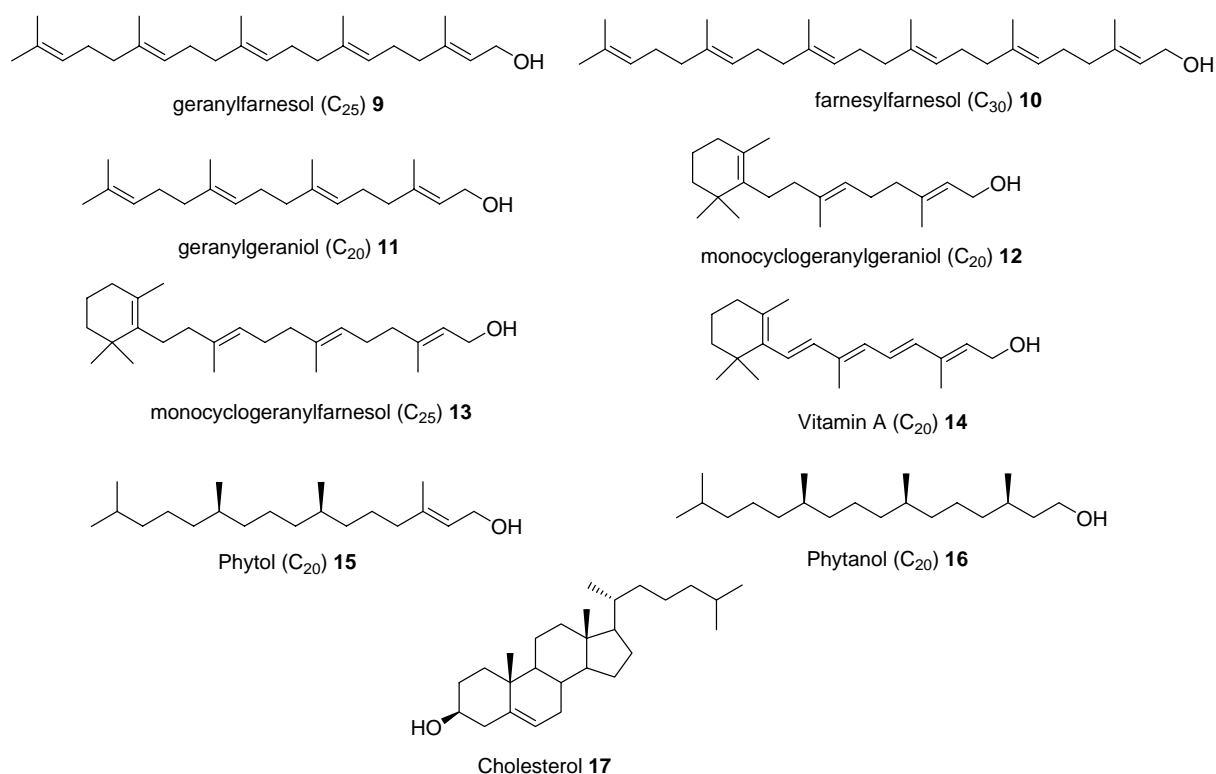


Figure 10: Terpenic alcohols tested

Geranylgeranyl phosphate 3 + 10 mol% polyprenyl alcohol: A suspension of unilamellar vesicles of geranylgeranyl phosphates **3** with 10 mol% of polyprenyl alcohol has been prepared and the water permeability has been measured at 15°C and at pH 5.81. The results are summarized in Table 5.

(1) *Effect of chain length:* The addition of geranylgeraniol **11** (C₂₀), that has a same hydrophobic structure as geranylgeranyl phosphate **3** (C₂₀), increases the water permeability of vesicles (entry 1, Table 4). On the contrary, the addition of geranylfarnesol **9** (C₂₅) and farnesylfarnesol **10** (C₃₀) decreases the water permeability of vesicles (entries 2 and 3, Table 4). This implies that the length of the added polyprenyl alcohol plays important role for the organization of the system. These polyprenyl alcohols bearing a longer chain than the corresponding phosphate might be incorporated in the bilayer in an interdigitated manner,

which might improve the van der Waals interactions and the compactness of the membrane.^[21]

(2) *Effect of cyclic moieties:* The addition of monocyclogeranylarnesol **13** (C₂₅) bearing the same length of the hydrophobic chain as geranylgeraniol **11** (C₂₀) decreases the water permeability of geranylgeranyl phosphate **3** vesicles (entry 5, Table 4). The presence of one ring leads to a decrease of the water permeability, probably because the incorporation of the rigid molecules improves the order of the membrane. In the same way, cholesterol **17**, that carries four cycles and is well known as the ubiquitous membrane reinforcer of animals,^[22] stabilizes the geranylgeranyl phosphate **3** membranes. However, monocyclogeranylarnesol **13** (C₂₅) as well as acyclic molecules such as farnesylarnesol **10** (C₃₀), phytol **15** (C₂₀), phytanol **16** (C₂₀) are better reinforcers than cholesterol **17** (entries 3, 5 7, 8 and 9, Table 4). This suggests that the degree of the reinforcement of the membrane depends on the precise structure relationship between the membrane constituent and the added component.

(3) *Degree of unsaturation:* By comparing geranylgeraniol **11**, phytol **15** and phytanol **16**, the presence of unsaturations in the molecule leads to a dramatic change of the water permeability in the geranylgeranyl phosphate **3** vesicles. The addition of phytol **15** or phytanol **16** decreases strongly the water permeability of geranylgeranyl phosphate **3** vesicles (entries 7 and 8, Table 4) whereas addition of geranylgeraniol **11** increased it (entry 1, Table 4).

Monocyclogeranylgeraniol **12** (C₂₀) increases the water permeability of geranylgeranylphosphate **3** (C₂₀) vesicles, whereas vitamin A **14** (C₂₀), which has approximately the same length of the hydrophobic chain as the former compound, decreases the water permeability (entry 6). This could be attributed to the presence of the conjugated double bonds in vitamin A **14**, which contributes to increase the rigidity of the molecule.

Table 4: Water permeability of unilamellar vesicle obtained from a mixture of geranylgeranyl phosphate **3** and 10 mol % of alcohol at 15 ± 0.1 °C measured by stopped flow/light scattering method

Entry	Polyprenyl alcohols	Diameter [a] (nm)	k [b] (s^{-1})	$t_{1/2}$ [c] (ms)
1	11	179 ± 24	117.22 ± 3.48	5.9 ± 0.2
2	9	185 ± 23	13.06 ± 0.34	53.0 ± 1.3
3	10	200 ± 35	2.67 ± 0.10	260.0 ± 10.0
4	12	187 ± 26	41.6 ± 2.10	16.6 ± 1.9
5	13	190 ± 21	2.76 ± 0.08	251.1 ± 5.6
6	14	183 ± 39	13.5 ± 0.40	51.3 ± 1.3
7	15	165 ± 24	2.96 ± 0.09	234.0 ± 7.1
8	16	192 ± 48	3.03 ± 0.13	228.0 ± 0.8
9	17	162 ± 35	3.60 ± 0.10	192.5 ± 7.6

[a] Average diameter \pm Standard deviation. [b] Average rate constant \pm Standard deviation.

[c] Average $t_{1/2}$ \pm Standard deviation.

Phytol phosphate 4 + 10 mol% polyprenyl alcohol: The same studies have been carried out with phytol phosphate **4** vesicles including different alcohols. In all cases, the addition of polyprenyl alcohols diminished the water permeability (Table 5). Different parameters have been analyzed: (1) chain length, (2) cyclic moieties and (3) number of unsaturation.

(1) *Effect of chain length:* For the different acyclic polyprenyl alcohols (geranylgeraniol (**C**₂₀) **11**, geranylfarnesol (**C**₂₅) **9** and farnesyfarnesol (**C**₃₀) **10**), the length of the hydrophobic part does not so much influence the water permeability (entries 1, 2 and 3, Table 5). But, in the case of monocyclopolyprenyl alcohols **12** (**C**₂₀) and **13** (**C**₂₀) the longer one improves significantly the barrier property of the membrane of this system (entries 4 and 5, Table 5).

(2) *Effect of cyclic moieties:* Monocyclogeranylfarnesol **13**, which has approximately the same total length as geranylgeraniol **11**, diminishes more the water permeability of phytol phosphate **4** vesicles (entries 1 and 5, Table 5). The presence of the cyclohexenyl moiety makes the membrane more rigid, which might be the origin of the water permeability decrease. Cholesterol **17** diminishes the water permeability in the same way (entry 9, Table 5).

Degree of unsaturation: Phytol **15** has approximately the same hydrophobic length as geranylgeraniol **11**. The decrease in the degree of unsaturation in polyprenyl alcohols decreases considerably the water permeability (entries 1 and 7, Table 5). This might be due to the increase in the order of the membrane. In the case of vesicles of phytol phosphate **4** with 10 mol % of phytanol **16**, it is not possible to measure the water permeability, probably because that system is too impermeable to water (entry 8, Table 5).

Table 5: Water permeability of unilamellar vesicle obtained from a mixture of phytyl phosphate **4** and 10 mol % of alcohols at 15 ± 0.1 °C measured by stopped flow/light scattering method.

Entry	Polyprenyl alcohols	Diameter [a] (nm)	k [b] (s^{-1})	$t_{1/2}$ [c] (ms)
1	11	198 ± 34	2.90 ± 0.31	239.0 ± 21.5
2	9	181 ± 17	3.10 ± 0.44	223.5 ± 24.6
3	10	203 ± 40	2.50 ± 0.41	277.3 ± 37.2
4	12	193 ± 47	3.10 ± 0.33	223.5 ± 22.2
5	13	200 ± 65	1.98 ± 0.24	350.0 ± 28.3
6	14	182 ± 20	4.70 ± 0.31	147.4 ± 8.80
7	15	315 ± 26	0.11 ± 0.01	6300 ± 330.0
8 [d]	16	201 ± 55	/	/
9	17	183 ± 20	2.29 ± 0.11	302.7 ± 15.0

[a] Average diameter \pm Standard deviation. [b] Average rate constant \pm Standard deviation.

[c] Average $t_{1/2}$ \pm Standard deviation. [d] Value not measurable.

Conclusion

We had postulated that the free polyprenyl alcohols might play the role of reinforcers in “primitive” vesicles formed from polyprenyl phosphates.^[1] We have now shown that polyprenyl alcohols are, indeed in most cases, reinforcers of polyprenyl phosphate membranes. We have demonstrated further that some polyprenyl alcohols are better reinforcers in certain polyprenyl phosphate membranes than cholesterol. This conclusion was obtained by using a stopped flow/light scattering method to measure the water permeability.

We have also studied different parameters which could affect the water permeability of vesicles made of polyprenyl phosphates or polyprenyl phosphate/polyprenyl alcohol. We have shown that the water permeability decreases with the temperature. Moreover, the water permeability of polyprenyl phosphate vesicles is also pH dependant. A decrease in the degree of unsaturation of polyprenyl phosphates, all of approximately the same length, tends to stabilize the membrane by enhancing the cohesion of the hydrophobic part and therefore, it decreases the water permeability. Finally, we have shown that the different structural parameters of polyprenyl alcohols, such as the presence of rings, the degree of unsaturation as well as the hydrophobic length, play a very important role on the organisation and compactness of the membrane.

Acknowledgments

S.S. and N.R. are funded by a doctoral fellowship from the Ministry of Research and Technology (MRT, France) and “Les Amis des Sciences”. E.G.K. thanks European Community for the Marie Curie Intra-European Fellowship. We thank Ms. Michiko Atsumi and Ochanomizu University for the calculation of molecular volume and length of polyprenyl alcohols. We thank Dr. M. Tsuji, Nisshin Flour Milling and Dr. T. Takigawa, Kurare for a gift of all-trans-geranylgeraniol, phytol and all-trans-nonaprenyl phosphate.

References

- [1] G. Ourisson, Y. Nakatani, *Chem. Biol.* **1994**, 1, 11-23.
- [2] S.L. Spurgeon, J.W. Proter in *Biosynthesis of Isoprenoid Compounds*, Wiley J., New-York, 1981.
- [3] L. Desaubry, Y. Nakatani, G. Ourisson, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6959-6961.
- [4] a) V. Birault, G. Pozzi, N. Plobeck, S. Eifler, M. Schmutz, T. Palanche, J. Raya, A. Brisson, Y. Nakatani, G. Ourisson, *Chem. Eur. J.* **1996**, 2, 789-799; b) G. Pozzi, V. Birault, B. Werner, O. Dannemuller, Y. Nakatani, G. Ourisson, S. Terakawa, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 177-80.
- [5] K. Ariga, H. Yuki, J. Kikuchi, O. Dannemuller, A.M. Albrecht-Gary, Y. Nakatani, G. Ourisson, *Langmuir*, **2005**, 21, 4578-4583.
- [6] M. Rohmer, P. Bouvier, G. Ourisson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1979**, 76, 847-51.
- [7] a) Y. Yamagata, H. Watanabe, M. Saitoh, T. Namba, *Nature* **1991**, 352, 516-9; b) J.P. Biron, R. Pascal, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9198-9199.
- [8] A. Milon, T. Lazrak, A.M. Albrecht-Gary, G. Wolff, G. Weill, G. Ourisson, Y. Nakatani, *Biochim. Biophys Acta*, **1986**, 859, 1-9.
- [9] a) C.L. Branch, G. Burton, S.F. Moss, *Synth. Commun.* **1999**, 29, 2639-2644; b) F. Cramer, *Liebigs Ann. Chem.* **1962**, 654, 180-189; c) F. Cramer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1959**, 24, 775; d) M. Julia, H. Mestdagh, C. Rolando, *Tetrahedron*, **1986**, 42, 3841-3849; e) L.L. Danilov, V.N. Shibaev, N.K. Kochetkov, *Synthesis*, **1984**, 5, 404-406.
- [10] L.L. Danilov, T.N. Druzhinina, N.A. Kalinchuk, S.D. Mal'tsev, V.N. Shibaev, *Chem. Phys. Lipid*, **1989**, 51, 191-203.
- [11] M. Julia, H. Mestdagh, C. Rolando, *Tetrahedron*, **1986**, 42, 3841-3849.
- [12] N. Nishikawa, H. Mori, M. Ono, *Chem. Lett.* **1994**, 767-770.
- [13] L.J. Altman, L. Ash, S. Marson, *Synthesis*, **1974**, 129-131.

- [14] M. Kodama, Y. Matsuki, S. Itô, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 16, 3065-3068.
- [15] M.A. Umbreit, K.B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 5526-5528.
- [16] E.J. Corey, C.U. Kim, M. Takeda, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 13, 4339-4342.
- [17] J.F. Biellmann, J.B. Ducep, *Tetrahedron*, **1971**, 27, 5861-5872.
- [18] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press, London, **1994**, pp. 380-382.
- [19] M. J. Frisch, Gaussian 03, Revision B.03, Gaussian Inc., Pittsburgh PA, 2003.
- [20] K. Yamauchi, Y. Onoue, T. Tsujimoto, M. Kinoshita, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* **1997**, 10, 35–39.
- [21] J.L. Slater, C.H. Huang in *Structure of Biological Membranes*, Eds.: P.L. Yeagle, CRC Press LLC, Boca Raton, **2005**, pp. 121-145.
- [22] a) R.A. Demel, B. De Kruffyff, *Biochim. Biophys. Acta.* **1976**, 457, 109-132; b) R.A. Demel, L.L.M. van Deenen, B.A. Pethica, *Biochim. Biophys. Acta.* **1967**, 135, 11-19; c) R.A. Demel, K.R. Bruckdorfer, L.L.M. van Deenen, *Biochim. Biophys. Acta.* **1972**, 255, 321-330; d) P. Bissereet, G. Wolff, A. M. Albrecht, T. Tanaka, Y. Nakatani, G. Ourisson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1983**, 110, 320-324.

CONCLUSION GENERALE

Selon la théorie de G. Ourisson et de Y. Nakatani sur l'origine et l'évolution des membranes, les premières membranes biologiques auraient été constituées de phosphates de polyprénylène et de polyprénols. Ces derniers, cycliques ou acycliques, auraient renforcé ces membranes.

L'objet de notre recherche était d'examiner expérimentalement si les polyprénols renforcent bien des membranes de phosphates de polyprénylène. Pour ce faire, nous avons développé une voie d'accès aux polyprénols cycliques faisant appel à une cyclisation biomimétique contrôlée par un groupement allylsilane en milieu d'une chaîne polyprénylique. Ce travail a été initié conjointement avec Stéphane Streiff qui a soutenu sa thèse en 2003. Nous avons développé une nouvelle méthode de synthèse d'allylsilanes par réduction lithiatrice d'allylthioéthers. En adaptant cette méthode, j'ai pu synthétiser un allylsilane qui a été cyclisé sélectivement en précurseur du bicyclogéranylgéraniol. Cette stratégie pourrait être appliquée à la synthèse du tricyclohexaprénilol ou encore à des bicyclopolyprénols naturels ayant une activité pharmacologique tel que *l'acide harbinatique*, un inhibiteur de l'ADN polymérase B (Figure 1).

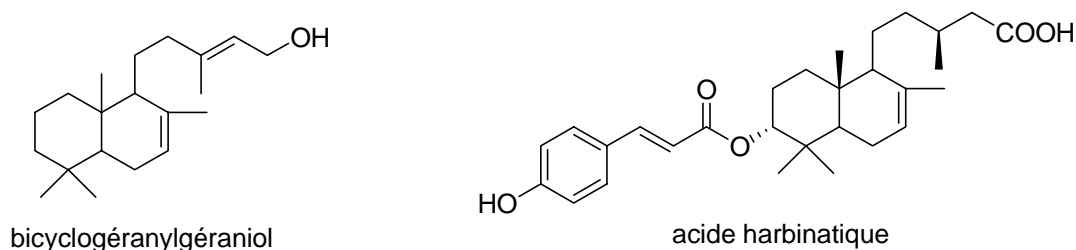


Figure 1 : Structure du bicyclogéranylgéraniol et de l'acide harbinatique

Sur le plan physicochimique, j'ai confirmé le rôle de renforçateurs des polyprénols et démontré que certains polyprénols renforcent mieux les membranes de phosphates de polyprénylène que le cholestérol, le renforçateur membranaire des animaux. Ces résultats renforcent l'hypothèse que les polyprénols auraient pu renforcer des membranes "primitives".

Partie expérimentale

Généralité :

Préparation des solvants et réactifs

Les alcools terpéniques commerciaux sont utilisés sans purification. Tous les solvants (analytiques) sont distillés sur un réactif approprié : benzophénone/sodium (éther diéthylique, THF), CaH_2 (pentane, hexane, CH_2Cl_2 , NEt_3 , pyridine, HMPA). Les réactions sont effectuées sous atmosphère d'argon sec. Le butyllithium en solution dans l'hexane est dosé avant chaque utilisation par la méthode décrite par J. Suffert.

Purification des produits

Les chromatographies préparatives sur colonne de silice sont effectuées sur gel de silice Geduran SI 60 (0,040-0,063 mm, Merck). Le produit est déposé sur colonne soit adsorbé sur une quantité minimale de silice 0,063-0,200 mm (Merck), soit dilué dans un minimum d'éluant de départ puis chromatographié à l'aide d'un éluant adapté sous pression moyenne d'air (chromatographie « flash », 0,2 bar).

Les chromatographies d'échange d'ion sont réalisées sur une résine échangeuse cationique (CM Sepharose Fast Flow, forme Na^+ , Pharmacia).

Chromatographie sur couche mince

Les chromatographies sur couche mince (ccm) sont effectuées sur des plaques préenduites de gel de silice 60F254 Merck (épaisseur de la couche : 0,25 mm). Après élution, les plaques sont révélées en UV (254 nm), puis trempées dans une solution de vaniline (1 g/L, solvant : $\text{Et}_2\text{OH} / \text{H}_2\text{SO}_4$ (95/5, v/v)) et chauffées pendant une minute sur une plaque chauffante (180 - 200 °C). Les composés contenant du phosphore sont mis en évidence grâce au réactif de Dittmer D: les plaques se révèlent 5 min après immersion dans la solution ; la présence de composés phosphorés provoque l'apparition de tâches bleues.

Préparation du Dittmer D

- Solution I : 40,11 g de MoO₃ sont additionnés à un litre d'une solution d'acide sulfurique (25 N). Le mélange est ensuite chauffé (35 °C) jusqu'à dissolution complète.
- Solution II : 1,78 g de molybdène en poudre sont ajoutés à 500 ml de solution I. Le mélange est ensuite maintenu à ébullition modérée, puis refroidi et décanté si nécessaire.

Le réactif est une solution bleue issue du mélange solution I / solution II / H₂O (1/1/2, v/v).

Rapports frontaux (Rf) sont calculés en faisant le rapport entre la hauteur au milieu de la tache et la hauteur du front d'éluant par rapport au dépôt.

Désignation des composés de synthèse

Les molécules, décrites sont nommées selon les règles strictes de la nomenclature des chaînes terpéniques ou par leur nom trivial.

Résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H)

Les spectres sont enregistrés sur un spectromètre Bruker Advance 300 (300 MHz) ou Bruker AM 400 (400 MHz), avec pour référence interne le résidu non deutérié du solvant utilisé (CDCl₃, 7,26 ppm ou CD₃OD, 3,30 ppm). La description des spectres utilise systématiquement les abréviations suivantes : s (singulet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet), dd (doublet dédoublé), etc... En l'absence de précision supplémentaire, J est une constante de couplage en ³J exprimée en Hz. Les déplacements chimiques δ sont exprimés en parties par million (ppm) par rapport au signal du TMS.

Résonance magnétique nucléaire du carbone (RMN ¹³C)

Les spectres sont enregistrés sur un spectromètre Bruker Advance 300 (300 MHz), avec pour référence interne l'isotope ¹³C du solvant utilisé (CDCl₃, 77,0 ppm). Les déplacements chimiques δ sont exprimés en parties par million (ppm) par rapport au signal du TMS. La nature des différents carbones (méthyle, méthylène, méthine ou sans proton) est déterminée par des séquences de transfert de polarisation de ¹³C vers le ¹H (séquence DEPT). Nous avons

attribué les signaux par comparaison avec des composés présentant des analogies structurales. Ce procédé, loin de conduire à une attribution absolue, ne met pas à l'abri d'interprétations erronées, qui peuvent se répercuter au fil des analyses : les notations C*, C' sont employées lorsque l'attribution des carbones ne peut être déterminée exactement (attributions interchangeable).

