



**HAL**  
open science

# Chimie prébiotique : synthèse et réactivité d'aminoacides sulfurés à l'origine de la vie

Sparta Youssef Saliba

► **To cite this version:**

Sparta Youssef Saliba. Chimie prébiotique : synthèse et réactivité d'aminoacides sulfurés à l'origine de la vie. Chimie organique. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2021. Français. NNT : 2021GRALV055 . tel-03611885

**HAL Id: tel-03611885**

**<https://theses.hal.science/tel-03611885v1>**

Submitted on 17 Mar 2022

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

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

## THÈSE

Pour obtenir le grade de

### DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : Chimie organique

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

**Sparta YOUSSEF SALIBA**

Thèse dirigée par Yannick VALLEE

préparée au sein du **Laboratoire Département de Chimie Moléculaire**

dans l'**École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant**

**Chimie prébiotique : synthèse et réactivité d'aminoacides sulfurés à l'origine de la vie**

**Prebiotic chemistry: synthesis and reactivity of sulfur amino acids at the origin of life**

Thèse soutenue publiquement le **2 décembre 2021**,  
devant le jury composé de :

**Monsieur Yannick VALLEE**

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes,  
Directeur de thèse

**Monsieur Jean-François LAMBERT**

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Sorbonne Université, Rapporteur

**Madame Michele FIORE**

MAITRE DE CONFERENCE HDR, Université Claude Bernard - Lyon1,  
Rapporteur

**Madame Anne MILET**

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes,  
Présidente





### *À ma famille...*

Mes mots ne seraient jamais à la hauteur de l'amour que vous m'avez témoigné tout au long de mes études. Je tiens à vous exprimer ma gratitude et mon appréciation. Cette dédicace sera ma meilleure façon de vous honorer et de vous montrer à quel point vous êtes formidables.



## *Remerciements*

Je remercie et resterai profondément reconnaissante envers mon encadrant, Pr. Yannick VALLEE. Je tiens à le remercier de m'avoir attentivement encadré, pour ses précieux conseils, sa disponibilité et sa bienveillance au bon déroulement de mon projet de recherche. Pour votre relecture finale méticuleuse de chacun des chapitres, je vous remercie.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Professeur Jean-François LAMBERT ainsi qu'au Professeur Michele FIORE pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail et pour avoir pris le temps de juger cette thèse. Je remercie également le Professeur Anne MILET pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je remercie également les membres du comité de suivi de thèse, Philippe DELAIR, Nathalie BERTHET et David GATINEAU pour leurs suggestions et leurs conseils toujours avisées tout le long de la thèse.

Je tiens tout particulièrement à saluer les personnels du plateau de spectrométrie de masse, Laure FORT, Amélie DURAND et Rodolphe GUERET que j'ai régulièrement côtoyés pendant ces trois ans et qui ont consacré du temps à m'expliquer les analyses de masse et qui étaient disponibles jusqu'au bout, pour les derniers détails.

Merci également aux personnels de la RMN, Nicolas et Romain pour leur aide. Merci à Christian pour les analyses cristallographiques. Pierre et Sébastien pour leurs aides en informatique. A Fanny Vazart et Cecilia Ceccarelli, merci pour vos travaux sur les calculs théoriques.

J'adresse aussi mes remerciements à tous les membres de l'équipe SeRCO : Pierre-Yves, Sandrine, Martine, Alice, Véronique, Valentine, Mathieu, Jean-François, Sébastien, Bernard, Andrew, Frédéric, Benjamin (j'attendrais et je serais toujours HAPPY de voir les photos de toutes les randos et les desserts que tu fais), Pascale, Pierre-Marc, Kevin, Florian, Nathalie, Caroline ainsi qu'à tous les thésards du SeRCO, Thibault, Isabelle, Tywen, Rayhane, Hugo et Chukuka. Bonne continuation à vous !

Un grand merci surtout à mes amis : Pépé, Loloche, Thithi, papa Curtil (très contente d'avoir vu bébé Curtil !!!) et Isabelle. Nos fous rires et les bons moments passés ensemble

vont me manquer. Je n'oublierais jamais ces instants magiques Ils seront gravés à jamais dans mon cœur.

Merci en particulier à Anaïs ! Je suis très ravie de t'avoir rencontré avec Salia, et d'avoir passé avec toi ta dernière année de thèse. Merci pour tous ces beaux souvenirs ! Je suis sûre qu'on va toujours se retrouver lorsque tu passes chez tes parents !

A tous les thésards du DCM... Bonne chance dans votre séjour de doctorat. Le monde de la chimie est assez petit. Je suis sûre qu'on va se recroiser un jour ou l'autre.

Merci à Brunet. Je t'ai rencontré au bon moment comme si le hasard fait les choses. Merci pour ton soutien quotidien et ton enthousiasme contagieux à l'égard de mes travaux.

Merci à tous mes amis Grenoblois, nous avons passé de beaux moments à découvrir la beauté de la région.

Merci à tous mes amis Libanais, toujours présents pour la moindre des choses.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à ma famille : Mes parents et mes tantes qui m'ont accompagné, aidé, soutenu et encouragé tout au long de la réalisation de ce doctorat. Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans votre aide !

## Table des matières

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
A. La vie : une définition ? .....	2
B. La chimie prébiotique .....	3
C. A la recherche des briques du vivant .....	4
D. Conditions plausibles à l'origine de la vie sur Terre .....	9
E. Composés chimiques à l'origine de la vie sur Terre .....	11
Composés organiques au tout début de l'histoire de la Terre .....	11
Composés organiques dans la croûte terrestre .....	12
Composés organiques extraterrestres .....	13
F. Vers la première cellule .....	18
De la soupe primitive à LUCA.....	18
G. Formation de molécules plus complexes .....	20
1. Les acides nucléiques .....	21
a. formation des acides nucléiques .....	21
b. Formation du ribose .....	26
c. Phosphorylation des nucléosides .....	28
d. Polymérisation des oligonucléotides .....	31
2. Les ribozymes à l'origine du monde catalytique .....	32



3. Les lipides .....	33
4. Synthèse d'acides aminés et de peptides .....	34
a. Réaction de Strecker .....	35
b. Réaction de transamination .....	38
c. Synthèse de peptides .....	42
5. Cycles métaboliques .....	48
<b>Graphical abstract.....</b>	<b>53</b>
<b>Chapitre 1. Synthèse prébiotique de la cystéine.....</b>	<b>55</b>
A. Introduction .....	55
1. Source de soufre .....	56
2. Rôle de la cystéine dans des synthèses prébiotiques .....	58
3. Rôle de la cystéine dans les protéines .....	63
4. Essais de synthèses prébiotiques de la cystéine .....	69
B. Synthèse prébiotique de la cystéine .....	72
I. Synthèses du mercaptoacétaldéhyde .....	72
1. Synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde .....	73
a. Etude expérimentale de la synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde .....	73
b. Etude théorique de la synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde .....	77

2. Synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir de l'acétaldéhyde .....	80
a. Présence plausible de l'acétaldéhyde .....	80
b. Halogénéation sur la Terre primitive : chloration de l'acétaldéhyde.....	81
c. Synthèse du mercaptoacétaldéhyde .....	85
II. Synthèse de la cystéine .....	87
1. Action de NaCN sur le mercaptoacétaldéhyde .....	87
2. Application de la réaction de Strecker au mercaptoacétaldéhyde .....	89
Conditions basiques.....	89
III. Synthèse de l'hexahydro-1,3,5-trithia-6b-azacyclopenta[c,d]pentalène .....	91
C. Conclusion .....	93
<b>Chapitre 2. L'homocystéine et sa thiolactone.....</b>	<b>95</b>
A. Introduction .....	95
1. L'homocystéine et sa thiolactone .....	95
2. L'homocystéine et sa thiolactone sur la Terre primitive .....	98
B. Synthèse de la thiolactone .....	100
I. Cyclisation de l'homocystéine : formation de la thiolactone de l'homocystéine, <b>22</b> .....	100
1. Etude théorique .....	100
2. Etude expérimentale .....	101
a. Essai de cyclisation de l'homocystéine dans l'eau .....	101

b	Essai de cyclisation de l'homocystéine sur silice .....	103
c	Stabilité de la thiolactone de l'homocystéine <b>22</b> dans l'eau .....	104
II.	Réaction de <b>22</b> avec des aldéhydes .....	104
III.	Synthèse de peptides à partir de la thiolactone de l'homocystéine, <b>22</b> .....	107
1.	Évolution de la formation de dipeptides à partir de <b>22</b> .....	107
2.	Synthèse préparative de dipeptides à partir de <b>22</b> .....	111
IV.	Synthèse de dipeptides à partir de la thiolactone de la <i>N</i> -formyl-homocystéine, <b>47</b> .....	115
1.	Formylation de la thiolactone de l'homocystéine <b>22</b> .....	115
2.	Synthèse de peptides à partir de <b>47</b> .....	116
V.	Synthèse de dipeptide à partir de la thiolactone de la <i>N</i> -acétyl-homocystéine, <b>56</b> .....	128
1.	Evolution de la synthèse des peptides .....	128
2.	Synthèse préparative de peptides à partir de la thiolactone de la <i>N</i> -acétyl-homocystéine .....	132
a.	Analyse après estérification des peptides formés .....	132
b.	Analyse sans estérification des peptides obtenus .....	137
C.	Conclusion .....	145
<b>Chapitre 3. Transfert de méthyle et synthèse d'analogues simplifiés de la SAM.....</b>		<b>147</b>
A.	Introduction .....	147
1.	Le transfert de méthyle et son évolution .....	147

2. SAM à la base du transfert de méthyle .....	148
3. Biosynthèse de la SAM .....	150
4. Des agents de méthylation prébiotiques plus simples ? .....	151
<b>B. Synthèse prébiotique de la S-méthyl méthionine, SMM.....</b>	<b>153</b>
I. Essai de synthèse de la SMM, <b>86</b> .....	153
1. Diméthylsulfure <b>90</b> + acroléine <b>89</b> .....	154
2. Tétrahydrothiophène <b>91</b> + acroléine <b>89</b> .....	155
II. Réaction de Stecker du sulfonium, <b>88</b> .....	157
III. Réactivité : transfert de méthyle à partir de la SMM, <b>86</b> .....	160
<b>C. Conclusion .....</b>	<b>167</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>169</b>
<b>Chapitre 4. Partie expérimentale.....</b>	<b>173</b>
Chapitre 1.....	174
Chapitre 2 .....	186
Chapitre 3 .....	207
<b>Résumé / Abstract.....</b>	<b>209</b>



## Liste des abréviations et des symboles

<b>°C</b>	Degrés Celsius
<b>μ</b>	Micro
<b>μm</b>	Micromètres
<b>AA</b>	Acide Aminé
<b>aaRS</b>	Amino acyl tRNA synthétase
<b>Ac</b>	Acétyl
<b>ACP</b>	Acyl Carrier Protein ou protéine porteuse d'acyle
<b>Ac-T-Hcy</b>	N-Acétyl-Thiolactone de l'homocystéine
<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>ADP</b>	Adénosine Diphosphate
<b>AICN</b>	4-aminoimidazole-5-carbonitrile
<b>Ala</b>	Alanine
<b>AMP</b>	Adénosine Monophosphate
<b>AMP</b>	Adénosine monophosphate
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>ARNt</b>	Acide ribonucléique de transfert
<b>Atm</b>	Atmosphère
<b>ATP</b>	Adénosine Triphosphate
<b>CAA</b>	N-carbamoyl acides aminés
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Chloroforme deutéré
<b>CO B<sub>12</sub></b>	Coenzyme B <sub>12</sub>
<b>COS</b>	Oxysulfure de carbone
<b>COSY</b>	Correlation spectroscopy
<b>Cys</b>	Cystéine
<b>D<sub>2</sub>O</b>	Eau deutérée
<b>DFT</b>	Density Functional Theory
<b>DMS</b>	Diméthyl Sulfure
<b>ESI</b>	Electrospray Ionization
<b>FaPys</b>	Formamidopyrimidines
<b>Ga</b>	Gigaannum (milliards d'années)
<b>GC</b>	Gaz chromatography
<b>Glu</b>	Glutamine
<b>Gly</b>	Glycine
<b>GlyGly</b>	Glycylglycine
<b>Hcy</b>	Homocystéine
<b>Hcy-aa</b>	Homocysteine-acide aminé
<b>His</b>	Histidine
<b>HR/MS</b>	High Resolution/Mass Spectrometry
<b>Hrs</b>	Heures
<b>Hz</b>	Hertz
<b>J</b>	Constante de couplage en Hz
<b>Jrs</b>	Jours

<b>LC-MS</b>	Liquid Chromatography/Mass Spectrometry
<b>LUCA</b>	Last Universal Common ancestor
<b>M</b>	Molaire
<b>m</b>	Mètres
<b>M</b>	Masse molaire
<b>MAT</b>	méthionine-adénosyl-transférase
<b>Met</b>	Méthionine
<b>Mg</b>	Milligrammes
<b>Mol</b>	Moles
<b>MS</b>	Mass spectrometry
<b>NCA</b>	N-carboxyanhydrides
<b>pH</b>	Potential of hydrogen
<b>ppm</b>	Part per million
<b>Rdt</b>	Rendement
<b>RMN</b>	Résonance magnétique nucléaire
<b>RNR</b>	Ribonucléotide réductase
<b>rt</b>	Room temperature
<b>SAH</b>	S-adénosyl-homocystéine
<b>SAHH</b>	S-Adénosyl-homocystéine hydrolase
<b>SAM</b>	S-adénosyl-méthionine
<b>SAMS</b>	SAM synthétase
<b>Ser</b>	Sérine
<b>SMM</b>	S-Méthyl Méthionine
<b>T-Hcy</b>	Thiolactone de l'homocystéine
<b>THT</b>	Tetrahydrothiophane
<b>TLC</b>	Thin Layer Chromatography
<b>UV</b>	Ultraviolets
<b>Val</b>	Valine
<b>δ</b>	Déplacement chimique

# **Introduction**





Si les origines de la vie ont été, depuis l'antiquité, et sont toujours, l'objet de nombreuses études et controverses, ces dernières cinquante années ont vu une grande quantité d'avancées scientifiques dans ce domaine.

De nombreuses théories sur les origines de la vie ont été élaborées.

Jusqu'à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, **la théorie de la génération spontanée** était largement acceptée. Elle suppose l'apparition sans ascendant d'êtres vivants à partir de la matière inanimée. Cette théorie existait déjà dans la haute antiquité, dans les écrits de la Chine, de l'Inde ou de l'Égypte ancienne. Dans le monde gréco-romain, elle était soutenue par des philosophes tels que Thalès, Démocrite, Platon et Aristote, puis, durant l'époque moderne, par Descartes et Newton.

Elle a commencé à être critiquée lorsqu'en 1768, un savant italien, Spallanzani, réalise des expériences qui semblent montrer que lorsqu'on stérilise bien le système étudié, il n'y a pas de génération spontanée.

Il faudra attendre Louis Pasteur, en 1860, pour clôturer le débat. Pasteur démontre, en mettant au point un protocole de stérilisation fiable, que la vie ne peut venir spontanément de la matière inanimée, du moins à l'échelle d'un laboratoire humain.

Darwin<sup>1</sup>, enfin, élabore **la théorie de l'évolution** basée sur un phénomène qu'il nomme **la sélection naturelle**. Il propose que l'évolution se soit faite selon un axe de complexité croissante, du plus simple au plus complexe. Cela implique que les premiers êtres vivants devaient être des formes très simples, des micro-organismes.

Les organismes subissent des mutations. Ces mutations sont héréditaires et vont affecter positivement ou négativement la survie et la reproduction, en fonction de l'environnement dans lequel vit l'organisme. Les individus portant les mutations les plus favorables vont vivre plus longtemps et laisser plus de descendants possédants eux aussi ces variations. Après plusieurs générations, ces mutations favorables vont se retrouver chez tous les individus de la population.

Le mécanisme de la sélection naturelle implique donc que les individus les mieux adaptés vont survivre et se reproduire. D'une génération à l'autre, les individus sont de mieux en mieux adaptés à leur environnement.

---

<sup>1</sup> Darwin, C. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favored races in the struggle for life, 3<sup>rd</sup> ed.; **1861**. London: Murray.

Il est logique de penser, qu'avant que l'évolution biologique ait démarrée, une première évolution chimique avait dû se mettre en place. D'où **la théorie de l'évolution chimique**, désignant l'ensemble des processus chimiques qui ont pu avoir lieu sur la Terre primitive et aboutissant à l'émergence de la vie. Ainsi, les molécules complexes de la vie auraient été formées à partir de molécules organiques plus simples qui devaient être présentes dans les océans primitifs.<sup>2</sup>

Des cellules se sont ainsi formées, ont évolué, se sont diversifiées et ont transformé la chimiosphère primitive en notre biosphère actuelle.<sup>3</sup> Ces cellules participent à des voies métaboliques et à des mécanismes pour produire, utiliser et stocker l'énergie chimique et assurer la réplication de l'ADN et la division cellulaire.<sup>4</sup>

Cela signifie que des réactions chimiques assez simples ont dû précéder la biochimie des cellules capables de croissance et de division. Un nombre immense d'interactions et d'étapes ont été nécessaires alors, pour assembler la première vie cellulaire. Et tout cela s'est mis en place en moins d'un milliard d'années.

### **A. La vie : une définition ?**

Avant de rechercher les origines de la vie sur Terre ou ailleurs, il est pertinent de définir la vie. Longtemps savants et philosophes ont cherché à élucider la nature de la vie. Diverses réponses, tant spirituelles que philosophiques, biologiques ou chimiques ont été élaborées.

L'idée de la vie a suggéré l'existence d'une substance ou d'une force spéciale qui aurait donné des propriétés particulières. Et pendant des siècles, on a cherché à découvrir cette force. Mais, en fait, la vie est un processus, une organisation de la matière.

Du point de vue biochimique, les systèmes vivants sont un rassemblement complexe de divers éléments, similaires et/ou répétitifs, de molécules organiques. Diverses conditions sont nécessaires pour qu'un être soit dit vivant :

---

<sup>2</sup> Lemmon, R. M. *Chem. Rev.* **1970**, 70, 95.

<sup>3</sup> Trevors, J.T. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **2001a**, 17, 651.

<sup>4</sup> Benner, S. A. *Astrobiology* **2010**, 10, 1021.

- Un compartiment intérieur doit être séparé du milieu extérieur par une membrane. Cette membrane contribue, par sa perméabilité sélective, au maintien d'une composition chimique intracellulaire sensiblement constante.
- Un métabolisme doit y être associé. C'est un ensemble de réactions chimiques permettant aux cellules d'élaborer leurs propres matériaux, en utilisant de l'énergie extérieure, dépendant de protéines enzymatiques codées par l'information génétique de l'ADN.
- Une multiplication cellulaire par division, après réplication de l'ADN, permet leur prolifération.

## **B. La chimie prébiotique**

Les événements ayant conduit à l'émergence de la vie n'ont laissé aucune trace (sauf bien sûr, la vie elle-même). Cependant, la chimie prébiotique est la branche de la biochimie et de la chimie qui vise à reconstituer ces événements afin de comprendre comment la vie aurait pu émerger sur notre planète.

L'étude de l'origine de la vie est intrinsèquement liée à la détermination des conditions et des processus, par lesquels les briques élémentaires de la vie sont construites. Aucune réaction biologique complexe ne doit être utilisée. Seules les voies de synthèse des substances organiques et des biomolécules à partir de substances inorganiques sont étudiées. En d'autre terme, il faut expliquer la transition de la matière inanimée à la matière vivante.

La chimie prébiotique est en fait très multidisciplinaire, à la frontière de la biologie, la biochimie, la chimie, la géologie, la planétologie et l'astrologie. Son objectif est de trouver ce qui fonctionne, expérimentalement, et de montrer comment cela a pu être utilisé dans le cadre d'un scénario sur les origines de la vie.

Ces recherches sont par ailleurs soumises à un certain nombre de restrictions basées sur les conditions environnementales de la Terre primitive : composition chimique, conditions de température et de pression, rayonnements, composition de l'atmosphère et de l'eau des océans.

### C. A la recherche des briques du vivant

La recherche des origines de la vie a vraiment débuté dans les années 1920, avec les chimistes Oparine et Haldane, qui ont été les premiers à proposer clairement que la vie aurait pu naître d'une série de réactions chimiques organiques aboutissant à des structures biochimiques de plus en plus complexes. Ces molécules complexes auraient été séparées du milieu réactionnel et auraient progressivement acquis des caractéristiques des organismes vivants.<sup>5,6,7,8,9</sup>

Oparine et Haldane ont suggéré que des agrégats moléculaires appelés coacervats, que l'on peut produire au laboratoire, pouvaient ressembler aux précurseurs des premières cellules procaryotes. Les coacervats sont formés de substances de masse moléculaire élevée qui s'associent, en milieu aqueux, pour former des gouttelettes microscopiques. Ces gouttelettes partagent certaines propriétés avec les cellules vivantes : elles peuvent maintenir un environnement interne protégé de l'environnement externe tout en absorbant sélectivement certaines substances dans leur environnement.

Selon cette hypothèse, l'atmosphère terrestre était riche en éléments simples tels que H, C, O, S, P et N. Ces atomes s'assemblaient pour former des composés inorganiques simples (tels que NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, HCN, H<sub>2</sub>S) qui pouvaient ensuite réagir entre eux pour donner les sucres simples, les purines, les pyrimidines, les acides aminés... La source d'énergie nécessaire pour les réactions aurait pu être les radiations solaires (rayonnements UV), l'énergie issue des éclairs ou les radiations radioactives. Les molécules organiques simples ainsi formées, auraient formé dans l'eau, la "soupe primitive", un océan (ou des étendues d'eau plus petites) riche en molécules organiques où l'évolution chimique aurait eu lieu.

Toutes ces notions, chez Oparine et Haldane, étaient purement hypothétiques, donc sans preuves expérimentales. Mais leur théorie a été confirmée expérimentalement, en 1953, par Miller et Urey, qui ont lancé une série de simulations contrôlées en laboratoire dans les conditions environnementales qu'ils supposaient plausiblement prébiotiques.

---

<sup>5</sup> Tirard, S. *J Genet.* **2017**, 96, 735. DOI:10.1007/s12041-017-0831-6

<sup>6</sup> Oparin, A. I. *The origin of life.* **1938**. New York: MacMillan.

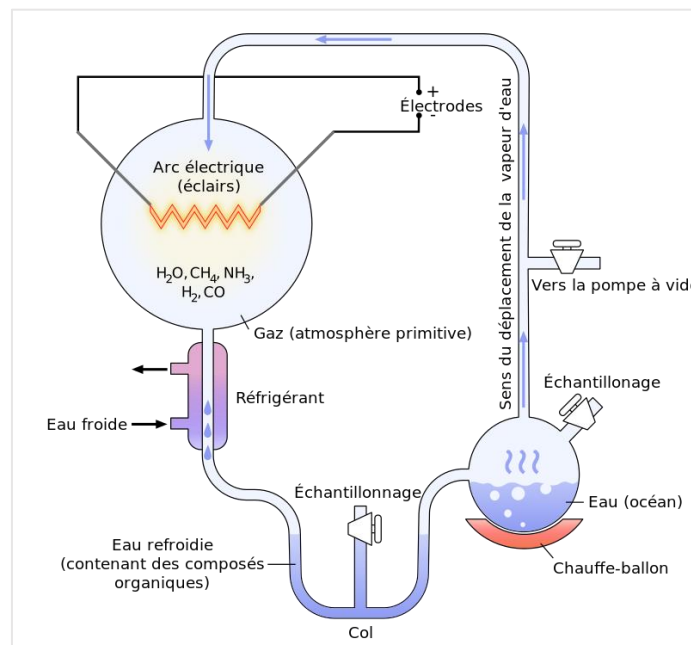
<sup>7</sup> Haldane, J. B. S. *Ration. Annu.* **1929**, 148, 3.

<sup>8</sup> Haldane, J. B. S. *New Biol.* **1954**, 16, 12.

<sup>9</sup> Bernal, J. D. **1967**. London: Weidenfeld and Nicolson.

Leur but était de tester l'idée que les molécules de la vie, dont les acides aminés, les polypeptides et les protéines, auraient pu être formées sur notre jeune planète par des réactions simples.<sup>10</sup>

Ils ont conçu un système clos contenant un mélange de gaz dont ils supposaient qu'ils étaient abondants dans l'atmosphère primitive de la Terre ( $H_2O$ ,  $NH_3$ ,  $CH_4$  et  $H_2$ ), et de l'eau liquide chauffée pour imiter l'océan primitif chaud et provoquer son évaporation. Afin de simuler les éclairs, source d'énergie pour les réactions, ils ont soumis le mélange à des décharges électriques produites par deux électrodes. La condensation de la vapeur d'eau est ensuite provoquée, entraînant avec elle les molécules formées. Le mélange résultant a été analysé par chromatographie sur papier pour identifier les molécules formées (**figure 1**).



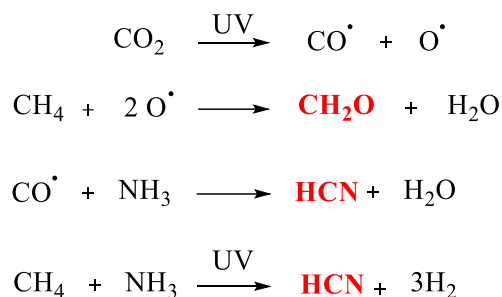
**Figure 1.** Appareillage et expérience de Miller-Urey

**Source:** Travail dérivé de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Miller-Urey\\_experiment-en.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Miller-Urey_experiment-en.svg) dont la publication est autorisée. **Licence du texte:** [CC-BY-SA-3.0](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/)

En une semaine, 15% du carbone, présent à l'origine sous forme de méthane, avait été converti en d'autres composés carbonés simples. Parmi ces composés, figuraient le formaldéhyde ( $HCHO$ ) et le cyanure d'hydrogène ( $HCN$ ).

<sup>10</sup> Miller, S. L. *Science* **1953**, 117, 528. DOI: 10.1126/science.117.3046.528

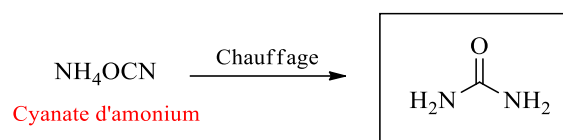
Il a par ailleurs été proposé que, sur la Terre primitive, HCHO et HCN auraient pu être obtenus par des réactions radicalaires entre CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> et NH<sub>3</sub>, sous l'influence des radiations UV (**figure 2**).<sup>11</sup>



**Figure 2.** Réactions de formation du formaldéhyde et d'HCN

Une fois formées, ces molécules peuvent réagir pour donner des molécules plus complexes, telles que l'acide formique (HCOOH) et l'urée (NH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>), molécules également détectées dans l'expérience de Miller.<sup>12</sup>

Il est intéressant de noter que les premiers travaux publiés sur la synthèse d'un composé organique à partir de composés inorganiques ont concerné la synthèse de l'urée. Dès 1828, Wöhler a obtenu l'urée avec un rendement élevé en chauffant du cyanate d'ammonium (**schéma 1**).<sup>13</sup>



**Schéma 1.** Réaction de synthèse de l'urée par Wöhler

L'urée a été aussi obtenue à partir de l'hydrolysate d'oligomères de HCN,<sup>14</sup> ainsi qu'à partir d'une solution de cyanure d'ammonium irradiée en présence de fer.<sup>15</sup>

<sup>11</sup> Commandre, J.-M. Sciences de l'ingénieur. *Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT* **2002**.

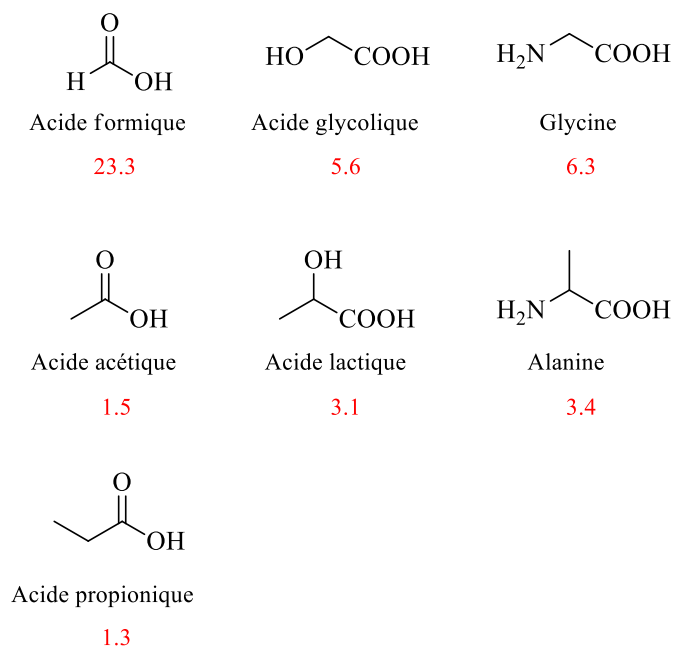
<sup>12</sup> Miller, S.L. *Biochim. Biophys. Acta* **1957**, 23, 480.

<sup>13</sup> Wöhler, F. *Ann. Phys. Chem.* **1828**, 88, 253.

<sup>14</sup> Lowe, C. U.; Rees, M. W.; Markham, R. *Nature* **1963**, 199, 219.

<sup>15</sup> Lohrmann, R. *J. Mol. Evol.* **1972**, 1, 263.

Des molécules plus complexes contenant des liaisons carbone-carbone, ont aussi été formées lors de l'expérience de Miller, en particulier des acides aminés dont la glycine et l'alanine (**figure 3**).<sup>16</sup>



**Figure 3.** Les molécules organiques les plus abondantes, obtenues par l'expérience de Miller  
Les chiffres en rouge représentent le nombre de moles de chacune (unité :  $\cdot 10^{-4}$  moles)

Ultérieurement, des échantillons archivés de l'expérience de Miller ont été analysés par des méthodes analytiques plus sensibles par J. Bada, qui avait été son étudiant.

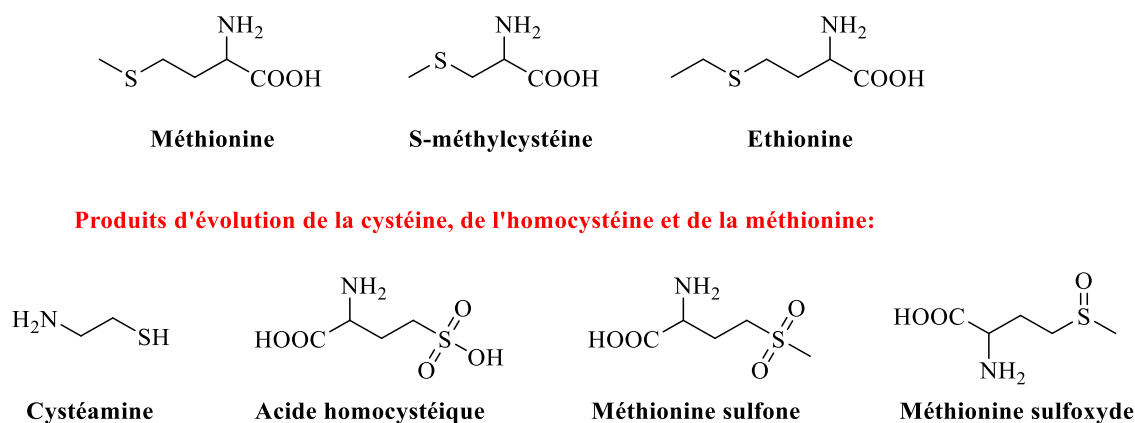
Plus que 40 acides aminés ont été détectés.<sup>17</sup>

<sup>16</sup> Demassa, J. *Creation Research Society Quarterly Journal* **2013**, 49, 211.

<sup>17</sup> Bada, J. L. *Chem. soc. rev.* **2013**, 42, 2186. DOI: 10.1039/C3CS35433D



Des molécules organiques sulfurées ont aussi été détectées dans des expériences de type Miller, dont la méthionine, si l'expérience est menée dans une atmosphère contenant H<sub>2</sub>S ou du méthanethiol.<sup>18</sup> Ces échantillons ont également été analysés des années plus tard. Ils contenaient des acides aminés sulfurés non protéinogènes tels que la S-méthylcystéine et l'éthionine, et aussi, des produits, peut-être issus de l'évolution de la cystéine, de l'homocystéine et de la méthionine (la cystéamine, l'acide homocystéique, la méthionine sulfone et la méthionine sulfoxyde) (**figure 4**).<sup>19</sup>



**Figure 4.** Molécules organiques sulfurées obtenues dans des expériences de type Miller

H<sub>2</sub>S, provenant des dégagements gazeux volcaniques ou du dégazage de la croûte terrestre (les vents hydrothermaux), aurait pu jouer un rôle essentiel dans la synthèse de ces acides aminés sulfurés.

Il ressort donc, des expériences de Miller qu'avec des réactions simples et à partir de molécules inorganiques, des molécules de base pour la synthèse des briques du vivant peuvent se former.

<sup>18</sup> Van Trump, J. E.; Miller, S. L. *Science* **1972**, 178, 859.

<sup>19</sup> Parker, E. T.; Cleaves, H. J.; Callahan, M. P.; Dworkin, J. P.; Glavin, D. P.; Lazcano, A.; Bada, J. L. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2011**, 41, 201. DOI:10.1007/s11084-010-9228-8

#### D. Conditions plausibles à l'origine de la vie sur Terre

L'histoire de la vie a sans doute débuté, il y'a environ 3.8 Ga,<sup>20</sup> juste après le bombardement intense tardif de météorites sur la Terre. Malheureusement, la plupart des indices géologiques avant cette période ont disparu à cause de l'activité tectonique intense de la jeune planète. Il est probable que la surface terrestre était largement recouverte par de l'eau liquide comme le suggère la découverte de grains de zircon (ZrSiO<sub>4</sub>), datant de 4.4 milliards d'années, en Australie.<sup>21</sup> L'eau présente sur Terre peut être soit d'origine endogène, formée à partir de l'oxydation de l'hydrogène atmosphérique par les oxydes présents dans le magma à des températures élevées,<sup>22</sup> ou d'origine exogène, grâce à la livraison d'eau par des astéroïdes, des comètes et des planétésimaux contenant de l'eau.<sup>23,24,25,26</sup>

Bien que le jeune soleil ait été moins puissant qu'il ne l'est aujourd'hui, la température de la Terre primitive était sans doute plus élevée à cause du taux de CO<sub>2</sub> élevé dans l'atmosphère primitive provoquant un important effet de serre.<sup>27</sup> Cette température a dû baisser lentement, ainsi, la chimie prébiotique suppose une origine de la vie à relativement basse température car la plupart des molécules biochimiques se décomposent assez rapidement à partir de 100 °C. L'ARN et l'ADN sont clairement trop instables pour exister dans un environnement très chaud. Il en est de même, pour le ribose, les pyrimidines et les purines et certains acides aminés. La demi-vie du ribose à 100 °C, à pH 7 n'est que de 73 minutes, et les autres sucres ont des demi-vies comparables.<sup>28</sup> La demi-vie de désamination de la cytosine à 100 °C est de 21 jours<sup>29,30</sup>, 204 jours à 100 °C pour l'adénine et 320 jours pour la sérine.<sup>31,32</sup>

---

<sup>20</sup> Tashiro, T.; Ishida, A.; Hori, M.; Igisu, M.; Koike, M.; Méjean, P.; Takahata, N.; Sano, Y.; Komiya, T. *Nature* **2017**, 549, 516. DOI: 10.1038/nature24019

<sup>21</sup> Wilde, S.A.; Valley, J. W.; Peck, W. H.; Graham, C. M. *Nature* **2001**, 409, 175.

<sup>22</sup> Ikoma M.; Genda H. *Astrophys. J.* **2006**, 648, 696.

<sup>23</sup> Morbidelli, A.; Chambers, J.; Lunine, J. I.; Petit, J. M.; Robert, F.; Valsecchi, G. B.; Cyr, K. E. *Meteorit. Planet. Sci.* **2000**, 35, 1309.

<sup>24</sup> O'Brien, D. P.; Morbidelli, A.; Levison, H. F. *Icarus* **2006**, 184, 39.

<sup>25</sup> Raymond, S. N.; Quinn, T.; Lunine, J. I. *Icarus* **2004**, 168, 1.

<sup>26</sup> Lunine, J. I.; Chambers, J.; Morbidelli, A.; Leshin, L. A. *Icarus* **2003**, 165, 1.

<sup>27</sup> Shaw, G. H. *Chem. Erde Geochem.* **2008**, 68, 235.

<sup>28</sup> Larralde, R.; Robertson, M. P.; Miller, S. L. *PNAS* **1995**, 92, 8158.

<sup>29</sup> Garrett, E. R.; Tsau J. *J. Pharm. Sci.* **1972**, 61, 1052.

Par contre, d'autres acides aminés sont stables, par exemple l'alanine avec une demi-vie de décarboxylation d'environ 19000 ans à 100 °C.<sup>33</sup>

Toutefois, d'autres considérations pourraient privilégier une origine de la vie à très haute température. En effet, les réactions se déroulent plus rapidement à des températures élevées. La découverte des thermophiles archéens,<sup>34,35</sup> bactéries qui peuvent vivre dans des sources chaudes jusqu'à 120 °C, soutient l'idée d'une telle origine chaude pour la vie. Certains thermophiles sont des anaérobies qui utilisent le soufre, au lieu de l'oxygène, pour la respiration cellulaire. On peut comparer ces organismes à ceux qu'on trouve aujourd'hui dans les cheminées marines,<sup>36,37</sup> et qui survivent à haute température. Dans les profondeurs marines, ces organismes auraient survécu à tous les impacts frappant la Terre et pourraient alors être les premiers organismes vivants.<sup>38</sup>

Par ailleurs, d'autres hypothèses proposent elles une origine de la vie à des températures basses. Les composés organiques sont plus stables à froid. Des organismes extrêmes, vivants et exerçant des fonctions métaboliques à une température aussi basse que -15 °C, les psychrophiles, ont été découverts et sont une preuve vivante que la vie aurait été possible à des températures inférieures à zéro.<sup>39</sup>

Malgré tout, le plus probable c'est que la vie soit apparue à une température raisonnable, sans doute un peu plus chaude que la température de l'océan actuel.

Enfin, bien que le pH de l'océan aujourd'hui soit basique, l'océan primitif devrait être légèrement acide à cause du CO<sub>2</sub> massivement présent dans l'atmosphère primitive.<sup>40</sup>

---

<sup>30</sup> Shapiro, R.; Klein, R. S. *Biochemistry* **1966**, 5, 2358.

<sup>31</sup> Frick, L.; Mac Neela, J. P.; Wolfenden, R. *Bioorg. Chem.* **1987**, 15, 100.

<sup>32</sup> Shapiro, R. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1995**, 25,83.

<sup>33</sup> Vallentyne, J. R. *Geochim. Cosmochem. Acta* **1964**, 28, 157.

<sup>34</sup> Harvey, R. B. *Science* **1924**, 60, 481.

<sup>35</sup> Pace, N. R. *Cell* **1991**, 65, 531.

<sup>36</sup> Holm, N. G. *Biosphere* **1992**, 22:1.

<sup>37</sup> Miller, S. L.; Bada, J. L. *Nature* **1988**, 334,609.

<sup>38</sup> Gogarten-Boekels, M.; Hilario, E.; Gogarten, J. P. *Evol. Biosph.* **1995**, 25, 251.

<sup>39</sup> Feller, G. *Life* **2017**, 7, 25. DOI:10.3390/life7020025

<sup>40</sup> Pinti, D. L. *Adv. Astrobiol. Biogeophys.* **2005**, 83-112. DOI: 10.1007/10913406\_4

### E. Composés chimiques à l'origine de la vie sur Terre

Avec de l'eau présente sur la Terre et une température adéquate, il fallait de nombreux composés chimiques pour permettre l'apparition de la vie. Ces composés ont pu avoir une origine exogène, donc être apportés sur Terre depuis l'espace extraterrestre, ou une origine endogène, ils étaient alors présents dans l'atmosphère primitive durant l'accrétion de la planète.

Les opinions sur la composition de l'atmosphère primitive, ont varié entre une atmosphère réductrice riche en CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> et en vapeur d'eau et une atmosphère neutre riche en CO<sub>2</sub>, CO, N<sub>2</sub> et en vapeur d'eau. Il est admis que l'oxygène moléculaire, O<sub>2</sub>, était absent ou très rare. L'hypothèse d'une atmosphère réductrice<sup>41</sup> a été souvent prise en compte. Une telle atmosphère est favorable à la synthèse des acides aminés, des sucres, des purines et des pyrimidines.<sup>5,6,10,42</sup> Mais, il semble maintenant certain que le CO<sub>2</sub> était très abondant.

### Composés organiques au tout début de l'histoire de la Terre

Comme la majeure partie de la matière du système solaire est composée d'hydrogène, la toute première atmosphère de la Terre devait être riche en hydrogène. Par conséquent, les autres éléments nécessaires au vivant (tels que le carbone, l'oxygène, l'azote et le soufre) devraient être liés à l'hydrogène sous leurs formes réduites : CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S.

À des flux d'énergie suffisamment élevés, ces gaz génèrent du cyanure d'hydrogène (HCN) et du formaldéhyde (HCHO), qui réagissent à leur tour pour produire des acides aminés et des sucres. Le cyanure et le formaldéhyde sont souvent considérés comme des réactifs clés dans les simulations des voies chimiques prébiotiques.<sup>43</sup>

Notons, toutefois, qu'au moment où la vie apparaît, tout l'hydrogène a été consommé ou s'est volatilisé dans l'espace. Comme nous l'avons déjà indiqué, la composition de l'atmosphère est alors dominée par le CO<sub>2</sub>.

---

<sup>41</sup> Kasting, J. F.; Ackerman, T. P. *Science* **1986**, 234, 1383.

<sup>42</sup> Stribling, R.; Miller, S. L. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1987**, 17, 261.

<sup>43</sup> Ferris, J. P.; Hagan Jr, W. J. *Tetrahedron* **1984**, 40, 1093.

## Composés organiques dans la croûte terrestre

D'autres sources essentielles pour l'apport des molécules à l'atmosphère primitive et à l'océan sont les gaz volcaniques et les monts hydrothermaux.<sup>44,45</sup>

Pour les sources volcaniques, il est raisonnable de penser que les gaz qui sont actuellement éjectés par les volcans ont également été libérés dans l'atmosphère primitive. Donc cette atmosphère devait contenir de la vapeur d'eau, du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), du monoxyde de carbone (CO), de l'acide chlorhydrique (HCl), du méthane (CH<sub>4</sub>), de l'ammoniaque (NH<sub>3</sub>), du diazote (N<sub>2</sub>) et du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S). Le dégagement de H<sub>2</sub> et de CO des volcans provient du contact du magma avec du Fe-Ni métallique.<sup>46</sup> Toutefois, avec le temps, ces deux derniers gaz sont remplacés par des gaz plus oxydés, H<sub>2</sub>O et CO<sub>2</sub>.

Quant aux cheminées hydrothermales, la théorie selon laquelle la vie y est apparue a été largement étudiée. À la fin des années 1970, au niveau des dorsales médio-océaniques, des sources hydrothermales ont été découvertes, riches en CO et en sulfures, et abritant une vie dans des conditions extrêmes (à plus de 2500 m de profondeur), y compris de nombreuses espèces d'archées. En absence de possibilité de photosynthèse dans les fonds océaniques, c'est la chimiosynthèse qui leur fournit l'énergie nécessaire, surtout à partir d'H<sub>2</sub>S provenant des fluides du magma. Ces fumeurs noirs devaient être beaucoup plus actifs durant la formation de la première croûte océanique.

---

<sup>44</sup> Rubey, W. W. *Geol. Soc. Am. Bull.* **1951**, 62, 1111.

<sup>45</sup> Landsberg, H. E. *Sci. Am.* **1953**, 189, 82.

<sup>46</sup> Holland, H. D. **1984**. *The Chemical Evolution of the Atmosphere and Oceans*. Princeton: Princeton University Press.

## Composés organiques extraterrestres

Lors de la formation des planètes, les métaux de transition réduits peuvent se combiner avec du silicium, de l'aluminium, du magnésium, de l'oxygène et du soufre. Ils forment l'intérieure des planètes. Des éléments plus légers, qui seront essentiels à la vie, en particulier le carbone et l'azote, ont une tendance plus forte à former de petites molécules volatiles. Ces molécules existent aussi dans les comètes et les astéroïdes qui eux même ont pu atterrir à la surface de la Terre, en particulier, pendant la période du " bombardement intense tardif ", livrant leur contenu en matières organiques à notre planète.<sup>47</sup>

Les composés extraterrestres peuvent être identifiés, soit en analysant les composants des météorites tombées sur Terre,<sup>48,49</sup> comme par exemple la météorite de Murchison tombée près du village de Murchison dans le sud-est de l'Australie en Septembre 1969, soit directement en observant l'espace.

Certains objets extraterrestres auraient livré des éléments tels que le C, S, P, et N.<sup>50,51,52,53,54</sup> D'autres peuvent avoir apporté des nutriments inorganiques, tels que l'ammoniac et les phosphates, mais aussi des molécules organiques, y compris des nitriles, des aldéhydes, des acides aminés, des composés de type sucre et des bases nucléiques.<sup>55</sup>

Les particules solides arrivant sur Terre, sont recouvertes de fines couches de gaz gelés comme le dioxyde de carbone, le monoxyde de carbone, le méthanol, l'ammoniac, le sulfure d'hydrogène et les cyanures.<sup>56</sup>

---

<sup>47</sup> Ehrenfreund, P.; Irvine, W.; Becker, L.; Blank, J.; Brucato, J. R.; Colangeli, L.; Derenne, S.; Despois, D.; Dutrey, A.; Fraaije, H.; Lazcano, A.; Owen, T.; Robert, F. *Rep. Prog. Phys.* **2002**, 65, 1427. DOI: 10.1088/0034-4885/65/10/202

<sup>48</sup> Crampton, M.; Lord, S.; Millar, R. *J. Chem. Soc.* **1997**, 5, 909. DOI: 10.1039/A607869I

<sup>49</sup> Burton, A. S.; Stern, J. C.; Elsila, J. E.; Glavin, D. P.; Dworkin, J. P. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 5459.

<sup>50</sup> Oro, J.; Mills, T.; Lazcano, A. *Adv. Space Res.* **1995**, 15, 81.

<sup>51</sup> Delsemme, A. H. *Icarus* **2000**, 146, 313.

<sup>52</sup> Oro, J. *Nature* **1961**, 190, 389. DOI: 10.1038/190389a0

<sup>53</sup> Anders, E. *Nature* **1989**, 342, 255.

<sup>54</sup> Chyba, C.; Sagan, C. *Nature* **1992**, 355, 125.

<sup>55</sup> Kitadai, N.; Maruyama, S. *Geosci. Front.* **2018**, 9, 1117.

<sup>56</sup> Deming, D. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* **1999**, 146, 33. DOI:10.1016/S0031-0182(98)00144-8

H<sub>2</sub>S a été détecté dans des régions où se forment des étoiles.<sup>57</sup> Les isotopes HDS et D<sub>2</sub>S ont également été détectés.<sup>58</sup>

Les rayonnements microondes émis par de l'ammoniac, ont été observés pour la première fois en 1968 dans le milieu interstellaire.<sup>59</sup> Cette découverte a été suivie d'observations d'autres isotopes de l'ammoniac.

HCN a été observé dans la comète 1P/Halley en 1986.<sup>60</sup> Les émissions radio des deux isotopes moléculaires du cyanure d'hydrogène interstellaire (H<sup>12</sup>CN et H<sup>13</sup>CN) ont aussi été détectées.<sup>61</sup> Par ailleurs, des polymères d'HCN ont été détectés dans de nombreux corps de notre système solaire y compris des astéroïdes, des lunes, des planètes et des comètes.<sup>62</sup>

De plus, des émissions spectrales, associées aux états rotationnels de l'acétonitrile (CH<sub>3</sub>CN) et du cyanoacétylène (HC<sub>2</sub>CN), ont été observées dans le disque protoplanétaire entourant la jeune étoile MWC 480.<sup>63</sup> Des HC<sub>n</sub>CN plus long (n : nombre pair jusqu'à 10) ont également été identifiés.<sup>64</sup> En outre, l'aminoacétonitrile (H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CN) a été détecté dans la formation massive d'étoiles dans la région Sagittaire B2(N).<sup>65</sup> L'aminoacétonitrile est un précurseur possible de la glycine. Sa détection dans le milieu interstellaire est donc d'un grand intérêt.

De nombreux aldéhydes ont été observés dans le milieu interstellaire en commençant par le formaldéhyde (H<sub>2</sub>CO). Il a été détecté pour la première fois en 1969.<sup>66</sup>

---

<sup>57</sup> Thaddeus, P.; Kutner, M. L.; Penzias, A. A.; Wilson, R. W.; Jefferts, K. B. *Astrophys. J.* **1972**, 176 (c), 73.

<sup>58</sup> Vastel, C.; Phillips, T. G.; Ceccarelli, C.; Pearson, J. *Astrophys. J.* **2003**, 593, 97.

<sup>59</sup> Cheung, A. C.; Rank, D. M.; Townes, C. H.; Thornton, D. D.; Welch, W. J. *Phys. Rev. Lett.* **1968**, 21, 1701. DOI:10.1103/PhysRevLett.21.1701

<sup>60</sup> Despois, D.; Crovisier, J.; Bockelee-Morvan, D.; Gerard, E.; Schraml, J. *Astron. Astrophys.* **1986**, 160, 11.

<sup>61</sup> Snyder, L. E.; Buhl, D. *Astrophys. J.* **1971**, 163, 47. DOI: 10.1086/180664

<sup>62</sup> Matthews, C. N.; Minard, R. D. *Faraday Discuss.* **2006**, 133, 393.

<sup>63</sup> Öberg, K. I.; Guzmán, V. V.; Furuya, K.; Qi, C.; Aikawa, Y.; Andrews, S. M.; Loomis, R.; Wilner, D. J. *Nature* **2015**, 520, 198. DOI: 10.1038/nature14276

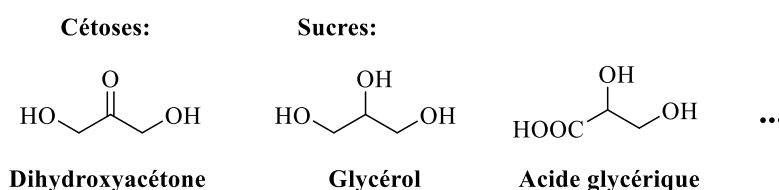
<sup>64</sup> Hudson, R. L.; Moore, M. H. *Icarus* **2004**, 172, 466. DOI: 10.1016/j.icarus.2004.06.011

<sup>65</sup> Belloche, A.; Menten, K. M.; Comito, C.; Müller, H. S. P.; Schilke, P.; Ott, J.; Thorwirth, S.; Hieret, C. *Astron. Astrophys.* **2008**, 482, 179.

<sup>66</sup> Snyder, L. E.; Buhl, D.; Zuckerman, B.; Palmer, P. *Am. Phys. Soc.* **1969**, 22, 679.

L'acétaldéhyde ( $\text{CH}_3\text{CHO}$ ) a été ensuite repéré en 1973.<sup>67</sup> Et depuis les années 1980, d'autres aldéhydes ont été rapportés dans la littérature : le propynal ( $\text{HCCCHO}$ ),<sup>68</sup> le propénal (acroléine,  $\text{H}_2\text{CCHCHO}$ ), le propanal ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHO}$ )<sup>69</sup> et le glycolaldéhyde ( $\text{HOCH}_2\text{CHO}$ ).<sup>70</sup> La détection du glycolaldéhyde, en particulier, est d'un grand intérêt puisqu'il est le membre le plus simple des monosaccharides. D'autres sucres essentiels à la vie ont été aussi découverts dans diverses météorites. Ils pourraient avoir contribué à la formation d'ARN sur la Terre prébiotique.

Par exemple, Cooper et al. ont analysé les composants des météorites, Murchison et Murray et y ont détecté divers sucres et des cétooses dont la dihydroxyacétone (**figure 5**).<sup>71,72</sup>



**Figure 5.** Exemples de " sucres " (à 3 carbones) détectés dans les météorites analysées par GC/MS

Furukawa et al. ont détecté la présence de 4 types d'aldopentoses: le ribose, l'arabinose, le xylose et le lyxose dans les météorites NWA 801 et Murchison. Divers hexoses ont aussi été découverts dans ces deux météorites.<sup>73</sup>

De même, des alcanes saturés et cycliques, ainsi que des phénols, des alcools et des acides gras, ont été observés dans les météorites.<sup>74</sup>

De leur côté, plusieurs acides aminés ont été détectés dans les météorites de Murchison et Murray (**tableau 1**). La météorite Murchison contient plus de 100 acides aminés différents.

<sup>67</sup> Fourikis, N.; Sinclair, M.; Robinson, B.; Godfrey, P.; Brown, R. *Aust. J. Phys.* **1974**, 27, 425.

<sup>68</sup> Irvine, W. M.; Brown, R. D.; Cragg, D. M.; Friberg, P.; Godfrey, P. D.; Kaifu, N.; Matthews, H. E.; Ohishi, M.; Suzuki, H.; Takeo, H. *Astrophys. J.* **1988**, 335, 89.

<sup>69</sup> Hollis, J. M.; Jewell, P. R.; Lovas, F. J.; Remijan, A.; Møllendal, H. *Astrophys. J.* **2004**, 610, 21.

<sup>70</sup> Hollis, J. M.; Lovas, F. J.; Jewell, P. R. *Astrophys. J.* **2000**, 540, 107.

<sup>71</sup> Cooper, G.; Rios, A. C. *PNAS* **2016**, 113, 3322. DOI: 10.1073/pnas.1603030113

<sup>72</sup> Cooper, G.; Kimmich, N.; Belisle, W.; Sarinana, J.; Brabham, K.; Garre, L. *Nature* **2001**, 414, 879.

<sup>73</sup> Furukawa, Y.; Chikaraishi, Y.; Ohkouchi, N.; Ogawa, N. O.; Glavin, D. P.; Dworkin, J. P.; Abe, C.; Nakamura, T. *PNAS* **2019**, 116, 24440. DOI: 10.1073/pnas.1907169116

<sup>74</sup> Hayes, J. M. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1967**, 31, 1395. DOI :10.1016/0016-7037(67)90019-1



Parmi ces acides aminés, 80 ont été clairement identifiés.<sup>75</sup> Le plus abondant est la glycine. L'alanine, l'acide glutamique, la valine et la proline ont aussi été repérés. Cette météorite contient également un certain nombre d'acides aminés non protéinogènes, par exemple l'acide  $\alpha$ -aminoisobutyrique.<sup>76</sup>

	Murchison Concentration ( $\mu\text{g/g}$ )	Murray Concentration ( $\mu\text{g/g}$ )
Acide aspartique	1.7	1.6
Acide Glutamique	3.1	1.6
Proline	1.3	0.4
Glycine	<b>6.1</b>	<b>3.0</b>
Alanine	3.5	1.3
Valine	1.6	0.9
Acide $\alpha$ -aminoisobutyrique	2.5	11.4
$\beta$ -alanine	0.4	1.2
Acide $\beta$ -aminoisobutyrique	0.7	0.3

**Tableau 1.** Quelques acides aminés découverts sur les météorites Murchison et Murray

Jusqu'à présent, la cystéine n'a pas été observée dans l'espace, cependant, il a été proposé que le précurseur de la cystéine, CysCN ( $\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CN}$ ), peut être synthétisé dans les nuages interstellaires par des réactions radicalaires.<sup>77</sup>

De même, des bases de type purine (tel que l'adénine, la guanine, l'hypoxanthine et la xanthine) et de type pyrimidine (l'uracile) ont été identifiées dans les météorites de Murchison, Murray et Orgueil.<sup>78,79,80</sup>

<sup>75</sup> Pizzarello, S.; Shock, E. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, 2, a002105. DOI: 10.1101/cshperspect.a002105

<sup>76</sup> Kvenvolden, K.; Lawless, J.; Pering, K.; Peterson, E.; Flores, J.; Ponnampereuma, C.; Kaplan, I. R.; Moore, C. *Nature* **1970**, 228, 923.

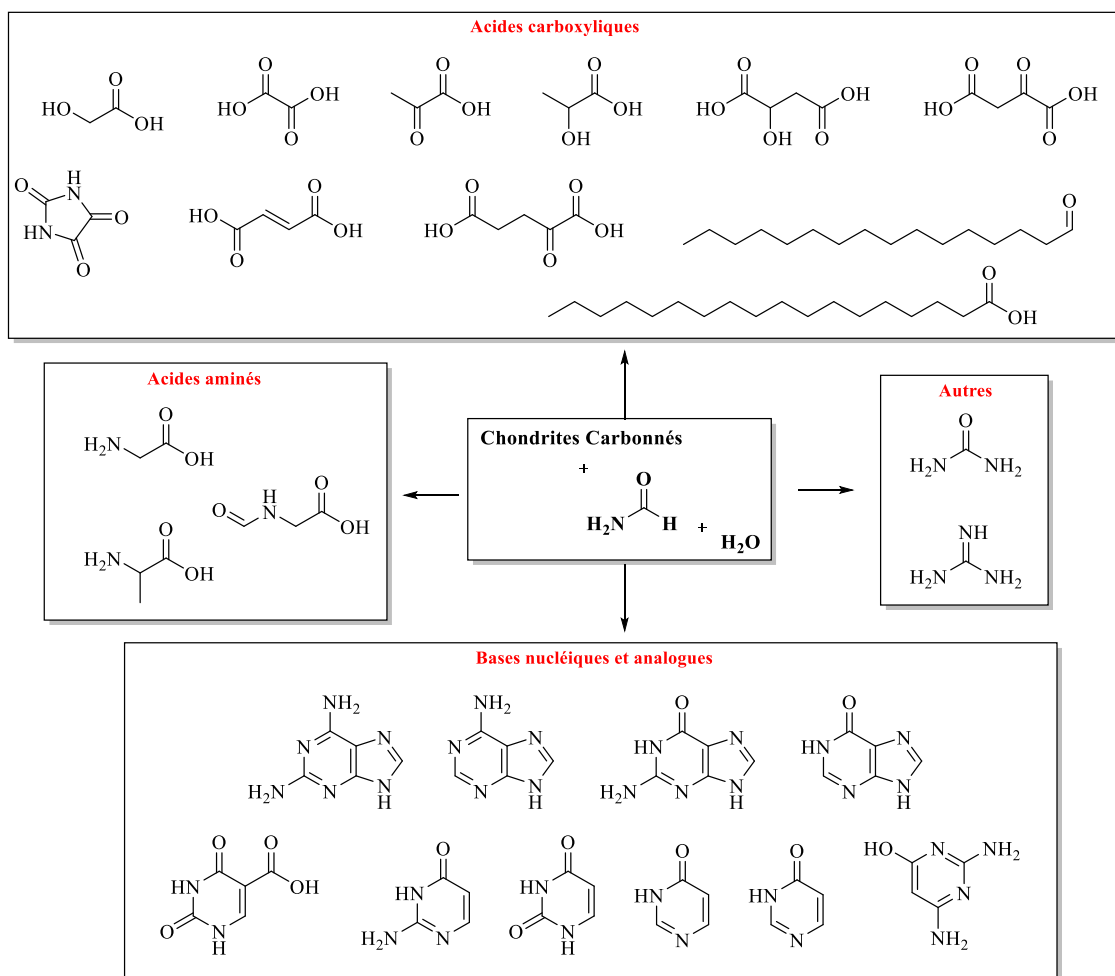
<sup>77</sup> Knowles, D. J.; Wang, T.; Bowie, J. H. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, 8, 4934. DOI: 10.1039/c0ob00232a

<sup>78</sup> Callahan, M. P.; Smith, K. E.; Cleaves, H. J.; Ruzicka, J.; Stern, J. C.; Glavin, D. P.; House, C. H.; Dworkin, J. P. *PNAS* **2011**, 108, 13995.

<sup>79</sup> Stoks, P. G.; Schwartz, A. W. *Nature* **1979**, 282, 709.

<sup>80</sup> Martins, Z.; Botta, O.; Fogel, M. L.; Sephton, M. A.; Glavin, D. P.; Watson, J. S.; Dworkin, J. P.; Schwartz, A. W.; Ehrenfreund, P. *Earth Planet. Sci. Lett.* **2008**, 270, 130.

L'analyse des chondrites carbonées notamment, montre la présence des traces de purines, d'acides aminés et d'hydrocarbures.<sup>76,81</sup> Ces chondrites carbonées provenant de l'espace sont des objets de grand intérêt. Elles possèdent des propriétés catalytiques sélectives (qui ne sont pas présentes dans les roches terrestres) pour la formation de molécules prébiotiques dans un milieu aqueux contenant le formamide.<sup>82</sup> Les minéraux formant les chondrites carbonées sont alors capables de catalyser la formation d'acides carboxyliques, d'acides aminés et de bases azotées (**figure 6**).



**Figure 6.** Produits issus des réactions de condensation dans l'eau en présence de chondrites carbonées et du formamide<sup>82</sup>. Conditions expérimentales : 1% météorite, 59% NH<sub>2</sub>CHO, 40% eau, 140 °C, 24 h

L'apport extraterrestre de composés organiques a donc pu contribuer à la formation de la "soupe primitive" dans laquelle des réactions abiotiques pouvaient avoir lieu. Ces réactions ont alors permis la formation des molécules organiques plus complexes.

<sup>81</sup> Cronin, J. R.; Moore, C. B. *Science* **1971**, 172, 1327. DOI: 10.1126/science.172.3990.1327

<sup>82</sup> Rotelli, L.; Trigo-Rodríguez, J.; Moyano-Camero, C.; Carota, E.; Botta, L.; Di Mauro, E.; Saladino, R. *Sci. Rep.* **2016**, 6 38888. DOI: 10.1038/srep38888

## F. Vers la première cellule

La réplication des gènes et la division cellulaire après qu'une cellule de base eut été auto-assemblée, sont deux phénomènes essentiels à l'apparition de la vie. Pour que cette réplication rapide ait pu se produire, une structure cellulaire dans un environnement approprié était nécessaire.

Pour cela, une membrane cytoplasmique contenant le matériel génétique était indispensable à l'assemblage de la première cellule. Il a dû se former ainsi des vésicules ou des microsphères primitives dans lesquelles les voies métaboliques ont débuté. Des lipides, ayant une extrémité hydrophobe et une extrémité hydrophile, devaient être présents. Ils sont capables de former spontanément des gouttelettes, des micelles et des vésicules en milieu aqueux ou bien à l'interface entre un milieu aqueux et l'atmosphère.<sup>83</sup> On imagine donc, des "bioréacteurs cellulaires " précédant la complexité cellulaire actuelle.

## De la soupe primitive à LUCA

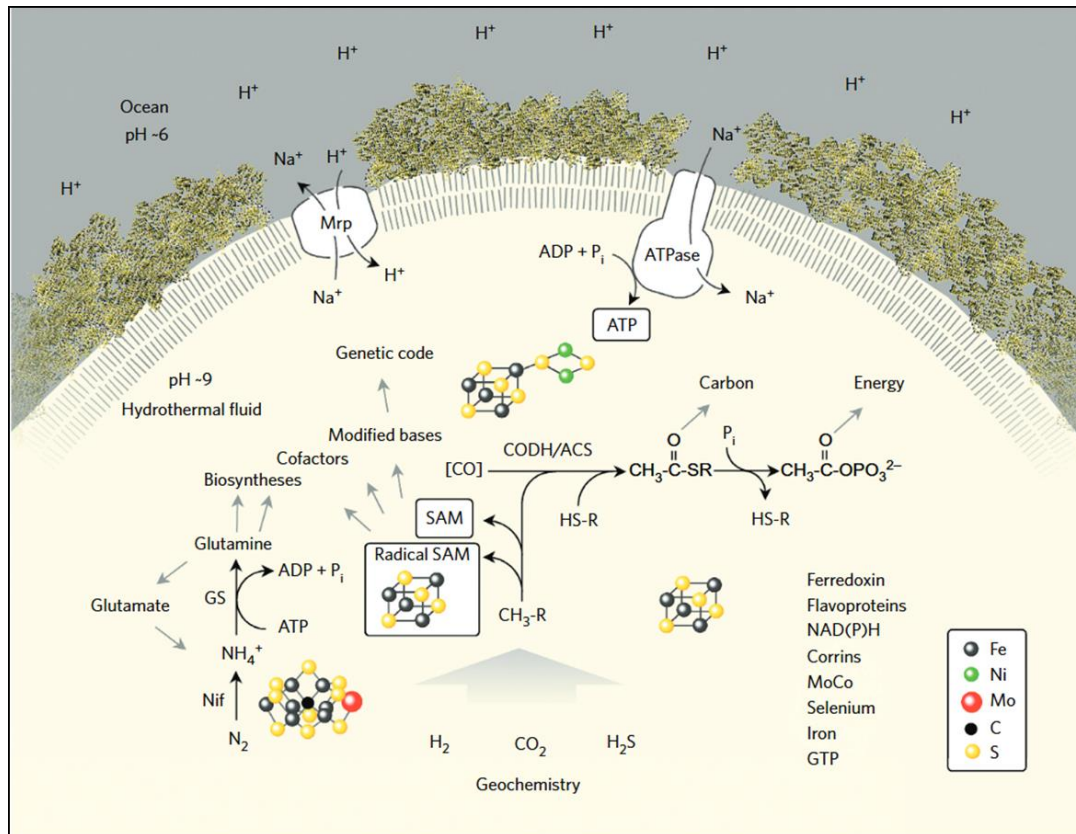
Tous les êtres vivants connus actuellement sont formés des mêmes macromolécules et utilisent la même machinerie de synthèse protéique ainsi que le même code génétique, ce qui suggère qu'ils descendent tous d'une même lignée d'ancêtres qui mène à un dernier ancêtre commun, que l'on appelle LUCA, the **last universal common ancestor**. Et c'est après LUCA que les trois grands domaines du vivant actuel, *Archaea*, *Bacteria* et *Eucarya*, se sont différenciés.

La figure 7, copiée de la référence <sup>84</sup>, résume certaines interactions de LUCA avec son environnement et les réactions nécessaires pour son métabolisme :

---

<sup>83</sup> Segre, D.; Ben-Eli, D.; Deamer, D. W.; Lancet, D. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2001**, 31, 119.

<sup>84</sup> Weiss, M. C.; Sousa, F. L.; Mrnjavac, N.; Neukirchen, S.; Roettger, M.; Nelson-Sathi, S.; Martin, W. F. *Nat. Microbiol.* **2016**, 1, 16116. DOI:10.1038/nmicrobiol.2016.116



**Figure 7.** Résumé des interactions essentielles de LUCA avec son environnement

**CH<sub>3</sub>-R:** groupement méthyle, **CODH/ACS:** carbon monoxide dehydrogenase/acetyl-CoA synthétase, **GS:** glutamine synthétase, **HS-R:** thiol organique.

- La vie consiste à synthétiser et consommer de l'énergie. Or, comme les thioesters sont réactifs, ils permettent de former le phosphate d'acétyle, précurseur possible de l'ATP.<sup>84</sup> Ils seraient les intermédiaires entre le métabolisme du carbone et la synthèse d'ATP. Donc, l'environnement de LUCA devait être riche en sulfures<sup>85</sup> (thioesters, SAM ...). Ayant un métabolisme anaérobie,<sup>86</sup> LUCA contenait des protéines riches en fer et en soufre (clusters FeS) qui favorisent la génération de radicaux via la S-adénosyle méthionine (SAM).<sup>87,88,89,90</sup>

<sup>85</sup> Buckel, W.; Thauer, R. K. *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, 1827, 94. DOI:10.1016/j.bbabbio.2012.07.002

<sup>86</sup> Decker, K.; Jungerman, K.; Thauer, R. K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1970**, 9, 138.

<sup>87</sup> Eck, R. V.; Dayhoff, M. O. *Science* **1966**, 152, 363. DOI:10.1126/science.152.3720.363

<sup>88</sup> Russell, M. J.; Hall, A. J. *Geol. Soc. Lond.* **1997**, 154, 377. DOI:10.1144/gsjgs.154.3.0377

<sup>89</sup> Camprubi, E.; Jordan, S. F.; Vasiladou, R.; Lane, N. *Life* **2017**, 69, 373. DOI:10.1002/iub.1632

<sup>90</sup> Laurino, P.; Tawfik, D. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 343. DOI:10.1002/anie.201609615

- Pour l'assimilation du carbone, LUCA utilisait la voie de l'acétyl-coA qui, vue sa simplicité chimique, est généralement proposée dans les théories de l'évolution primitive.<sup>91,92,93,94,95,96</sup>
- Concernant le matériel génétique, il semblerait que LUCA possédait de l'ADN.<sup>97</sup>

### **G. Formation de molécules plus complexes**

Il me paraît pertinent de présenter les travaux effectués en chimie prébiotique selon le type des molécules organiques nécessaires au bon fonctionnement de la première cellule vivante : l'**ARN** responsable, avec l'ADN, de l'information génétique contenu dans une cellule, les **ribozymes**, des brins d'ARN jouant le rôle d'enzymes, les **lipides** qui s'auto-organisent et permettent de délimiter le compartiment cellulaire et finalement, ce qui se rapproche le plus de mes travaux expérimentaux, **les acides aminés et les peptides**.

---

<sup>91</sup> Sousa, F. L.; Martin, W. F. *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, 1837, 964. DOI:10.1016/j.bbabbio.2014.02.001

<sup>92</sup> Fuchs, G. *Annu. Rev. Microbiol.* **2011**, 65, 631. DOI:10.1146/annurev-micro-090110-102801

<sup>93</sup> Varma, S. J.; Muchowska, K. B.; Chatelain, P.; Moran, J. *Nat. Ecol. Evol.* **2018**, 2, 1019. DOI:10.1038/s41559-018-0542-2

<sup>94</sup> Fuchs, G. *Variations of the acetyl-CoA pathway in diversely related microorganisms that are not acetogens.* **1994**. Boston: Springer.

<sup>95</sup> Russell, M. J.; Martin, W. *Trends Biochem. Sci.* **2004**, 29, 358. DOI:10.1016/j.tibs.2004.05.007

<sup>96</sup> Martin, W. F.; Thauer, R. K. *Cell* **2017**, 168, 953. DOI:10.1016/j.cell.2017.02.032

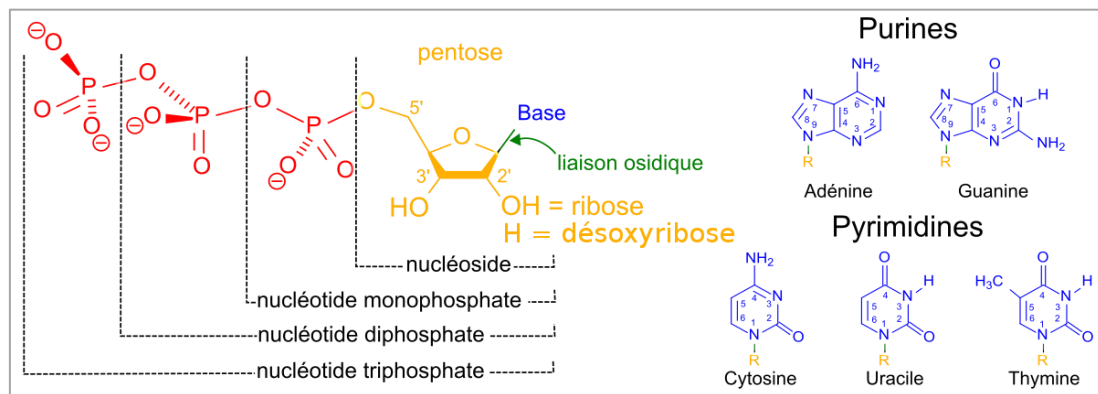
<sup>97</sup> Forterre, P. *PNAS* **2006**, 103, 3669. DOI:10.1073/pnas.0510333103

## 1. Les acides nucléiques

### a. Formation des acides nucléiques

Un monde d'ARN a été proposé par Alexander Rich en 1962.<sup>98,99</sup> Il a suggéré que la vie sur Terre a commencé avec une molécule d'ARN qui pouvait se répliquer sans l'intervention d'aucune autre molécule. Pour cela, une molécule primordiale a dû posséder à la fois un pouvoir catalytique et la capacité de se "recopier" au fil des générations.

L'ARN est un polymère de nucléotides, chaque nucléotide étant lui-même, l'assemblage d'un phosphate, d'un sucre et d'une base nucléique. Cinq bases nucléiques se retrouvent le plus fréquemment dans l'ARN et l'ADN, deux bases puriques, l'adénine et la guanine, et trois bases pyrimidiques, la cytosine, l'uracile et la thymine (**figure 8**).



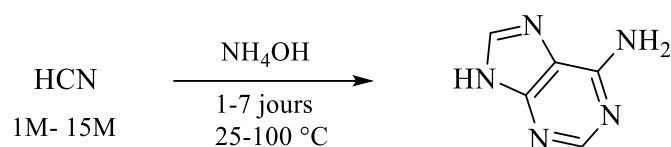
**Figure 8.** Composition d'un nucléotide

<sup>98</sup> Gilbert, W. *Nature* **1986**, 319, 618. DOI: 10.1038/319618a0

<sup>99</sup> Neveu, M.; Kim, H.-J.; Benner, S. A. *Astrobiology* **2013**, 13, 391. DOI: 10.1089/ast.2012.0868

Débutons par les bases nucléotidiques.

L'adénine, par exemple, peut être synthétisée à partir d'HCN et d'ammoniac aqueux  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Sous certaines conditions, l'acide cyanhydrique polymérise en formant des molécules relativement complexes (des cycles alternant des atomes de carbone et d'azote) et parmi lesquelles figure l'adénine (**schéma 2**).<sup>100,101</sup>



**Schéma 2.** Conditions expérimentales pour la synthèse de l'adénine par Oro et al.

La synthèse des bases nucléiques dans des solutions d'HCN portées à des températures basses, de l'ordre de  $-24 \text{ }^\circ\text{C}$  a aussi été reportée : l'eau change de phase et cristallise en glace, l'acide cyanhydrique, précédemment fortement dilué, se retrouve concentré dans les cristaux de glace. Il se forme alors un précipité de polymères renfermant de l'adénine.<sup>102</sup> Cette méthode permet la synthèse des bases nucléiques dans des solutions, au départ peu concentrées en HCN (des concentrations qui pouvaient exister dans l'océan primitif). De la même manière, différentes bases puriques, dont la guanine, ont pu être observées dans des solutions d'HCN conservées à  $-78 \text{ }^\circ\text{C}$  pendant 27 ans.<sup>103</sup>

Toutefois, les concentrations des bases puriques formées par cette méthode sont faibles. Mais, la polymérisation d'HCN permet d'obtenir diverses bases nucléotidiques en plus grande concentration (**schéma 3**).<sup>104,105</sup> Le tétramère d'HCN est formé dans une première étape (**réaction 1 du schéma 3**) puis est utilisé pour former le précurseur direct des bases puriques, l'AICN (le 4-aminoimidazole-5-carbonitrile) (**réaction 2 du schéma 3**).

<sup>100</sup> Oro, J. *Nature* **1961**, 191, 1193. DOI: 10.1038/1911193a0

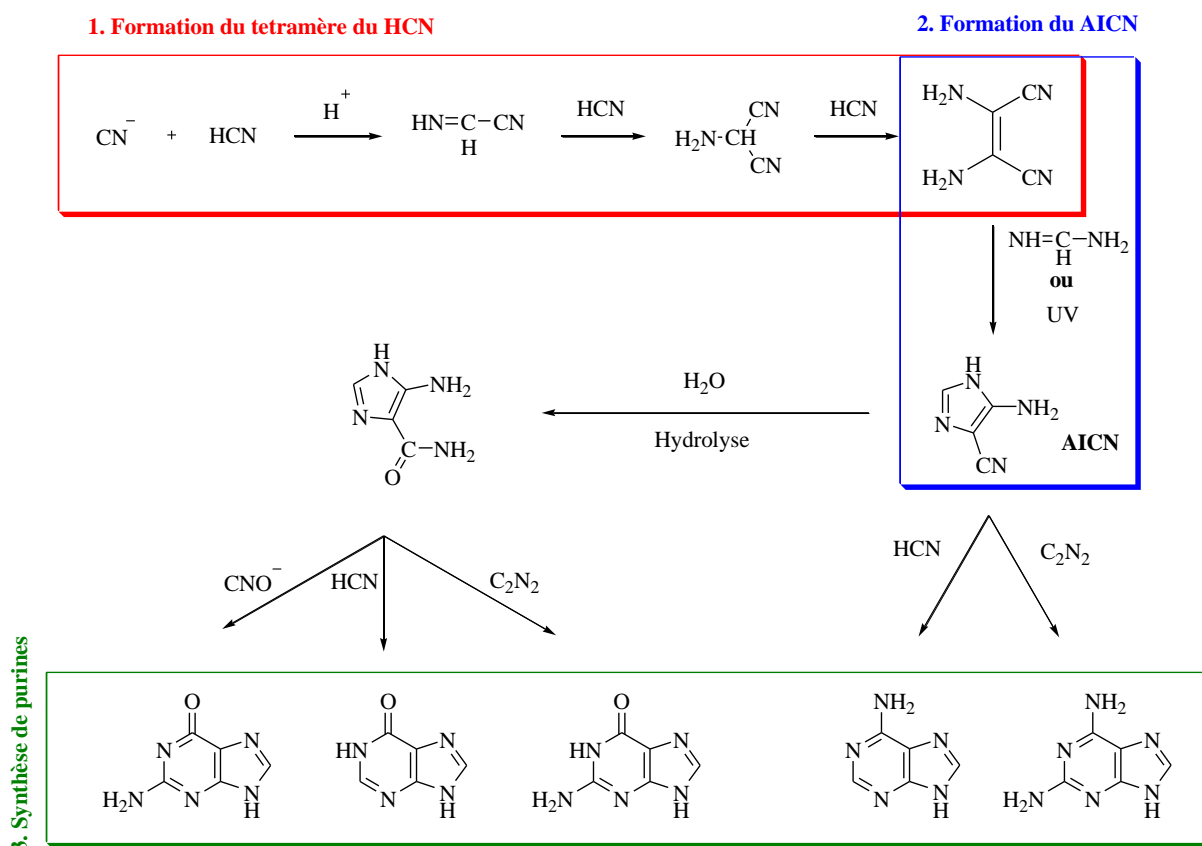
<sup>101</sup> Oro, J.; Kimball, A. P. *Arch. Biochem. Biophys.* **1961**, 94, 217. DOI:10.1016/0003-9861(61)90033-9

<sup>102</sup> Schwartz, A. W.; Joosten, H.; Voet, A. B. *Biosystems* **1982**, 15, 191. DOI:10.1016/0303-2647(82)90003-x

<sup>103</sup> Miyakawa, S.; Cleaves, H. J.; Miller, S. L. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2002**, 32, 195. DOI:10.1023/a:1016514305984

<sup>104</sup> Ferris, J. P.; Orgel, L. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 3829. DOI:10.1021/ja00968a028

<sup>105</sup> Sanchez R. A.; Ferris, J. P.; Orgel, L. E. *J. Mol. Biol.* **1968**, 38, 121. DOI:10.1016/0022-2836(68)90132-0



La formation du tétramère est facile, alors que la formation de l'AICN paraît plus problématique.

