



HAL
open science

Chimie prébiotique : décarboxylation oxydative et cycle des acides tricarboxyliques inverse (rTCA)

Naoual Leqraa

► **To cite this version:**

Naoual Leqraa. Chimie prébiotique : décarboxylation oxydative et cycle des acides tricarboxyliques inverse (rTCA). Biochimie [q-bio.BM]. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2021. Français. NNT : 2021GRALV063 . tel-03767543

HAL Id: tel-03767543

<https://theses.hal.science/tel-03767543v1>

Submitted on 2 Sep 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 Biologie

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Naoual LEQRAA

Thèse dirigée par **Yannick VALLEE**, UGA
et co-encadrée par **Yvain NICOLET**, IBS-CEA

préparée au sein du **Laboratoire Département de Chimie
Moléculaire**
dans **l'École Doctorale Chimie et Sciences du Vivant**

**Chimie prébiotique : Décarboxylation oxydative
et cycle des acides tricarboxyliques inverse
(rTCA)**

**Prebiotic chemistry: Oxidative decarboxylation
and reverse tricarboxylic acid cycle (rTCA)**

Thèse soutenue publiquement le **17 décembre 2021**,
devant le jury composé de :

Madame Maguy JABER

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Sorbonne Université, Rapporteuse

Monsieur Grégoire DANGER

MAITRE DE CONFERENCE HDR, Aix-Marseille Université, Rapporteur

Madame Kamila MUCHOWSKA

CHARGE DE RECHERCHE, CNRS délégation Alsace, Examinatrice

Monsieur Eric SAINT AMAN

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes,
Président de jury

Monsieur YANNICK VALLEE

PROFESSEUR DES UNIVERSITES, Université Grenoble Alpes,
Directeur de thèse

Monsieur Yvain NICOLET

CADRE SCIENTIFIQUE DES EPIC, CEA Grenoble, Examinateur



Dédié à mes parents, et à ma petite sœur

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier chaleureusement mon directeur de thèse, Pr. Yannick VALLEE pour cette opportunité, la confiance qu'il m'a accordée et son soutien constant durant ces 3 ans, je lui remercie aussi pour sa compréhension, sa gentillesse et ses conseils. Ensuite je remercie mon co-encadrant Yvain NICOLET pour cette opportunité, sa disponibilité et ses explications que ce soit pour la rédaction ou pour le déroulement des travaux de ma thèse.

Je tiens à remercier de manière très particulière Pierre Yves CHAVANT qui m'a aidé de toutes les manières possibles à réussir et gérer les difficultés rencontrées au laboratoire.

Je souhaite ensuite remercier Pr. Maguy JABER, Dr. Gregoire DANGER, Dr. Kamila MUCHOWSKA et Pr. Eric SAINT AMAN d'avoir accepté faire partie du jury de ma thèse de doctorat.

Merci au Dr. David MARTIN et Dr. Sandrine OLLAGNIERDE CHOUDENS pour leurs précieux commentaires durant l'examen de mes rapports et présentations CSI. Je suis très reconnaissante à Anne MILET, Fanny VAZART et Florian MOLTON pour leurs contributions de valeur à nos recherches. Merci beaucoup à Rodolphe GUÉRET, Laure FORT et Amélie DURAND pour le temps consacré à l'analyse de mes échantillons. Je remercie Nicolas ALTOUNIAN et Romain SANAHUGES pour leur assistance en RMN.

Ensuite je souhaite remercier tous les membres de l'équipe SeRCO en particulier mes collègues du 1^{ère} étage, merci pour leur accueil et aide tout au long de mon parcours doctoral. Merci également à tous les gens sympas du DCM.

Je souhaite également remercier mes stagiaires : Coline, Muhammad, Sarah, Ismail et Emma. Je tiens à vous remercier autant pour le travail fourni (en particulier Muhammad Sani) que pour votre agréable compagnie.

Merci à mes amies : Dina pour tes encouragements et ton soutien dont tu as fait preuve depuis que je suis arrivée en France, merci également pour les Pique-niques et le temps passé ensemble; Rajaa je te remercie pour le soutien que tu m'as montré pendant mes moments difficiles, également pour les week-ends passés ensemble. Khadija merci pour ton soutien et

aussi pour les discussions au téléphone. Ibrahim, ami et collègue je te remercie infiniment pour toute l'aide que tu m'as apportée depuis mon stage en 2015, aussi pour les repas partagés. Tarik merci beaucoup pour tout. Maroua, je suis très contente de faire ta connaissance. Mehdi et Fatima-Zehra merci pour tout également.