Résonance magnétique nucléaire du phosphore (RMN ³¹P)

Les spectres sont enregistrés sur un spectromètre Bruker AC 300 (121 MHz) avec pour référence externe l'acide orthophosphorique à 80 % dans CDCl₃ ($\delta = 0$ ppm).

Infra rouge (IR)

Les spectres sont réalisés sur un spectrophotomètre infrarouge Perkin-Elmer 881, à partir d'un film sur pastille de NaCl (800-4000 cm⁻¹). Une solution de produit dans le chloroforme (deutérioré ou non selon le cas) est déposée sur une pastille de KBr et, après évaporation du chloroforme on obtient le film sur lequel les mesures sont effectuées. Les valeurs des nombres d'onde sont exprimées en cm⁻¹ et décrites avec les abréviations classiques s,m,w pour une bande de forte, de moyenne ou de faible intensité respectivement, et l pour une bande large.

Microanalyses (AE)

Les microanalyses sont réalisées par le service de Microanalyse du CNRS à Strasbourg ou par l'Institut Charles Sadron à Strasbourg pour l'hydrogène et le carbone.

Spectrométrie de masse (SM) :

Les spectres de masse sont mesurés sur un spectromètre Trio 2000 Fisons en introduction directe ; mode d'ionisation : impact électronique (EI, potentiel d'ionisation 70 eV) ou ionisation chimique (CI) avec NH₃ comme gaz réactant.

Pour les phosphates organiques, les spectres en FAB sont réalisés sur un spectromètre (référence : Finnigan TSQ 70) à double focalisation (8 keV) dans une matrice d'alcool par-nitrobenzylique.

Nous indiquons le pic moléculaire et certaines fragmentations. Les intensités relatives m/z , rapportées au pic le plus élevé dans le spectre, sont exprimées en % et indiquées entre parenthèses.

Partie expérimentale :
Publication N°=1 du J. Org. Chem.

Supporting Information

Synthesis of Allylsilanes by Reductive Lithiation of Thioethers

*Stéphane Streiff, Nigel Ribeiro and Laurent Désaubry**

UMR 7509, Centre de Neurochimie, 67084 Strasbourg Cedex, France
desaubry@chimie.u-strasbg.fr

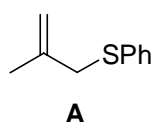
Content

S2:	General Experimental Methods
S2, S3:	Preparation of sulfides A and 34 from the Corresponding Chloride
S3-S6:	Preparation of sulfides 29 , 30 , C and D from the Corresponding Alcohol
S6-S10:	Preparation of sulfides 1 , 5 , 11 , 17 , 20 , 23 and 26 by Homologation of Another Thioether
S10- S11	Kinetic of THF Cleavage
S11-S20	Synthesis of Allylsilanes 6 , 7 , 8 , 12 , 13 , 14 , 16 , 19 , 21 , 22 , 24 , 25 , 27 , 31 , 32
S20-S22	Synthesis of Bis-Silanes 33 and 35

General Experimental Methods. Reactions were carried out under an argon atmosphere using flame-dried glassware with magnetic stirring and degassed solvents. Et₂O and THF were distilled from Na/benzophenone. CH₂Cl₂, hexane and CH₃CN were dried and distilled over CaH₂. n-butyllithium in hexane (nominally 1.6 M) was purchased from Aldrich and titrated before each use. Trimethylchlorosilane was distilled prior to each use. Thin layer chromatography (TLC) was performed on glass plates coated with silica gel 60 F₂₅₄ (Merck). Column chromatography was carried out on silica gel 60 (Merck, 70-230 mesh). Significant ¹H NMR data are tabulated in the following order: chemical shift (δ) expressed in ppm, multiplicity (s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet), coupling constants in hertz and number of protons. Infrared spectra were recorded using a Perkin-Elmer 881. Spectrometers are reported in reciprocal centimetres (cm⁻¹) along with relative intensity (w = weak, m = medium, s = strong absorption).

Preparation of Sulfides from the Corresponding Chlorides:

(2-Methylallyl)(phenyl)sulfane:



To a stirred dispersion of *t*-BuOK (24,8g, 0,22 mol) in dry THF (250 mL) under argon was added dropwise thiophenol (22.6 mL, 0.22 mol) at 0°C. A white precipitate was formed immediately. The resulting mixture was stirred for 30 min at 0°C and then at r.t. for 2h. The solution was cooled to 0°C, and 3-chloro-2-methyl-propene (23.7 ml, 0.24 mol) in dry THF (50 mL) was added over 30 min. The mixture was allowed to warm to room temperature over 30 min. After 2h, the solid was removed by filtration and washed with Et₂O. The combined organic phase was washed with NaOH 1M, water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and

concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), yielded 31.1g (86%) of sulfide **A** as a colourless oil: $R_f = 0.41$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1.86 (s, 3H); 3.53 (s, 2H); 4.82 (m, 2H); 7.18-7.36 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 21.2; 41.9; 114.0; 126.2; 128.7; 130.0; 136.5; 140.8. IR (KBr): 3078 (m); 2974 (m); 2916 (s); 1649 (m); 1585 (m); 1749 (s); 1439 (s); 1374 (m); 1229 (w); 1089 (m); 1026 (m); 908 (s); 735 (s) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 164 (M^+ , 100); 149 (45); 131 (34); 122 (10); 115 (6); 110 (31); 91 (19); 85 (3); 77 (8); 69 (8); 65 (13); 55 (56). Anal. calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{S}$: C, 73.12; H, 7.29. Found: C, 73.19; H, 7.22.

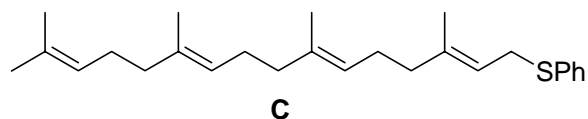
Allyl(phenyl)sulfane (34). Following the above procedure, *t*-BuOK (27.5 g, 0.26 mol), thiophenol (25.5 mL, 0.26 mol) and allyl chloride (30 ml, 0.39 mol) in dry THF (300 mL) with a reaction time of 1h, yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 31.1g (97%) of **34** as a colourless oil: $R_f = 0.47$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 3.54 (d, $J=6.9$ Hz, 2H); 5.05 (dd, $J= 17.0, 9.9$ Hz, 2H); 5.85 (tdd, $J= 17.0, 9.9, 6.9$ Hz, 1H); 7.19-7.37 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 37.16; 117.63; 126.20; 128.7; 129.81; 133.57; 135.90. IR (KBr): 3077 (s); 3006 (s); 2917 (m); 1945 (w); 1851 (w); 1636 (m); 1585 (m); 1480 (m); 1438 (m); 1301 (s); 1229 (m); 1089 (m); 1025 (m); 987 (m); 919 (s); 737 (s); 690 (s) cm^{-1} . MS (, 70 eV): 150 (M^+ , 100); 135 (69); 117 (48); 109 (41); 91 (16); 77 (8); 69 (9); 65 (19); 55. Anal. calcd for $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{S}$: C, 71.95; H, 6.71. Found: C, 71.86; H, 7.73.

Preparation of sulfides from the corresponding alcohol:

[(E)-3,7-Dimethylocta-2,6-dienyl](phenyl)sulfane (29). To a stirred solution of geraniol (10g, 64.8 mol) in dry pyridine (26.4 mL, 324 mmol) under an argon atmosphere was added diphenyl disulfide (42.4 g, 194.4 mmol), the mixture was cooled at 0°C in an ice bath, and tri-*n*-butylphosphine (48.7 ml, 194.4 mol) was added dropwise. The ice bath was removed and the solution was stirred overnight at room temperature. The reaction was treated with NaBH_4

(7.35 g, 194.4 mmol) for 1 h, quenched with NaOH 2M and the mixture was extracted three times with EtOAc. The combined organic layer was washed with HCl 5%, water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with hexane, yielded 14.21 g (89%) of **29** as a colourless oil: R_f = 0.54 (hexane). NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.55 (s, 3H); 1.59 (s, 3H); 1.67 (s, 3H); 1.97-2.09 (m, 4H); 3.55 (d, J=7.7 Hz, 2H); 5.04-5.09 (m, 1H); 5.29-5.35 (t, J=7.7 Hz, 1H); 7.18-7.37 (m, 5H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 16.0; 17.7; 25.7; 26.4; 32.2; 39.6; 119.2; 123.9; 126.0; 128.7 129.9; 131.6; 136.8; 139.8. IR (KBr): 2973 (m); 2913 (m); 1667 (w); 1583 (m); 1480 (s); 1438 (s); 1376 (m); 1106 (s); 1025 (m); 842 (w); 738 (s); 690 (s) cm⁻¹. MS (EI, 70 eV): 246 (M⁺, 13); 137 (20); 121 (7); 110 (32); 93 (25); 81 (45); 69 (100). Anal. calcd for C₁₆H₂₂S: C, 77.99; H, 9.00. Found: C, 78.12; H, 9.08.

[(2E,6E,10E)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraenyl](phenyl)sulfane (C):

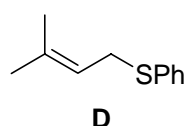


Following the above procedure, geranylgeraniol (5 g, 17.2 mmol), pyridine (7 mL, 86.1 mmol), diphenyl disulfide (11.27 g, 51.6 mmol) and tri-*n*-butylphosphine (12.92 mL, 51.6 mmol, 3 eq) yielded after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with hexane 6.05 g (92%) of thiether **C** as a colourless oil: R_f = 0.45 (hexane). NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.58 (s, 12H); 1.69 (s, 3H); 1.96-2.11 (m, 12H); 3.55 (d, J=7.7 Hz, 2H); 5.06-5.13 (m, 3H); 5.31 (t, J=7.7 Hz, 1H); 7.17-7.36 (m, 5H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 16.0; 16.0; 17.7; 25.7; 26.4; 26.6; 26.8; 32.2; 39.6; 39.6; 39.7; 119.2; 123.8; 124.2; 124.4; 126.0; 128.7; 129.8; 131.2; 134.9; 135.3; 136.8; 139.9. IR (KBr): 2966 (s); 2921 (s); 2852 (s); 1663 (m); 1585 (m); 1480 (s); 1439 (s); 1382 (m); 1225 (w); 1090 (w); 1026 (w); 909 (m); 838 (w); 736 (s); 690 (s) cm⁻¹. MS (EI, 70 eV): 382 (M⁺, 3); 273 (6); 257 (4); 229

(3); 191 (7); 177 (15); 161 (10); 149 (20); 135 (35); 123 (41); 109 (55); 95 (35); 81 (87); 69 (100). Anal. calcd for C₂₆H₃₈S : C, 81.61; H, 10.01. Found: C, 81.63; H, 10.08.

4-[(E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienylthio]pyridine (30). Following the above procedure, geraniol (2 g, 13 mmol), pyridine (5.27 mL, 64.8 mmol), 4,4'-dipyridyl disulfide (8.49g, 38.9 mmol) and tri-*n*-butylphosphine (9.74 mL, 38.9 mmol) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 2.79 g (87%) of **30** as a colourless oil: R_f = 0.28 (hexane-CH₂Cl₂, 6/4). NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.54 (s, 3H); 1.61 (s, 3H); 1.72 (s, 3H); 1.98-2.11 (m, 4H); 3.58 (d, J=7.4 Hz, 2H); 5.00-5.05 (m, 1H); 5.28 (t, J=7.4 Hz, 1H); 7.06 (d, J= 4.6 Hz, 2H); 8.34 (d, J= 4.6 Hz, 2H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 16.3; 17.7; 25.6; 26.3; 29.1; 39.4; 117.6; 120.8; 123.6; 131.8; 141.3; 149.1; 149.6. IR (KBr): 2976 (s); 2901 (s); 2801 (s); 1669 (m); 1485 (m); 1425 (s); 1387 (s); 1321 (m); 1190 (w); 1024 (w); 909 (m); 847 (w); 838 (w); 718 (s); 658 (s) cm⁻¹. MS (EI, 70 eV): 247 (M⁺, 3); 232 (3); 214 (14); 178 (8); 137 (7); 125 (3); 111 (63); 95 (11); 81 (38); 69 (100). Anal. Calcd for C₁₅H₂₁NS : C, 72.82; H, 8.53. Found: C, 72.83; H, 8.48.

(3-Methylbut-2-enyl)(phenyl)sulfane (D):



Following the above procedure, isopentenol (10 g, 64.8 mmol), pyridine (47.26 mL, 580 mmol), diphenyl disulfide (75.9 g, 348 mmol) and tri-*n*-butylphosphine (87.2 mL, 348 mmol) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 19.44 g (94%) of thioether **D** as a colourless oil: R_f = 0.58 (hexane).

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.60 (s, 3H); 1.72 (s, 3H); 3.55 (d, J=7.7 Hz, 2H); 3.32 (t, J=7.7 Hz, 1H); 7.18-7.37 (m, 5H); NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 17.7; 25.7; 32.2; 119.3; 125.9; 128.7; 129.7; 136.4; 136.9. IR (KBr): 2973 (m); 2913 (m); 1667 (w); 1583 (m); 1480

(s); 1438 (s); 1376 (m); 1106 (s); 1025 (m); 842 (w); 738 (s); 690 (s) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 178(M^+ , 39); 135 (3); 110 (46); 91 (8); 77 (4); 69 (70). Anal. calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{S}$: C, 74.10; H, 7.91. Found: C, 74.16; H, 7.93

Homologation of thioethers

[(E)-2,6,10-Trimethylundeca-1,5,9-trien-3-yl](phenyl)sulfane (1). To a stirred solution of (2-methyl-allylsulfanyl)-benzene **A** (2 g, 12.2 mmol) in dry THF (25 mL) under argon at -78°C was added dropwise n-butyllithium (1.6 M in hexane solution, 9.1 mL, 14.6 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 30 min at -78°C and for 30 min at 0°C . The solution was cooled to -78°C , then TMEDA (1.74 ml, 14.6 mmol) and a solution of geranyl chloride freshly prepared (2.52 g, 14.6 mmol) in dry THF (10 mL) were added over 15 min. The mixture was allowed to warm to room temperature over 30 min. After 2h, saturated aqueous NH_4Cl solution was carefully added and the mixture was extracted three times with Et_2O . The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- CH_2Cl_2 (8:2 – 6:4), yielded 3.0 g (82%) of **1** as a colourless oil: $R_f = 0.54$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1.60 (s, 6H); 1.68 (s, 3H); 1.79 (s, 3H); 1.96-2.14 (m, 4H); 2.28-2.71 (m, 2H); 3.64 (dd, $J=6.6$ Hz, $J=8.6$ Hz, 1H); 4.65-4.75 (m, 2H); 5.08-5.14 (m, 2H); 7.16-7.40 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 16.3; 17.7; 18.1; 25.5; 26.3; 31.5; 39.7; 56.4; 113.6; 121.2; 124.2; 126.8; 128.6; 132.4; 135.6; 131.3, 136.9; 143.5. IR (KBr): 2968 (m); 2916 (s); 2854 (m); 1479 (w); 1438 (m); 1375 (m); 1090 (w); 1026 (w); 893 (w); 772 (m); 743 (m); 691 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 300 (M^+ , 10); 191 (12); 176 (4); 163 (11); 147 (6); 130 (27); 121 (11); 115 (3); 109 (29); 79 (15); 69 (75). Anal. calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{S}$: C, 79.94; H, 9.39. Found: C, 80.04; H, 9.33.

Phenyl(1-phenylbut-3-en-2-yl)sulfane (5). Following the above procedure, allylsulfide **34** (5 g, 36.2 mmol, 1 eq), n-Butyllithium (1.6 M in hexane) (23.1 mL, 36.9 mmol, 1.02 eq), TMEDA (5.56 mL, 36.9 mmol, 1.02 eq) and benzyl bromide (4.37 mL, 36.9 mmol, 1.02 eq) in dry THF (50 mL) with a reaction time of 4h, yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 6.26 g (72 %) of **5** as a colourless oil: $R_f = 0.44$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 2.92 (dd, $J=8.6, 13.9$ Hz, 1H); 3.07 (dd, $J=13.9, 5.9$ Hz, 1H); 3.87 (ddd, $J=8.6, 5.9, 6.0$ Hz, 1H); 4.88 (dd, $J=17.0, 10.2$ Hz, 2H); 5.71 (ddd, $J=17.0, 10.2, 6.0$ Hz, 1H); 7.19-7.53 (m, 10H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 40.9; 53.5; 116.4; 126.5; 127.2; 128.3; 128.7; 129.3; 132.8; 134.6; 137.7; 138.6. IR (KBr): 3061 (m); 3027 (w); 2979 (w); 1634 (w); 1603 (w); 1583 (m); 1495 (s); 1480 (s); 1438 (s); 1090 (m); 1068 (w); 1026 (w); 987 (w); 915 (m); 737 (s); 697 (s) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 240 (M^+ , 29); 200 (3); 149 (100); 131 (24); 116 (29); 109 (12); 103 (6); 91 (55); 77 (12); 69 (3); 65 (20). Anal. calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{S}$: C, 79.95; H, 6.71. Found: C, 79.88; H, 6.68

(4-Methyl-1-phenylpent-3-en-2-yl)(phenyl)sulfane (11). Following the above procedure, dimethylallylsulfide **D** (5 g, 28 mmol), n-Butyllithium (1.6 M in hexane) (17.85 mL, 28.6 mmol), TMEDA (4.32 mL, 28.6 mmol) and benzyl bromide (3.65 mL, 30.8 mmol) in dry THF (50 mL) with a reaction time of 3h, yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 5.79 g (77 %) of **11** as a colourless oil: $R_f = 0.36$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1.20 (s, 3H); 1.60 (s, 3H); 2.78 (dd, $J=13.1, 9.2$ Hz, 1H); 3.03 (dd, $J=5.1, 13.1$ Hz, 1H); 4.15 (ddd, $J=5.1, 9.2, 9.9$ Hz, 1H); 5.06-5.10 (m, 1H); 7.13-7.44 (m, 10H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): 17.7; 25.5; 41.7; 48.6; 124.8; 126.2; 127.1; 128.1; 128.5; 129.2; 133.2; 134.9; 135.1; 139.2. IR (film): 3061 (m); 3027 (m); 3002 (m); 2970 (m); 2927 (w); 2854 (w); 1667 (w); 1583 (m); 1495 (m); 1453 (s); 1375 (w); 1090 (w); 1074 (w); 1025 (w); 843 (w); 747 (s); 695 (s) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 268 (M^+ , 7%); 177 (83);

159 (98); 143 (11); 128 (13); 117 (100); 109 (21); 91 (32); 77 (8); 65 (19). Anal. calcd for $C_{18}H_{20}S$: C, 80.54; H, 7.51. Found: C, 80.52; H, 7.68

[(E)-6,10-dimethylundeca-1,5,9-trien-4-yl](phenyl)sulfane (17). Following the above procedure, geranylthiophenylether **29** (3g, 12.2 mmol), n-Butyllithium (1.6 M in hexane) (9.2 mL, 14.6 mmol), DABCO (1.64 g, 14.6 mmol) and allyl chloride freshly distilled (1.49 mL, 18.3 mmol) in dry THF (40 mL) with a reaction time of 2h, yielded after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- CH_2Cl_2 (10:0-8:2), 2.80 g (80 %) of **17** as a colourless oil: $R_f = 0.33$ (hexane). NMR 1H (300 MHz, $CDCl_3$): 1.40 (s, 3H); 1.44 (s, 3H); 1.54 (s, 3H); 1.93-2.00 (m, 4H); 2.30-2.44 (m, 2H); 3.92 (ddd, $J=5.5, 8.4, 10.1$ Hz, 1H); 5.01-5.09 (m, 4H); 5.80 (ddd, $J=5.5, 8.4, 16.8$ Hz, 1H); 7.23-7.43 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): 16.3; 17.7; 25.6; 26.5; 39.5; 39.7; 46.8; 116.7; 124.0; 125.1; 127.2; 128.5; 131.5; 133.7; 134.7; 135.4; 138.2. IR (film): 3074 (s); 2968 (s); 2924 (s); 1662 (m); 1583 (m); 1476 (m); 1438 (s); 1377 (m); 1302 (w); 1108 (s); 1067 (w); 1025 (w); 993 (m); 913 (m); 860 (w); 748 (m); 692 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 286 (M^+ , 17); 245 (21); 177 (23); 135 (9); 110 (17); 91 (17); 77 (16); 69 (100). Anal. calcd for $C_{19}H_{26}S$: C, 79.66; H, 9.15. Found: C, 79.77; H, 9.20.

[1-(3,7-Dimethyl-octa-2,6-dienyl)-3,7,11,15-tetramethyl-hexadeca-2,6,10,14-

tetraenylsulfanyl]-benzene (20). Following the above procedure, geranylgeranylthiophenylether **C** (975 mg, 2.6 mmol), n-butyllithium (1.6 M in hexane) (1.95 mL, 3.12 mmol), DABCO (350 mg, 3.12 mmol) and freshly prepared geranyl chloride (561 mg, 3.25 mmol) in dry THF (20 mL) with a reaction time of 3 h, yielded after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- CH_2Cl_2 (10:0-8:2), 1.07 g (79 %) of **20** as a colourless oil: $R_f = 0.31$ (hexane). NMR 1H (300 MHz, $CDCl_3$): 1.36 (s, 3H); 1.50 (s, 15H); 1.60 (s, 6H); 1.98-2.02 (m, 16H); 2.14-2.33 (m, 2H); 3.80 (ddd, $J=5.5, 8.4, 10.5$ Hz, 1H); 4.97-5.09 (m, 6H); 7.13-7.35 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$): 16.0,

16.0, 16.3, 16.4, 17.7, 25.7, 26.5, 26.6, 26.8, 30.3, 33.9, 39.6, 39.6, 39.7, 39.7, 39.8, 47.5, 121.0, 124.0, 124.2, 124.4, 125.5, 127.0, 128.5, 128.7, 129.8, 131.2, 131.3, 134.9, 135.1, 137.0, 137.9, 139.9. IR (KBr): 3074 (m); 2968 (m); 2924 (s); 1662 (w) 1639 (m); 1583 (m); 1476 (m); 1438 (s); 1377 (m); 1302 (w); 1134 (s); 1067 (m); 1025 (m); 993 (m); 913 (m); 860 (w); 784 (m); 692 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV) : 518 (M^+ , 1%); 410 (5); 382 (12); 191 (7); 163 (7); 149 (11); 137 (19); 109 (23); 81 (59); 69 (100). Anal. calcd for $\text{C}_{36}\text{H}_{54}\text{S}$: C, 83.33; H, 10.49. Found: C, 83.38; H, 10.43.