Une première proposition implique l'utilisation de la formamidine  $\text{HN}=\text{CH}-\text{NH}_2$ . Cependant, cette hypothèse ne semble pas envisageable dans des conditions prébiotiques car elle nécessiterait des concentrations d'ammoniac élevées.<sup>106</sup> Une seconde possibilité serait d'utiliser un processus photochimique d'isomérisation. Cette hypothèse aurait l'avantage d'être relativement indépendante des concentrations en ammoniac.<sup>104</sup>

La formation des bases puriques dans des conditions prébiotiques impliquerait alors à la fois, un processus de concentration par le froid et un processus d'isomérisation par rayonnement solaire.<sup>106</sup>

<sup>106</sup> Orgel, L. E. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **2004**, 39, 99. DOI:10.1080/10409230490460765



De même, l'adénine et la cytosine ont pu être obtenues en chauffant du formamide  $\text{HCONH}_2$ , dont la présence dans des conditions prébiotiques semble envisageable (schéma 4).<sup>107</sup>

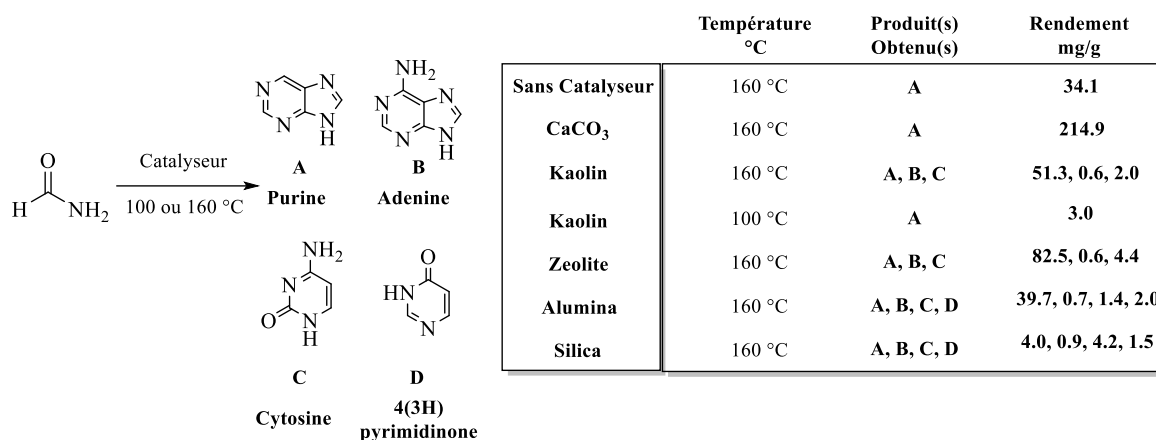


Schéma 4

Fontecilla a proposé un schéma (hypothétique) radicalement différent pour obtenir l'adénine. Selon lui, les purines et les pyrimidines ont été formées sur une surface minérale qui a plus tard été remplacées par l'ATP.<sup>108</sup>

Quant à la guanine, elle a été obtenue au sein d'un mélange gazeux d'azote, de monoxyde de carbone et d'eau porté brutalement à haute température puis refroidit tout aussi rapidement. Ce processus de " choc thermique " visait à simuler les conditions issues de l'impact de météorites avec l'atmosphère de la Terre primitive.<sup>109</sup>

Pour les nucléotides à base pyrimidique, Sutherland et son équipe sont parvenus à établir une voie de synthèse de l'acide uridylique et l'acide cytidylique. La clé de cette voie est un précurseur commun au ribose et la base azotée : le 2-aminooxazole qui est obtenu à partir de molécules organiques élémentaires : le glycéraldéhyde, le cyanimide, le cyanoacétaldéhyde, le cyanoacétylène et le phosphate inorganique (schéma 5).<sup>110,111</sup>

<sup>107</sup> Saladino, R.; Crestini, C.; Costanzo, G.; Negri, R.; Di Mauro, E. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9, 1249. DOI:10.1016/s0968-0896(00)00340-0

<sup>108</sup> Fontecilla-Camps, J. C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 42. DOI: 10.1002/anie.201808438

<sup>109</sup> Miyakawa, S.; Murasawa, K. I.; Kobayashi, K.; Sawaoka, A. B. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2000**, 30, 557. DOI:10.1023/A:1026587607264

<sup>110</sup> Anastasi, C.; Crowe, M. A.; Powner, M. W.; Sutherland, J. D. *Angew. Chem. Int.* **2006**, 45, 6176. DOI:10.1002/anie.200601267

## Introduction

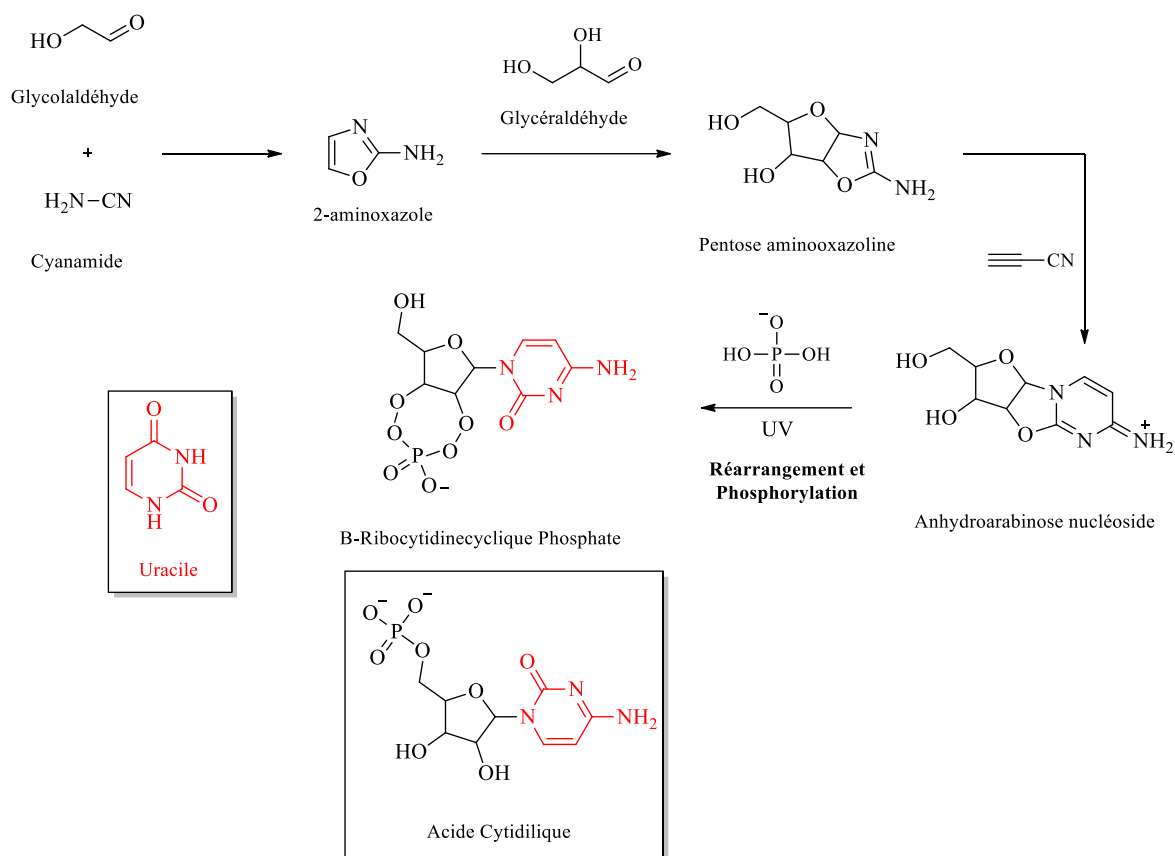


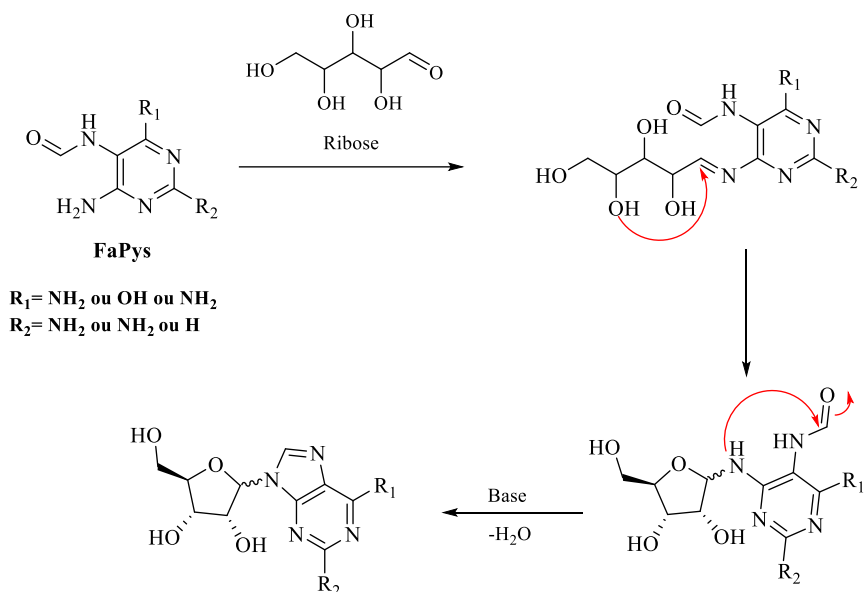
Schéma 5. Synthèse de dérivés de l'uracile par Sutherland et al.

Par ailleurs, Carell et al, ont étudié la synthèse des nucléosides obtenus avec de bons rendements à partir de la condensation de la formamidopyrimidine (**FaPys**) avec des sucres (**schéma 6**).<sup>112</sup>

<sup>111</sup> Powner, M. W.; Gerland, B.; Sutherland, J. D. *Nature* **2009**, 459, 239. DOI:10.1038/nature08013

<sup>112</sup> Becker, S.; Thoma, I.; Deutsch, A.; Gehrke, T.; Mayer, P.; Zipse, H.; Carell, T. *Science* **2016**, 352, 833.

## Introduction



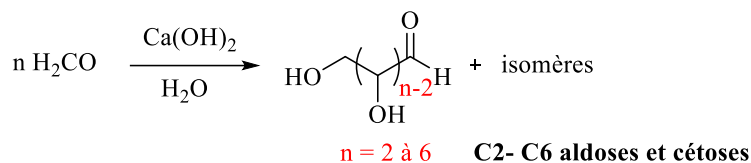
**Schéma 6**

Donc la synthèse prébiotique des bases nucléotidiques semble possible. Si on exclut les voies de Carell et Sutherland, il reste à voir la synthèse prébiotique des sucres (notamment du ribose) ainsi que la phosphorylation du ribose et l'accrochage d'une base à l'ensemble, à moins qu'il ne s'agisse d'abord de faire réagir sucre et base puis d'y adjoindre un phosphate pour synthétiser un nucléotide.

### b. Formation du ribose

La réaction de formose (ou réaction de Butlerow)<sup>113</sup> consiste à polymériser du formaldéhyde en présence de catalyseurs minéraux pour former un mélange de sucres. Cette réaction est d'un grand intérêt étant un processus auto-catalytique qui se déroule en solution aqueuse et qui convertit un substrat très simple (le formaldéhyde) en un mélange de molécules complexes, dont beaucoup sont des produits biochimiques importants.

La synthèse de Butlerow des sucres est généralement réalisée en solution alcaline (**schéma 7**).



**Schéma 7**

<sup>113</sup> Butlerow, A. *Compt. Rend. Acad. Sci.* **1861**, 53,145.

Par des réactions d'aldolisation, de rétro-aldolisation et de tautomérisation, des sucres se forment. Le premier produit de la polymérisation est le glycolaldéhyde, qui est ensuite converti en glycéraldéhyde et une variété de sucres trioses, tétroses, pentoses et hexoses.

Le ribose, élément essentiel à la formation de l'ARN, est généralement un produit mineur dans la synthèse de Butlerow,<sup>114</sup> mais Zubay a étudié le déroulement de la réaction catalysée par  $Pb^{2+}$ .<sup>115,116</sup> Il a montré qu'alors plus de 30% du formaldéhyde peut être converti en un mélange d'aldopentoses et a fourni des preuves suggérant que le ribose est le premier pentose formé, puis que les autres pentoses sont formés à partir de celui-ci par isomérisation catalysée par  $Pb^{2+}$ . Ces études suggèrent qu'une synthèse prébiotique satisfaisante du ribose est possible.

La production de ribose dans la réaction de formose dépend, au moins en partie, de la réaction du glycolaldéhyde avec le glycéraldéhyde.

Eschenmoser et ses collaborateurs ont montré que le mélange de produits de cette réaction peut être simplifié si le glycolaldéhyde et le glycéraldéhyde de départ sont remplacés par leurs monophosphates.<sup>117</sup> Eschenmoser a réussi à produire du 2,4-diphosphate ribose lors d'une réaction potentiellement prébiotique entre le glycolaldéhyde monophosphate et le formaldéhyde. Le pentose 2,4-diphosphate est ici le principal dérivé de sucre. En effet, dans ces réactions, les groupes phosphates empêchent les réarrangements caractéristiques des trioses, tétroses et pentoses dans des conditions alcalines qui conduisent directement ou indirectement à la complexité des produits dans la réaction de formose (**schéma 8**).<sup>118</sup>

---

<sup>114</sup> Decker, P.; Schweer, H.; Pohlmann, R. *J. Chromatog.* **1982**, 244, 281.

<sup>115</sup> Zubay, G. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1998**, 28, 13.

<sup>116</sup> Zubay, G.; Mui, T. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2001**, 31, 87.

<sup>117</sup> Mueller, D.; Pitsch, S.; Kittaka, A.; Wagner, E.; Wintner, C. E.; Eschenmoser, A. *Helv. Chim. Acta* **1990**, 73, 1410.

<sup>118</sup> Eschenmoser A. *Science* **1999**, 284, 2118.

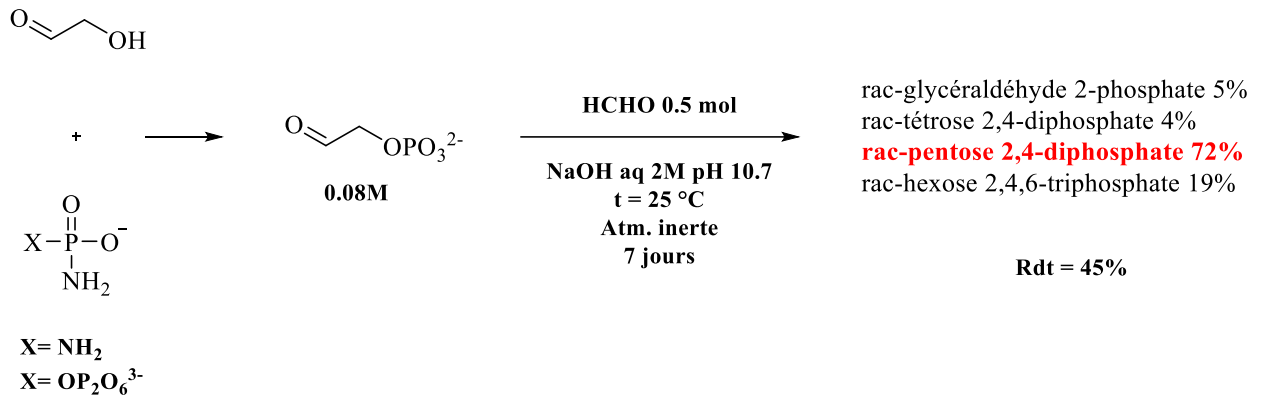


Schéma 8

### c. Phosphorylation des nucléosides

Les phosphates inorganiques sont la source de phosphate la plus plausible pour la synthèse prébiotique.<sup>119,120</sup> Ils sont abondants dans les roches et les minéraux. Sur Terre, le phosphore est présent aujourd'hui presque entièrement sous la forme de phosphate de calcium insoluble. Cela a probablement été vrai sur la Terre primitive (ce qui interroge sur la disponibilité des phosphates en solution dans l'océan).

Quant à la phosphorylation des nucléosides, l'adénosine monophosphate (AMP) peut être convertie en adénosine di et triphosphate (ADP et ATP) en présence de phosphates de calcium insolubles.<sup>121</sup> De même, les nucléosides peuvent être phosphorylés par chauffage à l'état solide avec des phosphates acides tels que  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ . Mais, ces réactions nécessitent des températures assez élevées et sont peu efficaces.<sup>122</sup>

<sup>119</sup> Schwartz, A. W. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1997**, 27, 505.

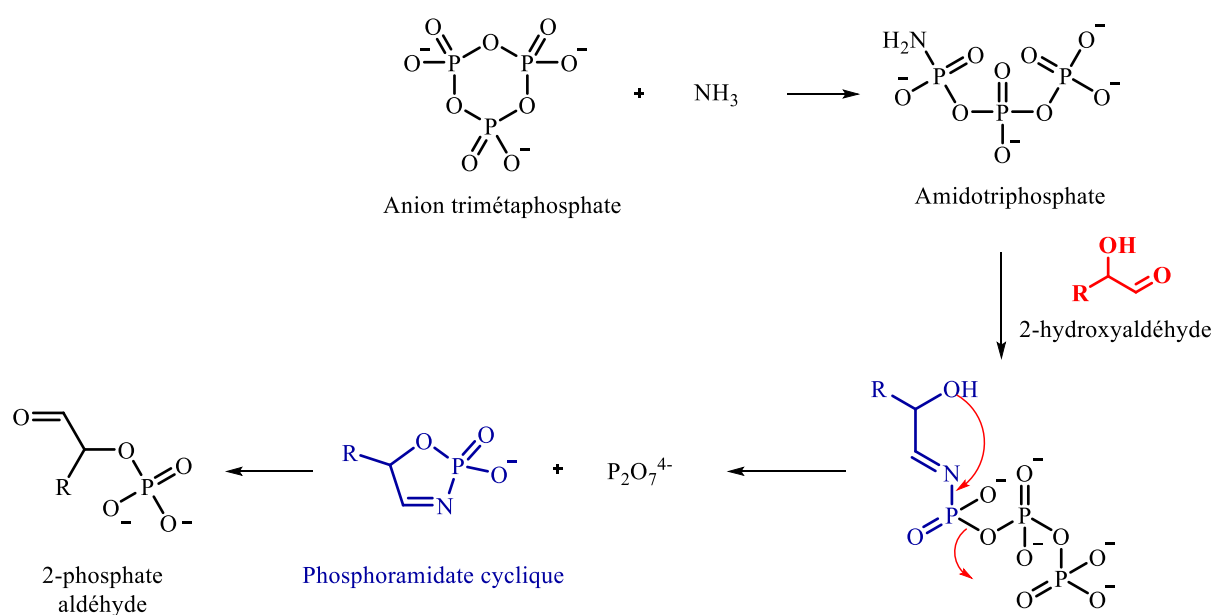
<sup>120</sup> Peyser, J. R.; Ferris, J. P. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2001**, 31, 363.

<sup>121</sup> Yamagata, Y. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1999**, 29, 511.

<sup>122</sup> Beck, A.; Lohrmann, R.; Orgel, L. E. *Science* **1967**, 157, 952.

Durant des essais de phosphorylation des nucléosides, des agents de condensation organiques tels que la cyanamide, le dimère de la cyanamide ou le cyanate ont été utilisés. Malheureusement, de telles réactions sont généralement inefficaces en solution aqueuse.<sup>123</sup> Cependant, l'urée et des amides tels que l'acétamide catalysent la réaction, surtout en utilisant le phosphate d'ammonium. Vraisemblablement, le phosphate d'ammonium est particulièrement efficace dans cette réaction car il perd de l'ammoniac lors du chauffage et génère ainsi un environnement plus acide. Ainsi, les nucléosides peuvent être convertis en un mélange complexe de produits contenant un ou plusieurs groupe phosphate avec un excellent rendement, en chauffant à des températures modérées et en présence de phosphate d'ammonium et d'urée.<sup>124</sup>

De même, les amines réagissent très facilement avec le trimétaphosphate pour donner des *N*-triphosphates. Une modification de cette réaction fournit une procédure simple pour phosphoryler les 2-hydroxyaldéhydes (**schéma 9**).<sup>125</sup>



**Schéma 9.** Phosphorylation du 2-hydroxyaldéhyde par l'amidotriphosphate

<sup>123</sup> Lohrmann, R.; Orgel, L. E. *Science* **1968**, 161, 64.

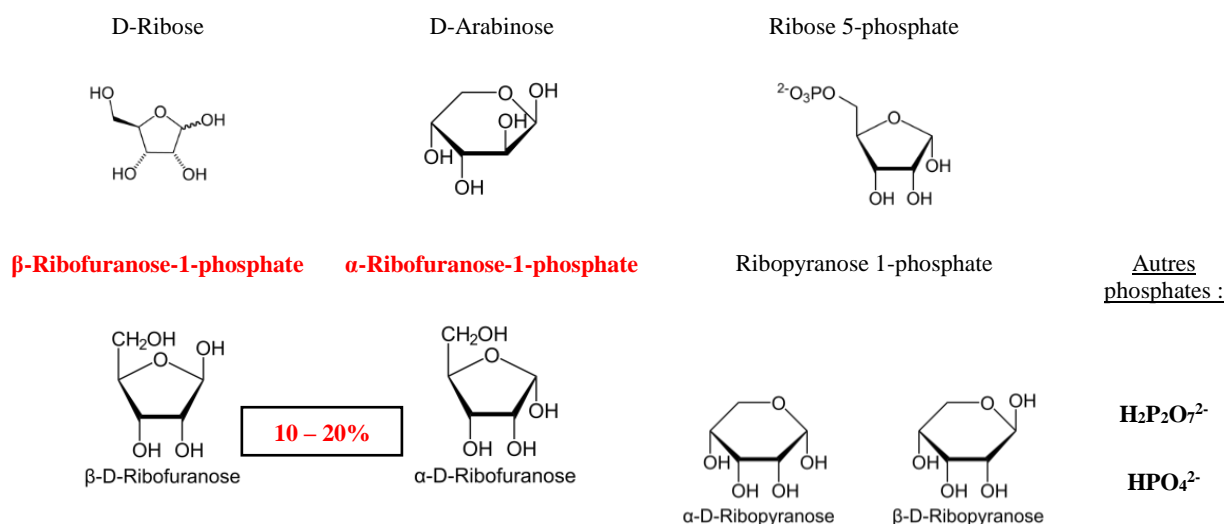
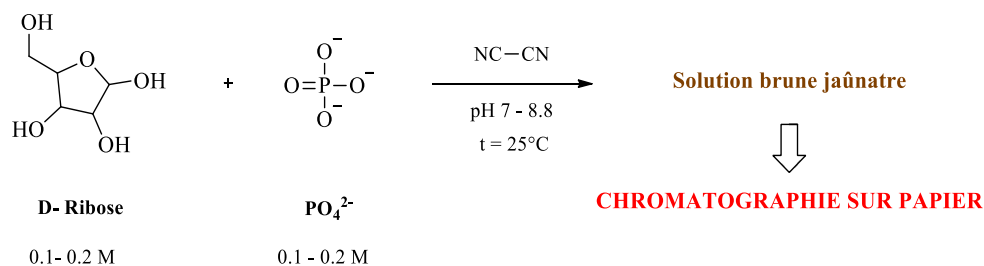
<sup>124</sup> Lohrmann, R.; Orgel, L. E. *Science* **1971**, 171, 490.

<sup>125</sup> Krishnamurthy, R.; Guntha, S.; Eschenmoser, A. *Angew. Chem. Int.* **2000**, 39, 2281.

La réaction de l'ammoniac avec l'anion trimétaphosphate donne un amidotriphosphate qui peut former une base de Schiff avec le groupe carbonyle de l'hydroxyaldéhyde. Ensuite, le groupe 2-hydroxyle attaque le phosphate, libérant le pyrophosphate et formant un phosphoramidate cyclique. Enfin, le phosphoramidate cyclique subit une hydrolyse pour donner le 2-phosphate aldéhyde. Cette réaction est intéressante en chimie prébiotique car le phosphate du glycolaldéhyde et le glycéraldéhyde-2-phosphate sont des molécules potentiellement prébiotiques.<sup>111</sup>

La phosphorylation directe du ribose a également été étudiée. La réaction du ribofuranose-1-phosphate avec les bases nucléosidiques est une voie plausible vers les nucléosides.

De même, le ribose peut être phosphorylé directement avec du phosphate inorganique en solution aqueuse en utilisant du cyanogène comme agent de condensation (**schéma 10**).<sup>126</sup>



**Schéma 10.** Produits obtenus à partir de la réaction entre le ribose et le phosphate inorganique

<sup>126</sup> Halmann, M.; Sanchez, R. A.; Orgel, L. E. *J. Org. Chem.* **1969**, 34, 3702.

#### d. Polymérisation des oligonucléotides

Afin de former un brin d'ARN, les nucléotides formés devaient se polymériser. Des résultats expérimentaux ont montré que certains minéraux pouvaient conduire à l'accumulation d'oligonucléotides longs si les monomères sont disponibles.<sup>127,128</sup>

Ferris et ses collaborateurs ont étudié l'assemblage d'oligomères d'ARN à la surface de la montmorillonite (argile de Montmorillon dans la ville de Vienne en France).<sup>129,130</sup>

De même, des études ont suggéré que la polymérisation des brins d'ARN, pourrait avoir lieu dans les vents hydrothermaux sur la Terre primitive.<sup>131</sup> Par la suite, les oligonucléotides pouvaient proliférer.

D'autre part, Orgel et ses collègues ont montré qu'à partir de monomères activés, il est possible dans certaines conditions de copier un grand nombre de séquences d'oligonucléotides contenant des nucléotides différents en l'absence d'enzymes.<sup>132,133,134,135</sup>

Nous pouvons donc accepter que les brins d'ARN pouvaient se former sur la Terre primitive.

---

<sup>127</sup> Ferris, J. P.; Hill, A. R.; Liu, R.; Orgel, L. E. *Nature* **1996**, 381, 59.

<sup>128</sup> Paecht-Horowitz, M.; Berger, J.; Katchalsky, A. *Nature* **1970**, 7, 847.

<sup>129</sup> Ferris, J. P. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **1987**, 52, 29. DOI:10.1101/sqb.1987.052.01.006

<sup>130</sup> Ferris, J. P.; Ertem, G. *Science* **1992**, 257, 1387.

<sup>131</sup> Pearce, B. K. D.; Pudritz, R. E.; Semenov, D. A.; Henning, T. K. *PNAS* **2017**, 114, 11327.

<sup>132</sup> Hill, A. R.; Orgel, L. E.; Wu, T. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1993**, 23, 285.

<sup>133</sup> Inoue, T.; Orgel, L. E. *Science* **1983**, 219, 859.

<sup>134</sup> Joyce, G. F.; Orgel, L. E. *J. Mol. Biol.* **1986**, 188, 433.

<sup>135</sup> Orgel, L. E. *Nature* **1992**, 358, 203.



## 2. Les ribozymes à l'origine du monde catalytique

Les ribozymes sont des brins d'ARN doués de propriétés catalytiques. Ils furent découverts dans les années 1980.

On pensait alors qu'au sein des organismes vivants, les seules molécules douées de propriétés catalytiques étaient des protéines. La découverte de brins d'ARN capables de catalyser une réaction de ligation d'ARN ribosomal chez le protozoaire *Tetrahymena Thermophila*<sup>136</sup>, prouva le contraire. D'autres ribozymes naturels furent aussi découverts, par exemple chez l'*E. Coli* ou le *B. Subtilis*.<sup>137</sup>

Des synthèses de telles molécules ont été réalisées à partir de séquences d'ARN totalement aléatoires. Les ribozymes étaient capables de catalyser la ligation de deux brins d'ARN préalablement alignés sur une matrice.<sup>138</sup> Leur efficacité a été considérablement améliorée par la suite, au point d'être comparable avec celle des ligases, des enzymes protéiniques.<sup>139</sup>

Plus spectaculaire encore, est la synthèse d'un ribozyme capable de s'accrocher à une séquence aléatoire d'ARN et de catalyser la polymérisation de plus d'une douzaine de nucléotides complémentaires<sup>140</sup> : les propriétés de ce ribozyme long de 189 nucléotides rendent alors crédible la possibilité de synthétiser l'équivalent de l'ARN réplique (ou le RdRp : polymérase ARN ARN-dépendante), qui sont des enzymes protéiniques capables de catalyser la réplique de brins d'acide nucléique.

Ces résultats prouvent que les ribozymes catalysent des réactions spécifiques d'une façon équivalente à celle des enzymes de protéines et que l'ARN peut se doter des caractéristiques catalytiques.

---

<sup>136</sup> Grabowski, P. J.; Zaug, A. J.; Cech, T. R. *Cell*. **1981**, 23, 467. DOI:10.1016/0092-8674(81)90142-2

<sup>137</sup> Guerrier-Takada, C.; Gardiner, K.; Marsh, T.; Pace, N.; Altman, S. *Cell*. **1983**, 35, 849. DOI:10.1016/0092-8674(83)90117-4

<sup>138</sup> Bartel, D.; Szostak, J. W. *Science* **1993**, 261, 1411.

<sup>139</sup> Eklund, E.; Szostak, J. W.; Bartel, D. *Science* **1995**, 269, 364.

<sup>140</sup> Johnston, W. K.; Unrau, P. J.; Lawrence, M. S.; Glasner, M. E.; Bartel, D. P. *Science* **2001**, 292, 1319. DOI:10.1126/science.1060786.

### 3. Les lipides

Il est essentiel d'expliquer la formation de vésicules prébiotiques, ancêtres des membranes des cellules vivantes que nous connaissons aujourd'hui. Il s'agit de comprendre comment des molécules peuvent s'assembler, en solution aqueuse, en des objets de forme sphérique, qu'il s'agisse de coacervats résultant de la condensation de molécules (comme déjà vu avec Oparin en 1936<sup>6</sup> et Fox, Harada et Kendrick en 1959<sup>141</sup>) ou de vésicules d'acides gras amphiphiles<sup>142,143</sup> ou de phospholipides.<sup>144</sup>

Les molécules d'acides gras sont composées d'une tête compacte hydrophile et d'une longue queue hydrophobe. Leur mise en solution aqueuse provoque la déprotonation de leur tête. En fonction de leur concentration, du pH de la solution et des ions présents, les molécules d'acides gras déprotonées ont tendance à adhérer les unes aux autres, grâce d'une part, aux liaisons hydrogène entre leurs têtes et d'autre part, aux interactions de van der Waals entre leurs queues hydrocarbonées. Ainsi des bi-couches se forment, les têtes hydrophiles en contact avec la solution aqueuse et les queues hydrophobes tournées vers l'intérieur du compartiment. La meilleure stabilité thermodynamique est obtenue avec une forme globale sphérique.<sup>145,146</sup>

Il est, en fait, possible que des lipides aient précédé les protéines et les acides nucléiques, car ils peuvent s'auto-assembler sans avoir besoin d'enzymes pour former des structures cellulaires. Ils forment des vésicules, précurseurs potentiels de protocellules.<sup>147</sup> La structure formée fournit une membrane perméable aux acides aminés et aux phosphates et protège l'intérieure de la cellule du monde extérieur.<sup>148</sup>

---

<sup>141</sup> Fox, S. W.; Harada, K.; Kendrick, J. *Science* **1959**, 129, 1221. DOI:10.1126/science.129.3357.1221-a

<sup>142</sup> Hargreaves, W. R.; Deamer, D. W. *Biochemistry* **1978**, 17, 3759. DOI:10.1021/bi00611a014.

<sup>143</sup> Szostak, J.; Bartel, D.; Luisi, P. *Nature* **2001**, 409, 387. DOI:10.1038/35053176

<sup>144</sup> Fiore, M.; Madanamoothoo, W.; Berlioz-Barbier, A.; Maniti, O.; Girard-Egrot, A.; Buchet, R.; Strazewski, P. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, 15, 4231.

<sup>145</sup> Ourisson, G.; Dannen muller, O.; Desqubry, L.; Nakatami, Y. *La recherche* **2000**, 336, 29.

<sup>146</sup> Monnard, P.-A.; Deamer, D. W. *Anat. Rec.* **2002**, 268, 196. DOI: 10.1002/ar.10154

<sup>147</sup> Lopez, A.; Fiore, M. *Life* **2019**, 9, 49.

<sup>148</sup> Chakrabarti, A.C.; Deamer, D.W. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, 1111, 171.

La formation spontanée de vésicules sphériques double-couches et semi-perméables pouvant croître, fusionner, se diviser et engendrer de nouvelles vésicules est également possible.<sup>149</sup> Par exemple, dans des bonnes conditions d'hydratation (pH, température, concentration en sel, présence de biopolymères) et en présence de co-tensioactifs possiblement prébiotiques, un mélange de composés amphiphiles (tels que des acides gras, des longues chaînes d'alcools, des mono et di-alkylphosphates) a abouti à la formation de bicouches membranaires et de vésicules géantes multilamellaires.<sup>150</sup>

Les phospholipides sont des molécules pouvant former des structures à bi-couches. Ils ont pu être obtenus à partir du glycérol.<sup>151,152</sup>

De même, la phosphorylation directe de mono et de di-acylglycérol a permis d'obtenir des phospholipides.<sup>150</sup>

Il est de plus en plus probable que les vésicules lipidiques telles que les liposomes ont été des intermédiaires entre la chimie organique et les premières cellules capables de croissance et de prolifération.<sup>153</sup>

#### 4. Synthèse d'acides aminés et de peptides

La présence des acides aminés permet la synthèse d'enzymes dans l'organisme et donc la catalyse des diverses réactions nécessaires à la survie. Les travaux sur la synthèse prébiotique de ces molécules sont nombreux, surtout après la découverte de la formation d'acides aminés dans l'expérience de Miller.

Des acides aminés, comme déjà indiqué, ont pu arriver de l'espace à partir des objets extraterrestres, alors que sur Terre, les acides aminés pouvaient être synthétisés à partir de matériaux présents dans l'océan et l'atmosphère primitifs. La synthèse prébiotique des acides aminés se basent essentiellement soit sur la réaction de Strecker, soit sur des réactions de transamination.

---

<sup>149</sup> Hanczyc, M. M.; Szostak, J. W. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, *6*, 660. DOI: 10.1016/j.cbpa.2004.10.002

<sup>150</sup> Fayolle, D.; Altamura, E.; D'Onofrio, A.; Madanamothoo, W.; Fenet, B.; Mavelli, F.; Buchet, R.; Stano, P.; Fiore, M.; Strazewski, P. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 18106.

<sup>151</sup> Fiore, M. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 3068.

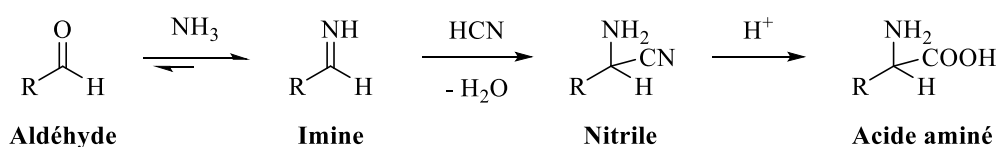
<sup>152</sup> Fiore, M.; Strazewski, P. *Life* **2016**, *6*, 17.

<sup>153</sup> Luisi, P. L.; Walde, P.; Oberholzer, T. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **1999**, *4*, 33.

### a. Réaction de Strecker

Adolph Strecker, a publié un procédé chimique formant des acides aminés à partir d'aldéhydes ou de cétones en 1850.<sup>154</sup> L'utilisation d'ammoniac ou de sels d'ammonium dans cette réaction donne des acides aminés. L'utilisation d'amines primaires et secondaires à la place de l'ammonium donne des acides aminés *N*-substitués.<sup>155</sup> La synthèse classique de Strecker conduit à des mélanges racémiques d'acides  $\alpha$ -aminés, mais plusieurs procédures alternatives plus spécifiques, utilisant des auxiliaires chiraux<sup>156</sup> ou des catalyseurs chiraux,<sup>157,158,159</sup> ont été développées.<sup>160,161</sup>

Le protocole original de Strecker utilisait  $\text{NH}_3$  et  $\text{HCN}$ . La réaction débute par la condensation de  $\text{NH}_3$  avec l'aldéhyde pour donner l'imine. Par addition d'ion cyanure à cette imine, un  $\alpha$ -aminonitrile se forme. Celui-ci est ensuite hydrolysé pour donner l'acide  $\alpha$ -aminé (**schéma 11**).



**Schéma 11**

Le mécanisme de cette réaction a été aussi étudié par calcul théorique.<sup>162</sup>

<sup>154</sup> Strecker, A. *Annal. Chem. Pharm.* **1850**, 75, 27. DOI:10.1002/jlac.18500750103

<sup>155</sup> Strecker, A. *Annal. Chem. Pharm.* **1854**, 91, 349. DOI:10.1002/jlac.18540910309

<sup>156</sup> Davis, F. A.; Reddy, R. E.; Portonovo, P. S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 9351. DOI:10.1016/S0040-4039(00)78540-6

<sup>157</sup> Chavarot, M.; Byrne, J. J.; Chavant, P.-Y.; Vallée, Y. *Tetrahedron Asymmetry* **2001**, 12, 1147.

<sup>158</sup> Ishitani, H.; Komiyama, S.; Hasegawa, Y.; Kobayashi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 762. DOI:10.1021/ja9935207

<sup>159</sup> Huang, J.; Corey, E. J. *Org. Lett.* **2004**, 6, 5027. DOI:10.1021/ol047698w

<sup>160</sup> Harada, K. *Nature* **1963**, 200, 1201. DOI:10.1038/2001201a0

<sup>161</sup> Iyer, M. S.; Gigstad, K. M.; Namdev, N. D.; Lipton, M. J. *Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 4910. DOI:10.1021/ja952686e

<sup>162</sup> Arnaud, R.; Adamo, C.; Cossi, M.; Milet, A.; Vallée, Y.; Barone, V. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 324. DOI: 10.1021/ja9911059

La réaction de Strecker a été proposée comme une voie prébiotique pour la synthèse des acides aminés. Ainsi, la glycine et l'alanine, détectées durant l'expérience de Miller, seraient les produits obtenus à partir d'une réaction de Strecker appliquée au formaldéhyde et à l'acétaldéhyde respectivement (schéma 12).<sup>163</sup>

#### Réaction de Strecker

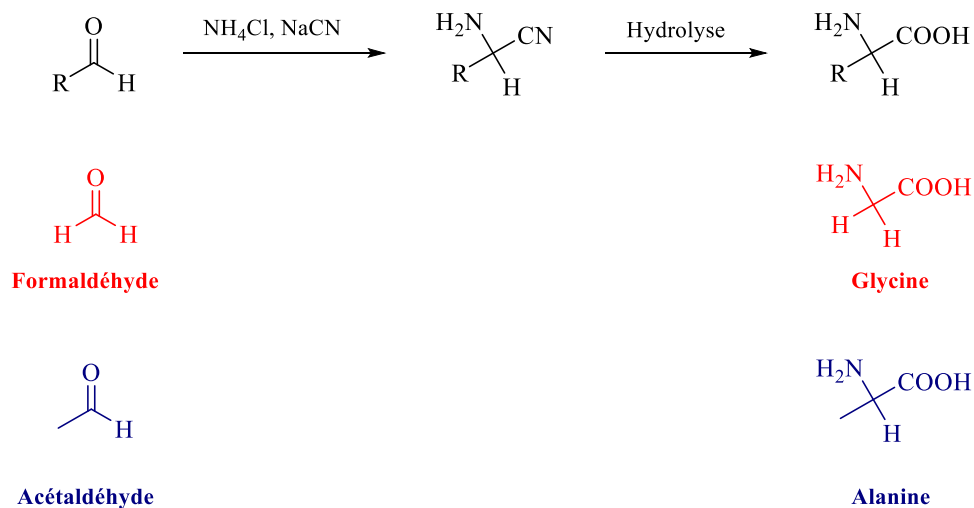


Schéma 12

La synthèse de la méthionine<sup>164</sup> consiste en une réaction de Strecker appliquée sur le 3-méthylthiopropional, avec du KCN et NH<sub>4</sub>Cl. Van Trump et Miller<sup>18</sup> ont suggéré que le 3-méthylthiopropional pourrait se former à partir du méthane-thiol et de l'acroléine dans une atmosphère primitive riche en H<sub>2</sub>S (schéma 13).<sup>165</sup>

<sup>163</sup> Miller, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 2351.

<sup>164</sup> Barger, G.; Coyne, F. P. *Biochem. J.* **1928**, 22, 1417.

<sup>165</sup> Cleaves, H. J. *Monatsh. Chem.* **2003**, 134, 585. DOI: 10.1007/s00706-002-0528-1

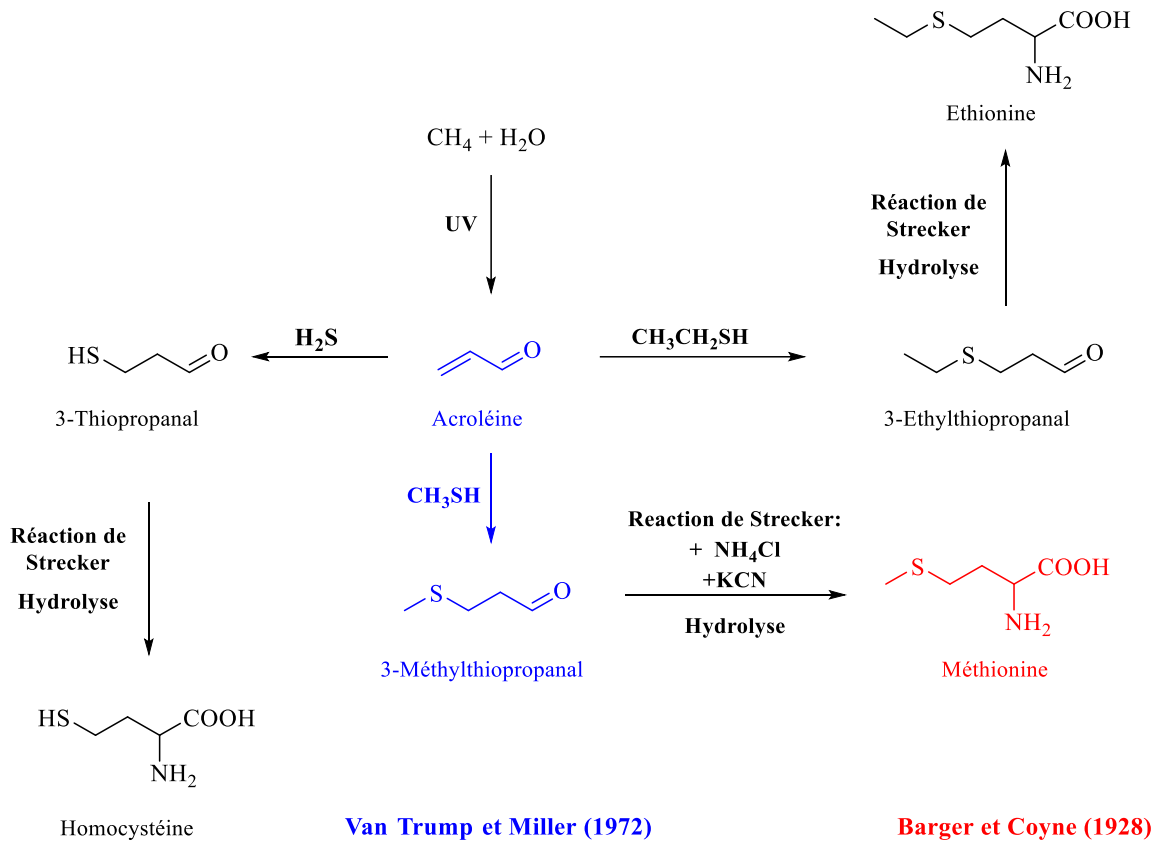


Schéma 13. Synthèse du 3-méthylthiopropanal et de la méthionine

L'acroléine, mis en jeu dans les réactions, peut aussi être formée à partir d'une réaction entre le formaldéhyde et l'acétaldéhyde. L'acroléine joue un rôle essentiel dans la formation de l'acide glutamique, de l'homocystéine et de l'homosérine (schéma 14).<sup>18</sup>

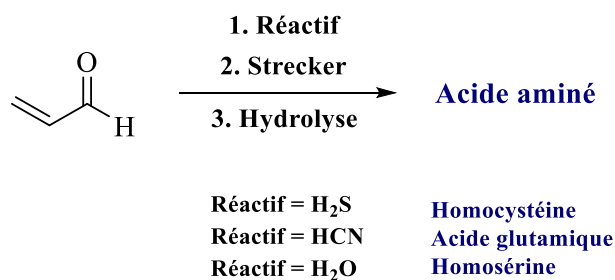


Schéma 14

Il a été aussi suggéré, que la réaction du thiocyanate d'ammonium, de la thiourée et du thiacétamide (qui sont tous produits à partir de décharges électriques agissant sur  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , et  $\text{H}_2\text{S}$ <sup>166</sup>) avec du formaldéhyde, peut conduire à la production de glycine, de cystéine et de cystine.<sup>167,168</sup>

D'autre part, la réaction du formaldéhyde avec de l'hydroxylamine dans un milieu marin, chauffé à 105 °C à pH 5.5, a donné non seulement de la glycine, mais aussi une série de dérivés de la glycine, qui après hydrolyse acide, redonnent de la glycine (**figure 9**).<sup>169</sup>

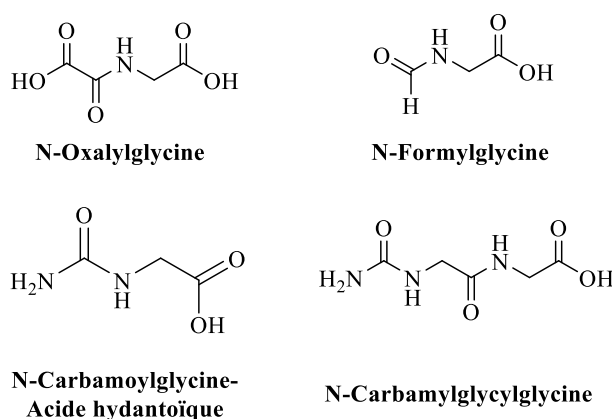


Figure 9

### b. Réaction de transamination

Une seconde réaction permettant la synthèse d'acides aminés est **la réaction de transamination (schéma15)**. Ce processus est couramment utilisé dans la biologie. Elle consiste en l'échange d'une fonction amine primaire entre un acide  $\alpha$ -aminé et un  $\alpha$ -cétoacide.

En biologie, cette réaction est catalysée par une enzyme, une transaminase. Diverses études ont été publiées sur la possibilité de synthèse prébiotique des acides aminés par cette voie sans recours aux enzymes.

<sup>166</sup> Heyns, K.; Walter, W.; Meyer, E. *Naturwissenschaften* **1957**, 44, 385. DOI: 10.1007/BF00603042

<sup>167</sup> Herrera, A. L. *Science* **1942**, 96,14. DOI:10.1126/science.96.2479.14

<sup>168</sup> Perezgasga, L.; Silva, E.; Lazcano, A.; Negrón-Mendoza, A. *Int. J. Astrobiol.* **2003**, 2, 301. DOI:10.1017/S1473550403001691

<sup>169</sup> Hatanaka, H.; Egami, F. *Bull. Chem. Soc.* **1977**, 50, 1147. DOI: 10.2183/pjab.54.10

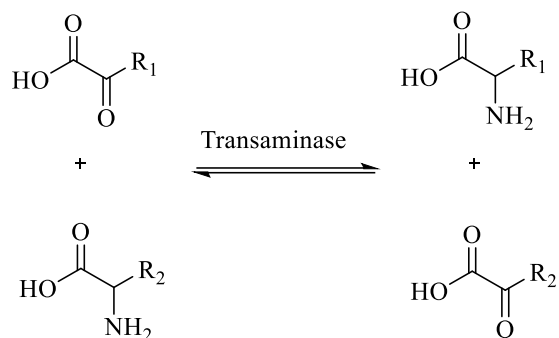


Schéma 15. Réaction de transamination

Des transaminations non enzymatiques ont été publiées en 1953, permettant l'obtention de la glycine à partir du couple glutamine/glutamate et de l'acide glyoxylique à température ambiante dans une solution tampon de phosphate (schéma 16).<sup>170</sup>

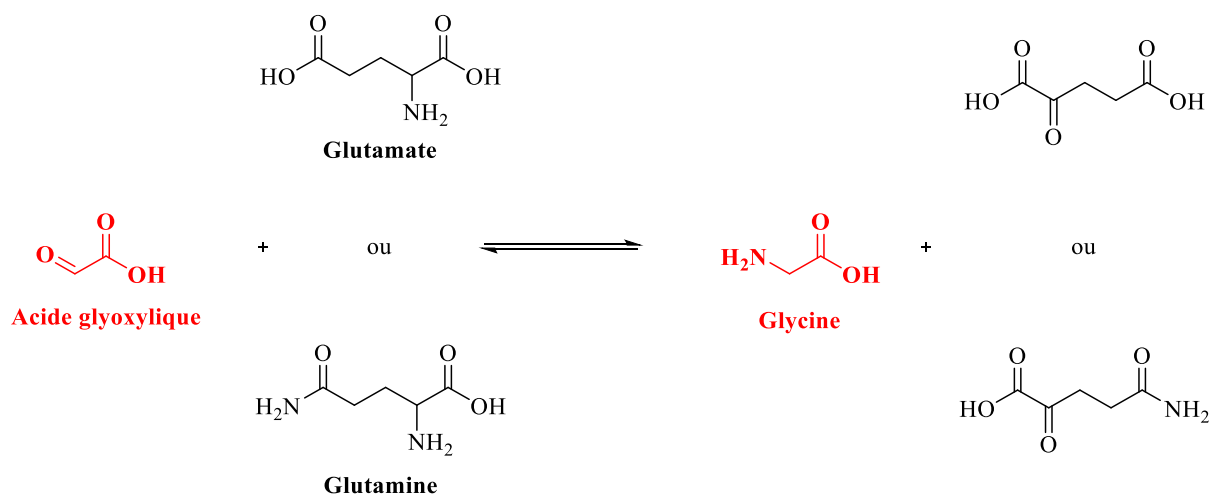


Schéma 16. Formation de la glycine par transamination

Des réactions de transamination similaires avec d'autres cétoacides se sont avérées, plus tard, être favorisées par des ions métalliques tels que le  $\text{Fe}^{2+}$ .<sup>171,172</sup>

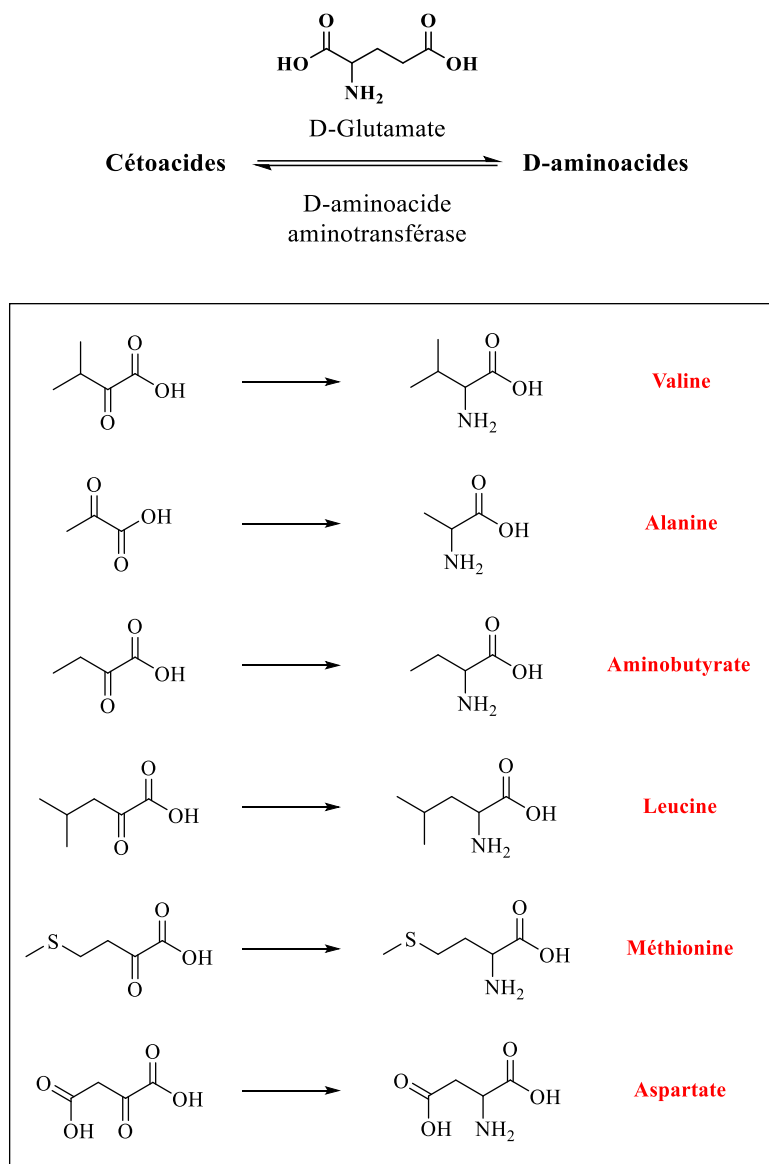
<sup>170</sup> Nakada, H. I.; Weinhouse, S. *J. Biol. Chem.* **1953**, 204, 831.

<sup>171</sup> Meisch, H.-U.; Hoffmann, H.; Reinle, W. *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.* **1978**, 33, 623. DOI:10.1515/znc-1978-9-1003

<sup>172</sup> Holanda, M. I. D.; Krumholz, P.; Chum, H. L. *Inorg. Chem.* **1976**, 15, 890. DOI: 10.1021/ic50158a031



Nakajima et al. ont synthétisé énantio-sélectivement plusieurs acides aminés par des réactions catalysées par la D-amino-transférase, en utilisant le D-glutamate comme donneur d'amine. Les énantiomères D-valine, D-alanine, D- $\alpha$ -aminobutyrate, D-leucine, D-méthionine et D-aspartate ont été obtenus à partir des  $\alpha$ -cétoacides correspondants avec un rendement de plus de 80% (**schéma 17**).<sup>173,174</sup>

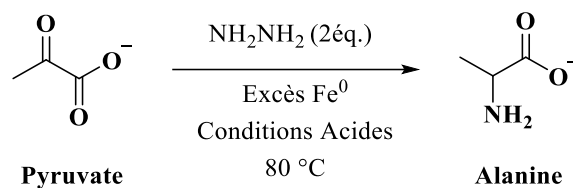


**Schéma 17.** Formation d'acides aminés par transamination

<sup>173</sup> Nakajima, N.; Tanizawa, K.; Tanaka, H.; Soda, K. *J. Biotechnol.* **1988**, 8, 243. DOI: 10.1016/0168-1656(88)90006-5.

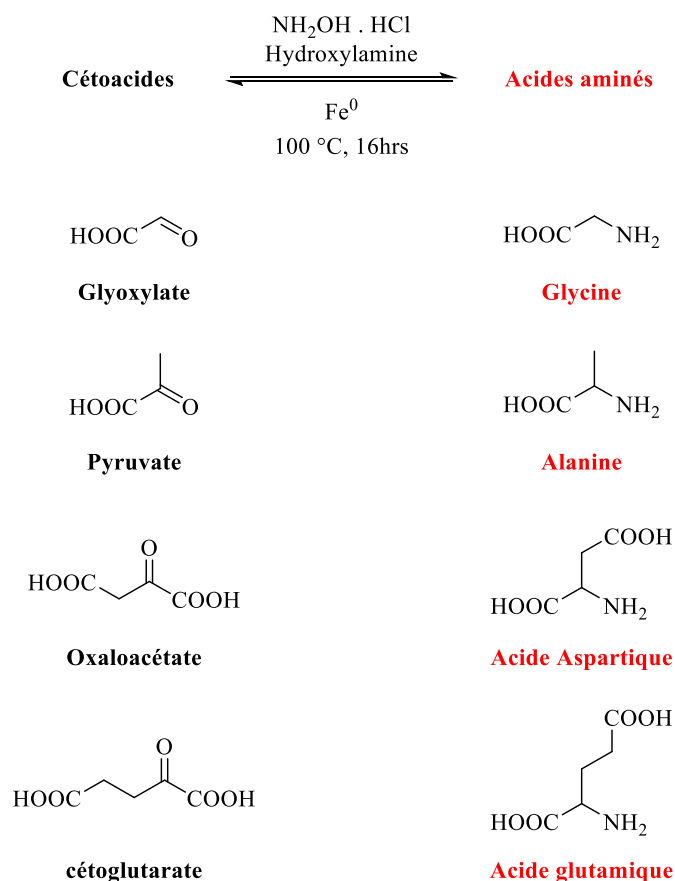
<sup>174</sup> Kitadai, N.; Nakamura, R.; Yamamoto, M.; Takai, K.; Yoshida, N.; Oono, Y. *Sci. Adv.* **2019**, 5. DOI: 10.1126/sciadv.aav7848

Moran et al. ont synthétisé de l'alanine (rdt = 97%) à partir de pyruvate en utilisant l'hydrazine comme source d'azote (**schéma 18**).<sup>175</sup>



**Schéma 18.** Formation de l'alanine à partir du pyruvate

Dans des conditions plus acides (pH 4.5 - 5.7), en utilisant l'hydroxylamine comme source d'azote, de la glycine, de l'alanine, de l'acide aspartique et de l'acide glutamique ont été obtenus à partir de leurs précurseurs  $\alpha$ -cétoacides (**schéma 19**).<sup>176</sup>



**Schéma 19**

<sup>175</sup> Muchowska, K. B.; Varma, S. J.; Chevallot-Beroux, E.; Lethuillier-Karl, L.; Li, G.; Moran, J. *Nat. Ecol. Evol.* **2017**, 1, 1716.

<sup>176</sup> Muchowska, K. B.; Varma, S. J.; Moran, J. *Nature* **2019**, 569, 104.

Plusieurs réactions plausiblement prébiotiques permettent donc la synthèse d'acides aminés sans avoir recours aux enzymes. Mais qu'en est-il pour la polymérisation de ces derniers et la formation des liaisons peptidiques ?

### c. Synthèse de peptides

De nos jours, l'ATP est utilisé pour activer la polymérisation des acides aminés. Il fournit l'énergie nécessaire à la formation de liaisons peptidiques dans les systèmes vivants. Dans un modèle primitif, des processus plus simples doivent être envisagés.

Par exemple, une polymérisation directe thermique des acides aminés entraîne la formation des liaisons peptidiques dans une solution contenant des acides aminés.<sup>177</sup>

Des cycles de chauffage et de refroidissement "Wet-Dry cycles" permettent aussi la polymérisation des acides aminés. En effet, si l'eau est indispensable à la vie, elle n'est pas favorable au rassemblement des molécules, à l'élongation de longs polymères et à la formation de macromolécules qui nécessite l'élimination de molécules d'eau, d'où l'utilisation de cycles "Wet-Dry" pour favoriser la formation des peptides.<sup>178</sup>

D'autre part, le cristallographe anglais Desmond Bernal, fût l'un des premiers, dès 1949, à proposer l'intervention des surfaces minérales au cours des premières biosynthèses.<sup>9</sup> Des surfaces minérales, comme les argiles, ont peut-être joué un rôle dans la condensation catalytique hétérogène des acides aminés.<sup>179,180,181</sup>

Et ainsi, Katchalski et al. réalisèrent dans les années 1970, des polymérisations de peptides sur la montmorillonite.<sup>128</sup> En effet, l'argile est très abondante sur Terre. Elle est constituée d'un empilement de couches fines. Entre ces couches peuvent se glisser de petites molécules organiques, ce qui permet une adsorption importante.

---

<sup>177</sup> Fox, S. W.; Harada, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 3745.

<sup>178</sup> Campbell, T. D.; Febrian, R.; McCarthy, J. T.; Kleinschmidt, H. E.; Forsythe, J. G.; Bracher, P. J. *Nat. Commun.* **2019**, 10, 4508.

<sup>179</sup> Kitadai, N. *Viva Origino* **2008**, 36, 69.

<sup>180</sup> Zaia, D. A. M. *Amino Acids* **2004**, 27, 113.

<sup>181</sup> Gillams, R. J.; Jia, T. Z. *Life* **2018**, 8, 10.

L'argile est alors un catalyseur très efficace pour de nombreuses réactions organiques, et aurait donc pu permettre la polymérisation des acides aminés (et/ou des acides nucléiques).<sup>182</sup>

Des études ont été effectuées par Lambert et al. sur la polymérisation des acides aminés et la formation de peptides sur différentes surfaces minérales telles que les oxydes<sup>183,184</sup> et la silice<sup>185,186</sup>. Avec la leucine et l'acide glutamique, par exemple, sur SiO<sub>2</sub>, des polypeptides ont été obtenus par activation thermique à 160 °C, avec une sélectivité forte pour la formation de longs peptides au lieu de dipeptides cycliques<sup>187</sup>. De même, la Montmorillonite présente une sélectivité d'absorption et de polymérisation envers un mélange d'acide glutamique et d'arginine. L'arginine, présente sous forme cationique H<sub>2</sub>Arg<sup>+</sup>, est dans ce cas plus susceptible de s'absorber sur la Montmorillonite que l'acide glutamique, présent sous forme anionique H<sub>2</sub>Glu<sup>-</sup>. Cette sélectivité d'absorption permet de présenter un scénario plausiblement prébiotique pour concentrer les acides aminés à partir d'une solution diluée.<sup>188</sup>

Il a été aussi proposé que les acides aminés peuvent être activés et convertis en peptides dans l'eau, à chaud et dans des conditions anaérobies, en présence de NiS, FeS, CO et H<sub>2</sub>S (ou CH<sub>3</sub>SH), donc dans des conditions géothermiques.<sup>189</sup> Notamment, Wächtershäuser avec sa théorie du monde fer-soufre, propose que de nombreuses réactions de synthèse d'acides aminés et de peptides aient pu avoir lieu à la surface de la pyrite (FeS<sub>2</sub>), présents dans les roches volcaniques ou dans les vents hydrothermaux.<sup>190</sup> Rusell et Hall ont aussi proposé que la vie ait émergé dans des bulles de monosulfure de fer, qui auraient pu fonctionner comme des membranes primitives dans l'océan.<sup>88</sup>

---

<sup>182</sup> Brack, A. *Dev. Clay Sci.* **2006**, 1, 379.

<sup>183</sup> Lambert, J.-F.; Jaber, M.; Georgelin, T.; Stievano, L. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, 15, 13371.

<sup>184</sup> Meng, M.; Stievano, L.; Lambert, J.-F. *Langmuir* **2004**, 20, 914.

<sup>185</sup> Bouchoucha, M.; Jaber, M.; Onfroy, T.; Lambert, J.-F.; Xue, B. *J. Phys. Chem.* **2011**, 115, 21813.

<sup>186</sup> Georgelin, T.; Jaber, M.; Bazzi, H.; Lambert, J.-F. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2013**, 43, 429.

<sup>187</sup> Bedoin, L. ; Alves, S. ; Lambert, J.-F. *ACS Earth Space Chem.* **2020**, 4, 10, 1802.

<sup>188</sup> Jaber, M.; Georgelin, T.; Bazzi, H.; Costa-Torro, F.; Lambert, J.-F.; Bolbach, G.; Clodic, G. *J. Phys. Chem.* **2014**, 118, 25447.

<sup>189</sup> Huber, C. *Science* **1998**, 281, 670.

<sup>190</sup> Wächtershäuser, G. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **2006**, 361, 1787. DOI:10.1098/rstb.2006.1904

Par ailleurs, des agents de condensation peuvent être aussi utilisés afin de former les peptides. Par exemple, la formation de peptides à partir de la glycine en présence d'urée, dans une solution aqueuse, est possible. La glycine réagit avec l'urée pour donner la *N*-carbamyglycine, la glycyglycine puis la *N*-carbamyglycyglycine (schéma 20).<sup>191</sup>

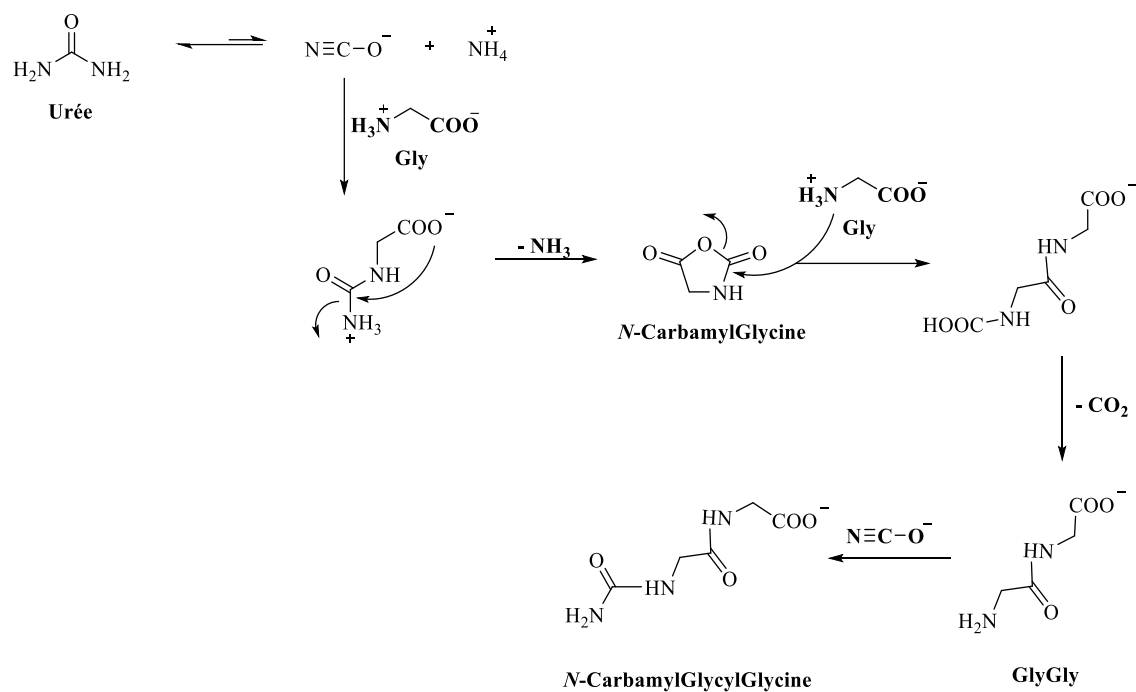


Schéma 20

Dans une solution d'acide aminé avec du cyanamide, sous rayonnement UV, à 25 °C et à pH 5, il se forme également des dipeptides.<sup>192,193</sup>

Des phosphates peuvent aussi jouer le rôle d'agents d'activation dans l'oligomérisation. Le trimétaphosphate, par exemple, peut accomplir cette tâche dans des solutions alcalines (schéma 21).<sup>194,195,196</sup>

<sup>191</sup> Sakurai, M.; Yanagawa, H. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1984**, 14, 171. DOI:10.1007/BF00933655

<sup>192</sup> Parker, E. T.; Zhou, M.; Burton, A. S.; Glavin, D. P.; Dworkin, J. P.; Krishnamurthy, R.; Fernandez, F. M.; Bada, J. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 8132.

<sup>193</sup> Ponnamperna, C.; Peterson, E. *Science* **1965**, 147, 1572.

<sup>194</sup> Rabinowitz, J. *Helv. Chim. Acta* **1970**, 53, 1350.

<sup>195</sup> Rabinowitz, J.; Hampai, A. *J. Mol. Evol.* **1985**, 21, 199.

<sup>196</sup> Rabinowitz, J.; Flores, J.; Krebsbach, R.; Rogers, G. *Nature* **1969**, 224, 795.

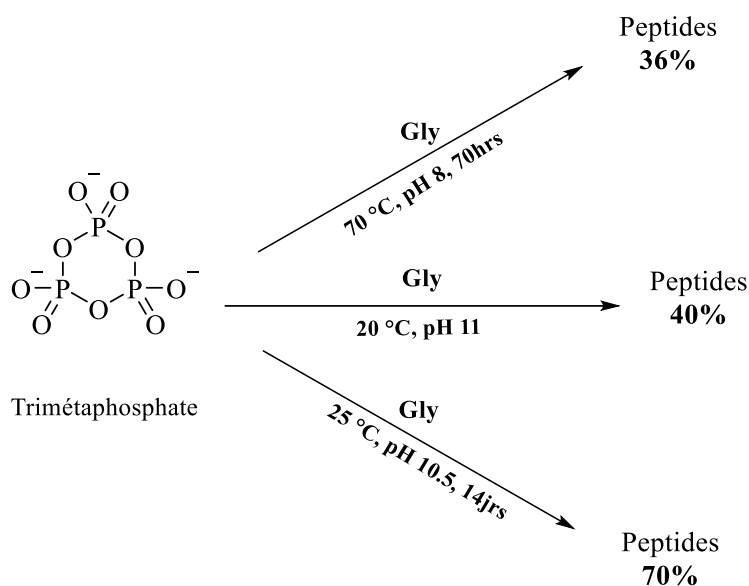


Schéma 21

Le diamidophosphate DAP, formé à partir des polyphosphates peut aussi induire la condensation des acides aminés en peptides (**schéma 22**).<sup>197</sup>

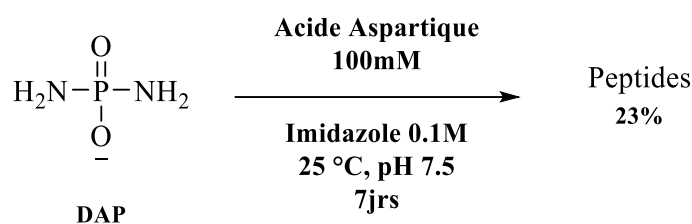


Schéma 22

Enfin, des peptides peuvent se former en activant préalablement des acides aminés. Ceci requiert le passage par des dérivés activés des acides aminés, qui seront des intermédiaires à la réaction de polymérisation.

Parmi les modèles qui ont été proposés, la forme *N*-carboxyanhydrides (NCA) des acides aminés semble raisonnable. Ces composés pourraient se former en présence de bicarbonate en concentration élevée (**schéma 23**).

<sup>197</sup> Gibard, C.; Bhowmik, S.; Karki, M.; Kim, E.-K.; Krishnamurthy, R. *Nat. Chem.* **2018**, 10, 212. DOI:10.1038/nchem.2878

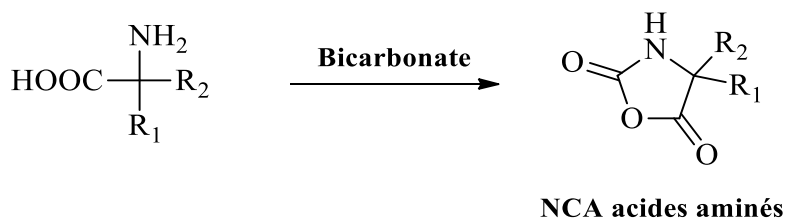


Schéma 23

En présence de cyanate, les acides aminés sont convertis en *N*-carbamoyl acides aminés (CAA) qui peuvent alors former des *N*-carboxyanhydrides en présence de carbonate (en équilibre avec du CO<sub>2</sub> saturé dans le milieu aqueux).<sup>198</sup> Les CAA sont des composés organiques portant à la fois des groupes fonctionnels carboxyliques (-COOH) et uréido (-NH-CO-NH<sub>2</sub>). Ces molécules vont subir une cyclisation intramoléculaire pour donner un produit plus réactif, qui peut réagir avec des acides aminés et former des liaisons peptidiques (**schéma 24**).

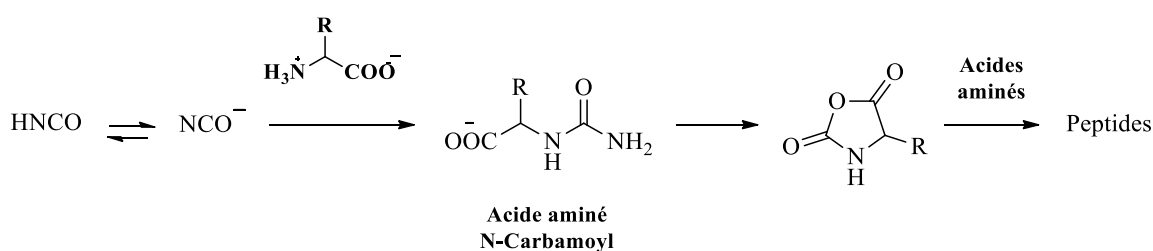


Schéma 24

De même, les NCA jouent un rôle d'intermédiaire dans la formation de peptides à partir de l'oxysulfure de carbone COS. La condensation des acides aminés est faisable en présence de COS (issus de la réaction entre du sulfure de Fe ou de Ni et du CO) dans le milieu réactionnel (**schéma 25**).<sup>199</sup>

<sup>198</sup> Danger, G.; Charlot, S.; Boiteau, L.; Pascal, R. *Amino Acids* **2012**, 42, 2331.

<sup>199</sup> Leman, L.; Orgel, L.; Ghadiri, M. R. *Science* **2004**, 306, 283. DOI:10.1126/science.1102722

## Introduction

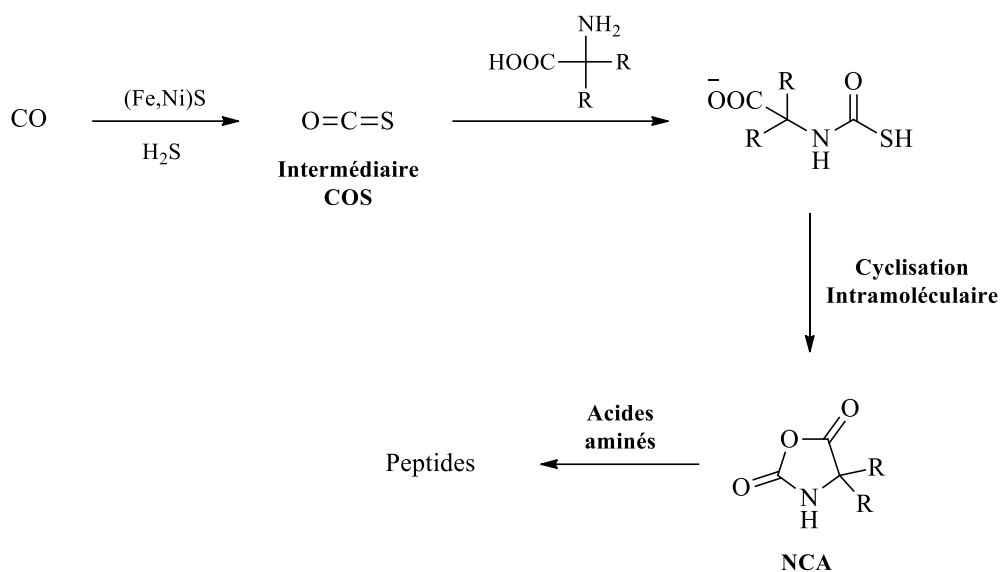


Schéma 25

Dans les mêmes conditions, des liaisons peptidiques ont également été obtenues à partir d'acides dicarboxyliques (y compris l'acide aspartique, contenant deux fonctions acides carboxyliques), qui peuvent subir une cyclisation intramoléculaire pour former des anhydrides, qui eux-mêmes réagissent avec les acides aminés pour former les peptides (schéma 26).<sup>198</sup>

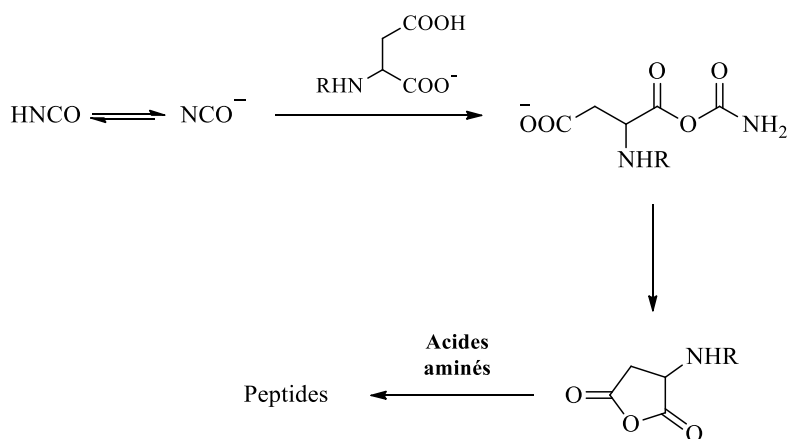


Schéma 26

Ainsi la condensation prébiotique des acides aminés et la formation des peptides sont plausibles.



## 5. Cycles métaboliques

D'autres molécules sont indispensables à la vie, par exemple, celles impliquées dans les cycles métaboliques.

L'acétyl-coA est un intermédiaire important dans diverses voies métaboliques, tel que le cycle de Krebs. L'acétyl-coA est une forme activée de l'acide acétique. C'est un thioester.

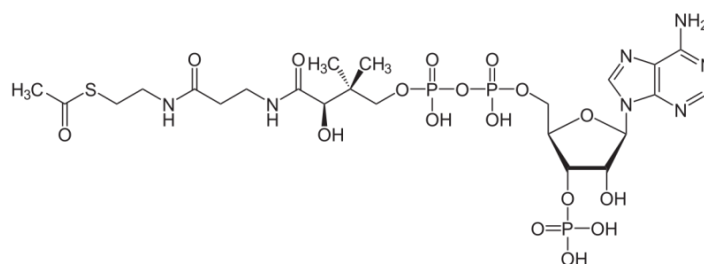


Figure 10. Formule de l'acétyl-coA

Les thioesters sont des molécules réactives. Grâce à leur liaison énergétique, elles participeront à diverses réactions de synthèse de biomolécules. Il a même été proposé par de Duve qu'un "monde de thioester" pourrait avoir précédé le monde ARN.<sup>200</sup>

En 1997, de l'acétate a été formé par la réaction de CO avec du CH<sub>3</sub>SH à 100 °C. L'agent de réduction était la surface FeS-NiS.<sup>201</sup> De même, Cody et al ont détecté de l'acétate et du pyruvate en chauffant, à haute pression, de l'acide formique avec un thiol et du FeS.<sup>202</sup> Feng et al. ont pu former du formate et de l'acétate à partir du CO<sub>2</sub> en utilisant des nanoparticules de Fe(0) à 200 °C.<sup>203</sup> Moran et al. ont également reporté la synthèse du formiate, de l'acétate et du pyruvate, en utilisant une poudre de fer métallique dans l'eau, dans une atmosphère contenant du CO<sub>2</sub> et en chauffant entre 30 °C et 100 °C. En utilisant du Ni et du Co, à 100 °C, ils ont pu détecter la synthèse de l'acétate et du pyruvate. Avec du Mn, du Mo et du W, ils ont pu former uniquement de l'acétate.<sup>93</sup>

<sup>200</sup> De Duve, C. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2003**, 33, 559. DOI:10.1023/A:1025760311436

<sup>201</sup> Huber, C.; Wächtershäuser, G. *Science* **1997**, 276, 245.

<sup>202</sup> Cody, G. D.; Boctor, N. Z.; Filley, T. R.; Hazen, R. M.; Scott, J. H. *Science* **2000**, 289, 1337.

<sup>203</sup> He, C.; Tian, G.; Liu, Z.; Feng, S. *Org. Lett.* **2010**, 12, 649.

Ces molécules ont été aussi obtenues en utilisant, avec le CO<sub>2</sub>, du H<sub>2</sub> gazeux (jouant le rôle d'un agent réducteur) avec des minéraux hydrothermaux tels que le Ni<sub>3</sub>Fe, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> et Fe<sub>3</sub>S<sub>4</sub>, comme catalyseurs.<sup>204</sup>

La synthèse des thioesters à partir des aldéhydes est aussi possible, telle que, la réaction entre le glycéraldéhyde et le *N*-acétylcystéine (**schéma 27**).<sup>205</sup>

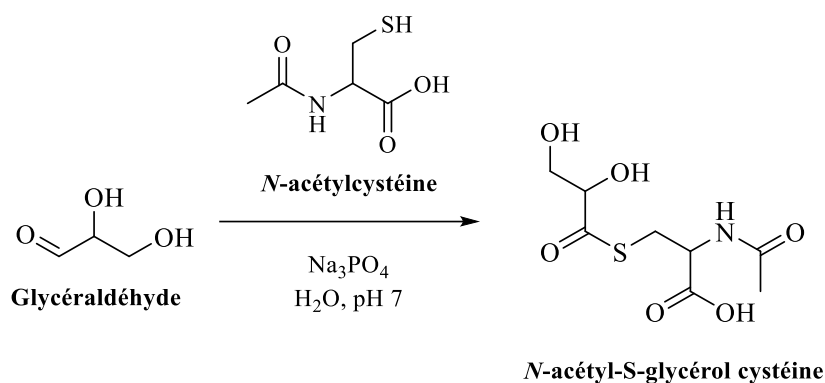


Schéma 27

De plus, l'utilisation des α-cétoacides avec du *N*-acétylcystamine a été étudiée, par Moran et al., afin de former des thioesters (**schéma 28**).<sup>176,206</sup>

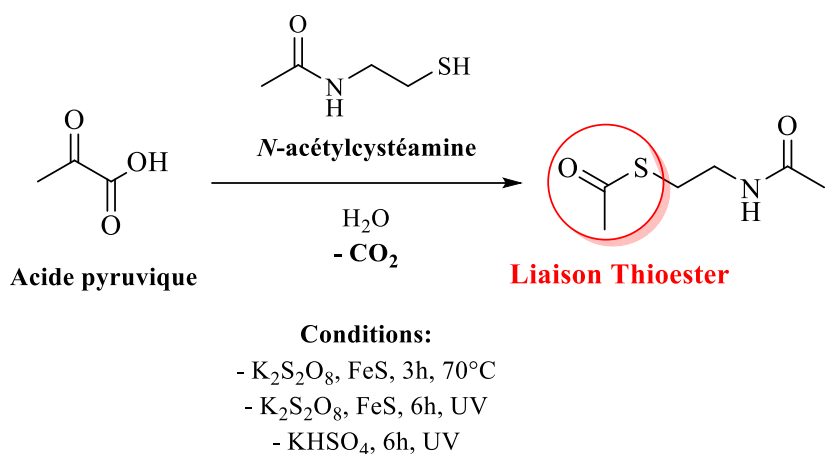


Schéma 28

<sup>204</sup> Preiner, M.; Igarashi, K.; Muchowska, K. B.; Yu, M.; Varma, S. J.; Kleinermaans, K.; Nobu, M.; Kamagata, Y.; Tüysüz, H.; Moran, J.; Martin, W. F. *Nat. Ecol. Evol.* **2020**, 4, 534.

<sup>205</sup> Weber, A. L. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1984**, 15, 17.

<sup>206</sup> Chevallot-Beroux, E.; Gorges, J.; Moran, J. *ChemRxiv*, **2019**. DOI:10.26434/chemrxiv.8832425.v1

De même, des recherches ont été faites pour essayer de synthétiser les intermédiaires du cycle de Krebs.

Notamment, Wang et al. ont obtenu l'oxydation du malate en oxaloacetate, en utilisant un mélange FeS/S<sup>0</sup>/ H<sub>2</sub>S.<sup>207</sup>

Springsteen et al. ont montré qu'une décarboxylation oxydative peut mener à divers intermédiaires du cycle.<sup>208</sup> En présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, à 25 °C, l'oxaloacétate réagit avec le glyoxylate et forme le malate. Le malonate, lui-même, peut réagir avec l' $\alpha$ -hydroxyglycine pour donner l'aspartate. À 50 °C, le malonate peut réagir avec du glyoxylate pour former l'oxaloacétate.

Moran et al. ont aussi pu synthétiser des intermédiaires du cycle, en utilisant du glyoxylate et du pyruvate dans de l'eau riche en Fe<sup>2+</sup> à 70 °C (par des séries de réactions d'aldolisation, de décarboxylation et de rétro-aldolisation).<sup>176</sup>

Cependant, la décarboxylation du pyruvate en acétyl-coA, réaction plausiblement prébiotique, nécessite la présence d'un oxydant et d'un catalyseur. Dans notre équipe, nous avons pu effectuer cette réaction en passant par des disulfures obtenus à partir d'H<sub>2</sub>S et du glyoxylate. Le disulfure réagit ensuite avec du pyruvate pour donner des thioesters, sous rayonnements UV.<sup>209</sup>

---

<sup>207</sup> Wang, W.; Yang, B.; Qu, Y.; Liu, X.; Su, W. *Astrobiology* **2011**, 11, 471.

<sup>208</sup> Springsteen, G.; Yerabolu, J. R.; Nelson, J.; Rhea, C. J.; Krish-namurthy, R. *Nat. Commun.* **2018**, 9, 91.

<sup>209</sup> Leqraa, N.; Nicolet, Y.; Millet, A.; Vallée, Y. *Sci. Rep.* **2020**, 10, 14488.

Donc, nous avons vu que les briques du vivant (des acides nucléiques, des phospholipides et des acides aminés) ont pu se former sur la Terre avant la vie, sans enzymes. Bien sûr, sans enzymes, les réactions sont plus lentes, les rendements sont souvent bas, mais même en faible quantité, les briques du vivant étaient présentes et elles pouvaient former des polymères.

Les travaux de ma thèse, portent sur l'étude de la formation prébiotique de telles molécules biologiques. Dans le premier chapitre, nous allons évoquer la synthèse prébiotique d'un acide aminé sulfuré essentiel, la cystéine. Dans le deuxième chapitre, nous étudierons son homologue, l'homocystéine et plus spécifiquement sa thiolactone (un thioester), capable de réagir avec d'autres amino-acides pour conduire à des dipeptides. Enfin, dans le troisième chapitre, nous présenterons nos résultats à propos de la S-méthylméthionine, et de la possibilité de transférer un de ses groupes méthyles à d'autres molécules.

Toutes les manipulations ont été effectuées en respectant des conditions plausiblement prébiotiques: nous avons admis une température "tiède" pour le déroulement des réactions avec un chauffage généralement à 45 °C dans un milieu non oxygéné.

Malgré les difficultés que nous avons rencontrées pour isoler et purifier les molécules obtenues, dans des mélanges parfois complexes, il nous semble que nos résultats apportent des connaissances nouvelles au domaine par essence spéculatif de la chimie prébiotique.