En dernier lieu, je remercie énormément ma famille, en particulier mes parents pour leur soutien sans faille. Merci à ma petite sœur « Wissal » pour tout et pour sa présence dans ma vie (bon je ne parle pas bien sur des bêtises). Merci à mes tantes, cousines (Fadoua en particulier) et à mon oncle et sa famille en Italie.

Table des matières

<i>Introduction</i>	5
A. Comment définir la vie ?.....	5
B. La terre primitive	11
C. Origine de l'eau et des espèces chimiques simples.....	18
D. Le soufre et ses dérivés dans un monde prébiotique.....	46
E. Hypothèses globales sur l'origine abiotique de la vie.....	54
F. D'un ancêtre commun à l'arbre de la vie.....	45
G. Les traces du proto-métabolisme dans la biologie d'aujourd'hui.....	57
<i>Résumé</i>	58
<i>Chapitre I : Synthèse des disulfures dans un monde prébiotique</i>	61
I.1. Synthèse d'un premier disulfure dans un monde prébiotique	63
I.2. Réaction d'échange thiol-disulfure	67
<i>Chapitre II : Synthèse de thioesters par décarboxylation oxydative des cétoacides</i>	74
II.1 Décarboxylation oxydative du pyruvate	75
II.1.1 Décarboxylation oxydative sous irradiations UV : expériences	75
II.1.2 Décarboxylation oxydative sous irradiations UV : interprétation mécanistique.....	79
II.1.3. Etude du mécanisme par résonance paramagnétique électronique	81
II.2 Décarboxylation oxydative du α -cétoglutarate.....	85
II.2.1 Décarboxylation oxydative sous irradiations UV	85
II.2.2 L'énergie solaire comme source des irradiations.....	87
<i>Chapitre III : Vers une version primitive du cycle de Krebs inverse</i>	88
III.1. Synthèse des anhydrides et rétroaldolisation.....	91

Table des matières

III.1.1 Résultats préliminaires : Réactivité comparée d'un monoacide et diacide carboxyliques.....	92
III.1.2. Formation de l'anhydride succinique	93
III.1.3. Ouverture de l'anhydride succinique par les thiols	97
III.1.4. Formation de l'anhydride malique.....	98
III.1.5. Réaction avec un thiol, rétroaldolisation	101
III.1.6. Formation de l'anhydride citrique	107
III.1.7. Ouverture de l'anhydride citrique.....	110
III.2. Carboxylation réductrice	112
III.2.1. Carboxylation réductrice artificielle	113
III.2.2. Analogues du cofacteur du pyruvate déshydrogénase : cycle hétéroaromatiques.....	114
A. La cystéine comme source des deux carbones et des deux hétéroatomes S et N.....	114
B. Le glyoxal comme source de deux carbones	116
C. Synthèse du thiazole en employant le thiocyanate d'ammonium	119
D. Synthèse et stabilité dans l'eau d'hétérocycles aromatiques à cinq chaînons.....	119
E. Réactivité des hétérocycles aromatiques à cinq chaînons	121
Chapitre III-Annexe.....	125
Conclusion	127
Perspective	130
Experimental part.....	133
References.....	15

Liste des abréviations

Liste des abréviations et symboles

AA	Acide aminé
A-CoA	Analogue de la coenzyme A : <i>N</i> -acétylcysteamine
Ac	Acétyle
Ac. Citr	Acide citrique
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
Atm	Atmosphère
Ar	Argon
°C	Degré Celsius
<i>C</i> -acon	<i>Cis</i> -aconitate
<i>ca.</i>	Environ
CoA	Coenzyme A
CoM	Coenzyme M
COSY	Correlation spectroscopy
DMPO	5,5-diméthyl-1-pyrroline N-oxyde
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DMT	2,3-diméthyltartrate
DTT	Dithiothréitol
Equiv.	Equivalent

Liste des abréviations

ESI	Electrospray ionization
GHz	Gigahertz
G	Gauss
Ga	Milliard d'années
Gly	Glycine
H	Hour
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de couplage en Hz
j	Jour
K	Kelvin
Kcal	kilocalorie
[M]	Mercaptoéthanol
Max	Maximum
Me	Méthyle
MeI	Iodométhane
MeOH	Méthanol
Mmol	millimole
MNP	2-méthyl-2-nitrosopropane
NMP	Nucléoside monophosphate (Nucléotide)

Liste des abréviations

Nu	Nucléophile
Pi	Monophosphate
PBN	<i>N-tert-butyl-α-phenylnitron</i> e
Ppm	Part per million
Pyr	Pyruvate
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RPE	Résonance paramagnétique électronique
rTCA	Reductive (or reverse) tricarboxylic acid
rt	Room temperature
sec	Seconde
T-acon	<i>Trans</i> -Aconitate
Ta	Température ambiante
TLC	Thin Layer Chromatography
TMS	Triméthylsilyle
TS	Transition state (état de transition)
UV	Ultraviolet
Δ	Chauffage