[(2E,6E,10E)-1-(benzyloxy)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraen-8-yl](phenyl)sulfane (23). Following the above procedure, ((2E,6E)-8-(benzyloxy)-2,6-dimethylocta-2,6-dienyl)(phenyl)sulfane (5g, 14.2 mmol), n-butyllithium (1.6 M in hexane) (10.65 mL, 17.0 mmol), DABCO (1.91 g, 17.0 mmol) and geranyl chloride freshly prepared (3.07 g, 17.8 mmol, 1.25 eq) in dry THF (40 mL) with a reaction time of 3h, yielded after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- Et_2O (98:2 – 95:5), 5.14 g (74 %) of **23** as a colourless oil: $R_f = 0.36$ (hexane: Et_2O - 95:5). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1.55 (s, 3H); 1.59 (s, 6H); 1.63 (s, 3H); 1.67 (s, 3H); 1.73-2.05 (m, 8H); 2.26-2.41 (m, 2H); 3.58 (dd, $J=6.6$ Hz, $J=6.9$ Hz, 1H); 4.03 (d, $J=6.9$ Hz, 2H); 4.49 (s, 2H); 5.00-5.08 (m, 3H); 5.29 (t, $J=6.6$ Hz, 1H); 7.18-7.35 (m, 10H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 12.0; 15.3; 16.3; 16.7; 25.7; 26.2; 26.7; 31.6 ; 39.1; 39.7; 58.6; 66.6; 72.0; 120.8; 121.4; 126.3; 127.2; 128.0; 128.2; 128.4; 128.8; 128.9; 129.0; 131.7; 133.3; 136.1; 137.1; 139.0; 140.5. IR (KBr): 3060 (m); 3029 (m); 2967 (s); 2918 (s); 2854 (s); 1667 (w); 1584 (m); 1779 (m); 1452 (s); 1377 (m); 1201 (w); 1090 (s); 1026 (m); 910 (w); 736 (s); 694 (s) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 488 (M^+ , 1); 351 (9); 243 (9); 203 (4); 163 (5); 147 (9); 133 (24); 123 (12); 109 (17); 91 (100); 81 (21); 69 (42). Anal. calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{OS}$: C, 81.09; H, 9.07 Found: C, 81.07; H, 9.04.

2,2-Dimethyl-4-(2-phenylsulfanyl-but-3-enyl)-[1,3]dioxolane (26). Following the above procedure, **34** (1.49 g, 9.9 mmol), n-butyllithium (1.6 M in hexane) (6.18 mL, 9.9 mmol), DABCO (1.11 g, 9.9 mmol) and 4-iodomethyl-2,2-dimethyl-[1,3]dioxolane freshly prepared (2 g, 8.25 mmol) in dry THF (15 mL) with a reaction time of 4h, yielded after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography hexane-Et₂O (95:5 – 9:1), 1.91 g (73 %) of **26** (diastereoisomeric mixture) as a colourless oil: R_f = 0.28 (hexane:Et₂O - 95:5). NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 1.35 (s, 3H); 1.39 (s, 3H); 1.73-2.05 (m, 2H); 3.49-3.88 (m, 1H); 4.01-4.33 (m, 3H); 4.95-5.03 (m, 2H); 5.59-6.25 (m, 1H); 7.24-7.41 (m, 5H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 25.7; 27.0; 38.6; 48.5; 69.4; 73.6; 108.9; 116.9; 126.2; 128.9; 131.9; 137.6. MS (EI, 70 eV) : 264 (M⁺, 59); 249 (47); 207 (29); 189 (10); 162 (21); 155 (12); 149 (17); 139 (10); 129 (11); 123 (23); 109 (37); 101 (100); 91 (6); 83 (18); 79 (46); 73 (32); 65 (27); 59 (22); 55 (15). Anal. calcd for C₁₅H₂₀O₂S: C, 68.14; H, 7.62 Found: C, 68.11; H, 7.60.

Kinetic of THF Cleavage. Three kinetic experiments were performed simultaneously. Di-ter-butylbiphenyl (DBB) (266 mg, 1 mmol), naphthalene (128 mg, 1 mmol) or biphenyl (154 mg, 1 mmol) were added into a two neck round-bottom flask of 50 mL under an argon atmosphere. Lithium ribbon was prepared by scrapping the dark oxide coating off the surface while it was immersed in mineral oil. The metal was dipped in hexane and weighed (175 mg, 25 mmol) in a tarred beaker containing mineral oil. The metal was cut into small very shiny pieces while immersed in mineral oil. The small lithium pieces were dipped again in hexane and quickly added while the flask was rapidly being purged with argon. Then, 10 mL of THF was added and the solution was sonicated for 2h at 25°C. Aliquots (100 µL) were syringed out as the reaction progressed and quenched with 900 µL of moist THF. The aliquots were

analysed by GC. The concentrations of butanol were calculated from the areas under the peak and were averages from three experiments.

Synthesis of Allylsilanes

Z-(trimethyl-(4-phenyl-3-(phenylthio)but-2-enyl)silane (6) (Preparation Corresponding to Entry 1 of Table 3). To a two neck round-bottom flask equipped with an argon inlet, were added THF (1.4 mL) and di-*ter*-butylbiphenyl (DBB) (22 mg, 0.08 mmol). Small lithium pieces (288 mg, 41.5 mmol) were prepared as previously and quickly added to the solution of DBB while the flask was rapidly being purged with argon. The mixture was sonicated for 5 min at room temperature, then cooled to -78°C. A solution of allylthioether **5** (200 mg, 0.83 mmol) in THF (1 mL) was added to the preformed solution of LiDBB under argon and the mixture was stirred until the originally dark-green colour reappeared, then TMSCl (180 mg, 1.66 mmol) was added. The reaction was maintained at -78°C for further 5 min and the resulting solution was filtered to remove the lithium excess. The mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄ and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), yielded 184 mg (71%) of **6** as a colourless oil: R_f = 0.26 (hexane). NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 0.00 (s, 9H); 1.66 (d, J=8.8 Hz, 2H); 3.42 (s, 2H); 6.07 (t, J=8.8 Hz, 1H); 7.08-7.20 (m, 10H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 0.0; 22.9; 37.9; 127.6; 127.7; 129.7; 130.1; 130.2; 130.3; 131.2; 137.8; 137.9; 140.6. MS (EI, 70 eV): 264 (M⁺, 27); 248 (6); 239 (24); 229 (7); 130 (6); 122 (3); 107 (10); 93 (3); 73 (100); 59 (4). Anal. calcd for C₁₉H₂₄SSi: C, 73.01; H, 7.29. Found: C, 73.08; H, 7.25.

Trimethyl-(4-phenyl-but-2-enyl)-silane (7) (Preparation Corresponding to Entry 2 of Table 3).

Following the non Barbier-type procedure described for substrate **1**, at -42°C , thioether **5** (200 mg, 0.83 mmol), DBB (22 mg, 0.08 mmol), lithium (288 mg, 41.5 mmol) and TMSCl (180 mg, 1.66 mmol) in dry THF (2.5 mL) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 132 mg (78 %) of **7** (*E/Z*-85/15) as a colourless oil: $R_f = 0.78$ (hexane).

Z-Isomer: NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.02 (s, 9H), 1.47 (d, $J=6.8$ Hz, 2H); 3.34 (d, $J=6.2$ Hz, 2H); 5.40-5.52 (m, 2H); 7.18-7.33 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -1.9; 22.7; 39.3; 125.7; 127.3; 127.9; 128.3; 128.4; 141.5.

E-Isomer: NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.06 (s, 9H); 1.62 (d, $J=7.9$ Hz, 2H); 3.37 (d, $J=6.2$ Hz, 2H); 5.40-5.52 (m, 2H); 7.18-7.33 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -1.7; 18.5; 33.2; 125.7; 127.9; 128.3; 128.3; 128.4; 141.5.

E- and *Z*-isomers could not be separated. The following data concern the mixture of these two compounds: IR (KBr): 3063 (w); 3026 (m); 2899 (m); 1656 (w); 1603 (w); 1494 (m); 1453 (m); 1405 (w); 1248 (s); 1155 (m); 964 (m); 851 (s); 743 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 204 (M^+ , 17%); 135 (7); 130 (25); 91 (5); 84 (40); 73 (35); 59 (6). Anal. calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{Si}$: C, 76.40; H, 9.86. Found: C, 76.28; H, 9.88.

Trimethyl-(1-phenyl-but-2-enyl)-silane (8) (Preparation Corresponding to Entry 3 of Table 3):

Following the non Barbier-type procedure described for substrate **1**, at -11°C , thioether **5** (200 mg, 0.83 mmol), DBB (22 mg, 0.08 mmol), lithium (288 mg, 41.5 mmol) and TMSCl (180 mg, 1.66 mmol) in dry THF (2.5 mL) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 85 mg (47 %) of **8** (*E/Z*-95/5) as a colourless oil: $R_f = 0.72$ (hexane).

E-isomer: NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.02 (s, 9H); 1.76 (d, $J=5.4$ Hz, 3H); 2.93 (d, $J=9.9$ Hz, 1H); 5.41-5.77 (m, 2H); 7.12-7.29 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -2.0; 19.2; 43.9; 125.4; 128.1; 129.3; 130.6; 131.2; 144.2.

Z-isomer: NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.05 (s, 9H); 1.75 (d, $J=5.7$ Hz, 3H); 3.31 (d, $J=11.5$ Hz, 1H); 5.80-5.91 (m, 2H); 7.12-7.29 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -1.9; 14.2; 38.4; 122.8; 124.6; 125.4; 128.1; 129.3; 144.2.

E- and *Z*-isomers could not be separated. The following data concern the mixture of these two compounds: IR (KBr): 3084 (w); 3026 (m); 2954 (s); 2899 (m); 1656 (w); 1603 (w); 1494 (m); 1453 (m); 1248 (s); 1155 (m); 1030 (s); 964 (m); 851 (s); 743 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 204 (M^+ , 17%); 188 (3); 161 (8); 145 (4); 130 (25); 115 (4); 91 (73); 60 (6). Anal. calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{Si}$: C, 76.40; H, 9.86. Found: C, 76.32; H, 9.81.

Reductive Silylation of Thioether 11 (Table 4).

Following the non Barbier-type procedure described for substrate **1**, thioether **11** (200 mg, 0.74 mmol) reacted with DBB (20 mg, 0.07 mmol), lithium (256 mg, 37 mmol) and TMSCl (160 mg, 1.48 mmol) in dry THF (2.5 mL). The obtained allylsilanes were purified by column chromatography with hexane as eluent. Yield, ratio of isomers and temperature are given in Table 4.

Trimethyl[(*E*)-2-methyl-5-phenylpent-3-en-2-yl]silane (12). $R_f = 0.72$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): -0.03 (s, 9H); 1.02 (s, 6H); 3.37 (d, $J=6.8$ Hz, 2H); 5.31 (dt, $J=15.4$, $J=6.8$ Hz, 1H); 5.55 (d, $J=15.4$, 1H); 7.12-7.26 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -4.4; ($\text{CH}_3 \times 2$) 24.9; 25.8; 39.5; 123.7; 125.7; 125.8; 128.3; 128.5; 143.0.

Trimethyl(4-methyl-1-phenylpent-3-en-2-yl)silane (14). $R_f = 0.72$ (hexane) NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.02 (s, 9H); 1.37 (s, 3H); 1.65 (s, 3H); 2.00 (dt, $J= 11.2$, 3.7 Hz, 1H);

2.49 (dd, J=11.2, 13.9 Hz, 1H); 2.84 (dd, J=3.7 H, 13.9 Hz, 1H); 4.93 (d, J=11.2 Hz, 1H); 7.12-7.26 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -3.0; 18.0; 22.7; 30.8; 36.3; 125.3; 125.6; 127.9; 128.0; 129.4; 143.0.

Compounds **12** and **14** could not be separated. The following data concern the mixture of these two isomers: IR (KBr): 3059 (w); 2960 (m); 2925 (m); 1583 (m); 1479 (m); 1438 (m); 1375 (w); 1248 (s); 1091 (s); 1025 (s); 870 (m); 842 (s); 735 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 232(M^+ , 24%); 217 (12); 158 (36); 143 (29); 117 (4); 91 (8); 84 (18); 73 (100); 65 (19); 59 (5). Anal. calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{SSi}$: C, 77.51; H, 10.41. Found: C, 77.63; H, 10.37.

1-[4-methyl-1,4-bis(trimethylsilyl)pent-2-enyl]benzene (13). $R_f = 0.84$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): -0.03 (s, 18H); 1.00 (s, 6H); 2.91 (d, J=7.9 Hz, 1H); 5.47-5.51 (m, 2H); 7.06-7.26 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -4.3; -2.8; 22.7; 23.3; 25.6; 43.1; 124.0; 124.2; 127.1; 128.1; 137.2; 143.7. IR (KBr): 3071 (w); 2963 (w); 2905 (m); 1552 (m); 1443 (m); 1438 (m); 1362 (w); 1218 (s); 1099 (s); 1038 (s); 879 (m); 808 (s); 745 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 304 (M^+ , 7); 231 (13); 217 (3); 201 (3); 158.4 (21); 143 (9); 128 (4); 113 (4); 91 (5); 84 (29); 73 (100); 59 (7). Anal. calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{Si}_2$: C, 70.97; H, 10.59. Found: C, 71.04; H, 10.54.

Trimethyl[3-methyl-1-(phenylthio)but-2-enyl]silane (16) (Preparation Corresponding to Entry 3 of Table 4). Following the non Barbier-type procedure described for substrate **1**, at -11°C , thioether **11** (200 mg, 0.74 mmol), DBB (20 mg, 0.07 mmol), lithium (256 mg, 37 mmol) and TMSCl (121 mg, 1.11 mmol) in dry THF (2.5 mL) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 39 mg (21 %) of **16** as a

colourless oil: $R_f = 0.31$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.13 (s, 9H); 1.51 (s, 3H); 1.66 (s, 3H); 2.43 (d, $J=11.3$ Hz, 1H); 5.09 (d, $J=11.3$ Hz, 1H); 7.09-7.27 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -2.8; 18.0; 25.6; 34.5; 124.4; 125.4; 138.4; 129.2; 131.1; 138.0. MS (EI, 70 eV): 250 (M^+ , 94); 177 (1), 151 (10), 141 (26); 128 (5); 109 (33); 99 (23); 91 (9); 73 (100); 65 (19); 59 (31). Anal. calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{SSi}$: C, 67.13; H, 8.85. Found: C, 67.19; H, 8.77.

Procedures for the reductive silylation of 29 displayed in Table 6.

Trimethyl[(E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl]silane (31) (Preparation Corresponding to Entry 1 of Table 6).

To a two neck round-bottom flask equipped with an argon inlet, were added THF (1.4 ml) and DBB (21 mg, 0.08 mmol). Small lithium pieces (278 mg, 40 mmol) were prepared as previously and quickly added to the solution of DBB while the flask was rapidly being purged with argon. The mixture was sonicated for 5 min, then cooled to -78°C . A solution of allylthioether **29** (200 mg, 0.81 mmol) in THF (1 mL) was added to the preformed solution of LiDBB under argon and the mixture was stirred until the originally dark-green colour reappeared, then TMSCl (176 mg, 1.64 mmol) was added. The reaction was maintained at -78°C for further 5 min and the resulting solution was filtered to remove the lithium excess. The mixture was extracted three times with Et_2O . The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO_4 and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), yielded 121 mg (71%) of **31** as a colourless oil: $R_f = 0.76$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.02 (s, 9H); 1.38 (d, $J= 8.6$ Hz, 2H); 1.54 (s, 3H); 1.60 (s, 3H); 1.67 (s, 3H); 1.99-2.08 (m, 4H); 5.07-5.20 (m, 2H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -1.8; 15.7; 17.7; 18.6; 25.71; 26.8; 40.0; 120.3; 124.6; 131.1; 132.2. IR (KBr): 2956 (s); 2919 (s); 1445 (m); 1412 (w); 1377 (m); 1247 (s); 1153 (m); 1107 (w); 1073 (w);

985 (w); 856 (s); 754 (m); 694 (m) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 210 (M^+ , 13); 195 (3); 153 (7); 141 (28); 73.4 (100); 69 (8). Anal. calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{Si}$: C, 74.20; H, 12.45. Found: C, 74.26; H, 12.37.

Trimethyl-(E)-3,7-dimethyl-(phenylthio)octa-2,6-dienyl)silane (32) (Preparation Corresponding to Entry 6 of Table 1). To a two neck round-bottom flask equipped with an argon inlet, were added THF (1.4 ml) and DBB (21 mg, 0.08 mmol). Small lithium pieces (278 mg, 40 mmol) were prepared as previously and quickly added to the solution of DBB while the flask was rapidly being purged with argon. The mixture was sonicated for 1h, then cooled to -78°C . A solution of **29** (200 mg, 0.81 mmol) in THF (1 mL) was added to the preformed solution of LiDBB under argon and the mixture was stirred until the originally dark-green colour reappeared, then TMSCl (176 mg, 1.64 mmol) was added. The reaction was maintained at -78°C for further 5 min and the resulting solution was filtered to remove the lithium excess. The mixture was extracted three times with Et_2O . The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO_4 and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), yielded 178 mg (69%) of **32** as a colourless oil: $R_f = 0.34$ (hexane). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 0.14 (s, 9H); 1.51 (s, 3H); 1.57 (s, 3H); 1.63 (s, 3H); 1.95-2.02 (m, 4H); 3.44 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H); 5.09 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H); 4.97-5.02 (m, 1H); 7.11-7.28 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -2.8; 16.2; 17.7; 25.6; 26.6; 34.4; 39.7; 124.2; 124.7; 125.5; 128.4; 129.3; 131.3; 134.6; 132.2. IR (KBr): 3077 (s); 3059 (s); 3006 (m); 2979 (m); 2917 (m); 2854 (w); 1945 (w); 1851 (w); 1636 (m); 1583 (s); 1480 (s); 1438 (s); 1425 (m); 1404 (m); 1301 (w); 1268 (w); 1229 (m); 1184 (w); 1156 (w); 1089 (m); 1069 (m); 1025 (m); 987 (m); 919 (m); 866 (w); 737 (s); 690 (s) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV): 318 (M^+ , 7); 249 (32); 167 (6); 151 (4); 136 (28); 121 (8); 99 (11); 93 (14); 80

(7); 73 (100); 69 (43); 59 (9). Anal. calcd for C₁₉H₃₀SSi : C, 71.63; H, 9.49. Found: C, 71.52; H, 9.55.

Reductive silylation of 17 (Entry 1, Table 5). Following the Barbier-type procedure described for substrate **1**, at -42°C, thioether **17** (200 mg, 0.70 mmol), DBB (20 mg, 0.07 mmol), lithium (242 mg, 35 mmol) and TMSCl (114 mg, 1.05 mmol) in dry THF (2.5 mL) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 146 mg (83%) a mixture of **18** and **19** (97/3) as a colourless oil: R_f = 0.78 (hexane).

***E*-Trimethyl-(6,10-dimethylundeca-1,5,9-trien-4-yl)silane (18).** NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): -0.04 (s, 9H); 1.53 (s, 3H); 1.59 (s, 3H); 1.66 (s, 3H); 1.74 (td, J=3.5, 11.0 Hz, 1H); 1.98-2.27 (m, 6H); 4.84-4.98 (m, 4H); 5.70-5.84 (m, 1H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): -3.0; 16.5; 16.7; 25.7; 26.8; 28.7; 34.5; 40.1; 113.7; 124.6; 126.2; 131.0; 132.4; 139.6.

Trimethyl-(6,10-dimethylundeca-1,4,9-trien-6-yl)silane (19). NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃) characteristic signals: -0.07(s, 9H); 0.26-0.36 (dd, 2H, J = 3.7 Hz, J = 4.3 Hz); 0.98 (s, 3H); 2.75-2.83 (m, 2H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃) characteristic signals: -4.3 (C-TMS); 40.1 (CH₂-homoallylic).

Compounds **18** and **19** could not be separated. The following data concern the mixture of these two isomers: IR (KBr): 3061 (m); 3027 (m); 2970 (m); 2927 (m); 2854 (m); 1667 (w); 1603 (m); 1495 (m); 1438 (s); 1375 (m); 1089 (w); 1025 (m); 916 (w); 853 (m); 747 (s); 695 (s) cm⁻¹. MS (EI, 70 eV): 250 (M⁺, 13); 182 (29); 135 (4); 107 (7); 93 (9); 84 (13); 79 (5); 73 (100); 69 (12); 59 (5). Anal. calcd for C₁₆H₃₀Si: C, 76.72; H, 12.07. Found: C, 76.63; H, 12.11.

Reductive silylation of 20 (Entry 2, Table 5). Following the Barbier-type procedure described above for the substrate **1**, at -42°C, thioether **20** (200 mg, 0.39 mmol), DBB (10 mg, 0.04 mmol), lithium (135 mg, 19.5 mmol) and TMSCl (63 mg, 0.59 mmol) in dry THF (2.5 mL) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), 173 mg (92%) a mixture of **21** and **22** (81/19) as a colourless oil: $R_f = 0.65$ (hexane).

(6E,10E,14E,18E)-Trimethyl-(2,6,11,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,22-hexaen-9-yl)silane (21). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): -0.03 (s, 9H); 1.54 (s, 3H); 1.60 (s, 15H); 1.67 (s, 6H); 1.97-2.08 (m, 19H); 5.09-5.13 (m, 6H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -2.8; 15.9; 16.0; 16.1; 16.5; 17.6; 17.7; 25.7; 26.7; 26.8; 27.0; 28.4; 29.3; 39.7; 39.6; 39.8; 40.2; 124.3; 124.4; 124.5; 125.2; 126.4; 131.1; 131.2; 132.4; 134.1; 134.7; 134.8; 136.1.