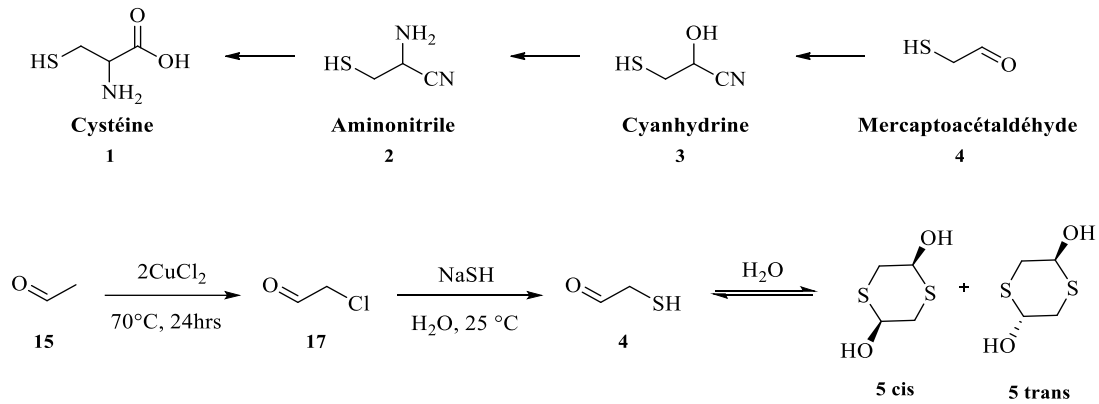
## *Introduction*

# Graphical Abstract

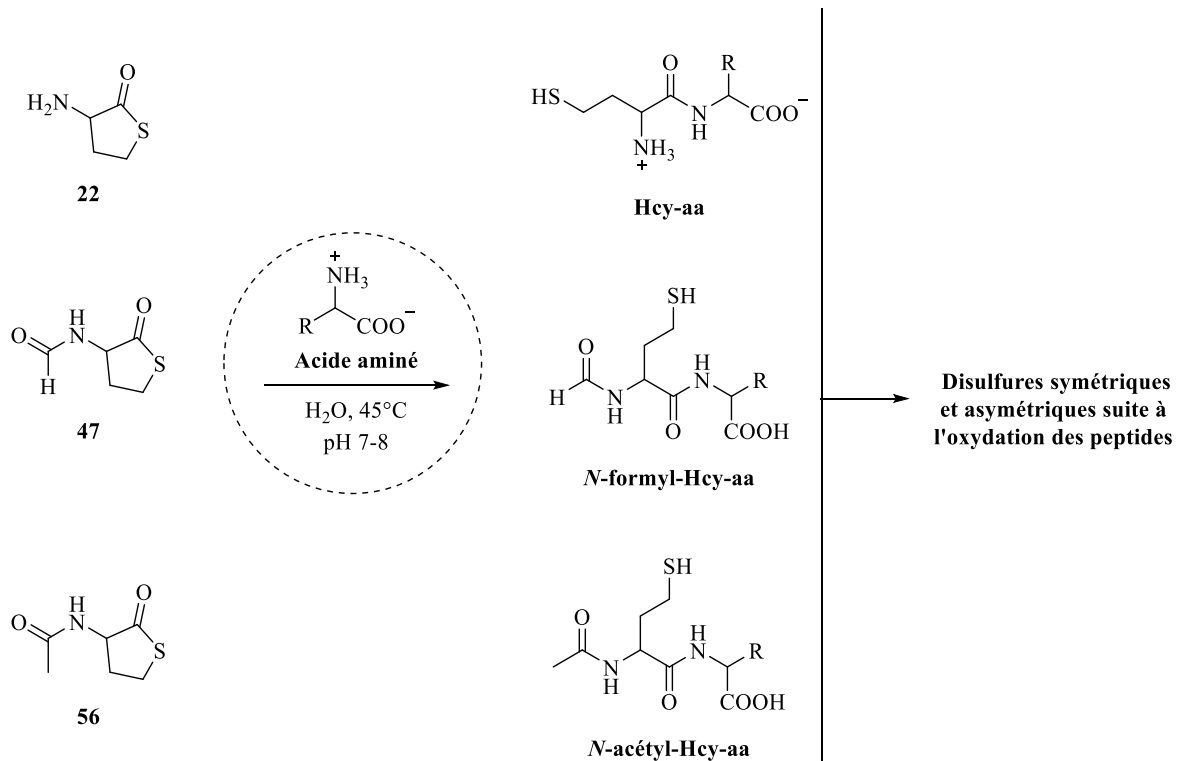
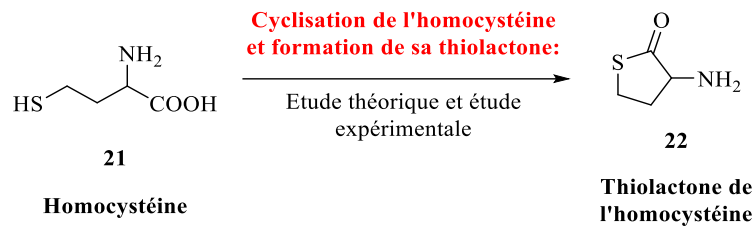


## Graphical abstract

### Chapitre 1. Synthèse prébiotique de la cystéine

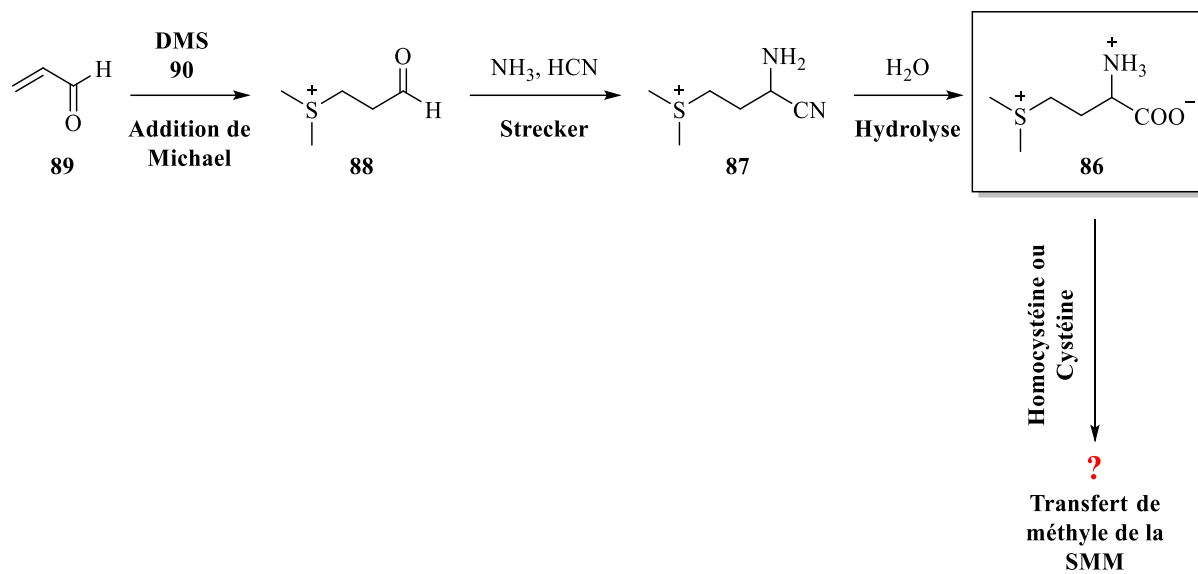


### Chapitre 2. Homocystéine et sa thiolactone





### Chapitre 3. Transfert de méthyle et synthèse d'analogues simplifiés de la SAM



# **Chapitre 1**

## **Synthèse prébiotique de la cystéine**



Dans ce chapitre, nous présentons nos résultats sur la synthèse prébiotique d'un acide aminé sulfuré : la cystéine.

Bien évidemment, la réactivité de la fonction thiol lui confère une grande importance dans la chimie biologique, en particulier dans la structure des protéines. Nous allons, tout d'abord, présenter un résumé à propos de l'importance actuelle de la cystéine et de sa possible implication à l'origine de la vie sur Terre. Ensuite, nous retracerons nos travaux visant à sa synthèse prébiotique.

### **A. Introduction**

Les acides aminés sulfurés sont relativement peu abondants dans le protéome.<sup>210</sup> Sur un échantillon représentatif de protéines, la cystéine ne représente que 1.38% de tous les résidus, et la méthionine 2.32%. Chez les archées et les bactéries, la cystéine est encore plus rare, avec des pourcentages de 0.98% et 0.94% respectivement.

Ayant une fonction thiol, la cystéine a des propriétés spécifiques qu'aucun autre acide aminé ne possède. Elle joue un rôle important dans les sites catalytiques. La propension catalytique de la cystéine, représentant sa probabilité d'être dans un site catalytique lorsqu'elle est présente dans une protéine, est estimée à 4.7, juste derrière l'histidine dont la propension catalytique est de 6.7, et devant tous les autres acides aminés (méthionine : 0.3).<sup>211</sup> Les résidus cystéine, bien qu'ils soient peu nombreux, sont donc souvent impliqués dans des processus catalytiques. Il semble donc essentiel que la cystéine ait été disponible à l'origine de la vie sur Terre.

---

<sup>210</sup> Kozlowski, L. P. *Nucleic Acids Res.* **2017**, 45, 1112.

<sup>211</sup> Bartlett, G. J.; Porter, C. T.; Borkakoti N.; Thornton, J. M. *J. Mol. Biol.* **2002**, 324, 105.

## 1. Source de soufre

La synthèse des acides aminés sulfurés nécessite, en plus des atomes classiques de la chimie organique (C, H, O, N), un ingrédient supplémentaire : le soufre S.

Le dioxyde de soufre SO<sub>2</sub> et le sulfure d'hydrogène H<sub>2</sub>S devaient être abondants sur la Terre primitive, grâce à l'intense activité volcanique. Il semble que l'oxysulfure de carbone COS pouvait également être présent.<sup>212,213,214,215,216</sup> Par ailleurs, des dépôts de soufre élémentaire sont observés à proximité des fumerolles. Ils résultent de la condensation de S<sub>2</sub> gazeux ou de l'oxydation d'H<sub>2</sub>S. Il est donc probable que SO<sub>2</sub> (et donc les sulfites SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), H<sub>2</sub>S et en moindre quantité S<sub>8</sub> étaient tous présents sur la Terre primitive.

La formation du méthanthiol CH<sub>3</sub>SH est observée dans les systèmes hydrothermaux des dorsales océaniques<sup>217</sup> et dans les bassins hydrothermaux terrestres.<sup>218</sup> C'était donc, peut-être, une molécule prébiotique.

Par ailleurs, la pyrite FeS<sub>2</sub>, ainsi que d'autres sulfures minéraux (chalcopyrite CuFeS<sub>2</sub>, sphalérite ZnFeS, ZnS...) <sup>219</sup>, sont des possibles donneurs de soufre pour une chimie prébiotique hétérogène, sur des roches.<sup>220</sup>

---

<sup>212</sup> Oppenheimer, C.; Scaillet, B.; Martin, R.S. *Rev. Mineral. Geochem.* **2011**, 73, 363.

<sup>213</sup> Lee, S.; Kang, N.; Park, M.; Hwang, J. Y.; Yun, S.H.; Jeong, H.Y. *Geosci. J.* **2018**, 22, 183.

<sup>214</sup> Aiuppa, A.; Federico, C.; Giudice, G.; Gurrieri, S.; Valenza, M. *Geophys. Res. Lett.* **2006**, 33, 21315.

<sup>215</sup> Ohba, T.; Hirabayashi, J.; Yoshida, M. *J. Volcanol. Geotherm. Res.* **1994**, 60, 263.

<sup>216</sup> Saturno, J.; Ditas, F.; Penning de Vries, M.; Holanda, B. A.; Pöhlker, M. L.; Carbone, S.; Walter, D.; Bobrowski, N.; Brito, J.; Chi, X.; Gutmann, A.; Hrabe de Angelis, I.; Machado, L. A. T.; MoranZuloaga, D.; Rüdiger, J.; Schneider, J.; Schulz, C.; Wang, Q.; Wendisch, M.; Artaxo, P.; Wagner, T.; Pöschl, U.; Andreae, M. O.; Pöhlker, C. *Atmos. Chem. Phys.* **2018**, 18, 10391.

<sup>217</sup> Reeves, E. P.; McDermott, J. M.; Seewald, J.S. *PNAS* **2014**, 111, 5474.

<sup>218</sup> Sydow, L.; Bennett, P.C.; Nordstrom, D.K. *Procedia Earth Planet. Sci.* **2017**, 17, 504

<sup>219</sup> Wachtershauser, G. *Prog. Biophys. molec. Biol.* **1992**, 58, 85

<sup>220</sup> Orgel, L.E. *Orig. Life Evol. Biosph.* **1998**, 28, 227

Dans l'atmosphère actuelle contenant du dioxygène  $O_2$ , le  $SO_2$  peut être oxydé en  $SO_3$ , formant ainsi des sulfates  $SO_4^{2-}$ . Ils sont la source de soufre la plus abondante dans l'eau. Les archées et bactéries sulfato-réductrices sont capables de les réduire en sulfites, puis en  $H_2S$ , qui est utilisé dans la synthèse d'acides aminés soufrés.<sup>221</sup> Cette chimie dépend fortement de l'ATP.<sup>222,223</sup>

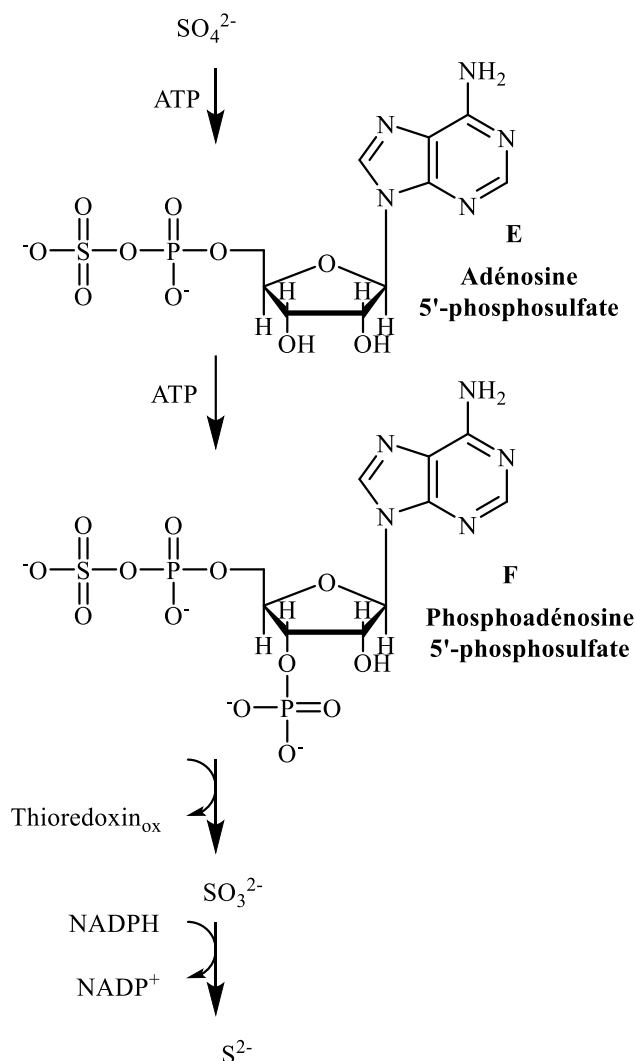


Schéma 29. Réduction biochimique des sulfates en sulfites

<sup>221</sup> Barton, L. L.; Fauque, G. D. *Adv. Appl. Microbiol.* **2009**, 68, 41.

<sup>222</sup> Grein, F.; Ramos, A. R.; Venceslau, S. S.; Pereira, I. A. C. *Biochim. Biophys. Acta* **2013**, 1827, 145.

<sup>223</sup> Santos, A. A.; Venceslau, S. S.; Grein, F.; Leavitt, W. D.; Dahl, C.; Johnston, D. T.; Pereira, I. A. C. *Science* **2015**, 350, 1541.

Les sulfates forment d'abord l'adénosine 5'-phosphosulfate **E**, qui est ensuite phosphorylée en phosphoadénosine 5'-phosphosulfate **F**. La réduction de **F** permet la formation des anions sulfites, qui seront réduits en H<sub>2</sub>S et ceci grâce à une enzyme dépendante du NADPH (schéma 29).

La complexité de ce processus, et l'absence d'oxygène à l'époque, donc la possible rareté des sulfates, rend probable qu'H<sub>2</sub>S ait été la source primitive essentielle des atomes de soufre introduits dans les molécules organiques. Toutefois, des anions thiosulfates, S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>, ont également pu intervenir<sup>224,225</sup> s'ils étaient présents.<sup>226,227</sup> Le cycle du soufre a ensuite évolué pour devenir ce qu'il est aujourd'hui.<sup>228,229</sup>

## 2. Rôle de la cystéine dans des synthèses prébiotiques

La cystéine, pouvait-elle être une actrice principale dans un monde pré-ARN? La fonction thiol qu'elle contient, lui a-t-elle conféré un avantage spécifique, notamment dans la synthèse des premières chaînes peptidiques?

Aujourd'hui, certains peptides sont construits non pas dans le ribosome grâce aux ARNt, mais par la voie de synthèse dite non-ribosomale grâce à des thiols.<sup>230</sup> Les protéines ACP (*acyl carrier protein* ou *protéine porteuse d'acyle*) qui catalysent ce processus sont complexes, mais leur principe de fonctionnement est simple et peut être mis en relation avec le monde des thioesters proposé par de Duve.<sup>200</sup> Des protéines ACP sont aussi utilisées dans la biosynthèse d'acides gras. Elles possèdent un résidu phosphopanthéthine.

---

<sup>224</sup> Ravot, G.; Ollivier, B.; Magot, M.; Patel, B. K. C.; Crolet, J. L.; Fardeau, M. L.; Garcia J. L. *Appl. Environ. Microbiol.* **1995**, 61, 2053.

<sup>225</sup> Melideo, S. L.; Jackson, M. R.; Jorns, M. S. *Biochemistry* **2014**, 53, 4739.

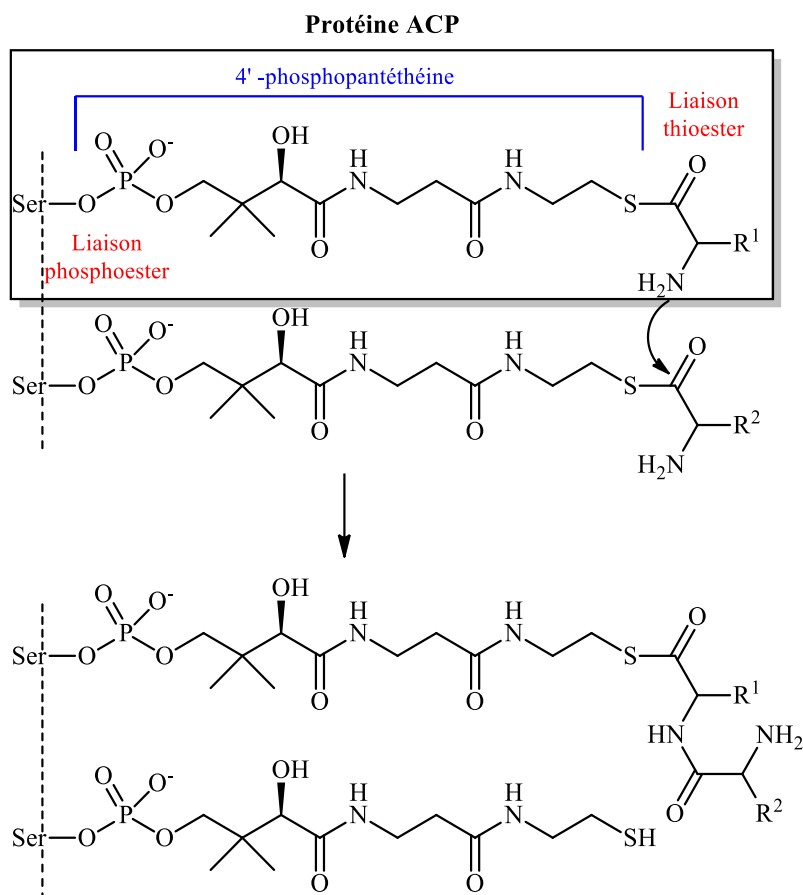
<sup>226</sup> Boulegue, J. *Develop. Econ. Geol.* **1981**, 15, 21

<sup>227</sup> Cypionka, H.; Smock, A. M.; Böttcher, M. E. *FEMS Microbiol. Lett.* **1998**, 166, 181.

<sup>228</sup> Havig, J. R.; Hamilton, T. L.; Bachan, A.; Kump, L. R. *Earth-Sci. Rev.* **2017**, 174, 1.

<sup>229</sup> Fakhraee, M.; Katsev, S. *Nat. Commun.* **2019**, 10, 4556

<sup>230</sup> Strieker, M.; Tanović, A. Marahiel, M. A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2010**, 20, 234.



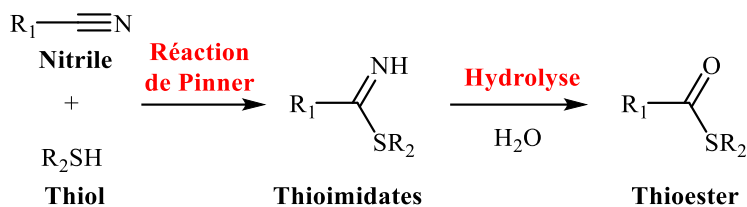
**Schéma 30.** Principe de formation de peptides dans les protéines ACP

Dans les ACP, des groupements aminoacyles forment des thioesters à l'extrémité de bras de la pantéthéine. La pantéthéine est liée à des résidus sérine dans le brin principal de la protéine, via des phosphoesters. La fonction amine du groupement aminoacyle d'un premier aminothioester réagit alors avec la fonction thioester d'un autre, formant ainsi une liaison peptidique (**schéma 30**).

Notons toutefois, que la formation des thioesters est possible grâce à l'activation préalable des acides aminés et leur transformation en aminoacyle phosphate, grâce à l'ATP. Autrement dit : même si elle utilise des thioesters, la synthèse non ribosomale des peptides fait partie de notre monde de phosphate. Son introduction dans un scénario prébiotique (sans polyphosphates) nécessiterait d'envisager une méthode capable de former facilement ces thioesters, sans faire appel à un agent activateur phosphoré.



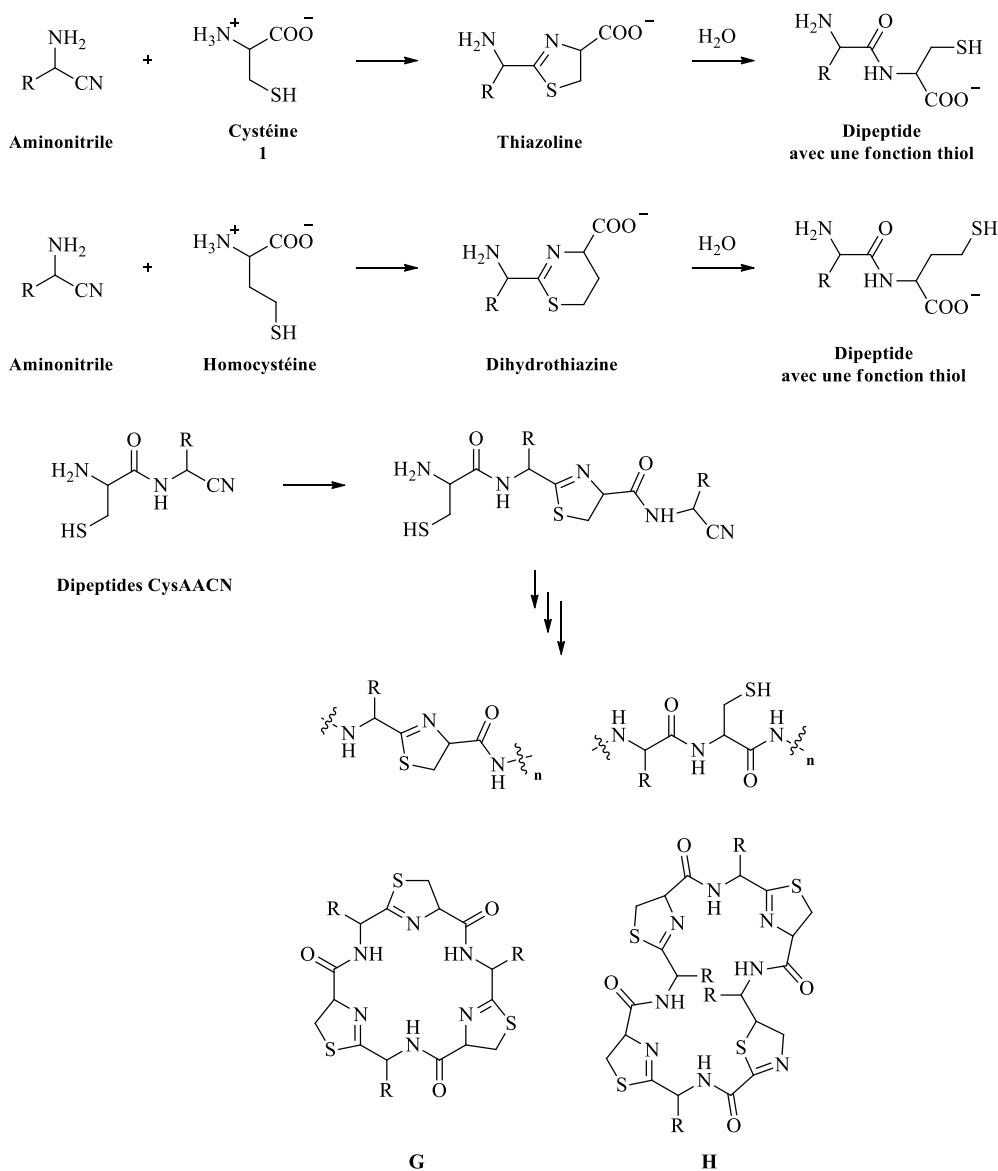
Les thioesters peuvent aussi être formés à partir de nitriles, par une réaction de Pinner avec les thiols. Ceci aboutit à la formation des thioimidates qui après hydrolyse, donnent des thioesters (**schéma 31**).<sup>231</sup>



**Schéma 31.** Formation de thioester à partir de nitriles et de thiols

Considérant un monde primitif assez riche en anions cyanures, il se peut, comme indiqué dans l'introduction, que les premiers acides aminés aient été produits à partir de la réaction de Strecker des aldéhydes. Les aminonitriles sont des intermédiaires dans ces réactions. Comme les nitriles sont assez stables dans l'eau, il a été postulé que ces aminonitriles peuvent réagir avec les thiols avant d'être hydrolysés. Lorsque le thiol utilisé est la cystéine, il se forme des thiazolines, qui sont ensuite hydrolysés en dipeptides contenant une fonction thiol. Lorsque c'est l'homocystéine qui est utilisé, une dihydrothiazine est formée et se transforme, après hydrolyse, en un dipeptide contenant aussi un thiol (**schéma 32**).

<sup>231</sup> Roger, R.; Neilson, D. G. *Chem. Rev.* **1961**, 61, 179.

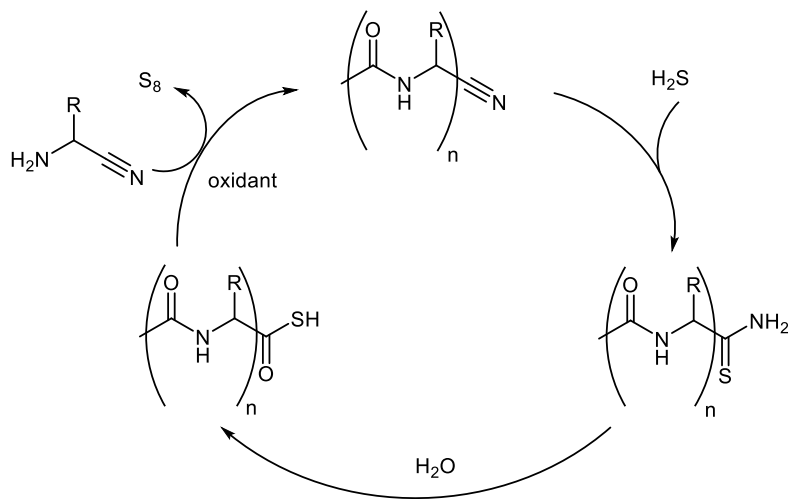


**Schéma 32.** Formation de liaisons peptidiques via les thiazolines et les dihydrothiazines. Application de cette procédure à des dipeptides, aboutissant à la formation de structures oligomériques et polymériques comprenant des macrocycles

Des mélanges de polypeptides et de structures macrocycliques, tels que **G** et **H**, se forment lorsque les composés de départ sont des dipeptides Cys-AACN, et il a été proposé que l'utilisation des aminonitriles ait pu être à l'origine d'un monde peptidique riche en thiol.<sup>232</sup>

<sup>232</sup> (a) Vallée, Y.; Shalayel, I.; Ly, K. D.; Raghavendra Rao, K. V.; De Paëpe, G.; Märker, K.; Millet, A. *Int. J. Dev. Biol.* **2017**, 61, 471. (b) Shalayel, I.; Coulibaly, S.; Ly, K. D.; Millet, A.; Vallée, Y. *Life* **2018**, 8, 47. DOI:103390/life8040047

Par ailleurs, dans des conditions oxydantes, les thioacides réagissent avec les aminonitriles en donnant des nitriles peptidiques qui, lors d'un traitement avec  $H_2S$ , conduisent à des thioacides plus longs (**schéma 33**).



**Schéma 33.** Allongement de peptides thioacides par voie oxydative

Ce procédé permet donc de construire des peptides de plus en plus longs. Une telle formation de liaisons peptidiques à partir du nitrile est également réalisable en utilisant des quantités sous-stoichiométriques de la *N*-acétylcystéine.<sup>233</sup>

Ces voies chimiques peuvent avoir été utilisées pour former des oligopeptides et des polypeptides dans l'océan primitif. Il n'en demeure pas moins que leur inconvénient majeur est qu'ils utilisent des nitriles, et non pas des acides carboxyliques, c'est-à-dire qu'ils sont très différents de la biochimie actuelle. Cela remet en cause leur rapport même à la vie (du moins tel que nous la connaissons aujourd'hui).

La recherche d'une sorte de "ligature chimique peptidique prébiotique" reste donc d'actualité. Cette recherche est liée à la découverte de nouvelles voies d'accès aux thioesters, notamment ceux de la cystéine ou de résidus cystéine dans les peptides catalytiques, si possible directement à partir d'acides.

<sup>233</sup> Canavelli, P.; Islam, S.; Powner, M. W. *Nature* **2019**, 571, 546.

### 3. Rôle de la cystéine dans les protéines

L'absence de la cystéine dans les protéomes actuels serait extrêmement préjudiciable. La formation de ponts disulfures entre les résidus Cys, joue un rôle essentiel dans l'établissement et le maintien de la structure secondaire des protéines.<sup>234,235,236</sup> Ces ponts sont courants. Ils sont présents dans un tiers des protéines humaines,<sup>237</sup> mais surtout dans des protéines qui peuvent être trouvées dans un environnement oxydant (par exemple à la surface cellulaire), et il n'est pas évident que des ponts disulfures pouvaient se former dans l'atmosphère terrestre primitive non oxydante. Mais leur existence dans des archées thermophiles, suggère qu'ils ont pu être importants à l'origine de la vie, du moins si la vie a émergé dans des conditions extrêmes.<sup>238</sup>

La cystéine présente des propriétés antioxydantes. Par exemple, l'équilibre cystéine-cystine est utilisé dans les thiorédoxines, **I** (schéma 34).<sup>239</sup>

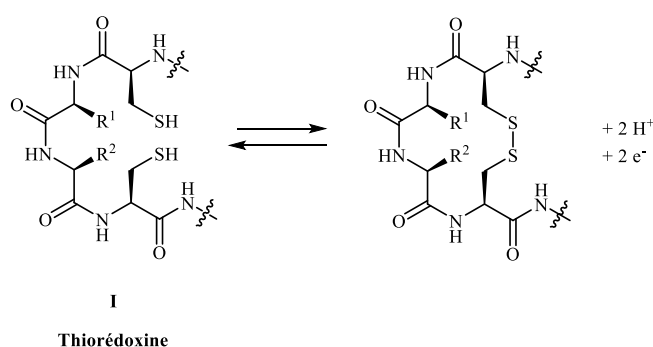


Schéma 34. Equilibre rédox dans les thiorédoxines

De tels processus antioxydants étaient peut être inutiles dans l'environnement primitif non oxydant, mais ceci n'implique pas que les propriétés réductrices de la cystéine n'étaient pas utilisées.

<sup>234</sup> Anfinsen, C. B. *Science* **1973**, 181, 4096.

<sup>235</sup> Qin, M.; Wang, W.; Thirumalai, D. *PNAS* **2015**, 112, 11241.

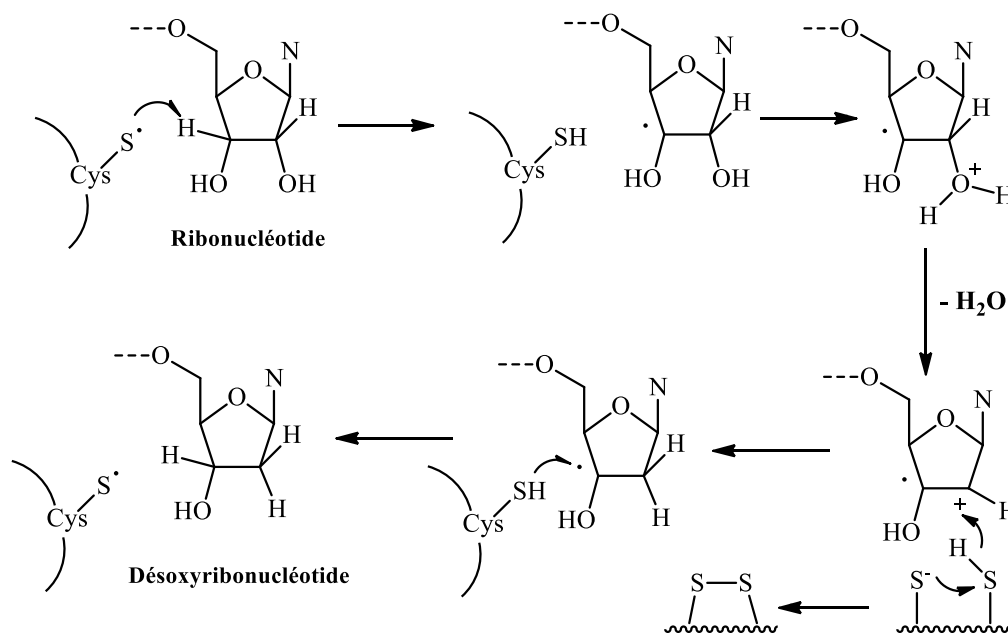
<sup>236</sup> Hatahet, F.; Ruddock, L. W. *Antioxid. Redox Signal.* **2009**, 11, 2807.

<sup>237</sup> Rajpal, G.; Arvan, P. *Academic Press* **2013**, 1721. DOI:10.1016/B978-0-12-385095-9.00236-0

<sup>238</sup> Jorda, J.; Yeates, T. O. *Archaea* **2011**, 2011, 409156.

<sup>239</sup> Buchanan, B. B.; Holmgren, A.; Jacquot, J.-P.; Scheibe, R. *Biochim. Biophys. Acta* **2012**, 1820, 1822.

Par exemple, dans un métabolisme primitif, il devait y avoir un moyen de réduire les ribonucléotides en désoxyribonucléotides. Dans la biologie actuelle, la ribonucléotide réductase (RNR) utilise un processus radicalaire pour effectuer cette transformation (**schéma 35**).<sup>240</sup>



**Schéma 35.** Principe de la réduction des ribonucléotides en désoxyribonucléotides grâce aux RNR

Il existe trois classes de RNR, dont le type III a été proposé comme le plus ancien.<sup>241</sup> Dans cette classe, le radical thiyle est produit à partir d'un radical glycyle, lui-même, dérivé de la S-adénylméthionine (SAM), grâce à une protéine fer-soufre. C'est peut-être une simple coïncidence, mais c'est perceptible: le soufre est partout dans le processus.

La réduction du ribose en désoxyribose constitue, en quelque sorte, la moitié du chemin entre l'ARN et l'ADN. L'autre étape est la méthylation de l'uracile en thymine. La cystéine y participe aussi (**schéma 36**). Le processus implique commence par l'addition [1,4] de la fonction thiol d'un résidu Cys de la thymidylate synthase sur la double liaison C = C du cycle uracile.<sup>242</sup>

<sup>240</sup> Wei, Y.; Funk, M. A.; Rosado, L. A.; Baek, J.; Drennan, C. L.; Stubbe, J. *PNAS* **2014**, 111, 3756.

<sup>241</sup> Torrents, E.; Aloy, P.; Gibert, I.; Rodriguez-Trelles, F. *J. Mol. Evol.* **2002**, 55, 138.

<sup>242</sup> Hardy, L. W.; Finer-Moore, J. S.; Montfort, W. R.; Jones, M. O.; Santi, D. V.; Stroud, R. M. *Science* **1987**, 235, 448.

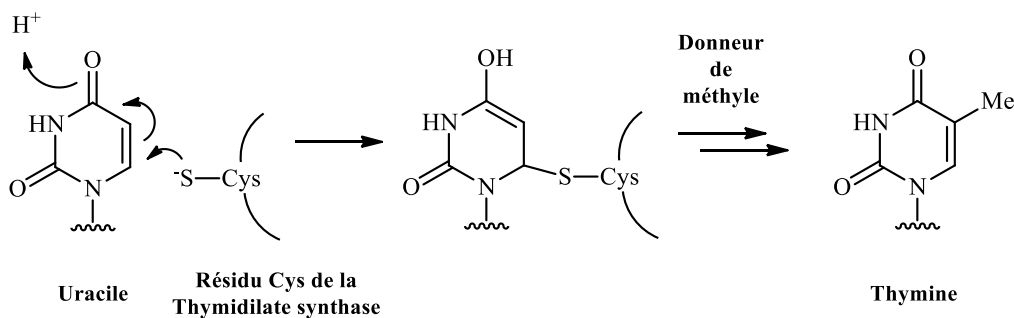


Schéma 36. Méthylation de l'uracile en thymine en utilisant la thymidilate synthase

Même si des synthèses prébiotiques alternatives (n'utilisant pas de ribose et d'uracile) du désoxyribose et de la thymine ont été étudiées, ces observations plaident en faveur d'une transformation de l'ARN en ADN dépendante de la cystéine. En d'autres termes, si un monde d'ARN a vraiment existé, il n'aurait pas évolué en un monde d'ADN en l'absence de peptides contenant des résidus cystéine.

Le soufre peut également entrer en jeu dans de nombreux processus, y compris le transfert d'électrons sous forme de protéines fer-soufre. Celles-ci sont probablement apparues tôt dans l'histoire de la vie, ce qui implique que des protéines contenant des résidus Cys (au moins des petites protéines) existaient à l'époque.

4 résidus Cys participent aux clusters 4Fe-4S et aux clusters de ferrédoxine 2Fe-2S. Pour former les protéines Rieske, 2 résidus Cys et 2 résidus His rentrent en jeu (schéma 37).<sup>243,244,245</sup>

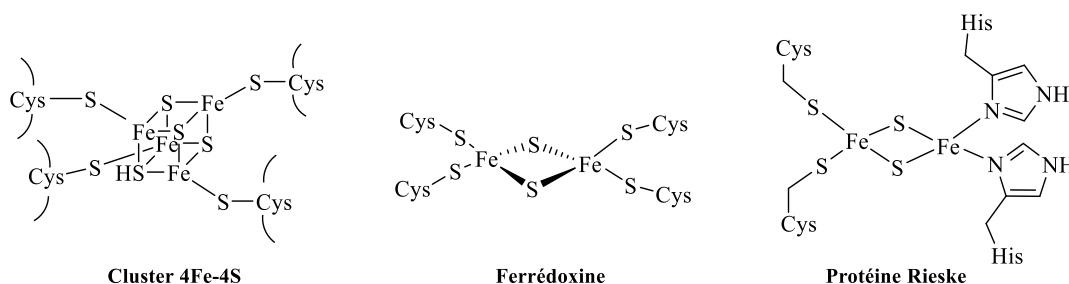


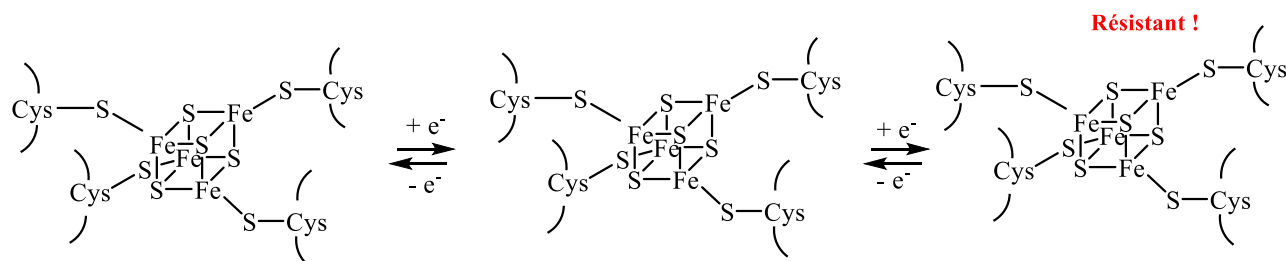
Schéma 37

<sup>243</sup> Johnson, D. C.; Dean, D. R.; Smith, A. D.; Johnson, M. K. *Annu. Rev. Biochem.* **2005**, 74, 247.

<sup>244</sup> Wu, Y.; Brosh-Jr, R. M. *Nucleic Acids Res.* **2012**, 40, 4247.

<sup>245</sup> Brown, E. N.; Friemann, R.; Karlsson, A.; Parales, J. V.; Couture, M. M.-J.; Eltis, L. D.; Ramaswamy, S. J. *Biol. Inorg. Chem.* **2008**, 13, 1301.

Il a été proposé que la lumière UV ait favorisé la synthèse prébiotique de clusters 2Fe-2S à partir de Fe<sup>2+</sup> (l'état d'oxydation du fer dans l'océan primitif) et de thiols.<sup>246</sup> Un cluster 4Fe-4S (avec 2 L-Cys et 2 D-Cys) résiste à des centaines de cycles rédox (**schéma 38**).<sup>247</sup>



**Schéma 38.** L'électrochimie des clusters 4Fe-4S

Parmi les nombreux rôles des protéines fer-soufre dans la biologie contemporaine, l'un des plus importants est leur participation aux interactions avec les ADN,<sup>248,249,250</sup> et les amorces d'ARN.<sup>251,252</sup> De telles interactions "acide nucléique-protéine" impliquent souvent aussi des doigts de zinc, c'est-à-dire des unités contenant des résidus cystéine attachés à un cation zinc (**figure 11**).<sup>253,254</sup>

<sup>246</sup> Bonfio, C.; Valer, L.; Scintilla, S.; Shah, S.; Evans, D. J.; Jin, L.; Szostak, J. W.; Sasselov, D. D.; Sutherland, J. D.; Mansy, S. S. *Nat. Chem.* **2017**, 9, 1229.

<sup>247</sup> Kim, J. D.; Pike, D. H.; Tyryshkin, A. M.; Swapna, G. V. T.; Raanan, H.; Montelione, G. T.; Nanda, V.; Falkowski, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 11210.

<sup>248</sup> Fuss, J. O.; Tsai, C.; Ishida, J. P.; Tainer, J. A. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, 1853, 1253.

<sup>249</sup> Baranovskiy, A. G.; Siebler, H. M.; Pavlov, Y. I.; Tahirov, T. H. *Methods Enzymol.* **2018**, 599, 1.

<sup>250</sup> Weiner, B. E.; Huang, H.; Dattilo, B. M.; Nilges, M. J.; Fanning, E.; Chazin, W. J. *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 33444.

<sup>251</sup> Kimura, S.; Suzuki, T. *Biochim. Biophys. Acta* **2015**, 1853, 1272.

<sup>252</sup> Brown, R. S. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2005**, 15, 94.

<sup>253</sup> Laity, J. H.; Lee, B. M.; Wright, P. E. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2001**, 11, 39.

<sup>254</sup> Klug, A. *Annu. Rev. Biochem.* **2010**, 79, 213.

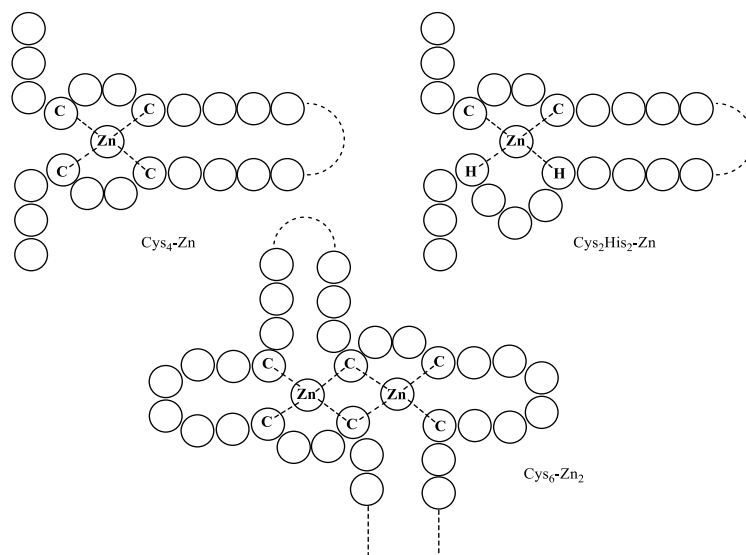


Figure 11. Trois types de doigts de Zinc

Le type le plus courant de ces doigts de zinc est C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> (2 Cys et 2 His), mais des doigts C<sub>4</sub> et C<sub>6</sub> sont également connus (figure 11).<sup>255</sup>

L'abondance de zinc dans les protéines (ces doigts de zinc sont codés par 3% des gènes du génome humain) est plutôt intrigante par rapport à sa rareté globale sur Terre: le rapport Fe/Cu/Zn dans la croûte terrestre est d'environ 800/1/1 mais il est de 2/0,03/1 dans le corps humain.<sup>256</sup>

Comme pour les clusters fer-soufre, l'ubiquité des doigts de zinc<sup>257</sup> plaide pour leur introduction précoce dans la machinerie biologique. Ils sont communs dans les protéines ribosomales, et bien que ces protéines se soient agrégées dans le ribosome à un stade déjà avancé sur le chemin de sa mise en forme finale,<sup>258</sup> ils sont probablement très anciens.<sup>259,260</sup>

<sup>255</sup> Nikolaev, I.; Cochet, M.-F.; Lenouvel, F.; Felenbok, B. *Mol. Microbiol.* **1999**, 31, 1115.

<sup>256</sup> Taylor, S. R. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1964**, 28, 1273.

<sup>257</sup> Nagel, C.; Machulla, A.; Zahn, S.; Soppa, J. *Genes* **2019**, 10, 361.

<sup>258</sup> Petrov, A. S.; Gulen, B.; Norris, A. M.; Kovacs, N. A.; Bernier, C. R.; Lanier, K. A.; Fox, G. E.; Harvey, S. C.; Wartell, R. M.; Hud, N. V.; Williams, L. D. *PNAS* **2015**, 112, 15396.

<sup>259</sup> Ramakrishnan, V.; White, S. W. *Trends Biochem. Sci.* **1998**, 23, 208.

<sup>260</sup> Lupas, A. N.; Alva, V. *J. Struct. Biol.* **2017**, 198, 74.



Certaines protéines ribosomales peuvent contenir une proportion relativement importante de résidus de cystéine. Par exemple, sur les 84 résidus (avant l'élimination du Met *N*-terminal), la protéine ribosomale des rats S27 contient 6 Cys (7%). Sur les 56 résidus de la protéine ribosomale des rats S29, 4 sont des Cys (également 7%).<sup>261</sup>

Quant aux doigts de zinc, ils sont présents dans les protéines ribosomales des archées,<sup>262,263</sup> des bactéries<sup>264,265</sup> et des eucaryotes.<sup>266,267</sup> Ils font également partie des aminoacyl-ARNt synthétases (aaRS), par exemple, l'ananyl-ARNt-synthétase AlaRS,<sup>268</sup> le glutamyl-ARNt-synthétase GluRS<sup>269</sup> et le methionyl-ARNt-synthétase MetRS<sup>270</sup>, des ligases qui catalysent l'estérification des acides aminés protéinogènes présents sur l'extrémité 3' des ARNt. Cette catalyse est nécessaire pour la traduction des ARNm en protéines.

Il est également notable que des protéines, contenant à la fois un cluster de fer-soufre et un doigt de zinc, sont connues et interagissent avec les acides nucléiques.<sup>271</sup>

Des peptides, contenant des résidus cystéine liés à du fer et/ou du zinc, ont donc probablement joué un rôle majeur au moins lorsque les acides nucléiques et les protéines ont commencé à interagir, et même avant cela pour les clusters de fer.

---

<sup>261</sup> Chan, Y.; Suzuki, K.; Olvera, J.; Wool, I. G. *Nucleic Acids Res.* **1993**, 21, 649.

<sup>262</sup> Wu, B.; Lukin, J.; Yee, A.; Lemak, A.; Semesi, A.; Ramelot, T. A.; Kennedy, M. A.; Arrowsmith, C. H. *Protein Sci.* **2008**, 17, 589.

<sup>263</sup> Bergmann, U.; Wittmann-Liebold, B. *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, 1173, 195.

<sup>264</sup> Jeganathan, A.; Razi, A.; Thurlow, B.; Ortega, J. *RNA* **2015**, 21, 1203.

<sup>265</sup> Chen, K.; Roberts, E.; Luthey-Schulten, Z. *BMC Evol. Biol.* **2009**, 9, 179.

<sup>266</sup> Dresios, J.; Chan, Y.; Wool, I. G. *J. Mol. Biol.* **2002**, 316, 475.

<sup>267</sup> Wool, I. G.; Chan, Y.; Glick, A. *Biochem. Cell Biol.* **1995**, 73, 933.

<sup>268</sup> Wu, M.; Filley, S. J.; Xiong, J.; Lee, J. J.; Hill, K. A. W. *Biochemistry* **1994**, 33, 12260.

<sup>269</sup> Banerjee, R.; Dubois, D. Y.; Gauthier, J.; Lin, S.; Roy, S.; Lapointe, J. *Eur. J. Biochem.* **2004**, 271, 724.

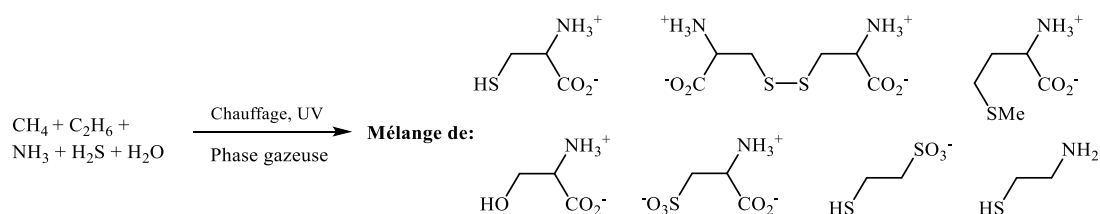
<sup>270</sup> Landro, J. A.; Schimmel, P. *PNAS* **1993**, 90, 2261.

<sup>271</sup> Shimberg, G. D.; Michalek, J. L.; Oluyadi, A. A.; Rodrigues, A. V.; Zucconi, B. E.; Neu, H. M.; Ghosh, S.; Sureschandra, K.; Wilson, G. M.; Stemmler, T. L.; Michel, S. L. *J. PNAS* **2016**, 113, 4700.

Mais d'autres composés cystéine-métal peuvent également avoir été nécessaires. Dans la biochimie actuelle, la cystéine est liée à d'autres métaux, tels que le cuivre,<sup>272,273,274</sup> le cadmium, le nickel, le manganèse et le molybdène.<sup>275</sup> Ajouté à leur utilité dans les triades catalytiques (dans lesquelles, cependant, la sérine et la thréonine ont un rôle similaire),<sup>276</sup> les exemples cités ci-dessus font qu'il est difficile d'imaginer commencer la vie sans cystéine.

#### 4. Essais de synthèses prébiotiques de la cystéine

La première tentative de synthèse de la cystéine dans des conditions prébiotiques a été publiée en 1971.<sup>277</sup> Les auteurs ont observé que la cystéine, ainsi que son disulfure, la cystine, pouvaient se former à partir d'un mélange gazeux de méthane, éthane, ammoniac et sulfure d'hydrogène soumis à une irradiation UV à haute température (**schéma 39**). Dans certaines expériences, la sérine, la cystamine, l'acide cystique, la taurine et la méthionine ont également été détectés. Les très faibles rendements obtenus seraient dus, au moins en partie, à l'éventuelle transformation de la cystéine en acide pyruvique et en acide thiosulfurique (ou thiosulfonique). Sans ces transformations, des rendements acceptables en cystéine et en cystine auraient, peut-être, pu être obtenus.



**Schéma 39.** Molécules obtenues dans des conditions prébiotiques

<sup>272</sup> Festa, R. A.; Thiele, D. J. *Curr. Biol.* **2011**, 21, 877.

<sup>273</sup> Rubino, J. T.; Chenkin, M. P.; Keller, M.; Riggs-Gelascob, P.; Franz, K. J. *Metallomics* **2011**, 3, 61.

<sup>274</sup> Deepak, R.N.V. K.; Chandrakar, B.; Sankaramakrishnan, R. *Biophys. Chem.* **2017**, 224, 32.

<sup>275</sup> Holm, R. H.; Kennepohl, P.; Solomon, E. I. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 2239.

<sup>276</sup> Dodson, G.; Wlodawer, A. *Trends Biochem. Sci.* **1998**, 23, 347.

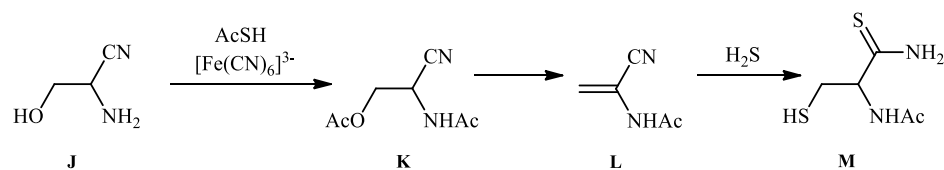
<sup>277</sup> Armstrong, R.W.; Arkayin, B.; Haddad, G. *Nature* **1971**, 232, 577.

Des traces de cystéine ont été détectées dans des expériences imitant les conditions hydrothermales (publication de 1992).<sup>278</sup> Un mélange de KCN, HCl, NaSH et formaldéhyde dans de l'eau a été chauffé sous atmosphère riche en CO<sub>2</sub> et en H<sub>2</sub>, en présence de diverses phases minérales (par exemple de la pyrite ou de l'argile). En fonction de la phase minérale utilisée et de la température, différentes quantités de divers acides aminés ont été obtenues, y compris non seulement la cystéine, mais aussi la méthionine.

Comme déjà mentionné dans l'introduction, des composés soufrés ont été détectés dans le mélange de produits résultant d'expériences de type Miller, menées en présence d'H<sub>2</sub>S (voir **figure 4**).<sup>279</sup> La cystéine n'a pas été détectée dans les échantillons analysés, près d'un demi-siècle après la réalisation de l'expérience par Miller, une période pendant laquelle les échantillons n'étaient pas protégés de l'oxygène. Il se pourrait donc que certains des composés obtenus aient été formés par oxydation de la cystéine, qui aurait été initialement obtenue au cours de l'expérience. Cependant, même la forme oxydée la plus évidente de la cystéine, la cystine, n'a pas été détectée.

Ainsi, si de telles "synthèses géologiques" directes ne peuvent être exclues, un tel processus n'aurait probablement livré que de faibles quantités de cystéine, et il se pourrait bien qu'elle se soit formée dans des rendements raisonnables, seulement au moment où une chimie organique plus classique s'était mise en place dans les océans.

Aussi, certains dérivés de la *N*-acétylcystéine ont été synthétisés à partir du nitrile dérivé de la sérine **J** (**schéma 40**).<sup>280</sup>



**Schéma 40.** Synthèse de dérivés de la *N*-acétylcystéine à partir du nitrile dérivé de la sérine, **J**

Le nitrile **J** est le produit obtenu par application de la réaction de Strecker sur l'hydroxyacétaldéhyde. Il a été bis-acétylé par l'acide thioacétique pour obtenir le composé **K**.

<sup>278</sup> Hennet, R. J. C.; Holm, N. G.; Engel, M. H. *Naturwissenschaften* **1992**, 79, 361.

<sup>279</sup> Parker, E. T.; Cleaves, H. J.; Dworkin, J. P.; Glavin, D. P.; Callahan, M.; Aubrey, M.; Lazcano, A.; Bada, J. L. *PNAS* **2011**, 108, 5526.

<sup>280</sup> Foden, C. S.; Islam, S.; Fernández-García, C.; Maugeri, L.; Sheppard, T. D.; Powner, M. W. *Science* **2020**, 370, 865.

Cette réaction est catalysée par un anion ferricyanure jouant le rôle d'un oxydant. Le composé **K** a ensuite été transformé en un dérivé de la déshydroalanine, **L**, par élimination d'acide acétique. Le traitement de **L** par H<sub>2</sub>S a conduit au thioamide *N*-acétylé **M**.

Ce processus intéressant est très proche de l'un des processus biologiques actuels pour former la cystéine. Cependant, il utilise un agent oxydant pour l'étape d'acétylation et le caractère prébiotique d'une telle oxydation peut être remis en question.

Dans la biologie d'aujourd'hui, la cystéine est produite à partir de la sérine (**schéma 41**). Les sources de soufre sont H<sub>2</sub>S,<sup>281</sup> les anions thiosulfates<sup>282</sup> ou l'homocystéine.<sup>283,284</sup> Il est possible que ce type de processus ait déjà existé en chimie prébiotique.

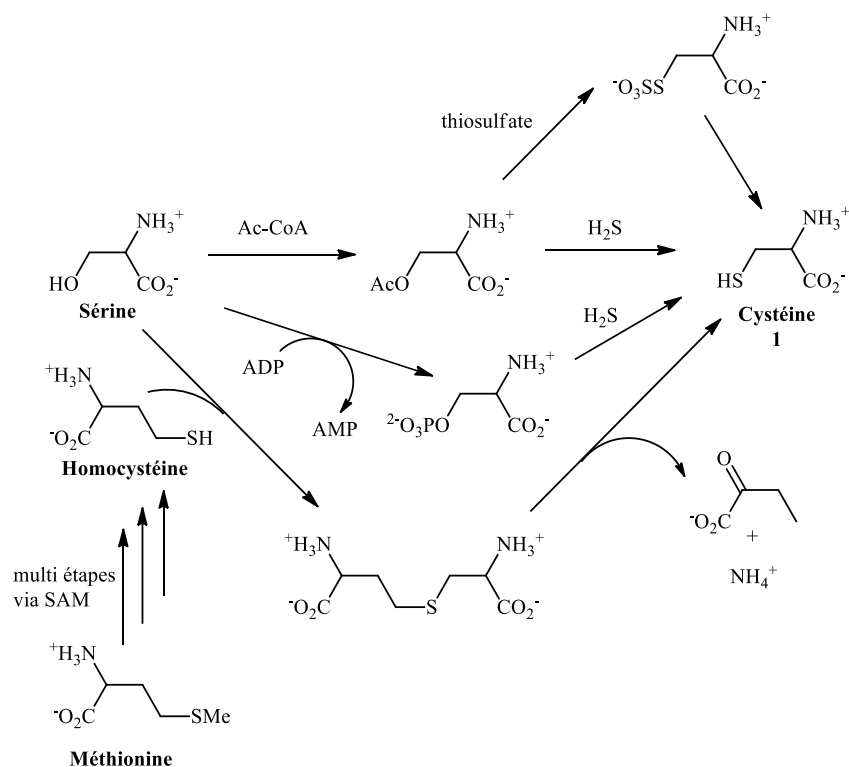


Schéma 41. Voie de synthèse biologique de la cystéine

La méthode ou les méthodes de synthèse de la cystéine dans l'océan primitif, restent donc incertaines. C'est pourquoi, nous avons décidé d'étudier des voies de synthèse plausibles de la cystéine qui respectent les conditions qui régnaient sur Terre il y'a 4 milliards d'années.

<sup>281</sup> Borup, B.; Ferry, J. G. *FEMS Microbiol. Lett.* **2000**, 189, 205.

<sup>282</sup> Nakatani, T.; Ohtsu, I.; Nonaka, G.; Wiriyanawudhiwong, N.; Morigasaki, S.; Takagi, H. *Microb. Cell Fact.* **2012**, 11, 62.

<sup>283</sup> Griffith, O. W. *Methods Enzymol.* **1987**, 143, 366.

<sup>284</sup> Kitabatake, M.; So, M. W.; Tumbula, D. L.; Soll, S. *J. Bacteriol.* **2000**, 182, 143.

## B. Synthèse prébiotique de la cystéine

Comme nous l'avons déjà indiqué, une méthode plausiblement prébiotique permettant la synthèse d'acides aminés est la réaction de Strecker. Notre but étant de synthétiser la cystéine **1**, nous allons appliquer cette méthode au mercaptoacétaldéhyde **4** (schéma 42).

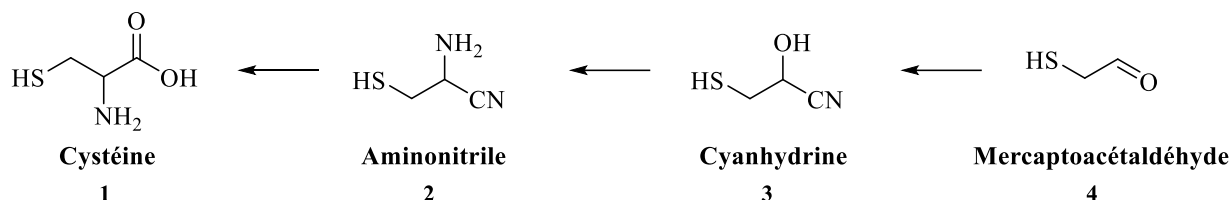


Schéma 42. Schéma réactionnel permettant la synthèse de la cystéine, **1**

Le schéma réactionnel envisagé afin d'obtenir la cystéine **1** nécessite donc, dans un premier temps, d'étudier de possibles synthèses de cet aldéhyde. Deux voies ont été envisagées. Nous les présenterons dans une première partie. Dans une deuxième partie, nous allons évoquer l'application de la réaction de Strecker au mercaptoacétaldéhyde **4**.

### I. Synthèses du mercaptoacétaldéhyde

Le mercaptoacétaldéhyde est une molécule très réactive et existe habituellement sous la forme d'un dimère, le 2,5-dihydroxy-1,4-dithiane **5**. Il a été rapporté par Hesse et Jöder que ce dimère existe sous deux formes stéréo-isomères (schéma 43).<sup>285</sup> Le dimère se décompose en monomère à des températures élevées proches de son point de fusion.

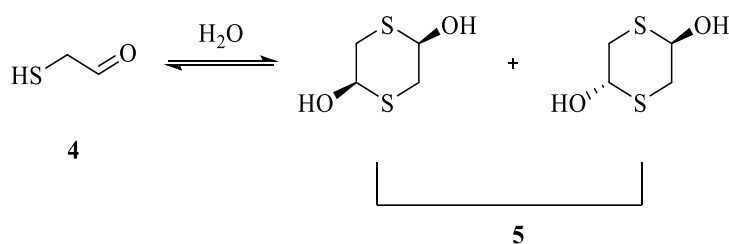


Schéma 43. Dimérisation de **4**

<sup>285</sup> Hesse, G.; Jöder, I. *Chem. Ber.* **1952**, 85, 924.

### 1. Synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde

Le glycolaldéhyde a pu être une molécule importante à l'origine de la vie en participant à la synthèse de sucres dans des réactions de formose. La présence du glycolaldéhyde sur la Terre primitive a été étudiée, en particulier dans les travaux de Miller en 1957,<sup>286</sup> d'Hubbard et al. en 1971,<sup>287</sup> et de Bar-Nun et Hartman en 1978.<sup>288</sup>

En considérant le glycolaldéhyde **6** comme substrat de carbone et H<sub>2</sub>S comme source de soufre, nous avons proposé une première voie de synthèse du mercaptoacétaldéhyde **4** (**schéma 44**).

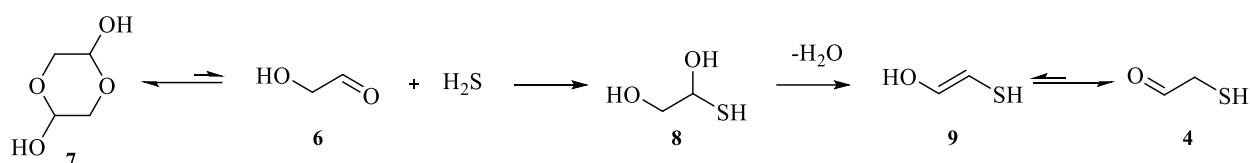


Schéma 44. Réaction entre **6** et H<sub>2</sub>S

Pour cette voie de synthèse, une étude théorique et une étude expérimentale ont été effectuées.

#### a. Etude expérimentale de la synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde

Nous avons testé la synthèse de **4** à partir du glycolaldéhyde **6**, présent lui aussi dans l'eau essentiellement sous forme dimérique **7**. Lorsque du NaSH et de l'acide acétique (pour former H<sub>2</sub>S) sont ajoutés à la solution de glycolaldéhyde, un précipité se forme. Les analyses RMN (l'intégration des pics du RMN <sup>1</sup>H et les corrélations entre les divers pics dans l'analyse COSY) de ce précipité soluble dans le chloroforme, révèlent la présence de deux produits isomères assez semblables à ceux décrits pour le mercaptoacétaldéhyde dans l'eau (**figure 12**). Le rapport entre les deux isomères est 77:23.

<sup>286</sup> Miller, S. L. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1957**, 69, 260.

<sup>287</sup> Hubbard, J. S.; Hardy, J. P.; Horowitz, N. H. *PNAS* **1971**, 68, 574.

<sup>288</sup> Bar-Nun, A.; Hartman, H. *Origins Life* **1978**, 9, 93

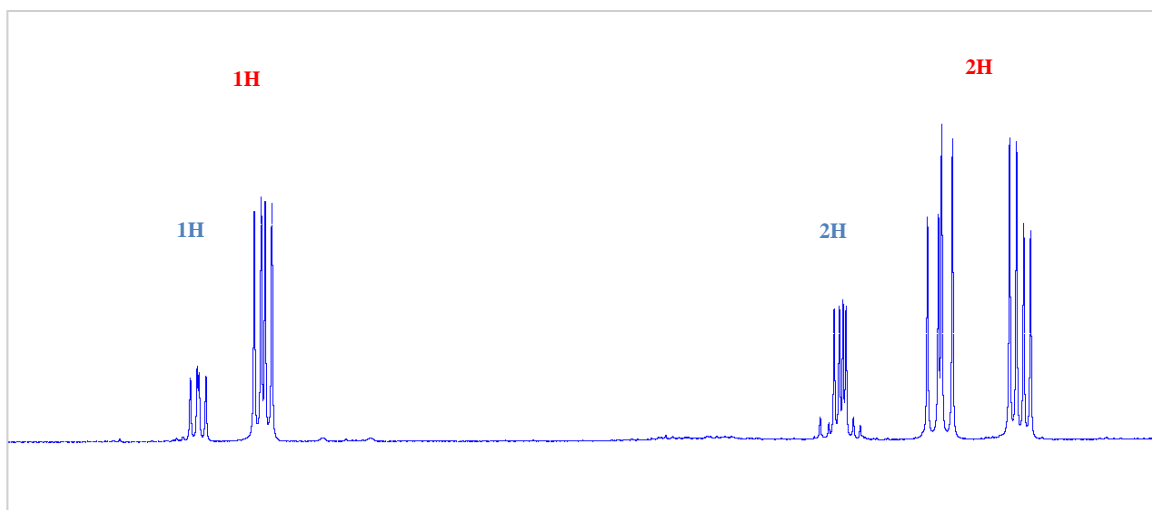


Figure 12. Analyse RMN  $^1\text{H}$  dans  $\text{CDCl}_3$  du précipité obtenu par la réaction entre 7 et  $\text{H}_2\text{S}$

Diverses réactions ont pu se dérouler dans le milieu réactionnel:

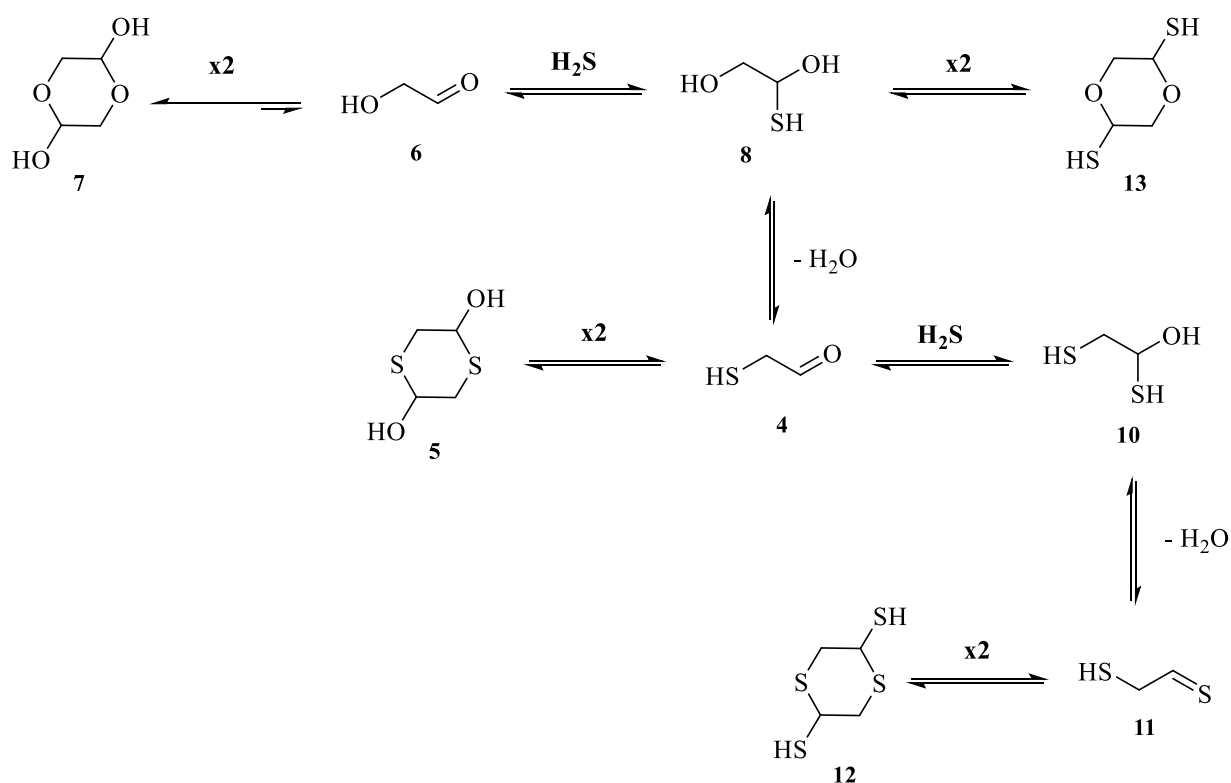
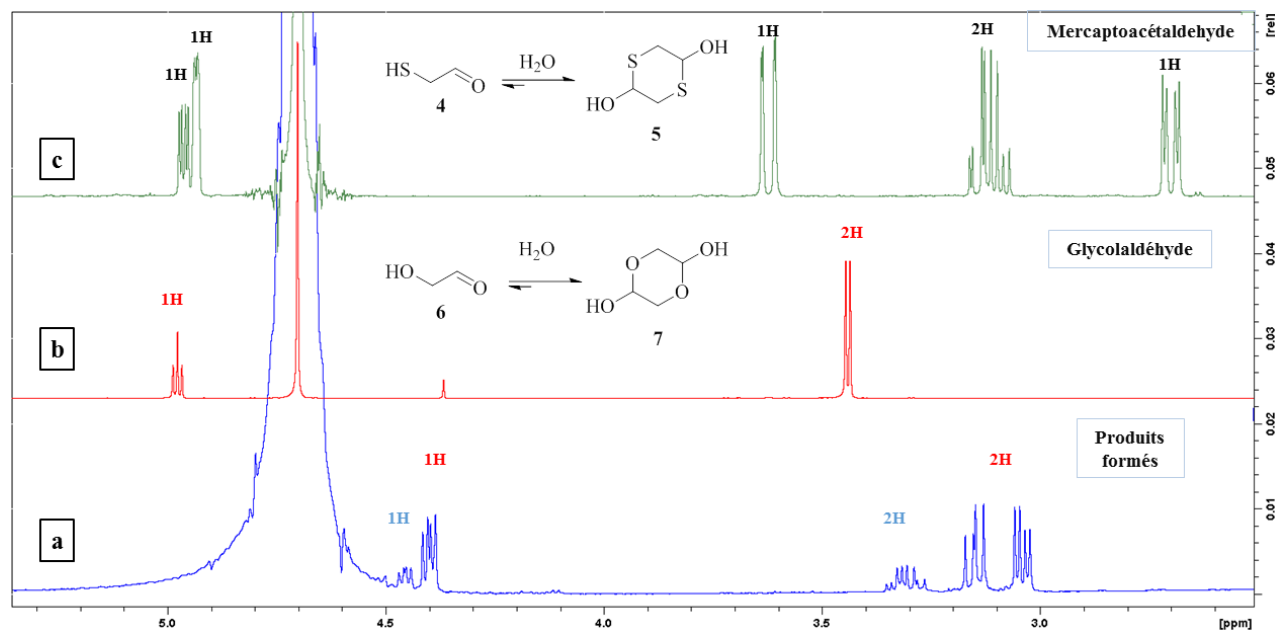


Schéma 45. Réactions possibles entre 6 et  $\text{H}_2\text{S}$

Le produit **7** est le dimère du glycolaldéhyde dans l'eau. C'est le réactif de départ. **5** est le mélange des dimères (cis et trans) attendus pour **4**, le produit désiré. **12** et **13** sont deux autres produits possibles. **12** est un produit d'évolution du mercaptoacétaldéhyde, mais pas **13**. Idéalement, nous souhaitons donc obtenir soit **5** soit **12**.

Toutes ces molécules auraient des spectres RMN  $^1\text{H}$  assez semblables. Les spectres que nous avons obtenus sont présentés dans la **figure 13**.

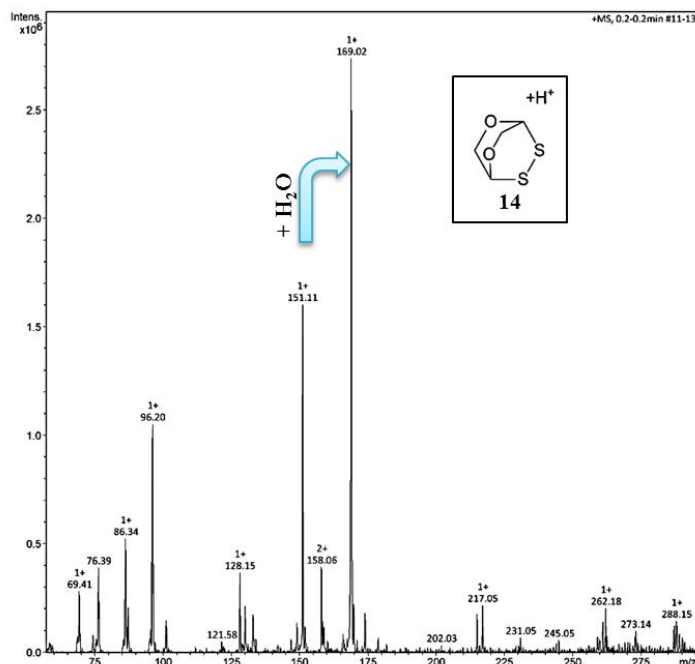


**Figure 13.** Comparaison entre les produits obtenus (spectre a), le glycolaldéhyde (spectre b) et le mercaptoacétaldéhyde (spectre c)

Par comparaison, d'abord, des spectres RMN  $^1\text{H}$  du glycolaldéhyde dimère commercial et du précipité obtenu (spectre du produit dans l'eau), nous nous sommes assurés de la consommation totale du réactif de départ (comparaison entre les spectres **a** et **b**). Nous observons aussi, que le produit désiré, le dimère de **4**, n'est pas formé (comparaison entre les spectres **a** et **c**).



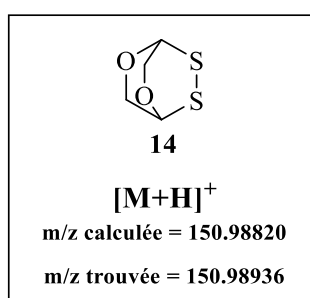
Nous avons eu recours à la spectrométrie de masse pour tenter d'identifier le produit formé (**figure 14**):



**Figure 14.** Spectrométrie de masse du produit obtenu par la réaction entre le glycolaldéhyde et le NaSH dans l'eau à pH acide avec chauffage à  $t = 45\text{ °C}$

La spectrométrie de masse du précipité montre un pic à  $M+1 = 151$ , dont nous pensons qu'il correspond au disulfure **14** ( $M = 150$ ) résultant de l'oxydation intramoléculaire de **13**. On observe aussi un pic à  $m/z = 169$ , soit  $m/z$  de **14** +  $H_2O$  + 1. Il est possible qu'il corresponde à un agrégat de **14** avec une molécule d'eau. Par contre, le  $M+1$  du dithiol **13** (153) n'est pas observé.

La masse exacte a appuyé la présence de **14**. Il est possible que l'oxydation de **13** en **14** ait eu lieu pendant la mesure du spectre de masse.



**Figure 15.** Masse exacte de **14**

Quoi qu'il en soit, le produit **5** n'a pas été obtenu et nous n'avons pas pu mettre en évidence l'obtention du mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde. Dans le but de mieux comprendre cet échec, nous avons réalisé une étude théorique de cette réaction.

### b. Etude théorique de la synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde

Nous avons examiné par DFT les diverses étapes du chemin réactionnel proposé (voir schéma 44). Nous avons pu pronostiquer les énergies à mettre en jeu et les structures moléculaires. Les calculs ont été réalisés par Fanny Vazart du laboratoire IPAG, à Grenoble.

- La première étape (**figure 16**) consiste à rapprocher une molécule d' $\text{H}_2\text{S}$  d'une molécule de glycolaldéhyde **6**. On distingue des liaisons de Van der Waals qui se forment, permettant ainsi d'aboutir facilement à un état de transition (**TS<sub>16-8</sub>**) et d'obtenir le réactif intermédiaire (**8a**). Ce dernier se stabilise, alors, sous deux conformations (**8b** et **8c**). Toutes ces conformations correspondent au produit **8** du schéma 44.

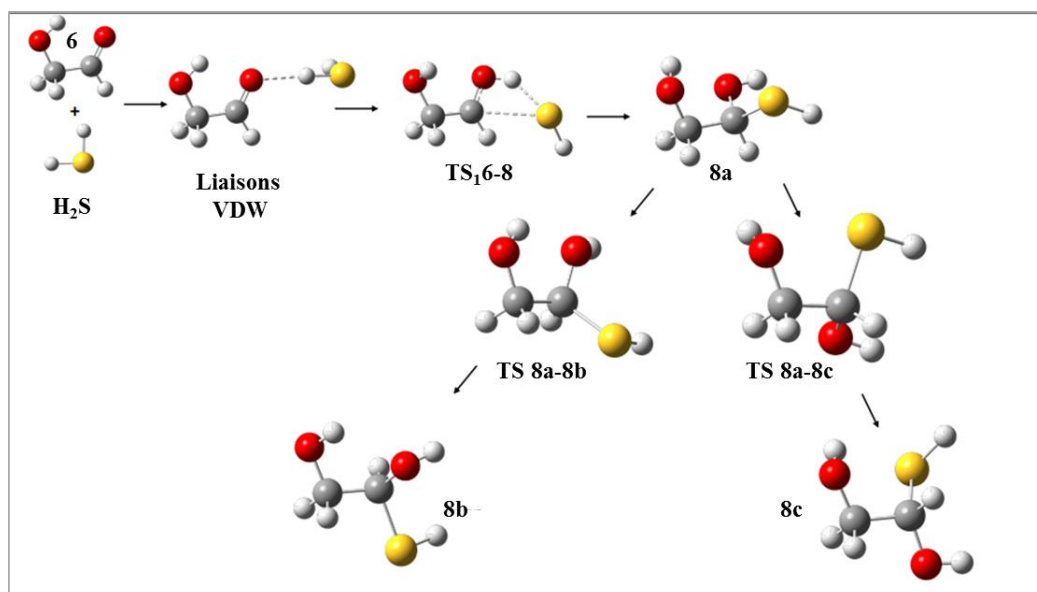


Figure 16. Calcul théorique de la formation de **8** (**8a**, **8b** et **8c**)

- La deuxième étape (**figure 17**) est la déshydratation de **8** (nous avons étudié cette réaction sur les 3 conformères **8a**, **8b** et **8c**), aboutissant à la forme énol du mercaptoacétaldéhyde **9**. L'énol (**Z**)-**9** et l'énol (**E**)-**9** peuvent être obtenus.

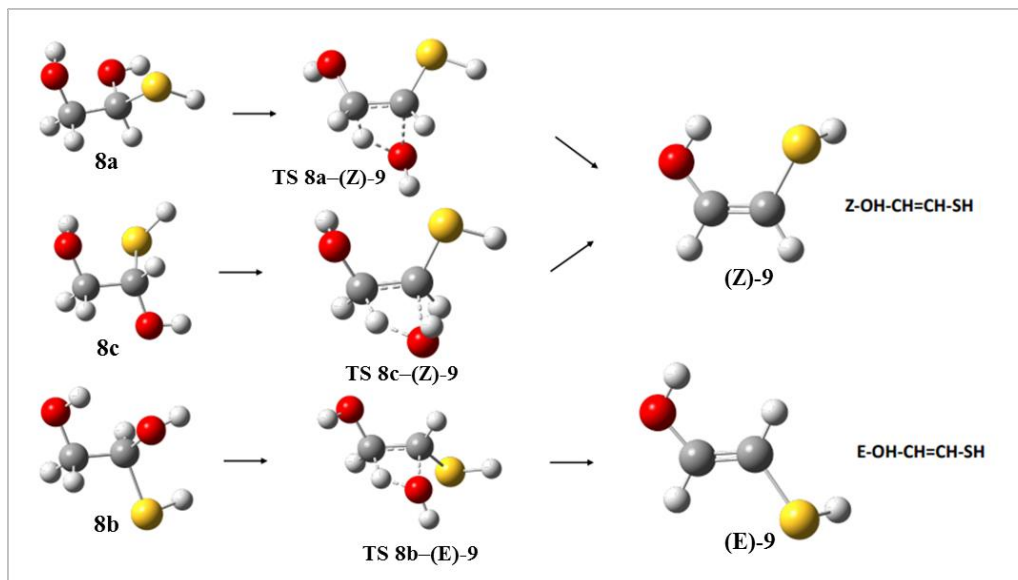


Figure 17. Calcul théorique de la déshydratation et la formation de **9**

- La troisième et dernière étape (**figure 18**) est la tautomérisation de l'énol **9** afin d'obtenir le mercaptoacétaldéhyde **4**. Cette étape a été étudiée avec et sans l'assistance d'une molécule d'eau afin d'obtenir **4**, dont deux conformations sont possibles, **4a** et **4b** :

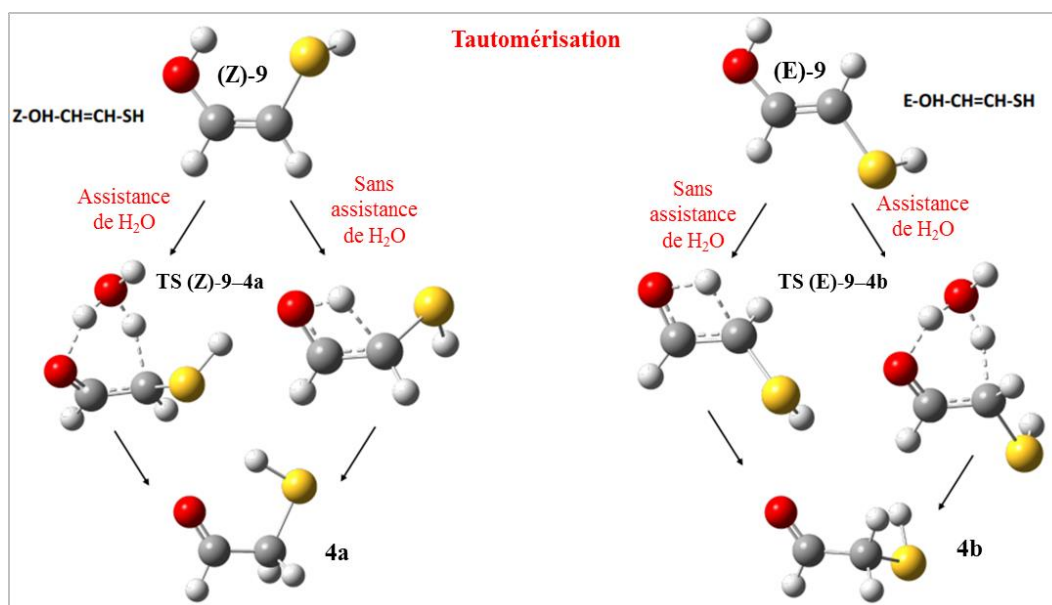


Figure 18. Calcul théorique de la tautomérisation et la formation de **4**

Le profil énergétique global du chemin réactionnel est présenté dans la **figure 19**.