A. Comment définir La vie ?

"There are concepts that can be defined, whereas others only have a history. Precise definitions are achievable in mathematics but, as argued by Immanuel Kant, empirical concepts such as "life" can only be made explicit, in ways that are strongly dependent on historical circumstances" Friedrich Nietzsche.¹

Malgré les avancées spectaculaires et les découvertes impressionnantes dans les différentes sciences, le concept de vie reste toujours une énigme, sans définition générale et précise. Les observations réalisées sur les différents systèmes vivants afin d'en retirer une conclusion globale n'ont abouti qu'à une liste de caractérisations phénoménologiques de la vie ; des caractéristiques qui peuvent changer, être dépassées ou pas assez larges.

A travers les millénaires, l'esprit humain a toujours voulu donner des réponses aux phénomènes éprouvés au sein de son environnement, dont bien sûr la question de la vie et la mort. A travers l'histoire de l'humanité, les religions, les sciences, la philosophie et parfois même les contes et les mythes ont essayé d'apporter des réponses à ces interrogations.

Les religions abrahamiques (et d'une façon plus générale le créationnisme) admettent que la vie, la mort, la terre et par extension tout l'univers sont des créations de Dieu et que l'homme a été conçu séparément des autres espèces. Elles s'opposent au consensus scientifique et plus précisément à la théorie d'évolution biologique darwinienne. Cette évolution qui n'est qu'une propriété de la vie mais pas la vie elle-même.

Dieu dit : *" Que la terre produise des êtres vivants selon leur espèce : bestiaux, bestioles, bêtes sauvages selon leur espèce et il en fut ainsi".*

Sainte Bible, Genèse 1 : 26

Dieu dit : *" Faisons l'homme à notre image, comme notre ressemblance, et qu'ils dominent sur les poissons de la mer, les oiseaux du ciel, les bestiaux, toutes les bêtes sauvages et toutes les bestioles qui rampent sur la terre".*

Sainte Bible, Genèse 1 : 26

¹ Lazcano, A. What Is Life? A brief historical overview. *Chem. Biodivers.* **2008**, 5(1), 1-15.

Dieu dit : " Il a créé l'homme de l'argile sèche et sonnante qui est pareille à de la poterie cuite".

Saint Coran, chapitre 55, verset 14

Dieu dit : " Comment pouvez-vous ne pas croire en Dieu ? Il vous a donné la vie, alors que vous n'existiez pas. Il vous fera mourir, puis il vous ressuscitera, et vous serez ramenés à lui".

Saint Coran, chapitre 2, verset 28

Il est clair que l'absence d'une définition de la vie pose toujours un vrai problème, mais cela n'implique pas de nier les propositions formulées dans les différentes disciplines et qui se basent parfois sur les données d'observations, des prédictions ou/et sur l'histoire de la vie elle-même, une histoire qui aurait commencé il y a environ 3.8 milliards d'année sur la terre.

Afin de déceler le scénario de la vie sur notre planète, il est important de suivre son évolution et son passage des premiers organismes simples (des bactéries, des archées) aux créatures complexes que nous voyons sur terre aujourd'hui. Pour cela nous citons dans cette thèse les différentes théories sur l'évolution et l'origine de la vie du monde oriental au monde occidental (*Figure 1*).