(6E,9Z,14E,18E)-Trimethyl-2,6,11,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,9,14,18,22-hexaen-11-yl)-silane (22). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): -0.08 (s, 9H); 1.54 (m, 3H); 1.58-1.60 (m, 15H); 1.67 (s, 6H); 1.92-2.20 (m, 16H); 2.72 (dd, $J=7.4, 8.6$ Hz, 2H); 4.90-4.94 (m, 2H); 5.09-5.13 (m, 5H). NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) characteristic signals: -4.3 (C-Si); 39.7 (C homoallylic).

Compounds **21** and **22** could not be separated. The following data concern the mixture of these two isomers: IR (KBr): 2923 (s); 2854 (m); 2359 (w); 1642 (w); 1448 (m); 1381 (m); 1246 (s); 1106 (w); 973 (w); 836 (s) cm^{-1} . MS (EI, 70 eV) : 483 (M^+ , 1) ; 277 (7); 203 (25); 161 (3); 137 (11); 119 (17); 95 (11); 81 (31); 73 (100). Anal. calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{58}\text{Si}$: C, 82.08; H, 12.11. Found: C, 81.98; H, 12.15.

Reductive silylation of 23 (Entry 3, Table 5). Following the Barbier-type procedure described for substrate **1**, at -42°C, thioether **23** (200 mg, 0.41 mmol), DBB (10 mg, 0.04 mmol), lithium (142 mg, 20.5 mmol) and TMSCl (67 mg, 0.62 mmol) in dry THF (2.5 mL) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane-Et₂O: 6/4), 76 mg (51 %) a mixture of **24** and **25** (56/44) as a colourless oil: R_f = 0.31 (hexane- Et₂O 6/4).

(2E, 6E and 6Z, 10E)-3,7,11,15-Tetramethyl-8-(trimethylsilyl)hexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol (24) and (2E, 7E and 7Z, 10E)-3,7,11,15-Tetramethyl-6-

(trimethylsilyl)hexadeca-2,7,10,14-tetraen-1-ol (25). Compounds **24** and **25** could not be separated. Their structures were determined by ¹H NMR of the mixture. The multiplet at 1.52 ppm is characteristic of the allylic protons in β of the TMS of (Z-) and (E-) **24** and the multiplet at 2.64 ppm is characteristic of the bis-allylic protons of (Z-) and (E-) **25**.

The following data concern the mixture of isomers **24** and **25**: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): -0.04 (s, 1.6H); -0.03 (s, 2.6H); -0.01 (s, 2.48H); 0.00 (s, 2.3H); 1.50-1.52 (m, 1.2H); 1.58 (m, 9.3H); 1.66 (s, 6.3H); 1.94-2.16 (m, 9.8H); 2.56-2.72 (m, 0.80H); 4.12 (d, J=6.7, 2H); 4.91-4.98 (m, 0.4H); 5.01-5.09 (m, 2.8H); 5.36-5.43 (m, 1.1H). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): -2.3; -2.2; -1.9; -1.8; 16.0; 16.0; 16.1; 16.1; 16.2; 16.2; 16.8; 17.6; 21.3; 21.6; 25.3; 25.6; 25.7; 26.3; 26.7; 26.7; 26.9; 31.2; 32.2; 38.7; 39.0; 39.3; 39.6; 39.7; 39.7; 39.8; 39.9; 122.5; 123.3; 123.4; 123.6; 123.8; 124.3; 124.3; 124.4; 125.0; 125. 2; 131.1; 131.1; 131.2; 134.0; 134.3; 134.5; 134.6; 135.2; 136.2; 139.7; 140.0; 140.1 . IR (KBr): 3423 (br); 2359 (w); 1640 (s); 1441 (w); 1248 (w); 1215 (m); 1104 (w); 836 (m); 753 (s) cm⁻¹. MS (EI, 70 eV): 362 (M⁺, 1); 244 (4); 229 (2); 275 (13); 203 (8); 177 (3); 161 (5); 147 (9); 121 (18); 107 (22); 93 (31); 81 (33); 73 (100). Anal. calcd for C₂₃H₄₂OSi: C, 76.17; H, 11.67. Found: C, 76.25; H, 11.61.

(E)-Trimethyl[4-(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)but-2-enyl]silane (27). Following the above Barbier-type procedure, at -42°C , thioether **26** (200 mg, 0.76 mmol), DBB (20.16 mg, 0.08 mmol, 0.1 eq), lithium (264 mg, 38 mmol) and TMSCl (124 mg, 1.14 mmol) in dry THF (2.5 mL) yielded, after purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- Et_2O (95/5), 109 mg (63 %) a mixture of **27** (*E/Z* : 74/26) as a colourless oil: $R_f = 0.32$ (hexane- Et_2O 6/4). NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): -0.01(s, 9H); 1.32 (s, 3H); 1.40 (s, 3H); 1.39-1.48 (m, 2H); 2.14-2.38 (m, 2H); 3.50-3.55 (m, 1H); 3.97-4.08 (m, 2H); 5.14-5.5.21 (m, 1H); 5.41-5.49 (m, 1H).

NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -2.1; 18.8; 25.6, 26.9, 31.3; 69.1; 75.9; 108.7; 121.4; 128.5.

MS (IE, 70 eV): 228(M^+ , 2); 213 (11); 155 (6); 131 (4); 116 (7); 101 (100); 81 (12); 73 (85); 60 (9). Anal. calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Si}$: C, 63.10; H, 10.59. Found: C, 62.01; H, 10.63.

Synthesis of Bis-Silanes

***E,E*-3,7-Dimethyl-1,1-bis-trimethylsilanyl-octa-2,6-diene (33).**

Method A. To a two neck round-bottom flask equipped with an argon inlet, were added THF (1.4 mL) and DBB (21 mg, 0.08 mmol). Small lithium pieces (278 mg, 40 mmol) were prepared as previously and quickly added to the solution of DBB while the flask was rapidly being purged with argon. The mixture was sonicated for 1 h, then cooled to -78°C . A solution of allylthioether **29** (200 mg, 0.81 mmol) in THF (1 mL) was added to the preformed solution of LiDBB under argon and the mixture was stirred until the originally dark-green colour reappeared. Then, TMSCl (89 mg, 0.82 mmol) was added. The reaction was stirred at -78°C until the originally dark-green colour reappeared again, then TMSCl (178 mg, 0.64 mmol) was added. The reaction was maintained at -78°C for further 30 min and the resulting solution was filtered to remove the lithium excess. The mixture was extracted three times with Et_2O .

The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄ and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), yielded 156 mg (68%) of **33** as a colourless oil: *R*_f = 0.39 (hexane).

Method B (Barbier type condition). To a two neck round-bottom flask equipped with an argon inlet, were added THF (1.4 ml) and DBB (21 mg, 0.08 mmol). Small lithium pieces (278 mg, 40 mmol) were prepared as previously and quickly added to the solution of DBB while the flask was rapidly being purged with argon. The mixture was sonicated for 1 h, then cooled to -78°C. A solution of **29** (200 mg, 0.81 mmol) in THF (5 mL) was added to the solution of LiDBB under argon and the mixture was stirred until the originally dark-green colour reappeared, then TMSCl (440 mg, 4.05 mmol) was added. The reaction was maintained at -78°C for further 4 h and the resulting solution was filtered to remove the lithium excess. The mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄ and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), yielded 142 mg (62%) of **33** as a colourless oil: *R*_f = 0.39 (hexane).

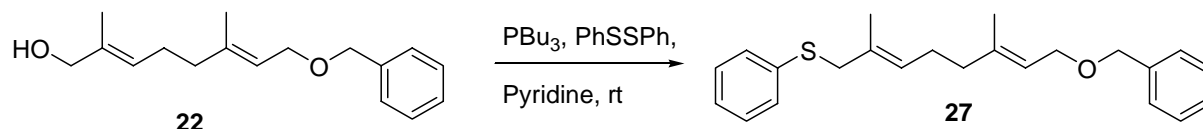
NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 0.00 (s, 18H); 1.11 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H); 1.49 (s, 3H); 1.60 (s, 3H); 1.66 (s, 3H); 1.92-2.02 (m, 4H); 5.02-5.14 (m, 2H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): -0.4; 15.7; 17.7; 20.4; 25.7; 26.9; 40.2; 122.0; 124.6; 131.1; 135.1. IR (KBr): 2940 (s), 2959 (m), 1401 (m), 1457 (w), 1402 (w), 1327 (m), 1289 (s), 1134 (m), 1178 (w), 1002 (w), 967 (w), 836 (s), 694 (m) cm⁻¹. MS (EI, 70 eV): 282 (M⁺, 7); 213 (41); 207 (22); 193 (4); 179 (6); 125 (100); 109 (4); 97 (3); 73 (100); 69 (9); 59 (11). Anal. calcd for C₁₆H₃₄Si₂: C, 68.00; H, 12.13. Found: C, 68.08; H, 12.16.

(E)-1,3-Bis-(tert-butyl-dimethylsilyl)-prop-1-ene (35). To a two neck round-bottom flask equipped with an argon inlet, were added THF (5 ml) and DBB (88 mg, 0.33 mmol). Small lithium pieces (1.16 g, 166 mmol) were prepared as previously and quickly added to the solution of DBB while the flask was rapidly being purged with argon. The mixture was sonicated for 1 h, then cooled to -78°C. A solution of **34** (500 mg, 3.33 mmol) in THF (5 mL) was added to the solution of LiDBB under argon and the mixture was stirred until the originally dark-green colour reappeared, then TBDMSCl (1.81 g, 16.7 mmol, 5 eq.) was added. The reaction was maintained at -78°C for further 2 h and the resulting solution was filtered to remove the lithium excess. The mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄ and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (hexane), yielded 616 mg (69%) of **35** as a colourless oil: *R_f* = 0.43 (hexane). NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃): 0.07 (s, 6H); 0.19 (s, 6H); 0.85 (s, 9H); 0.88 (s, 9H); 1.65 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H); 5.39 (d, *J* = 18.4 Hz, 1H); 5.01 (td, *J* = 18.4 Hz, 7.8 Hz, 1H). NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃): 16.6; 16.8; 26.5; 26.5; 24.6; 125.0; 145.4; 131.1; 135.1. MS (EI, 70 eV): 270 (M⁺, 9); 263 (11); 249 (13); 221 (4); 213 (51); 207 (9); 147 (12); 141 (4); 135 (11); 125 (14); 113 (19); 99 (12); 83 (4); 59 (10). Anal. calcd for C₁₅H₃₄Si₂: C, 66.58; H, 12.66. Found: C, 66.71; H, 12.61.

Partie expérimentale :

Synthèse des bicyclopolyprénols

((2E,6E)-8-(benzyloxy)-2,6-dimethylocta-2,6-dienyl)(phenyl)sulfane 27



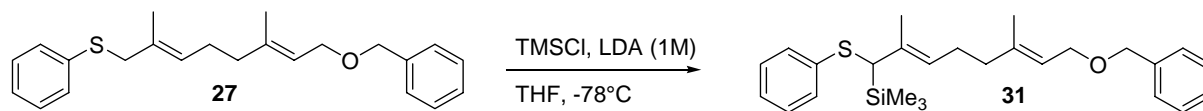
To a stirred solution of alcohol **22** (5 g, 19.2 mmol) in dry pyridine (7.8 mL; 96 mmol) under an argon atmosphere was added diphenyl disulfide (8.28 g ; 38.4 mmol), the mixture was cooled at 0°C in an ice bath, and tri-*n*-butylphosphine (9.51 mL ; 38.4 mmol) was added dropwise. The ice bath was removed and the solution was stirred overnight at room temperature. The reaction was quenched with distillate water and extracted three times with diethylether. The combined organic layer was washed with NaOH 2 M, HCl 5%, water, brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with hexane and hexane/ CH_2Cl_2 , yielded 5.08 g (75%) of sulphide **27** as a colourless oil: $R_f = 0.3$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O} : 95/5$).

NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3): 1,62 (s, 3H, $\text{CH}_3(3')$); 1,75 (s, 3H, $\text{CH}_3(7')$); 1,84-2,14 (m, 4H, CH_2 allylic(4,5)); 3,49 (s, 2H, $\text{CH}(8)$); 4,03 (d, $J=6,75$ Hz, 2H, $\text{CH}_2(1)$); 4,51 (s, 2H, $\text{CH}_2(11)$); 5,19-5,26 (t, $J=6,75$ Hz, 1H, CH vinylic(6)); 5,33-5,38 (t, $J=6,75$ Hz, 1H, CH vinylic(2)) ; 7,19-7,36 (m, 10H, H aromatics)

NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 15,24 (C-3'); 16,44 (C-7'); 26,34 (C-5); 39,08 (C-8); 44,23 (C-4); 66,53 (C-1); 72,06 (C-11); 121,03 (C-2); 126,19 (C-6); 127,53 (C-Ph); 128,35 (C-Ph); 128,39 (C-Ph); 128,61 (C-Ph); 128,63 (C-Ph); 130,79 (C-Ph); 136,49 (C-7); 138,55 (C-Ph); 139,92 (C-3).

Elemental analysis calcd (%) for $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{OS}$ (352.53): C=78.36, H=8.01; found: C=78.47, H=7.96

((2E,6E)-8-(benzyloxy)-2,6-dimethyl-1-(phenylthio)octa-2,6-dienyl)trimethylsilane 31



To a stirred solution of sulphide **27** (3 g, 8.51 mmol) and TMSCl (1.6 ml, 12.76 mmol) in dry THF under an argon atmosphere at -78°C, was added a molar solution of lithium diisobutylamine (9.4 ml, 9.36 mmol). After 1h30 at -78°C, the reaction was diluted with Et₂O and quenched with a saturated solution of NH₄Cl. The mixture was extracted with Et₂O. The organic layer was washed with HCl 1 M, distillate water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with heptane/Et₂O, 95:5, yielded 2.78 g (75%) of silane **31** as a colourless oil: R_f=0.4 (heptane/Et₂O, 9:1).

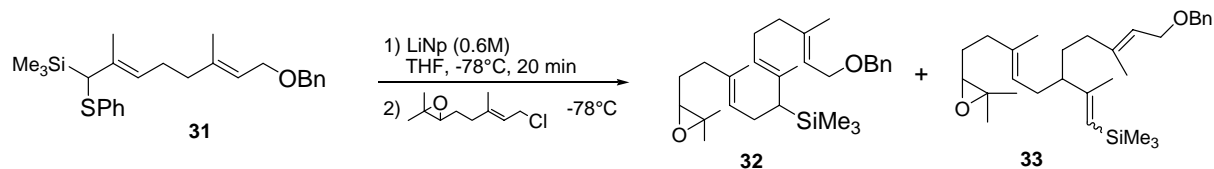
NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 0.14 (s, 9H, Si(CH₃)₃), 1.60 (s, 3H, CH₃(3')), 1.67 (s, 3H, CH₃(7')), 1.94-2.11 (m, 4H, CH₂ allylics (4,5)), 3.23 (s, 1H, CH(8)), 4.00 (d, J=6.9 Hz, 2H, CH₂(1)), 4.50 (s, 2H, CH₂Ph), 5.17 (t, J=6.9 Hz, 1H, CH vinylics (6)), 5.36 (t, J=6.9 Hz, 1H, CH vinylics(2)), 7.10-7.35 (m, 10H, CH aromatics).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : -1.9 (Si(CH₃)₃), 15.0 (C-3'), 16.4 (C-7'), 26.4 (C-5), 39.4 (C-4), 45.5 (C-8), 66.6 (C-1), 72.1 (O-C-Ph), 120.9 (C-2), 125.4 (C-6), 125.9 (C-Ph), 127.5 (C-Ph), 127.8 (C-Ph), 128.3 (C-Ph), 128.4 (C-Ph), 129.1 (C-Ph), 133.2 (C-7), 138.4 (C-Ph), 138.6 (C-Ph), 140.1 (C-3).

GC-HRMS: calcd for C₂₆H₃₆OSSi : 424,2256; found: 424,2239

Elemental analysis calcd (%) for C₂₆H₃₆OSSi (424,71): C 73.53, H 8.52; found: C 73.70, H 8.40.

((3E,7E,11E)-13-(benzyloxy)-3,7,11-trimethyl-1-(3,3-dimethyloxiran-2-yl)trideca-3,7,11-trien-6-yl)trimethylsilane 32 and ((5E)-3-((E)-5-(benzyloxy)-3-methylpent-3-enyl)-2,6-dimethyl-8-(3,3-dimethyloxiran-2-yl)octa-1,5-dienyl)trimethylsilane 33



To a stirred solution of sulphide **31** (1 g, 2.35 mmol) in dry THF under an argon atmosphere at -78°C was added dropwise a solution of lithium naphthalene (0.6 M, 8.6 ml, 5.18 mmol) freshly prepared. After 20 minutes of reaction at -78°C , a solution of chloride @ in 3 ml of dry THF was added dropwise and the resulting solution was stirred for another hour at -78°C . The reaction was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and the mixture was extracted with Et_2O . The organic layer was washed with distillate water, brine, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with pentane/ Et_2O , 9:1, yielded 0.94 g (85%) of the mixture of silane **32** and **33** with respectively 78% and 22% as a colourless oil: $R_f=0.34$ (pentane/ Et_2O , 9:1).

Major isomer **32**:

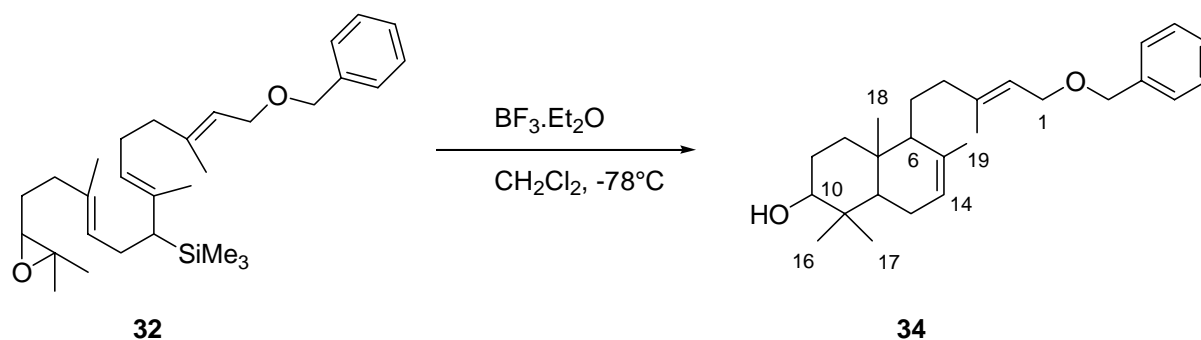
NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3) : -0.03 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 1.25 (s, 3H, CH_3), 1.29 (s, 3H, CH_3), 1.42 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, CH(8)), 1.51 (s, 3H, $\text{CH}_3(11')$), 1.60 (s, 3H, $\text{CH}_3(3')$), 1.64 (s, 3H, $\text{CH}_3(7')$), 2.01-2.17 (m, 8H, $\text{CH}_2(4,5,9,12)$), 2.69 (t, $J=6.3$ Hz, 1H, CH(14)), 4.02 (d, $J=6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2(1)$), 4.50 (s, 2H, $\text{CH}_2(\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph})$), 4.95 (t, $J=6.6$ Hz, 1H, CH(10)), 5.09-5.14 (m, 1H, CH(6)), 5.40 (tq, $J=6.6$ Hz, $J=1.2$ Hz, 1H, CH(2)), 7.25-7.36 (m, 5H, H aromatics).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): -2.2 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 16.1 (C-3'), 16.4 (C-11'), 18.7 (C-7'), 24.9 (C-16,17), 26.4 (C-9), 26.7 (C-13), 27.5 (C-5), 36.3 (C-12), 39.6 (C-8), 39.9 (C-4), 58.3 (C-15), 64.2 (C-14), 66.6 (C-1), 72.0 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$), 120.8 (C-2), 122.7 (C-6), 125.8 (C-10), 127.5 (C-Ph), 127.8 (C-Ph), 128.3 (C-Ph), 133.3 (C-7), 136.0 (C-Ph), 138.6 (C-3), 140.5 (C-11).

GC-HRMS: calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2\text{Si}$: 468,3424; found: 468.3410

Elemental analysis calcd (%) for $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2\text{Si}$ (468.79) : C 76.86, H 10.32; found : C 76.86, H 10.20.

5-((E)-5-(benzyloxy)-3-methylpent-3-enyl)-1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-2-ol **34**



To a stirred solution of the mixture of epoxides **32** and **33** (164 mg, 0.35 mmol) in dry CH_2Cl_2 under an argon atmosphere at -78°C was added a solution of $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (0.18 ml, 1.40 mmol). After 2 hours at -78°C , the reaction was quenched with NaHCO_3 5% and the temperature was allowed to warm up to room temperature. The mixture was extracted with CH_2Cl_2 , washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with heptane/ Et_2O , 6:4, yielded 97 mg of the desired cyclic compound **34** (90% from epoxide **32**) as a colourless oil: $R_f=0.4$ (heptane/ Et_2O , 6:4).

Mixtures of diastereoisomers:

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 0.71 (s, 0.15H, $\text{CH}_3(18)$), 0.75 (s, 1.2H, $\text{CH}_3(18)$), 0.79 and 0.80 (s, 0.5H, $\text{CH}_3(18)$), 0.84 and 0.85 (s, 2.6H, $\text{CH}_3(16, 18)$), 0.88 (s, 1H, $\text{CH}_3(16)$), 0.90 and 0.91 (s, 0.5H, $\text{CH}_3(16)$), 0.96 (s, 1.5H, $\text{CH}_3(17)$), 0.98 (s, 1.1H, $\text{CH}_3(17)$), 1.00 (s, 0.5H, $\text{CH}_3(17)$), 1.08-1.35 (m, 4H, $\text{CH}_2(5,8)$), 1.48-1.59 (m, 3H, $\text{CH}_2(9)$ and $\text{CH}(12)$), 1.65 and 1.69 (s, 6H, $\text{CH}_3(3', 19)$), 1.77-2.28 (m, 5H, $\text{CH}_2(4, 13)$ and $\text{CH}(6)$), 3.14-3.28 (m, 1H, $\text{CH}(10)$), 4.02 (d, $J=6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2(1)$), 4.51 (s, 2H, $\text{CH}_2(\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph})$), 5.04 (m, 0.08H, $\text{CH}(14)$), 5.12 (m, 0.08H, $\text{CH}(14)$), 5.25 (m, 0.38H, $\text{CH}(14)$), 5.40 (m, 1.46H, $\text{CH}(2, 14)$), 7.26-7.35 (m, 5H, CH aromatics).