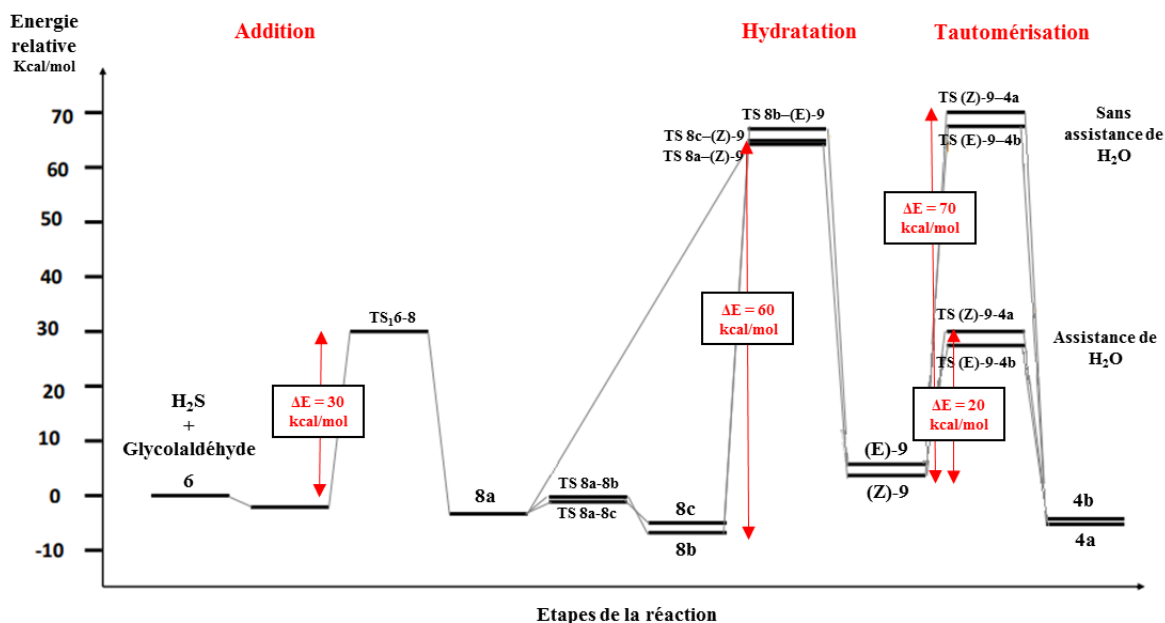


Figure 19. Profil énergétique global de la réaction de synthèse de 4

L'énergie d'activation de la première étape est de 30 kcal/mol. Quoique déjà importante, une telle énergie d'activation permet d'envisager que la première étape est possible : nos calculs prédisent que l'intermédiaire **8** peut se former (d'autant plus que les diverses conformations de **8** sont basses en énergie).

Par contre, l'énergie d'activation de l'étape de déshydratation est calculée à 60 kcal/mol. C'est une énergie trop forte pour conclure à sa faisabilité, même si les énols, E et Z, ne sont pas très hauts en énergie.

La dernière étape, la tautomérisation, nécessite une énergie d'activation de 20 kcal/mol avec l'assistance d'une molécule d'eau. Comme attendu pour une telle réaction (énol – aldéhyde), elle est possible. Notons que, sans l'assistance de l'eau, l'énergie d'activation est beaucoup plus élevée (ΔE = 70 kcal/mol). La forme aldéhyde de **4** est plus stable que l'énol **9**.

En conclusion, l'énergie d'activation élevée de la deuxième étape, la déshydratation, indique que la transformation devrait être très difficile. Nos résultats théoriques sont donc consistants avec ce que nous avons observé expérimentalement : en l'absence d'un catalyseur qui pourraient faciliter la réaction, celle-ci ne peut avoir lieu (et on s'arrête au produit **8** qui dimérise et donne **13**). Pour l'instant, nous n'avons pas pu identifier un tel catalyseur.

## 2. Synthèse du mercaptoacétaldéhyde à partir de l'acétaldéhyde

Nous avons étudié une deuxième voie de synthèse du mercaptoacétaldéhyde en partant cette fois, de l'acétaldéhyde via le chloroacétaldéhyde.

### a. Présence plausible de l'acétaldéhyde

La question de la présence de l'acétaldéhyde sur la Terre primitive est ici essentielle. C'est en tout cas, une molécule interstellaire. Il a donc pu arriver sur Terre sur des objets extraterrestres. L'acétaldéhyde a été détecté dans divers environnements, tant dans des objets froids,<sup>4,6,289,290</sup> que dans des noyaux chauds.<sup>211,212</sup> Les modèles de synthèse sur la surface des grains montrent que l'acétaldéhyde se forme par couplage des radicaux  $\text{CH}_3\cdot$  et  $\text{HCO}\cdot$ , précédemment formé par la photodissociation du méthanol et du formaldéhyde.<sup>217,218</sup>

Alternativement, l'équipe de Charnley a proposé que l'acétaldéhyde se forme en phase gazeuse, par l'oxydation du radical éthyle ( $\text{C}_2\text{H}_5\cdot + \text{O}\cdot \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + \text{H}\cdot$ ), où le radical  $\text{C}_2\text{H}_5\cdot$  est obtenu à partir de l'éthane ( $\text{C}_2\text{H}_6$ ).<sup>291,292</sup> Une synthèse interstellaire de l'acétaldéhyde est donc possible. Il aurait donc pu " atterrir " sur notre planète primitive.

Par ailleurs, comme il est connu que des aldéhydes se forment dans des expériences de type Miller, il nous semble plausible que l'acétaldéhyde puisse être considéré comme une molécule prébiotique.

---

<sup>289</sup> Öberg, K. I. ; Bottinelli, S.; Jørgensen, J. K.; Van Dishoeck, E. F. *ApJ* **2010**, 716, 825.

<sup>290</sup> Jaber A.; Ceccarelli, C.; Kahane, C.; Caux, E. *ApJ* **2014**, 791, 29.

<sup>291</sup> Charnley, S. B. *Adv. Space Res.* **2004**, 33, 23.

<sup>292</sup> Vasyunin, A. I.; Herbst, E. *ApJ* **2013**, 769, 34.

### b. Halogénéation sur la Terre primitive : chloration de l'acétaldéhyde

En chimie organique classique, l'halogénéation en  $\alpha$  des aldéhydes et des cétones est obtenue en utilisant divers réactifs tels que  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{Br}_2$ ,  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ . La chloration, par exemple, est catalysée par des acides et des bases. Le mécanisme en milieu acide est présenté ci-dessous :

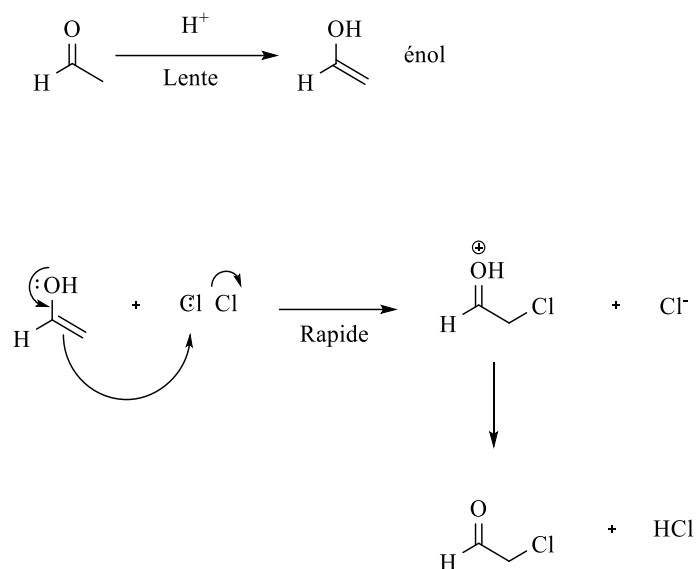


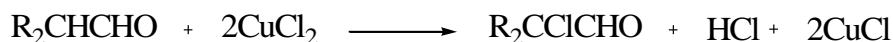
Schéma 46

L' $\alpha$ -chloration d'un composé carbonylé est donc un processus simple. Il peut être exécuté en utilisant du chlore moléculaire comme source de  $\text{Cl}$  et l'eau comme solvant,<sup>293,294</sup> donc dans des conditions qui peuvent être considérées comme plausiblement prébiotiques. Cependant, même si  $\text{Cl}_2$  pouvait être émis par les volcans, il est clair que le chlore était principalement présent dans l'océan primitif, comme il l'est aujourd'hui, sous forme d'anions chlorure. Mais, est-il possible d'envisager une chloration par ces anions  $\text{Cl}^-$  ?

<sup>293</sup> Newman, M. S.; Farbman, M. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, 66, 1550. DOI:10.1021/ja01237a042

<sup>294</sup> Dick, C. R. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 272. DOI:10.1021/jo01048a066

En chimie organique, le chlorure cuivrique a été utilisé pour introduire un atome de chlore sur le carbone en  $\alpha$  des aldéhydes.<sup>295</sup>



Les produits de cette réaction dépendent des conditions réactionnelles, des solvants utilisés et des quantités de réactifs. Cette réaction s'est avérée efficace avec l'isobutyraldéhyde par reflux de quantités équimolaires de  $CuCl_2$  et de butyraldéhyde (1,02 M dans un mélange 4 :1 isopropyl- $H_2O$ ) pendant 1 heure aboutissant à un rendement de 90% en  $\alpha$ -chlorobutyraldéhyde. Les auteurs ont proposé un mécanisme radicalaire pour cette transformation (**schéma 47**).

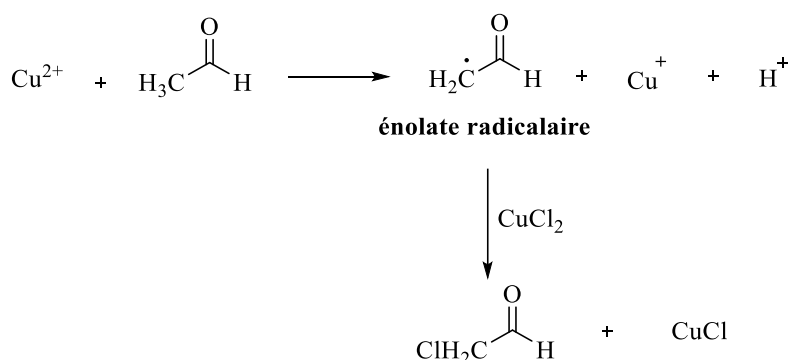


Schéma 47

Bien sûr, le cuivre n'était pas abondant dans les océans, mais il était présent.<sup>296,297</sup> Il a été proposé que le cuivre (I) et le cuivre (II) soient essentiels dans la chimie "cyanosulfidique", une des hypothèses majeures dans le domaine des origines de la vie.<sup>298</sup> Le cuivre (II) est aussi le catalyseur nécessaire à la condensation d'acides aminés dans l'hypothèse de Schwendinger et al. sur la "formation de peptides induite par des sels".<sup>299</sup>

Il ne nous a donc pas semblé impossible d'utiliser du cuivre en chimie prébiotique.

<sup>295</sup> Lorenzini, A.; Walling, C. J. *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 4008. DOI:10.1021/jo01287a062

<sup>296</sup> Galtsoff, P. S. *Ecology* **1943**, 24, 263. DOI:10.2307/1929706

<sup>297</sup> Schmidt, R. L.; Forster, W. O. *Crit. Rev. Environ. Control* **1977**, 8, 101. DOI:10.1080/10643387709381660

<sup>298</sup> Sutherland, J. D. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2016**, 55, 104. DOI:10.1002/anie.201506585 PMID: 26510485

<sup>299</sup> Schwendinger, G.; Tauler, R.; Saetia, S.; Liedl, K. R.; Kroemer, R. T.; Rode, B. M. *Inorg. Chim. Acta* **1995**, 228, 207. DOI:10.1016/0020-1693(94)04186-Y

Nous avons testé la réaction de chloration de l'acétaldéhyde par  $\text{CuCl}_2$  pour donner du chloroacétaldéhyde. L'acétaldéhyde **15** a été chauffé à  $70^\circ\text{C}$  avec 2 équivalents de chlorure cuivrique dans de l'eau (schéma 48). La réaction a été suivie par RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$ .

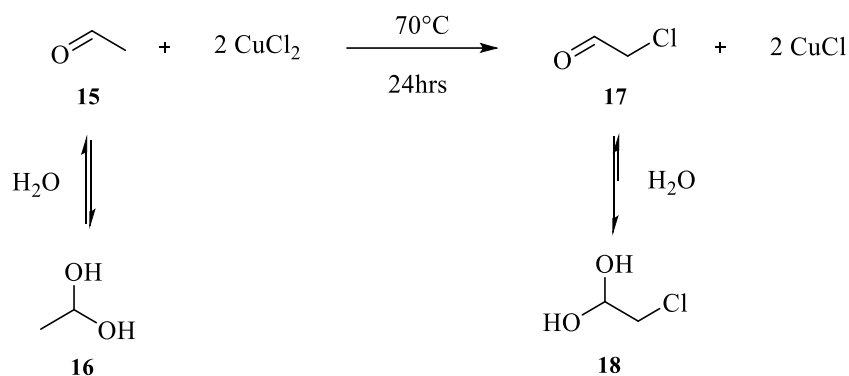


Schéma 48. Chloration de **15** par  $\text{CuCl}_2$

Son évolution (figure 20) et la comparaison des spectres de RMN  $^1\text{H}$ , montrent qu'au bout de 24 heures de chauffage, nous observons l'apparition de nouveaux pics caractéristiques des protons et carbones du chloroacétaldéhyde **17**. L'acétaldéhyde, dans l'eau, est présent sous ses deux formes, hydrate **16** et aldéhyde **15**. Le chloroacétaldéhyde **17**, lui, n'est présent que sous sa seule forme hydrate **18**. Toutefois en RMN  $^1\text{H}$ , la comparaison n'a été possible que sur un seul pic, ce qui n'est pas totalement convaincant.

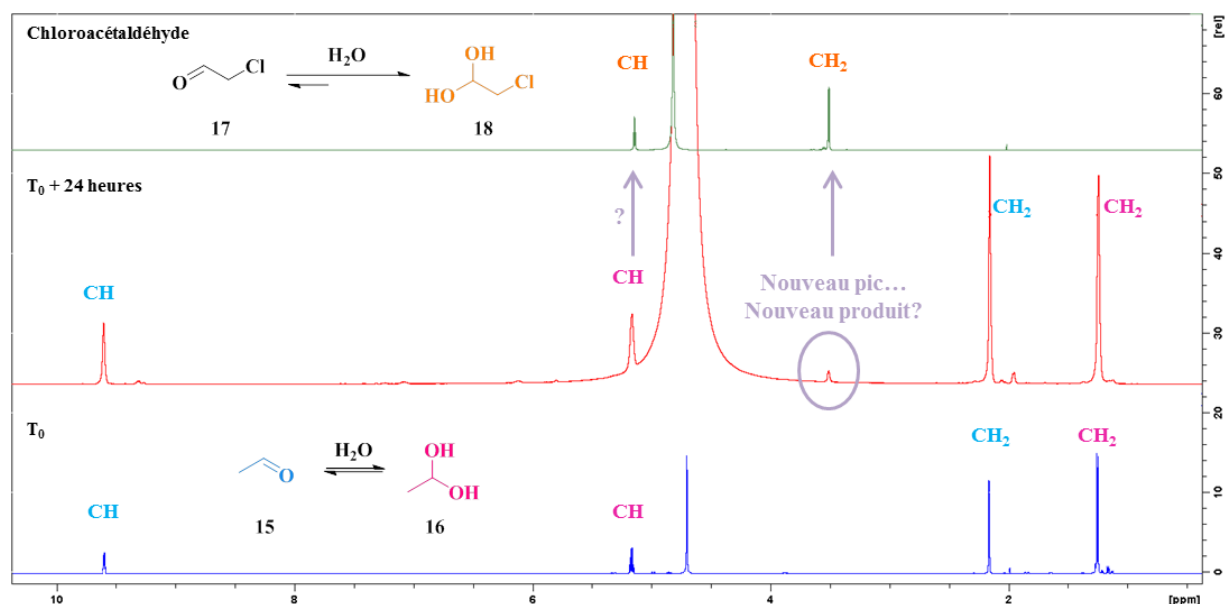
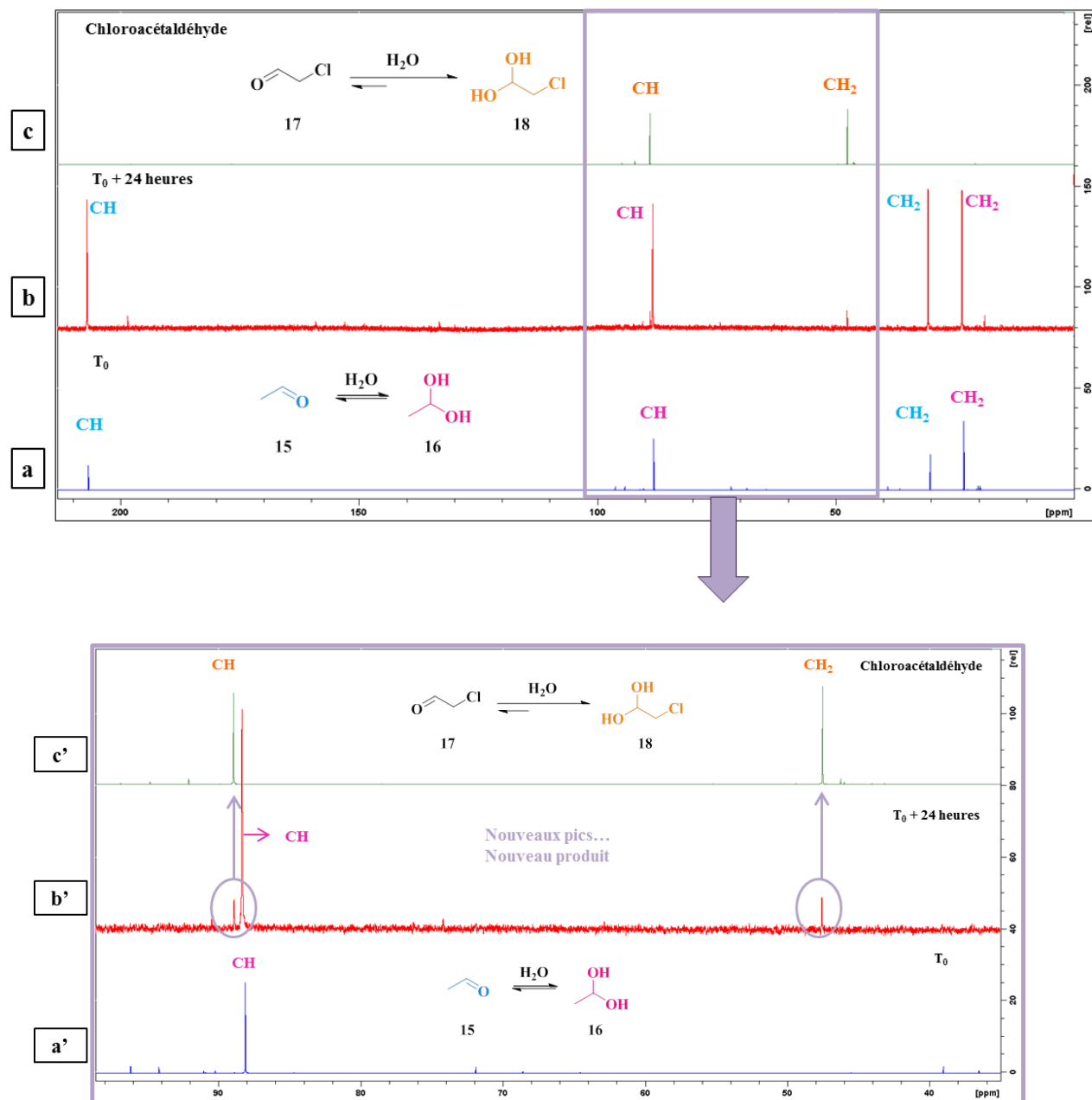


Figure 20. Spectres RMN  $^1\text{H}$ , représentant l'évolution de la réaction de chloration de l'acétaldéhyde après 24 heures de chauffage à  $70^\circ\text{C}$



La comparaison des spectres RMN  $^{13}\text{C}$  est plus concluante (**figure 21**). L'évolution de la réaction montre l'apparition de deux nouveaux pics représentatifs des deux carbones du chloroacétaldéhyde hydraté **18**.



**Figure 21.** Spectres RMN  $^{13}\text{C}$ , représentant l'évolution de la réaction de chloration de l'acétaldéhyde après 24 heures de chauffage à  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$

- a. RMN  $^{13}\text{C}$  à  $t_0$  (acétaldéhyde)
- b. RMN  $^{13}\text{C}$  à  $t_0 + 24$  heures
- c. RMN  $^{13}\text{C}$  du chloroacétaldéhyde commercial

a', b' et c' : Zoom des spectres précédents

Ainsi l'acétaldéhyde **15**, en présence de chlorure de cuivre, peut donner du chloroacétaldéhyde même si la conversion reste faible (pas plus de 10%). Nous allons maintenant utiliser le chloroacétaldéhyde pour former le mercaptoacétaldéhyde.

### c. Synthèse du mercaptoacétaldéhyde

La synthèse du mercaptoacétaldéhyde **4**, à partir du chloroacétaldéhyde, a été décrite dans un brevet de Thiel et al.<sup>300</sup> La méthode permet d'obtenir un rendement supérieur à 90% de 2,5-dihydroxy-1,4-dithiane **5**, sous forme d'une poudre blanche à jaune.

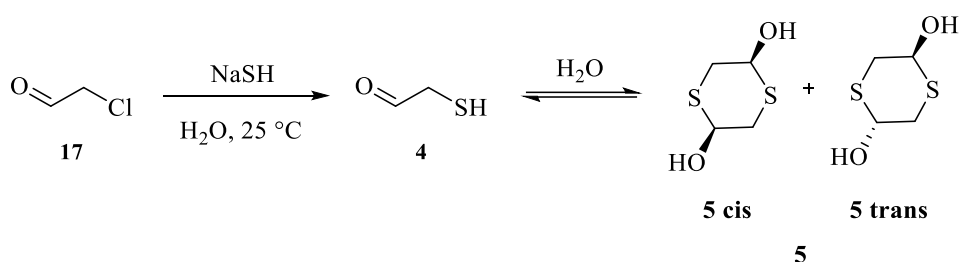


Schéma 49. Réaction de **17** avec NaSH

En reproduisant cette méthode, nous avons, en effet, obtenu le mercaptoacétaldéhyde **4**. Comme prévu, dans l'eau il se dimérise et ses deux formes stéréo-isomères, **5 cis** et **5 trans** (rdt = 88%) sont obtenues.

Le produit formé a été analysé par RMN <sup>1</sup>H et par RMN <sup>13</sup>C, montrant les deux isomères du dimère **5 cis** et **5 trans** (figure 22, 23). Par contre, on ne voit pas des pics caractéristiques du mercaptoacétaldéhyde monomère **4**, qui aurait pu être présent en faible quantité.

<sup>300</sup> Thiel, M.; Asinger, F.; Schmiedel, K. *Liebigs Ann. Chem.* **1958**, 611, 121.

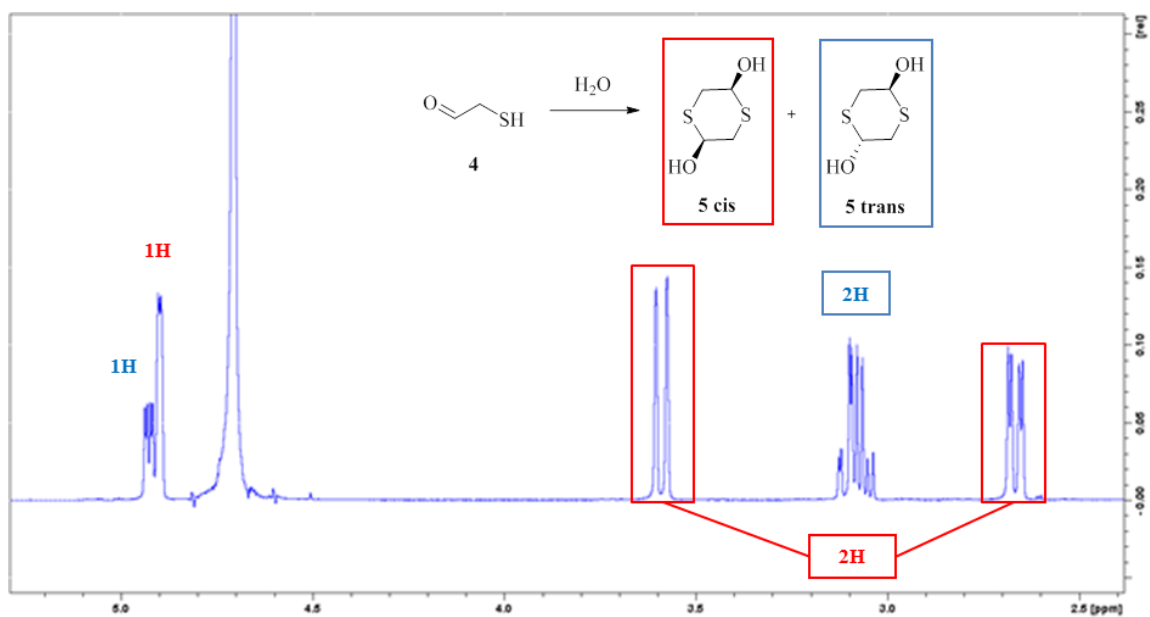


Figure 22. RMN  $^1\text{H}$  du mercaptoacétaldéhyde dimère 5

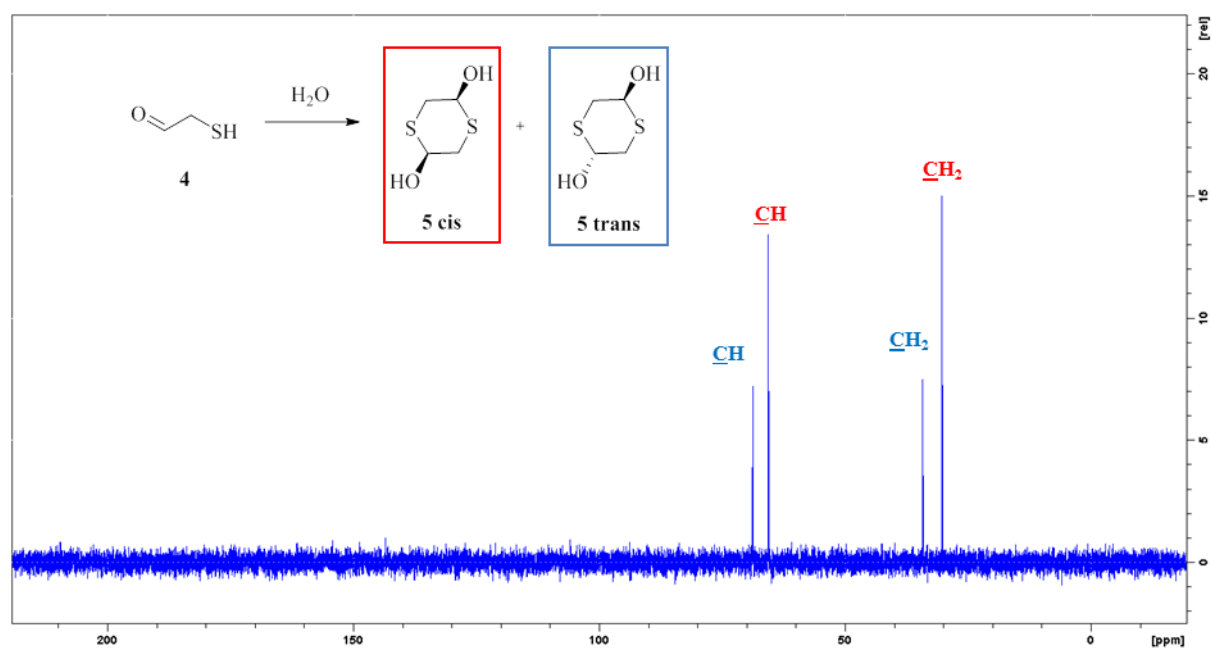


Figure 23. RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  du mercaptoacétaldéhyde dimère 5

## II. Synthèse de la cystéine

Puisque le mercaptoacétaldéhyde a pu être formé, nous lui avons appliqué la réaction de Strecker, pour aboutir à la formation de la cystéine **1**.

Etant donné qu'HCN gazeux est très dangereux, nous avons plutôt utilisé le cyanure de sodium NaCN, avec NH<sub>4</sub>Cl comme source d'ammoniac.

### 1. Action de NaCN sur le mercaptoacétaldéhyde

Nous avons d'abord étudié la réaction de NaCN avec le dimère du mercaptoacétaldéhyde **5**. Nous avons observé une conversion totale et rapide de ce dernier en cyanhydrine **3** (schéma **50**).

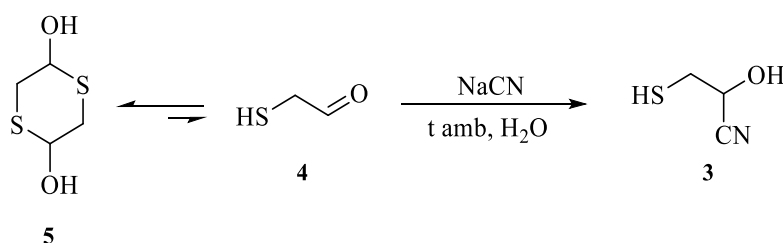


Schéma 50. Action de NaCN sur **4**

La réaction a été suivie par RMN <sup>1</sup>H et RMN <sup>13</sup>C. Le produit a, par la suite, été extrait dans une phase organique et analysé par RMN et spectrométrie de masse (rdt = 92%). Les spectres ci-dessous (figure **24** et **25**), sont les spectres de **3** dans le CDCl<sub>3</sub>, ce qui permet de voir le triplet caractéristique du SH. Les spectres de **3** dans l'eau sont présentés dans la partie expérimentale.

RMN  $^1\text{H}$  et RMN  $^{13}\text{C}$  : (figure 24, 25)

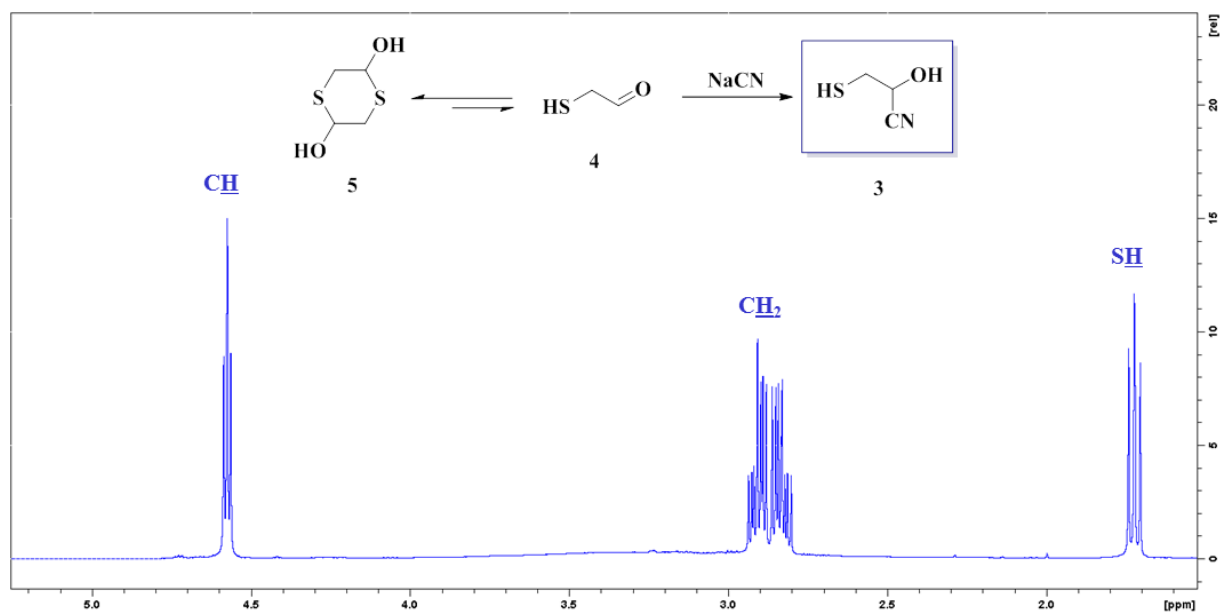


Figure 24. Spectre RMN  $^1\text{H}$  de 3 dans  $\text{CDCl}_3$

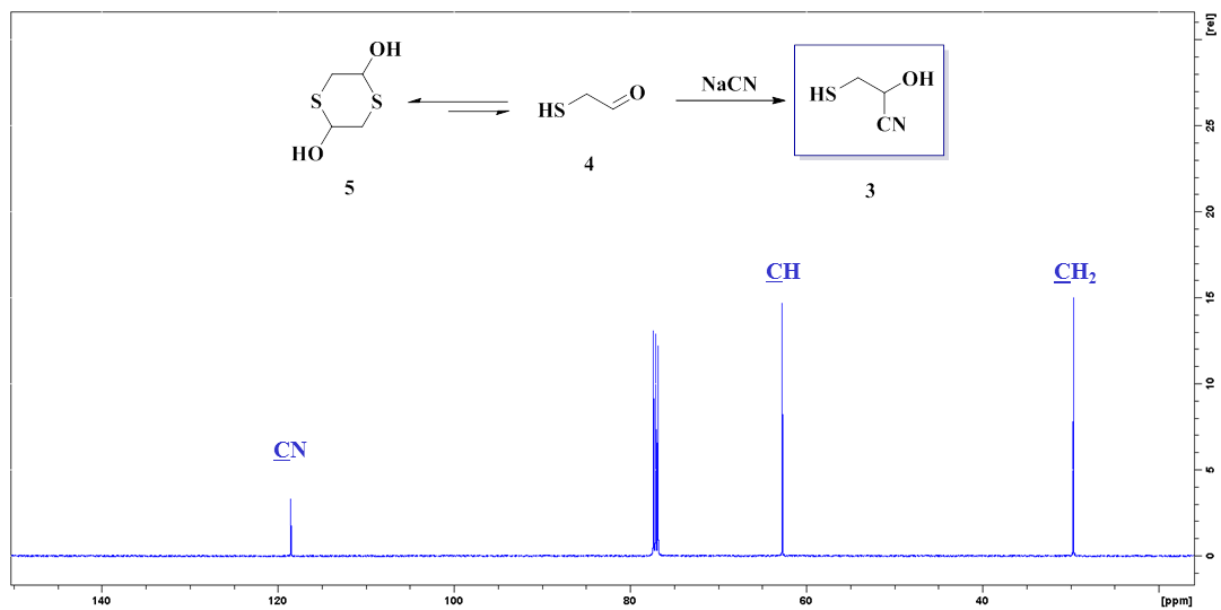


Figure 25. Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de 3 dans  $\text{CDCl}_3$

Spectrométrie de masse (figure 26):

Par spectrométrie de masse, nous n'avons pas observé la masse moléculaire de **3** sous forme monomère, mais sous forme d'agrégats à 2 et 3 molécules.

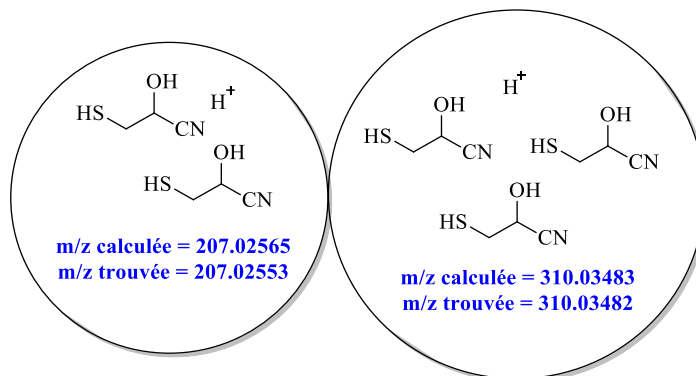


Figure 26. Spectrométrie de masse de **3**

## 2. Application de la réaction de Strecker au mercaptoacétaldéhyde

Dans un premier temps, nous avons appliqué la réaction de Strecker classique, c'est-à-dire, l'addition de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  et de cyanure  $\text{NaCN}$  au mercaptoacétaldéhyde **4**. La réaction a été suivie par RMN  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$ .

L'évolution de la réaction révèle dans un premier temps, la formation de la cyanhydrine **3**, qui se transforme ensuite en d'autres produits que nous n'avons pas pu identifier. Mais, au bout de 24 heures, nous n'avons pas observé l'apparition des pics caractéristiques de l'aminonitrile **2** désiré.

La spectrométrie de masse révèle aussi la présence de la cyanhydrine **3**, mais ni l'aminonitrile **2**, ni la cystéine **1** n'ont été détectés.

- **Conditions basiques**

Nous avons testé la réaction de Strecker de **4** en milieu basique, en ajoutant du  $\text{NH}_4\text{OH}$  en excès. La réaction a été suivie par RMN.

Dans un premier temps, nous observons l'apparition de deux produits : la cyanhydrine **3** et l'aminonitrile **2**. La cyanhydrine est consommée avec le temps et de nouveaux produits se forment : l'aminonitrile **2**, l'amide de la cystéine **19**, et la cystéine **1** elle-même. Ils sont obtenus dans un rapport 64 : 30 : 6 après 6 heures de réaction à température ambiante (figure 27).

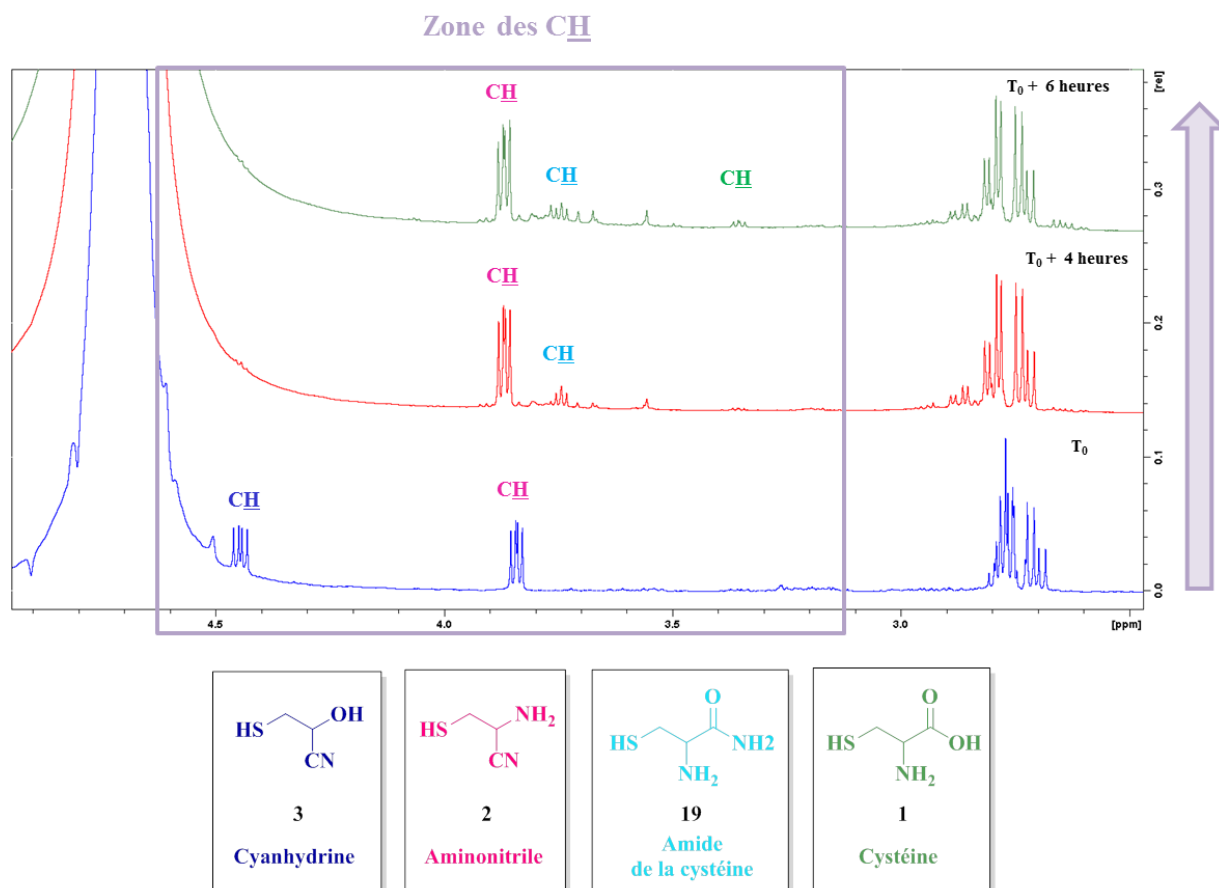


Figure 27. Evolution de la réaction de Strecker et formation de la cystéine **1**

En RMN  $^1\text{H}$ , l'identification de **1** a été aussi confirmée par ajout de cystéine commerciale au milieu réactionnel (voir **partie expérimentale**, figure **E.P.13**, **p.184**). Une fois ajoutée, les signaux caractérisant la cystéine ont augmenté, confirmant son identification.

La présence de ces produits dans le milieu réactionnel a été aussi vérifiée par un suivi RMN  $^{13}\text{C}$  et par spectrométrie de masse. Les spectres RMN  $^{13}\text{C}$  de l'évolution de la réaction de Strecker seront détaillés dans la partie expérimentale de ce chapitre.

Ainsi, la réaction de Strecker appliquée au mercaptoacétaldéhyde, nous a permis d'obtenir la cyanhydrine dans un premier temps, l'aminonitrile, l'amide de la cystéine et enfin la cystéine.

Bien sûr, la conversion en cystéine est faible. Elle aurait, peut-être, pu être améliorée sur des temps plus longs ou en chauffant le milieu réactionnel.

### III. Synthèse de l'hexahydro-1,3,5-trithia-6b-azacyclopenta[c,d]pentalène, 20

Nous avons, enfin, essayé de synthétiser la cystéine directement à partir du chloroacétaldéhyde **17**, en mélangeant tous les réactifs nécessaires à la synthèse du mercaptoacétaldéhyde **4** avec les réactifs de la réaction de Strecker : NaSH, NaCN et NH<sub>4</sub>Cl. Nous avons suivi la réaction par RMN <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C et par spectrométrie de masse.

Le suivi RMN de la réaction a été difficile à cause de la présence de nombreux pics. Cependant, après 72 heures, nous avons observé un précipité blanc. Ce solide est soluble dans le chloroforme, ce qui nous a permis d'obtenir son spectre RMN <sup>1</sup>H (**figure 28**).

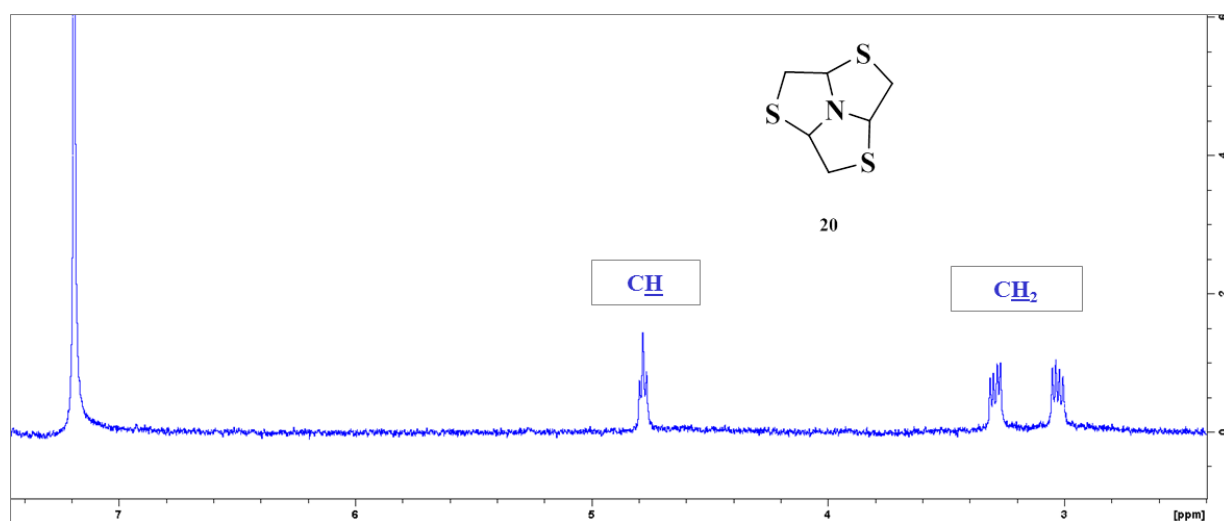


Figure 28. RMN <sup>1</sup>H dans CDCl<sub>3</sub> de **20**

Mais, seule l'analyse cristallographique, nous a permis de déterminer la structure du composé obtenu avec certitude (**figure 29**).

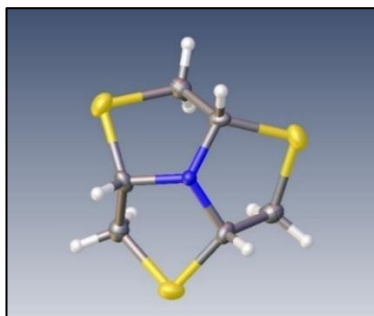


Figure 29. Analyse cristallographique de **20**

C'est l'hexahydro-1,3,5-trithia-6b-azacyclopenta[c,d]pentalène.



Donc, lorsque le chloroacétaldéhyde est mélangé avec NaSH, NaCN et NH<sub>4</sub>Cl, aucune réaction avec NaCN n'est notée, ce qui ne revient pas à dire qu'il ne réagit pas du tout (les réactions peuvent être réversibles), mais que la synthèse de produit final ne le fait pas intervenir. Un mécanisme possible de cette condensation est le suivant :

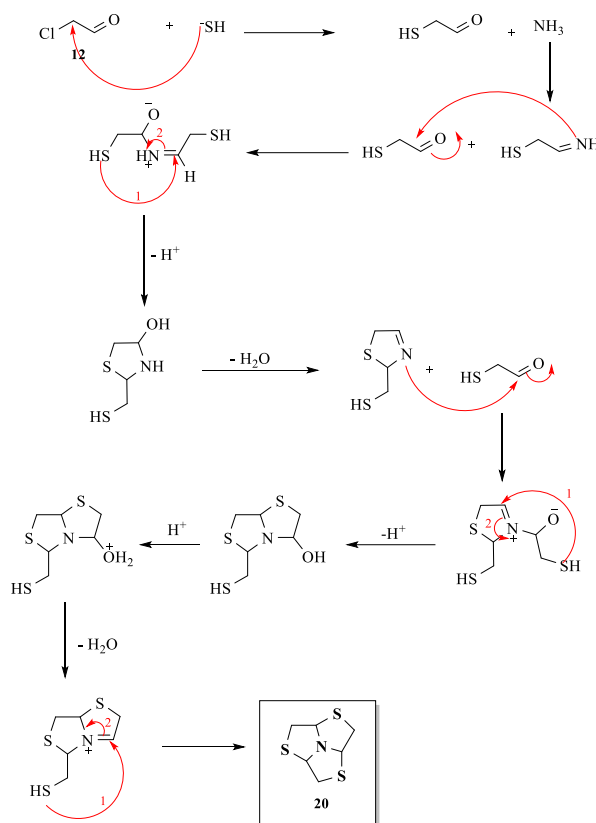


Schéma 51. Mécanisme de formation de 20

En fait, ce produit a préalablement été étudié dans plusieurs travaux :

En 1955, Craig et son équipe ont obtenu cette molécule comme sous-produit de la réaction du dithiocarbamate d'ammonium avec du chloroacétaldéhyde.<sup>301</sup>

En 1960, Thiel et son équipe, ont pu reformer ce produit en ajoutant au mercaptoacétaldéhyde, une source d'ammoniaque.<sup>302</sup>

En 1967, Raymond C. Fort, Jr. et W. L. Semon, ont pu analyser par RMN <sup>1</sup>H un échantillon obtenu du produit de Craig, vérifiant la structure proposée par Craig et Thiel.<sup>303</sup>

<sup>301</sup> Craig, D.; Shipman, J. J.; Hawthorne, A.; Fowler, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1283.

<sup>302</sup> Thiel, M.; Asinger, F.; Schmiedel, K.; Petschik, H.; Haberl, R.; Hromatka, O. *Monatsh. Chem.* **1960**, 91, 473.

### C. Conclusion

La synthèse de la cystéine dans l'eau, à partir du mercaptoacétaldéhyde **4**, est donc possible. Toutefois, **4** n'a pas pu être obtenu à partir du glycolaldéhyde mais à partir du chloroacétaldéhyde qui lui-même, a été formé à partir de l'acétaldéhyde.

Il est clair que la nécessité d'employer  $\text{CuCl}_2$  est un point faible de cette méthode, même si celui-ci a été utilisé dans d'autres études de chimie prébiotique.

---

<sup>303</sup> Fort, R. C. Jr.; Semon, W. L. *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 3685. DOI:10.1021/jo01286a093



# **Chapitre 2**

## **L'homocystéine et sa thiolactone**



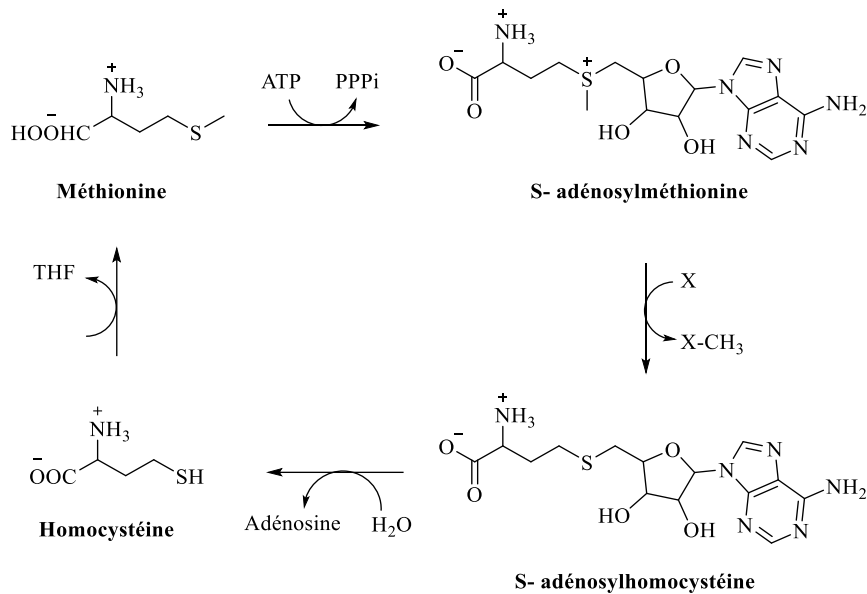
Dans ce chapitre, nous allons étudier la cyclisation de l'homocystéine en thiolactone, puis la réaction de cette thiolactone avec des acides aminés pour former des liaisons peptidiques.

## A. Introduction

### 1. L'homocystéine et sa thiolactone

L'homocystéine est un acide aminé sulfuré non protéinogénique. Elle peut interagir avec des molécules biologiques, moduler certaines activités enzymatiques et être impliquée dans la modification des protéines.

L'homocystéine est biosynthétisée à partir de la méthionine.<sup>304</sup> Dans le cycle de la méthionine, la méthionine en présence d'ATP forme la S-adényl-méthionine (SAM). Cette première étape est catalysée par la méthionine-adényl-transférase (MAT). SAM donne ensuite son groupe méthyle à des molécules acceptrices, telles que l'ADN, l'ARN ou des protéines, générant de la S-adényl-homocystéine (SAH). Dans cette étape des enzymes méthyl-transférases sont mises en jeu. Enfin, la S-adényl-homocystéine hydrolase (SAHH/AHCY) catalyse l'hydrolyse de la SAH en adénosine et homocystéine (**schéma 52**).

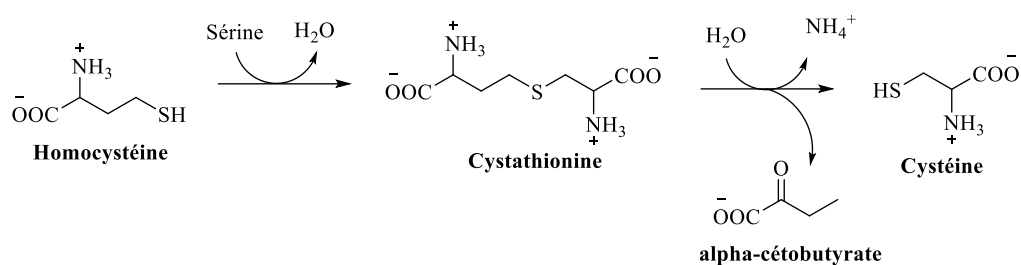


**Schéma 52.** Cycle de la méthionine

<sup>304</sup> Aitken, S.M.; Lodha, P. H. ; Morneau, D. J. K. *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, 1814, 1511.

SAM est un agent de méthylation cellulaire majeur pour l'ADN, l'ARN, les protéines et les phospholipides. C'est le principal donneur de méthyle et le deuxième substrat enzymatique le plus utilisé après l'ATP.<sup>305</sup> Sa chimie sera plus détaillée dans le **chapitre 3**.

L'homocystéine peut participer à la biosynthèse de la cystéine à partir de la méthionine, via la voie de transulfuration.<sup>306,307,308</sup> La cystathionine- $\beta$ -synthase catalyse la synthèse de la cystathionine à partir de la condensation de l'homocystéine et de la sérine. La cystathionine est ensuite clivée, en présence de la cystathionine- $\gamma$ -lyase, pour produire de la cystéine (**schéma 53**).



**Schéma 53.** Voie de la transulfuration

L'homocystéine peut aussi être activée en homocystéinyl-ARNt, ce qui permet par la suite la synthèse de sa forme réactive, une thiolactone.

Bien que la thiolactone de l'homocystéine ait été obtenue par synthèse chimique dans les années 1930,<sup>309,310</sup> la première indication de son importance biologique est venue près de 50 ans plus tard, avec la découverte de la conversion enzymatique de l'homocystéine en thiolactone.<sup>311,312</sup>

<sup>305</sup> Cantoni, G. L. *Ann. Rev. Biochem.* **1975**, 44, 435. DOI: 10.1146/annur.ev.bi.44.070175.002251

<sup>306</sup> Parkhitko, A. A.; Jouandin, P.; Mohr, S. E.; Perrimon, N. *Aging Cell* **2019**, 18, 13034. DOI: 10.1111/accel.13034

<sup>307</sup> Petrossian, T. C.; Clarke, S. *Mol. Cell. Proteomics* **2011**, 10. DOI: 10.1074/mcp.M110.000976

<sup>308</sup> Petrossian, T.; Clarke, S. *Epigenomics* **2009**, 1, 163. DOI: 10.2217/epi.09.3

<sup>309</sup> Baernstein, H. D. *J. Biol. Chem.* **1934**, 106, 451.

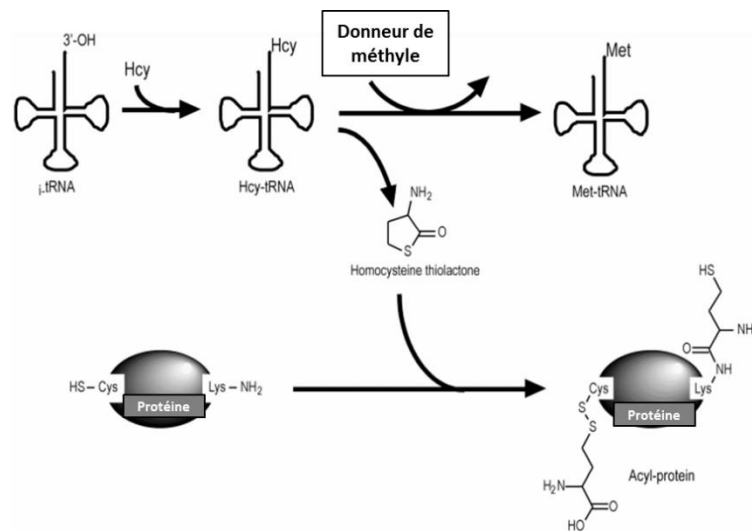
<sup>310</sup> Riegel, B.; Du Vigneaud, V. *J. Biol. Chem.* **1935**, 112, 149.

<sup>311</sup> Jakubowski, H.; Fersht, A. *Nucleic Acids Res.* **1981**, 9, 3105.

<sup>312</sup> Jakubowski, H. *PNAS* **1990**, 87, 4504.

La thiolactone de l'homocystéine contient une liaison thioester énergétique. Cette réactivité peut conduire, par exemple, à l'homocystéinylation des protéines. Elle peut facilement acyler des groupements amines libres. L'homocystéinylation de quelques enzymes, comme la trypsine, entraîne une perte complète de leurs activités enzymatiques et diverses modifications protéiques de ce type sont impliquées dans des maladies humaines.<sup>313,314</sup> Ainsi, la conversion métabolique de l'homocystéine en thiolactone et l'homocystéinylation des protéines par la thiolactone peut jouer un rôle dans les endommagements vasculaires induits par l'homocystéine.<sup>315</sup>

Le schéma 54, montre la génération de la thiolactone de l'homocystéine à partir de l'homocystéinyl-ARNt ainsi que l'homocystéinylation des protéines.<sup>316</sup>



**Schéma 54.** Homocystéinylation des protéines à partir de la thiolactone de l'homocystéine

<sup>313</sup> Booth, A. A.; Khalifah, R. G.; Todd, P.; Hudson, B. G. *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 5430.

<sup>314</sup> Harrington, C. R.; Colaco, C. A. *Nature* **1994**, 370, 247.

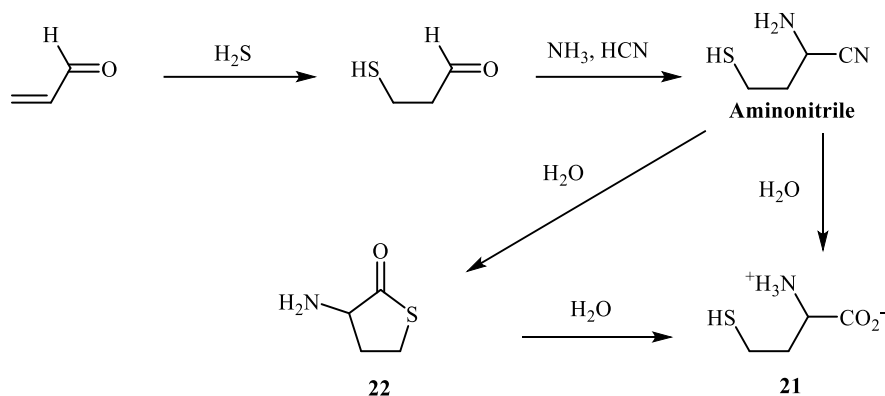
<sup>315</sup> Jakubowski, H. (1997) *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 1935.

<sup>316</sup> Medina, M. Á.; Urdiales, J. L.; Amores-Sánchez, M. I. *Eur. J. Biochem.* **2001**, 268, 3871. DOI: 10.1046/j.1432-1327.2001.02278.x



## 2. L'homocystéine et sa thiolactone sur la Terre primitive

L'homocystéine n'est pas un constituant protéique mais sa chimie est si étroitement liée à celle de la méthionine et de la cystéine qu'il est difficile de l'ignorer dans un scénario prébiotique. Elle a été détectée dans des expériences de type Miller, dans lesquelles elle est supposée dériver de l'acroléine (**schéma 55**).<sup>317</sup>



**Schéma 55.** Formation de **22**, intermédiaire dans la réaction de synthèse de **21**

Si tel est le cas, un aminonitrile intermédiaire doit être formé. Il a été synthétisé dans notre laboratoire (de manière non prébiotique), et il a été montré que son premier produit d'évolution dans l'eau n'est pas l'homocystéine, elle-même, mais sa thiolactone **22**.<sup>232</sup> Il est donc possible que cette thiolactone ait existé sur une Terre primitive riche en cyanure. Elle est assez stable dans l'eau, bien qu'elle finisse par s'hydrolyser en homocystéine (plus rapidement dans l'eau basique bien sûr), et aurait pu participer au monde de thioester proposé par de Duve.<sup>200</sup>

De façon intéressante, il a été démontré que l'homocystéine **21** est capable d'interagir avec la méthionyl-ARNt synthétase (au lieu de la méthionine) pendant le processus de traduction, formant ainsi Hcy-AMP. Cependant, grâce à un mécanisme d'édition, l'homocystéine **21** n'est pas introduit dans la protéine en cours de synthèse, et Hcy-AMP est décomposé en AMP et en thiolactone **22** (**schéma 56**).<sup>318,319</sup>

<sup>317</sup> Trump, J. E. V.; Miller, S. L. *Science* **1972**, 178, 859.

<sup>318</sup> Jakubowski, H. *Life* **2017**, 7, 6.

<sup>319</sup> Jakubowski, H. *EMBO J.* **1991**, 3, 598.

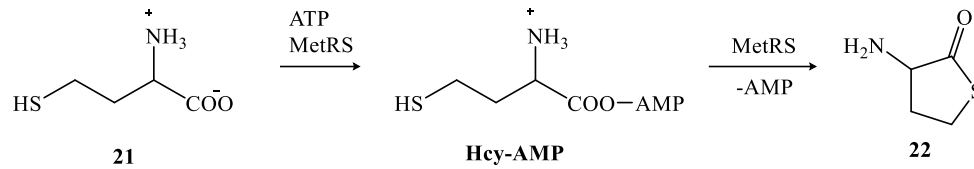


Schéma 56

Cela peut indiquer qu'avec un processus d'édition moins efficace (ou pas d'édition du tout), l'homocystéine pourrait avoir été introduite dans les chaînes peptidiques primitives.

Alors, pourquoi la cystéine est finalement devenue un acide aminé protéique et pas l'homocystéine ? Il n'y a pas de réponse évidente à cette question. L'utilisation des deux en aurait fait des doublons, mais pas plus que les acides aspartique et glutamique, ou l'asparagine et la glutamine. Par ailleurs, s'interroger sur l'absence d'homocystéine dans les protéines doit aussi conduire à réfléchir à l'alternative sérine/homosérine.

Le seul fait certain est qu'aujourd'hui, lorsqu'elle est présente en excès dans un organisme, l'homocystéine présente des propriétés toxiques liées notamment (mais pas seulement) à sa capacité à former sa thiolactone.<sup>320,321</sup>

<sup>320</sup> Perla-Kajan, J.; Twardowski, T.; Jakubowski, H. *Amino Acids* **2007**, 32, 561.

<sup>321</sup> Boldyrev, A. A. *Biochemistry (Moscow)* **2009**, 74, 589.

## B. Synthèse de la thiolactone

### I. Cyclisation de l'homocystéine: formation de la thiolactone de l'homocystéine, 22

Dans un monde sans cyanure, la thiolactone de l'homocystéine ne peut pas se former par la méthode précédemment décrite (schéma 55). Si elle était présente, elle devait avoir été formée à partir de l'acide lui-même. Nous avons étudié cette possibilité d'abord par des calculs théoriques puis de façon expérimentale.

#### 1. Etude théorique

Une étude théorique de la réaction de cyclisation de l'homocystéine **21** en thiolactone **22** a été menée. Afin d'étudier le chemin réactionnel, trois variables ont été étudiées : la formation de la liaison C-S, la rupture de la liaison S-H et la rupture de la liaison C-O.

En utilisant un pH théorique proche de celui de l'homocystéine dans l'eau (pH 4) et à température ambiante, l'énergie d'activation a été calculée et ceci en plaçant l'homocystéine dans un système cubique avec 1546 molécules d'eau.

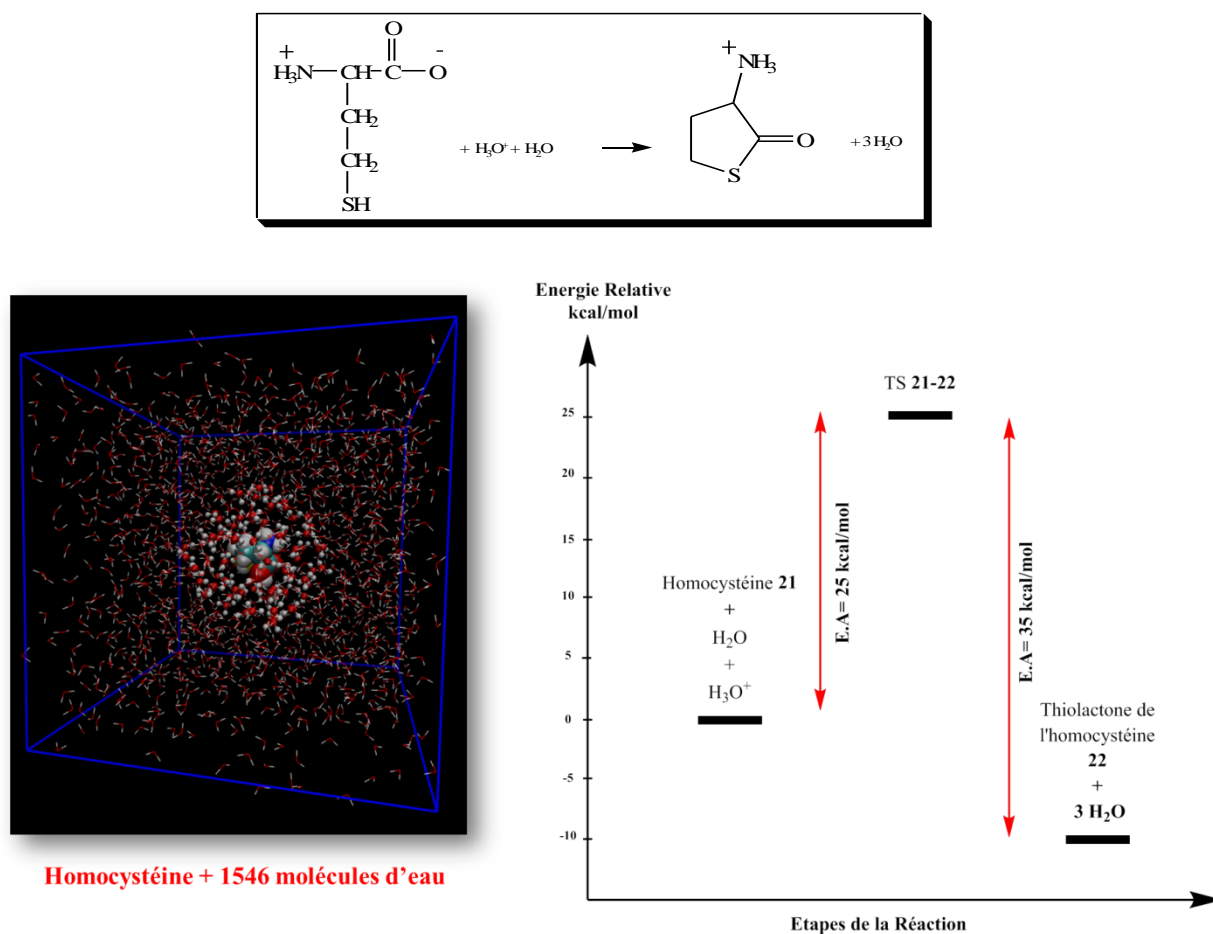


Figure 30. Calcul théorique de la cyclisation de 21

Le passage de l'homocystéine **21** à l'état de transition **TS 21-22** nécessiterait une énergie de 25 kcal/mol. L'obtention de la thiolactone de l'homocystéine **22** à partir de **TS 21-22**, permet de redescendre de 35 kcal/mol (**figure 30**). Ces énergies indiqueraient une cyclisation, peut-être pas facile, mais sûrement possible de **21** dans l'eau sans ajout d'un catalyseur.

## 2. Etude expérimentale

Nous avons ensuite testé la cyclisation de **21**, dans l'eau, dans des conditions plausiblement prébiotiques (**schéma 57**):

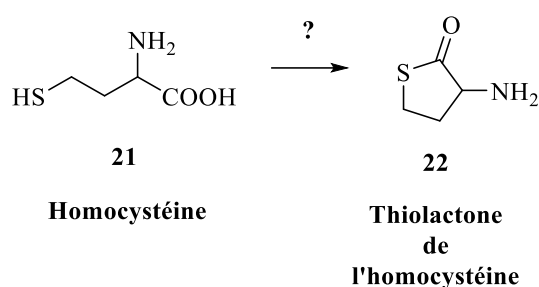


Schéma 57. Cyclisation de **21** en **22**

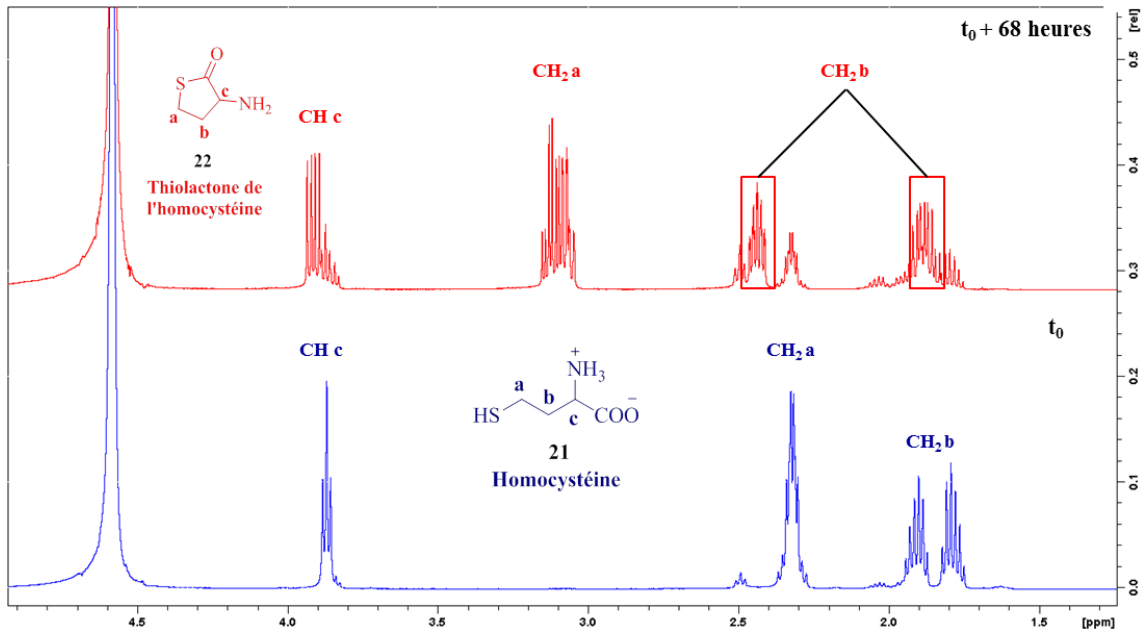
### a. Essai de cyclisation de l'homocystéine dans l'eau

Nous avons étudié l'influence du pH sur cette cyclisation:

- **21** dans l'eau sans ajout d'autre acide : le pH du milieu est quasi neutre, pH 6-7.
- **21** dans l'eau avec addition d'acide acétique dilué : le pH du milieu est acide, pH 4-5.
- **21** dans l'eau avec addition d'acide acétique concentré jusqu'à pH 2-3.
- **21** dans l'eau avec addition d'acide trifluoroacétique pour obtenir un pH 1.

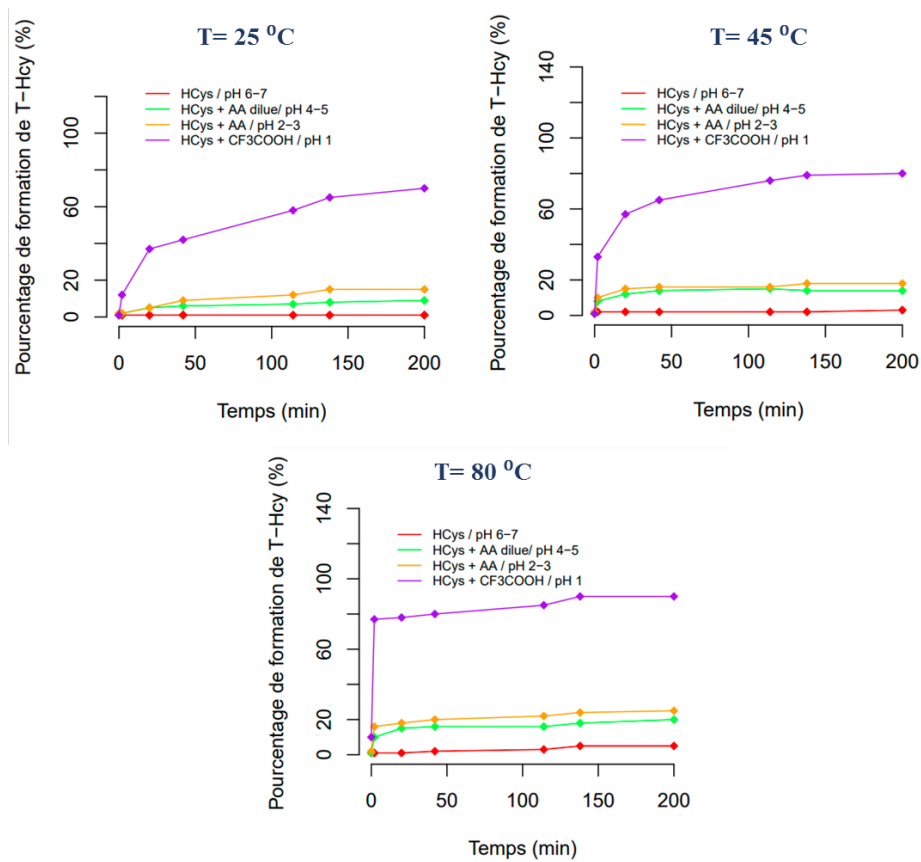
Nous avons étudié les réactions à 25 °C, 45 °C et 80 °C en les suivant par RMN <sup>1</sup>H.

Dans tous nos essais, des signaux correspondants à la thiolactone de l'homocystéine apparaissent dans les spectres. La cyclisation est parfois importante, mais il reste toujours de l'homocystéine non cyclisée. La conversion de **21** en **22** a été calculée en mesurant sur les spectres RMN, l'intégration du signal correspondant au **CH<sub>2</sub> a** de l'homocystéine **21** et celui correspondant au **CH<sub>2</sub> a** de la thiolactone **22** (**figure 31**).



**Figure 31.** Exemple de l'évolution de la cyclisation de **21** en **22**. Dans ce cas, la cyclisation est importante : Les conditions expérimentales utilisées sont: pH 1 en ajoutant du CF<sub>3</sub>COOH dans le milieu réactionnel

L'évolution de la cyclisation dans les divers cas est représentée dans la **figure 32** :



**Figure 32.** Formation de **21** au cours du temps en fonction du pH et de la température

Lorsque la cyclisation a lieu, elle est rapide : au bout de 5 minutes après le mélange, nous observons la formation de **22**. Le pH joue un rôle important : plus le pH est acide, plus la cyclisation est favorisée. On aboutit à une conversion entre 70% et 90% en thiolactone si le pH est égal à 1, entre 18 et 30% pour un pH compris entre 2 et 5. A pH 7 et à température ambiante, la cyclisation n'est pas observée alors qu'à ce pH, en chauffant à 45 °C ou 80 °C, nous observons une faible formation de **22** (entre 5 et 8%). Au bout d'un moment, nous aboutissons à un pallier : un équilibre entre l'homocystéine et sa thiolactone s'établit. Ces résultats expérimentaux sont conformes avec l'étude théorique effectuée sur la cyclisation de **21** en **22**. La cyclisation de **21** a lieu surtout en milieu acide, alors qu'à pH neutre, elle est bien moins efficace. En rapportant ceci à l'océan primitif qui était, sans doute, acide (et même des zones volcaniques pouvaient être très acides) et où la température était plus élevée qu'aujourd'hui, et même très élevée dans des zones particulières (dans les fumeurs hydrothermaux par exemple), il semble que la formation de la thiolactone de l'homocystéine était possible. Ayant une fonction thioester, cette molécule peut avoir participé à diverses réactions prébiotiques d'acylation.

### b. Essai de cyclisation de l'homocystéine sur silice

En considérant que les minéraux solides ont pu jouer un rôle dans l'origine de la vie, nous avons étudié la réactivité de **21** sur la surface de la silice. En mélangeant **21** à sec avec de la silice et en chauffant à 80 °C, un nouveau produit est détecté. Ce n'est toutefois pas la thiolactone **22**, mais le dimère **24** (schéma 58). La formation de **24** implique que **21** a été cyclisé et a donné **22**. La thiolactone **22**, formée dans un premier temps, s'est ensuite dimérisée pour donner **24** en passant par **23**.

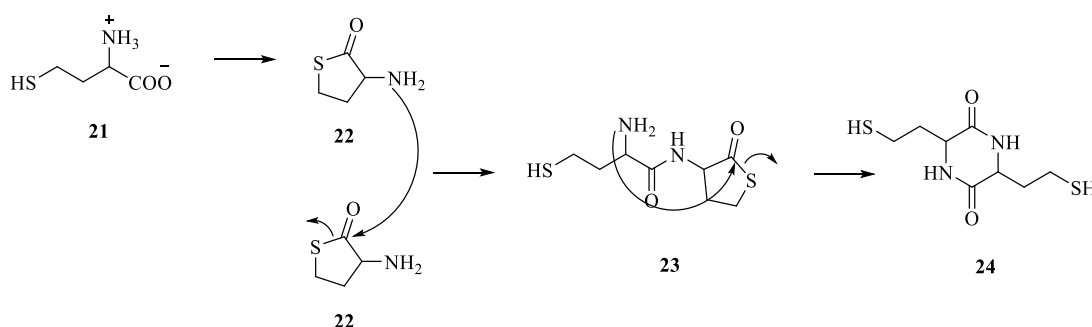


Schéma 58. Cyclisation de **21** sur silice et dimérisation de **22**

Même si le produit observé n'est pas la thiolactone, ceci indique que sa formation sur une surface sèche est envisageable. Notons que nous avons observé ici deux réactions d'acylation, une intermoléculaire et une intramoléculaire.

### c. Stabilité de la thiolactone de l'homocystéine **22** dans l'eau

Les meilleures conditions pour la cyclisation de **21** et la formation de **22** dans l'eau sont acides. Le chauffage accélère cette cyclisation.

La stabilité de la thiolactone a été testée dans l'eau, à pH 7, où nous avons observé que son hydrolyse était lente, moins que 1%, au bout de deux semaines de chauffage à 80 °C. Donc, une fois **22** formée, elle est stable à pH 7. Ceci est compatible avec la stabilité de la thiolactone de l'homocystéine dans le sérum humain. Il a été prouvé que la thiolactone de l'homocystéine ne peut être hydrolysée dans le sérum humain qu'avec une enzyme : l'homocystéine thiolactonase, présente dans une concentration de 50 mg/L.<sup>322</sup> Par contre, à pH 8-9, la thiolactone de l'homocystéine **22** s'hydrolyse pour former **21**. Ceci explique l'hydrolyse partielle observée ultérieurement, dans les essais d'ouverture de la thiolactone de l'homocystéine par des acides aminés afin de former des liaisons peptidiques.

## II. Réaction de **22** avec des aldéhydes

Avant d'étudier son ouverture par des acides aminés, nous avons voulu tester sa réactivité avec des molécules capables de réagir sur le groupement amines en  $\alpha$  du CO. Nous avons choisi le formaldéhyde.

La réaction entre **22** et le formaldéhyde réalisée dans l'eau a été suivie par RMN <sup>1</sup>H et par RMN <sup>13</sup>C. Dès  $t_0$ , nous observons la formation d'un nouveau produit, **25**. Au bout de 200 heures, à température ambiante, une conversion totale de **22** en **25** a été constatée (**figure 33**).

---

<sup>322</sup> Jakubowski, H. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275, 3957.

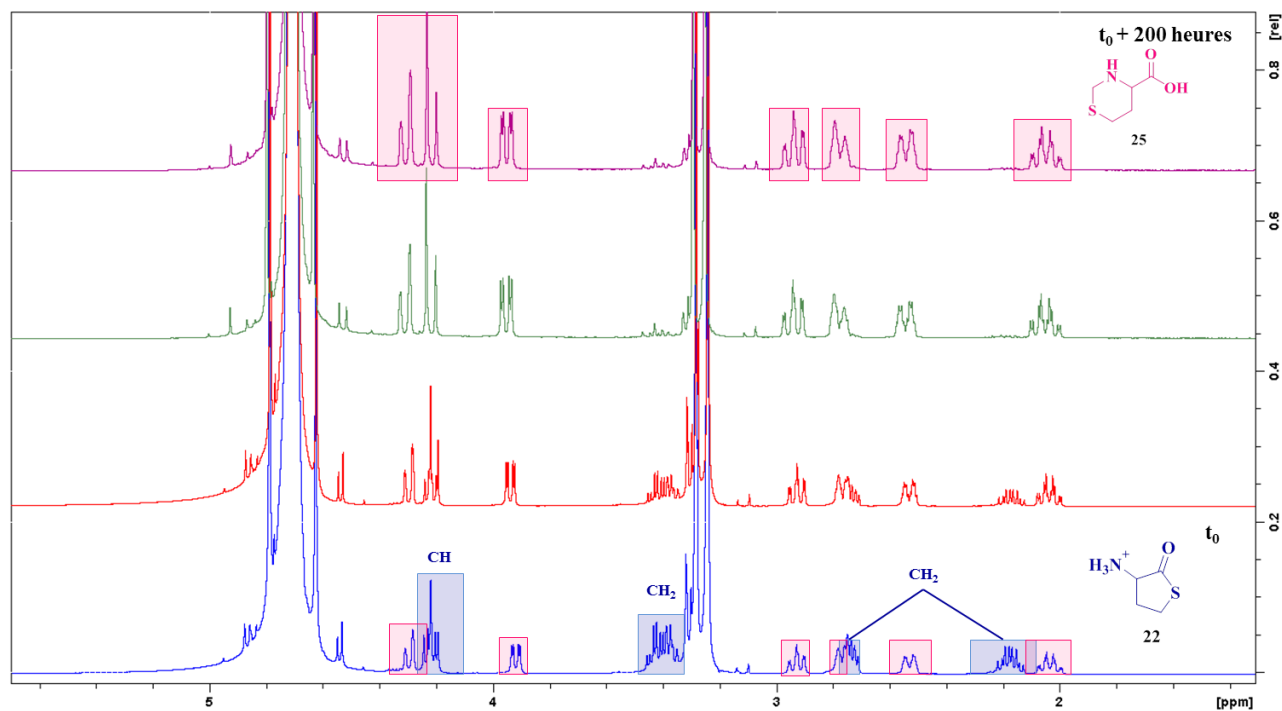


Figure 33. Evolution de la réaction de 22 avec le formaldéhyde

Toutes les analyses effectuées (RMN, ESI et HR/MS) sur le produit solide récupéré après évaporation de l'eau, démontrent la formation quantitative d'un cycle à 6 centres (produit 25).