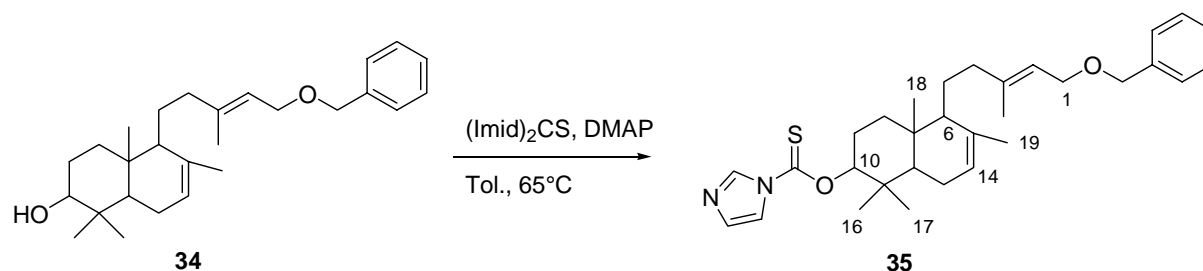
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : of one of dia but not separated:

13.6 (C-18), 15.1 (C-16), 16.6 (C-3'), 22.0 (C-19), 23.5 (C-13), 25.5 (C-5), 27.4 (C-9), 27.9 (C-17), 36.6 (C-7), 37.2 (C-8), 38.6 (C-11), 42.0 (C-4), 49.5 (C-6), 54.0 (C-5), 66.7 (C-1), 72.1 (O- CH_2 -Ph), 79.1 (C-10), 121.1 (C-14), 122.1 (C-2), 127.5 (C-Ph), 127.8 (C-Ph), 128.4 (C-Ph), 135.2 (C-15), 138.5 (C-Ph), 140.7 (C-3).

GC-HRMS: calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_2$: 396.3028; found: 396.3052

Elemental analysis calcd (%) for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_2$ (396.61) : C 81.77, H 10.17; found: C 81.71, H 10.23.

O-5-((E)-5-(benzyloxy)-3-methylpent-3-enyl)-1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-2-yl 1H-imidazole-1-carbothioate **35**



A solution of alcohol **34** (310 mg, 0.78 mmol), thiocarbonyldiimidazole (278 mg, 1.56 mmol) and dimethylaminopyridine (286 mg, 2.34 mmol) in dry toluene (12 ml) was stirred in a pressure tube at 65°C . After overnight reaction at 65°C , the solvent was removed and the crude product was purified by chromatography on silica gel with heptane/ Et_2O , 7:3, yielded 357 mg (90%) of the desired product **35** as a colourless oil: $R_f=0.25$ (heptane/ Et_2O , 6:4).

Diastereoisomers mixture:

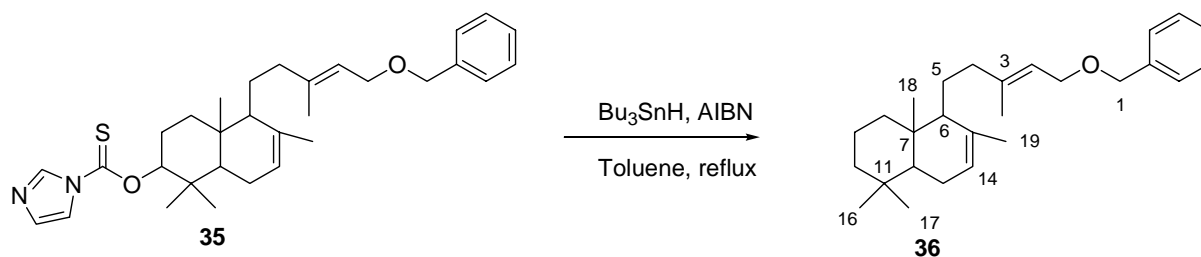
NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 0.82 (s, 1.30H, $\text{CH}_3(17)$), 0.94 and 0.96 (s, 4.70H, $\text{CH}_3(17, 18)$), 1.02 and 1.03 (s, 0.5H, $\text{CH}_3(19)$), 1.08 and 1.09 (s, 2.50H, $\text{CH}_3(19)$), 1.27-1.67 (m, 6H, $\text{CH}_2(5,8,9)$), 1.66, 1.67 and 1.71 (s, 6H, $\text{CH}_3(3'$ and 16)), 1.76-1.83 (m, 2H, $\text{CH}_2(4)$), 1.93-2.07 (m, 4H, $\text{CH}_2(13)$ and $\text{CH}(6, 12)$), 4.05, 4.04, 4.03, 4.02 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{-OBn}$), 4.50, 4.51, 4.52 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 5.19-5.29 (m, 1.5H, CH vinylics), 5.41-5.45 (m, 1.5H, CH vinylics), 7.03-7.04 (m, 1H, CH imidazole), 7.29-7.36 (m, 5H, CH aromatics), 7.62- 7.64 (m, CH imidazole), 8.33-8.35 (m, CH imidazole, 1H).

NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 13.6 (C-18), 16.8 (C-3'), 17.2 (C-16), 22.0 (C-19), 22.7 (C-9), 23.1 (C-13), 25.6 (C-5), 27.9 (C-17), 33.5 (C-4), 36.5 (C-7), 36.6 (C-8), 38.4 (C-11), 49.8 (C-12), 54.0 (C-6), 66.7 (C-1), 72.3 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 91.8 (C-OCS(imid)), 117.8 (C-2), 118.9 (C-14), 121.2 (C-imid), 121.6 (C-imid), 127.6, 127.8, 128.4 (C-Ph), 130.7 (C-imid), 135.3 (C-15), 138.5 (C-3), 140.4 (C-Ph), 184.0 (C=S).

GC-HRMS (FAB): calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: 506,2967; found $[\text{M}+\text{H}^+]= 507.3061$

Elemental analysis calcd (%) for $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ (506.74) : C 73.48, H 8.35, N 5.53; found : C 73.54, H 8.39, N 5.17.

5-((E)-5-(benzyloxy)-3-methylpent-3-enyl)-1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalene 36



To a stirred and degassed solution of the mixture of xanthate **35** (357 mg, 0.70 mmol) and azobisisobutyronitrile (35 mg, 0.21 mmol) in dry toluene (30 ml) under an argon atmosphere was added Bu_3SnH (0.60 ml, 2.11 mmol). After overnight reaction under reflux (111°C), the solvent was removed and the crude product was purified by chromatography on silica gel with heptane/ Et_2O , 95:5, yielded 181 mg (67%) of the reduced compound **36** as a colourless oil: $R_f=0.55$ (heptane/ Et_2O , 9:1).

Diastereoisomers mixture:

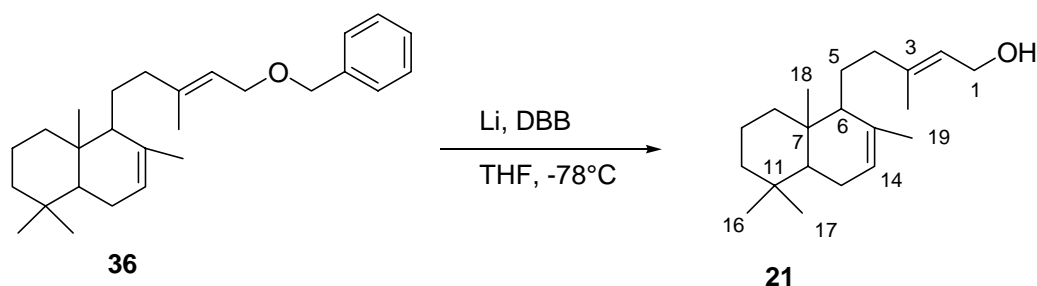
NMR ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 0.72 (s, 0.22H, $\text{CH}_3(18)$), 0.75 (s, 1.28H, $\text{CH}_3(18)$), 0.85, 0.86, 0.88, 0.89, 0.90 (s, 7.50H, $\text{CH}_3(16, 17, 18)$), 1.09-1.59 (m, 9H, $\text{CH}_2(8, 9, 10)$ and $\text{CH}(12)$), 1.66, 1.69 (s, 6H, $\text{CH}_3(3', 19)$), 1.77-2.27 (m, 5H, $\text{CH}_2(4, 13)$ and $\text{CH}(6)$), 4.03 (d, $J=6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2(1)$), 4.51 (s, 2H, O- CH_2 -Ph), 5.06 (m, 0.06H, $\text{CH}(14)$), 5.14(m, 0.09H, $\text{CH}(14)$), 5.26 (m, 0.35H, $\text{CH}(14)$), 5.41 (m, 1.51H, $\text{CH}(2, 14)$), 7.26-7.35 (m, 5H, CH aromatics).

NMR ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 13.6 (C-18), 16.6 (C-3'), 18.8 (C-9), 22.0 (C-19), 22.2 (C16) , 23.8 (C-13), 25.5 (C-5), 30.0 (C-4), 33.2 (C-17), 36.8 (C-11), 42.2 (C-7), 39.1 (C-8), 42.3 (C-10), 50.2 (C-12), 54.4 (C-6), 66.7 (C-1), 72.2 (O- CH_2 -Ph), 120.9(C-2), 122.3 (14), 127.5 (C-Ph), 127.8 (C-Ph), 128.4 (C-Ph), 135.4 (C-15), 138.6 (C-3), 140.9 (C-Ph).

GC-HRMS (EI): calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}$: 380.3079; found = 380.3075

Elemental analysis calcd (%) for $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}$ (380.61) : C 85.20, H 10.59; found: C 84.48, H 10.46.

(2E)-5-(1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-5-yl)-3-methylpent-2-en-1-ol 21



To a two neck round-bottom flask equipped with an argon inlet, were added THF (1.5 mL) and di-ter-butylbiphenyl (DBB) (54 mg, 0.20 mmol). Small lithium pieces (53 mg, 7.60 mmol) were prepared as previously and quickly added to the solution of DBB while the flask was rapidly being purged with argon. The mixture was sonicated for 5 min at room temperature, then cooled to -78°C . A solution of benzylether **36** (193 mg, 0.50 mmol) in THF (1.5 mL) was added to the preformed solution of LiDBB under argon and the mixture was stirred at -78°C until the originally dark-green colour reappeared (12 h). The reaction was allowed to warm up to room temperature and the resulting solution was filtered to remove the lithium excess. The mixture was extracted three times with Et_2O . The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO_4 and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography (heptane/ Et_2O , 7:3), yielded 85 mg (57%) of the desired alcohol as a colourless oil: $R_f = 0.26$ (heptane/ Et_2O , 6:4).

Diastereomers mixture:

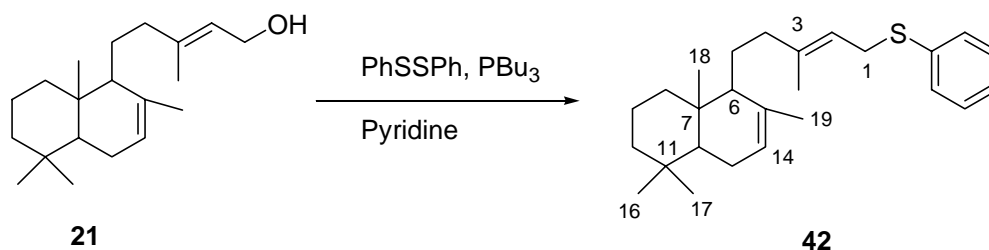
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 0.73, 0.74 (s, 1.58H, CH_3 (18)), 0.84, 0.85, 0.86, 0.88, 0.89 (s, 7.42H, CH_3 (16,17,18)), 1.06-1.50 (m, 9H, CH_2 (5,8,9,10) and CH(12)), 1.60, 1.63, 1.64, 1.68 (s, 6H, CH_3 (3',19)), 1.68-2.25 (m, 5H, CH_2 (4,13) and CH(6)), 4.14 (d, $J=6.9$ Hz, 2H, CH_2 (1)), 5.05 (t, $J=1.2$ Hz, 0.07H, CH(14)), 5.13 (t, $J=1.5$ Hz, 0.07 H, CH(14)), 5.24 (m, 0.34H, CH(14)), 5.41 (m, 1.52H, CH(3',14)).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 13.6 (C-18), 16.4 (C-3'), 18.8 (C-9), 22.0 (C-19), 22.2 (C-16), 23.8 (C-13), 25.6 (C-5), 30.0 (C-4), 33.2 (C-17), 36.8 (C-11), 39.2 (C-8), 42.2 (C-7), 42.3 (C-10), 50.2 (C-12), 54.5 (C-6), 59.4 (C-1), 122.3 (C-2), 123.4 (C-14), 135.3 (C-15), 140.8 (C-3).

GC-HRMS (EI): calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$: 290,2610; found = 290.2603

Elemental analysis calcd (%) for $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$ (290,48): C 82.69, H 11.80; found: C 82.32, H 11.83.

((2E)-5-(1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-5-yl)-3-methylpent-2-enyl)(phenyl)sulfane **42**



To a stirred solution of bicyclogeranylgeraniol **21** (329 mg, 1.13 mmol) in dry pyridine (1 mL, 5.66 mmol) under an argon atmosphere was added diphenyl disulfide (494 mg, 2.26 mmol), the mixture was cooled at 0°C in an ice bath, and tri-*n*-butylphosphine (0.6 ml, 2.26 mmol) was added dropwise. The ice bath was removed and the solution was stirred overnight at room temperature. The reaction was quenched with Et₂O, washed with HCl 1M and the mixture was extracted with Et₂O. The combined organic layer was washed with HCl 1M, distillate water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with heptane/CH₂Cl₂, 8:2, yielded 377 mg (86%) of the desired sulfide **42** as a colourless oil: R_f = 0.54 (heptane/CH₂Cl₂, 8:2).

Diastereoisomers mixture:

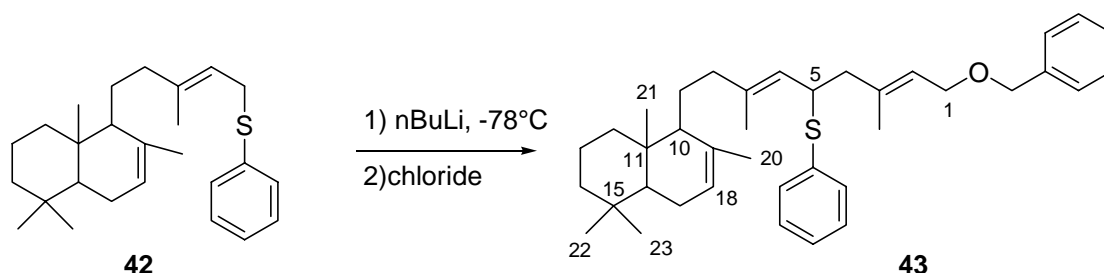
NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 0.74 (s, 1.40H, CH₃(18)), 0.86, 0.87, 0.88, 0.89, 0.91 (s, 7.60 H, CH₃(16,17,18)), 1.10-1.30 (m, 5H, CH₂(8,10) and CH(12)), 1.38-1.52 (m, 4H, CH₂(5,9)), 1.58 (s(broad), 3H, CH₃(3')), 1.64, 1.67 (s(broad), 3H, CH₃(19)), 1.72-2.24 (m, 5H, CH₂(4,13) and CH(6)), 3.55 (d, J=7.8 Hz, 2H, CH₂(1)), 5.05 (m, 0.08H, CH(14)), 5.13 (m, 0.08H, CH(14)), 5.24 (m, 0.38H, CH(14)), 5.31 (t, J=7.5 Hz, 1H, CH(2)), 5.39 (m, 0.48H, CH(14)), 7.15-7.36 (m, 5H, CH aromatics).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 13.5 (C-18), 16.2 (C-3'), 18.8 (C-9), 22.0 (C-19), 22.2 (C-16), 23.8 (C-13), 25.7 (C-5), 30.1 (C-4), 32.3 (C-1), 33.0 (C-11), 33.2 (C-17), 36.8 (C-7), 39.1 (C-8), 42.3 (C-10), 50.1 (C-12), 54.4 (C-6), 119.3 (C-2), 122.3 (C-14), 126.1 (C-Ph), 128.7 (C-Ph), 130.1 (C-Ph), 135.3 (C-Ph), 136.7 (C-15), 140.6 (C-3).

GC-HRMS (EI): calcd for C₂₆H₃₈S : 382.2694; found = 382.2682

Elemental analysis calcd (%) for C₂₆H₃₈S (382.64) : C 81.61, H 10.01; found: C 81.61, H 10.10.

((2E,6E)-1-(benzyloxy)-9-(1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-5-yl)-3,7-dimethylnona-2,6-dien-5-yl)(phenyl)sulfane **43**



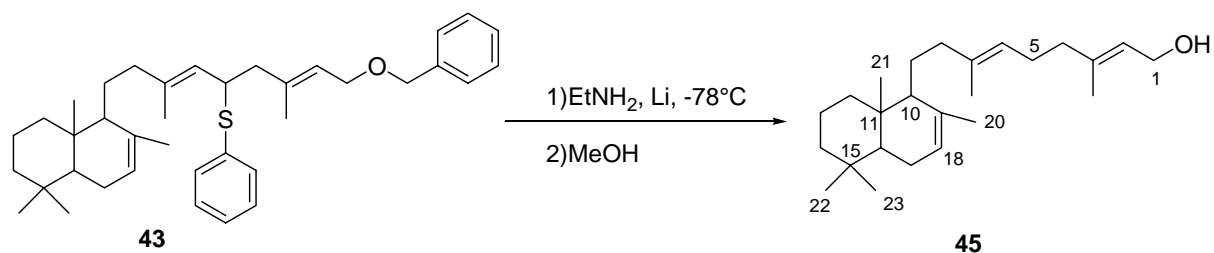
To a stirred solution of sulphide **42** (150 mg, 0.39 mmol) in dry THF (2 mL) under argon at -78°C was added dropwise n-butyllithium (1.4 M in hexane solution, 0.35 mL ; 0.43 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 1 hour at -78°C. A solution of chloride **39** freshly prepared (91 mg ; 0.43 mmol) in dry THF (1 mL) were added at -78°C. After 1h30 of reaction at -78°C, the mixture was diluted in Et₂O, saturated aqueous NH₄Cl solution was carefully added and the mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with distillate water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with pentane-Et₂O (95-5), yielded 132 mg (60%) of the desired product **43** as a colourless oil: R_f=0.40 (pentane/Et₂O, 95:5).

Diastereoisomers mixture:

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 0.72, 0.85, 0.87, 0.89 (s, 9H, CH₃(21, 22, 23)), 1.14 (m, 4H, CH₂(9,14)), 1.34 (s, 3H, CH₃(7')), 1.42 (m, 2H, CH₂(13)), 1.43 (m, 1H, CH(16)), 1.53 (m, 2H, CH₂(12)), 1.63 (s, 6H, CH₃(3',20)), 1.76 (s, 1H, CH(10)), 1.71-2.12 (m, 4H, CH₂(8,17)), 2.27 (dd, J=13.5 Hz, J=9 Hz, 1H, CH₂(4)), 2.45 (dd, J=13.5 Hz, J=5.7 Hz, CH₂(4)), 4.01 (d, J=6.6 Hz, 2H, CH₂(1)), 4.04-4.08 (m, 1H, CH(5)), 4.48 (s, 2H, O-CH₂-Ph), 5.00 (d, J=10.2 Hz, 1H, CH(6)), 5.12-5.78 (m, 2H, CH(2,18)), 7.23-7.42 (m, 10H, CH aromatics).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 13.5, 16.2, 16.6 (C-3', 7',21), 18.8 (C-13), 21.8, 22.0 (C-20,22), 23.8 (C-17), 24.1 (C-9), 32.8 (C-15), 33.2 (C-23), 36.3 (C-12), 36.8 (C-11), 39.0 (C-8), 42.9 (C-14), 45.7 (C-4), 45.9 (C-5), 50.1 (C-16), 54.2 (C-10), 66.3 (C-1), 71.7 (CH₂-Ph), 119.7, 122.2 (C-18,6), 123.8 (C-Ph), 125.5 (C-1), 127.4, 127.5, 127.8, 128.4, 128.5 (C-Ph), 135.3, 136.6, 137.3, 138.5, 138.8 (C-Ph).

(2E,6E)-9-(1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-5-yl)-3,7-dimethylnona-2,6-dien-1-ol **45**



To a dry ethylamine (3 mL) at -78°C was added lithium wire (28 mg; 4.09 mmol) as small pieces and the solution was coloured in blue. The coupled product **43** (114 mg; 0.20 mmol) in dry THF (1 mL) was added slowly, the blue colour disappeared and the resulting solution allowed to stir 20 min until the reaction colour became blue again. Maintaining the temperature at -78°C, sodium benzoate was added until the blue colour was totally dissipated and the resulting yellow solution was then quenched with MeOH until colourless. After attaining room temperature, water was added until all the solids dissolved and the volatiles were carefully evaporated under reduced pressure. The resulting cloudy solution was extracted four times with ether. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with pentane-Et₂O (8:2), yielded 59 mg (80%) of alcohol **45** as colourless oil: R_f=0.32 (pentane/Et₂O, 8:2).

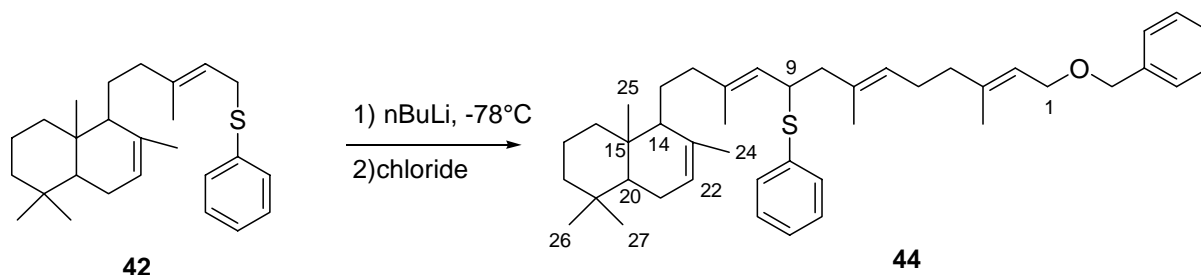
Diastereoisomers mixture:

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 0.74 (s, 1.5H, CH₃(21)), 0.85, 0.86, 0.87, 0.88 (s, 7.5H, CH₃(21,22,23)), 1.14-1.31 (m, 6H, CH₂(9,12,14)), 1.38-1.47 (m, 3H, CH₂(13) and CH(16)), 1.61 (s, 3H, CH₃(7')), 1.64, 1.68 (s, 6H, CH₃(3', 20)), 1.78-2.16 (m, 9H, CH₂(4,5,8,17) and CH(10)), 4.15 (d, J=6.9Hz, 2H, CH₂(1)), 5.11 (m, 1H, CH(6)), 5.24 (m, 0.4H, CH(18)), 5.42 (m, 1.6H, CH(2, 18)).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 13.6 (C-21), 16.1, 16.3 (C-3',7'), 18.8 (C-13), 22.1 (C-20), 22.3 (C-22), 23.8 (C-17), 25.8 (C-9), 26.3 (C-5), 33.0 (C-16), 33.2 (C-23), 36.8 (C-11), 39.1 (C-12), 39.6 (C-8), 42.2 (C-4), 42.4 (C-14), 50.2 (C-16), 54.2 (C-10), 59.4 (C-1), 122.1 (C-18), 123.4 (C-6), 124.0 (C-2), 135.6 (C-19), 136.0 (C-7), 139.8 (C-3).

Elemental analysis calcd (%) for C₂₅H₄₂O (358,60): C 83.73, H 11.81; found: C 83.56, H 11.78.

((3E,7E,11E)-13-(benzyloxy)-1-(1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-5-yl)-3,7,11-trimethyltrideca-3,7,11-trien-5-yl)(phenyl)sulfane **44**



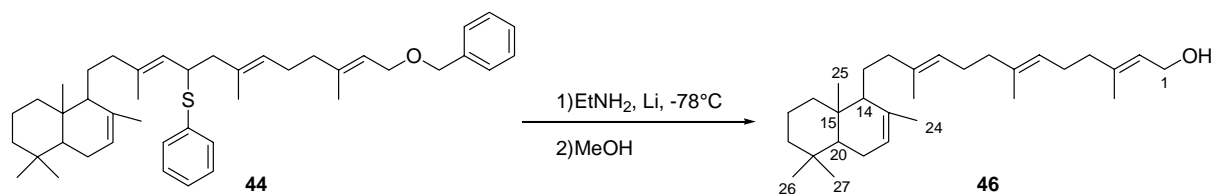
To a stirred solution of sulfide **42** (150 mg, 0.39 mmol) in dry THF (2 mL) under argon at -78°C was added dropwise n-butyllithium (1.4 M in hexane solution, 0.35 mL ; 0.43 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 1 hour at -78°C. A solution of chloride **41** freshly prepared (120 mg ; 0.43 mmol) in dry THF (1 mL) were added at -78°C. After 1h30 of reaction at -78°C, the mixture was diluted in Et₂O, saturated aqueous NH₄Cl solution was carefully added and the mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with distillate water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with pentane-Et₂O (95-5), yielded 150 mg (61%) of the desired product **44** as a colourless oil: R_f=0.45 (pentane/Et₂O, 95:5).

Diastereoisomers mixture:

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 0.73 (s, 1H, CH₃(25)), 0.85, 0.88, 0.89 (s, 8H, CH₃(25,26,27)), 1.05-1.24 (m, 4H, CH₂(13,18)), 1.34, 1.36 (s, 3H, CH₃(11')), 1.40-1.45 (m, 3H, CH₂(17) and CH(20)), 1.59 (s, 3H, CH₃(7')), 1.64 (s, 6H, CH₃(3',24)), 1.74-1.84 (m, 2H, CH₂(4)), 1.88-1.95 (m, 2H, CH₂(12)), 2.01-2.11 (m, 5H, CH₂(8,21) and CH(14)), 2.19 (dd, J=13.5Hz, J=9Hz, 1H, CH₂(8)), 2.39 (dd, J=13.5Hz, J=5.7Hz, 1H, CH₂(8)), 4.02 (d, J=6.6Hz, 2H, CH₂(1)), 3.96-4.04 (m, 1H, CH(9)), 4.50 (s, 2H, CH₂-Ph), 4.96-5.03 (m, 1H, CH(10)), 5.14-5.18 (m, 1H, CH(5)), 5.24 (m, 0.41H, CH(22)), 5.37-5.42 (m, 1.49H, CH(2,22)), 7.22-7.42 (m, 10H, CH aromatics).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 13.6 (C-25), 16.1, 16.2, 16.6 (3',7',11'), 18.8 (C-17), 21.9, 22.1 (C-24,26), 23.8 (C-21), 24.2 (C-13), 26.4 (C-5), 33.0 (C-19), 33.2 (C-27), 36.8 (C-15), 39.1 (C-16), 39.4 (C-4), 41.6 (C-12), 42.3 (C-18), 45.6 (C-8), 45.9 (C-9), 50.1 (C-20), 54.6 (C-14), 66.6 (C-1), 72.0 (CH₂-Ph), 119.7 (C-2), 120.8 (C-22), 126.9 (C-10), 127.1 (C-6), 127.2 (C-Ph), 127.5 (C-Ph), 127.8 (C-Ph), 128.3 (C-Ph), 128.5 (C-Ph), 132.3 (C-7), 134.0 (C-Ph), 134.9 (C-Ph), 135.3 (C-23), 136.7 (C-11), 138.4 (C-Ph), 140.3 (C-3).

(2E,6E,10E)-13-(1,2,3,4,4a,5,8,8a-octahydro-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalen-5-yl)-3,7,11-trimethyltrideca-2,6,10-trien-1-ol 46



To a dry ethylamine (3 mL) at -78°C was added lithium wire (32 mg; 4.54 mmol) as small pieces and the solution was coloured in blue. The coupled product **44** (142 mg; 0.23 mmol) in dry THF (1 mL) was added slowly, the blue colour disappeared and the resulting solution allowed to stir 20 min until the reaction colour became blue again. Maintaining the temperature at -78°C, sodium benzoate was added until the blue colour was totally dissipated and the resulting yellow solution was then quenched with MeOH until colourless. After attaining room temperature, water was added until all the solids dissolved and the volatiles were carefully evaporated under reduced pressure. The resulting cloudy solution was extracted four times with ether. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with pentane-Et₂O (7:3), yielded 84 mg (75%) of alcohol **46** as colourless oil: R_f=0.45 (pentane/Et₂O, 7:3).

NMR ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 0.74 (s, 1.5H, CH₃(21)), 0.85, 0.86, 0.87, 0.88 (s, 7.5H, CH₃(25,26,27)), 1.14-1.31 (m, 6H, CH₂(13,16,18)), 1.37-1.50 (m, 3H, CH₂(17) and CH(20)), 1.60 (s, 6H, CH₃(7',11')), 1.64, 1.68 (s, 6H, CH₃(3',24)), 1.82-2.15 (m, 13H, CH₂(4,5,8,9,12,21) and CH(14)), 4.15 (d, J=6.9Hz, 2H, CH₂(1)), 5.11 (m, 2H, CH(6,10)), 5.23 (m, 0.4H, CH(22)), 5.41 (m, 1.6H, CH(2,22)).

NMR ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 13.6 (C-25), 16.1, 16.2, 16.3 (C-3',7',11'), 18.9 (C-17), 21.9, 22.1 (C-24,26), 23.8 (C-21), 24.2 (C-13), 26.4 (C-5), 26.7 (C-9), 33.0 (C-19), 33.2 (C-27), 36.8 (C-15), 39.1 (C-16), 39.6 (C-8), 39.7 (C-4), 41.9 (C-12), 42.4 (C-18), 50.2 (C-20), 55.3 (C-14), 59.4 (C-1), 122.3 (C-22), 123.3 (C-10), 123.8 (C-6), 124.4 (C-2), 135.4 (C-23), 135.6 (C-7,11), 139.9 (C-3).

Elemental analysis calcd (%) for C₃₀H₅₀O (426,72): C 84.44, H 11.81; found: C 84.03, H 11.85.

Partie expérimentale :
Publication N°=2 du Chem. Eur. J

Chem. Eur. J.

Membrane formation from polyprenyl phosphates/polyprenyl alcohols, postulated as primitive membranes

Stéphane Streiff, Nigel Ribeiro, Zhengyan Wu, Elzbieta Gumienna-Kontecka, Mourad Elhabiri, Anne Marie Albrecht-Gary, Guy Ourisson and Yoichi Nakatani*

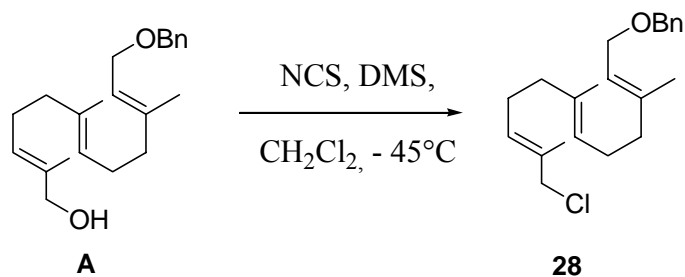
Supporting Information

Supporting concerning the synthesis of alcohols:

General: All reactions were carried out under an argon atmosphere. THF were distilled from Na/benzophenone. CH_2Cl_2 and pyridine were dried and distilled over CaH_2 . Hexamethylphosphoramide and tetramethylethylenediamine were distilled prior each use. Anhydrous ethylamine was purchased from Fluka, n-butyllithium in hexane (nominally 1.6 M) was purchased from Aldrich and titrated before each use. Thin layer chromatography (TLC) was performed on glass plates coated with silica gel 60 F254 (Merck). Column chromatography was carried out on silica gel 60 (Merck, 70-230 mesh).

Spectra: IR: Perkin-Elmer 881 spectrometer, characteristic absorption bands in cm^{-1} along with relative intensity (w = weak, m = medium, s = strong absorption). NMR: Bruker WP (200 MHz) spectrometers; chemical shifts (δ) in ppm with respect to CDCl_3 ($\delta=7.26$) as internal standards for ^1H NMR, to CDCl_3 ($\delta=77.0$) as internal standard for ^{13}C NMR; significant ^1H NMR data are tabulated in the following order: chemical shift (δ), multiplicity (s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet), values of coupling constants J in Hz and number of protons.

1-(((2E,6E,10E)-11-(chloromethyl)-3,7-dimethyldodeca-2,6,10-trienyloxy)methyl)benzene 28

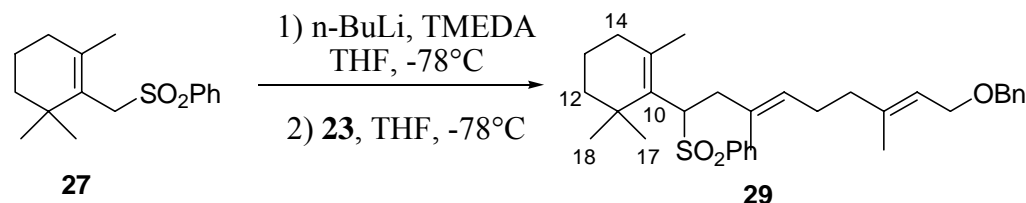


To a solution of N-chloro-succinimide (1.54 g; 10 mmol) in dry CH_2Cl_2 (50 mL) at -45°C , was added dropwise dimethyl sulfide (0.8 mL ; 11 mmol). The temperature was allowed to warm up to 0°C and the resulting solution was stirred for another hour. Then the mixture was cooled to -40°C and a solution of **A** (3g; 9.13 mmol) in 20 mL of CH_2Cl_2 was added. After 1 h at 0°C and 15 min room temperature, the reaction was quenched with a cold saturated solution of NaCl and the mixture was extracted three times with hexane. The combined

organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness to yielded 3.17 g (100%) of **28** as colourless oil. R_f = 0.4 (CH₂Cl₂/Et₂O: 95/5).

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): 1.59 (*s*, 3H, CH₃), 1.64 (*s*, 3H, CH₃), 1.72 (*s*, 3H, CH₃), 2.04-2.10 (*m*, 8H, H allylics), 4.01 (*s*, 2H, CH₂-C), 4.03 (*d*, J=6.8 Hz, 2H, CH₂), 4.50 (*s*, 2H, O-CH₂-Phe), 5.12 (*m*, 1H, H vinylic), 5.50 (*t*, J=6.7 Hz, 1H, H vinylic), 5.50 (1H, *m*, H vinylic), 7.25-7.36 (5H, *m*, H aromatics); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): 14.1 (C-11'(CH₃)), 16.0 (C-3'(CH₃)), 16.5 (C-7'(CH₃)), 26.3 (C-5), 26.5 (C-9), 39.1 (C-4), 39.6 (C-8), 52.7 (C-1), 66.5 (C-12), 71.9 (C-(O-CH₂-Ph)), 120.6 (C-6), 124.3 (C-6), 125.8 (C-10), 127.6 (C-Ph), 127.9 (C-Ph), 128.4 (C-Ph), 130.6 (C-Ph), 131.5 (C-11), 134.6 (C-7), 140.3 (C-3); MS (70 eV, EI): *m/z* (%): 347 (45) [M⁺], 329 (1), 311 (13), 293 (3), 241 (37), 239 (93), 225 (1), 205 (20), 203 (100), 171 (34), 135 (42), 107 (40).

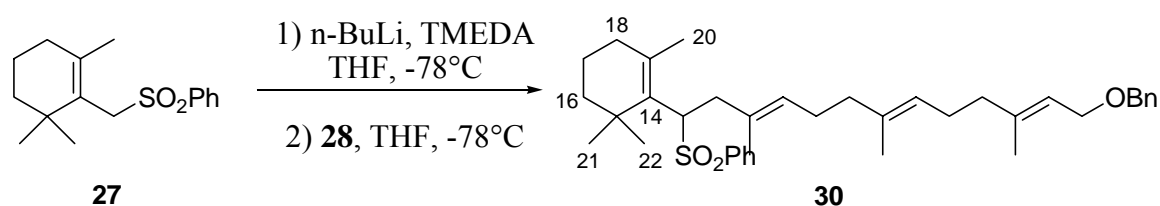
1-(((2E,6E)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)-9-(phenylsulfonyl)nona-2,6-dienyloxy)methyl)benzene 29



To a stirred solution of sulfone **27** (2 g; 7.18 mmol) in dry THF (20 mL) under argon at -78°C was added dropwise n-butyllithium (1.6 M in hexane solution, 4.93 mL ; 7.9 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 30 min at -78°C and for 30 min at 0°C. The solution was cooled to -78°C, then tetramethylethylenediamine (1.03 mL ; 8.6 mmol) and a solution of chloride **23** freshly prepared (2.4 g ; 8.61 mmol) in dry THF (10 mL) were added over 15 min. The mixture was allowed to warm to room temperature over 30 min. After 2 h, saturated aqueous NH₄Cl solution was carefully added and the mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane-CH₂Cl₂ (8:2 – 5:5), yielded 3.07 g (82%) of **29** as colourless oil:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 0.86 (*s*, 3H, CH₃), 1.08 (*s*, 3H, CH₃), 1.19-1.62 (*m*, 14H, CH₃), 1.91-2.04 (*m*, 4H, CH₂ allylic), 2.55 (*dd*, *J*= 6.6 Hz et *J*= 14.5 Hz, 1H, CH₂), 2.95 (*dd*, *J*= 6.6 Hz et *J*= 14.5 Hz, 1H, CH₂), 3.91 (*t*, *J*= 6.6 Hz, 1H, CH), 4.01 (*d*, *J*= 6.9 Hz, 2H, CH₂), 4.49 (*s*, 2H, O-CH₂Ph), 5.15-5.19 (*m*, 1H, H vinylic), 5.35 (*t*, *J*= 6.9 Hz, 1H, H vinylic), 7.26-7.35 (*m*, 5H, H aromatics), 7.46-7.63 (*m*, 3H, H aromatics), 7.86-7.90 (*m*, 2H, H aromatics); **¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):** 15.5 (C-3'), 16.6 (C-7'), 19.1 (C-13), 23.4 (C-16), 26.5 (C-5), 28.4 (C-17*), 29.3 (C-18*), 34.6 (C-14), 36.0 (C-11), 39.0 (C-12), 39.9 (C-4), 41.3 (C-8), 65.6 (C-9), 66.6 (C-1), 72.2 (C-(CH₂-O-Ph)), 121.1 (C-2), 127.6(C-6), 130.8-142.4 (C-Ph and C-(3,7,10,15)); **I.R. (KBr):** 3064 (*m*), 3030 (*m*), 3929 (*m*), 3864 (*s*), 1666 (*w*), 1585 (*w*), 1495 (*s*), 1446 (*m*), 1364 (*m*), 1143 (*m*), 1083 (*m*), 1069 (*m*), 1027 (*w*), 910 (*m*), 733 (*m*), 672 (*m*), 646 (*m*); Elemental analysis calcd (%) for C₃₃H₄₄O₃S (520.77): C 76.11, H 8.52; found: C 76.03, H 9.27.

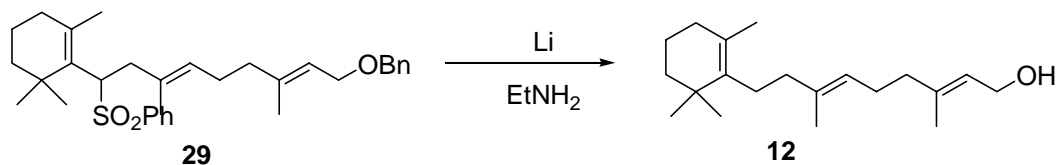
1-((3E,7E,11E)-13-(benzyloxy)-3,7,11-trimethyl-1-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)trideca-3,7,11-trienylsulfonyl)benzene 30



To a stirred solution of sulfone **27** (2 g ; 7.18 mmol) in dry THF (20 mL) under argon at -78°C was added dropwise n-butyllithium (1.6 M in hexane solution, 4.93 mL ; 7.9 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 30 min at -78°C and for 30 min at 0°C. The solution was cooled to -78°C, then tetramethylethylenediamine (1.03 mL ; 8.6 mmol) and a solution of chloride **28** freshly prepared (2.99 g ; 8.61 mmol) in dry THF (10 mL) were added over 15 min. The mixture was allowed to warm to room temperature over 30 min. After 2 h, saturated aqueous NH₄Cl solution was carefully added and the mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane-CH₂Cl₂ (8:2 – 5:5), yielded 3.59 g (85%) of **30** as colourless oil:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 0.81 (*s*, 3H, CH₃), 1.06 (*s*, 3H, CH₃(22*)), 1.18-1.65 (*m*, 18H, CH₃(3',7',11',16,17,18)), 1.91-2.06 (*m*, 8H, CH₂ allylics(4,5,8,9)), 2.50 (*dd*, *J*= 6.4 Hz and *J*= 12.18 Hz, 1H, CH₂), 2.95 (*dd*, *J*= 6.6 Hz et *J*= 12.18 Hz, 1H, CH₂), 3.88-4.04 (*t*, *J*= 6.6 Hz, 1H, CH(13)), 4.01 (*d*, *J*= 6.4 Hz, 2H, CH₂(1)), 4.45 (*s*, 2H, CH₂ (O-CH₂Ph)), 5.09-5.13 (*m*, 2H, H vinylics(6,10)), 5.35 (*t*, *J*= 6.4 Hz), 1H, H vinylic(2)), 7.23-7.32 (*m*, 5H, H aromatics), 7.49-7.59 (*m*, 3H, H aromatics), 7.86-7.90 (*m*, 2H, H aromatics); **¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):** 15.5 (C-3'(CH₃)), 16.1 (C-7'(CH₃)), 16.6 (C-11'(CH₃)), 19.1 (C-17), 23.4 (C-20), 26.5 (C-5), 26.8 (C-9), 28.4 (C-21*), 29.3 (C-22*), 31.4 (C-15), 34.6 (C-18), 36.1 (C-16), 39.0, 39.9, 41.2 (C-4,8,12), 65.7 (C-13), 66.4 (C-1), 72.1 (C-(CH₂-O-Ph)), 121.1 (C-2), 124.3 (C-6), 127.6 (C-10), 127.9-132.86 (C-Ph), 130.8-142.4 (C-Ph and C-(3,7,11,19,14); **I.R. (KBr):** 3063 (*m*), 3029 (*m*), 3927 (*m*), 3863 (*s*), 1667 (*w*), 1495 (*w*), 1446 (*s*), 1384 (*m*), 1363 (*m*), 1304 (*S*), 1200 (*w*), 1143 (*m*), 1083 (*m*), 1069 (*s*), 913 (*m*), 731 (*m*), 691 (*m*); Elemental analysis calcd (%) for C₃₁H₄₅O₂S (481.75): C 77.50, H 8.90; found: C 77.47, H 9.84.