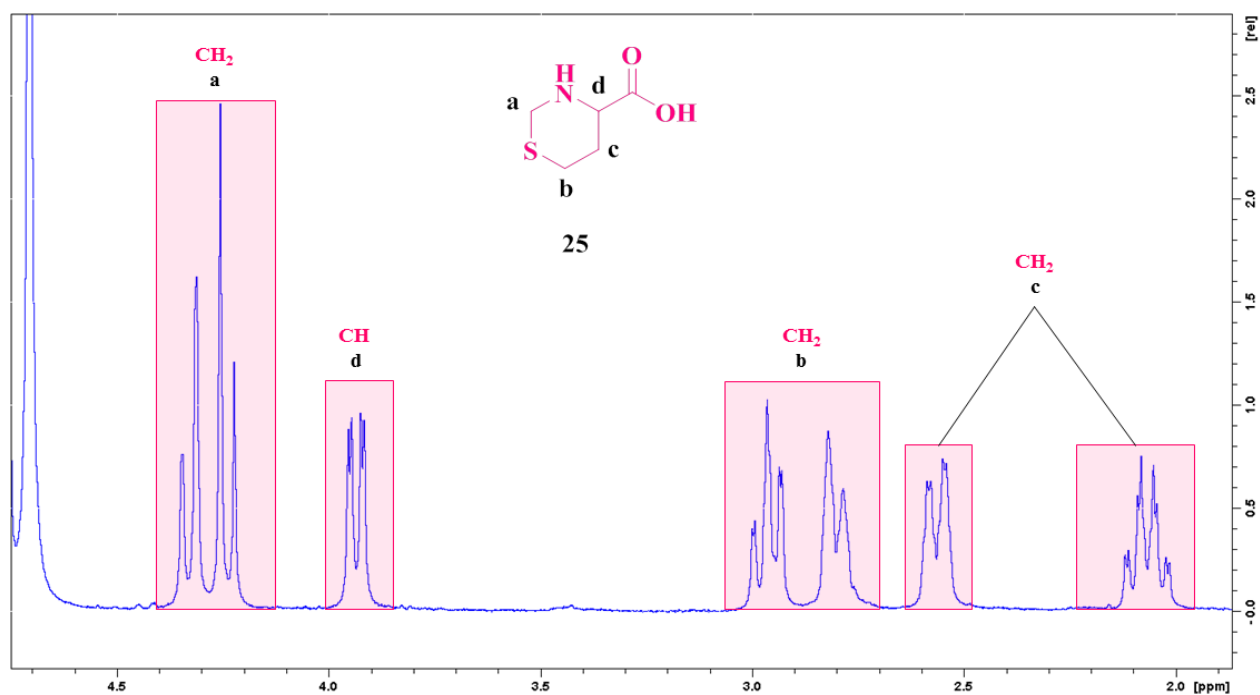


Figure 34. RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) du produit 25



Le cycle **25** est le seul produit obtenu. Il est difficile de savoir si la réaction commence par la formation de l'iminium **26**, issu de l'attaque du formaldéhyde (H<sub>2</sub>CO) par le groupe amine de **22**, qui s'ouvrirait par la suite dans l'eau, formant le produit **27**, qui lui cycliserait pour donner l'hétérocycle **25** (voie A), ou plus simplement, si **22** a été hydrolysé en homocystéine **21**, qui aurait ensuite réagi avec le formaldéhyde pour donner **27** puis **25** (voie B) (schéma 59). Si tel est le cas, cela signifie que la formation finale du cycle **25** déplace l'équilibre de **22** vers **21**.

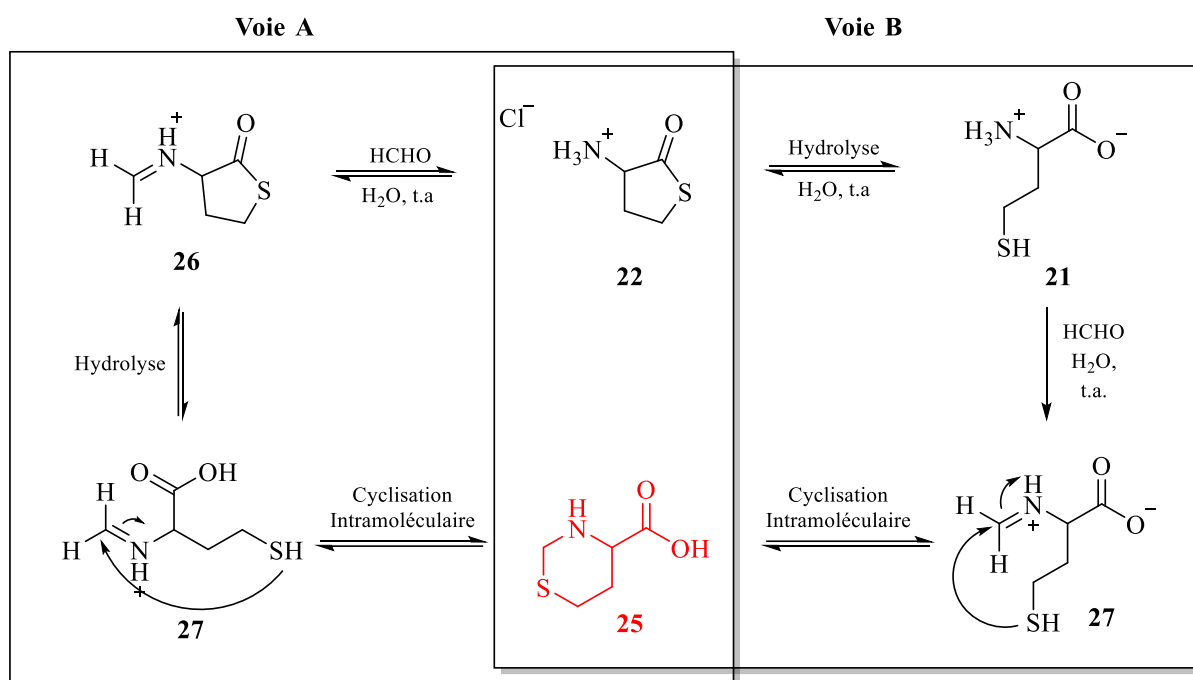


Schéma 59. Réactions possibles entre **22** et le formaldéhyde

### III. Synthèse de peptides à partir de la thiolactone de l'homocystéine, **22**

Bien sûr, la réaction essentielle pour notre projet est la formation de liaisons amides. L'enchaînement des amides pourrait aboutir à la synthèse de peptides qui auraient donc pu être formés avant l'apparition du ribosome. Pour l'étudier, nous avons dans un premier temps, fait un suivi par RMN  $^1\text{H}$  de la réaction entre la thiolactone de l'homocystéine et les acides aminés, puis nous avons tenté quelques synthèses préparatives d'amides. Les acides aminés utilisés ont été: la glycine **28**, l'alanine **29**, la valine **30**, la leucine **31**, la sérine **32**, la cystéine **1**, l'acide aspartique **33**, l'histidine **34** et la méthionine **35**. Nous avons, aussi, testé de courts peptides: glycylglycine **36**, glycylglycylglycine **37** et le glutathion **38**.

Nous avons étudié l'influence de la température et du pH sur ces réactions. Cependant, la réaction entre la thiolactone de l'homocystéine avec que des acides aminés dans l'eau à pH acide (avec la glycine **28**, l'alanine **29** et la sérine **31**), ne conduit qu'à l'hydrolyse lente de la thiolactone et à la formation de l'homocystéine. Le chauffage de ces réactions, ne fait qu'accélérer l'hydrolyse. Pour voir une formation de peptides, nous avons dû ajouter une base dans le milieu réactionnel. Pour cela, nous avons utilisé soit l'imidazole neutralisant le milieu (pH 7), soit le bicarbonate de sodium jusqu'à un pH légèrement basique (pH 8). Les réactions ont été conduites à 45 °C.

#### 1. Évolution de la formation de dipeptides à partir de **22**

L'évolution des réactions au cours du temps a été suivie par RMN  $^1\text{H}$ .

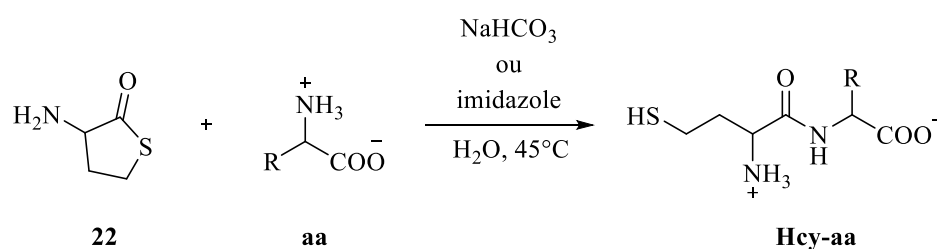
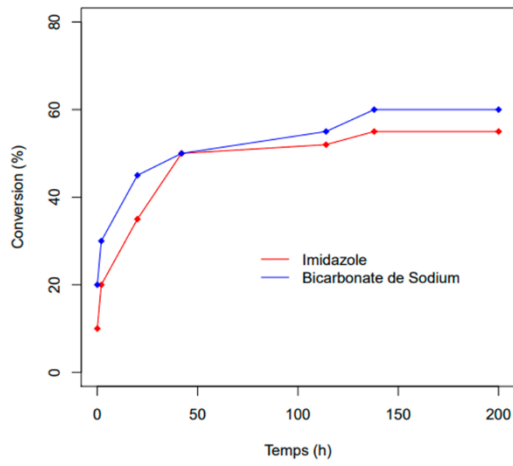


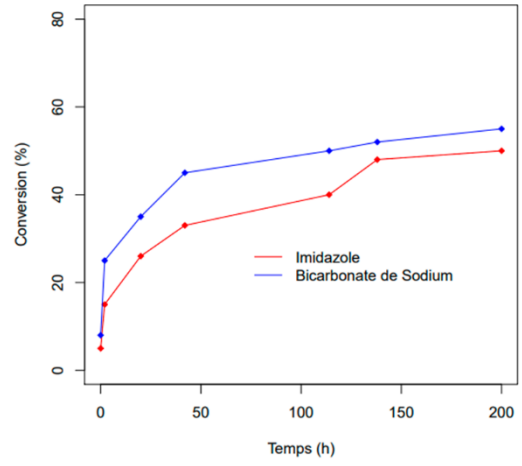
Schéma 60. Formation du peptide Hcy-aa (aa = acide aminé)

La conversion de **22** en dipeptides au cours du temps, est présentée dans les graphiques suivants.

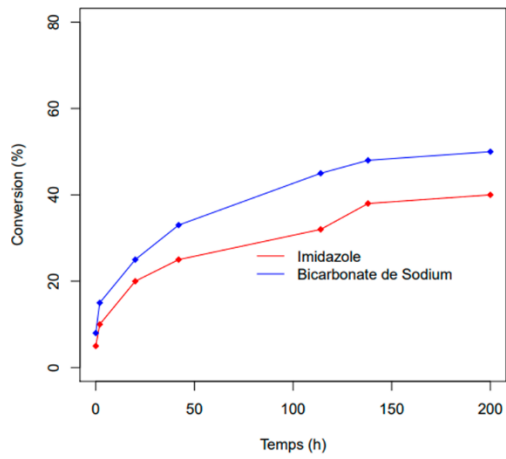
**T-Hcy 22 + Glycine 28**



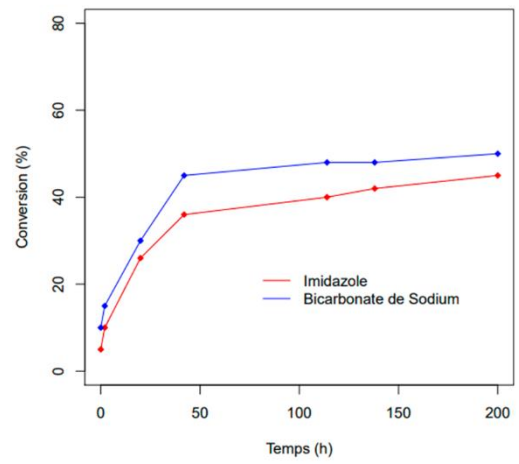
**T-Hcy 22 + Alanine 29**



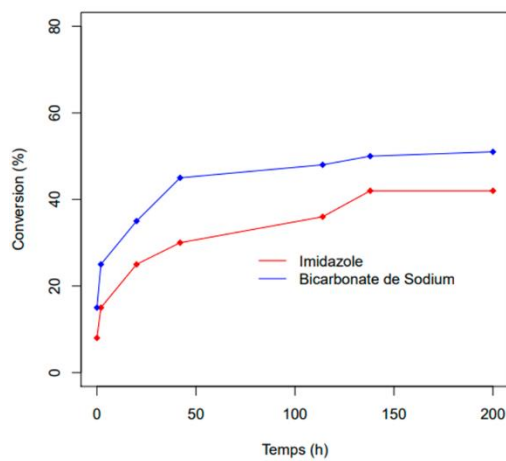
**T-Hcy 22 + Valine 30**



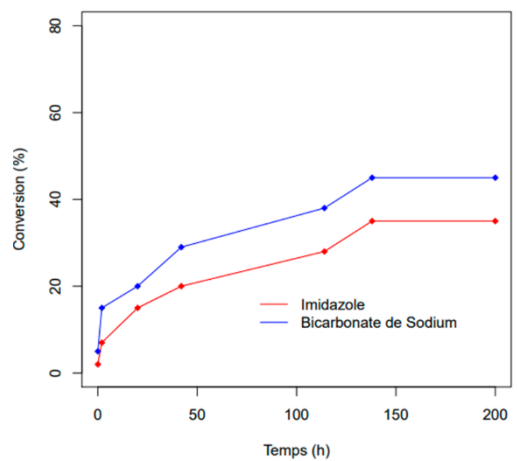
**T-Hcy 22 + Leucine 31**



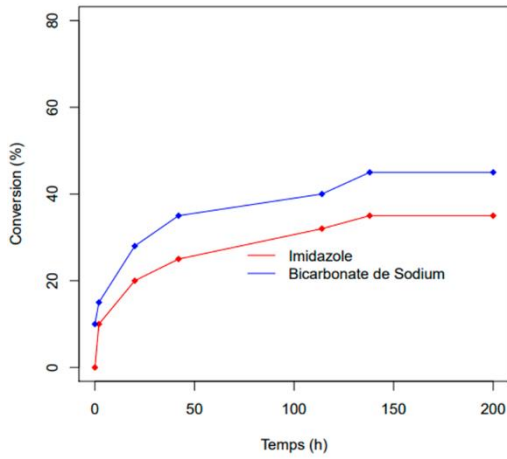
**T-Hcy 22 + Sérine 32**



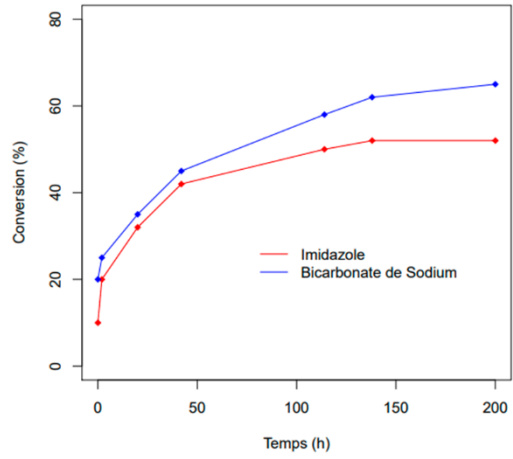
**T-Hcy 22 + Acide aspartique 33**



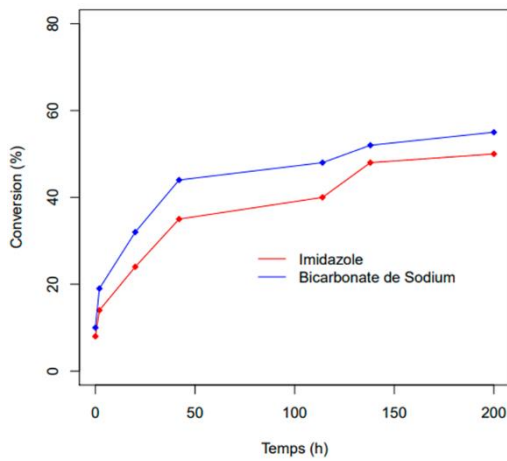
**T-Hcy 22 + Histidine 34**



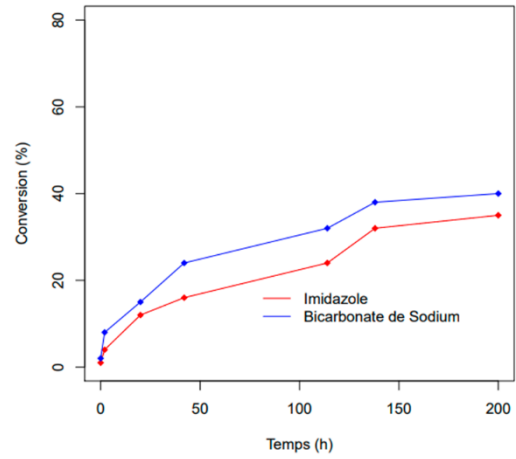
**T-Hcy 22 + Cystéine 1**



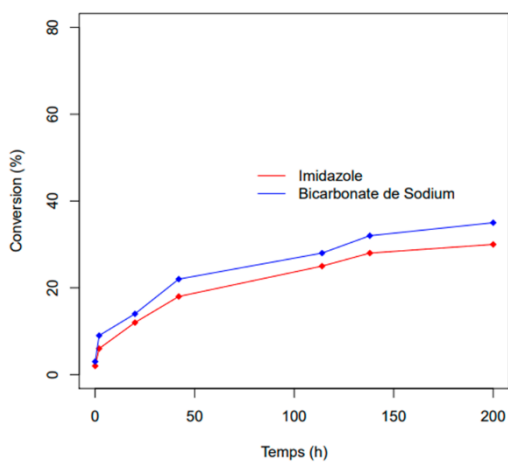
**T-Hcy 22 + Méthionine 35**



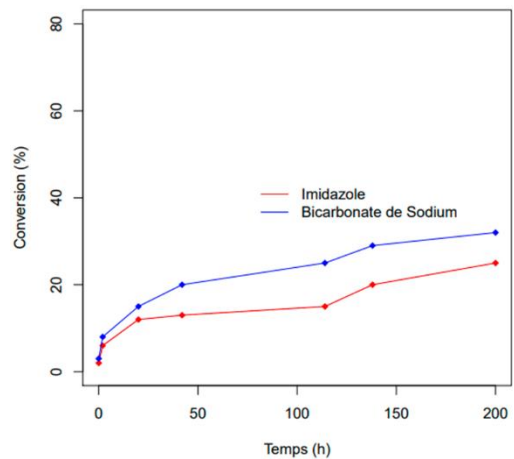
**T-Hcy 22 + Glycylglycine 36**



**T-Hcy 22 + Glycylglycylglycine 37**



**T-Hcy 22 + Gluthation 38**



Les réactions suivies par RMN  $^1\text{H}$  montrent la formation de peptides issus de la réaction entre chacun des acides aminés et **22**.

Nous constatons, qu'en solution basique (bicarbonate, pH 8) la conversion est un peu meilleure qu'en solution neutre (imidazole). Bien sûr, à pH 8, le doublet libre de l'azote de l'acide aminé est plus disponible pour l'attaque de la fonction carbonyle de la thiolactone de l'homocystéine. Pourtant, les différences ne sont pas énormes. Par exemple, dans le cas de la valine, la conversion atteint 49% en utilisant le  $\text{NaHCO}_3$ , alors qu'elle atteint 38% en utilisant l'imidazole comme base.

De plus, la formation de peptides à partir de **22** est rapide. Une conversion est observée dès  $t_0$  (20% pour la glycine **28** avec du  $\text{NaHCO}_3$  et 10% avec l'imidazole ; 10% pour la méthionine **35** avec du  $\text{NaHCO}_3$  et 8% avec l'imidazole). La conversion augmente ensuite pour aboutir à un palier. Le temps de réaction optimal dépend de l'encombrement stérique de l'acide aminé utilisé. Une conversion plus rapide et plus élevée est observée dans le cas des petits acides aminés. On aboutit à environ 60% de conversion pour la glycine **28**, 55% pour l'alanine **29**, 45% en utilisant l'acide aspartique **33**. Dans le cas des petits peptides (**36**, **37** et **38**), le maximum est de 40%.

Lors de la réaction entre **22** avec les acides aminés, l'ouverture de **22** par l'eau, formant **21**, vient concurrencer la formation de l'amide (schéma 61). Au bout d'un certain temps, **22** est épuisée, ce qui explique que nous n'aboutissons jamais à une conversion quantitative en amide. Quand l'acide aminé est encombré, la concurrence de l'ouverture par l'eau est logiquement plus importante.

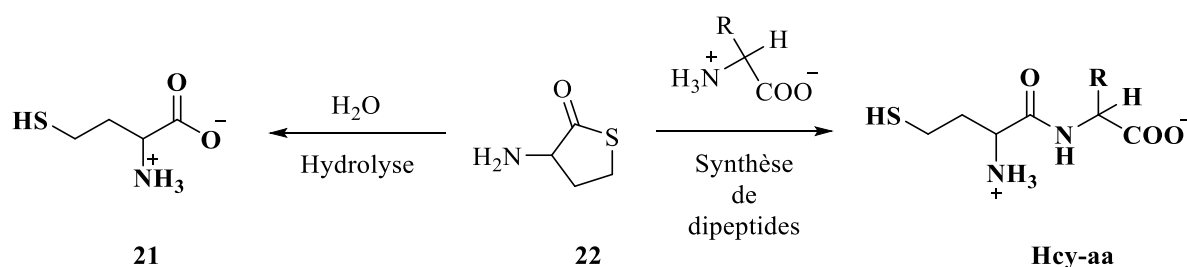


Schéma 61. Réactions possibles entre **22** et les acides aminés

Notons que les acides aminés commerciaux utilisés étaient énantiopures (sauf la glycine bien sûr) mais comme la thiolactone commerciale étant racémique, nous avons obtenu à chaque fois un mélange de diastéréoisomères.

## 2. Synthèse préparative de dipeptides à partir de 22

Quelques-unes des réactions entre **22** et les acides aminés, préalablement suivies par RMN  $^1\text{H}$ , ont été lancées à échelle préparative afin de tenter d'isoler les produits. Les réactions sont effectuées en chauffant le milieu réactionnel à 45 °C et en basifiant le milieu par du  $\text{NaHCO}_3$  (pH 8). Nous avons, toutefois, fait face à de grandes difficultés pour obtenir les produits purs. Nous n'avons pu purifier que le peptide formé avec la glycine.

### Thiolactone de l'homocystéine **22** + Glycine **28**

La réaction entre **22** et **28** est rapide. Nous obtenons directement des signaux en RMN  $^1\text{H}$  du produit attendu, **39**. Nous obtenons aussi, **21**, issu de l'hydrolyse de **22** et le dimère **24**. Toutefois, le dipeptide **39** attendu reste majoritaire.

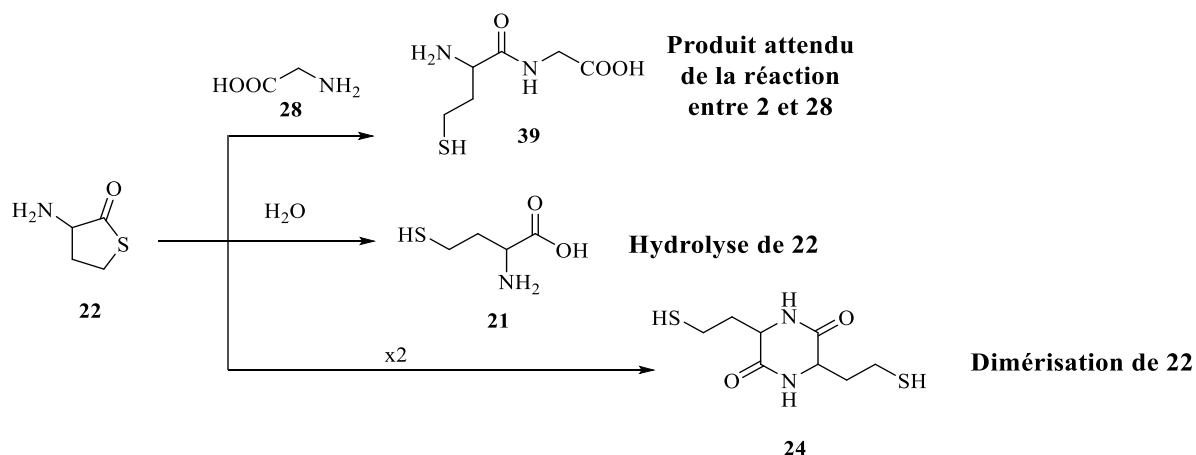


Schéma 62. Réactions possibles entre **22** et **28**

Nous avons réalisé la réaction à partir de  $3.10^{-3}$  moles de thiolactone (24 heures de chauffage à 45 °C). Le produit brut a été purifié par chromatographie en phase inverse. Le rendement est de 26%.

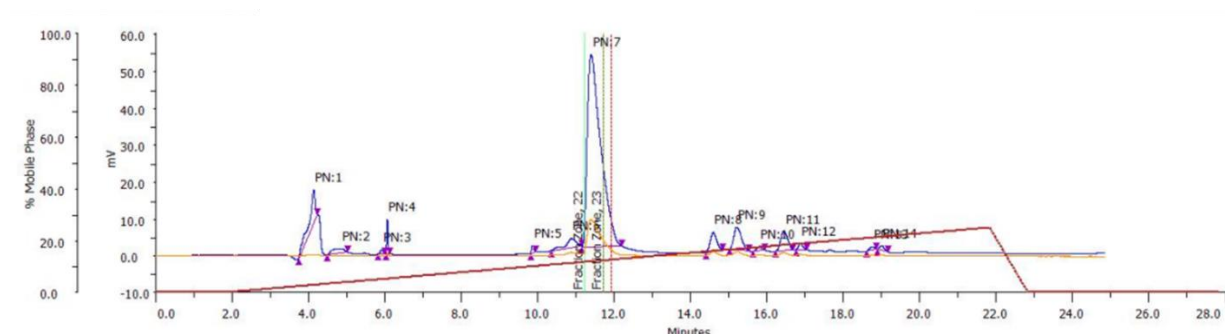


Figure 35. Le dipeptide **39** est le produit majoritaire ( $t_r = 12$  minutes)

Le produit isolé présente un spectre de RMN  $^1\text{H}$  compatible avec la structure de l'amide **39** attendu. Cependant, seul le disulfure **40** (schéma 63), issu de l'oxydation de **39**, qui a été observé par spectrométrie de masse. Il est probable que cette oxydation soit intervenue soit pendant, soit après la purification et peut-être pendant l'analyse.

## RMN $^1\text{H}$

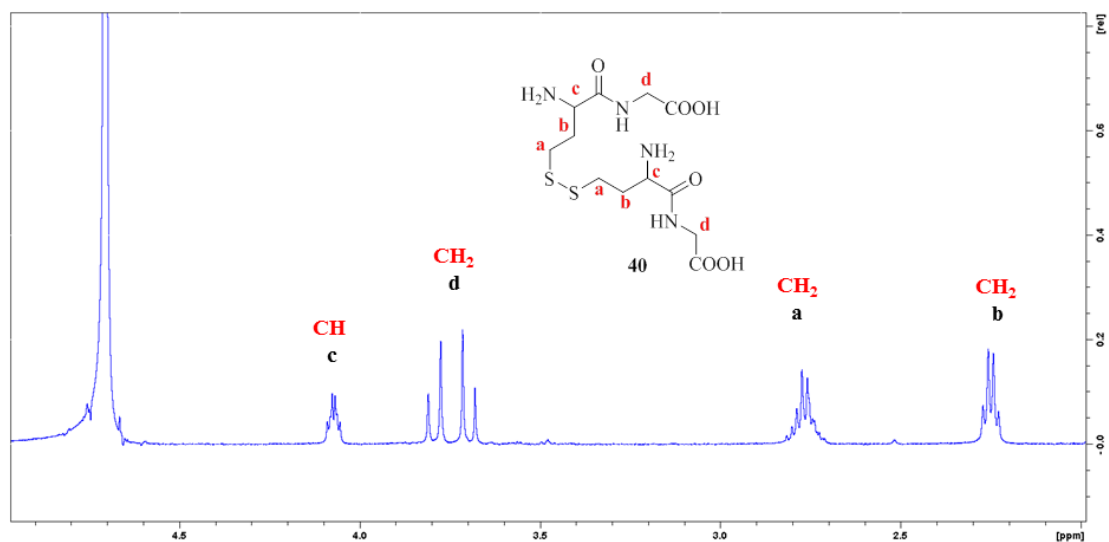


Figure 36. RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) du disulfure entre deux Hcy-Gly, **40**

En spectrométrie de masse, nous observons la masse exacte du disulfure **40**.

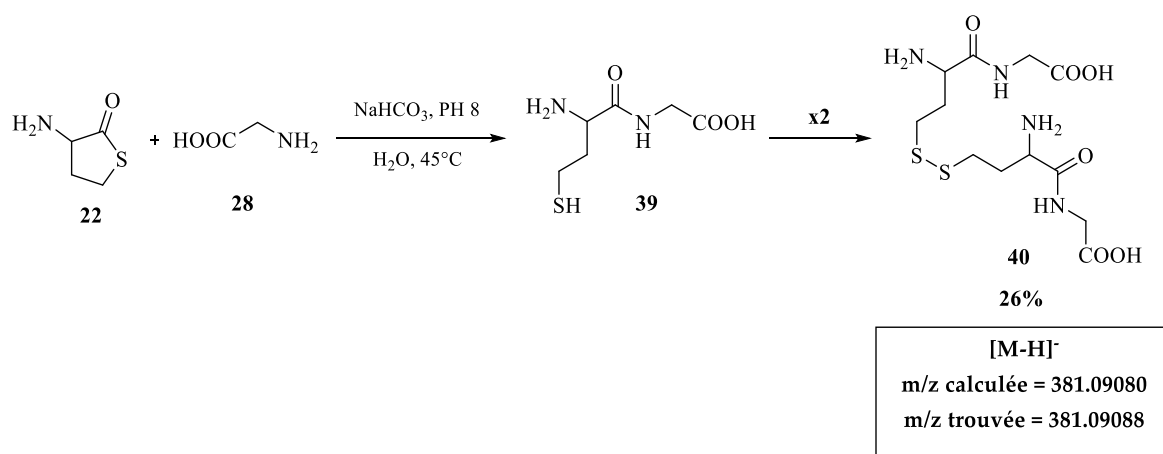


Schéma 63. Produit obtenu de la réaction entre **22** et **28**

Nous avons, de même, tenté de purifier les mélanges formés des réactions employant l'alanine **29** et la cystéine **1**, mais nous ne sommes pas parvenu à purifier suffisamment les produits. Toutefois, l'analyse par spectrométrie de masse, nous a permis de confirmer la présence des produits attendus.

### Thiolactone de l'homocystéine **22** + Alanine **29**

Nous avons obtenu le dipeptide Hcy-Ala **41**, mais il s'est, lui aussi, oxydé pour former le disulfure symétrique entre deux molécules Hcy-Ala, donnant **42** et le disulfure dissymétrique, **43**, formé entre **41** et l'homocystéine **21**, issu de l'hydrolyse de **22** (schéma **64**).

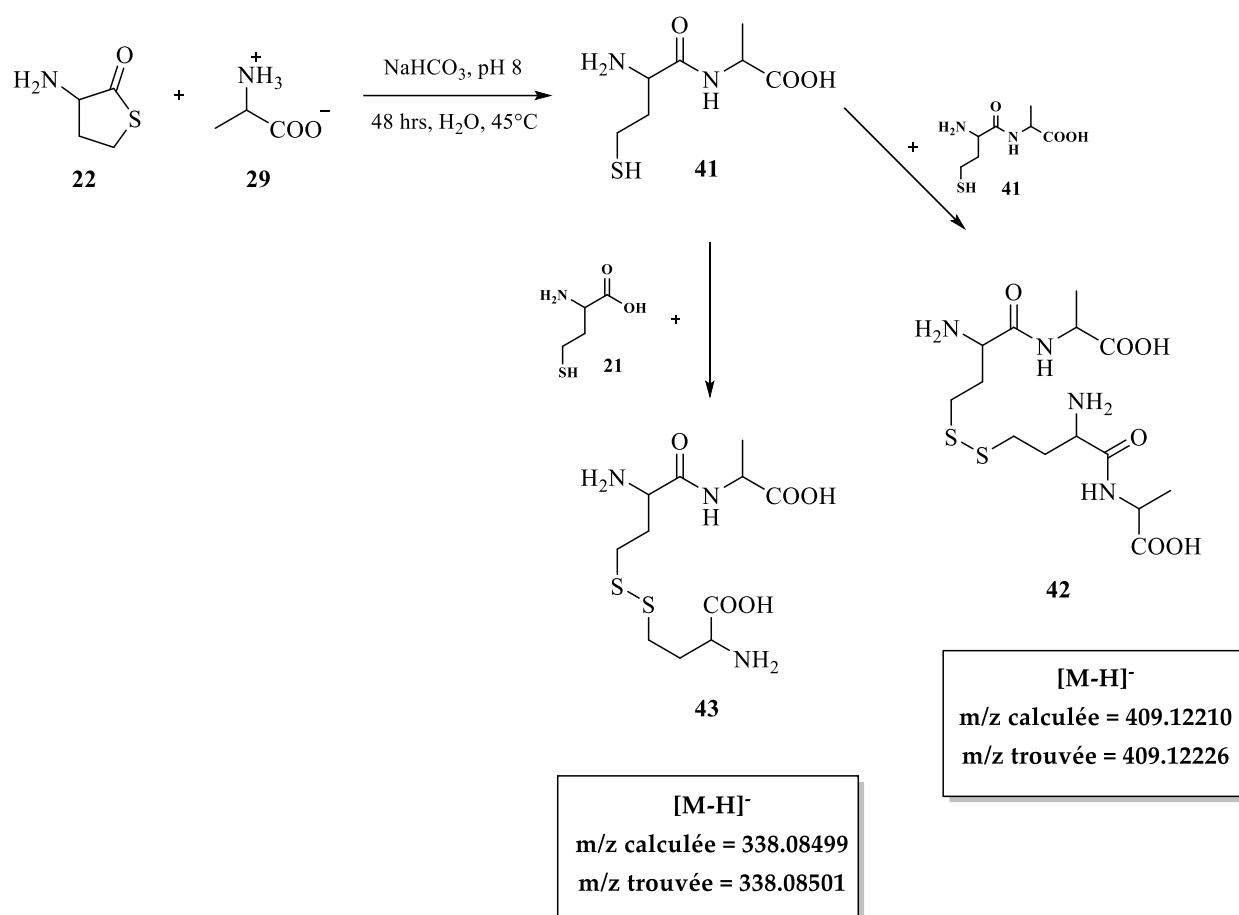


Schéma **64**. Produits obtenus de la réaction entre **22** et **29**



### Thiolactone de l'homocystéine 22 + Cystéine 1

Avec la cystéine, nous avons obtenu de même des disulfures issus de **44**. Ceci nous a permis de déterminer un rendement de 60% pour **44**. Les spectres de masse obtenus sont compatibles avec les structures **45** et **46** (schéma 65).

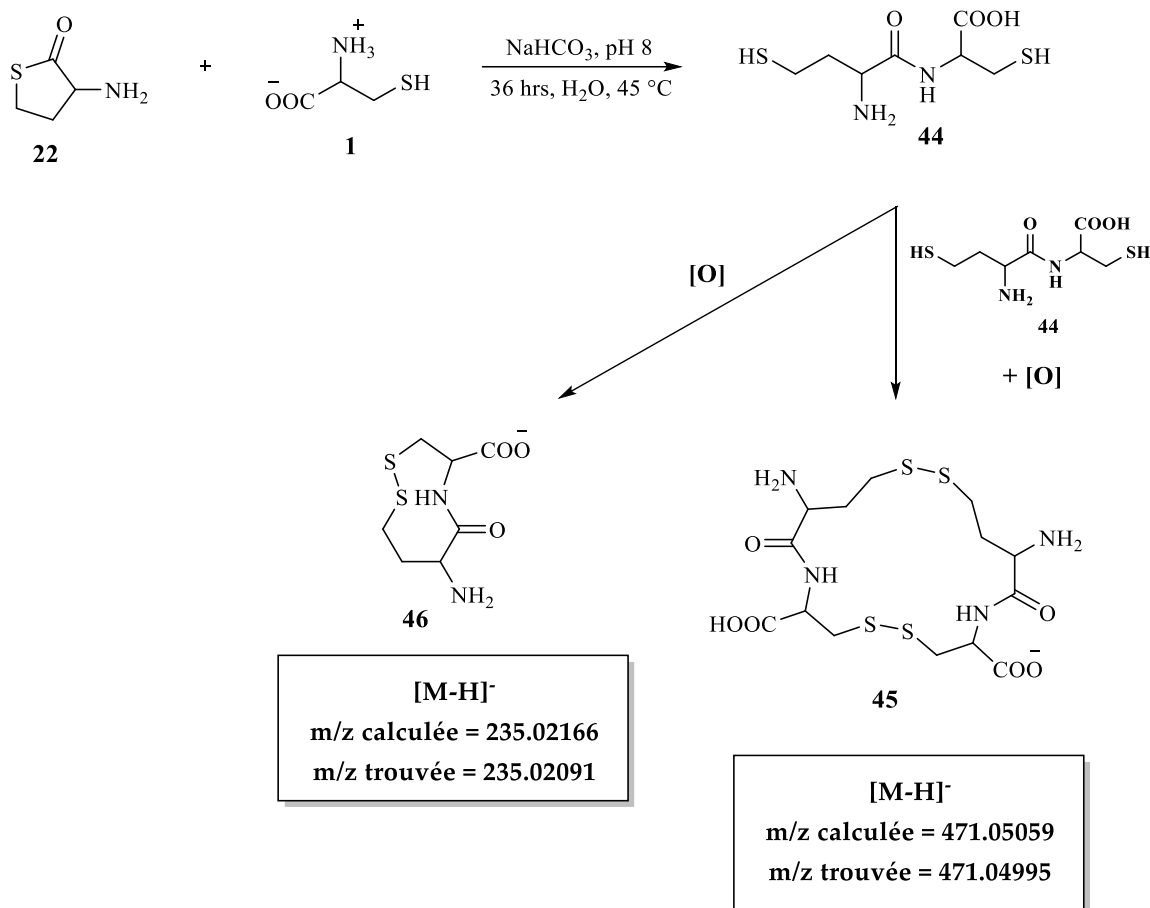
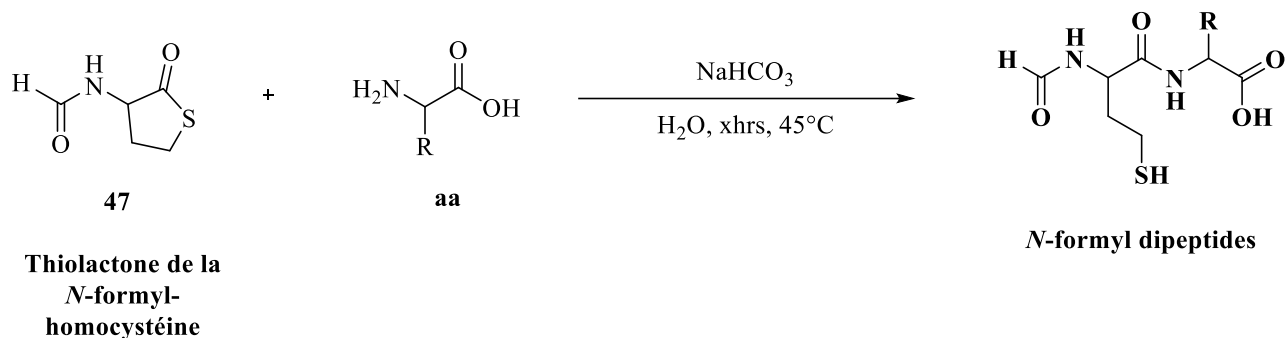


Schéma 65. Produits obtenus de la réaction entre **22** et **1**

#### IV. Synthèse de dipeptides à partir de la thiolactone de la *N*-formyl-homocystéine, **47**

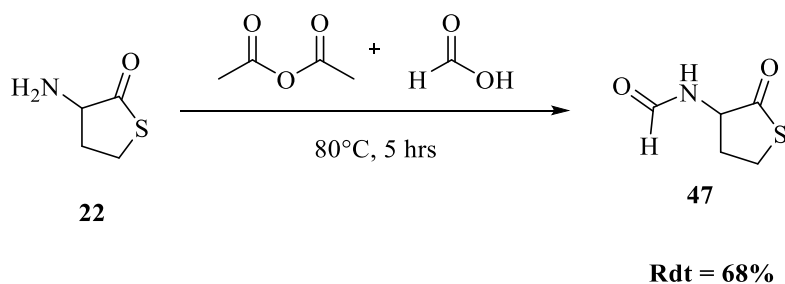
Puisque la synthèse des protéines de bactérie commence par la *N*-formyl-méthionine,<sup>21</sup> il nous est apparu pertinent d'étudier la réactivité de la thiolactone de la *N*-formyl-homocystéine, pour obtenir des dipeptides *N*-formylés (**schéma 66**).



**Schéma 66.** Réaction entre **47** et les acides aminés

##### 1. Formylation de la thiolactone de l'homocystéine **22**

Nous avons, dans un premier temps, synthétisé la thiolactone formylée, **47**, en suivant le protocole décrit dans un brevet de l'équipe de C. Risse et al.<sup>323</sup> L'utilisation de l'anhydride acétique et de l'acide formique a permis l'obtention de **47** (5 heures de chauffage à 80 °C) avec un rendement de 68% après purification.



**Schéma 67.** Formylation de **22**

<sup>323</sup> C. RISSE. *Federal Republic of Germany*. 1972

## 2. Synthèse de peptides à partir de 47

Nous avons testé la réaction de synthèse d'amides en utilisant trois acides aminés : glycine **28**, alanine **29** et cystéine **1**. Les réactions ont été menées en basifiant le milieu réactionnel avec du  $\text{NaHCO}_3$  (pH 8) et en chauffant à 45 °C. Les réactions ont été suivies par RMN  $^1\text{H}$ .

L'acide aminé concerné a été utilisé en excès (2 équivalents), dans le but d'améliorer le rendement des peptides attendus. Par conséquent, nous avons dû éliminer l'excès d'acide aminé, en passant le mélange réactionnel brut sur une résine échangeuse de cations. Malheureusement, les peptides formés se sont révélés peu stables sur une telle colonne. Nous avons alors préféré, examiner les mélanges bruts directement par LC-MS et HR-MS.

Dans le cas de la glycine **28**, et en tenant compte de la masse obtenue et de l'intégration de signaux caractéristiques en RMN  $^1\text{H}$ , nous avons pu estimer le rendement du peptide attendu. Par contre, les spectres RMN  $^1\text{H}$  dans le cas de l'alanine **29** et de la cystéine **1** se sont révélés trop complexes et le rendement n'a pas pu être estimé.

### Thiolactone de l'homocystéine formylée 47 + Glycine 28

Dans la réaction de **47** avec **28**, **47** est totalement consommée au bout de 20 heures de chauffage à 45 °C. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  est simple. Le peptide formé n'ayant qu'un seul centre stéréogène (carbone **c** de **47**), nous n'obtenons pas de diastéréoisomères. Le système AB caractéristique du  $\text{CH}_2$  **e** du peptide attendu est clairement observé. Le rendement estimé est de 56%. Nous pouvons de même, avoir le disulfure **50** issu de l'oxydation de **49** (schéma 68).

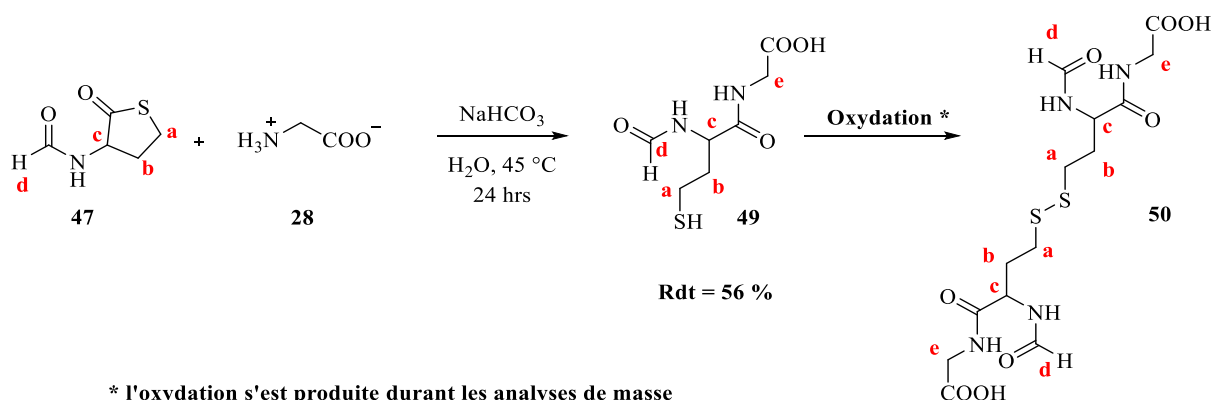


Schéma 68. Produit obtenu de la réaction entre **47** et **28**

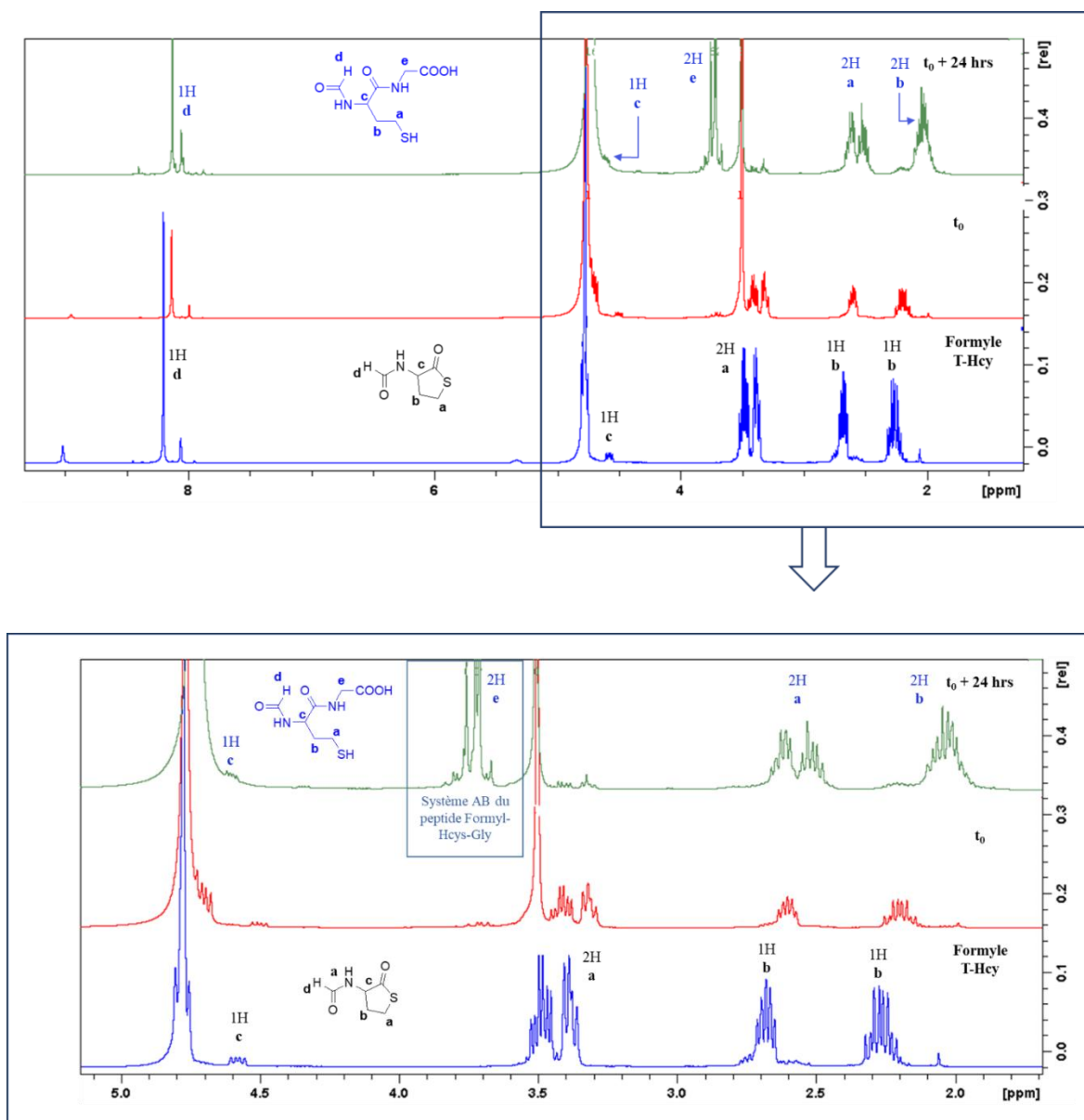


Figure 37. Spectres RMN  $^1\text{H}$  de l'évolution de la réaction entre 47 et 28

Les spectres de haut sont les spectres complets alors que les spectres de bas présentent leur partie élargie

En spectrométrie de masse, le plus grand pic est celui du peptide **49** (M = 220 g/mol) (**figure 38**).

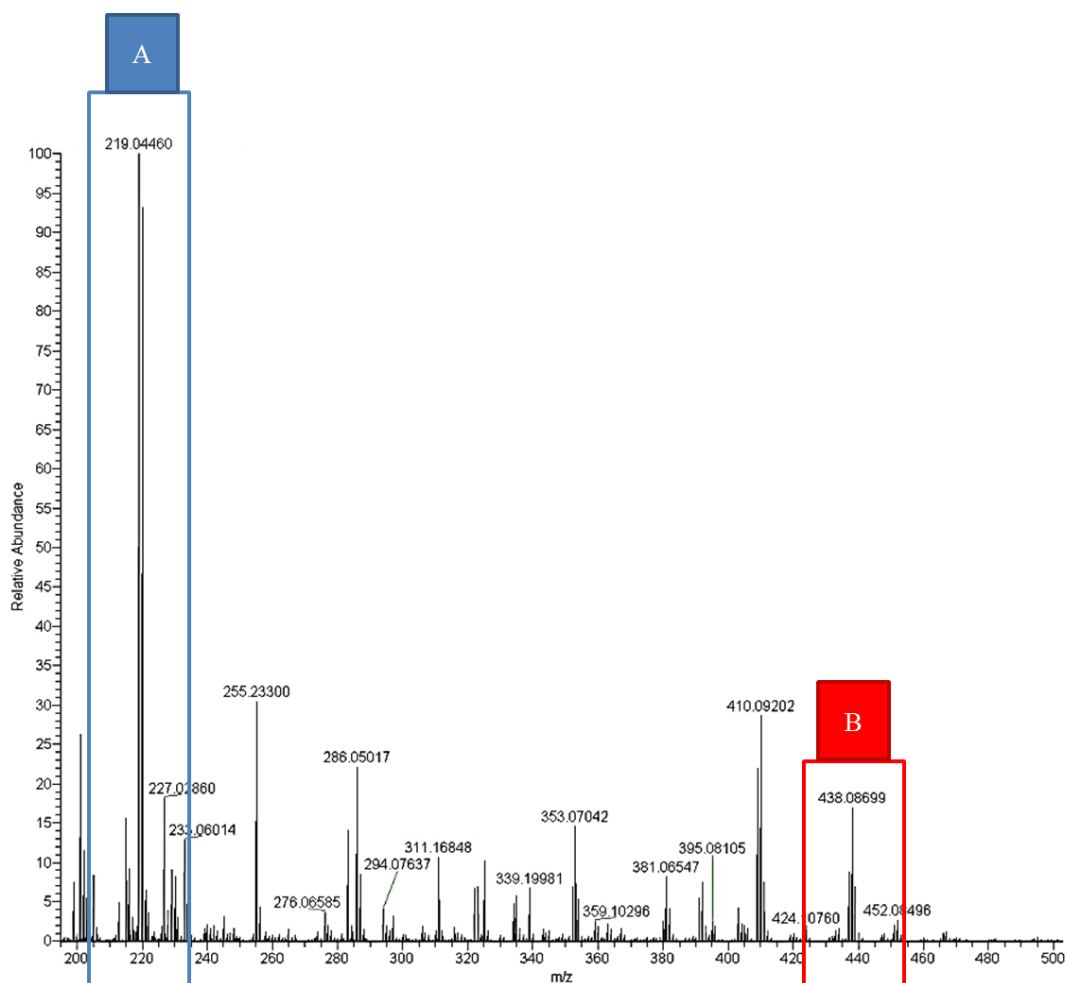
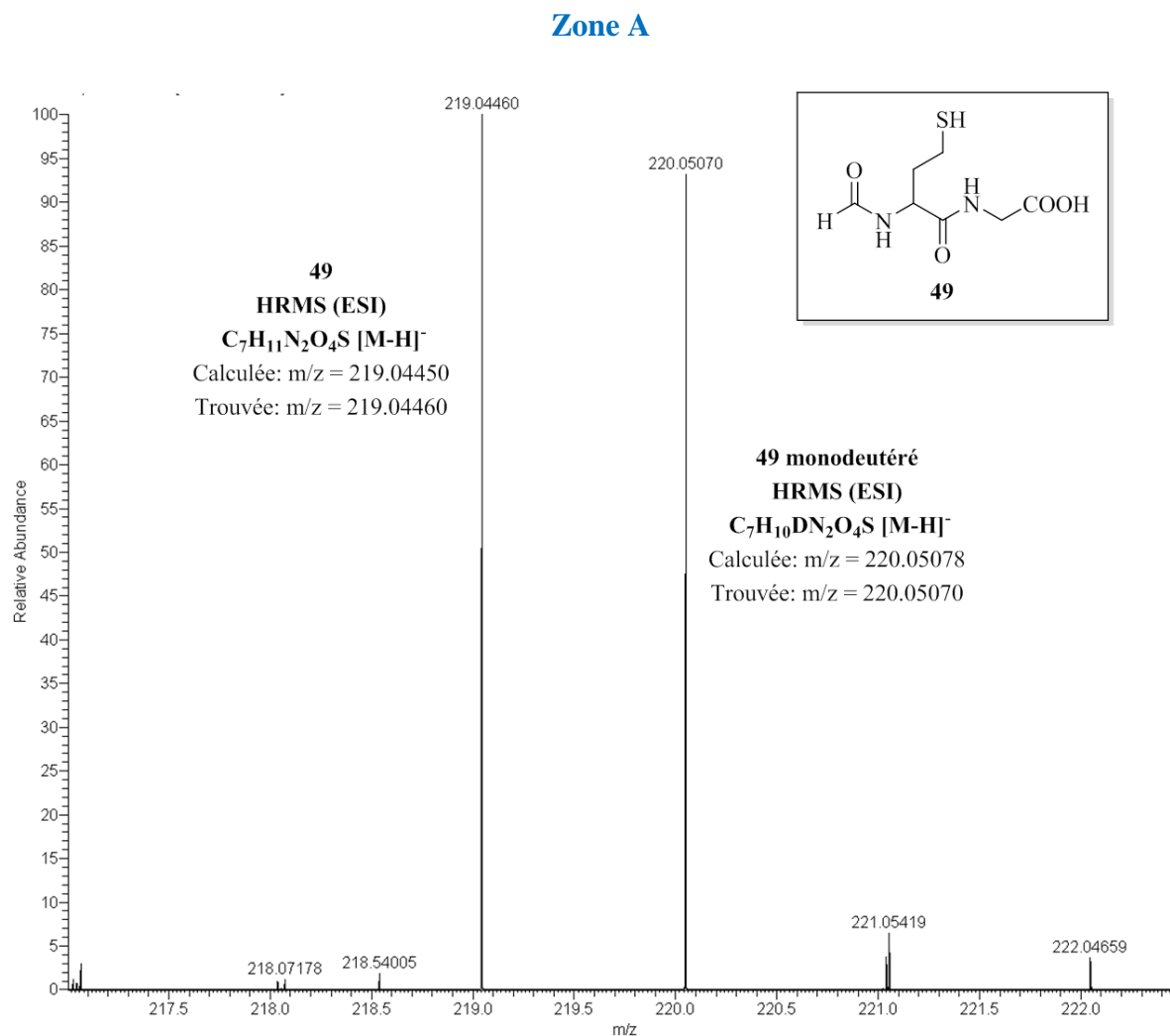


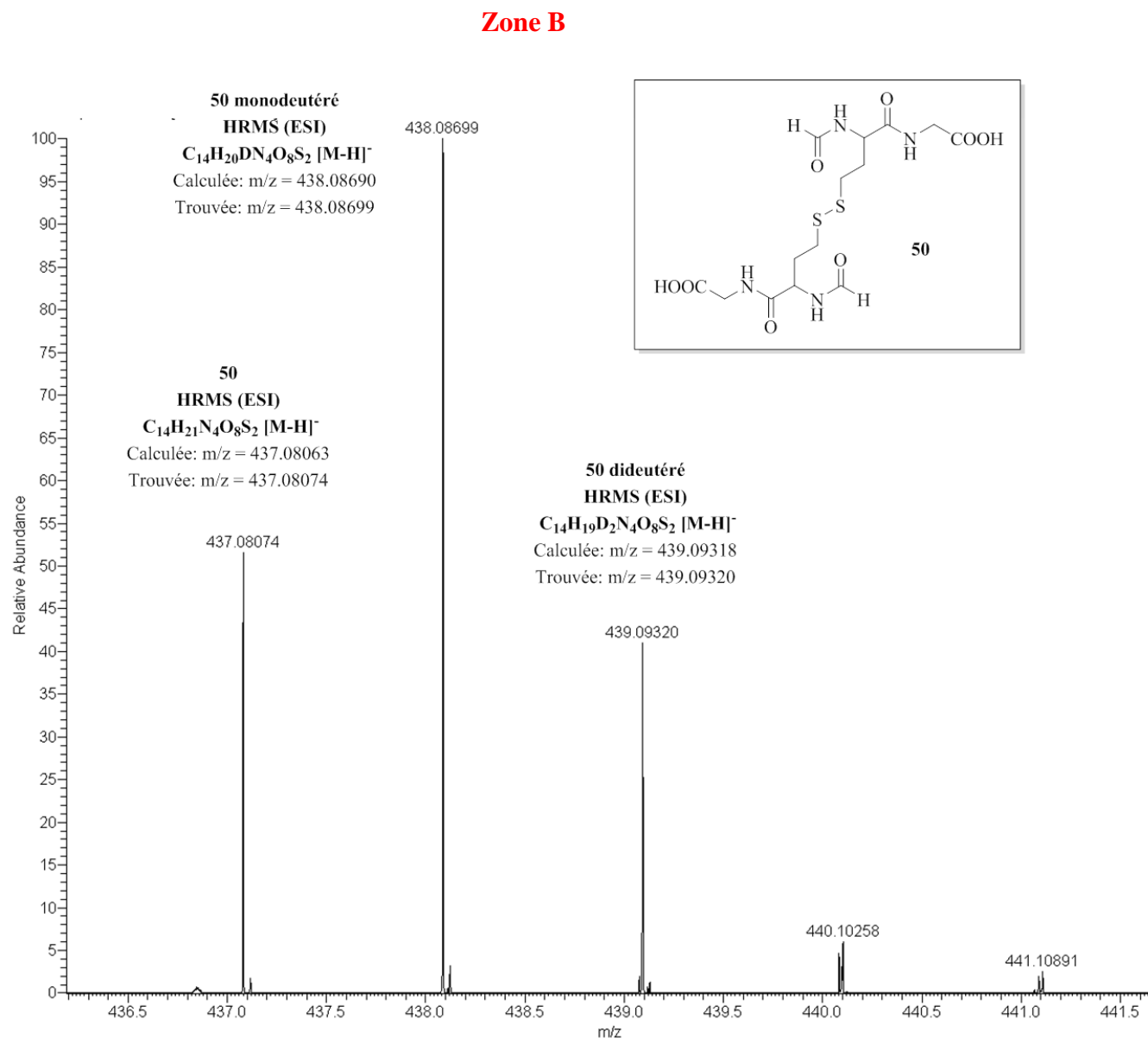
Figure 38. Spectrométrie de masse du mélange brut de la réaction entre **47** et **28**

En élargissant la **zone A**, nous observons aussi le pic correspondant au produit **49** monodeutééré (**figure 39**). La deutération des molécules est la conséquence du fait que la réaction, d'abord réalisée pour un suivi RMN, a été faite dans D<sub>2</sub>O.



**Figure 39.** Elargissement de la **zone A** du spectre de masse exacte, du mélange brut de la réaction entre **47** et **28**

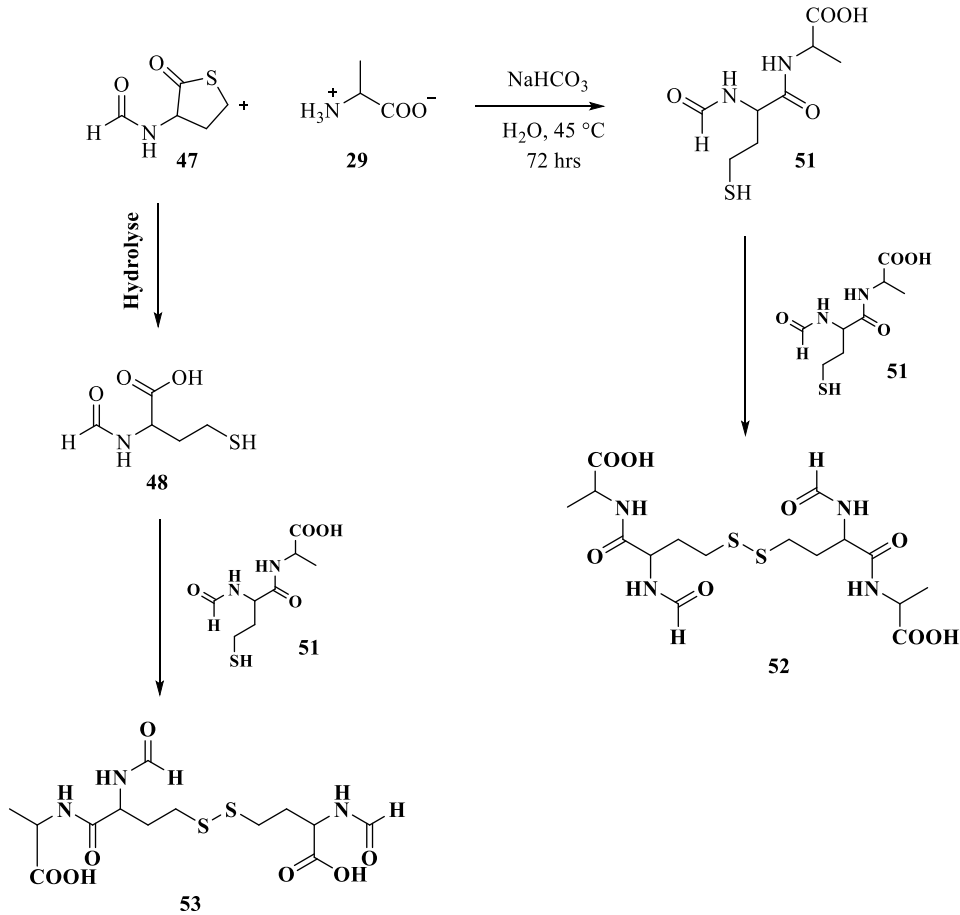
Le signal à  $m/z = 438.08699$  (dans la **zone B**), quant à lui, correspond au disulfure **50**, mais monodeutééré. En élargissant la zone de ce signal, nous constatons que les pics correspondants à **50**, sans deutération et dideutééré, sont également présents (**figure 40**).



**Figure 40.** Elargissement de la zone B du spectre de masse exacte, du mélange brut de la réaction entre **47** et **28**

**Thiolactone de l'homocystéine formylée 47 + Alanine 29**

Avec l'alanine, la réaction est complète au bout de 72 heures de chauffage à 45 °C. Un mélange de produits a été obtenu que nous ne sommes pas parvenus à séparer proprement.



**Schéma 69.** Produits obtenus de la réaction entre 47 et 29



Toutefois, le spectre de masse, nous a permis d'identifier certains produits et de confirmer que l'ouverture de la thiolactone de la *N*-formyl-homocystéine par l'alanine avait bien eut lieu.

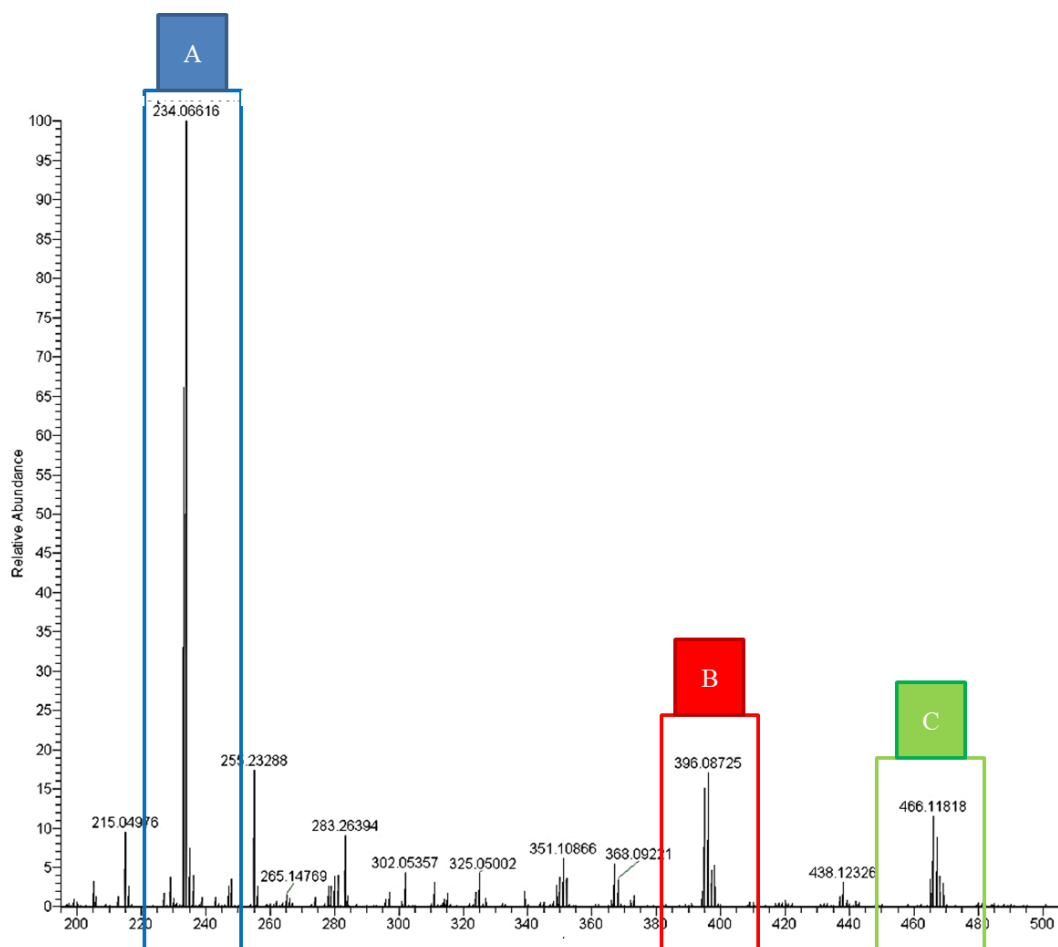
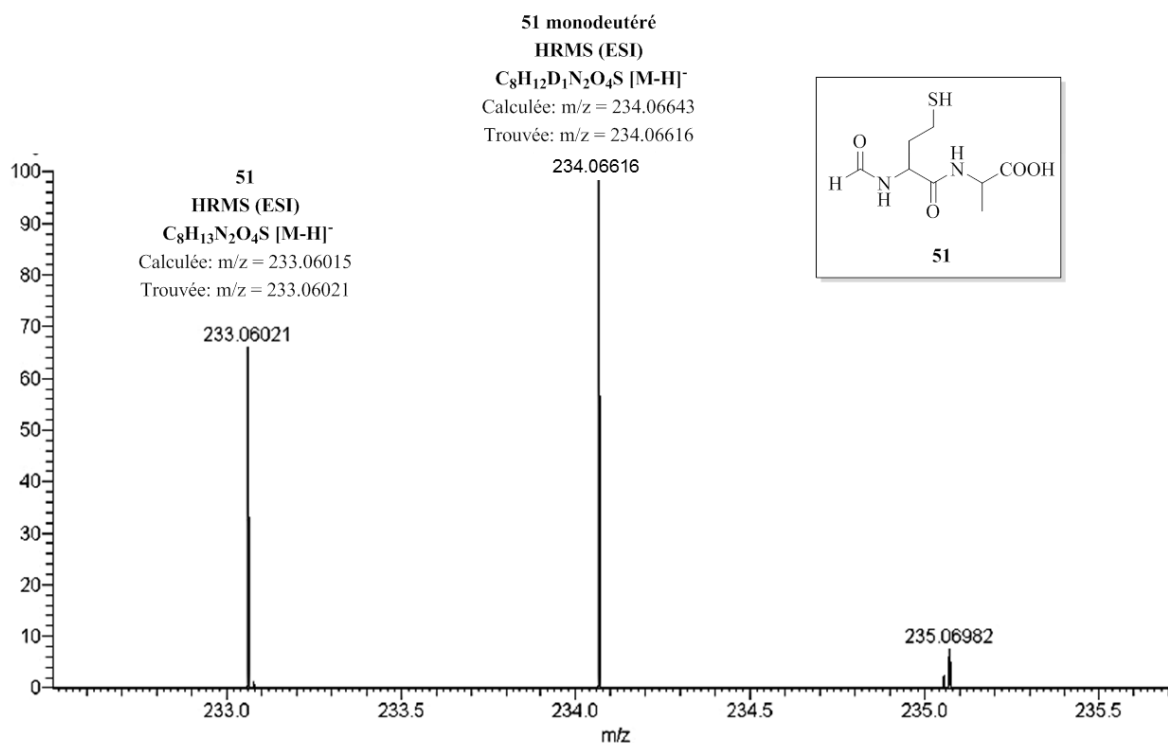


Figure 41. Spectre de masse du mélange issu de la réaction entre 47 et 29

En examinant le spectre de masse, nous avons pu confirmer la présence des produits attendus et des molécules deutérées :

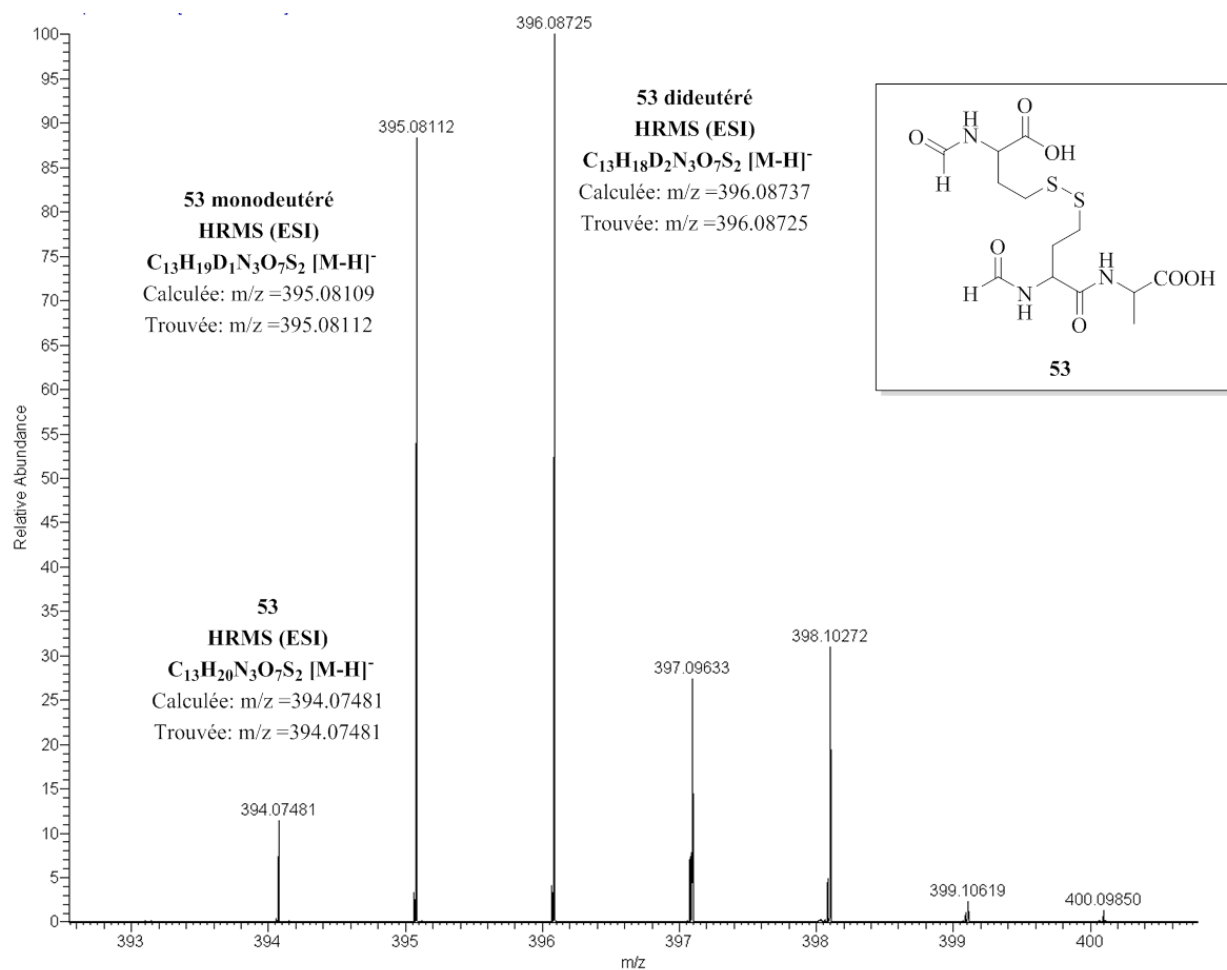
### Zone A



**Figure 42.** Elargissement de la **zone A** du spectre de masse exacte, du mélange brut de la réaction entre **47** et **29**

Le signal correspondant au dipeptide attendu, sous sa forme thiol **51**, est observé. La masse exacte a aussi confirmé la présence de son analogue monodeutééré (**figure 42**).

**Zone B**



**Figure 43.** Elargissement de la **zone B** du spectre de masse exacte du mélange brut de la réaction entre **47** et **29**

Le signal à  $m/z = 396.08725$  correspondent à un produit d'oxydation: le disulfure asymétrique **53** qui est dideutééré. En élargissant la zone de ce signal, on observe aussi la présence de **53** non deutéré (**figure 43**).

Zone C

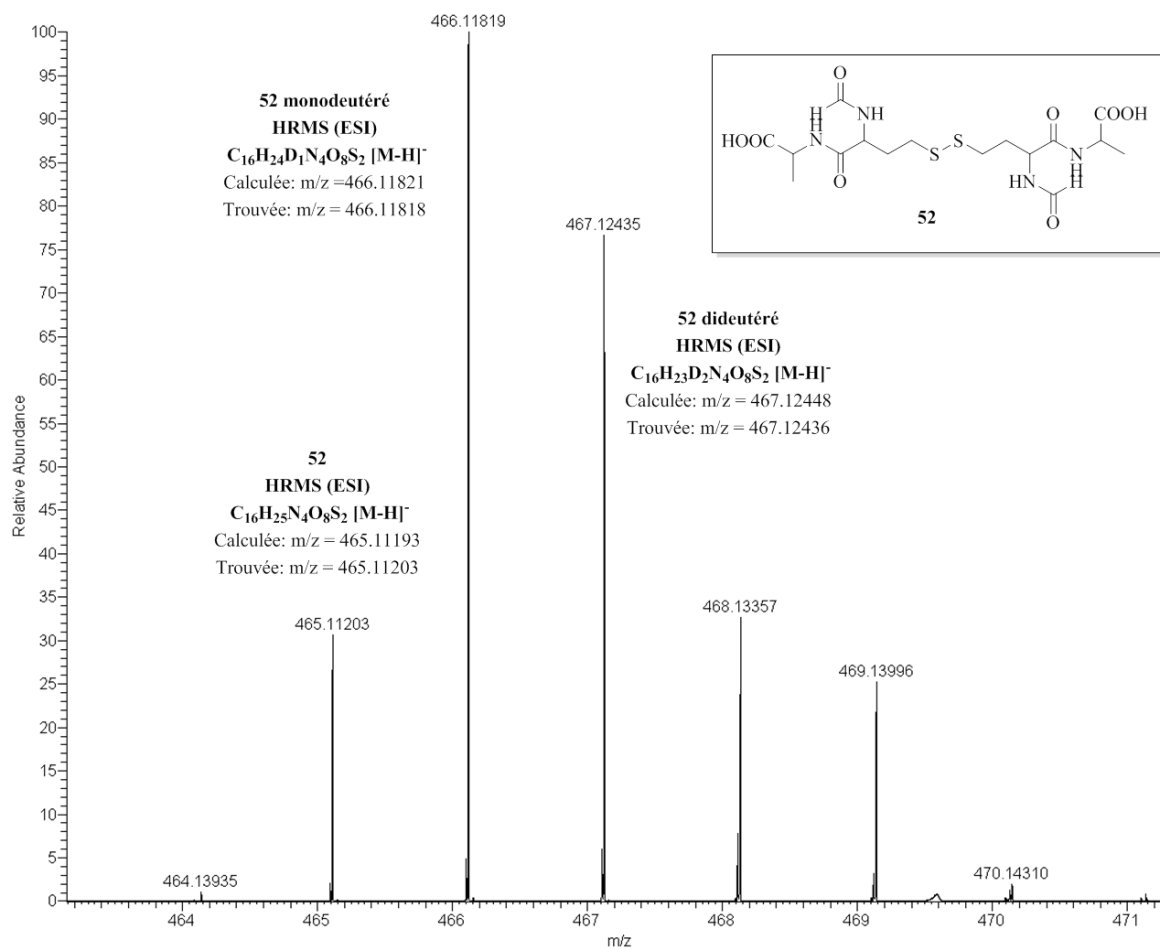


Figure 44. Elargissement de la zone C du spectre de masse exacte, du mélange brut de la réaction entre 47 et 29

Le signal à  $m/z = 466.11818$  quant à lui, correspond au disulfure symétrique **52** monodeutééré. En élargissant la zone de ce signal, nous avons aussi confirmé la présence de **52**, non deutéré et dideutéré (figure 44).

### Thiolactone de l'homocystéine formylée **47** + Cystéine **1**

Avec la cystéine **1**, nous attendions à former le dipeptide **54**. La réaction est terminée après 48 heures de chauffage à 45 °C.

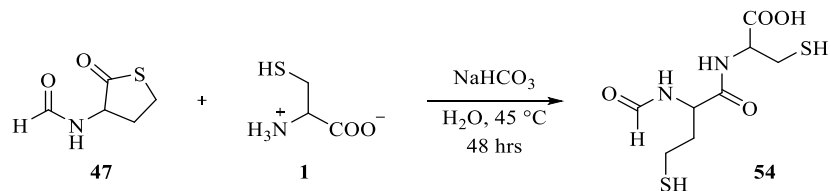


Schéma 70. . Produits obtenus de la réaction entre **47** et **1**

Comme dans le cas de l'alanine le mélange brut a été analysé par spectrométrie de masse. Encore une fois, nos produits sont partiellement deutérés.

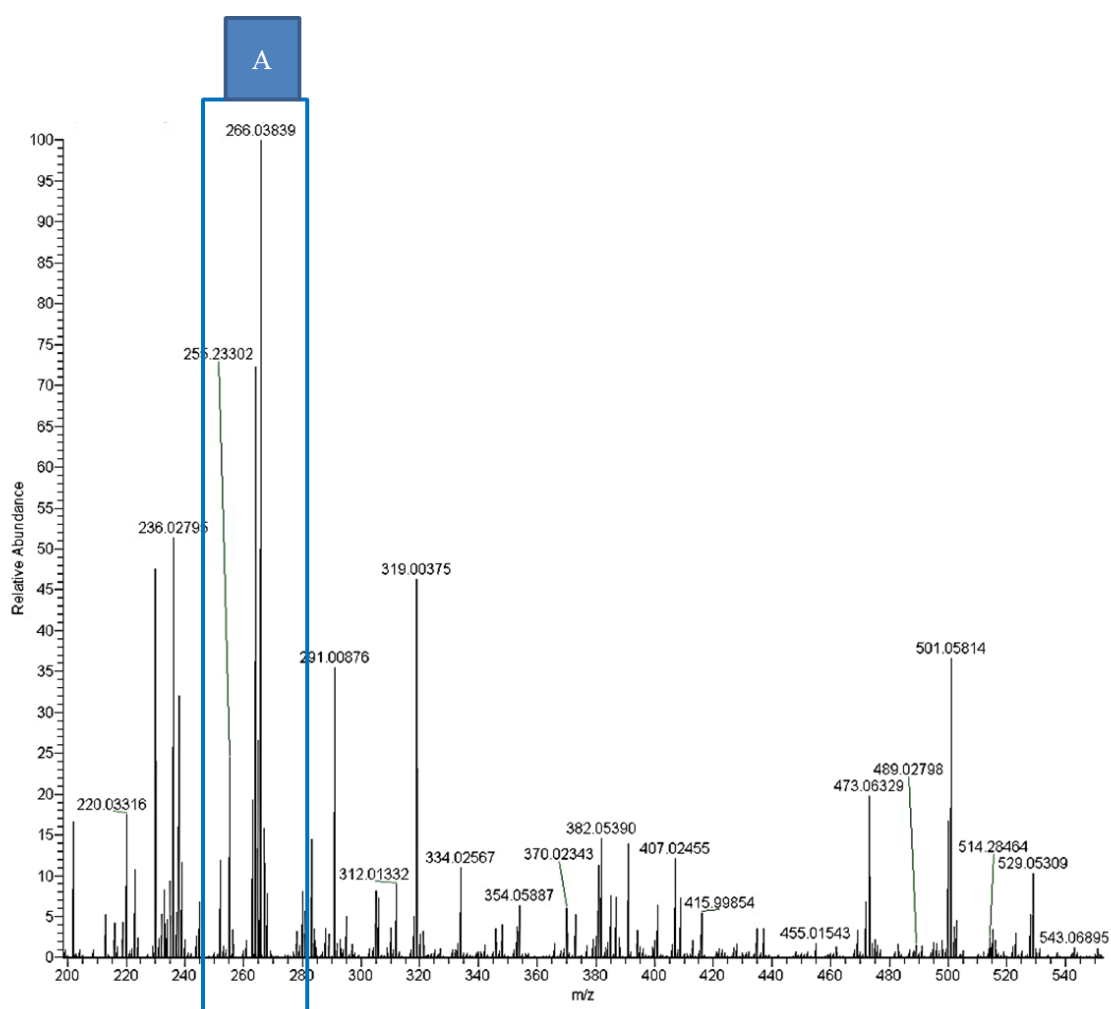
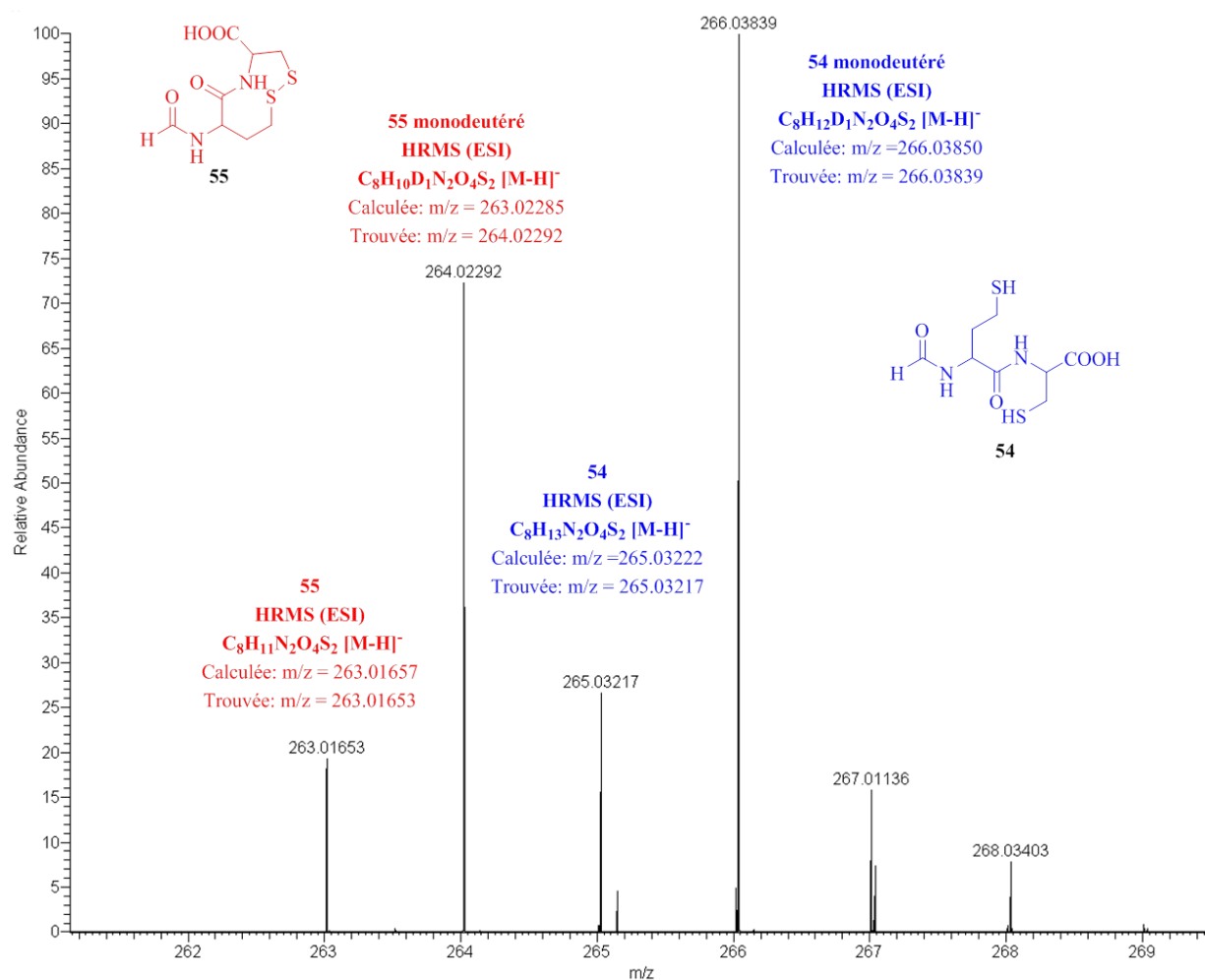


Figure 45. Spectre de masse du mélange brut issu de la réaction entre **47** et **1**

En élargissant la **zone A** du signal correspondant à  $m/z = 266.03839$ , nous avons pu confirmer la présence de **54** à côté de son analogue monodeutééré. Dans le même mélange, nous avons aussi pu détecter le produit **55** oxydé, où un pont disulfure s'est établi entre les deux fonctions thiols de la même molécule. Son analogue monodeutééré est aussi présent dans le milieu réactionnel (**figure 46**).



**Figure 46.** Elargissement de la **zone A** du spectre de masse exacte, du mélange brut de la réaction entre **47** et **1**

Nous n'avons pas pu identifier les autres pics, ils ne correspondent pas aux disulfures symétriques ou asymétriques, ni à leur produits de cyclisation intramoléculaire.

En conclusion, même si nous avons rencontré d'importantes difficultés pour isoler les produits, nous avons montré que la thiolactone de la *N*-formyl-homocystéine **47** est bien ouverte par les aminoacides.

## V. Synthèse de dipeptides à partir de la thiolactone de la *N*-acétyl-homocystéine, 56

Nous avons également étudié la réactivité de la thiolactone de l'homocystéine acétylée **56**, qui est un produit commercial, avec divers acides aminés. Nous pensons, que l'acétylation de l'homocystéine permettrait d'isoler plus facilement les peptides attendus.

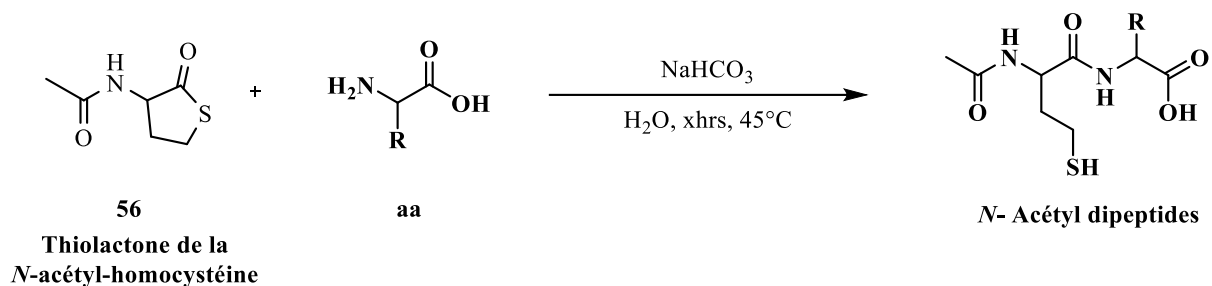
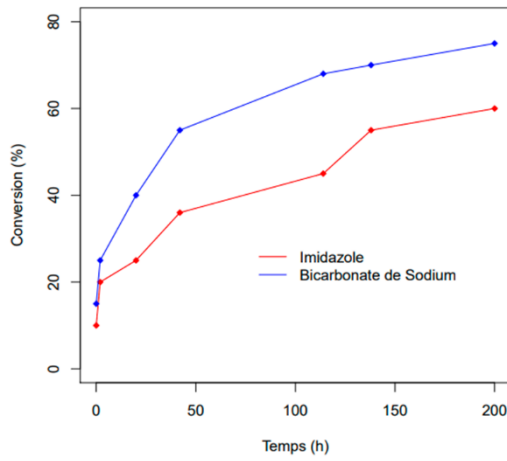


Schéma 71. Réaction de formation de peptides entre **56** et les acides aminés

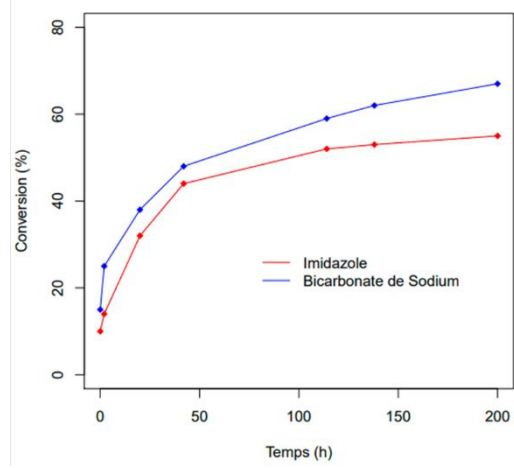
### 1. Evolution de la synthèse des peptides

Dans un premier temps, nous avons suivi l'évolution de la réaction entre la thiolactone de l'homocystéine acétylée, **56** et deux équivalents d'acides aminés ou de petits peptides par RMN <sup>1</sup>H. Les réactions ont été faites à 45°C et à 80°C, avec ajout d'imidazole ou de NaHCO<sub>3</sub>. Ci-dessous, sont présentées les courbes de suivi de ces réactions.

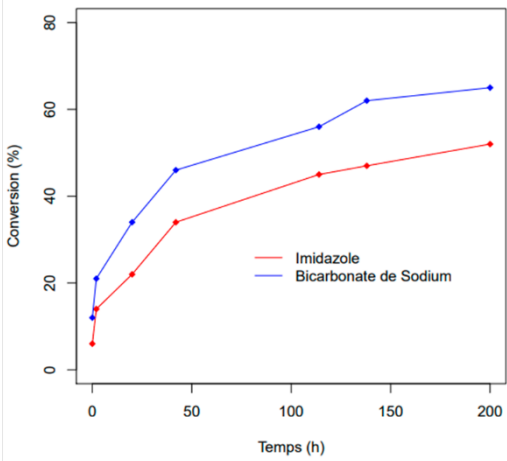
**Ac-T-Hcy 56 + Glycine 28**



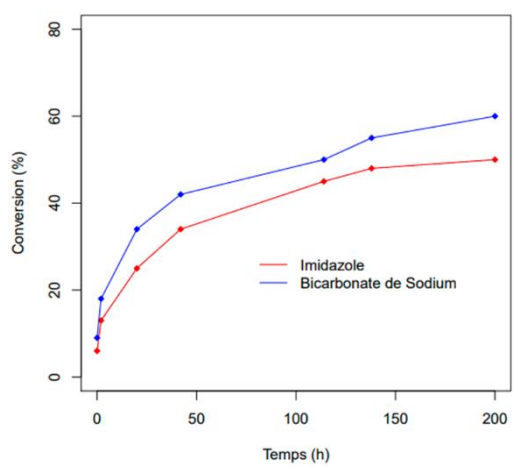
**Ac-T-Hcy 56 + Alanine 29**



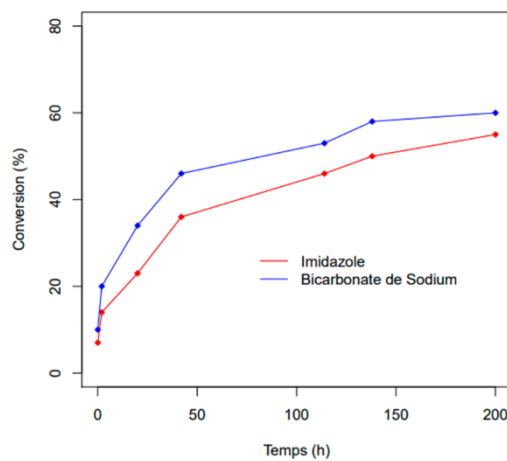
**Ac-T-Hcy 56 + Valine 30**



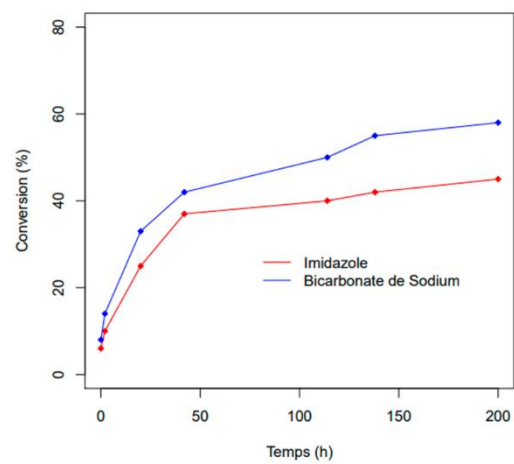
**Ac-T-Hcy 56 + Leucine 31**



**Ac-T-Hcy 56 + Sérine 32**

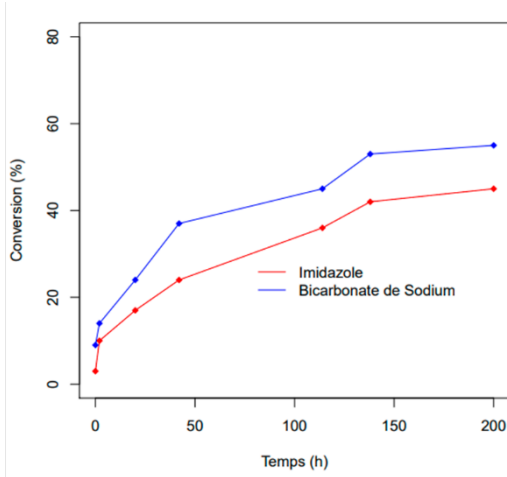


**Ac-T-Hcy 56 + Acide aspartique 33**

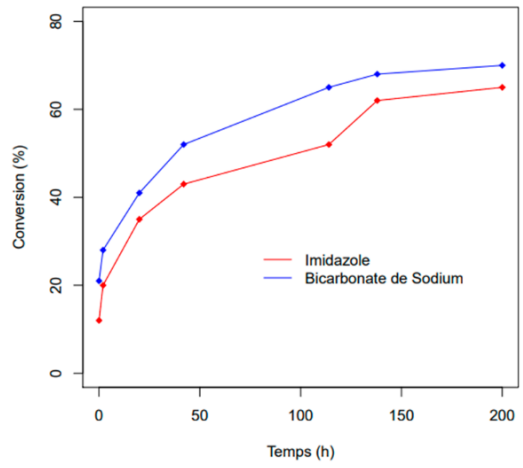




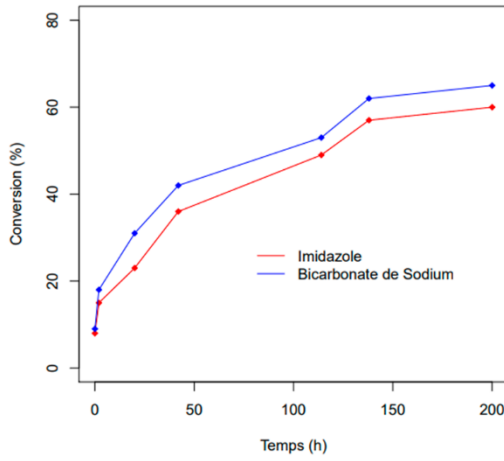
**Ac-T-Hcy 56 + Histidine 34**



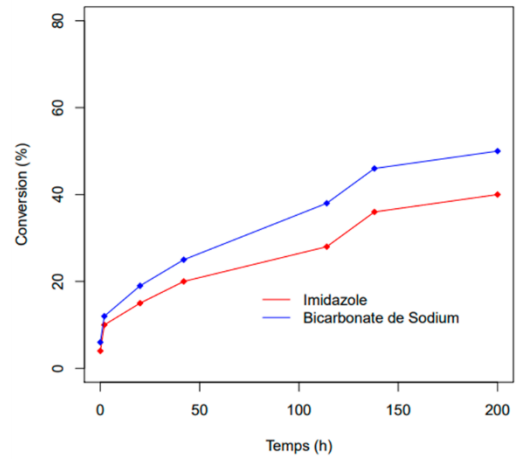
**Ac-T-Hcy 56 + Cystéine 1**



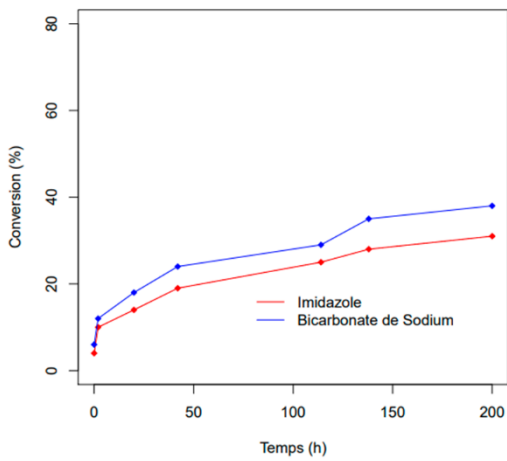
**Ac-T-Hcy 56 + Méthionine 35**



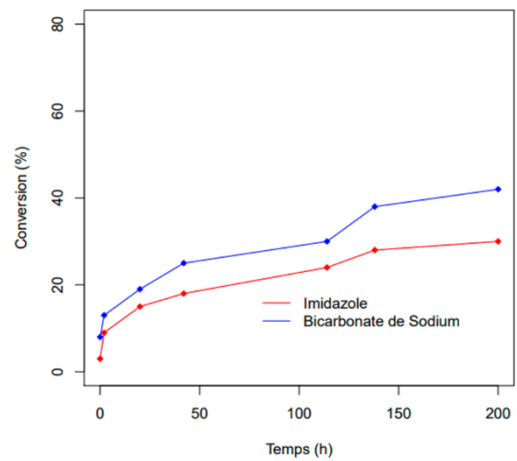
**Ac-T-Hcy 56 + GlyGly 36**



**Ac-T-Hcy 56 + GlyGlyGly 37**



**Ac-T-Hcy 56 + Gluthation 38**



La formation de peptides démarre rapidement. A partir de 2 heures de chauffage, ils apparaissent clairement. En fait, ces réactions sont plus efficaces que celles réalisées à partir de **22**. Il est possible que le groupement *N*-acétyl de la thiolactone, rende la fonction carbonyle du thioester plus électrophile. En effet, aux pH utilisés, l'amine de la thiolactone n'est pas protoné (son pKa est de 6.67<sup>324</sup>). On compare donc NH<sub>2</sub> à NHAc.

Avec la cystéine, par exemple, nous avons abouti à une conversion de 52% en utilisant l'imidazole et 65% en utilisant du NaHCO<sub>3</sub> avec la thiolactone de l'homocystéine **22**, alors qu'avec la thiolactone de la *N*-Acétyl-homocystéine **56**, la conversion est de 68 et de 72%, en utilisant l'imidazole et le NaHCO<sub>3</sub> respectivement. Les différences ne sont toutefois pas très importantes.

Par ailleurs, les conversions sont plus importantes à pH 8 (de 45 à 75%) qu'à pH 7 (de 30 à 52%).

Dans tous les essais, nous aboutissons à un palier après un certain temps. Comme dans les autres cas étudiés, **56** peut s'hydrolyser pour former la *N*-acétyl-homocystéine **57**, réaction qui concurrence l'ouverture par le groupe amine de l'acide aminé (**schéma 72**).

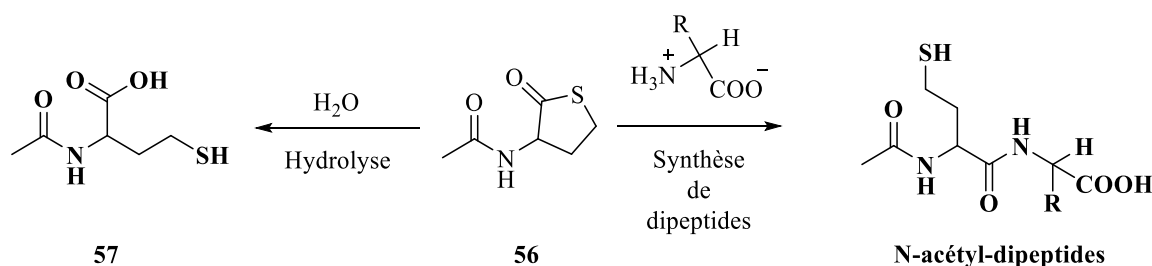


Schéma 72. Réactions possibles entre **56** et les acides aminés

Enfin, ici aussi, l'emploi d'une thiolactone racémique implique la formation de diastéréoisomères, ce qui, ajouté à la formation de produits secondaires, complique la lecture des spectres RMN.

<sup>324</sup> Jakubowski, H. *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8039.

## 2. Synthèse préparative de peptides à partir de la thiolactone de la *N*-acétyl-homocystéine

Avec la forme acétylée de la thiolactone de l'homocystéine, nous avons tenté d'isoler les dipeptides afin de pouvoir les analyser et déterminer des rendements précis.

### a. Analyse après estérification des peptides formés

Nous avons réalisé la réaction entre **56** et les acides aminés, dans de l'eau dégazée, à pH légèrement basique (bicarbonate de sodium) et en chauffant à 45 °C. Puis, nous avons estérifié les produits obtenus pour rendre les molécules moins polaires, afin de pouvoir les purifier par chromatographie classique sur silice. Malheureusement, encore une fois, il ne nous a pas été possible d'éviter l'oxydation des thiols pendant l'estérification et/ou la purification.

Les exemples de réaction avec la glycine, l'alanine et la valine sont présentés ci-dessous. Nous avons représenté la formation des ponts disulfures avant les estérifications, mais l'inverse est bien sûr possible. Nous avons caractérisé trois produits dont les proportions sont présentées dans le **tableau 2**.

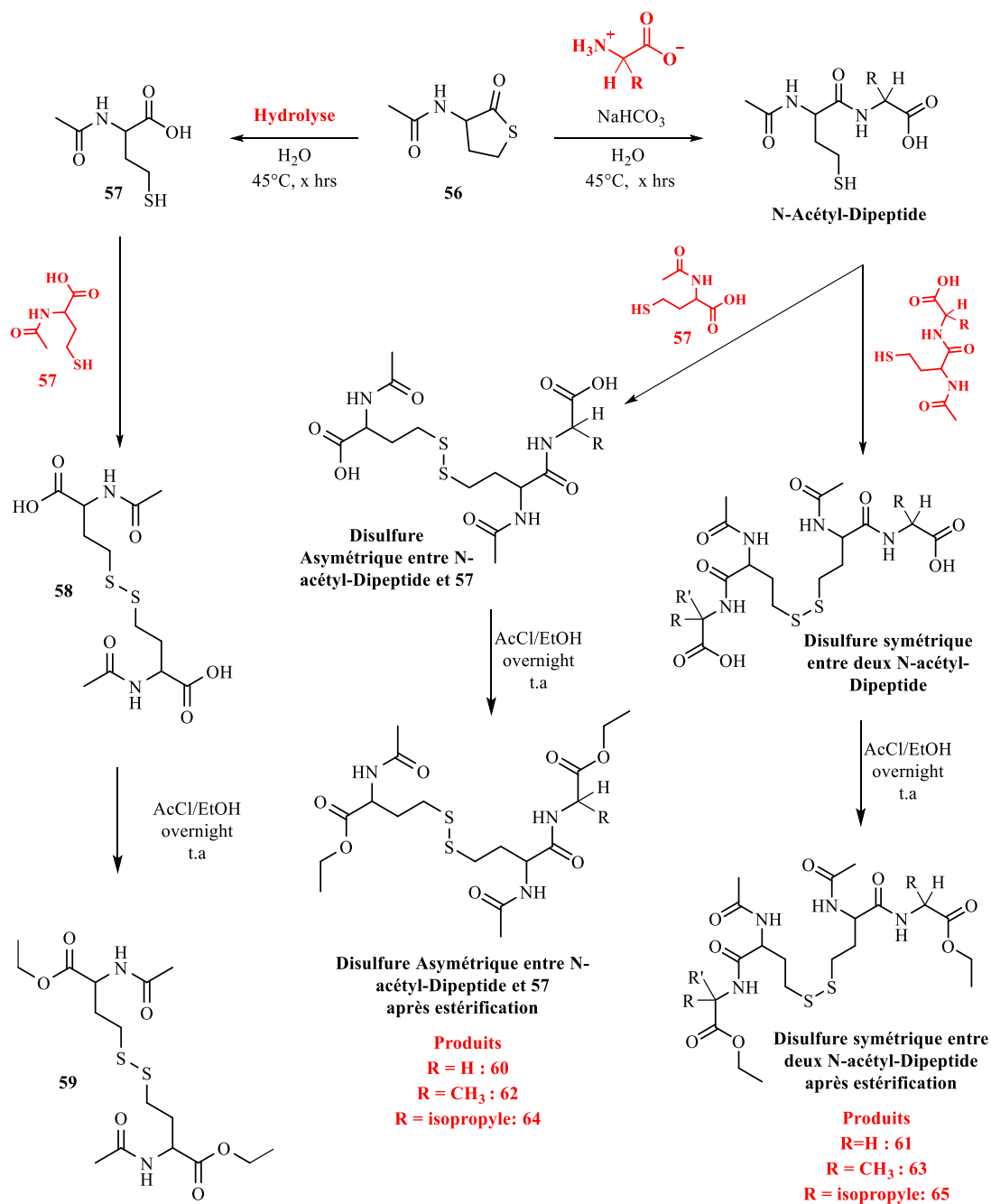


Schéma 73. Produits obtenus de la réaction entre 56 et les acides aminés

Essai	R	Acide aminé utilisé	Conditions	Rdt	Rdt	Rdt
1	H	Glycine	45 °C, 24 heures	59 : 44%	60 : 18%	61 : 8%
2	CH <sub>3</sub>	Alanine	45 °C, 75 heures	59 : 50%	62 : 12%	63 : 10%
3	Isopropyle	Valine	45 °C, 120 heures	59 : 45%	64 : 28%	65 : 16%

Tableau 2. Rendements des produits obtenus de la réaction entre 56 et les acides aminés

**Thiolactone de la N-Acétyl-Homocystéine 56 + GlyGly 36**

De même, la réaction entre **56** et **36**, suivie d'une estérification des peptides obtenus, nous a fourni un mélange, où nous avons caractérisé les produits **66** (rdt estimé 32%) et **67** (rdt estimé 10%).

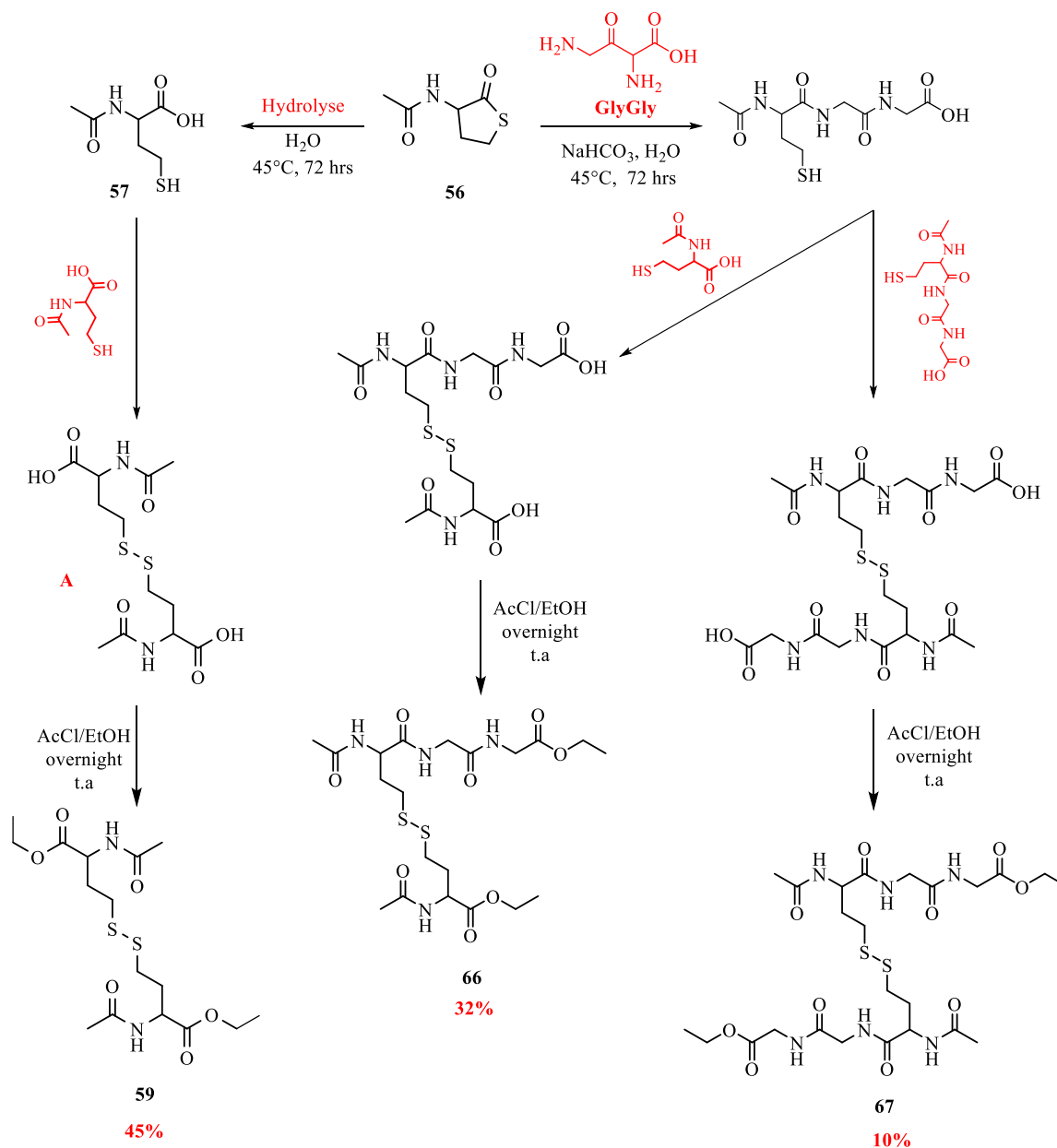


Schéma 74. Produits obtenus de la réaction entre **56** et **36**

### Thiolactone de la *N*-acétyl-homocystéine **56** + Cystéine **1**

Avec la cystéine, nos réactions donnent souvent de bons résultats. Cela peut être expliqué par la ligation chimique native<sup>325</sup> qui génère une liaison amide via un thioester. Cette stratégie, très efficace de synthèse des peptides, repose sur la labilité de la liaison thioester et sa capacité d'acylation intramoléculaire. Elle consiste en un échange intermoléculaire entre un thioester, situé en position C-terminale d'un peptide et le thiol d'une cystéine, situé en position N-terminale d'un autre peptide, suivie d'un réarrangement intramoléculaire par transfert d'acyle :

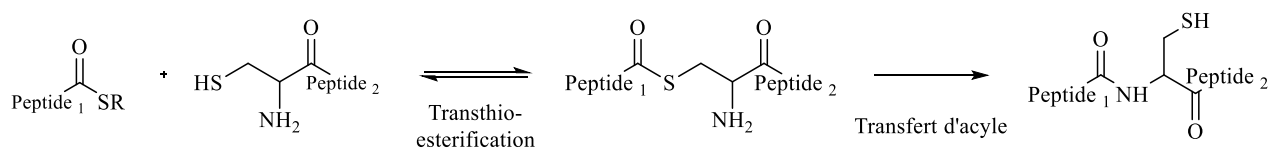


Schéma 75. Ligation chimique native et formation d'amides

Au cours de la réaction de ligation chimique native, la cystéine participe en tant que partenaire nucléophile et induit un échange de thioester préliminaire à la formation de la liaison amide. Ceci implique une réaction plus rapide et un rendement plus élevé. C'est le cas dans la réaction de la cystéine avec **56**.

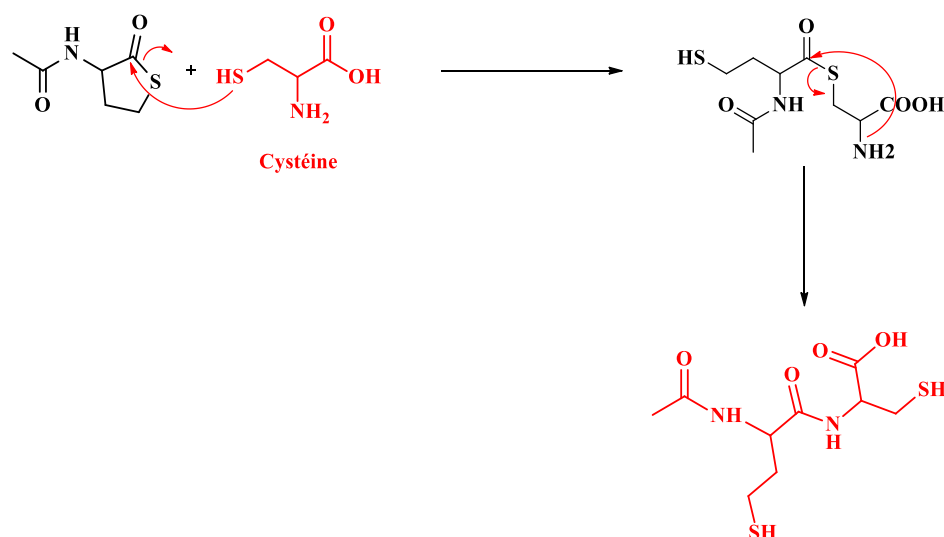


Schéma 76. Ligation chimique native entre la thiolactone de la *N*-acétyl-homocystéine, **56** et la cystéine, **1**

<sup>325</sup> Dawson, P.E.; Muir, T.W.; Clark-Lewis, I.; Kent, S. B. H. *Science* **1994**, 266, 776.

Nous avons obtenu le peptide **68**, attendu après estérification, avec un rendement de 36% (schéma 77).

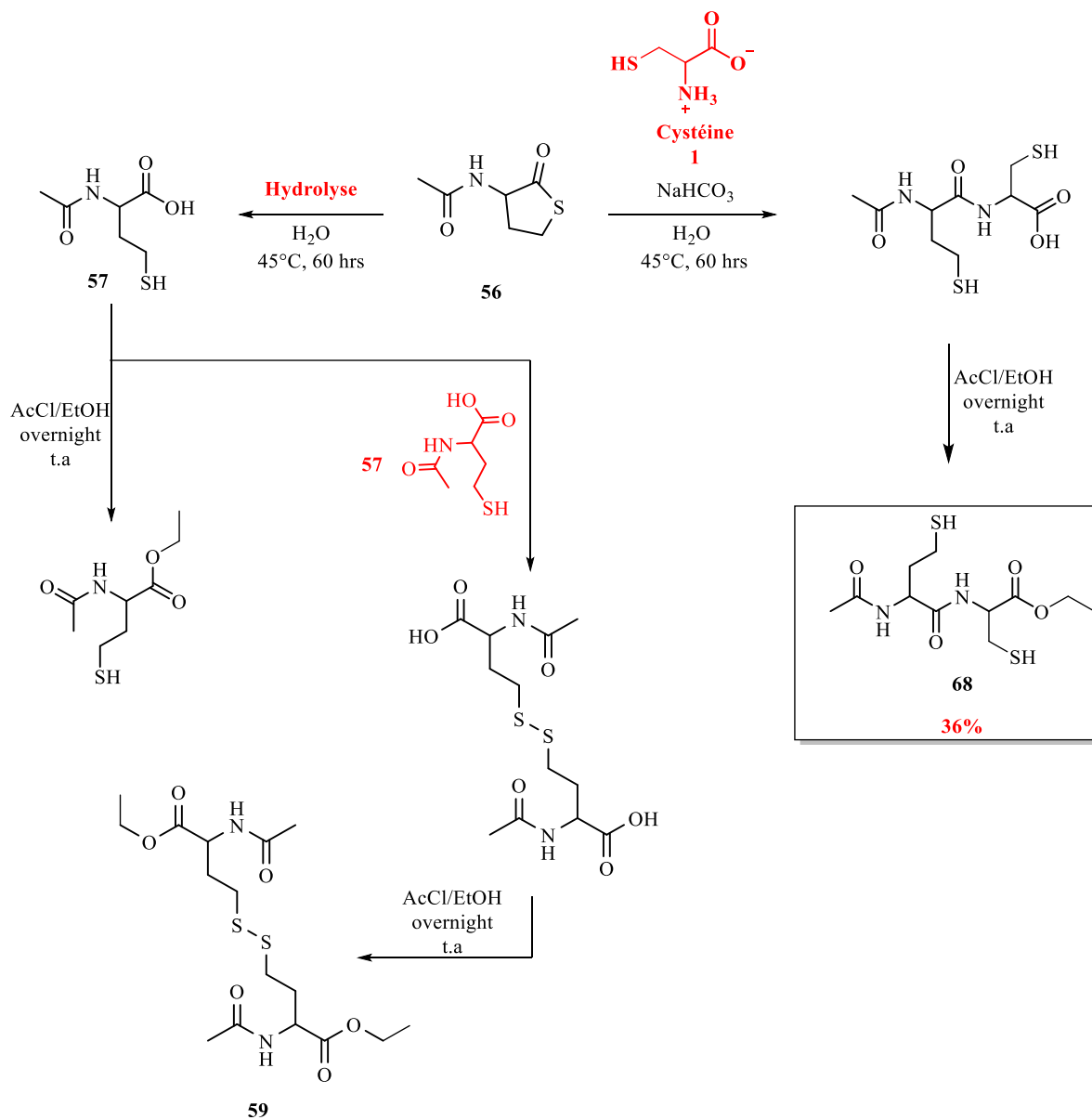


Schéma 77. Produits obtenus de la réaction entre **56** et **1**

Donc, sauf (étonnamment !) dans le cas de la cystéine, nous n'avons pas isolé de thiols, mais des disulfures. Dans la mesure où l'estérification ne nous avait pas facilité la purification des peptides, nous avons testé l'isolation directe des peptides sous forme acide.

### b. Analyse sans estérification des peptides obtenus

Les réactions de **56** avec les acides aminés mènent aux peptides correspondants, ainsi qu'à la formation de la *N*-acétyl-homocystéine, **57**, issu de l'hydrolyse de **56**. Ici aussi, lors de la purification, nous n'avons pas pu éviter que les thiols obtenus forment des disulfures. Ainsi, nous observons le disulfure du produit d'hydrolyse, **58**, le disulfure du peptide désiré (disulfure entre deux *N*-acétyl-dipeptide) et le disulfure croisé entre le produit d'hydrolyse, **57** et le peptide attendu (schéma 78).

Les acides aminés sont utilisés en excès (2 équivalents). Le mélange obtenu est filtré sur résine cationique, afin d'éliminer l'excès de l'acide aminé de départ, avant une analyse par RMN et spectrométrie de masse. Le temps de réaction dans chaque cas, dépend de l'épuisement de la thiolactone **56** de départ. Nous avons tenu compte des résultats présentés dans la partie V.1, pour estimer le temps de réaction nécessaire.

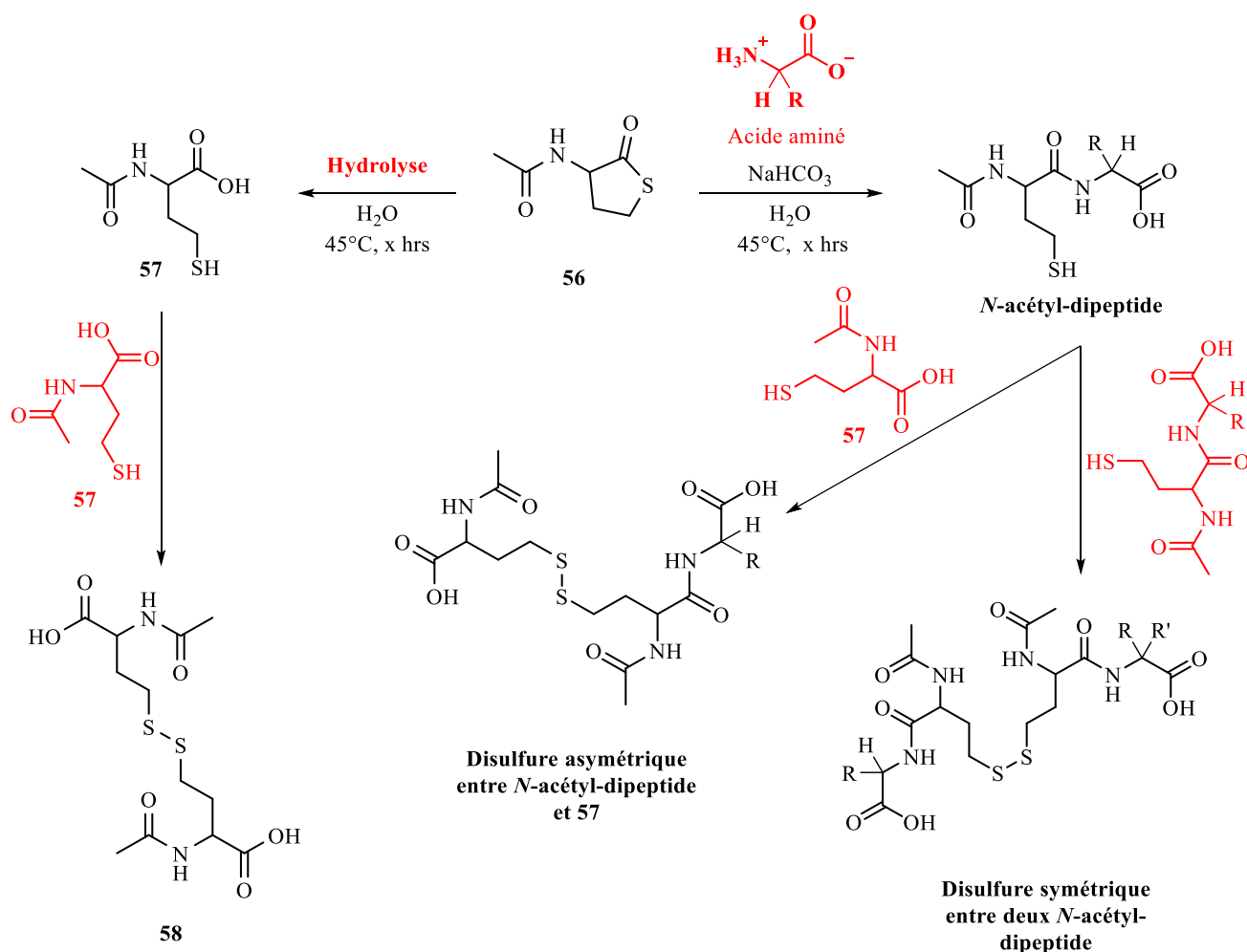


Schéma 78. Produits obtenus de la réaction entre **56** et les acides aminés



Pour la réaction entre la thiolactone de la *N*-acétyl-homocystéine **56** et la glycine **28** :

Après 24 heures de chauffage à 45 °C, **56** est totalement consommé. Le spectre RMN  $^1\text{H}$  est compatible avec la formation du thiol *N*-acétyl-Hcy-Gly. Il est obtenu avec un rendement de 46%.

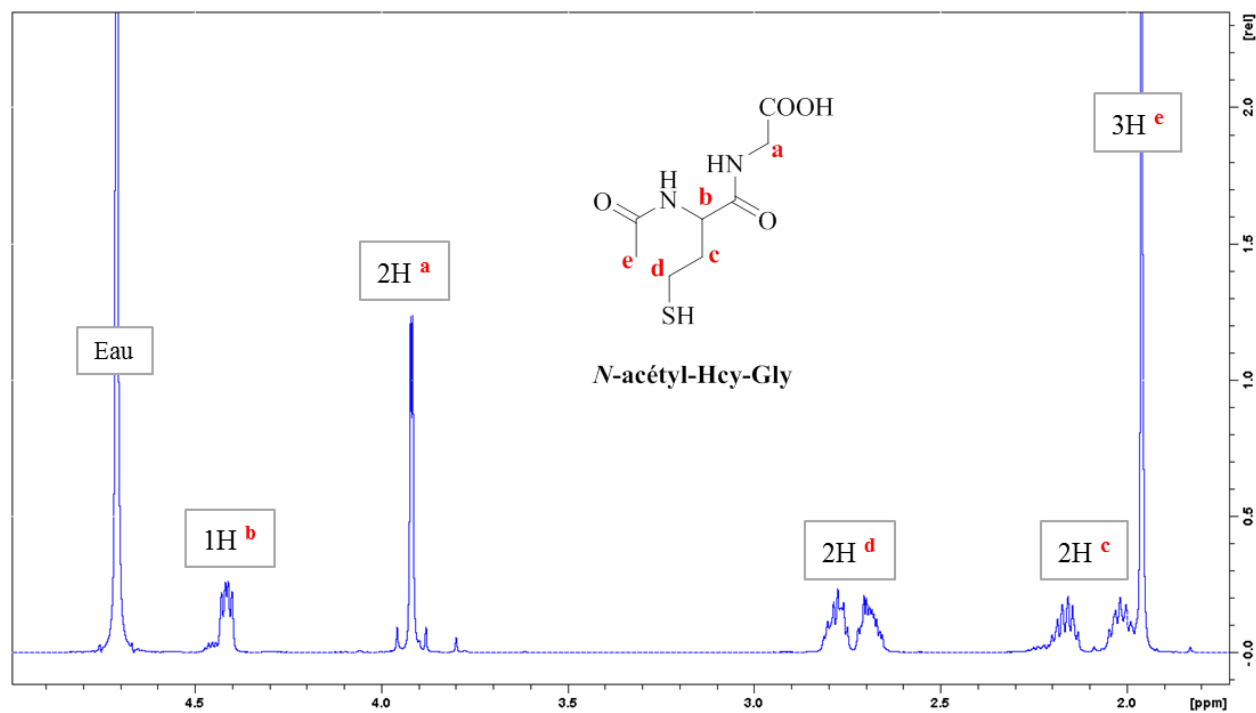


Figure 47. Spectre RMN  $^1\text{H}$  de la *N*-acétyl-Hcy-Gly, 500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$

Toutefois, malgré la clarté du spectre RMN, l'analyse par spectrométrie de masse, révèle la présence du disulfure symétrique, **70**, provenant de l'oxydation du thiol *N*-acétyl-Hcy-Gly et du disulfure asymétrique, **69**.

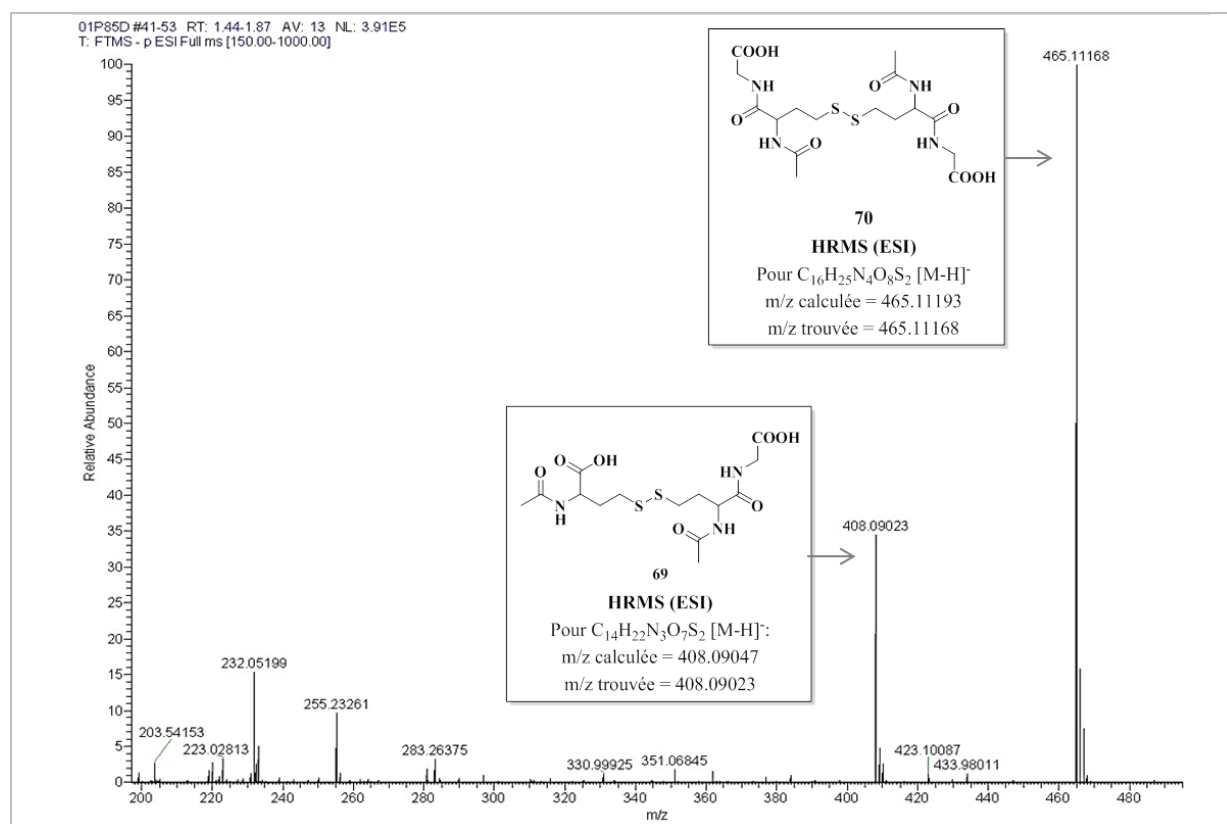
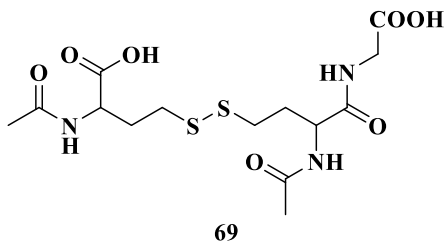


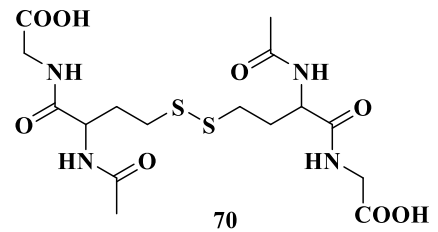
Figure 48

Dans tous les essais avec les autres acides aminés, nous obtenons un mélange des trois molécules : **58**, le disulfure symétrique et asymétrique. La présence de ces produits a été confirmée par spectrométrie de masse. Ci-dessous (schéma **79**), nous présentons les diverses molécules obtenues. Les RMN  $^1H$  et les spectres de masse sont présentés dans la partie expérimentale.

**Thiolactone de la N-acétyl-homocystéine + Glycine**

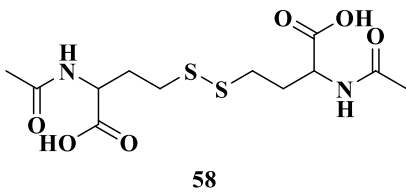


**HRMS (ESI):**  
 Pour  $C_{14}H_{22}N_3O_7S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 408.09047  
 m/z trouvée = 408.09023

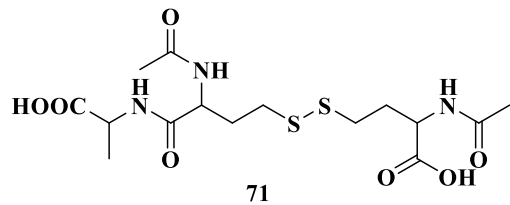


**HRMS (ESI):**  
 Pour  $C_{16}H_{25}N_4O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 465.11193  
 m/z trouvée = 465.11168

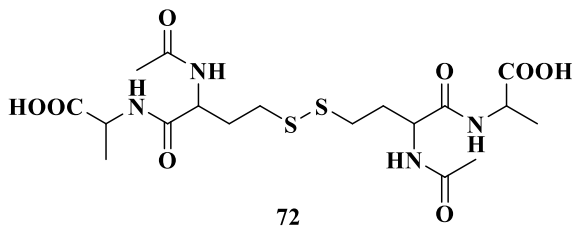
**Thiolactone de la N-acétyl-homocystéine + Alanine**



**HRMS (ESI):**  
 Pour  $C_{12}H_{19}N_2O_6S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 351.06900  
 m/z trouvée = 351.06811

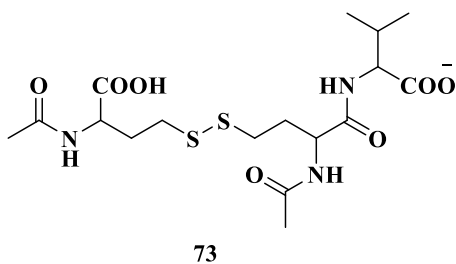


**HRMS (ESI):**  
 Pour  $C_{15}H_{24}N_3O_7S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 422.10612  
 m/z trouvée = 422.10546

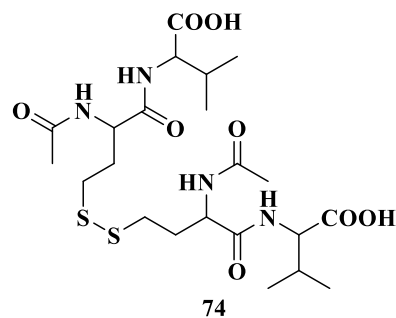


**HRMS (ESI):**  
 Pour  $C_{18}H_{29}N_4O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 493.14323  
 m/z trouvée = 493.15051

**Thiolactone de la N-acétyl-homocystéine + Valine**

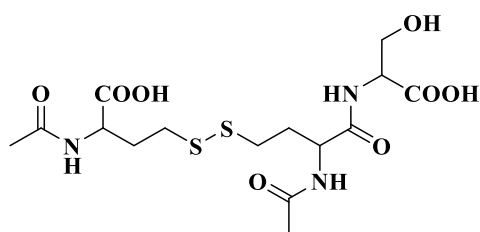


**HRMS (ESI):**  
 Pour  $C_{17}H_{28}N_3O_7S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 450.13742  
 m/z trouvée = 450.13768



**HRMS (ESI):**  
 Pour  $C_{22}H_{37}N_4O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 549.20586  
 m/z trouvée = 549.20529

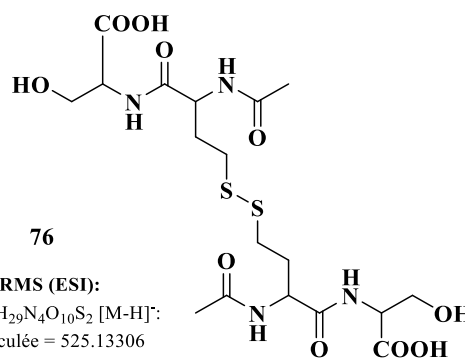
Thiolactone de la N-acétyl-homocystéine + Sérine



75

HRMS (ESI):

Pour  $C_{15}H_{24}N_3O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 438.10103  
 m/z trouvée = 438.10023



76

HRMS (ESI):

Pour  $C_{18}H_{29}N_4O_{10}S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  
 m/z calculée = 525.13306  
 m/z trouvée = 525.13177

Schéma 79. Molécules obtenues de la réaction entre 56 et les divers acides aminés

Une estimation de rendement a été obtenue de la même manière que pour la réaction avec la glycine (tableau 3).

Essai	R	R'	Acide aminé utilisé	Conditions	Rdt 58	Rdt Disulfure asymétrique	Rdt Disulfure symétrique
1	H	H	Glycine	45 °C, 24 heures	-	69 : -	70 : 46%
2	H	CH <sub>3</sub>	Alanine	45 °C, 48 heures	-	71 : 53%	72 : -
3	H	Isopropyle	Valine	45 °C, 52 heures	-	73 : 48%	74 : -
4	H	CH <sub>2</sub> OH	Sérine	45 °C, 64 heures	-	75 : 40%	76 : -

Tableau 3. Rendements des produits obtenus de la réaction entre 56 et les divers acides aminés

Dans le cas de la cystéine, nous avons obtenu le peptide N-acétyl-Hcy-Cys attendu 77, mais les thiols s'oxydent, ce qui mène à des cyclisations intramoléculeaires. De façon intéressante, dans le cas de la cystéine (comme nous l'avons déjà noté lorsque nous avons formé les esters), nous n'observons pas l'hydrolyse de la thiolactone de la N-acétyl-homocystéine, 56 en N-acétyl-homocystéine, 58. La formation du peptide N-acétyl-Hcy-Cys 77, est donc favorisée grâce à la ligation chimique native.

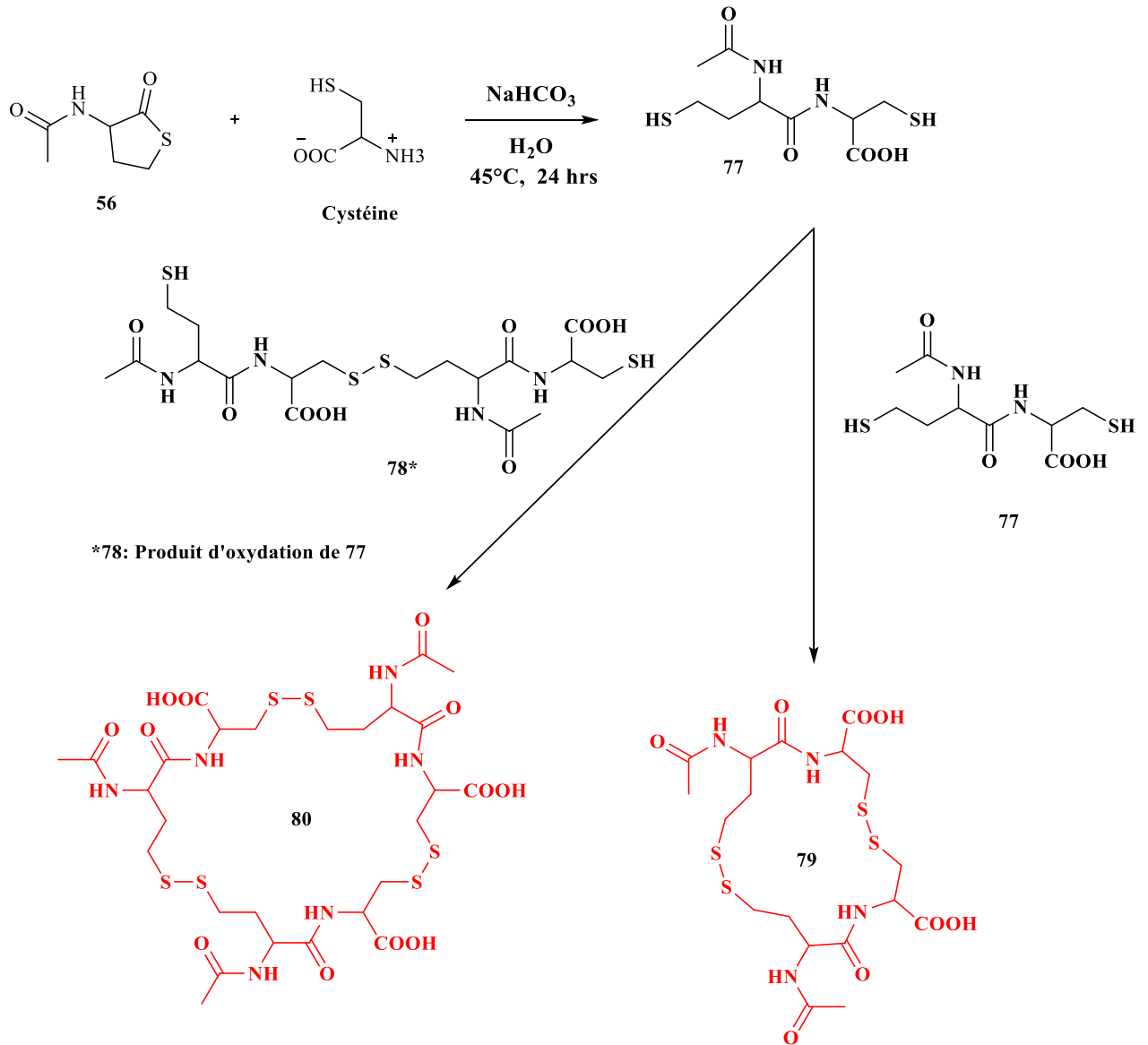


Schéma 80. Produits obtenus de la réaction entre 56 et la cystéine

La spectrométrie de masse du mélange sorti de la colonne de résine, montre la présence des deux molécules **79** et **80**.

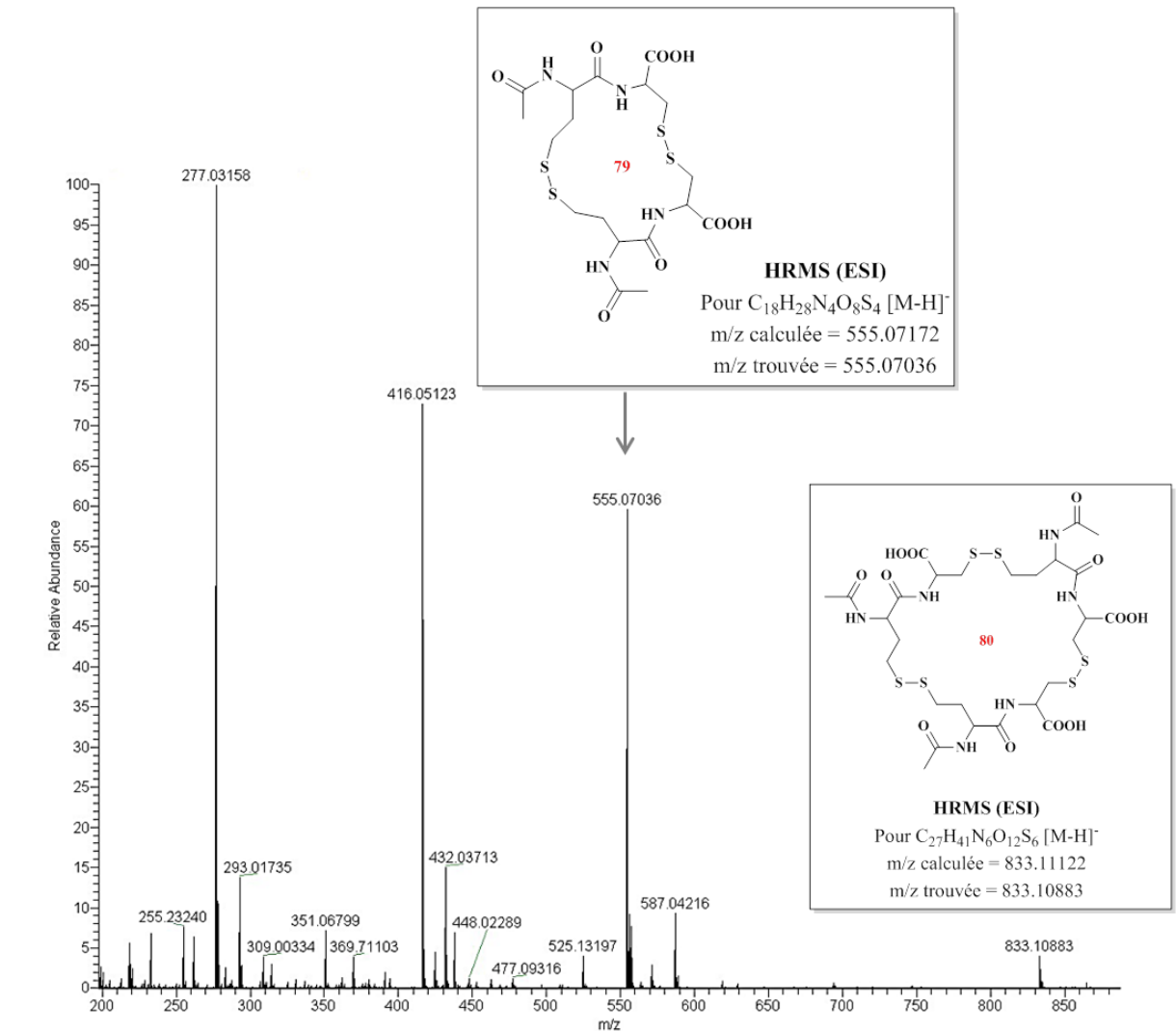


Figure 49

Les pics à m/z trouvée = 277.03158 et 416.05123 correspondent aux mêmes molécules mais dichargées.

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  révèle des signaux larges et mal définis, correspondants au mélange des deux molécules, **79** et **80**.

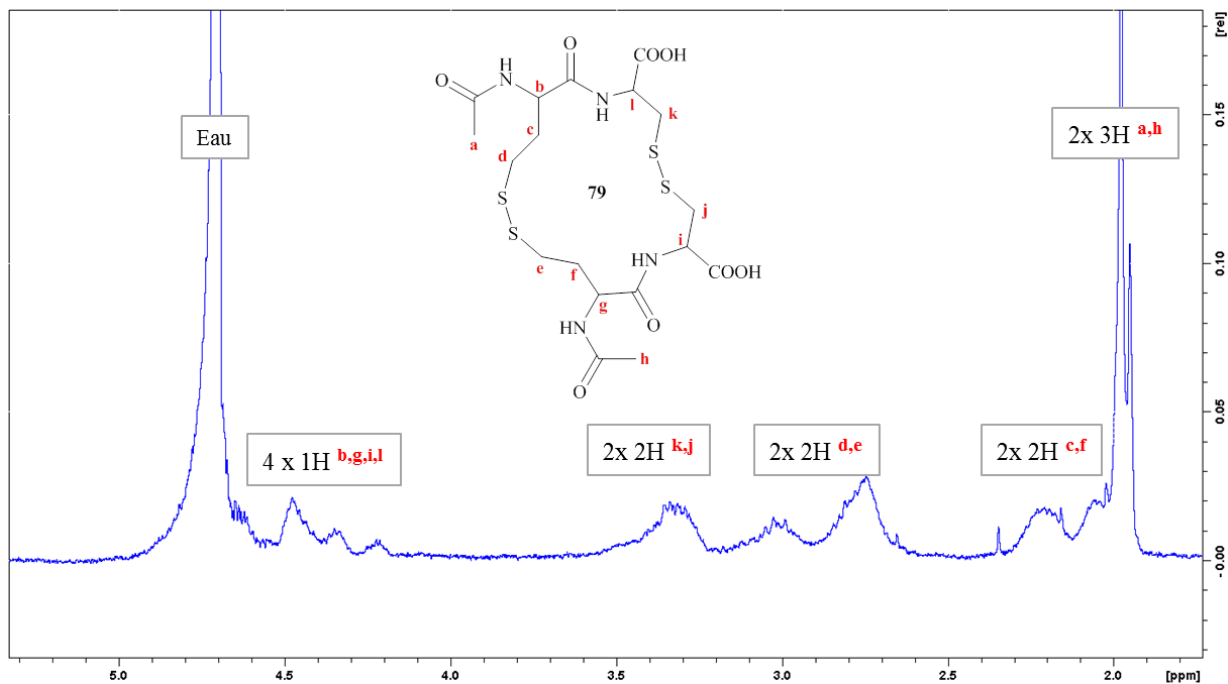


Figure 50. Spectre RMN  $^1\text{H}$  de la molécule **79**, 500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$

En nous basant sur la masse de produit obtenu et le nombre de motif "**77**" de chaque molécule, nous avons estimé un rendement de 66% pour *N*-acétyl-Hcy-Cys, **77**.

### C. Conclusion

La cyclisation de l'homocystéine en thiolactone est donc possible. La cyclisation optimale a été obtenue dans un milieu très acide (pH 1), mais elle fonctionne aussi à des pH moins acides, ce qui est compatible avec l'hypothèse d'un océan primitif acide, voire des zones très acides près des volcans.

La formation de peptides, par l'ouverture de la thiolactone de l'homocystéine avec des acides aminés, n'est-elle possible qu'à pH 7 ou 8. Nous avons éprouvé de grandes difficultés à isoler ces peptides. Le problème majeur reste toutefois que la thiolactone se forme surtout en milieu acide alors que son ouverture nécessite un milieu au moins neutre. Il faut donc imaginer alors un scénario avec " migration " de la thiolactone d'une zone acide à une zone neutre (d'une rivière très acide à l'océan moins acide ?).

Malgré tout, il nous semble que nos résultats laissent penser que les dipeptides Hcy-AA pouvaient être abondants, ce que nous mettrons en relation avec le fait que toutes les protéines d'aujourd'hui commencent par un résidu méthionine (ou *N*-formylméthionine). Est-il envisageable que ce résidu Met soit un substitut de son analogue non méthylé, Hcy ?





# Chapitre 3

Transfert de méthyle et  
synthèse d'analogues  
simplifiés de la SAM



Dans ce chapitre, nous présenterons nos essais de synthèse de la S-Méthyl Méthionine, **SMM**, qui peut être considérée comme un analogue simple de la S-adénosylméthionine, **SAM**, puis, notre étude des réactions de transfert de méthyle.

Les expériences ont, bien sûr, été faites dans des conditions plausiblement prébiotiques.

## A. Introduction

### 1. Le transfert de méthyle et son évolution

Le transfert de méthyle (la méthylation) est un processus métabolique vital. Il a lieu en permanence dans toutes les cellules de notre organisme à un rythme important. Ce procédé permet à lui seul d'assurer une multitude de fonctions dans le corps humain, par exemple la production et la régulation de très nombreuses molécules : des acides aminés, des lipides, des neurotransmetteurs et des hormones dans le cerveau (comme la synthèse de l'épinéphrine, de la créatine et de la phosphatidylcholine), la détoxification du corps, entre autres par la production de glutathion, la dégradation de l'histamine dans l'intestin. De plus, des réactions de méthylation permettent la modulation de l'expression de certains gènes de notre ADN grâce à des processus épigénétiques.<sup>326</sup>

Plusieurs scénarios biologiques de transfert de méthyle sont connus :

- Le méthyle tetrahydrofolate peut transférer son méthyle à l'homocystéine pour former la méthionine, en passant par le coenzyme B<sub>12</sub> (CoB<sub>12</sub>), par des réactions SN<sub>2</sub> successives<sup>327</sup>.
- Des voies de méthylation plus lentes et mineures de l'homocystéine ont été décrites<sup>328,329</sup>. Elle peut aussi être méthylée, par la bétaine ou par le méthyle tetrahydrofolate, mais sans avoir recours au CoB<sub>12</sub>.
- Une autre possibilité pour la méthylation est l'emploi de la S-adénosylméthionine (SAM), considérée comme agent de méthylation primaire dans les cellules<sup>326</sup>.

Cependant, l'origine des groupements méthyles et les possibles réactions prébiotiques de méthylation ont été peu étudiés.

---

<sup>326</sup> Mathews, C. K.; Van Holde, K. E. *Biochemistry*, 2<sup>nd</sup> ed.; 1996. New York: Benjamin/Cummings.

<sup>327</sup> Wedemeyer, C.; Kreese, R. *Helv. Chim. Acta* 1999, 82, 1173.

<sup>328</sup> Mathews, R. G.; Drummond, J. T. *Chem. Rev.* 1990, 90, 1275.

<sup>329</sup> Devlin, T. M. *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*. 1992. New York: Wiley-Liss.

Par exemple, des synthèses prébiotiques de la thymine à partir de l'uracile et du formaldéhyde, en passant par l'intermédiaire hydroxyméthyl uracile ont été réalisées en utilisant comme agent réducteur soit l'hydrazine<sup>330</sup> soit l'acide formique.<sup>331</sup>

De même, il a été proposé que l'ion triméthyle sulfonium peut être un agent de méthylation dans les milieux aqueux.<sup>332,333</sup> Mais la plausibilité de la présence prébiotique de ce sulfonium restent incertaine.

Le transfert prébiotique de méthyle d'une molécule à l'autre est l'un de nos objectifs.

## 2. SAM à la base du transfert de méthyle

A la base de la méthylation se trouve un acide aminé essentiel : la **méthionine**. Cependant, en tant que telle, la méthionine ne peut pas céder son groupe méthyle à une autre molécule. Il faut avant cela qu'elle soit activée en **S-adénosyl-méthionine**, **SAM**, par combinaison avec une molécule d'ATP. La SAM, ainsi formée, va alors devenir l'un des principaux donneurs de groupements méthyle en biologie. Les nombreuses enzymes de la famille des méthyltransférases, dépendantes de la SAM, l'utilisent comme donneur de méthyle. Bien sûr, c'est le groupement fonctionnel sulfonium qui confère sa réactivité à la SAM.

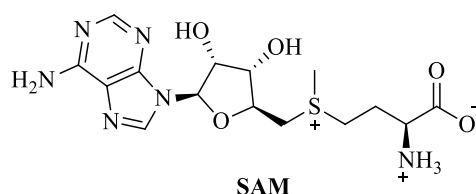


Figure 51. Formule chimique de la SAM

<sup>330</sup> Stephen-Sherwood, E.; Oro, J.; Kimball, A. P. *Science* **1971**, 173, 446.

<sup>331</sup> Robertson, M. P.; Miller, S. L. *Science* **1995**, 268, 702.

<sup>332</sup> Prieur, B. E. *J. Biol. Phys.* **1994**, 20, 301.

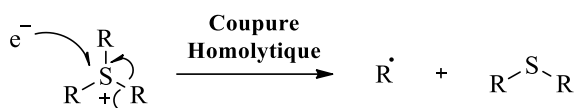
<sup>333</sup> Waddell, T. G.; Eilders, L. L.; Patel, B. P.; Sims, M. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2000**, 30, 539.

Un groupement sulfonium est un groupement électrophile qui, lorsqu'il est impliqué dans des réactions de substitutions nucléophiles, joue le rôle d'agent alkylant (**schéma 81**).



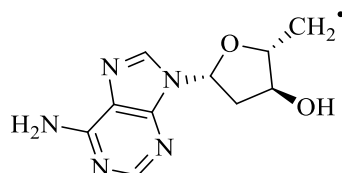
**Schéma 81.** Substitution nucléophile des sulfoniums

Une autre réaction importante des sulfoniums est leur réduction mono-électronique qui conduit, par homolyse d'une liaison C-S, à la formation d'un dialkylsulfure et d'un radical carboné (**schéma 82**).



**Schéma 82.** Réduction mono-électronique des sulfoniums

Dans le cas de la SAM, sa coupure homolytique conduit à la formation du radical désoxyadénosyle (**figure 52**).



**Figure 52.** Le radical désoxyadénosyle

C'est un intermédiaire radicalaire qui permet de fonctionnaliser des liaisons C-H. Ce mécanisme est impliqué dans la biosynthèse des cofacteurs, l'activation des enzymes, la modification des ARNt, le métabolisme des lipides et la biosynthèse des antibiotiques.<sup>334</sup>

<sup>334</sup> Broderick, J. B.; Duffus, B. R.; Duschene, K. S.; Shepard, E. M. *Chem. Rev.* **2014**, 114, 4229.

### 3. Biosynthèse de la SAM

La SAM est biosynthétisée à partir de la méthionine et de l'ATP par une réaction de substitution nucléophile (SN<sub>2</sub>), catalysée par la SAM synthétase (SAMS). L'ATP qui joue, par ailleurs, un rôle majeur dans des réactions de phosphorylation, est ici le donneur du groupement adénosyle (schéma 83).

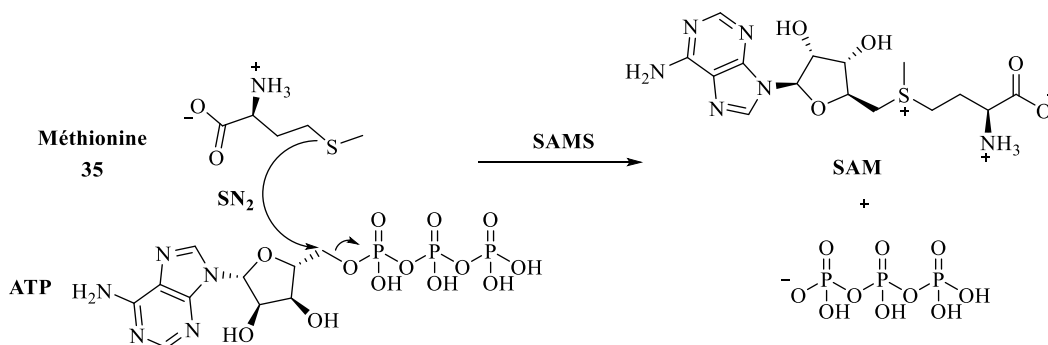


Schéma 83. Biosynthèse de la SAM

Le rôle de la SAM dans la biosynthèse des halogénures de méthyle doit être souligné.<sup>335,336</sup> L'halogénure méthyltransférase, dépendante de la SAM, catalyse la réaction de déméthylation de la SAM, formant du chlorure, du bromure et de l'iodure de méthyle. Il est intéressant de noter que, le méthaneithiol et le méthylthiocyanate peuvent être obtenus de manière similaire (schéma 84).<sup>337, 338</sup>

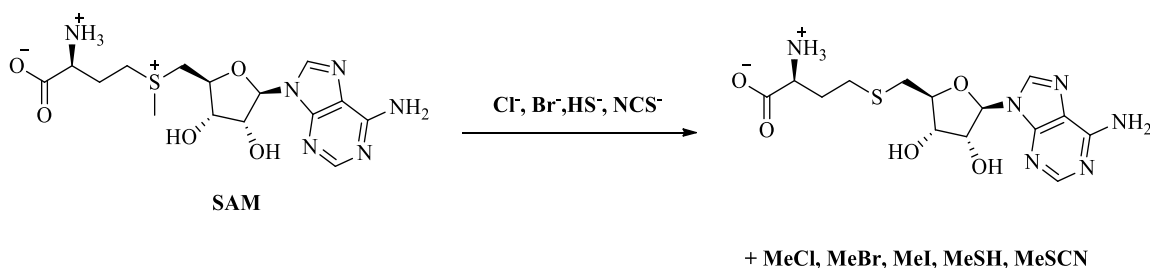


Schéma 84

<sup>335</sup> Wuosmaa, A. M.; Hager, L. P. *Science* **1990**, 249, 160. DOI: 10.1126/science.2371563

<sup>336</sup> Nagatoshi, Y.; Nakamura, T. *Plant Biotechnol.* **2007**, 24, 503. DOI: 10.5511/plantbiotechnology.24.503

<sup>337</sup> Attieh, J. M.; Hanson, A. D.; Saini, H. S. *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 9250. DOI: 10.1074/jbc.270.16.9250

<sup>338</sup> Itoh, N.; Toda, H.; Matsuda, M.; Negishi, T.; Taniguchi, T.; Ohsawa, N. *BMC Plant Biol.* **2009**, 9, 116. DOI: 10.1186/1471-2229-9-116

#### 4. Des agents de méthylation prébiotiques plus simples ?

Malgré le fait qu'il a été proposé que la SAM pouvait être synthétisée par LUCA,<sup>84</sup> elle reste une molécule relativement complexe qui n'existait sans doute pas dans l'océan primitif. Une molécule bien plus simple, et plus probablement prébiotique, pouvant jouer le rôle tenu par la SAM, est le chlorure de méthyle. C'est un candidat évident pour être un agent de méthylation prébiotique.<sup>339</sup> La SAM est aujourd'hui utilisée pour méthyler l'ADN, la dopamine et la sérotonine. En principe, le chlorure de méthyle pourrait faire le travail, par une réaction de Williamson.<sup>340</sup>

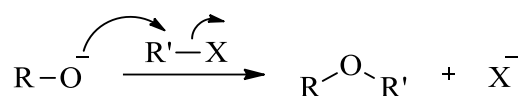


Schéma 85

Un autre réactif de méthylation prébiotique possible, qui pourrait être considéré comme intermédiaire entre le chlorure de méthyle et la SAM, serait la S-méthyl-méthionine, **SMM**. Ce sulfonium est abondant dans les plantes à fleurs, où il est obtenu par un transfert de groupement méthyle de la SAM à la méthionine (**schéma 86**).<sup>341</sup>

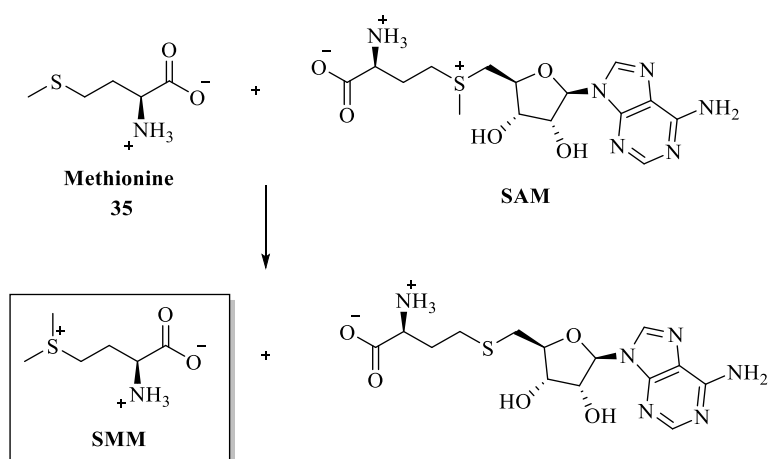


Schéma 86. Synthèse de la SMM

<sup>339</sup> Martin, J. L.; McMillan, F. M. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2002**, 12, 783. DOI: 10.1016/S0959-440X(02)003913

<sup>340</sup> Williamson, A. *Philos. Mag.* **1850**, 37, 350. DOI: 10.1080/14786445008646627

<sup>341</sup> Bourgis, F.; Roje, S.; Nuccio, M. L.; Fisher, D. B.; Tarczynski, M. C.; Li, C.; Herschbach, C.; Rennenberg, H.; Pimenta, M. J.; Shen, T. L.; Gage, D. A.; Hanson, A. D. *Plant Cell.* **1999**, 11, 1485. DOI: 10.1105/tpc.11.8.1485



Dans des conditions prébiotiques, la SMM pourrait être formé en utilisant un halogénure de méthyle.<sup>342</sup> Dans un scénario " darwinien ", on peut proposer que le premier réactif de méthylation agissant dans l'océan primitif, ait été le chlorure de méthyle suivi du SMM plus avancé, qui finalement aurait été remplacé par la SAM, qui aurait efficacement interagi avec les protéines primitives en raison de sa partie adénosyle.

---

<sup>342</sup> Baldwin, J. E.; Flinn, A. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3605. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)95547-3

## B. Synthèse prébiotique de la S-méthyl méthionine, SMM

### I. Essai de synthèse de la SMM, 86

Nous avons tenté de synthétiser la SMM, **86** et un autre analogue de SAM à partir de sulfures et d'acroléine, en utilisant des additions de Michael et en appliquant une réaction de Strecker à l'aldéhyde obtenu.

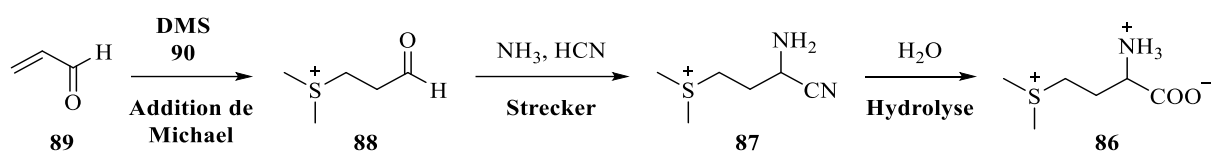


Schéma 87. Schéma réactionnel proposé pour la synthèse de la SMM

Nous avons suivi le protocole d'addition décrit par Brock et al.<sup>343</sup> qui ont réalisé la synthèse du chlorure de tétraméthylène sulfonium propionate à partir du tétrahydrothiophène **91** et de l'acide acrylique (schéma 88).

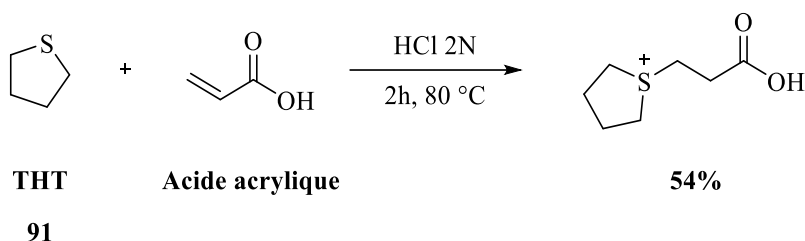


Schéma 88. Synthèse du chlorure de tétraméthylène sulfonium propionate par Brock et al.

Pour la synthèse de la SMM, l'utilisation du diméthylsulfure DMS **90**, nous intéresse plus que le THT **91**, mais nous avons testé les deux.

Afin de respecter les conditions de travail que nous avons suivi le plus souvent dans cette thèse, le chauffage été fait à 45 °C (au lieu de 80 °C pour Brock et al.).

<sup>343</sup> Brock, N. L.; Menke, M.; Klapschinski, T. A.; Dickschat, J. S. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, 12, 4318. DOI: 10.1039/c4ob00719k

### 1. Diméthylsulfure **90** + acroléine **89**

La réaction entre le diméthyle sulfure **DMS 90** et l'**acroléine 89**, a été faite dans l'eau, sous atmosphère inerte, en acidifiant le milieu par ajout de HCl (pH 1).

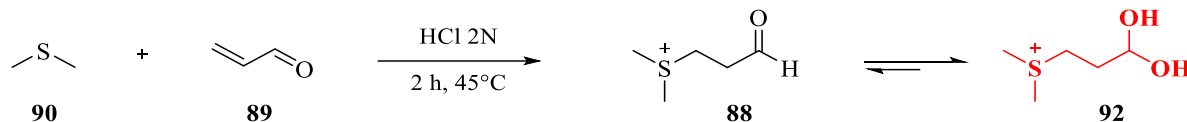


Schéma **89**. Réaction entre DMS, **90** et l'acroléine, **89**

La réaction a été suivie par RMN  $^1\text{H}$ . Elle est totale au bout de 2 heures de chauffage à 45 °C. La RMN  $^1\text{H}$  montre la formation du produit attendu **88**, sous sa forme hydratée **92**.