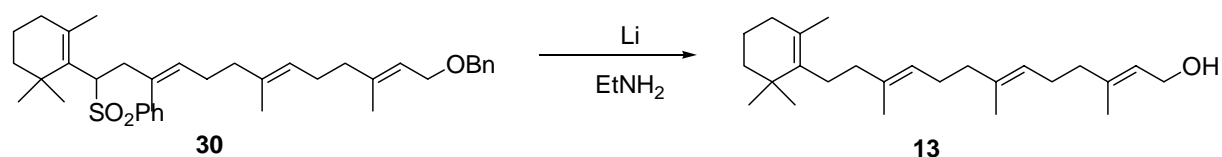
(2E,6E)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)nona-2,6-dien-1-ol 12



To a dry ethylamine (30 mL) at -78°C was added lithium wire (500 mg; 72 mmol) as small pieces. The temperature of the blue solution was brought to 0°C for 1.5 h to ensure dissolution and then decreased to -78°C where upon the coupled product **29** (2.5 g; 4.8 mmol) in dry THF (10 mL) was added slowly and the resulting solution allowed to stir an additional 15 min. Maintaining the temperature at -78°C, sodium benzoate was added until the blue colour was totally dissipated and the resulting yellow solution was then quenched with MeOH until colourless. After attaining room temperature, water was added until all the solids dissolved and the volatiles were carefully evaporated under reduced pressure. The resulting cloudy solution was extracted four times with ether. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane-Et₂O (8:2 – 7:3), yielded 1.31 g (87%) of **12** as colourless oil:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 0.98 (*s*, 6H, CH₃(21,22)), 1.37-1.57 (*m*, 4H, CH₂(12,13)), 1.59 (*s*, 3H, CH₃(7)), 1.63 (*s*, 3H, CH₃(16)), 1.68 (*s*, 3H, CH₃(3)), 1.68 (*t*, *J*= 6.1 Hz, 2H CH₂(18)), 2.01-2.10 (*m*, 8H, CH₂ allylic(4,5,8,9)), 4.16 (*d*, *J*= 6.9 Hz, 2H, CH₂(1)), 5.09-5.11 (*m*, H, **H** vinylic(6)), 5.44 (*t*, *J*= 6.9 Hz, H, **H** vinylic(2)); **¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):** 16.0, 16.3 (C-3',7'), 19.6 (C-13), 19.8 (C-16,17), 26.3 (C-4), 27.9 (C-8), 28.6 (C-18), 32.8 (C-14), 34.9 (C-15), 39.6 (C-12), 39.9 (C-9), 40.3 (C-5), 59.4 (C-1), 123.2 (C-6), 123.4 (C-2), 126.9 (C-7), 136.4 (C-10), 137.2 (C-11), 139.7 (C-3); **MS (CI):** 308 (100) [MNH₄⁺]; **I.R. (KBr):** 3328 (*m*), 2950 (*s*), 2927 (*s*), 3864 (*m*), 1666 (*w*), 1442 (*m*), 1381 (*w*), 1359 (*m*), 1004 (*w*); elemental analysis calcd (%) for C₂₀H₃₄O (290.48): C 82.69, H 11.80; found: C 82.73, H= 11.84.

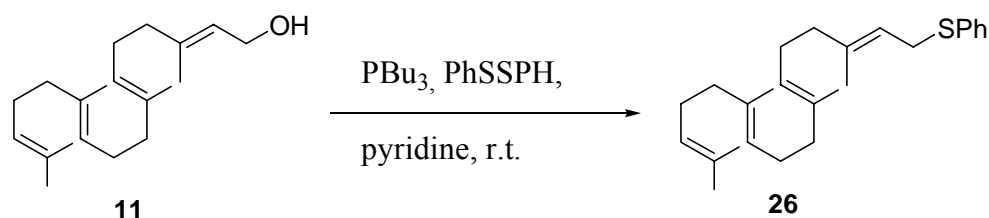
**(2E,6E,10E)-3,7,11-trimethyl-13-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)trideca-2,6,10-trien-1-ol
13**



To a dry ethylamine (40 mL) at -78°C was added lithium wire (177 mg; 25.5 mmol) as small pieces. The temperature of the blue solution was brought to 0°C for 1.5 h to ensure dissolution and then decreased to -78°C where upon the coupled product **30** (1.8 g ; 1.7 mmol) in dry THF (10 mL) was added slowly and the resulting solution allowed to stir an additional 15 min. Maintaining the temperature at -78°C, sodium benzoate was added until the blue colour was totally dissipated and the resulting yellow solution was then quenched with MeOH until colourless. After attaining room temperature, water was added until all the solids dissolved and the volatiles were carefully evaporated under reduced pressure. The resulting cloudy solution was extracted four times with ether. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane-Et₂O (8:2 – 7:3), yielded 542 mg (89%) of **13** as colourless oil:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 0.98 (s, 6H, CH₃(21,22)), 1.25-1.65 (m, 16H, CH₃(3',7',11',20) and CH₂(16,17)), 1.68 (t, J= 6.1 Hz, 2H, CH₂(18)), 2.01-2.10 (m, 12H, CH₂ allylics(4,5,8,9,12,13)), 4.16 (d, J= 6,1 Hz, 2H, CH₂(1)), 5.08-5.11 (m, 2H, H vinylic(6,10)), 5.44 (t, J= 6,1 Hz, H, H vinylic (2)); **¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):** 16.1, 16.4 (C-3',7',11'), 19.6 (C-17), 19.9 (C-20), 26.4 (C-4), 26.7 (C-8), 28.0 (C-12), 28.7 (C-21,22), 32.0 (C-16), 32.8 (C-18), 35.0 (C-15), 39.6 (C-9), 39.9 (C-5), 40.4 (C-13), 59.5 (C-1), 123.4 (C-10), 123.9 (C-6), 124.2 (C-2), 126.9 (C-19), 135.4 (C-7), 136.1 (C-14), 137.3 (C-11), 139.7 (C-3); **MS (CI):** 377 (100) [MNH₄⁺]; **IR (KBr):** 3331 (m), 2955 (s), 2926 (s), 3864 (m), 2559 (w), 2340 (w), 1667 (s), 1444 (m), 1381 (w), 1203 (s), 1154 (w), 1004 (w), 834 (w); elemental analysis calcd (%) for C₂₅H₄₂O (358.6): C 83.73, H 11.81; found: C 83.81, H 11.84.

((2E,6E,10E)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraenyl)(phenyl)sulfane **26**

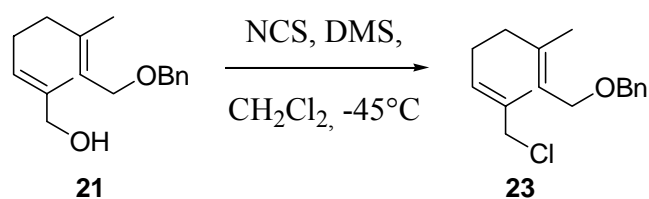


To a stirred solution of geranylgeraniol **11** (5 g, 17.2 mol) in dry pyridine (7 mL; 86 mmol) under an argon atmosphere was added diphenyl disulfide (7.42 g; 34.4 mmol), the mixture was cooled at 0°C in an ice bath, and tri-*n*-butylphosphine (7.52 mL; 34.4 mmol) was added dropwise. The ice bath was removed and the solution was stirred overnight at room temperature. The reaction was treated with NaBH₄ (1.95 g; 51.6 mmol) for 1 h, quenched with NaOH 2M and the mixture was extracted three times with EtOAc. The combined organic layer was washed with HCl 5%, water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography on silica gel with hexane, yielded 6.25 g (80%) of **26** as a colourless oil: R_f = 0.54 (hexane).

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1.58 (s, 12H, CH₃(3',7',11',15')), 1.69 (s, 3H, CH₃(16)), 1.96-2.11 (m, 12H, CH₂ allylics(4,5,8,9,12,13)), 3.54-3.56 (d, J=7.7 Hz, 2H, CH₂ allylic(1)), 5.06-5.13 (m, 3H, H vinylics(6,10,14)), 5.28-5.34 (t, J=7.7 Hz, 1H, H vinylic(2)), 7.17-7.36 (m, 5H, H aromatics); **¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):** 16.0 (C-7',11',15'(CH₃)), 16.7 (C-3'(CH₃)), 25.7 (C-16(CH₃)), 26.4, 26.6, 26.7 (C-5,9,13), 32.2 (C-1), 39.6, 39.7, 39.7 (C-

4,8,12), 119.2 (C-2), 123.8 (C-6), 124.2 (C-10), 124.4 (C-14), 125.0 (C-Ph), 128.7 (C-Ph), 129.8 (C-Ph), 131.2 (C-15), 134.9 (C-11), 135.3 (C-7), 136.8 (C-Ph), 139.9 (C-3); **MS (70 eV, EI)**: m/z (%): 382 (3) [M⁺], 273 (6) [M-SPh], 257 (4); 229(3); 191 (7); 177 (15) [M-farnesyl], 161 (10); 149 (20); 135 (35); 123 (41) [CH₂SPh], 109 (55) [SPh], 95 (35); 81 (87); 69 (100) [isoprenyl]; elemental analysis calcd (%) for C₂₆H₃₈O (366.58): C 81.61, H 10.01; found C 81.53, H 10.11.

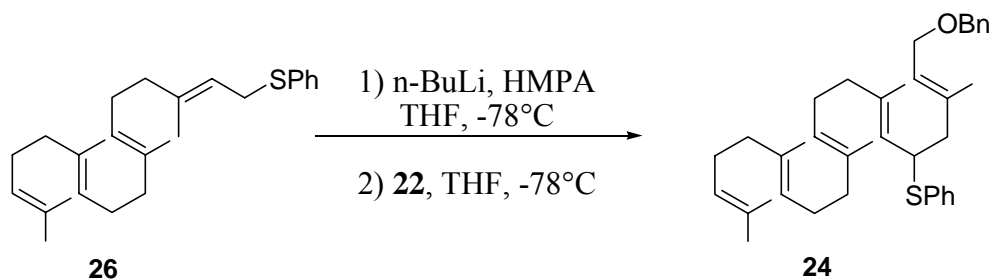
1-(((2E,6E)-8-chloro-3,7-dimethylocta-2,6-dienyloxy)methyl)benzene **23**



To a solution of N-chloro-succimide (5.27 g ; 34.3 mmol) in dry CH₂Cl₂ (100 mL) at -45°C, was added dropwise dimethyl sulfide (2.75 mL ; 37.5 mmol). The temperature was allowed to warm up to 0°C and the resulting solution was stirred for another hour. Then the mixture was cooled to -40°C and a solution of **21** (8.1 g; 31.2 mmol) in 20 mL of CH₂Cl₂ was added. After 1 h at 0°C and 15 min room temperature, the reaction was quenched with a cold saturated solution of NaCl and the mixture was extracted three times with hexane. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness to yielded 8.7 g (100%) of **23** as colourless oil:

R_f=0.30 (CH₂Cl₂/Et₂O 95:5); **¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃)**: 1.65 (*s*, 3H, CH₃(3')), 1.74 (*s*, 3H, CH₃(7')), 2.12-2.17 (*m*, 4H, CH₂ allylic(4,5)), 4.01 (*s*, 2H, CH₂ allylic(8)), 4.05 (*d*, J=6.8 Hz, 2H, CH₂(1)), 4.51 (*s*, 2H, CH₂(1)), 5.37-5.40 (*m*, 1H, H vinylic(6)), 5.33-5.38 (*t*, J=6.8 Hz, 1H, H vinylic(2)), 7.25-7.37 (*m*, 5H, H aromatics); **¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃)** : 14.1 (C-7'(CH₃)), 16.5 (C-3'(CH₃)), 26.3 (C-5), 38.8 (C-4), 52.4 (C-8), 66.6 (C-1), 72.1 (C-(O-CH₂-Ph)), 121.4 (C-2), 127.6 (C-Ph), 127.8 (C-Ph), 128.3 (C-Ph), 130.2 (C-6), 132.0 (C-7), 138.6 (C-Ph), 139.6 (C-3); **IR (KBr)**: ν_{C-Cl} = 612 (*m*), ν_{C-O} = 1017 (*s*, ether), ν_{CH₂CH₃} = 1367 (*m*), 1395 (*m*) and 1437 (*m*), ν_{C=C} = 1672 (*w*, trisubstituted olefin), ν_{CH} = 2851 (*m*) and 2923 (*m*); **MS (70 eV, EI)** : 278 (0.1) [M⁺], 242 (1) [M-Cl], 239 (93), 225 (2), 205 (20), 203 (100), 171 (34), 135 (42), 107 (44).

((2E,6E,10E,14E)-1-(benzyloxy)-3,7,11,15,19-pentamethylcosa-2,6,10,14,18-pentaen-5-yl)(phenyl)sulfane **24**

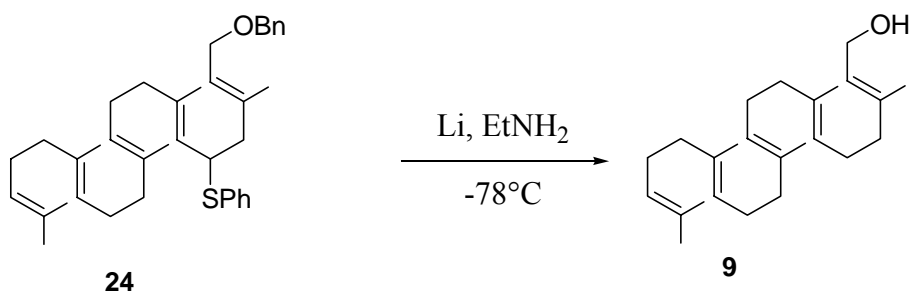


To a stirred solution of sulfide **26** (1.5 g ; 3,9 mmol) in dry THF (16 mL) under argon at -78°C was added dropwise n-butyllithium (1.6 M in hexane solution, 2.7 mL ;4.29 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 30 min at -78°C and for 30 min at 0°C. The solution was cooled to -78°C, then hexamethylphosphoramide (1.0 mL) and a solution of chloride **22** freshly prepared (986 mg; 4.68 mmol) in dry THF (15 mL) were added over 15 min. The mixture was allowed to warm to room temperature over 30 min. After 2h, saturated aqueous NH₄Cl solution was carefully added and the mixture was extracted three times with Et₂O. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane-CH₂Cl₂ (8:2 – 5:5)), yielded 1.06 g (74%) of **24** as colourless oil:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): 1.55 (s, 9H, CH₃(7',11',15')), 1.61 (s, 3H, CH₃(19')), 1.65 (s, 3H, CH₃(24)), 1.66 (s, 3H, CH₃(3)), 1.91-2.06 (m, 12H, CH₂ allylics(8,9,12,13,16,17)), 2.18-2.48 (m, 2H, CH₂ allylics(4)), 3.97 (d, J= 6,6 Hz, 2H, CH₂ allylics(1)), 4.03-4.18 (m, 1H, CH-SPh), 4.45 (s, 2H, CH₂ (O-CH₂Ph), 4.98-5.11 (m, 4H, CH vinylics(6,10,14,18)), 5.70 (t, J= 6,6 Hz, 1H, CH vinylic(2)), 7.20-7.42 (m, 10H, H aromatics); **¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) :** 16.1 (C-11'(CH₃)), 16.3 (C-15'(CH₃)), 16.6 (C-7'(CH₃)), 16.6 (C-3'(CH₃)), 17.7 (C-19'(CH₃)), 25.7 (C-20(CH₃)), 26.6; 26.8 (C-9,13,17), 39.8 (C-(4,12,16)), 45.5 (C-5), 45.8 (C-4), 66.3 (C-1), 71.8 (C-(CH₂-O-Ph), 123.9 (C-2), 124.3 (C-10), 124.5 (C-14), 126.6 (C-6), 127.1 (C-Ph), 127.3 (C-Ph), 127.8 (C- Ph), 128.3 (C- Ph), 128.5 (C- Ph), 131.2 (C-Ph), 134.7, 134.8, 134.9, 135.2 (C-19,15,11,7), 135.1 (C-15), 137.7 (C-11), 138.5 (C-Ph) 138.7 (C-3); **I.R. (KBr) :** 2965 (m), 2918 (m), 2853 (m), 1664 (s), 1583 (s), 1495 (m), 1477 (s), 1382 (s), 1090 (m), 1067 (m), 1090 (m), 1026(m), 736 (m), 694 (s); **MS (EI, 70 eV):** m/z (%):

556 (1) [M^+], 475 (32), 407 (13), 381 (23), 339 (15), 271 (09), 173 (65), 149 (21), 135 (29), 123 (54) [CH_2SPh], 109 [SPh], 95 (21), 81 (54), 69 (100) [isoprenyl]; elemental analysis calcd (%) for $C_{38}H_{52}OS$ (556.88): C 81.96, H 9.41; found: C 82.04, H 9.48.

(2E,6E,10E,14E)-3,7,11,15,19-pentamethylcosa-2,6,10,14,18-pentaen-1-ol **9**

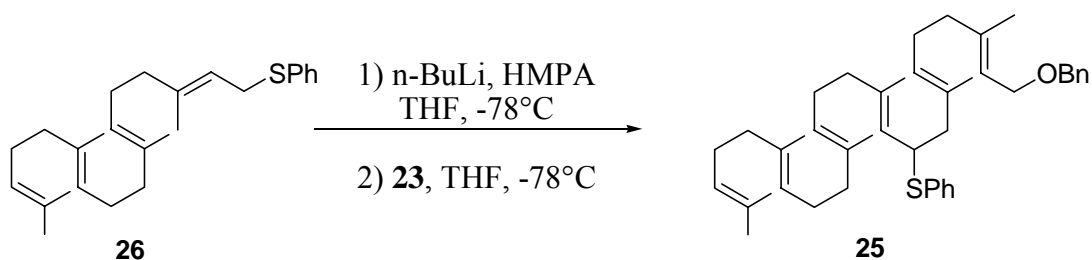


To a dry ethylamine (30 mL) at -78°C was added lithium wire (187 mg; 26.9 mmol) as small pieces. The temperature of the blue solution was brought to 0°C for 1.5 h to ensure dissolution and then decreased to -78°C where upon the coupled product **24** (1g; 1.79 mmol) in dry THF (5 mL) was added slowly and the resulting solution allowed to stir an additional 15 min. Maintaining the temperature at -78°C , sodium benzoate was added until the blue colour was totally dissipated and the resulting yellow solution was then quenched with MeOH until colourless. After attaining room temperature, water was added until all the solids dissolved and the volatiles were carefully evaporated under reduced pressure. The resulting cloudy solution was extracted four times with ether. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- Et_2O (8:2 – 7:3), yielded 552 mg (86%) of **9** as colourless oil:

1H -NMR (200 MHz, $CDCl_3$) : 1.60 (s, 12H, $CH_3(7',11',15',19')$), 1.68 (s, 6H, $CH_3(20,3')$), 1.96-2.01 (m, 16H, **H** allyliques(4,5,8,9,12,13,16,17)), 4.11 (d, $J=6,9$ Hz, 2H, $CH_2(1)$), 5.03-5.09 (m, 4H, **H** vinyliques(6,10,14,18)), 5.38-5.42 (t, $J=6,9$ Hz, 1H, **H** vinylique(2)); **^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$)** : 16.0 (C-(7',11',15')), 16.3 (C-19'), 17.7 (C-3'), 25.7 (C-20), 26.4, 26.7, 26.8 (C-(5,9,13,17)), 39.6, 39.8 (C-(4,8,12,16)), 59.4 (C1), 123.4, 123.8, 124.3, 124.5 (C-(2,6,10,14,18)), 131.3 (C-19), 135.0, 135.4 (C-(7,11,15)), 139.8 (C-3); **MS (70 eV, EI)** : m/z (%): 494 (3) [M^+], 476 (6) [$M-H_2O$], 407 (4), 339 (5), 271 (9), 203 (18), 189 (18), 161 (25), 135 (40), 69 (100) [isoprenyl]; **IR (KBr)**: δ_{CH} = 695 (s) and 736 (s), δ_{CH} = 833 (m, trisubstituted olefin), ν_{C-O} = 1024 (s, primary alcohol), 1067 (m), 1106 (s), 1228, $\delta_{CH_2CH_3}$ =

1382 (m) and 1438 (m), 1452 (m), 1584 (m), $\nu_{C=C}$ = 1661 (m, trisubstituted olefin), ν_{CH} = 2853 (m), 2925 (m), 2967 (m) and 3029 (m), 3061 (w, H-C=C), ν_{OH} = 3440 (ml); elemental analysis calcd (%) for $C_{25}H_{42}O$ (358.6): C 83.73, H 11.81; found C 84.38, H 11.87.

((2E,6E,10E,14E,18E)-1-(benzyloxy)-3,7,11,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaen-9-yl)(phenyl)sulfane **25**

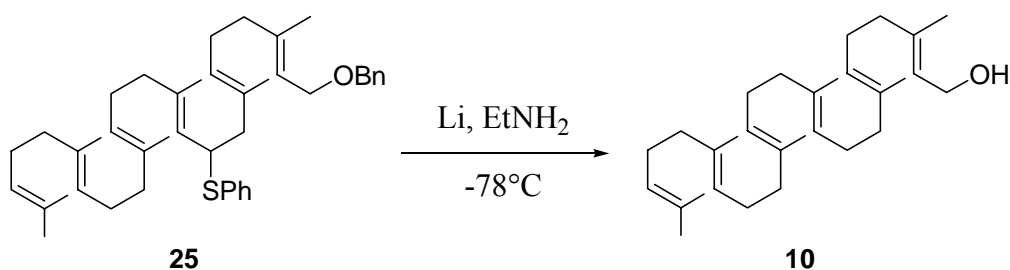


To a stirred solution of sulfide **26** (2 g; 5.2 mmol) in dry THF (20 mL) under argon at -78°C was added dropwise n-butyllithium (1.6 M in hexane solution, 3.76 mL ; 5.72 mmol). The resulting yellow solution was stirred for 30 min at -78°C and for 30 min at 0°C . The solution was cooled to -78°C , then hexamethylphosphoramide (1.0 mL) and a solution of chloride **23** freshly prepared (1.74 g; 6.24 mmol) in dry THF (30 mL) were added over 15 min. The mixture was allowed to warm to room temperature over 30 min. After 2h, saturated aqueous NH_4Cl solution was carefully added and the mixture was extracted three times with Et_2O . The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- CH_2Cl_2 (8:2 – 5:5), yielded 2.2 g (68%) of **25** as colourless oil:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 1.51 (s, 12H, $\text{CH}_3(7',11',15',19')$), 1.62 (s, 3H, $\text{CH}_3(23')$), 1.65 (s, 3H, $\text{CH}_3(24)$), 1.70 (s, 3H, $\text{CH}_3(3)$), 1.95-2.41 (m, 18H, CH_2 allylics(4,5,12,13,16,17,20,21)), 4.03 (d, $J=6,5$ Hz, 2H, CH_2 allylics(1)), 4.05 (m, 1H, CH (9)), 4.51 (s, 2H, CH_2 (O- CH_2Ph)), 5.01-5.19 (m, 5H, CH vinylics(6,10,14,18,22)), 5.41 (t, $J=6,5$ Hz, 1H, CH vinylic(2)), 7.24-7.43 (m, 10H, H aromatics); **$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** 16.0 (C-15'(CH₃)), 16.1 (C-19'(CH₃)), 16.2 (C-11',7'(CH₃)), 16.5 (C-3'(CH₃)), 17.7 (C-23'(CH₃)), 25.7 (C-24(CH₃)), 26.4 (C-5), 26.6 (C-13), 26.7 (C-(21,17)), 39.4 (C-(16,4)), 39.6 (C-12), 39.7 (C-20), 45.5 (C-9), 45.9 (C-8), 66.6 (C-1), 72.0 (C-($\text{CH}_2\text{-O-Ph}$)), 120.8 (C-2), 124.0 (C-14), 124.2 (C-18), 124.4 (C-10), 125.8 (C-22), 126.8 (C-6), 127.1 (C-Ph), 127.5 (C-Ph),

127.8 (C- Ph), 128.3 (C- Ph), 128.4 (C- Ph), 131.3 (C-Ph), 132.3 (C-23), 133.7 (C-7), 134.9 (C-19), 135.0 (C-Ph), 135.1 (C-15), 137.7 (C-11), 138.5 (C-Ph), 140.3 (C-3); **I.R. (KBr)** : 2971 (m), 2921 (m), 2853 (m), 1664 (s), 1583 (s), 1477 (m), 1438 (s), 1381 (s), 1118 (m), 1089 (m), 1068 (m), 1026 (m), 737 (m), 694 (s); elemental analysis calcd (%) for C₄₃H₆₀OS (625.0): C 82.63, H 9.68; found: C 82.68, H 9.61.