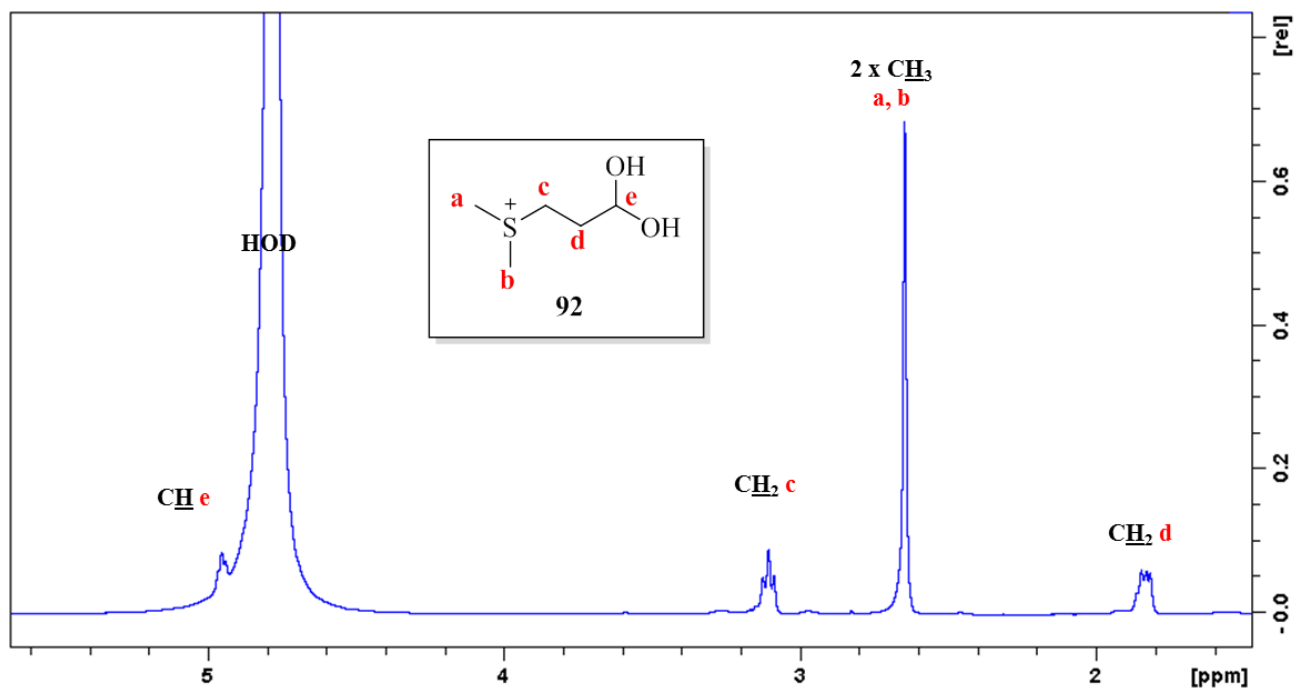


Figure **53**. Spectre RMN $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) du **92**

La RMN  $^{13}\text{C}$  confirme ces résultats. Toutefois, on voit environ 10% de la forme aldéhyde, **88** du produit (d'après les hauteurs de pics).

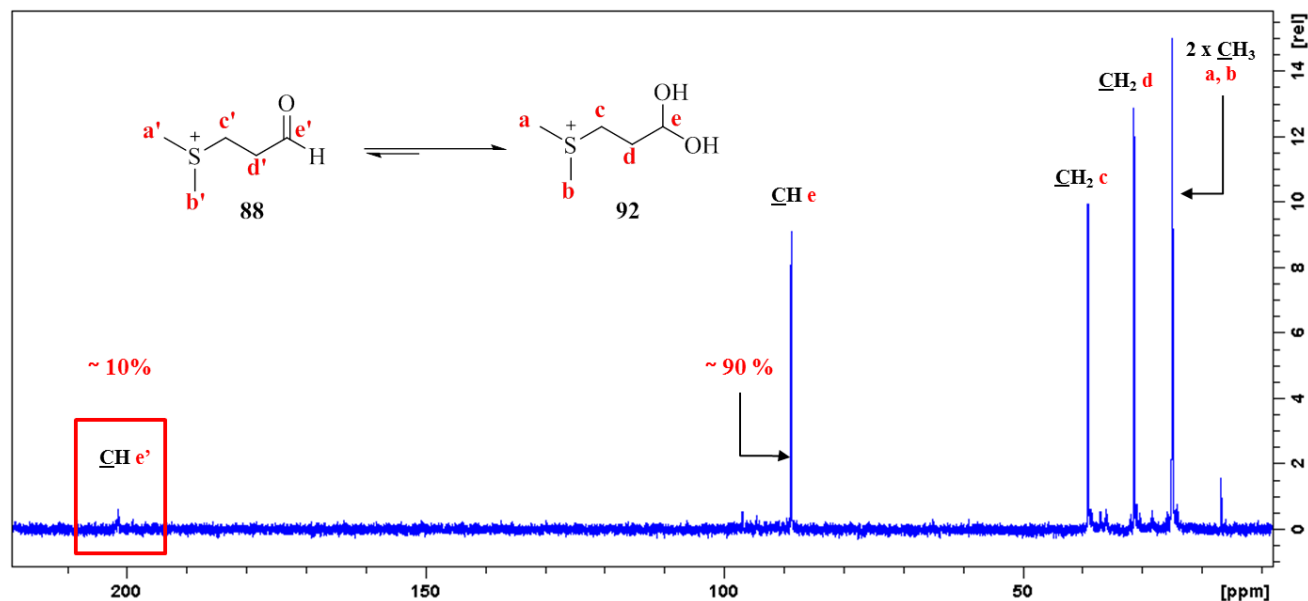


Figure 54. Spectre RMN $^{13}\text{C}$  (125 MHz, D $_2\text{O}$ ) du **92**

## 2. Tétrahydrothiophène **91** + acroléine **89**

Un second essai a été réalisé en utilisant le tétrahydrothiophène **THT 91** et l'acroléine **89**, toujours dans l'eau, sous atmosphère inerte, en milieu acide (pH 1). Ici aussi, nous obtenons le produit attendu, **93**, sous sa forme hydratée, **94**.

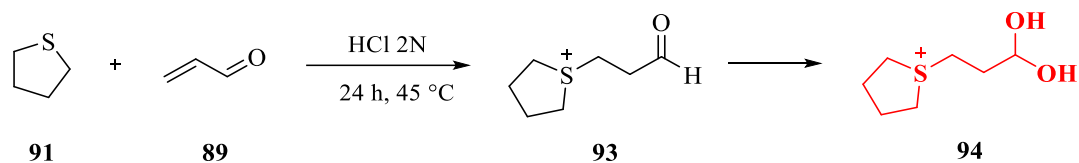


Schéma 90. Réaction entre THT, **91** et l'acroléine, **89**

Dans ce cas, même après 24 heures de réaction, du THT reste présent dans le milieu réactionnel. Un lavage au diéthyl éther de la phase aqueuse a été réalisé afin d'éliminer ce reste du THT. Le produit a été obtenu avec un rendement de 65%.

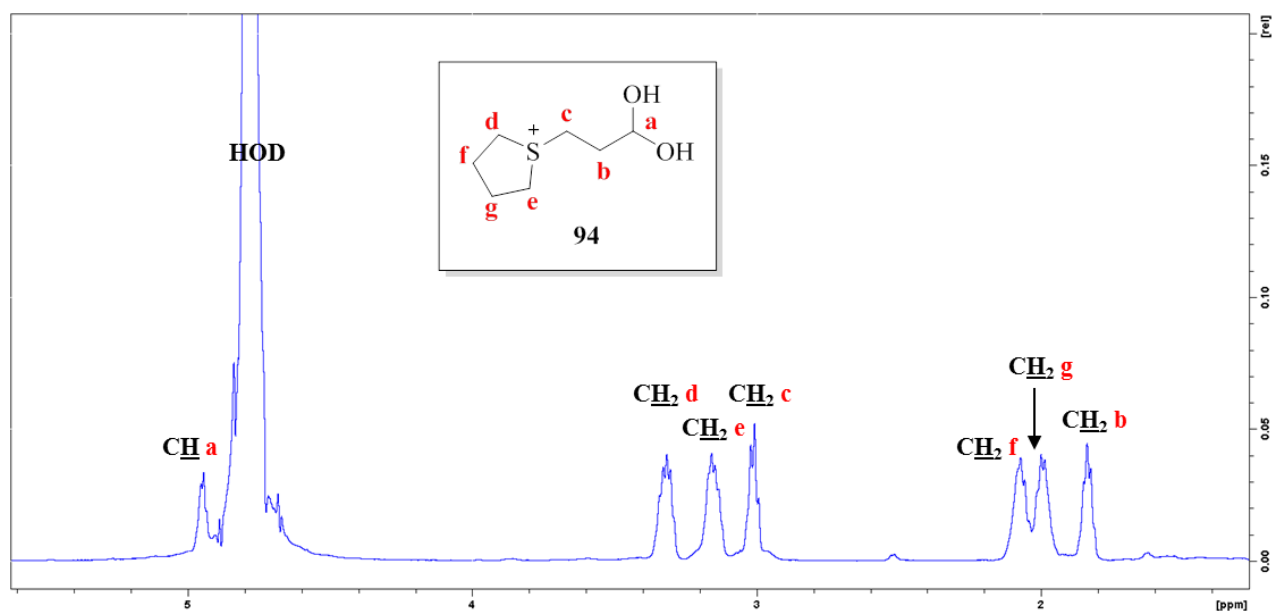


Figure 55 Figure 56. Spectre RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, D<sub>2</sub>O) du **94**

Là aussi, la RMN <sup>13</sup>C montre la présence du produit à environ 90% de sa forme hydratée, **94** et 10% de sa forme aldéhyde, **93**.

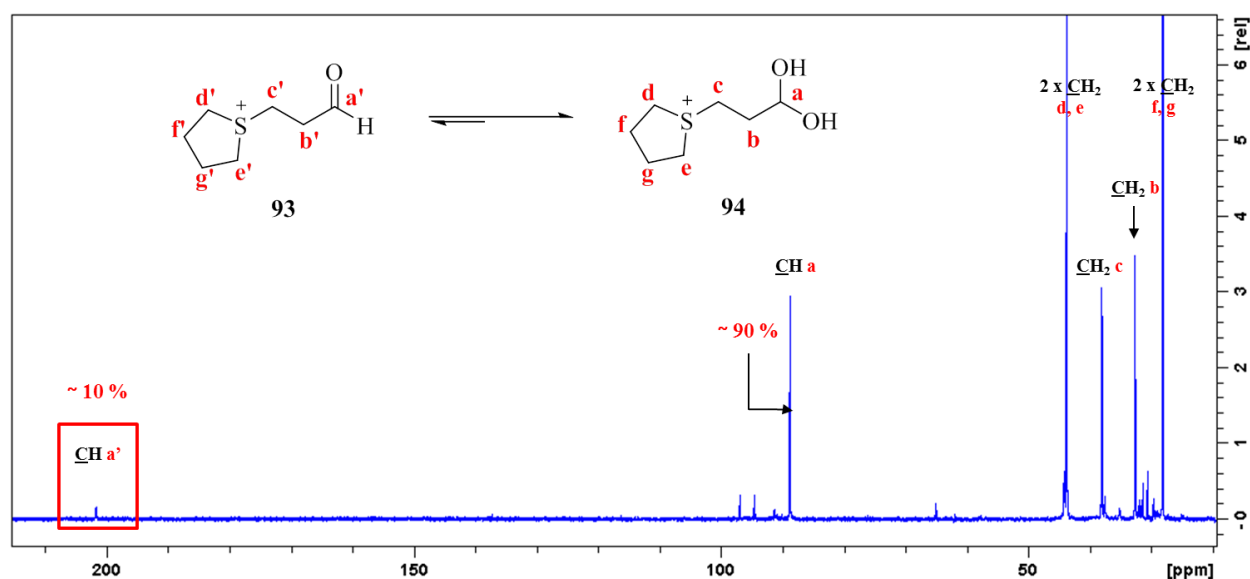


Figure 57. Spectre RMN<sup>13</sup>C (125 MHz, D<sub>2</sub>O) du **94**

Nous avons donc réussi à obtenir le sulfonium **88** d'une manière plausible prébiotique (bien sûr, si le DMS était présent dans le milieu prébiotique). Nous l'avons utilisé par la suite pour finaliser la synthèse de la SMM.

## II. Réaction de Strecker du sulfonium, 88

Sur l'aldéhyde **88**, nous avons testé la réaction de Strecker afin de former la SMM **86** en ajoutant une source de cyanure et une source d'ammonium (**schéma 91**).

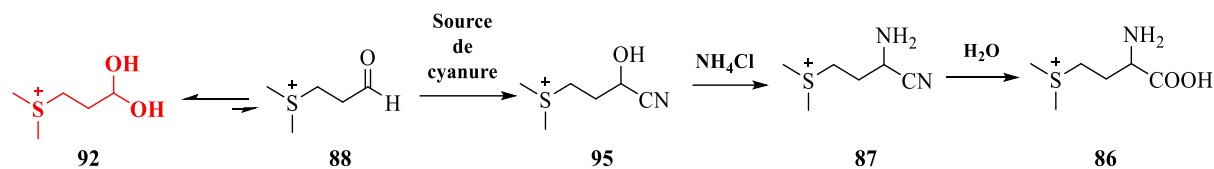


Schéma 91. Réaction de Strecker du **88**

Nous avons, dans un premier temps, ajouté la source de cyanure seule. Nous avons testé NaCN et le pyruvonnitrile et avons suivi la réaction par RMN <sup>1</sup>H. Le pyruvonnitrile dans l'eau se décompose en acétate et en HCN :

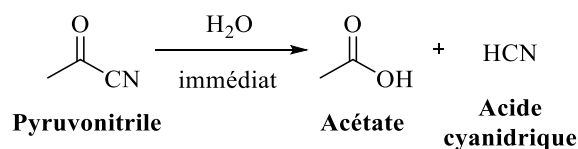


Schéma 92. Décomposition du pyruvonnitrile dans l'eau et formation de HCN

- Avec le NaCN, de nouveaux produits ont été obtenus, la conversion étant de 12% après 48 heures à 25 °C. Elle a augmenté jusqu'à 54%, après 3 jours de chauffage à 45 °C (**figure 57**).

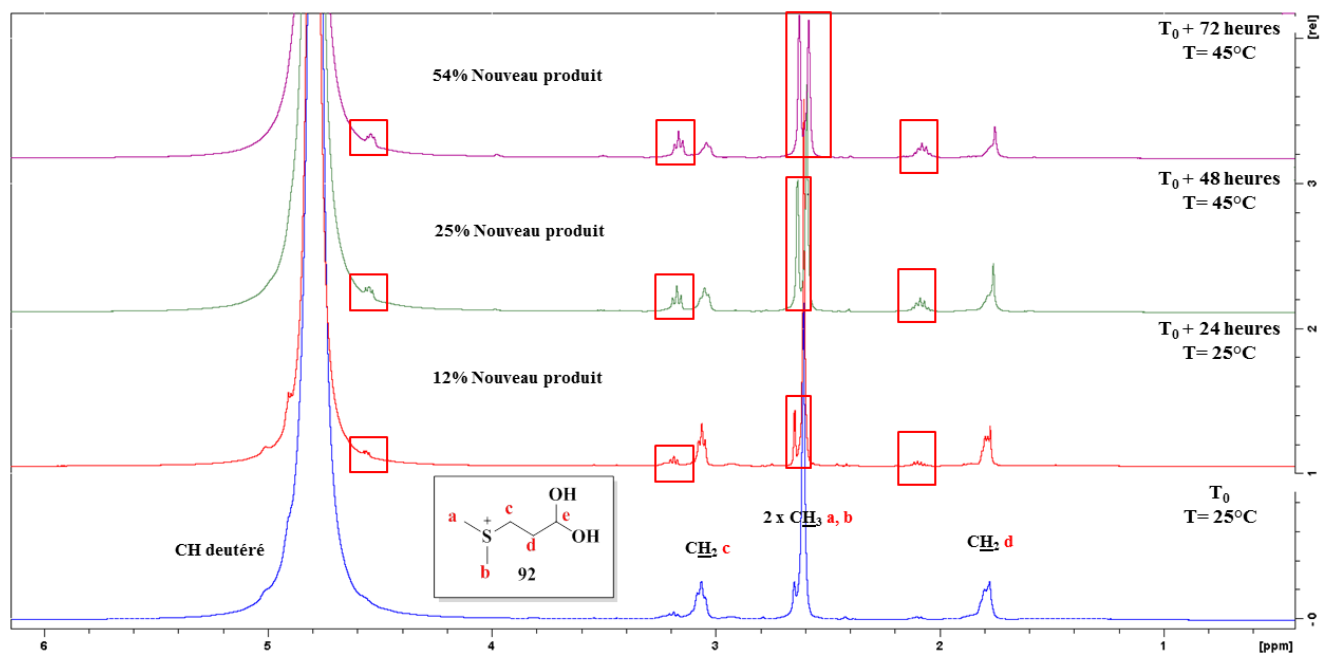


Figure 58. Spectres RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, D<sub>2</sub>O) montrant l'évolution de la réaction entre **92** et NaCN

- En utilisant le pyruvonnitrile comme source de cyanure, nous avons observé une conversion beaucoup plus rapide et la réaction est totale, aboutissant à un nouveau produit que nous pensons être le produit **95** (figure 58). Au bout de 5 minutes de réaction à température ambiante, il ne reste aucun signal du produit **88** dans le milieu réactionnel.

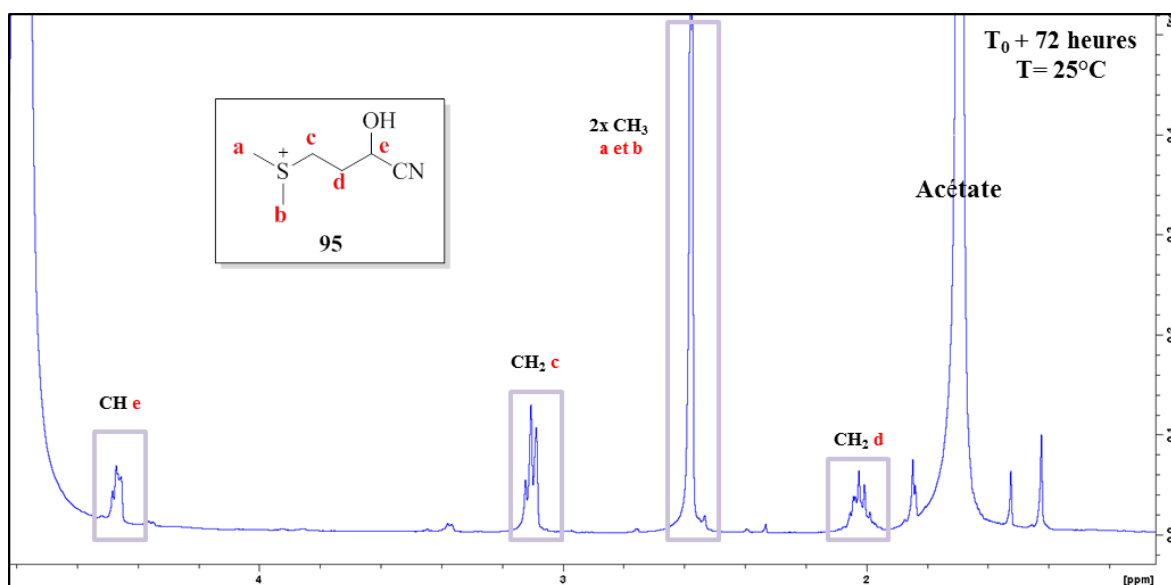


Figure 59. Spectre RMN<sup>1</sup>H (500 MHz, D<sub>2</sub>O) de **95**

Nous avons tenté par la suite d'ajouter la source d'ammoniaque, du  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , sur le produit obtenu avec le pyruvonnitrile (**figure 59**).

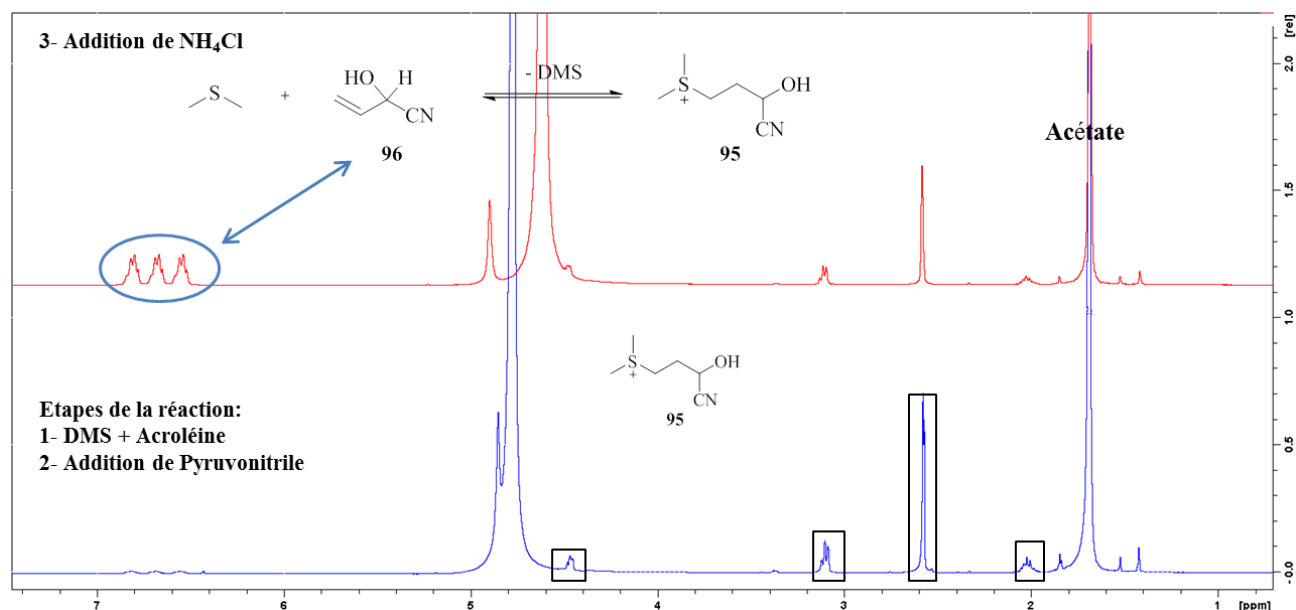


Figure 60. Dégradation de **95** en ajoutant du  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (spectre du haut)

Malheureusement, en ajoutant  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , nous observons une dégradation de **95**. Des protons éthyléniques apparaissent, qui nous font penser que nous avons formé la cyanhydrine de l'acroléine **96**.

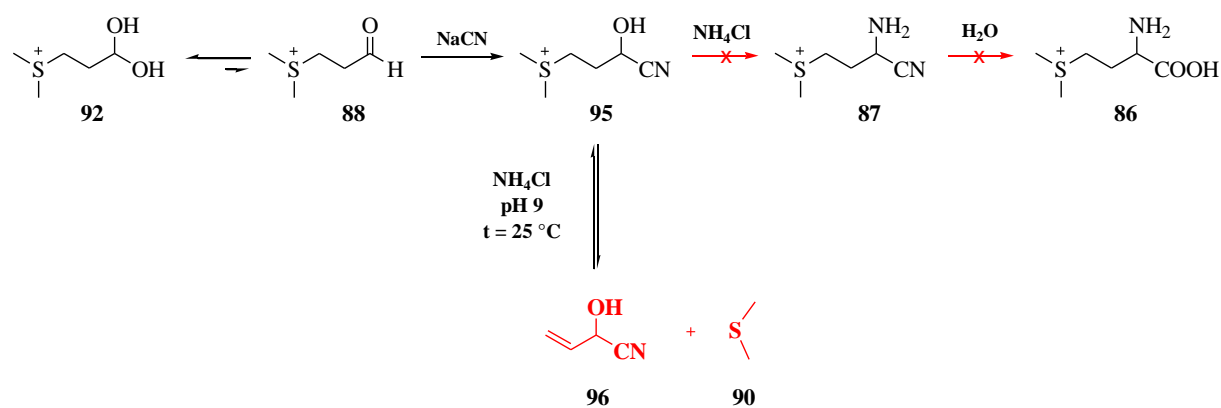


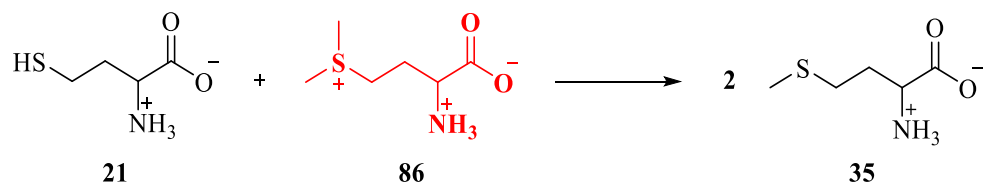
Schéma 93. Dégradation de **95** et formation de **96**



### III. Réactivité : transfert de méthyle à partir de la SMM, 86

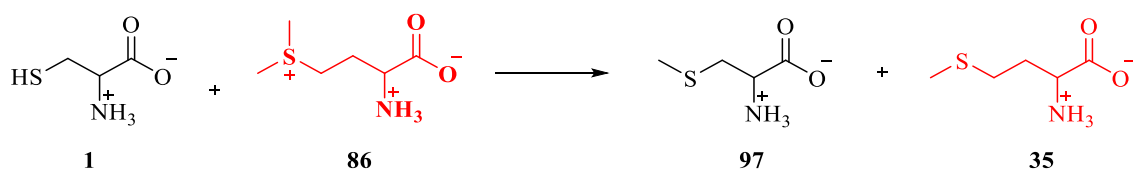
Nous avons testé enfin, la possibilité de transfert de méthyle de la SMM **86** à l'homocystéine **21** et la cystéine **1**. Nous avons suivi les réactions par RMN  $^1\text{H}$ .

- Avec l'homocystéine **21**, la méthionine **35** est le seul produit attendu (**schéma 94**).



**Schéma 94.** Transfert de méthyle de la SMM, **86** à l'homocystéine, **21**

- Avec la cystéine **1**, comme accepteur de méthyle, en plus de la méthionine **35**, la S-méthylcystéine **97** doit se former (**schéma 95**).



**Schéma 95.** Transfert de méthyle de la SMM, **86** à la cystéine, **1**

Dans les deux cas, à pH neutre, aucune réaction n'a été observée. En ajoutant du NaHCO<sub>3</sub> (pH 8), nous observons de nouveaux signaux au bout de 24 heures de chauffage à 45 °C. Au bout de deux semaines de chauffage, il n'y a plus de SMM et les pics de nouveaux produits sont observés.

- Avec l'homocystéine **21**, en fait, au moins 4 réactions sont possibles : deux avec l'homocystéine mais aussi deux avec l'anion hydroxyle (ou l'eau) ce qui fait **4 produits possibles**.

Deux attaques par l'hydroxyle HO<sup>-</sup> (schéma 96) :

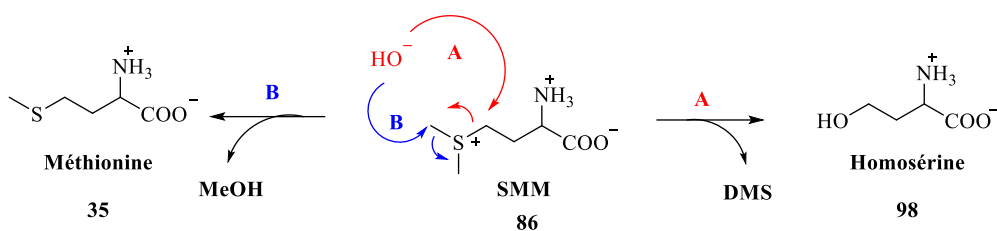


Schéma 96

Et deux autres attaques par l'homocystéine (schéma 97) :

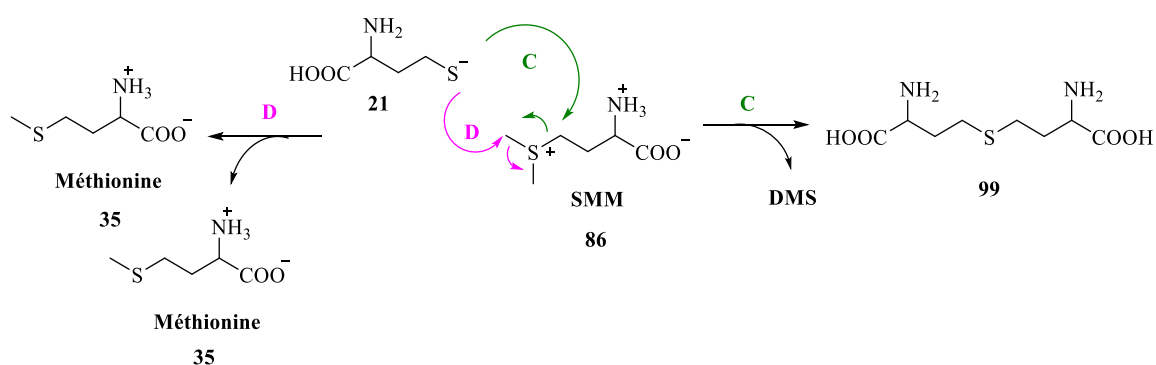


Schéma 97

Dans notre analyse RMN, deux produits sont identifiés : la méthionine **35** et l'homosérine **98**. Les deux produits sont obtenus dans une proportion voisine de 1:1. Par contre, nous n'observons pas le méthanol.

Nous observons, par RMN <sup>1</sup>H, des pics caractéristiques de **35** attendu, en plus des pics caractéristiques de **98** (figure 60). Ceci a été confirmé en comparant le spectre de la réaction, obtenu après 14 jours, avec les spectres RMN de la méthionine et l'homosérine commerciales (figure 61).

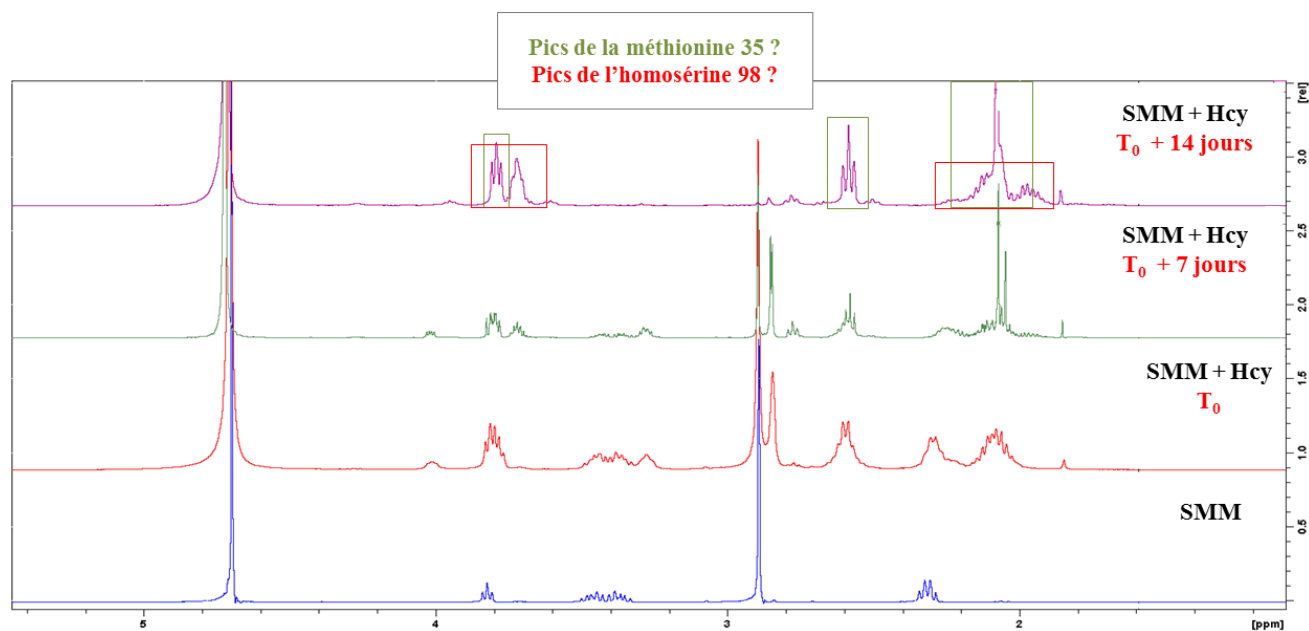


Figure 61. Evolution de la réaction entre la SMM et Hcy

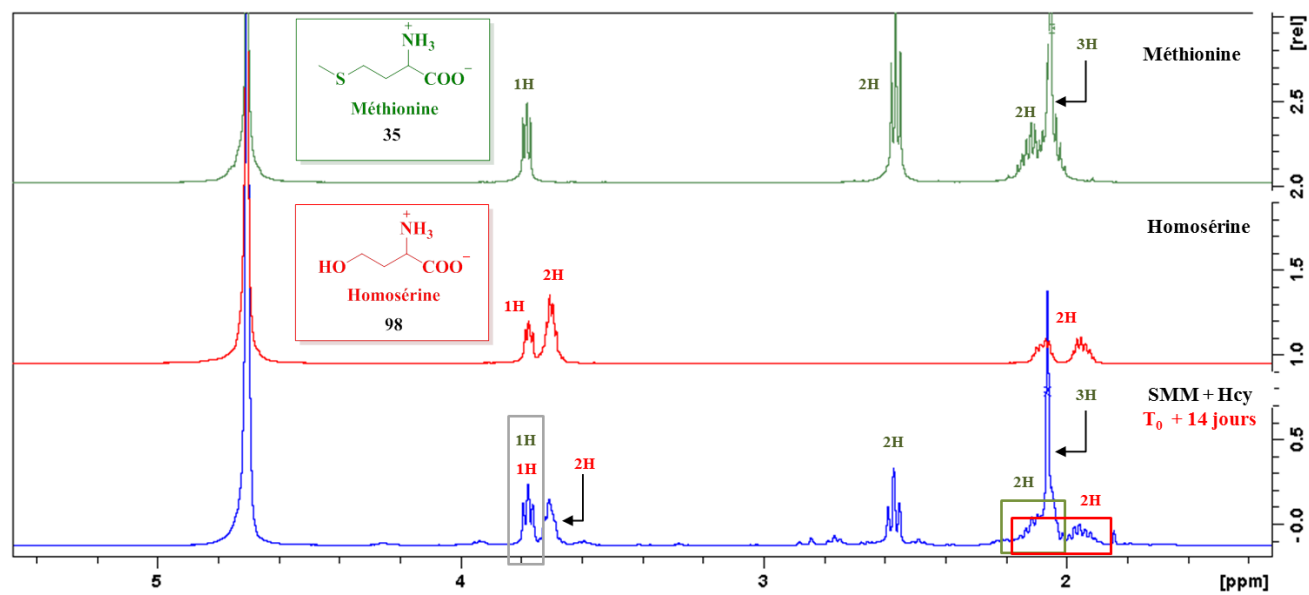
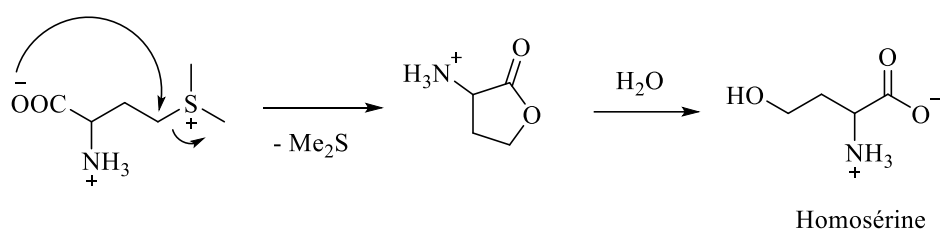


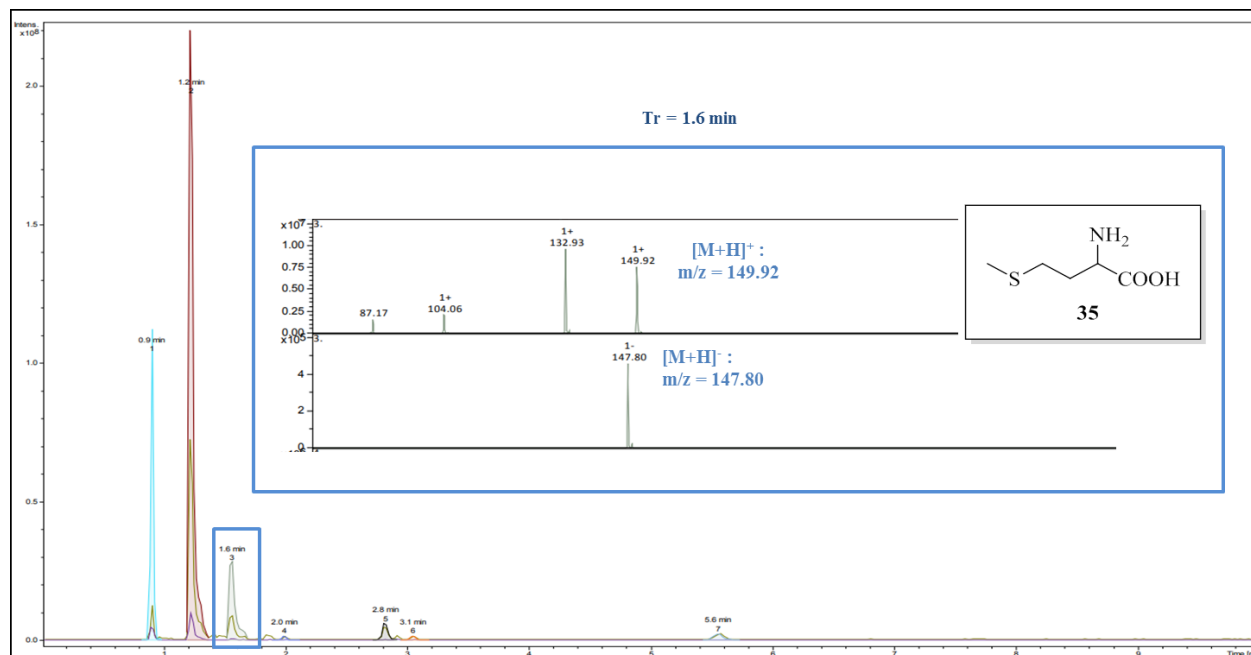
Figure 62. Comparaison de la réaction entre 86 et 21 ( $t_0 + 14$  jrs) avec l'homosérine 98 et la méthionine 35

Nous observons donc d'une part, la perte du diméthylsulfure **DMS** (qui s'évapore), l'homosérine **98** est obtenue (réaction A), et d'une autre part, la méthylation de l'homocystéine **21** (réaction B ou D), la méthionine **35** est formée. La SMM, produit de départ, en transférant son CH<sub>3</sub>, se transforme aussi en méthionine **35**. Par intégration des pics en RMN <sup>1</sup>H, nous constatons que les deux produits ont été obtenus dans une proportion d'environ 1:1. Comme la méthionine se forme deux fois lors du transfert de méthyle de la SMM à l'homocystéine, cela veut dire que la formation d'homosérine a lieu deux fois plus souvent que le transfert de méthyle. Nous pensons que cela est sans doute dû à la formation d'un intermédiaire, la lactone de l'homosérine suivie de son ouverture par l'eau (**schéma 98**).



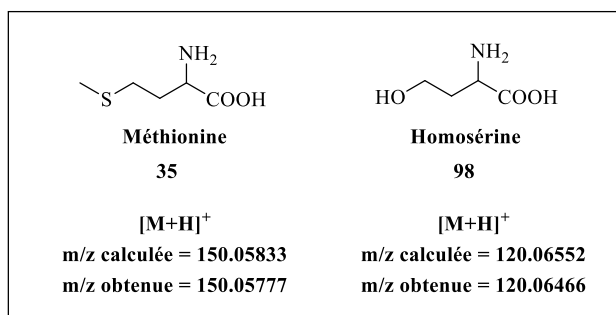
**Schéma 98.** Formation de l'homosérine, **98** à partir de la SMM

Le mélange obtenu a été analysé par LC/MS afin d'appuyer la présence des molécules identifiées en RMN. Nous n'avons pu détecter que la méthionine **35** (**figure 62**).



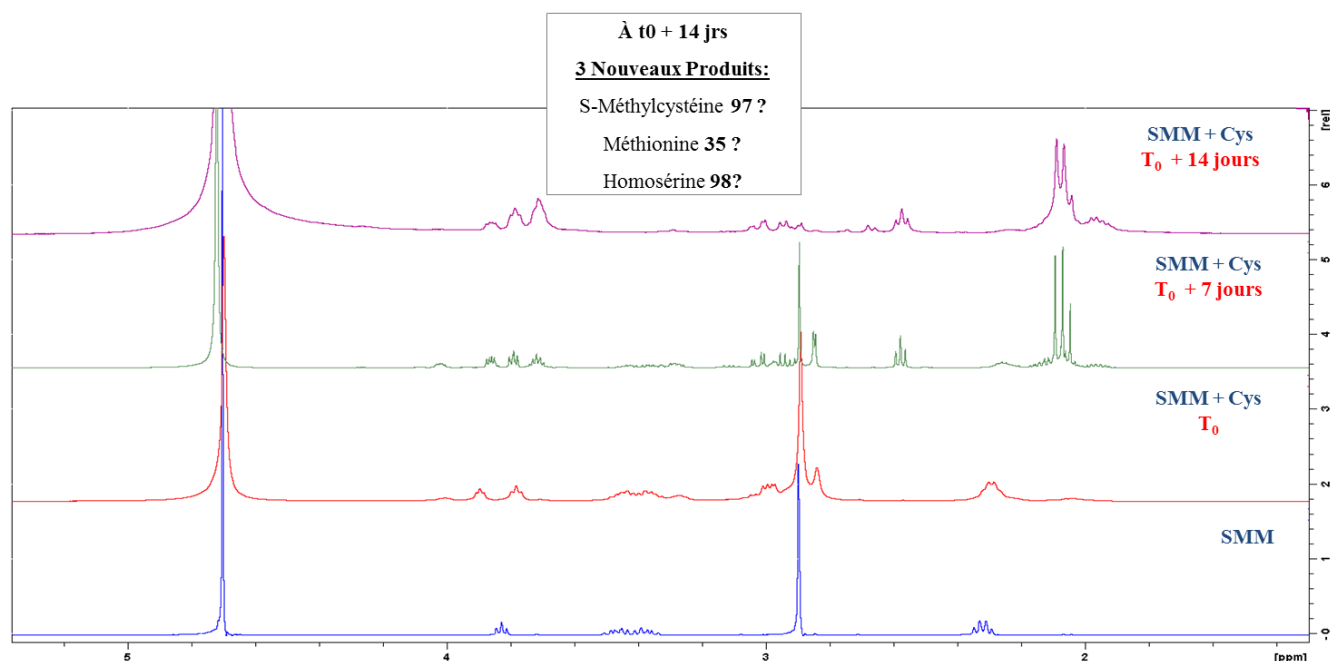
**Figure 63.** Analyse LC/MS de la réaction entre l'homocystéine et la SMM

Mais, la présence des deux molécules a été confirmée par masse exacte (**figure 63**). Notons enfin que la présence du sulfure symétrique **99** (**schéma 97**) n'a pas été détectée.



**Figure 64.** Produits détectés par HR-MS

- Dans le cas de la **cystéine 1**, nous observons de même, après 14 jours de chauffage à 45 °C, la consommation totale de la SMM **86** et l'apparition de nouveaux produits (**figure 64**).



**Figure 65.** Evolution de la réaction entre SMM **86** et cystéine **1**

Par transfert du méthyle de la SMM, la cystéine est convertie en S-méthylcystéine **97** (réaction B). La SMM alors se transforme en méthionine **35**. Mais nous obtenons aussi, l'homosérine **98** issue de la libération du DMS dans le milieu réactionnel (réaction A) (**schéma 99**).

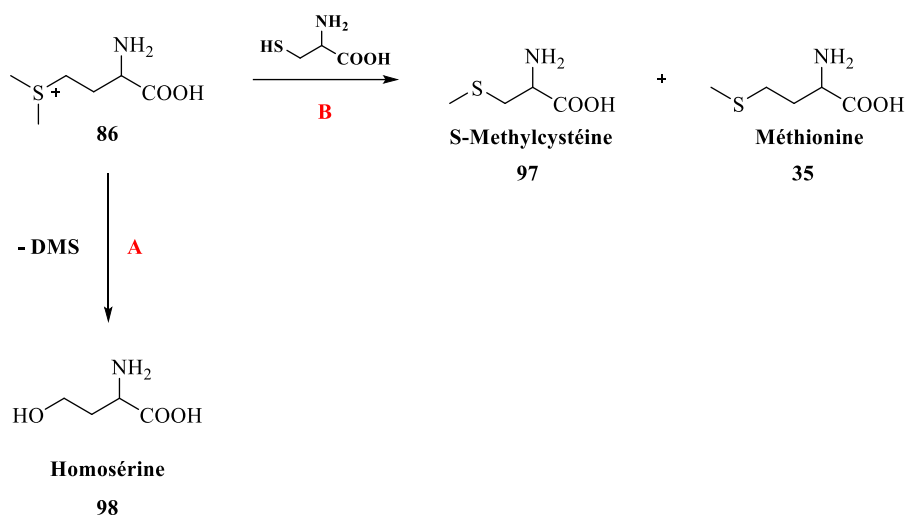


Schéma 99. Réactions possibles entre 86 et la cystéine

En comparant le spectre RMN  $^1\text{H}$  de la réaction, obtenu après 14 jours, avec les spectres de l'homosérine et de la méthionine commerciaux (deux produits attendus), il est clair que de l'homosérine 98 a été formée (et bien sûr nous voyons la méthionine). Le troisième signal de CH dans le spectre est celui de la S-méthylcystéine 97. Par intégration des signaux des CH, nous avons déterminé un rendement de 42% pour l'homosérine et 31% pour la S-méthylcystéine.

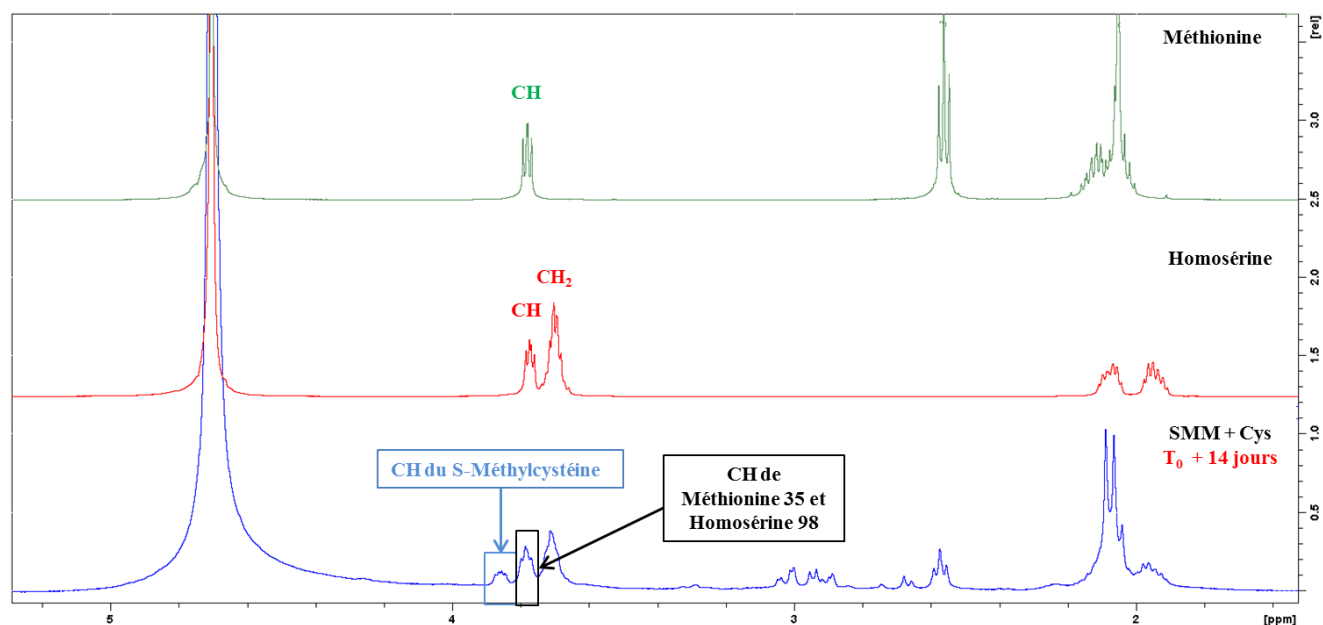


Figure 66. Comparaison de la réaction entre SMM et cystéine ( $T_0 + 14$  jrs) avec les spectres de l'homosérine et la méthionine commerciales

Le mélange obtenu est étudié par LC/MS appuyant la présence de **97** et de **35** (figure 66).

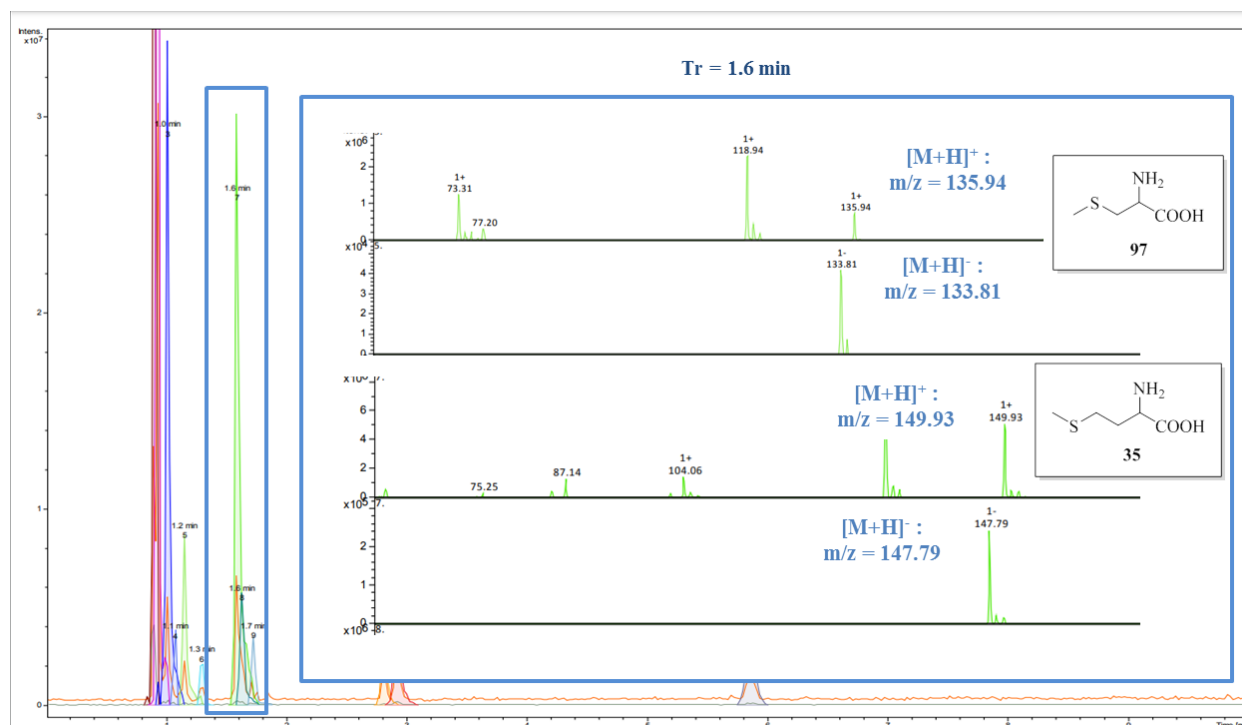


Figure 67. Analyse LC/ MS de la réaction entre la cystéine et la SMM

Par LC/MS, nous avons pu détecter le produit qui nous intéresse, le S-méthylcystéine **97**, mais comme dans le cas de l'homocystéine, l'homosérine **98** n'était pas détectable par LC-MS.

Par contre, la présence des trois molécules a été confirmée par masse exacte (figure 67).

<chem>CSCC(N)C(=O)O</chem>	<chem>CSCCC(N)C(=O)O</chem>	<chem>OCC(N)C(=O)O</chem>
S-Méthylcystéine	Méthionine	Homosérine
<b>97</b>	<b>35</b>	<b>98</b>
$[M+H]^+$	$[M+H]^+$	$[M+H]^+$
m/z calculée = 136.04268	m/z calculée = 150.05833	m/z calculée = 120.06552
m/z obtenue = 136.04214	m/z obtenue = 150.05785	m/z obtenue = 120.06497

Figure 68. Produits détectés par HR-MS

### **C. Conclusion**

En conclusion, il est possible d'obtenir le sulfonium **88** par addition de Michael du DMS sur l'acroléine, mais nous n'avons pas pu le transformer en SMM. Par ailleurs, la formation d'homosérine vient concurrencer d'éventuelles réactions de méthylation à partir de la SMM. Nous avons toutefois observé clairement la S-méthylation de la cystéine.





# Conclusion



## Conclusion

Dans le premier chapitre, nous avons étudié une synthèse prébiotique de la cystéine. Nous avons proposé un schéma réactionnel partant du mercaptoacétaldéhyde **4** et utilisant la réaction de Strecker.

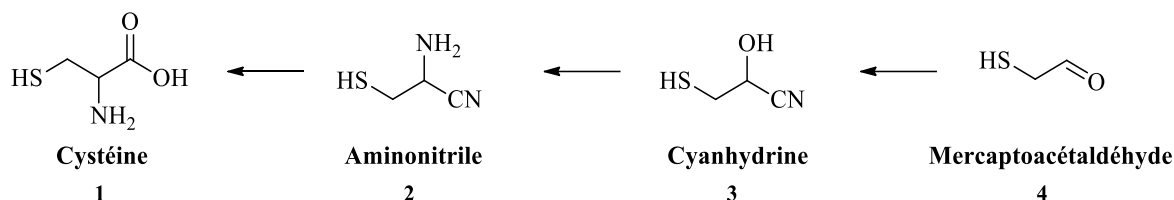


Schéma 100

Cependant, nous n'avons pas pu former le mercaptoacétaldéhyde à partir du glycolaldéhyde. Une étude DFT des réactions impliquées, a montré qu'au moins une des étapes, une déshydratation, demandait une énergie trop élevée.

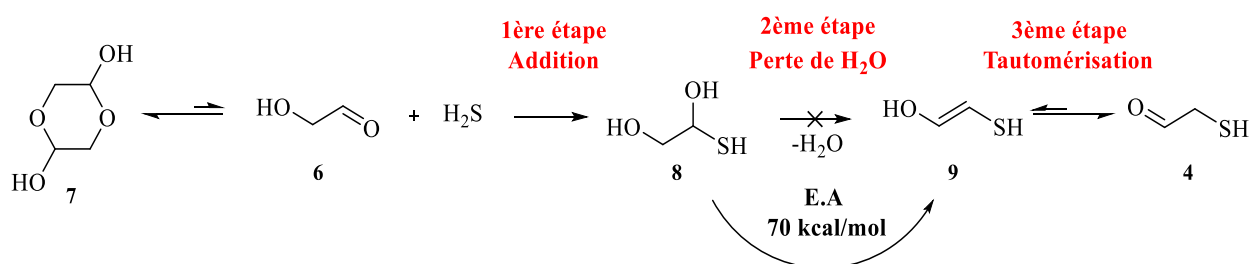


Schéma 101

Dans une voie alternative, l'acétaldéhyde a été chloré par  $\text{CuCl}_2$ . Au chloroacétaldéhyde ainsi obtenu a été ajoutée  $\text{NaSH}$ , ce qui nous a conduit à **4**. Dans le milieu aqueux, **4** dimérise et nous avons observé **5 cis** et **5 trans**.

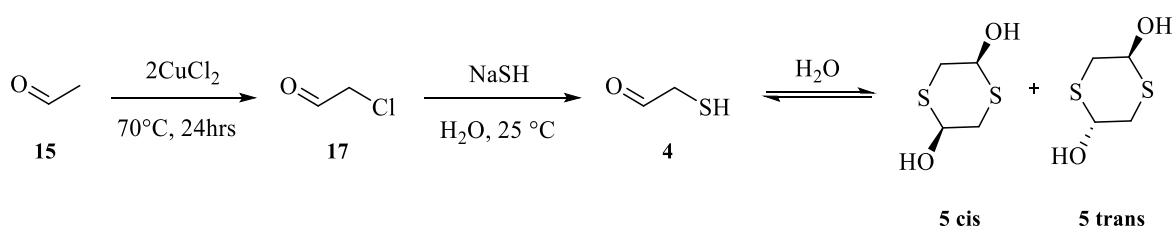


Schéma 102

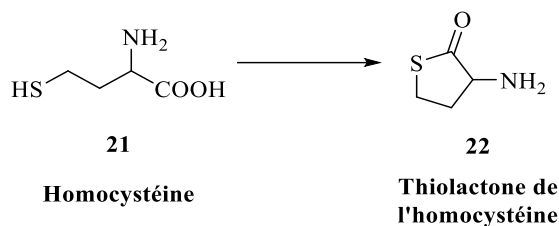
L'application de la réaction de Strecker à l'aldéhyde **4**, nous a permis d'obtenir la cystéine. Ces résultats ont été publiés.<sup>344,345</sup>

<sup>344</sup> Shalayel, I.; Youssef-Saliba, S.; Vazart, F.; Ceccarelli, C.; Bridoux, M.; Vallée, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 20, 3019-3023. DOI:10.1002/ejoc.202000089

<sup>345</sup> Youssef-Saliba, S.; Vallée, Y. *Curr. Org. Chem.* **2020**, 24, 774. DOI:10.2174/1385272824999200420074204

### Conclusion

Nous avons débuté le deuxième chapitre en démontrant que l'homocystéine pouvait cycliser en thiolactone, dans l'eau, dans des conditions plausiblement prébiotiques.



**Schéma 103**

La cyclisation est optimale dans un milieu acide à 80 °C. Elle est également possible sur la surface de la silice. La thiolactone est une forme activée de l'homocystéine. Nous l'avons utilisé pour obtenir la formation de liaisons peptidiques.

Toutefois, la formation des peptides entre **22** et les acides aminés n'est possible qu'en ajoutant une base dans le milieu réactionnel. Nous avons utilisé soit l'imidazole neutralisant le milieu (pH 7), soit le bicarbonate de sodium jusqu'à un pH légèrement basique (pH 8). Les réactions ont été conduites à 45 °C.

Dans un premier temps, nous avons suivi ces réactions par RMN <sup>1</sup>H, puis nous avons tenté des réactions préparatives. Nous avons pu confirmer la formation de liaisons peptidiques entre la thiolactone et l'acide aminé. Nous avons aussi observé l'hydrolyse de la thiolactone. Les peptides formés, qui sont des thiols, sont facilement oxydés en disulfures.

Des réactions ont également été testées sur les dérivés formylé et acétylé de la thiolactone de l'homocystéine, aboutissant à des résultats similaires.

Globalement, la formation de dipeptides à partir de l'homocystéine, via sa thiolactone, est potentiellement prébiotique. Notons toutefois une difficulté : la thiolactone se forme surtout en milieu acide alors que son ouverture pour donner un peptide requiert des conditions au moins neutre, voire légèrement basique.

Conclusion

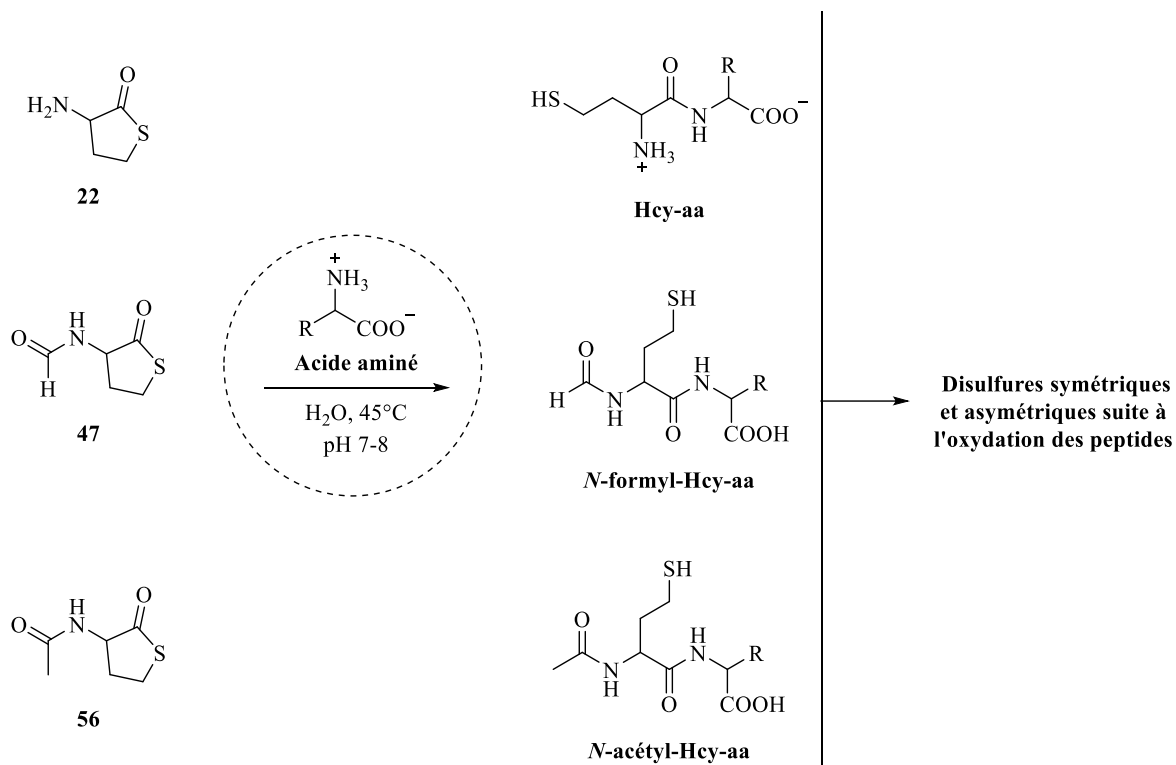


Schéma 104

Enfin, dans le troisième chapitre, nous avons tenté de synthétiser la SMM, source de méthyle possible dans des réactions de transfert de méthyle.

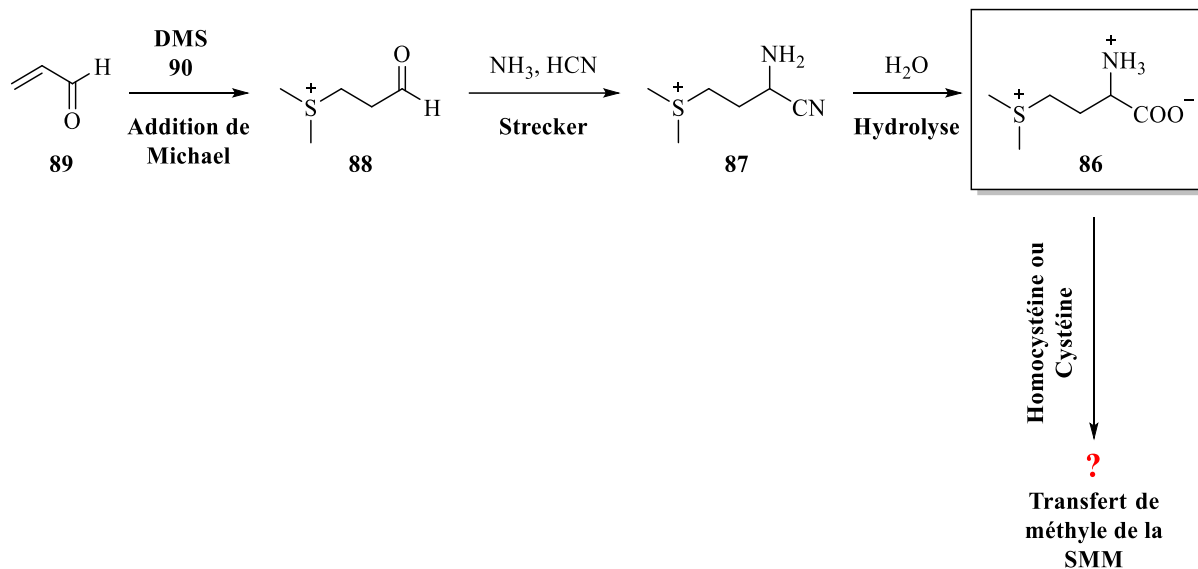


Schéma 105

### *Conclusion*

Par une addition de Michael entre l'acroléine et le diméthyle sulfure, nous avons pu obtenir le sulfonium **88**, un aldéhyde sur lequel nous avons testé la réaction de Strecker. Toutefois, nous n'avons pas pu obtenir la SMM.

Des essais de transfert de méthyle à partir de la SMM ont été effectués. Par exemple, nous avons pu détecter la formation de S-méthylcystéine dans une réaction entre la cystéine et la SMM. Des réactions complémentaires devront confirmer ces premiers résultats et les diversifier.

Nous avons donc obtenu et étudié plusieurs " briques du vivant " sulfurées. L'étude de ces molécules sera poursuivie au laboratoire. D'autres méthodes de synthèses sont possibles, surtout par les réactions de transamination. Par ailleurs, l'interaction de la thiolactone de l'homocystéine **22** avec les alcools pourrait conduire à des esters, particulièrement intéressant, si la fonction alcool fait partie d'un nucléotide.

# **Experimental part**





## General experimental methods

**Reactions** were carried out under an argon atmosphere.

**Purification:** Product purifications by column chromatography were performed using Macherey-Nagel silica gel 60 (70–230 mesh) or Macherey-Nagel Polygoprep C18 (60 Å).

**RP-HPLC purifications** were performed on Gilson GX-281. The preparative column, Macherey-Nagel 100 Å 7 µm C18 particles, 250 × 21 mm was operated at 20.84 mL/min. UV monitoring was performed at 214 nm. Solvent A consisted of H<sub>2</sub>O containing 0.1% trifluoroacetic acid (TFA) and solvent B consisted of CH<sub>3</sub>CN containing 0.1% TFA.

**<sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectra** were recorded on a Bruker Avance 500 (1H: 500 MHz, 13C: 125 MHz) and 400 (1H: 400 MHz, 13C: 100 MHz) spectrometers. Chemical shifts for <sup>1</sup>H spectra are values from tetramethylsilane in CDCl<sub>3</sub> (δ 0.00 ppm), and from HOD peak in D<sub>2</sub>O (calibrated at 4.7 ppm). Chemical shifts for <sup>13</sup>C spectra are values from CDCl<sub>3</sub> (δ 77.16 ppm). <sup>1</sup>H-NMR spectra are reported as following: chemical shift (ppm), multiplicity (s: singlet; d: doublet; dd: doublet of doublets; t: triplet; sex: sextet; sep: septet; m: multiplet), coupling constants (Hz) and integration. Proton and carbon signal assignments were established using COSY, HSQC, and HMBC experiments.

**LC analysis** of compounds was performed on a Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 apparatus.

**MS/MS experiments:** Low resolution ESI analysis was performed on amazon speed (Bruker Daltonics) - IonTrap Spectrometer.

**High-resolution mass spectra (HRMS)** were recorded on LTQ Orbitrap XL (Thermo Scientific) mass spectrometer.

**X-Ray Structure determination:** A crystal of compound **20** was selected damped in a paraffin mixture, mounted on a nylon cryo-loop then centered on a Bruker-AXS-enraf-nonius KappaAPEXII goniometer equipped with a high brilliance micro-source at Mo K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073$  Å) at 208 K. The data was collected with an APEXII 2D detector, then integrated and corrected for Lorentz and polarization effects using the EVAL14<sup>346</sup> software. Final cell parameters were obtained post-refining the whole data. The data was then reintegrated and corrected for absorption using the SADABS<sup>347</sup> program and finally merged with the software XPREP<sup>348</sup>.

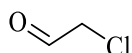
---

<sup>346</sup> Duisenberg, A. J. M. ; Kroon-Batenburg, L. M. J.; Schreurs, M. M. *J. Appl. Crystallogr.* **2003**, 36, 220.

<sup>347</sup> SADABS v2.10, Program for empirical absorption correction of area detector data, G. M. Sheldrick, University of Göttingen, Germany, **2003**.

<sup>348</sup> XPREP v2005/3 ©Bruker AXS

### Chlorination of acetaldehyde



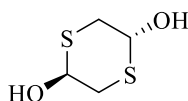
17

Acetaldehyde **15** (100  $\mu$ L, 1.78 mmol) was dissolved with 2 equivalents of copper II chloride (479 mg, 3.56 mmol) in 5 mL of degased water. The mixture was heated at 70 °C. The formation of chloroacetaldehyde **17** (as its hydrate) was demonstrated by  $^1\text{H-NMR}$  (singlet at 3.6 ppm) and  $^{13}\text{C-NMR}$  (peaks at 47.3 and 88.4 ppm) (see page **81**, scheme **43**, figure **20** and **21**).

### Synthesis of mercaptoacetaldehyde 4

Chloroacetaldehyde **17** (1.27 mL, 0.019 mol) was dissolved in water (3mL). The solution was cooled at 0 °C.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1M) was slowly added until pH became 3. In another flask a solution of sodium hydrogenochloride was prepared: NaSH (1.064 g, 0.019 mol) was dissolved in water (3mL) at 0 °C and the mixture was stirred until it became clear. Then the solution of NaSH was slowly added to the solution of chloroacetaldehyde. A precipitate started to form immediately. The mixture was stirred at room temperature until no more precipitation was noticed. The precipitate was then filtered and washed with cold water. A white solid was obtained in 88% yield. The product was analyzed by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  revealing the presence of two diastéréoisomères (figure **22** and **23** on page **84**).

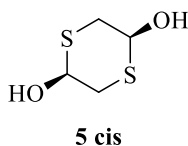
### Mercaptoacetaldehyde dimer, 5 trans



5 trans

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4.96 (dd,  $J = 7, 3$  Hz, 1H), 3.11 (m, 2H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  68.7, 34,2.

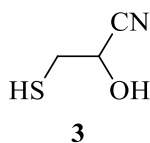
### Mercaptoacetaldehyde dimer, **5 cis**



**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 4.92 (dd, J = 3, 2 Hz, 1H), 3.62 (dd, J = 13, 2 Hz, 1H), 2.69 (dd, J = 10, 5 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 65.6, 30,3.

**HRMS** (ESI) of mixture trans + cis: Calcd for C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [M+Na]<sup>+</sup>: m/z = 174.98579, found: m/z = 174.98582.

### Synthesis of cyanohydrin, **3**



Mercaptoacetaldehyde dimer **5** (200 mg, 2.63 mmol) was dissolved with sodium cyanide (129 mg, 2.63 mmol) in 3 mL of distilled water. The mixture was stirred at room temperature for 5 minutes (pH was adjusted to 7 using a few drops of HCl 37% solution). The mixture was analyzed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR in water. The reaction mixture was then concentrated under reduced pressure. The organic compound was recovered in diethyl ether, dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated. Pure **5** was obtained in a 92% yield. The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR spectra are presented in the theoretical part of the manuscript (see page **86**, figure **24** and **25**).

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.57 (t, J = 5 Hz, 1H), 2.99-2.79 (m, 2H), 1.72 (dd, J = 9, 8 Hz, 1H). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 118.5, 62.7, 29.6.

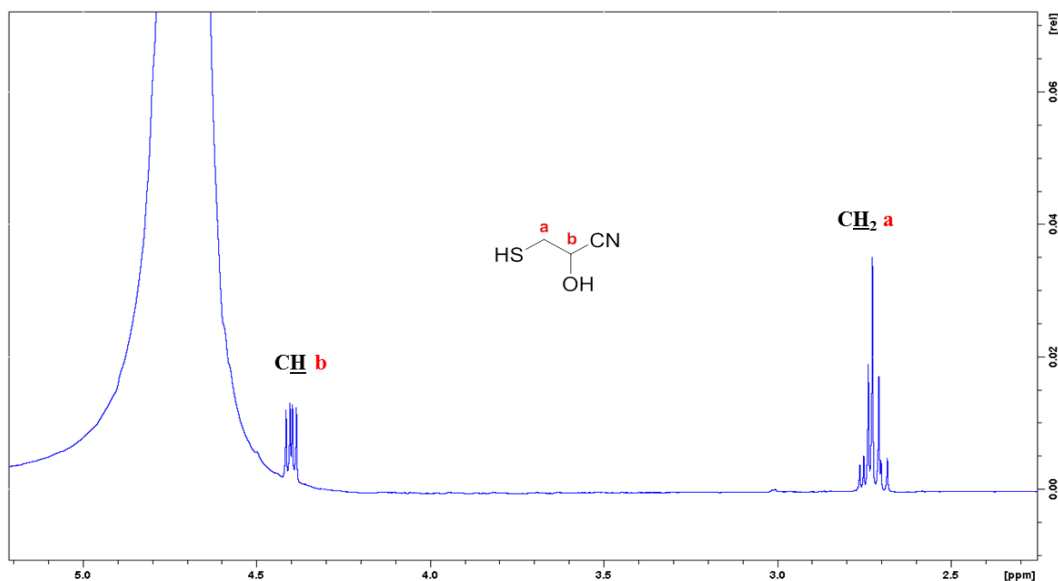
**HRMS** (ESI): Calcd for C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [2M+H]<sup>+</sup>: m/z = 207.02565, found: m/z = 207.02553.

Calcd for C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>S<sub>3</sub> [3M+H]<sup>+</sup>: m/z = 310.03483, found: m/z = 310.03482.

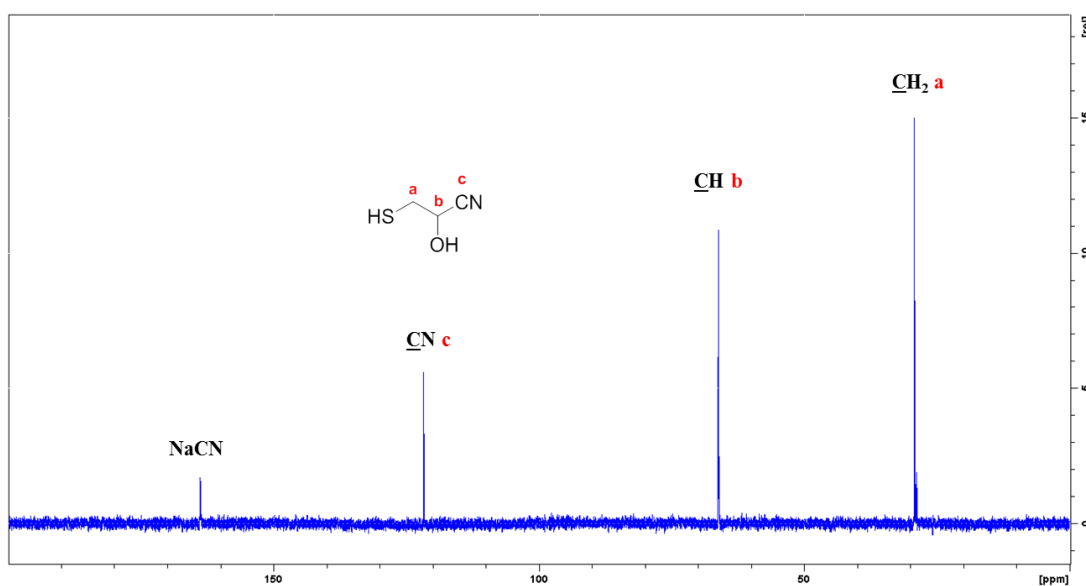
Before extraction of cyanohydrin with an organic phase, the reaction was also followed by  $^1\text{H-NMR}$  in water.

**3**, which was formed directly after the addition of NaCN to mercaptoacetaldehyde **5**, was soluble in water. Below, we show its  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra in water:

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4.41 (dd,  $J = 9, 5$  Hz, 1H), 2.79-2.68 (m, 2H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  121.6, 66.1, 29.2.



E.P. 1  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ ) spectrum of cyanohydrin **3**

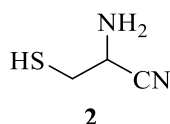


E.P. 2  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ ) spectrum of cyanohydrin **3**

### Strecker reaction

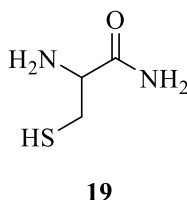
Mercaptoacetaldehyde dimer **5** (200 mg, 2.63 mmol) was dissolved with sodium cyanide (129 mg, 2.63 mmol), ammonium chloride (140 mg, 2.63 mmol) and an excess of ammonium hydroxide (25% in water, 2 mL) in 4 mL of distilled water. The reaction was monitored as a function of time using NMR spectroscopy. Just after mixing reagents ( $t_0$ ), we detected the presence of both cyanohydrin **3** and aminonitrile **2**. After 4 hours, cyanohydrin **3** was totally consumed and cysteine amide **19** was observed aside of aminonitrile **2**. After 6 hours, the formation of cysteine **1** was detected.

#### Aminonitrile **2**



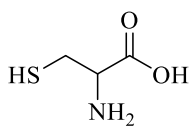
**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  3.84 (dd,  $J = 5, 2$  Hz, 1H), 2.79-2.69 (m, 2H).  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  122.8, 47.9, 29.7. **HRMS** (ESI): Calcd for  $\text{C}_3\text{H}_{10}\text{N}_3\text{S}$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ :  $m/z = 120.0590$ , found:  $m/z = 120.0585$ .

#### Cysteine amide **19**



**$^1\text{H-NMR}$**  (500 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  3.74 (dd,  $J = 5, 1$  Hz, 1H), 2.82-2.71 (m, 2H).  **$^{13}\text{C-NMR}$**  (125 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  166.8, 55.1, 30.7. **HRMS** (ESI): Calcd for  $\text{C}_3\text{H}_9\text{N}_2\text{OS}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z = 121,0430$ , found:  $m/z = 121.0425$ .

## Cysteine 1

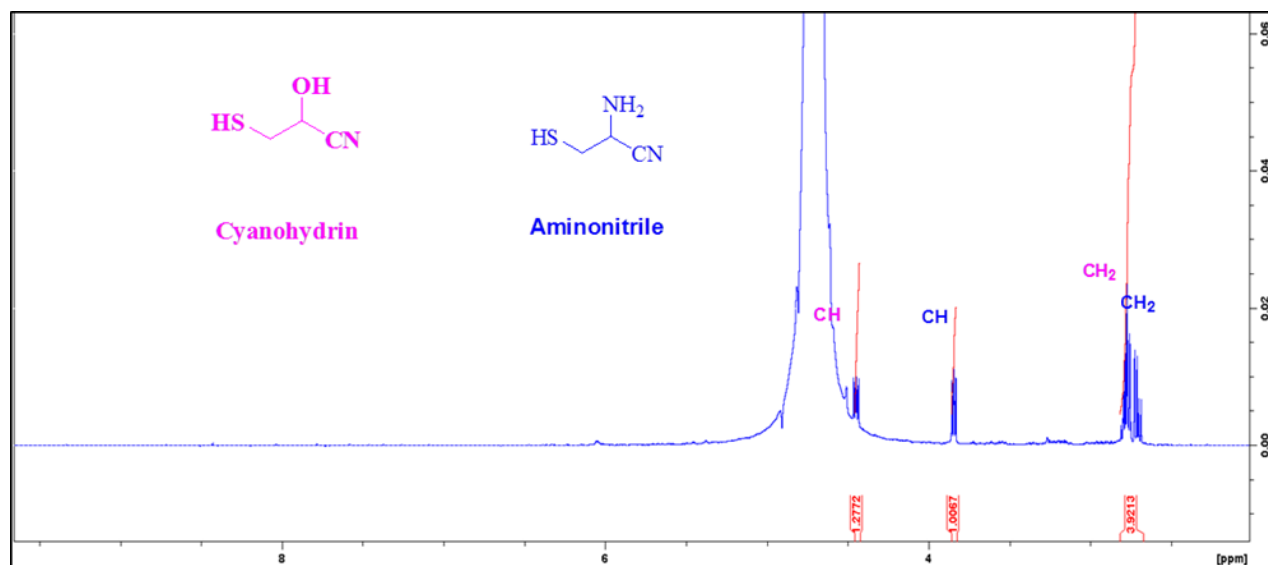


1

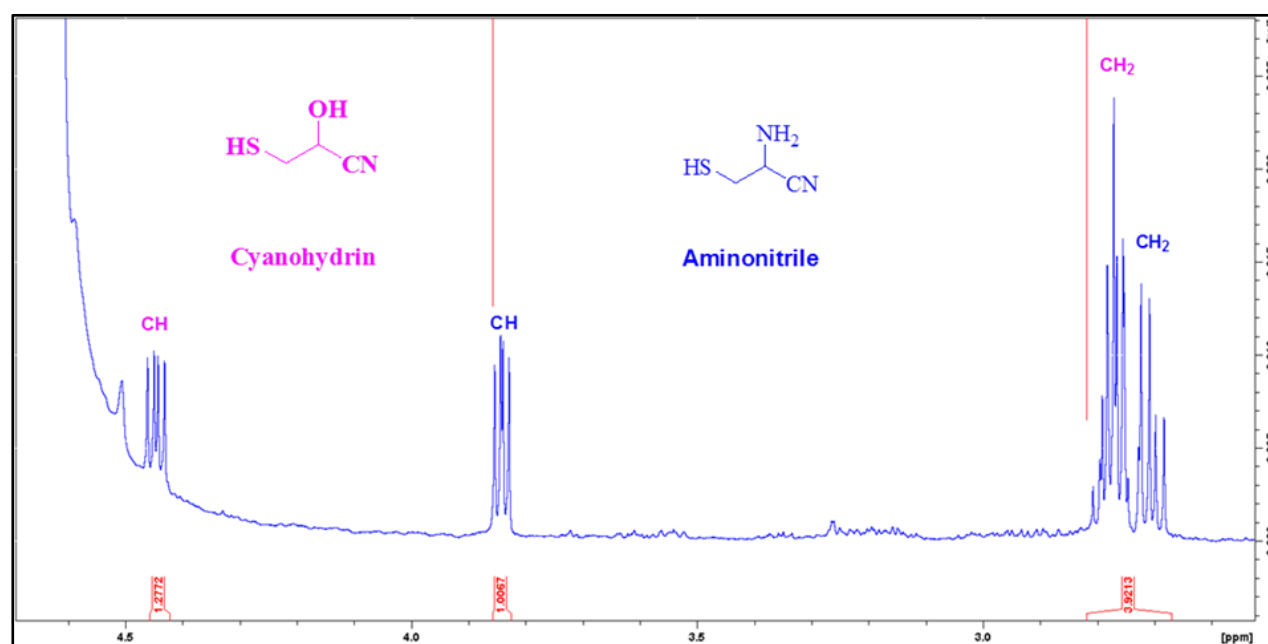
**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) δ 3.33 (dd, J = 5, 2 Hz, 1H), 3.21 - 2.92 (m, 2H). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) δ 177.9, 58.3, 28.9. **HRMS** (ESI): Calcd for C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup>: m/z = 122.02703, found: m/z = 122.02724.

Below we show the evolution of the Strecker reaction applied to mercaptoacetaldehyde:

Strecker reaction at  $t_0$

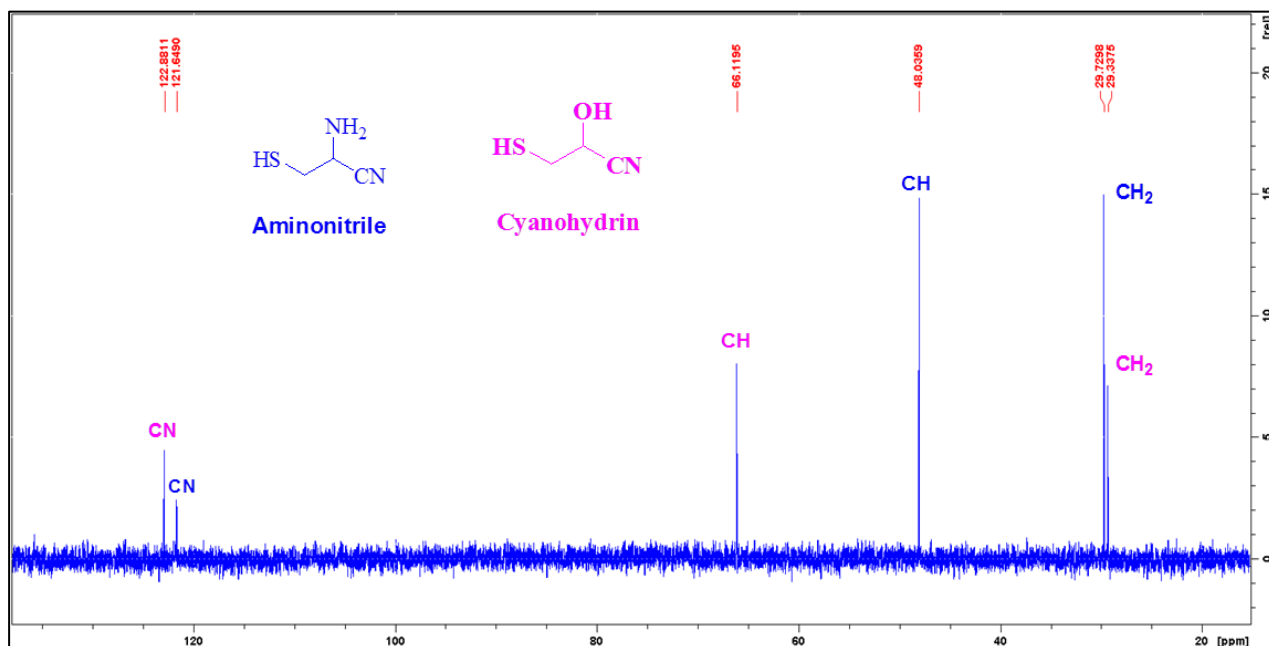


EP. 3 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) spectrum of the Strecker reaction at  $t_0$



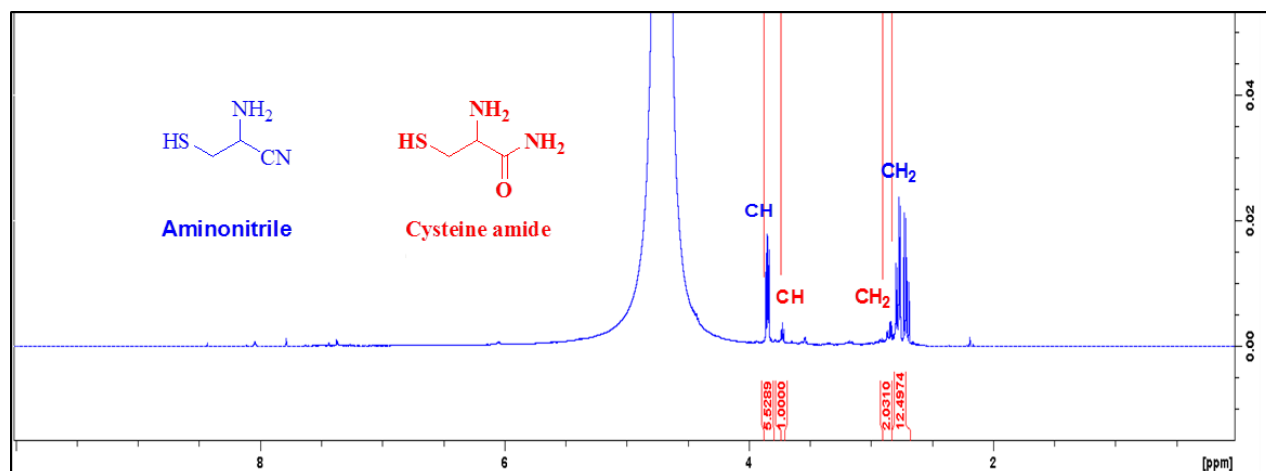
EP.4 Zoom in <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) spectrum of the Strecker reaction at  $t_0$



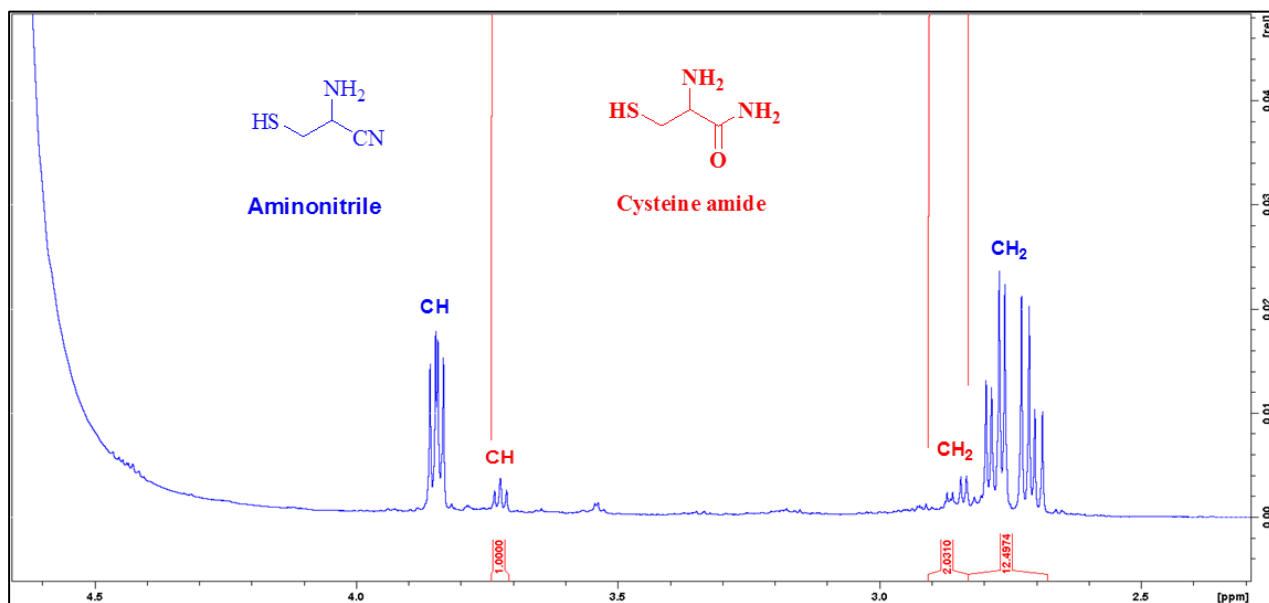


E.P.5 <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) spectrum of the Strecker reaction at t<sub>0</sub>

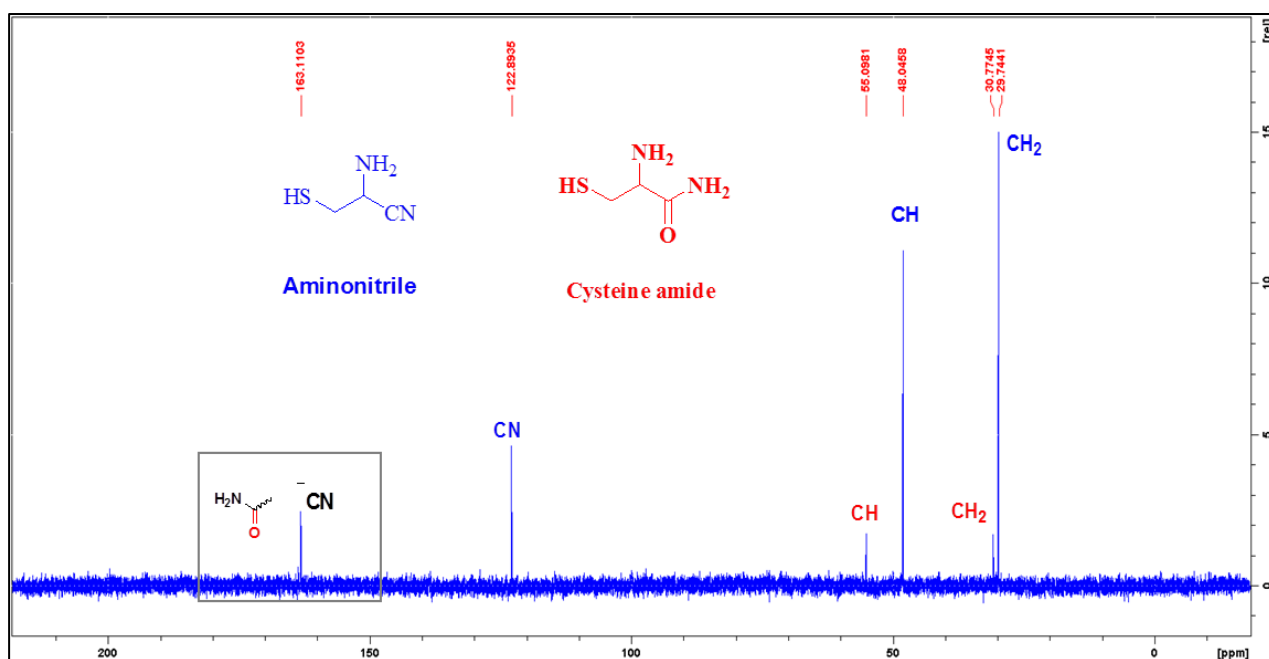
Strecker reaction at t<sub>0</sub> + 4 hours



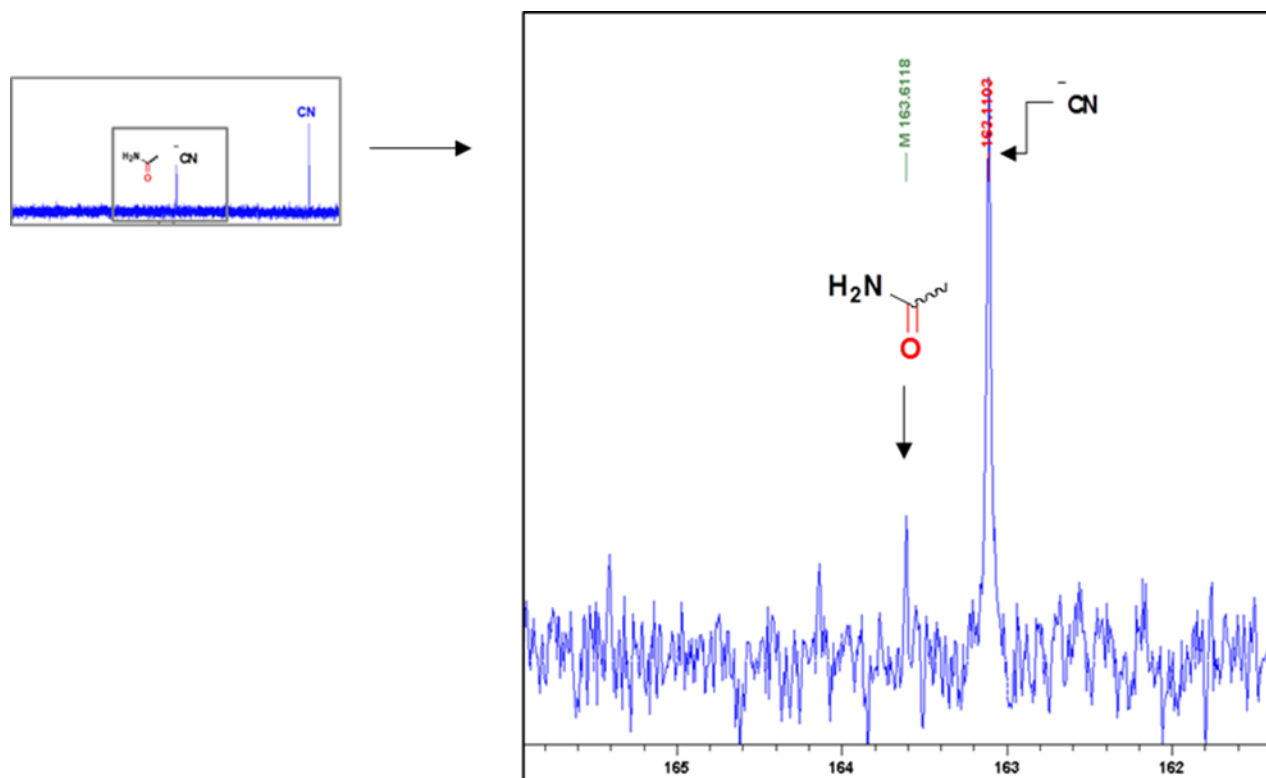
E.P.6 Full <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) spectrum of the Strecker reaction at t<sub>0</sub> + 4 hours



**E.P.7.** Zoom in <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) spectrum of the Strecker reaction at **t<sub>0</sub> + 4 hours**

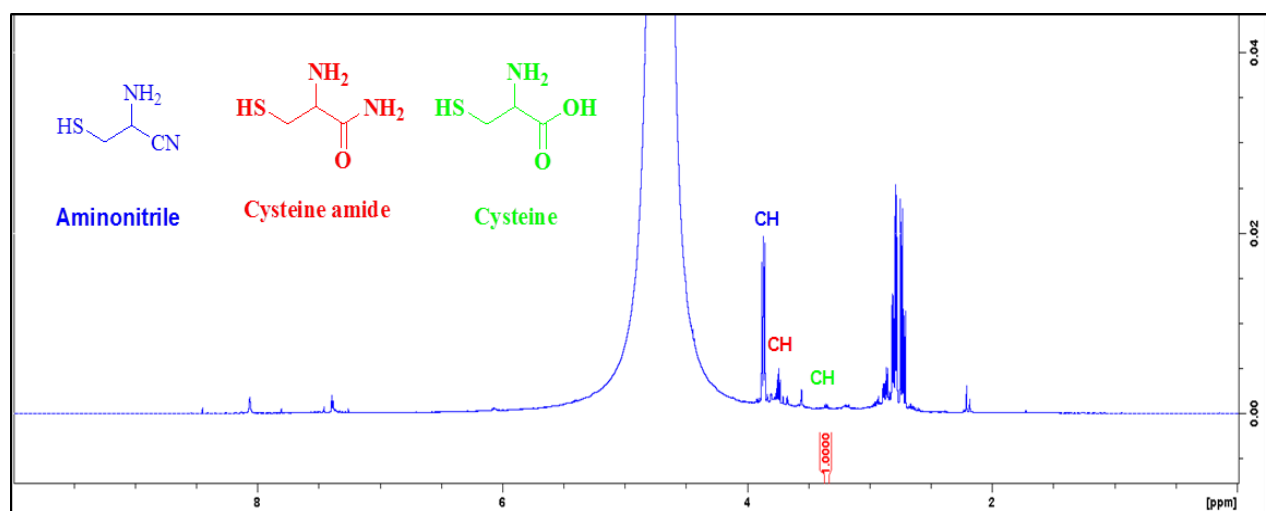


**E.P.8.** <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) spectrum of the Strecker reaction at **t<sub>0</sub>+4 hours**

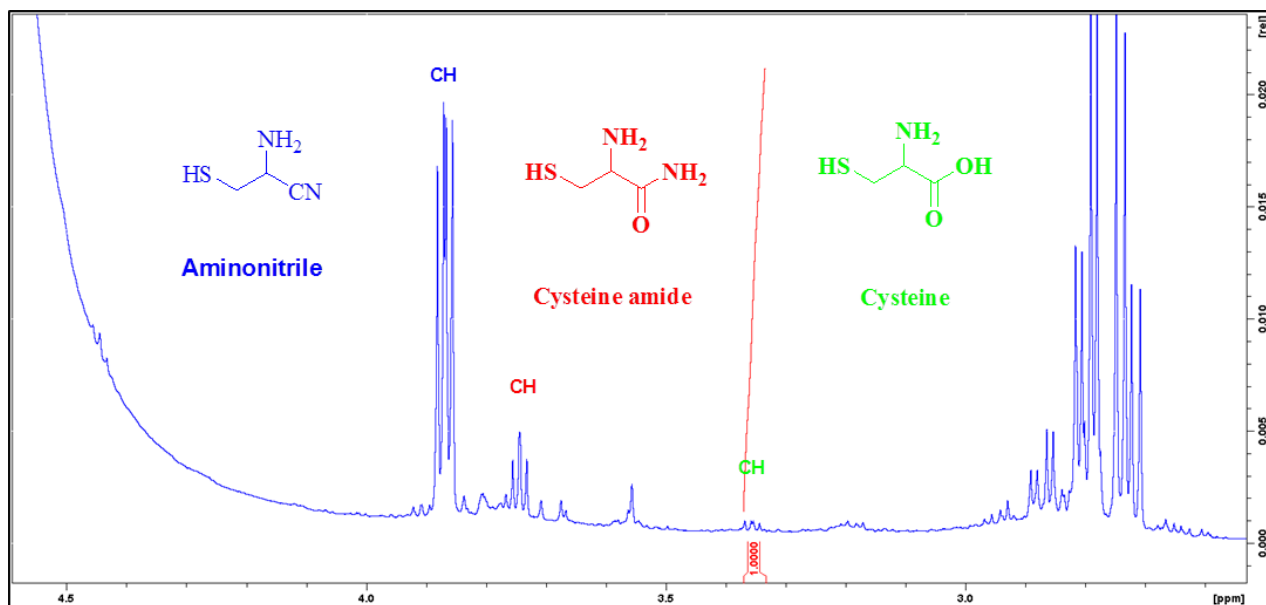


**E.P.9.** Zoom in  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ ) spectrum of the Strecker reaction at  $t_0 + 4$  hours

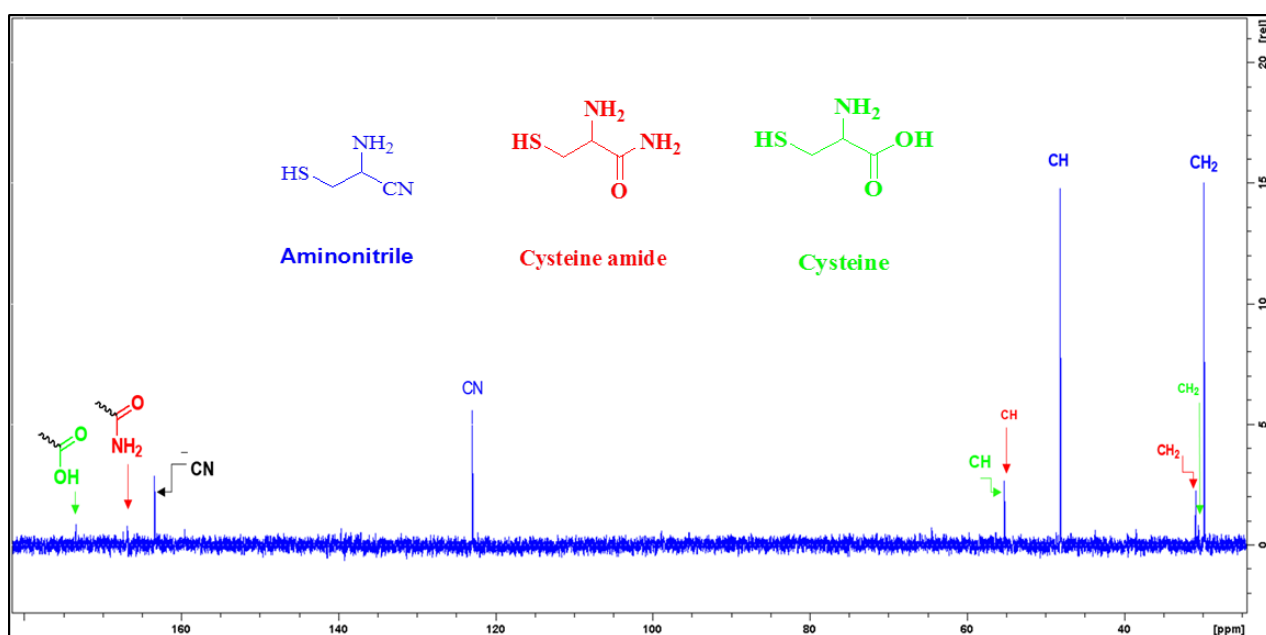
Strecker reaction at  $t_0 + 6$  hours



**E.P.10.**  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ ) spectrum of the Strecker reaction at  $t_0 + 6$  hours

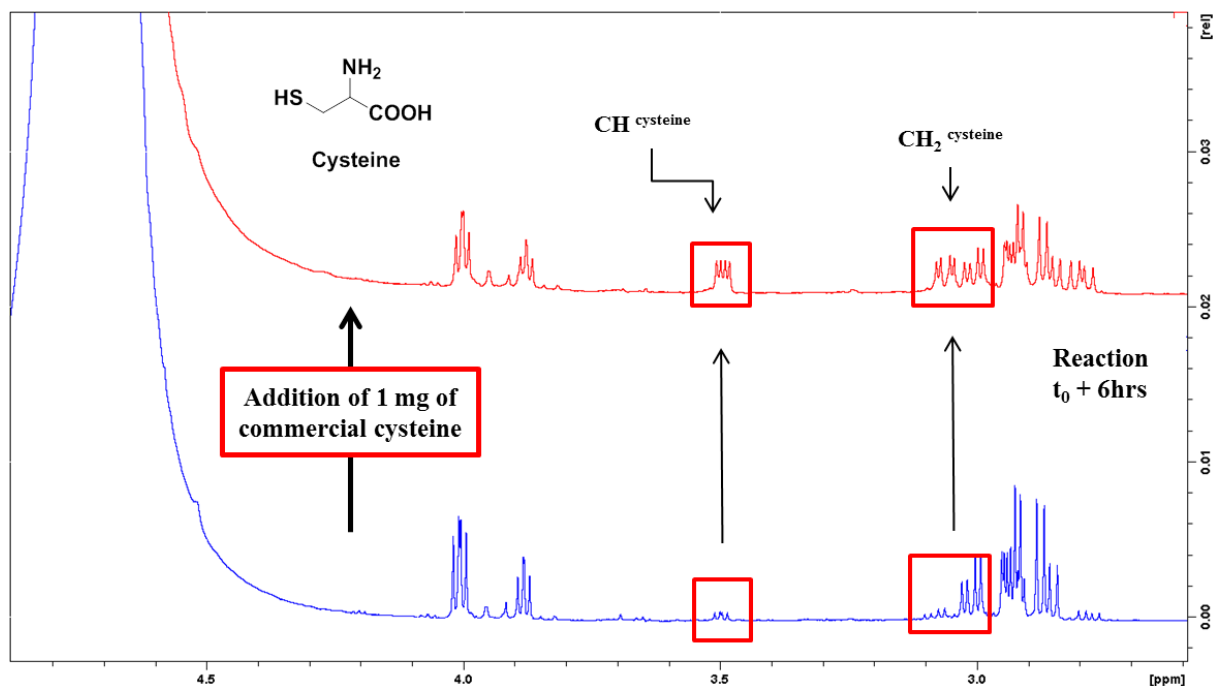


E.P.11. Zoom in  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ ) spectrum of the Strecker reaction at  $t_0 + 6$  hours



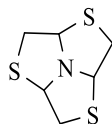
E.P.12.  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O}$ ) spectrum of the Strecker reaction at  $t_0 + 6$  hours

To verify the formation of cysteine, we added few mg of commercial cysteine in the NMR tube. The peak that we thought to correspond to cysteine increased proving the presence of the cysteine in the mixture formed after 6 hours of reaction.



E.P.13. <sup>1</sup>H-NMR comparison before and after addition of commercial cysteine in the NMR tube

### Hexahydro-1,3,5-trithia-6b-azacyclopenta[c,d]pentalene 20



20

Chloroacetaldehyde (4 mL), NaSH (3.64 g), NaCN (3.184 g) and NH<sub>4</sub>Cl (3.445 g) were all mixed together at room temperature. A precipitate rapidly formed. It was recovered after filtration and analysed by NMR and mass spectrometry. Crystals were observed allowing us to analyse the product by X-Ray crystallography.

**<sup>1</sup>H-NMR** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.78 (t, J = 6 Hz, 1H), 3.32- 2.99 (m, 2H). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 73.7, 38.9. **HRMS** (ESI): Calcd for C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NS<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> : m/z= 191.99699, found: m/z= 191.99639.

Crystal and data collection details are given in **table 1**. The structure was solved by direct methods and refined by full-matrix least square methods with respectively, the SHELXT-2016 and SHELXL-2013 programs<sup>349</sup> implemented in Olex2 software.<sup>350</sup> C, N, S atoms were refined with anisotropic thermal parameters. H atoms were set geometrically, riding on the carrier atoms, with isotropic thermal parameters.

Compound	20
Formula	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> NS <sub>3</sub>
F <sub>w</sub> [g.mol <sup>-1</sup> ]	192.33
T [K]	208
Morphology	prism
Color	yellow
Crystal size mm	0.21 x 0.29 x 0.49
Crystal system	Trigonal rhombohedral
Space group	R3c : r
a [Å]	7.6684(9)
b [Å]	7.6684(9)
c [Å]	7.6684(9)
α [°]	105.218(17)
β [°]	105.218(17)
γ [°]	105.218(17)
Unit-cell volume [Å <sup>3</sup> ]	392.37(17)
Z	2
D <sub>x</sub> [g.cm <sup>-3</sup> ]	1.628
μ [mm <sup>-1</sup> ]	0.862
F(000)	202
Radiation	MoKα (λ = 0.71073)
θ range for data collection/°	5.577 to 25.000
Index ranges	-9 ≤ h ≤ 7, -8 ≤ k ≤ 9, -8 ≤ l ≤ 7
Total reflections	1514
Unique reflections	416
Used reflections (I > 2σ(I))	376
Refined parameters	31
Flack's factor	0.2(4)
R <sub>int</sub> .	0.1640
R <sub>1</sub>	0.0657
R(w) <sup>a</sup>	0.1516
Goodness of fit S	1.292
Δρ <sub>min</sub> /Δρ <sub>max</sub> (e.Å <sup>-3</sup> )	-0.840/0.730

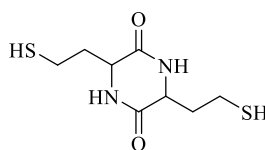
<sup>a</sup> Refinement based on  $F^2$  where  $w = 1/[\sigma^2(Fo^2) + (0.0851P)^2 + 0.2115P]$  where  $P = (Fo^2 + 2Fc^2)/3$

**Table 1.** Crystal data and structure refinement for **20**

<sup>349</sup> Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr.* **2008**, 64, 112.

<sup>350</sup> Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. *J. Appl. Crystallogr.* **2009**, 42, 339.

### Cyclisation of homocysteine, **21** on silica



24

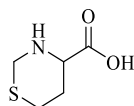
Homocysteine **21** was diluted in a minimum amount of water (less than 0.1 mL). An excess of silica was added to the solution. Water was then evaporated under vacuum with heating at 60 °C. Then the mixture was left to stir overnight at 80 °C. D<sub>2</sub>O was then added and the mixture was filtered. The D<sub>2</sub>O phase was collected and analyzed by NMR.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 4.256 (t, J = 6 Hz, 2H), 4.203 (t, J = 6 Hz, 2H), 3.408 – 3.275 (m, 4H), 2.659 - 2.602 (m, 2H), 2.237 - 2.152 (m, 2H).

We couldn't detect signals in the <sup>13</sup>C-NMR spectra because they were too weak.

**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>+</sup>: *m/z* = 235.05695, found: *m/z* = 235.05702.

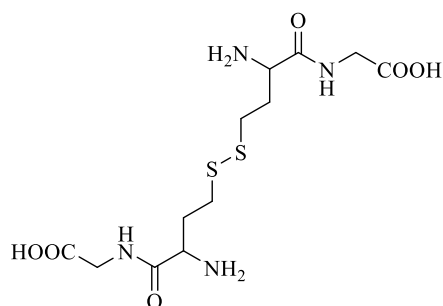
### Reaction of homocysteine thiolactone, **22** with formaldéhyde



25

Homocysteine thiolactone **22** (5 mg, 0.033 mmol) was mixed with an excess of formaldehyde/ MeOH (0.1mL, 3.2 mmol) in 1 mL of distilled water. The mixture was stirred at room temperature. A 100% conversion was obtained after 200 hours of reaction. The mixture was evaporated under vacuum to remove the excess of formaldehyde and MeOH. The mixture was analyzed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR in water. Exact mass was obtained confirming the presence of product **25**.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 4.35 (d of AB system, J = 14, 28 Hz, 2H), 3.96 (dd, J = 3, 8 Hz, 1H), 3.06 - 2.78 (m, 2H), 2.59 - 2.02 (m, 2H). **<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 171.42, 57.91, 45.41, 27.60, 25.67. **HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>2</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: *m/z* = 146.02812, found: *m/z* = 146.02823.

**Homocysteine Thiolactone, 22:****Homocysteine thiolactone, 22 + Glycine****40**

Homocysteine thiolactone **22** (5 mg, 0.033 mmol) was mixed with 2 equivalent of glycine (4.9 mg, 0.066 mmol) in 5 mL of degazed distilled water. The solution was basified to pH 8 by adding NaHCO<sub>3</sub>. The mixture was stirred at 45 °C for 24 hours. Then crude product was purified on inverse phase silica preparative column (50:50:1 H<sub>2</sub>O:ACN:TFA). Major product in the mixture, **40**, was isolated and then analyzed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR in water. Exact mass was obtained confirming the presence of product **40** (yield = 26%).

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 4.07 (dd, J = 4, 7 Hz, 1H), 3.75 (dd of AB system, J = 17, 30 Hz, 2H), 2.82 - 2.71 (m, 2H), 2.28 - 2.23 (m, 2H). **<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 175.99, 168.98, 52.22, 43.29, 31.72, 29.99. **HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>: m/z = 381.09080, found: m/z = 381.09088.

*General Procedure with alanine and cysteine:*

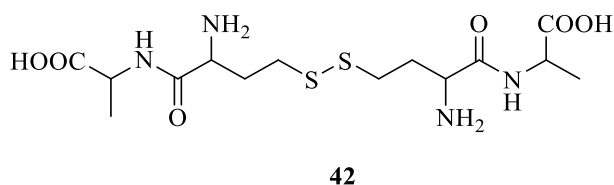
With alanine and cysteine, the crude product was purified on inverse phase silica preparative column (50:50:1 water:ACN:TFA). A major product was isolated but quantities were too low that we couldn't detect signals in NMR analysis. Then, the crude mixture was analyzed by NMR but the spectrum was too complex to be clearly interpreted. However, exact mass analysis was performed on the crude mixture confirming the presence of desired products in each case.



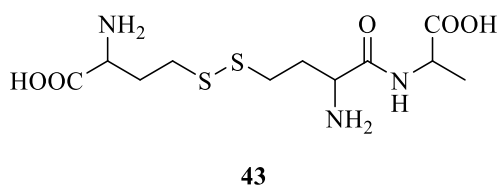
### Homocysteine thiolactone, **22** + Alanine

Homocysteine thiolactone **22** (5 mg, 0.033 mmol) was mixed with 2 equivalent of alanine (5.8 mg, 0.066 mmol) in 5 mL of degazed distilled water. The solution was basified to pH 8 by adding NaHCO<sub>3</sub>. The mixture was stirred at 45 °C for 48 hours.

The exact mass analysis confirmed the formation of products **42** and **43**.



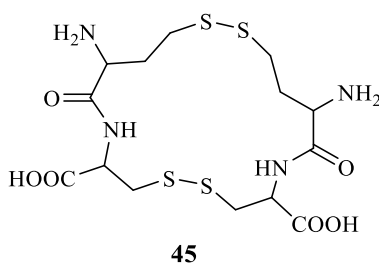
**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z$  = 409.12210, found:  $m/z$  = 409.12226.



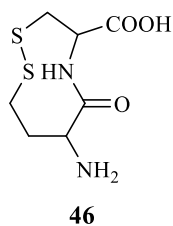
**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z$  = 338.08499, found:  $m/z$  = 338.08501.

### Homocysteine thiolactone, **22** + Cysteine

Homocysteine thiolactone **22** (5 mg, 0.033 mmol) was mixed with 2 equivalent of cysteine (8 mg, 0.066 mmol) in 5 mL of degazed distilled water. The solution was basified to pH 8 by adding NaHCO<sub>3</sub>. The mixture was stirred at 45 °C for 36 hours. The exact mass analysis confirmed the formation of products **45** and **46**.



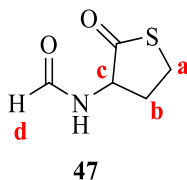
**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S<sub>4</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z$  = 471.05059, found:  $m/z$  = 471.04995



**HRMS (ESI):** Calcd for  $C_7H_{11}N_2O_3S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 235.02166$ , found:  $m/z = 235.02091$

### **N-Formyl Homocysteine Thiolactone, 47:**

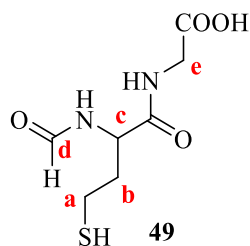
#### **Formylation of homocysteine thiolactone**



Acetic anhydride (60 mL) was mixed with 30 mL of formic acid under inert atmosphere. The solution was stirred at room temperature for 24 hours. 10 g of homocysteine thiolactone were added and the reaction left to stir under reflux for 5 hours. An oil was obtained after vacuum elimination of the solvents. This oil was purified by flash column chromatography (90:10 Ethyl Acetate: Pentane). **47** was obtained in a 68% yield.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (δ, ppm):** 8.19 (s, 1H of COH **d**), 6.57 (s, 1H of NH), 4.55 (m, 1H **c**), 3.27 (m, 2H **a**), 2.85 (m, 1H of CH<sub>2</sub> **b**), 1.93 (m, 1H of CH<sub>2</sub> **b**). **<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (δ, ppm):** 205.2, 161.8, 58.1, 31.7, 27.6. **HRMS (ESI):** Calcd for  $C_5H_8O_2NS$  [M+H]<sup>+</sup>:  $m/z = 146.02703$ , found:  $m/z = 146.02669$ .

***N*-formyl homocysteine thiolactone, 47 + Glycine**

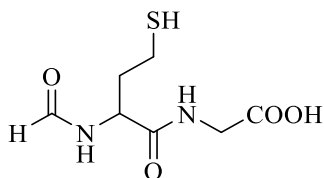


*N*-Formyl-homocysteine thiolactone **47** (5 mg, 0.033 mmol) was mixed with 2 equivalents of glycine (5.2 mg, 0.066 mmol) in 5 mL of degazed deuterated water. The solution was basified to pH 8 by adding NaHCO<sub>3</sub>. The mixture was stirred at 45 °C for 20 hours. The crude product was analyzed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR in water. **49** was obtained in 56% yield.

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 8.10 (s, 1H of COH **d**), 4.56 (dd, J= 5, 10 Hz, 1H **c**), 3.68 (m, 2H **e**), 2.54 (m, 2H of CH<sub>2</sub> **a**), 2.01 (m, 2H of CH<sub>2</sub> **b**). **<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 203.6, 161.2, 59.2, 40.5, 32.4, 28.2.

However, exact mass confirmed the formation of a mixture of products **49** and **50**, both deuterated and non-deuterated.

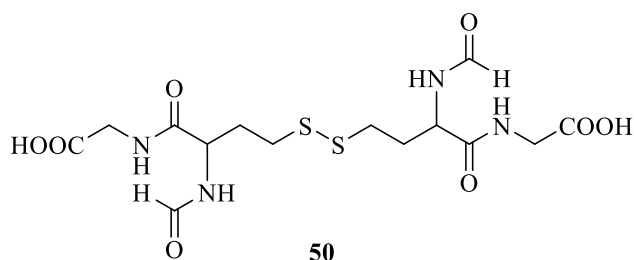
**HRMS (ESI):**



**49**

Calcd for **49** non-deuterated C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: *m/z* = 219.04450, found: *m/z* = 219.04460

Calcd for **49** monodeuterated C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>DN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S [M-H]<sup>-</sup>: *m/z* = 220.05078, found: *m/z* = 220.05070



Calcd for **50** non-deuterated  $C_{14}H_{21}N_4O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 437.08063$ , found:  $m/z = 437.08074$ .

Calcd for **50** monodeuterated  $C_{14}H_{20}DN_4O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 438.08690$ , found:  $m/z = 438.08699$ .

Calcd for **50** dideuterated  $C_{14}H_{19}D_2N_4O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 439.09318$ , found:  $m/z = 439.09320$ .

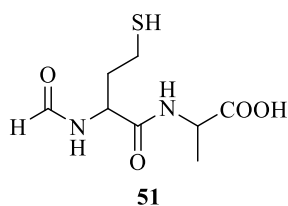
#### *General Procedure with alanine and cysteine:*

With alanine and cysteine, *N*-Formyl-homocysteine thiolactone **47** (5 mg, 0.0345 mmol) was mixed with 2 equivalents of amino acid in 5 mL of degazed deuterated water. The solution was basified to pH 8 by adding  $NaHCO_3$ . The mixture was stirred at 45 °C for some hours. The reaction was followed by NMR until there is no thiolactone left in the medium. However the spectrum was not clear enough to clearly identify products. So, the crude mixture was analyzed by exact mass confirming the formation of the desired products in each case. Like glycine, we also identified their deuterated derivatives, due to the presence of  $D_2O$  used to follow up the reaction by NMR.

#### ***N*-formyl homocysteine thiolactone, 47 + Alanine**

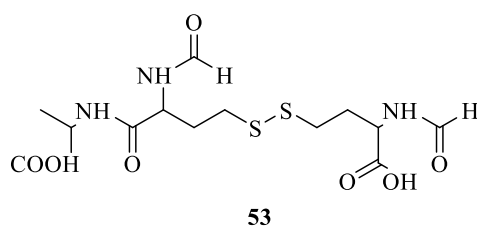
Reaction applied on 5 mg *N*-Formyl-homocysteine thiolactone **47** (0.0345 mmol) with 2 equivalents of alanine (6.1 mg, 0.0689 mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 72 hours. Products **51**, **52** and **53** were formed as well as their deuterated derivatived.

**HRMS (ESI):**



Calcd for **51 non-deuterated** C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 233.06015$ , found:  $m/z = 233.0602$ .

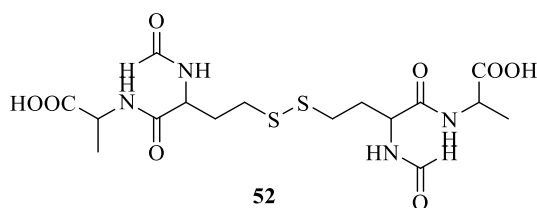
Calcd for **51 monodeuterated** C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>DN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 234.06643$ , found:  $m/z = 234.06616$ .



Calcd for **53 non-deuterated** C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 394.07481$ , found:  $m/z = 394.07481$ .

Calcd for **53 monodeuterated** C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>DN<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 395.08109$ , found:  $m/z = 395.08112$ .

Calcd for **53 dideuterated** C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>D<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 396.08737$ , found:  $m/z = 396.08725$ .



Calcd for **52 non-deuterated** C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 465.11193$ , found:  $m/z = 465.11203$ .

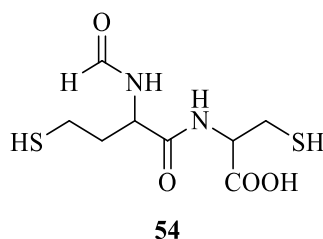
Calcd for **52 monodeuterated** C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>DN<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 466.11821$ , found:  $m/z = 466.11818$ .

Calcd for **52 dideuterated** C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>D<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 467.12448$ , found:  $m/z = 467.12436$ .

***N*-formyl homocysteine thiolactone, **47** + Cysteine**

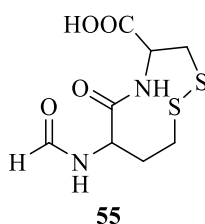
Reaction applied on 5 mg *N*-Formyl-homocysteine thiolactone **47** (0.0345 mmol) with 2 equivalents of cysteine (8.4 mg, 0.0689 mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 48 hours. Product **54** and its oxidized form **55** and their deuterated analogs were obtained.

**HRMS (ESI):**



Calcd for **54** non-deuterated  $C_8H_{13}N_2O_4S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 265.03222$ , found:  $m/z = 265.03217$ .

Calcd for **54** monodeuterated  $C_8H_{12}DN_2O_4S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 266.03850$ , found:  $m/z = 266.03839$ .



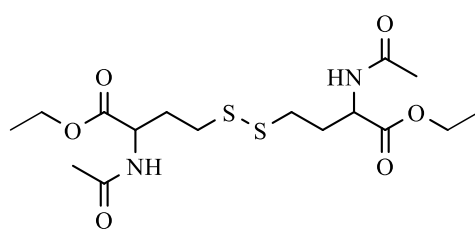
Calcd for **55** non-deuterated  $C_8H_{11}N_2O_4S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 263.01657$ , found:  $m/z = 263.01653$ .

Calcd for **55** monodeuterated  $C_8H_{10}DN_2O_4S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 263.02285$ , found:  $m/z = 264.02292$ .

***N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone, 56:**

*General procedure for the reaction of N-acetyl homocysteine thiolactone with amino acids and esterification of peptides formed:*

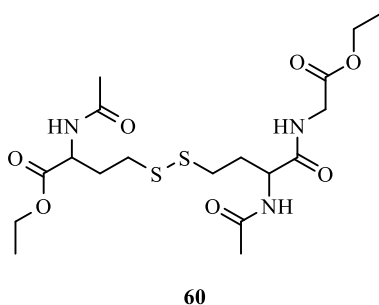
1 equivalent of *N*-acetyl homocysteine thiolactone **56** was mixed with 1 equivalent of amino acid in 10 mL of degased water. The solution was basified to pH 8 by adding NaHCO<sub>3</sub>. The mixture was stirred at 45 °C for some hours. The reaction was followed by <sup>1</sup>H-NMR until no more thiolactone was noticed in the flask. Time of the reaction depends on each amino acid used. Then, esterification of the peptides formed was accomplished by using a solution of EtOH containing 1 M acetyl chloride (overnight, room temperature). Esterified peptides were then extracted from acidic water (pH 1) with dichloromethane. The crude product was purified by flash chromatography (80:20 AcOEt: Pentane). In all our studied cases, we were able to separate esterified *N*-acetyl-homocysteine, coming from the hydrolysis of the *N*-acetyl-thiolactone, but we couldn't separate the symmetric and asymmetric disulfides of the expected peptides. NMR spectra weren't so clear since all peaks overlapped. Integrations in the <sup>1</sup>H-NMR spectra show global values corresponding to the mixture of both asymmetric and symmetric disulfides in each case. So yields given for the disulfides are approximate. Then, the fractions exact mass analysis, confirmed the formation of the desired products.

**Disulfur form of *N*-acetyl-homocysteine (oxidation of *N*-acetyl-homocysteine)****59**

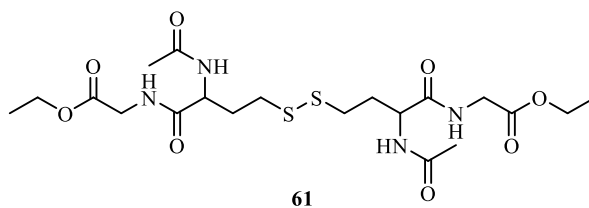
**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (δ, ppm):** 6.46 (d, J= 6 Hz, 1H of NH), 4.63 (m, 1H of CH), 4.15(m, 2H of OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.668 (t, J= 11, 18 Hz, 2H of CH<sub>2</sub>S), 2.54 (m, 2H of CH<sub>2</sub> a), 2.09 (m, 2H of CH<sub>2</sub>), 1.985 (s, 3H), 1.232 (m, 3H of OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). **<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (δ, ppm):** 170.9, 170.8, 169.3, 169.13, 60.77, 60.76, 50.4, 50.3, 34.02, 33.7, 31.4, 22.15, 22.11, 13.2. **HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>16</sub>H<sub>29</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: *m/z* = 409.14615, found: *m/z* = 409.14555.

### *N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone, **56** + Glycine

Reaction applied on 100 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.6289 mmol) with 1 equivalents of glycine (47.2 mg, 0.6289 mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 24 hours. The fractions issued from the purification contained products **60** (18 % yield) and **61** (8% yield).



**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  $m/z$  = 466.16762, found:  $m/z$  = 466.16632.

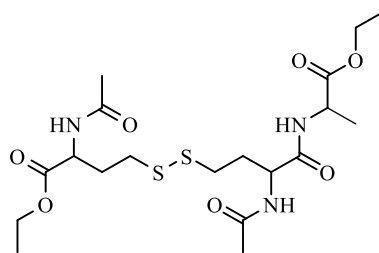


**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>35</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  $m/z$  = 523.18908, found:  $m/z$  = 523.18749.

### *N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone, **56** + Alanine

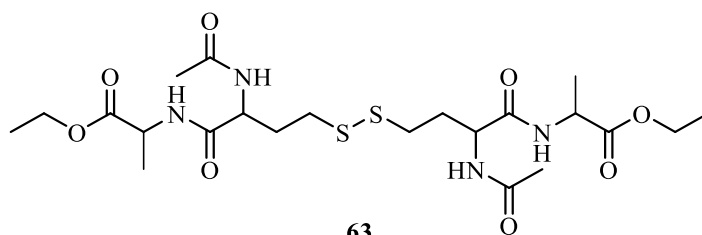
Reaction applied on 100 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.6289 mmol) with 1 equivalents of alanine (56 mg, 0.6289 mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 75 hours. The fractions issued from the purification contained products **62** (12% yield) and **63** (10% yield).





62

**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  $m/z$  = 480.18327, found:  $m/z$  = 480.18213.

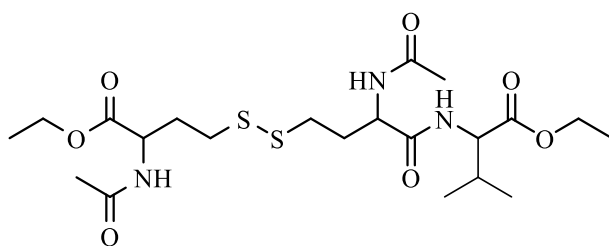


63

**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>22</sub>H<sub>39</sub>O<sub>8</sub>N<sub>4</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  $m/z$  = 551.22038, found:  $m/z$  = 551.21900.

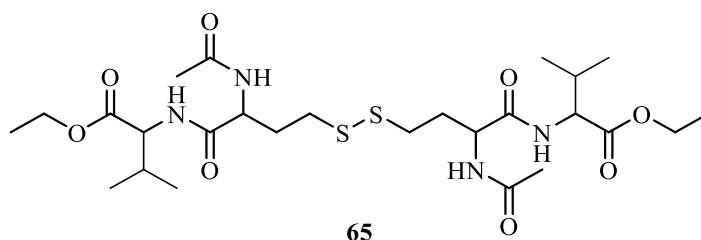
### ***N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone, **56** + Valine**

Reaction applied on 100 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.6289 mmol) with 1 equivalents of valine (74 mg, 0.6289 mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 120 hours. The fractions issued from the purification contained products **64** (28% yield) and **65** (16% yield).



64

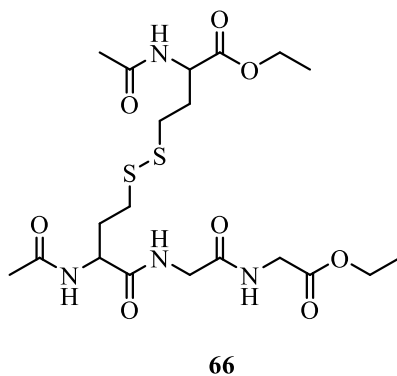
**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>:  $m/z$  = 508.21457, found:  $m/z$  = 508.21301.



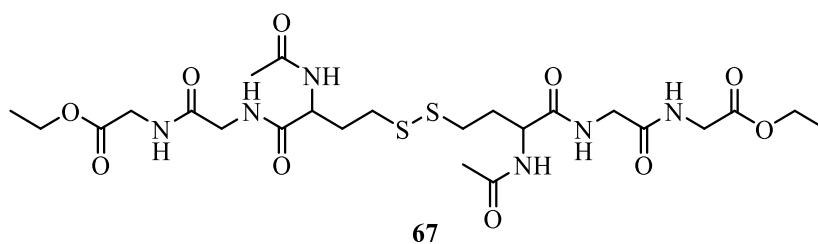
**HRMS (ESI):** Calcd for  $C_{26}H_{47}O_8N_4S_2$   $[M+H]^+$ :  $m/z = 607.28298$ , found:  $m/z = 607.28171$ .

### *N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone, **56** + Glycylglycine

Reaction applied on 100 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.6289 mmol) with 1 equivalents of glycylglycine (83 mg, 0.6289 mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 72 hours. The fractions issued from the purification contained products **66** (32% yield) and **67** (10% yield).



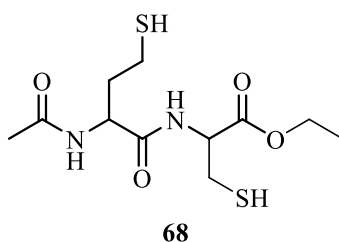
**HRMS (ESI):** Calcd for  $C_{20}H_{35}O_8N_4S_2$   $[M+H]^+$ :  $m/z = 523.18908$ , found:  $m/z = 523.18750$ .



**HRMS (ESI):** Calcd for  $C_{24}H_{41}O_{10}N_6S_2$   $[M+H]^+$ :  $m/z = 637.23201$ , found:  $m/z = 637.23081$ .

***N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone, 56 + Cysteine, 1**

Reaction applied on 100 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.6289 mmol) with 1 equivalents of cysteine **1** (76 mg, 0.6289 mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 60 hours. The fractions issued from the purification contained product **68** (36% yield). No oxidation was observed in this case.



**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>21</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>: *m/z* = 309.09375, found: *m/z* = 309.09394.

*General procedure for the reaction of N-acetyl homocysteine thiolactone with amino acid without esterification of formed peptides:*

1equivalent of *N*-Acetyl-homocysteine-thiolactone was mixed with 2 equivalent of an amino acid in 5 mL of degazed distilled water. The solution was basified to pH 8 by adding NaHCO<sub>3</sub>. The mixture was stirred at 45 °C for 24 hours. The crude mixture was filtered on acid cation exchange resin washed priory with HCl 1M solution. As the solution moves through the resin bed, the excess of non-reacted amino acid used was fixed on the resin. The resin was then washed with water to recover the formed peptides. The mixture was analyzed by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR in water. We obtained a mixture of disulfurs issued from the oxidation of the products attended:

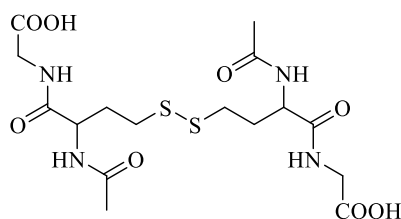
- A disulfur between two *N*-acetyl-homocysteine, coming from the hydrolysis of the *N*-acetyl-thiolactone.
- A symmetric disulfur between two peptides *N*-acetyl-homocysteine-aa attended.
- An asymmetric disulfur between one *N*-acetyl-homocysteine and one one *N*-acetyl-homocysteine-aa.

NMR spectra weren't so clear since all peaks overlapped. So yields given for the disulfides are approximate. Integrations in the <sup>1</sup>H-NMR spectra show global values corresponding to the mixture of all the products present in the media. Then, the fractions exact mass analysis, confirmed the formation of the desired products.

***N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone, **56** + Glycine**

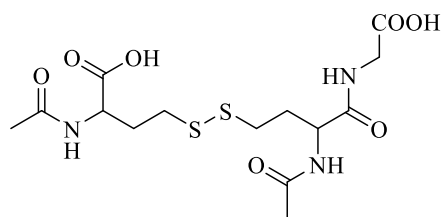
Reaction applied on 20 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.1258 mmol) with 2 equivalents of glycine (19 mg, 0.2516mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 24 hours. The fractions issued from the resin column contained product **70** with a yield of 46 %. Exact mass was obtained confirming the presence of a mixture of product **69** and **70** in the mixture.

The peaks integration in the <sup>1</sup>H-NMR spectrum showed that the major product was product **70**.

**70**

**<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 4.42 (dd, J = 4, 8 Hz, 2H), 3.92 (dd, J= 17, 30 Hz, 4H), 2.79 - 2.60 (m, 4H), 2.16 - 1.99 (m, 4H), 1.95 (s, 6H). **<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm):** 174.36, 174.12, 172.93, 52.36, 41.02, 33.76, 30.46, 21.71. **HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>: *m/z* = 465.11193, found: *m/z* = 465.11168.

Exact mass proved also the presence of product **69**.

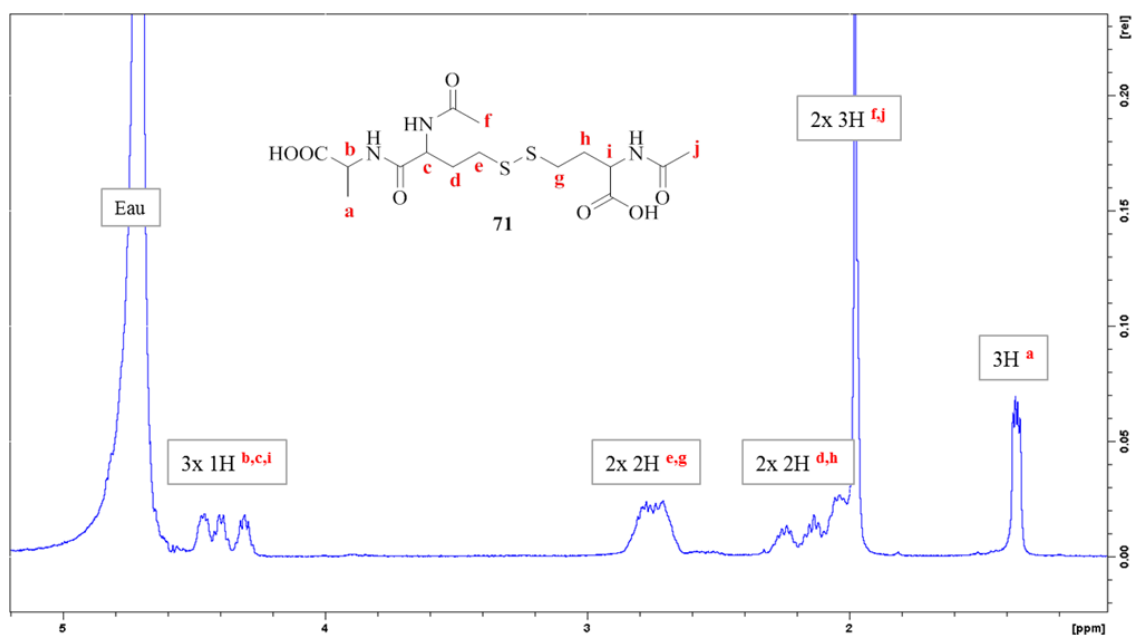
**69**

**HRMS (ESI):** Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub> [M-H]<sup>-</sup>: *m/z* = 408.09047, found: *m/z* = 408.09023.

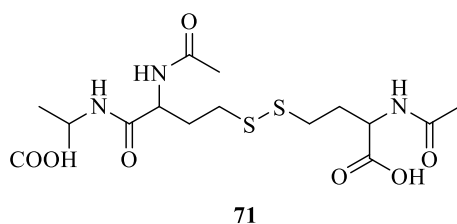
***N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone + Alanine**

Reaction applied on 20 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.1258 mmol) with 2 equivalents of alanine (23 mg, 0.2516mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 48 hours. The fractions issued from the resin column contained products **58**, **71** and **72**. This was confirmed by exact mass analysis of the fraction.

The peaks integration in the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum showed that the major product was product **71** (53% yield).

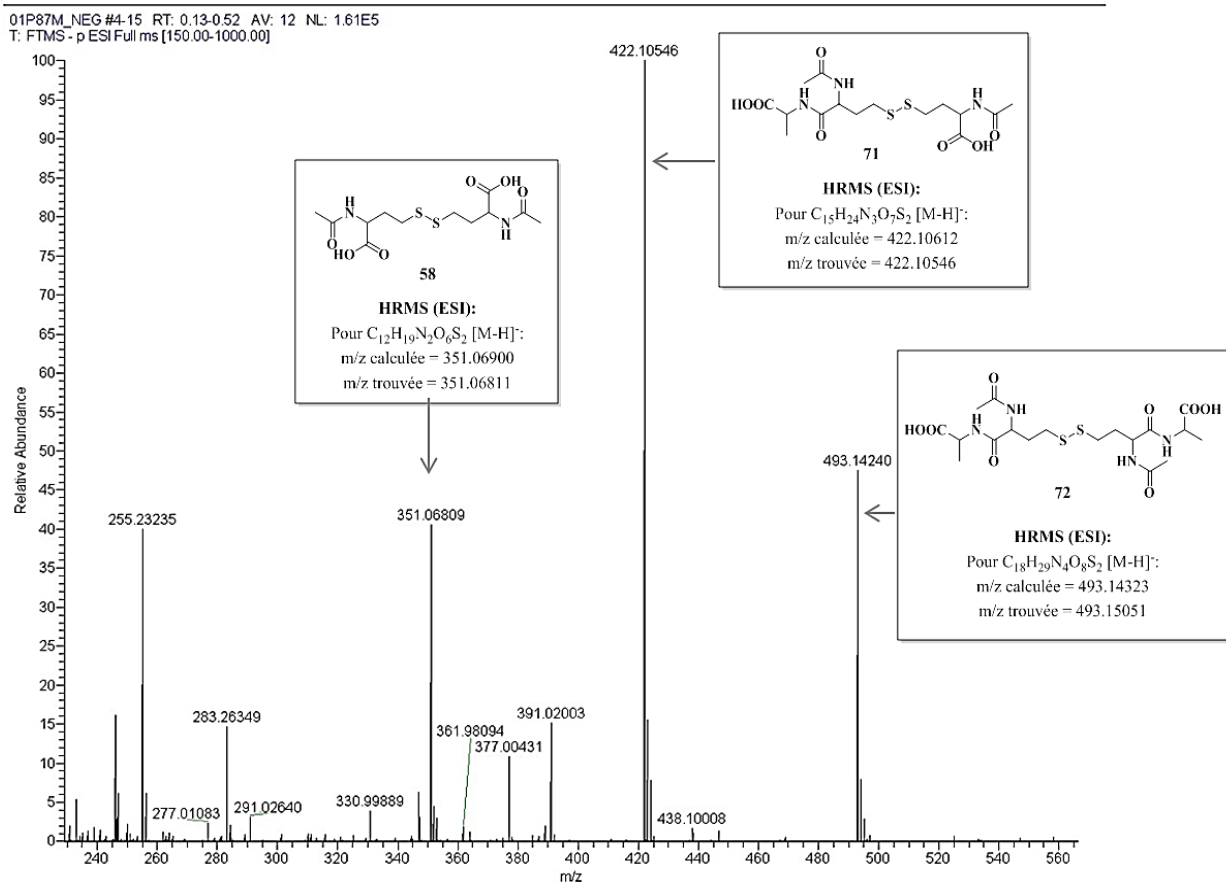


**E.P.14.**  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of **71**

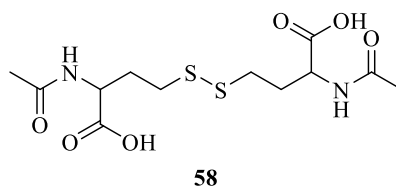


$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ( $\delta$ , ppm): 4.46 (m, 1H), 4.39 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 2.87 - 2.65 (m, 4H), 2.30 - 2.00 (m, 4H), 1.97 (s, 6H), 1.36 (m, 3H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ( $\delta$ , ppm): 176.33, 176.28, 175.52, 174.18, 173.29, 52.42, 51.46, 48.75, 34.02, 33.75, 30.65, 30.00, 21.63, 16.10, 16.04. **HRMS (ESI)**: Calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$   $[\text{M-H}]^-$ :  $m/z$  = 422.10612, found:  $m/z$  = 422.10546.

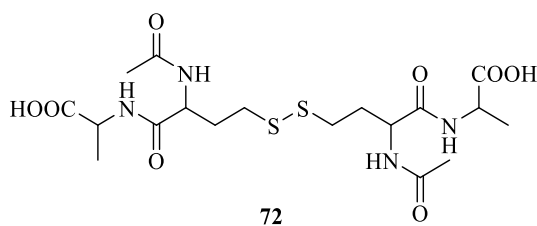
Exact mass was obtained confirming the presence of a mixture of product **58**, **72** along with **71**.



### E.P.15. Mass spectrum of **58**, **71** and **72**



HRMS (ESI): Calcd for  $C_{12}H_{19}N_2O_6S_2$  [M-H]:  $m/z$  = 351.06900, found:  $m/z$  = 351.06811.

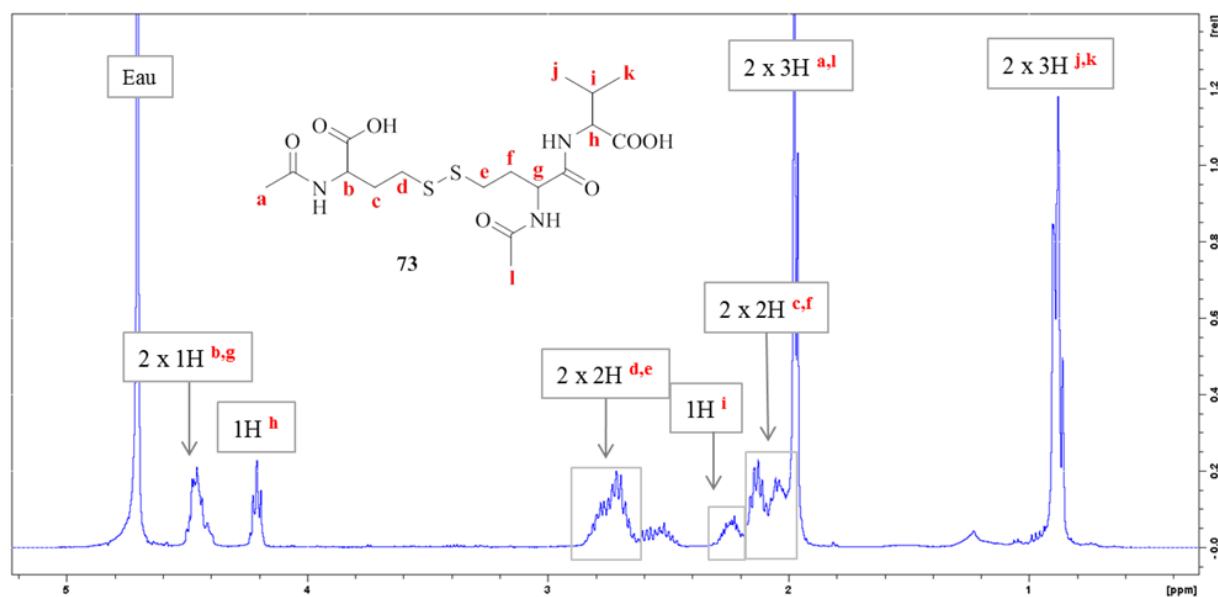


HRMS (ESI): Calcd for  $C_{18}H_{29}N_4O_8S_2$  [M-H]:  $m/z$  = 493.14323, found:  $m/z$  = 493.15051.

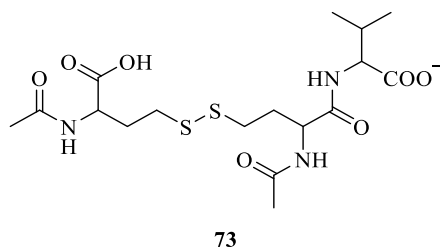
***N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone + Valine**

Reaction applied on 20 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.1258 mmol) with 2 equivalents of valine (29 mg, 0.2516mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 52 hours. The fractions issued from the resin column contained products **58**, **73** and **74**. This was confirmed by exact mass analysis of the fraction.

The peaks integration in the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum showed that the major product was product **73** (48% yield).

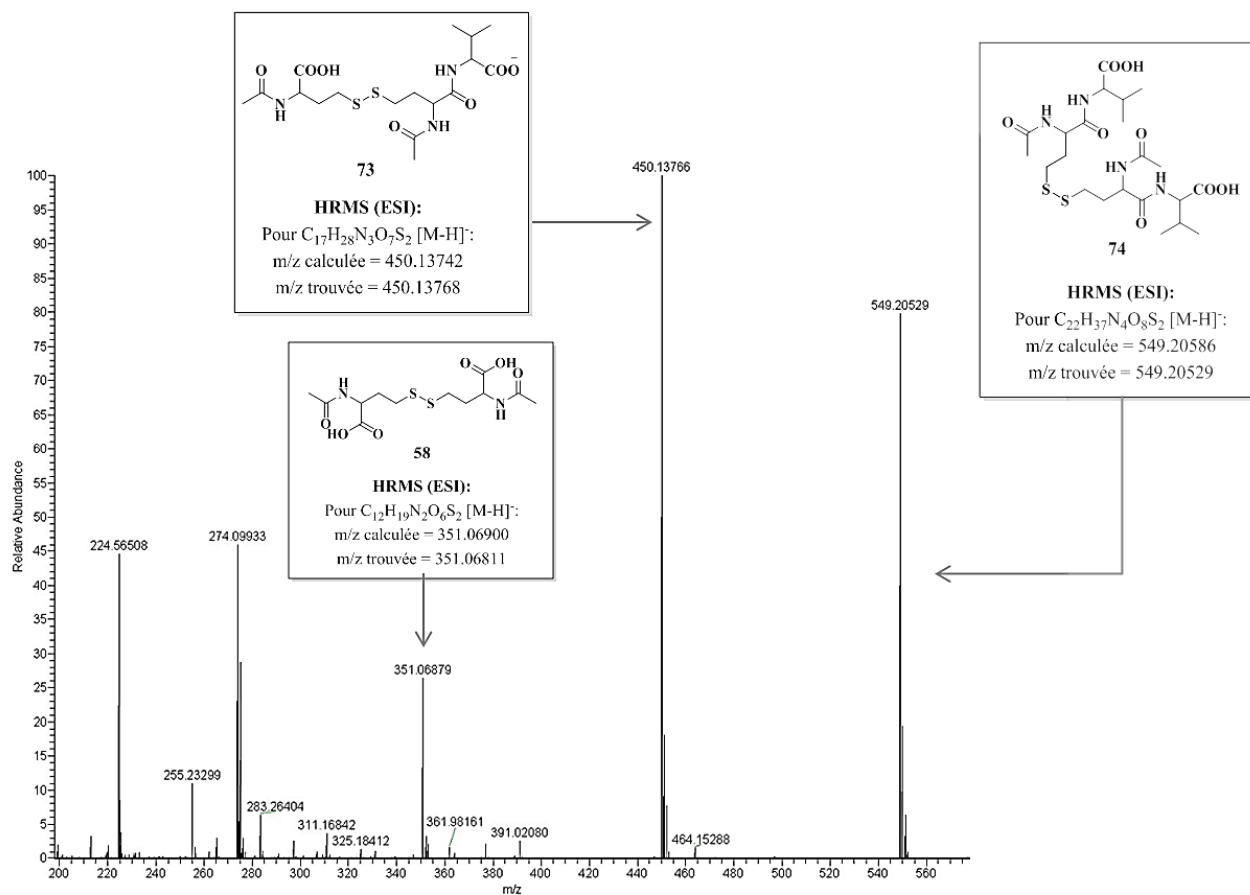


**E.P.16.**  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of **73**

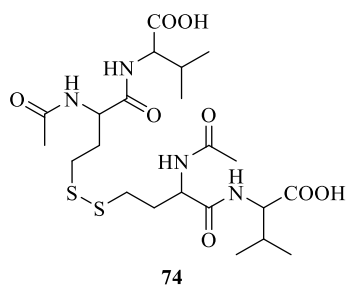


$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ( $\delta$ , ppm): 4.47 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.21 (m, 1H), 2.86 - 2.45 (m, 4H), 2.31 - 2.00 (m, 4H), 1.99 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 0.92 (t,  $J = 6$  Hz, 6H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ( $\delta$ , ppm): 175.40, 175.11, 174.24, 174.09, 173.61, 58.42, 52.58, 51.44, 51.41, 34.04, 33.76, 31.00, 30.03, 21.66, 18.54, 18.33, 17.26. **HRMS (ESI)**: Calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2$  [ $\text{M-H}$ ] $^-$ :  $m/z = 450.13741$ , found:  $m/z = 450.13768$ .

Exact mass confirmed the formation of products **58** and **74** along with **73**.



### E.P.17. Mass spectrum of **58**, **73** and **74**



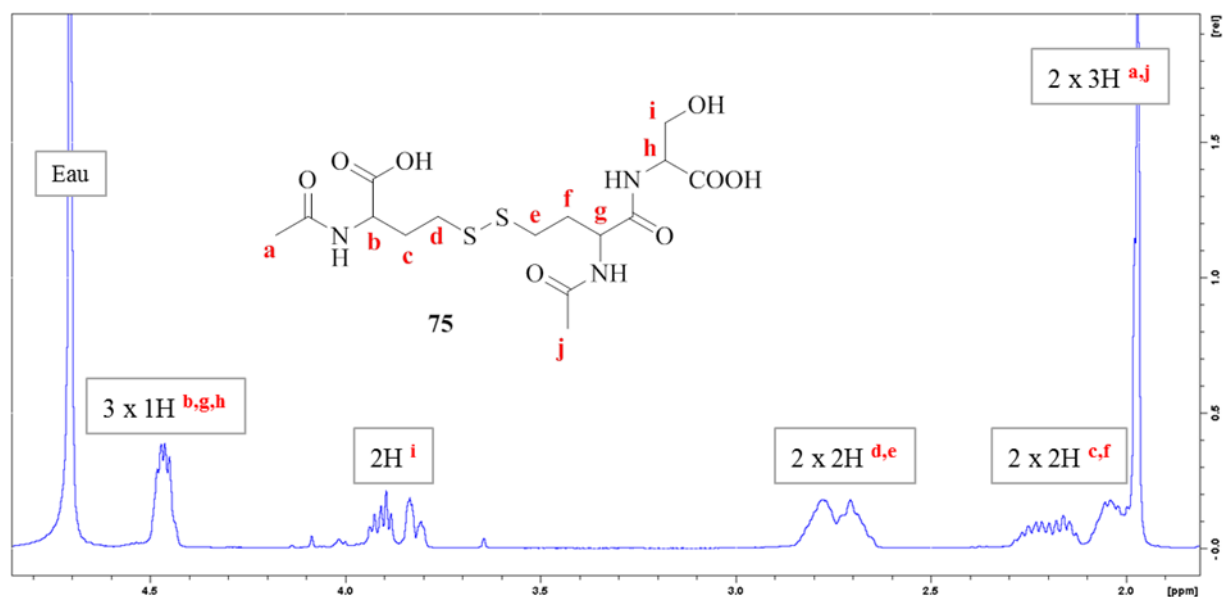
**HRMS (ESI):** Calcd for  $C_{22}H_{37}N_4O_8S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z$  = 549.20586, found:  $m/z$  = 549.20529.



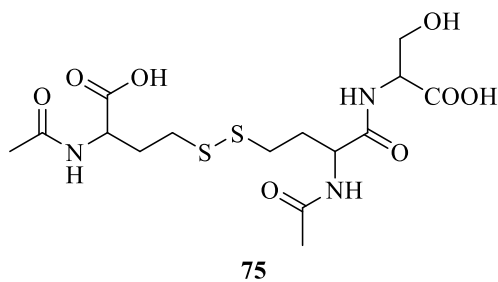
***N*-Acetyl Homocysteine Thiolactone + Serine**

Reaction applied on 20 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.1258 mmol) with 2 equivalents of serine (27 mg, 0.2516mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 64 hours. The fractions issued from the resin column contained products **58**, **75** and **76**. This was confirmed by exact mass analysis of the fraction.

The peaks integration in the  $^1\text{H-NMR}$  spectrum showed that the major product was product **75** (40% yield).

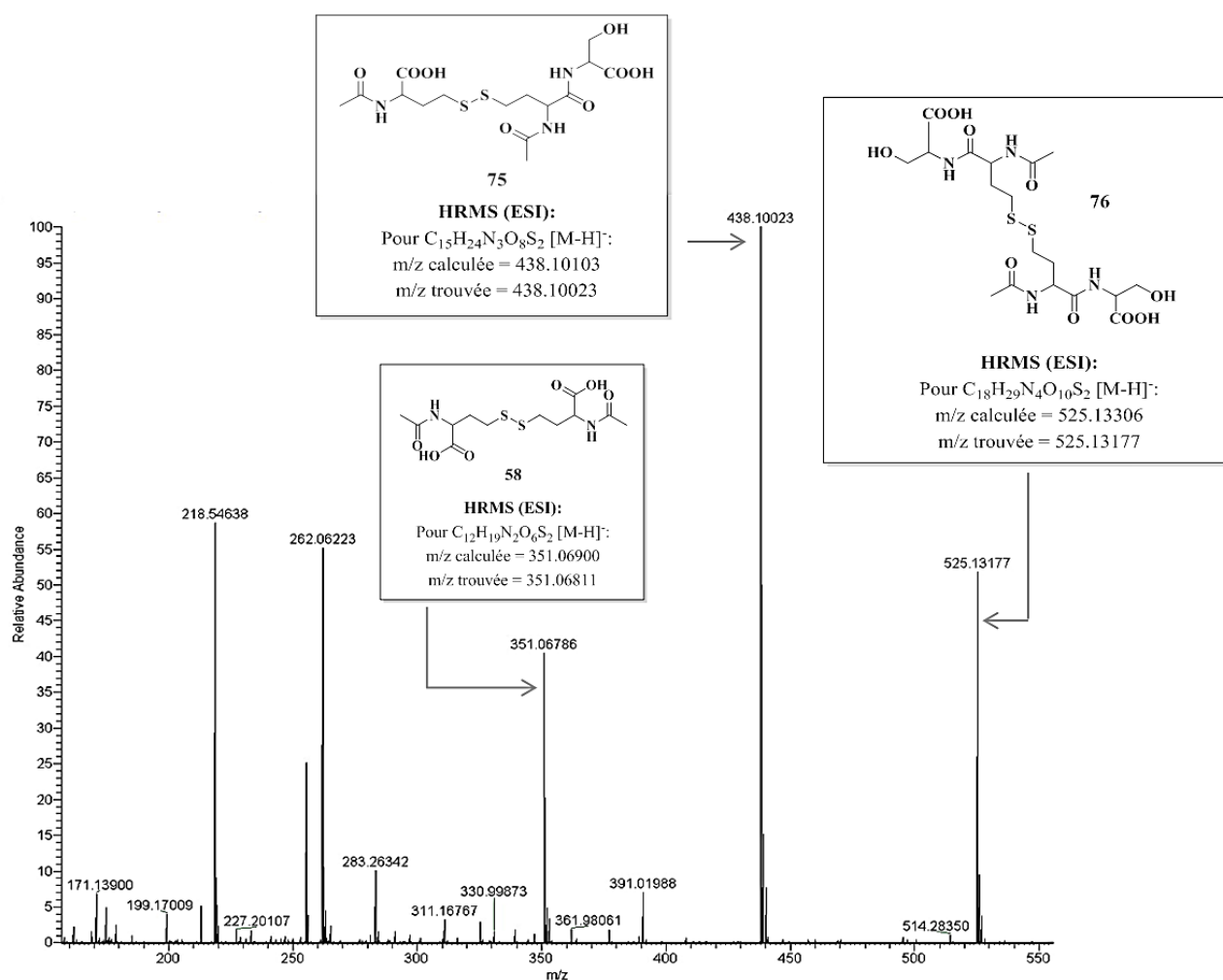


**E.P.18.**  $^1\text{H-NMR}$  spectrum of **75**

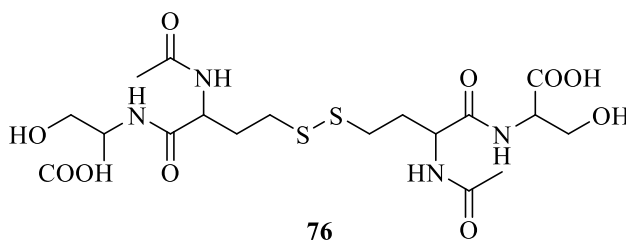


$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ( $\delta$ , ppm): 4.50 - 4.45 (m, 3H), 3.95 - 3.79 (m, 2H), 2.85 - 2.64 (m, 4H), 2.29 - 1.99 (m, 4H), 1.97 (s, 3H), 1.96 (s, 3H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) ( $\delta$ , ppm): 175.35, 174.26, 173.60, 173.15, 173.05, 60.94, 54.85, 52.43, 51.34, 34.01, 33.75, 30.68, 29.94, 21.74, 21.63. **HRMS (ESI)**: Calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}_2$  [ $\text{M-H}$ ] $^-$ :  $m/z$  = 438.10103, found:  $m/z$  = 438.10023.

Exact mass confirmed the formation of products **58** and **76** along with **75**.



**E.P.19. Mass spectrum of 58, 75 and 76**

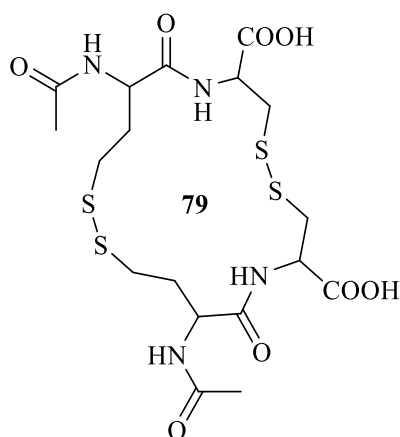


**HRMS (ESI):** Calcd for  $C_{18}H_{29}N_4O_{10}S_2$  [M-H]<sup>-</sup>:  $m/z = 525.13306$ , found:  $m/z = 525.13177$ .

**N-Acetyl Homocysteine Thiolactone + Cysteine**

Reaction applied on 20 mg *N*-acetyl-homocysteine thiolactone **56** (0.1258 mmol) with 2 equivalents of cysteine (31 mg, 0.2516mmol). The mixture was stirred at 45 °C for 24 hours. The fractions issued from the resin column contained products **79** and **80**. This was confirmed by exact mass analysis of the fraction.

The peaks integration in the <sup>1</sup>H-NMR spectrum showed that the major product was product **79** (*N*-acetyl-Hcy-Cys, **77** was obtained with 66% yield).

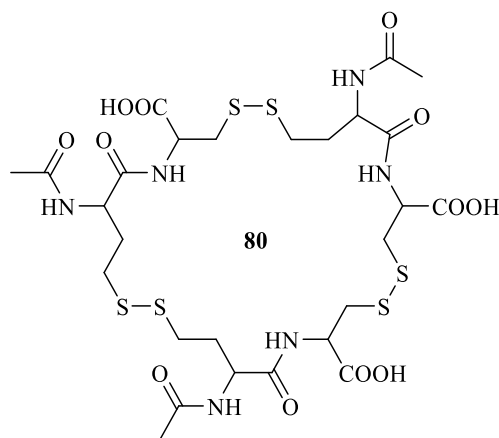


<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O) (δ, ppm): 4.50 (m, 1H), 4.45 (m, 1H), 4.35 (m, 1H), 4.22 (m, 1H), 3.55 – 3.22 (m, 4H), 3.16 – 2.68 (m, 4H), 2.34 – 2.01 (m, 4H), 1.98 (s, 3H), 1.95 (s, 3H).

HRMS (ESI): Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>S<sub>4</sub> [M-H]<sup>-</sup>: *m/z* = 555.07172, found: *m/z* = 555.07036.

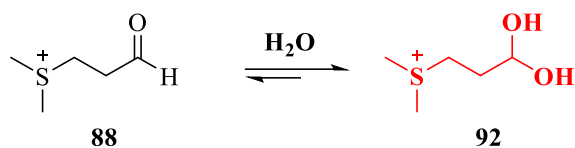
<sup>13</sup>C-NMR spectra wasn't conclusive.

Exact mass was after obtained confirming the formation of product **80**, alongside **79**.

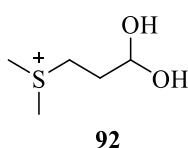


HRMS (ESI): Calcd for C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>N<sub>6</sub>O<sub>12</sub>S<sub>6</sub> [M-H]<sup>-</sup>: *m/z* = 833.11122, found: *m/z* = 833.10883.

## DMS + Acrolein

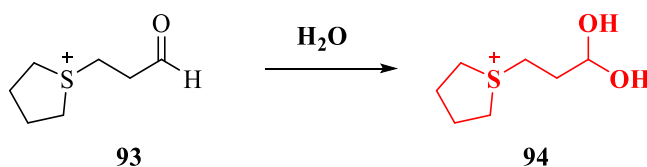


A mixture of DMS (1.02 mL, 14 mmol 1 equiv.) and acrolein (1 mL, 14 mmol, 1equiv.) in aqueous hydrochloric acid (2N, mL) was heated to 45 °C for 2 hours. A total conversion was observed. The only product obtained was **92** with 98% yield (yellowish oil) after evaporation of the solvent.

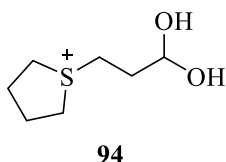


**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) δ 4.94 (1H), 3.11 (t, J = 8, 15 Hz, 2H), 2.65 (s, 6H), 1.83 (q, 2H). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) δ 88.8, 38.9, 31.3, 24.9, 24.8.

## THT + Acrolein

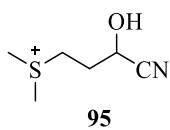


A mixture of THT (1.23 mL, 14 mmol 1 equiv.) and acrolein (1 mL, 14 mmol, 1equiv.) in aqueous hydrochloric acid (2N, mL) was heated to 45 °C for 24 hours. The mixture was washed with diethyl ether and concentrated under vacuum. A yellowish oil was obtained (65% yield).



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) δ 5.06 (t, J = 6, 11 Hz, 1H), 3.43 (m, 2H), 3.27 (m, 2H), 3.13 (t, J = 7, 14 Hz, 2H), 2.19 (m, 2H), 2.12 (m, 2H), 1.95 (q, 2H). **<sup>13</sup>C-NMR** (125 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) δ 88.7, 43.73 (deux CH<sub>2</sub>), 38.0, 32.6, 28.2 (deux CH<sub>2</sub>).

### Cyanohydrin of SMM



To the product **92** previously obtained, an excess of pyruvonnitrile (0.1 mL) was added. The reaction was stirred at 45 °C. After 72 hours of reaction, product **95** was obtained with 98% yield.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, H<sub>2</sub>O + D<sub>2</sub>O) δ 4.47 (t, J = 7, 12 Hz, 1H), 3.11 (t, J = 7, 15 Hz, 2H), 2.58 (s, 3H), 2.57 (s, 3H), 2.02 (m, 2H).

# **Résumé / Abstract**



## Résumé

La synthèse des acides aminés et des peptides est un des problèmes majeurs de la chimie prébiotique.

Notre travail débute par une étude de la synthèse de la cystéine à partir du mercaptoacétaldéhyde. Le mercaptoacétaldéhyde est formé à partir du chloroacétaldéhyde qui lui-même est obtenu par chloration de l'acétaldéhyde. Nous avons ensuite cyclisé l'homocystéine dans l'eau pour former sa thiolactone, un cycle à 5 chaînons, capable de réagir avec des acides aminés et former des liaisons peptidiques. Nous avons testé la formation de peptides à partir de la thiolactone de l'homocystéine ainsi qu'à partir de ses dérivés formylé et acétylé. Enfin, nous avons tenté de synthétiser la S-méthyl méthionine, SMM, un donneur de méthyle potentiel, analogue simplifié de la S-adenosyl méthionine, SAM. Un intermédiaire important a été obtenu, mais notre voie de synthèse n'a pas conduit à la SMM. Nous avons testé des transferts de méthyle vers l'homocystéine et la cystéine.

Nos résultats soutiennent le fait que des molécules sulfurées auraient joué un rôle important dans le développement de la vie sur Terre.

**Mots-clés :** origine de la vie sur Terre, chimie prébiotique, cystéine, homocystéine, thiolactone de l'homocystéine, peptides, *N*-formyl-thiolactone de l'homocystéine, *N*-acétyl-thiolactone de l'homocystéine, SMM.

## Abstract

The synthesis of amino acids and peptides is one of the major problems of prebiotic chemistry.

Our work begins with a study of the synthesis of cysteine from mercaptoacetaldehyde. Mercaptoacetaldehyde was formed from chloroacetaldehyde, itself obtained by chlorination of acetaldehyde. We then cyclized homocysteine in water to form its thiolactone, a 5-membered ring, capable of reacting with amino acids and forming peptide bonds. We tested the formation of peptides from homocysteine thiolactone as well as from its formyl and acetyl derivatives. Finally, we tried to synthesize S-methyl methionine, SMM, a potential methyl donor, a simplified analogue of S-adenosyl methionine, SAM. An important intermediate was obtained, but our synthetic route did not lead to SMM. We tested methyl transfers to homocysteine and cysteine.

Our results support the fact that sulfur molecules would have played an important role in the development of life on Earth.

**Keywords:** Origin of life on earth, prebiotic chemistry, cysteine, homocysteine, homocysteine thiolactone, peptides, *N*-formyl homocysteine thiolactone, *N*-acetyl homocysteine thiolactone, SMM.