(2E,6E,10E,14E,18E)-3,7,11,15,19,23-hexamethyltetracos-2,6,10,14,18,22-hexaen-1-ol
10



To a dry ethylamine (30 mL) at -78°C was added lithium wire (250 mg ; 36 mmol) as small pieces. The temperature of the blue solution was brought to 0°C for 1.5 h to ensure dissolution and then decreased to -78°C where upon the coupled product **25** (1.5 g ; 2.4 mmol) in dry THF (10 mL) was added slowly and the resulting solution allowed to stir an additional 15 min. Maintaining the temperature at -78°C , sodium benzoate was added until the blue colour was totally dissipated and the resulting yellow solution was then quenched with MeOH until colourless. After attaining room temperature, water was added until all the solids dissolved and the volatiles were carefully evaporated under reduced pressure. The resulting cloudy solution was extracted four times with ether. The combined organic layer was washed with water, brine, dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated to dryness. Purification of the resulting yellow oily residue by chromatography with hexane- Et_2O (8:2 – 7:3), yielded 931 mg (91%) of **10** as colourless oil:

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) : 1.60 (s, 15H, CH₃(7',11',15',19',23')), 1.68 (s, 6H, CH₃(3',24)), 2.01-2.08 (m, 20H, H allylics(4,5,8,9,12,13,16,17,20,21)), 4.13 (d, J= 6,8 Hz, 2H, CH₂(1)), 5.11-5.17 (m, 5H, H vinylics(6,10,14,18,22)), 5.38-5.42 (t, J =6,8 Hz, 1H, H vinylic(2)); **¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃)** : 16.1 (C-7',11',15',19'), 16.3 (C-19'), 17.7 (C-3'), 25.7 (C-24), 26.4, 26.7, 26.8, 29.8 (C-5,9,13,17,21), 39.6, 39.8 (C-4,8,12,16,20), 59.5 (C-1),

123.4, 123.8, 124.2, 124.3, 124.5 (C-2,6,10,14,18,22), 131.3 (C-23), 135.0 (C-7,11,15,19), 135.1 (C-3); **IR (KBr)**: δ_{CH} = 699 (s) and 759 (s), δ_{CH} = 833 (m, trisubstituted olefin), $\nu_{\text{C-O}}$ = 1006 (s, primary alcohol), 1026 (m), 1092 (s), 1228 (m), $\delta_{\text{CH}_2\text{CH}_3}$ = 1377 (m) and 1458 (m), $\nu_{\text{C=C}}$ = 1668 (m, trisubstituted olefin), ν_{CH} = 2858 (m), 2960 (m) and 3061 (m), 3067 (w, H-C=C), ν_{OH} = 3522 (ml); elemental analysis calcd (%) for $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ (426.72): C 84.44, H 11.81; found: C 83.77, H= 11.83.

Supporting information concerning microscopic observation:

Preparation of samples:

A typical procedure was as follows: a mixture of lipid (3 mg) with or without 10 mol% of terpenic alcohol was dissolved in 3 mL of 1 : 1 (v / v) mixture of chloroform and methanol. An aliquot (5 μ l) of the solution was dropped on a coverglass (0,17 mm thick). After 10 min of drying at room temperature, the lamellar solid remaining on the slide was brought into focus and 50 μ L of a buffer at 25 °C was added. Aqueous buffers were prepared with MilliQ water (a citric acid - Na₂HPO₄ buffer: pH 2.6 to 7.6, a Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ buffer: pH = 7.8 to 8.0, a glycine – NaOH buffer: pH 8.6 to 10.6, a Na₂HPO₄ – NaOH buffer: pH 11.0 to 11.9 or a NaCl - NaOH : pH 12.0 to 13.0). Samples were unsealed. Vesicles were observed to grow from the edges of the solid.

Differential interference contrast microscopy:

The sample was observed by differential interference contrast microscopy: Axiovert 135, 63 x /1.40 Plan Achromat Oil DIC objective, x 2.5 insertion lens, light sources: Hg and halogen lamps, Carl Zeiss. Video system: CCD camera (C 2400-75H) and image processor (Argus 20), Hamamatsu Photonics.

Fluorescence microscopy:

To a mixture of lipid with or without 10 mol% of terpenic alcohol (total: 3mg) dissolved in 300 μ L of methanol/chloroform (1:1, v/v), was added 5 mol% of Nile Red ($\lambda_{\text{ex}} = 559$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 640$ nm). The sample was handled as described above, and was observed by differential interference contrast optical microscopy using the fluorescence mode.

Supporting information concerning the water permeability of vesicles measured by stopped-flow/light scattering method

Preparation of unilamellar vesicles of homogeneous size:

A mixture of lipid with or without 10 mol % of terpenic alcohol (total weight is 30 mg) was dissolved in 3 mL of 1 : 1 (v / v) mixture of chloroform and methanol in a single round-bottom flask. The solvents were removed by rotary evaporator to make a homogeneous dry film of lipid. Vesicles of the phospholipids were prepared by the freeze-thaw method using 10 mL of adjusted buffer (A): citric acid - Na₂HPO₄ buffer, NaCl 150 mM, pH = 5.81. For the stopped-flow experiments, we used the buffer (B): citric acid - Na₂HPO₄ buffer, NaCl 0mM, pH = 5.8. The vesicle suspension was then extruded ten times through two polycarbonate membranes (pore size 200 nm or 100 nm, Nucleopore, Corning Costar) under 5 - 15 atm N₂ pressure. Vesicle size distribution and its dispersity were evaluated by the photon correlation spectroscopy (PSC) on a Coulter-Counter N4MD instrument, using laser light scattering at 33 °C with a 90 ° scattering angle and the following parameters : viscosity : 0.006 poise, refraction index : 1.33, for supposed infinitely diluted vesicular solutions (~ 10⁻⁴ M) in low concentrated aqueous buffers (components concentrations ~ 10⁻⁴ M). The average diameter measured by PSC is 180 nm.

Stopped-flow experiments:

Variation of scattered light intensity (I) vs. time (t) upon osmotic shock thermostated at T = (15.0 ± 0.1) °C (MT/2 Lauda thermostat) was followed at the fixed wavelength of 400 nm (entrance and exit slits width = 2 mm) on a Biosequential DX-17MV stopped-flow ASVD spectrofluorimeter (2 mm path length cuvette, Applied Photophysics). Analysis of data: Bio-Kine Analysis V 3.14 software (Bio-Logic). The vesicle dispersions were subjected to the osmotic shock 60 min after their preparation. The stability of the samples was checked by comparison of the average size of the vesicles (PSC) just after their preparation and their average size 5 h later. A sample was deemed stable if it remained monodispersed and the average size of the vesicles was constant. An aliquot of vesicle dispersions prepared with the buffer A was rapidly mixed with the hypomolar buffer B in the stopped-flow instrument. To achieve thermal equilibrium, they were left at (15 ± 0.1) °C in the drive syringes for at least 10 min before the beginning of the kinetic swelling experiments. Numerical fitting of the

kinetic data was achieved by means of the exponential relationship (1), in agreement with the theoretical model.

$$I=I_{\infty}+Ae^{-kt} \quad (1)$$

Each rate constant value k was calculated by averaging rate constant values k obtained in turn by computerized fitting of average curves (I) vs. (t) derived from the superimposition of several experimental curves (typically 10 - 15 for each average curve). Each experimental curve (1000 points) was obtained by monitoring the change in scattered light intensity (I) following the rapid mixing ($t \leq 3$ ms) of equal volumes (100 μ l) of sample and hypertonic buffer (Figure 1). Typically 10 to 15 injections provided independent experimental kinetic curves which were superimposed, averaged, and numerically treated by the Biokine software, which uses a factor analysis method and a Simplex algorithm. The results of 10 to 15 runs of experiments were then averaged: the corresponding k values and standard deviation are given in tables. The values of the first-order rate constants k determined for the theoretical exponential model measure the H₂O permeability of the vesicles.

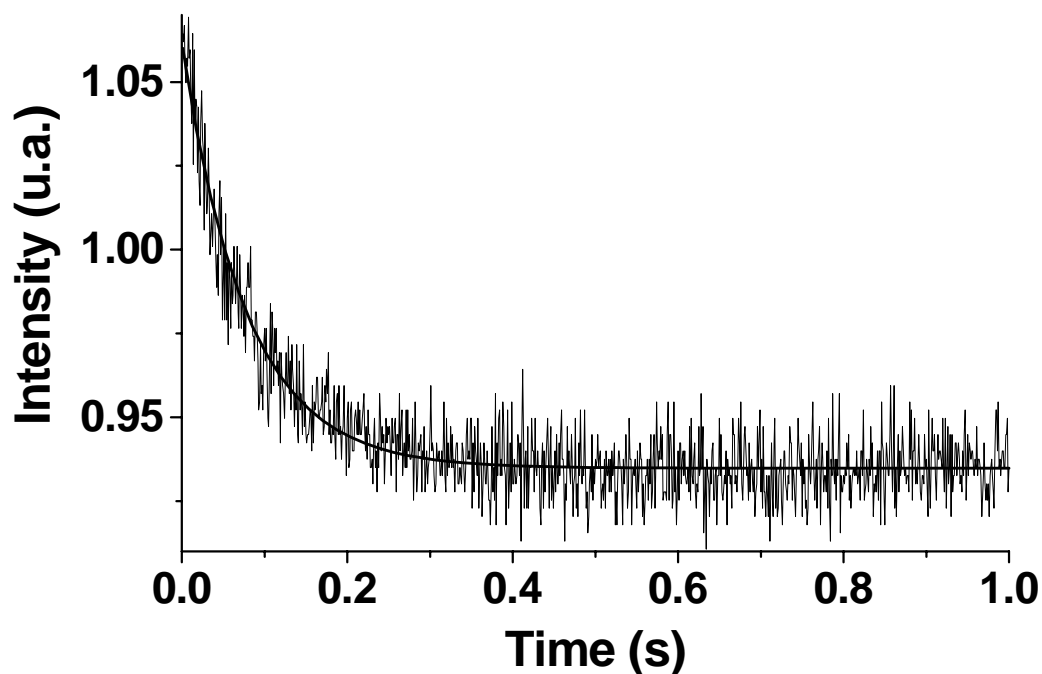


Figure 1. Variation of scattered light intensity as a function of time. Unilamellar vesicle obtained from a mixture of geranylgeranyl phosphate **3** and 10 mol % of geranyl farnesol (C₂₅) **9**. pH = 5.81; T = 15.0 ± 0.1°C; size = 185 ± 23 nm; λ_{exc} = 400 nm; cut-off filter 418 nm.

Supporting information concerning the pKa titration of farnesyl phosphate 2

The protonation constants of farnesyl phosphate **2** were investigated using potentiometric titrations.

Preparation of solutions:

All the solutions were prepared in distilled water. Water was further purified by passing through a mixed bed of ion-exchanger (Bioblock Scientific R3-83002, M3-83006) and activated carbon (Bioblock Scientific ORC-83005) and de-oxygenated by CO₂- and O₂-free argon (Sigma Oxiclear cartridge). The stock solution was prepared using an AG 245 Mettler Toledo analytical balance (precision 0.01 mg).

HCl (~10⁻¹ M) solution was titrated by NaOH (10⁻¹ M, Carlo Erba, Titrisol Normex) with phenolphthalein (Prolabo, purum) as an indicator. Carbonate-free NaOH solution (~10⁻¹ M) was prepared by dissolving solid product (SDS, p.a.) and standardized by titration with potassium hydrogen phthalate (Fluka, puriss. p.a.) to the phenolphthalein end point.

The solution of disodium salt of farnesyl phosphate was prepared by dissolving 60 mg in 10 ml of HCl (~7x10⁻³M). The suspension of vesicles has been sonicated in the water bath (sonorex RK 100H, Bandelin, German) for 10 minutes. Then, the mixture was extruded through polycarbonate filters (Nucleopore, 1000 μm, 800 μm, 400 μm and 200 μm) in the extruder (Lipex, Biomembranes Inc., Canada).

Potentiometric Titrations:

The acidic solution of farnesyl phosphate was titrated by carbonate-free NaOH. Potentiometric titrations were performed using an automatic titrator system DMS 716 Titrino (Metrohm) with a combined glass electrodes (Metrohm 6.0234.100, Long Life) filled with 0.1 M NaCl (Fluka, p.a.) in water. The ionic strength was fixed at $I = 0.1$ M with NaCl (Merck, suprapur). The combined glass electrode was calibrated as a hydrogen concentration probe by titrating known amounts of CO₂-free NaOH with HCl solutions.ⁱ The cell was thermostated at 25.0 ± 0.2 °C by the flow of a Haake FJ thermostat. A stream of argon, pre-saturated with water vapour, was passed over the surface of the solution. The potentiometric data (about 140 points for each titration) were refined with the Hyperquad 2000 programⁱⁱ which uses non-linear least-squares methods.ⁱⁱⁱ Potentiometric data points were weighted by a formula allowing greater pH errors in the region of an end-point than elsewhere. The weighting factor W_i is defined as the reciprocal of the estimated variance of measurements: $W_i = 1/\sigma_i^2 = 1/[\sigma_E^2$

+ $(\delta E/\delta V)^2 \sigma_V^2$] where σ_E^2 and σ_V^2 are the estimated variances of the potential and volume readings, respectively. The constants were refined by minimising the error-square sum, U , of the potentials: $U = \sum_i^N W_i (E_{\text{obs},i} - E_{\text{cal},i})^2$. The quality of the fit was judged by the values of the sample standard deviation, S , and the goodness of fit, χ^2 , (Pearson's test). The scatter of residuals versus pH was reasonably random, without any significant systematic trends, thus indicating a good fit of the experimental data. The successive protonation constants were calculated from the cumulative constants determined with the program. The uncertainties in the log K values were estimated as 3σ , where σ is the standard deviation.

An experimental potentiometric titration for the farnesyl phosphate obtained between pH = 2.29 and 8.76 is presented in Figure 1.

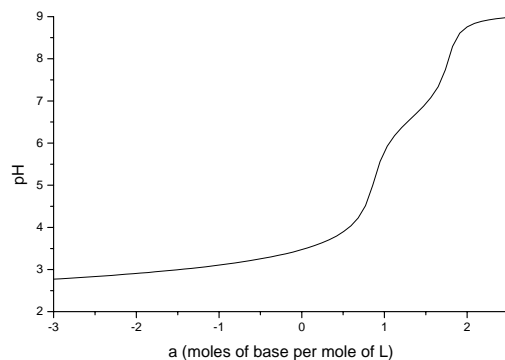


Figure 1. Titration of vesicles of farnesyl phosphate. Negative values of a correspond to the titration of HCl.

The processing of the potentiometric data leads to the determination of two protonation constants. The corresponding log K values are defined by equations [1] and [2] respectively and are presented in Table 1:

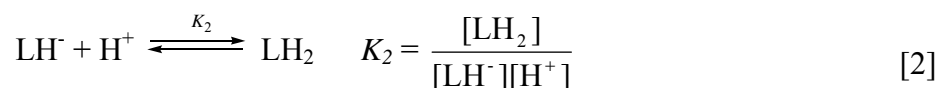
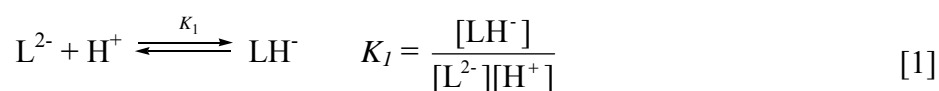


Table 1. Successive protonation constants of farnesyl phosphate.

	$\log K \pm 3\sigma$
$\log K_1$	6.8 ± 0.2
$\log K_2$	2.2 ± 0.3

Solvent: water, $I = 0.1\text{M NaCl}$, $T = (25 \pm 0.2)^\circ\text{C}$. The uncertainties were estimates as 3σ .

The distribution curves of the protonation constants of ligand ($6 \times 10^{-4}\text{M}$) as a function of pH were calculated using the Haltfall program^{iv} and are presented in Figure 2.

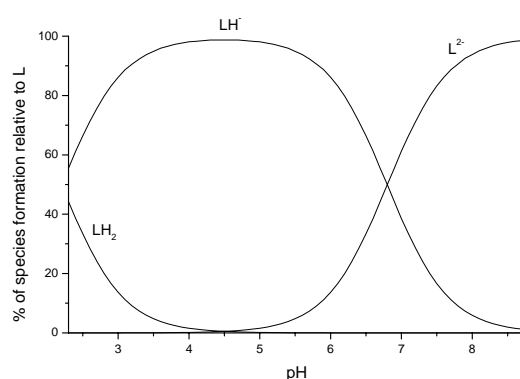


Figure 2. Distribution diagram of the protonated species of farnesyl phosphate as a function of pH. $[P]_{\text{tot}} = 6 \times 10^{-4}\text{M}$, $I = 0.1\text{ M NaCl}$, $T = (25.0 \pm 0.2)^\circ\text{C}$.

References:

- i. P. Gans, B. O'Sullivan, *Talanta* **2000**, *51*, 33-37.
- ii. a) P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *HYPERQUAD2000*: Leeds, U.K., and Florence, Italy.
b) P. Gans, A. Sabatini, A. Vacca, *Talanta* **1996**, *43*, 1739-1753.
- iii. P. Gans, *Data Fitting in the Chemical Sciences*, John Wiley & Sons, Chichester **1992**.
- iv. N. Ingri, W. Kakolowicz, L. G. Sillen, B. Warnqvist, *Talanta* **1967**, *14*, 1261-1286.

Remerciements

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur le Professeur Guy Ourisson pour m'avoir accueilli dans son groupe et pour m'avoir fait découvrir le plaisir et la passion pour la recherche. Toutes ces années passées sous sa direction ont une valeur inestimable.

Je remercie chaleureusement le Professeur Yoichi Nakatani. Il a encadré et guidé mon travail sur la biophysique. Sans ses connaissances profondes dans cette matière, ce travail n'aurait pas pu être réalisé. Je le remercie également pour ses encouragements et la patience qu'il m'a accordée pendant ces années de thèse.

Je remercie sincèrement le Docteur Laurent Désaubry pour avoir encadré mon travail sur la chimie organique. Il m'a appris la recherche au quotidien et m'a fait aimer ce travail par son enseignement et ses conseils.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame Anne-Marie Albrecht-Gary et Messieurs Alain Milon et Louis Fensterbank d'avoir accepté de prendre le temps de juger cette thèse.

Ma pensée se tourne vers Marie-Claire Dillensenger qui nous a quitté prématurément. Cependant, elle nous laisse de bons souvenirs à chacun et nous garderons toujours une tendre pensée pour celle qui était avant tout une amie.

J'aimerais exprimer mes remerciements et mon amitié au Docteur Stéphane Streiff et au Docteur Mari Gotoh. Je leurs suis redevables d'une grande part de ce que j'ai appris. Je remercie également le Docteur Mourad Elhabiri, le Docteur Elzbieta Gumienna-Kontecka et le Docteur Anne-Marie Albrecht-Gary pour avoir collaboré à l'obtention des résultats de biophysiques, le personnel des services communs de la faculté de chimie, le Docteur Guy Duportail pour l'utilisation de son matériel et le Docteur Michiko Atsumi pour ses modélisations moléculaires.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont rendu ces années de thèse agréables au Centre de Neurochimie, bien qu'il soit difficile de tous les nommer: Dr. Djalil Coowar, Dr. Mazen Hanbali, Dr. Thierry Muller, Dr. Bouissac Julien, Dr. Bouissac-Paschaki Marie, Dr. Patrick Neuberg, Dr. Kaoru Kawashima, Dr. Soheila Sedadghat, Dr. Luu Bang, Dr. Elisabeth Trifilieff, Claudine de Azevedo, Nadège Pfender, Frédérique Hauss, Catherine Neiss, Ryoko Izawa, Jiawei Liu, Véronique Luu, Jakob, Abdel-Karim Sani Souna Sido, Ludivine Fetzter, Ronan Dirr, Youssef El Arbaoui, Brahim Ait-Oumghar, Yacine Barouri, Loic Boulenger, Linda Guinchard, Hakima Smail, Sylvain Dago, Fahuzi Adam Baba Body, Yamina Acem, Sénol, Richard, Bruno, Naima, Sagia Moujjou, Alain, Alexandre, Basile, Jean-Daniel Sauer, Nathalie Borin, Mélanie...