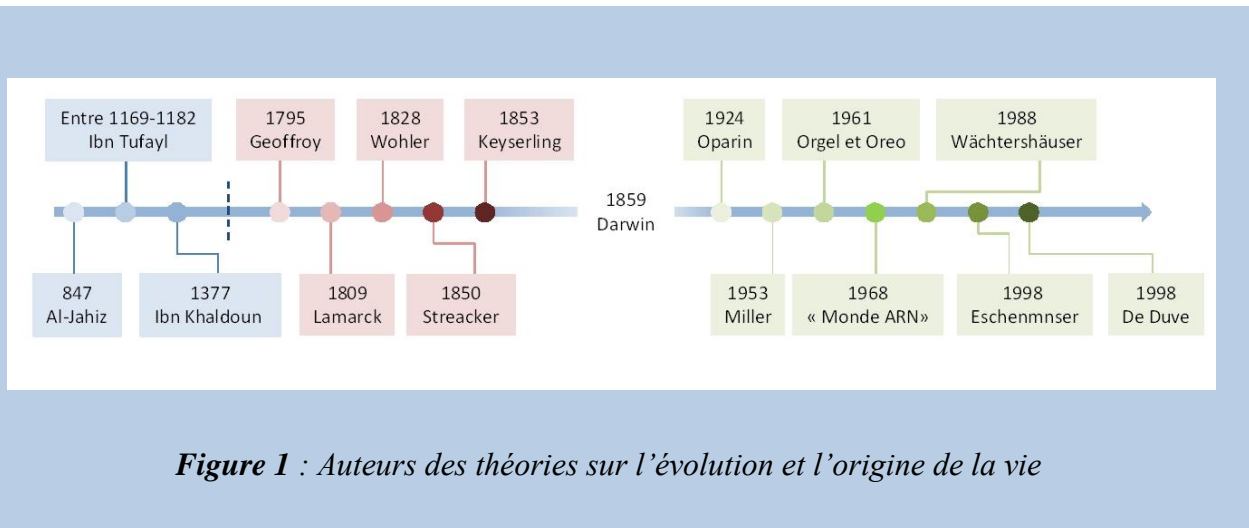


Figure 1 : Auteurs des théories sur l'évolution et l'origine de la vie

L'origine de la vie dans le monde oriental

Abu Uthman Amr ibn Baḥr al-Kinani al-Baṣri, ou plus simplement Al-Jahiz, est un zoologiste iraquien très connu pour ses travaux sur l'évolution et le comportement des espèces animales résumés dans son livre Al-Hayawan (l'animal). Il est largement considéré comme le premier universitaire musulman à proposer une théorie biologique évolutive qui, selon certaines sources, était aussi la première dans le domaine de la science.²

Al-Jahiz expliquait le grand impact des conditions environnementales sur la volonté des espèces à s'adapter et survivre. Un impact qu'il a aussi appelé le processus de sélection naturelle, résultant d'un désir inné de l'animal de vivre, tout en prenant en considération les conditions biologiques essentielles à ce phénomène. Une partie des textes d'Al-Jahiz fait allusion à l'évolution humaine et aux similitudes entre les humains et les singes:

« We have seen that some nabatheen [Nabataeans] navigators resembled the ape in some geographical environment, likely we have also seen some people from Morocco and have found them as like al-maskh [a kind of ape], except for a little difference ... And it is possible that the polluted air and water, and dust made this change in the character of these Moroccans ... those changes in their bristles, ears, colours, and form (similar to apes) increase more (Bayrakdar 1983, 312) »

En comparant les observations sur lesquelles les théories darwiniennes sont fondées et celles d'Al-Jahiz, des parallèles évidents peuvent être faits. Néanmoins, une grande différence entre les deux penseurs est que, contrairement à Darwin, Al-Jahiz prend en compte le rôle de Dieu, croyant que les organismes évoluent finalement par la volonté et les conseils divins, développant de nouveaux traits de survie dans le cadre des plans de Dieu pour garder la nature dans l'ordre.²

Un autre cas est celui du philosophe andalou, astronome, médecin, mathématicien, et mystique Ibn Tufayl qui est aussi l'auteur du célèbre roman philosophique *Hayy ibn Yaqdhan*. Un roman qui raconte l'histoire de Hayy (vivant), un garçon qui grandit sur une île avec

² Malik, A. H.; Zeirman, J. M.; Diogo, R. An untold story in biology: the historical continuity of evolutionary ideas of Muslim scholars from the 8th century to Darwin's time. *J. Biol. Educ.* **2018**, *52*, 3-17.

seulement des animaux de compagnie, et qu'il lutte pour survivre, se défendre contre la nature et découvrir des vérités philosophiques. Selon Ibn Tufayl, Hayy provient spontanément d'une argile chaude, humide et fermentée au cours de plusieurs années.

Les écrits d'Ibn Tufayl montrent qu'il croyait à la génération de la vie à partir de la matière inerte et que l'homme est le produit de l'interopérabilité des éléments naturels, qu'il soit né spontanément ou qu'il résulte d'un processus évolutif. Ses descriptions de l'argile et de l'eau bouillante sont particulièrement intéressantes car elles concordent avec l'une des hypothèses les plus discutées de la science moderne sur l'origine de la vie, c'est-à-dire que la vie serait apparue dans des étangs chauds, à partir d'un mélange entre l'eau et d'autres composants inorganiques sur une longue période de temps.

En décrivant les tentatives de Hayy de rivaliser pour la nourriture et de se protéger, Ibn Tufayl a évidemment compris l'adaptation à l'environnement et la lutte pour l'existence, qui sont des concepts évolutifs attribués à Darwin. Pour ces observations ainsi que ses conclusions sur l'origine de la vie à partir de la matière inorganique, les idées d'Ibn Tufayl partagent diverses similitudes avec celles de Darwin et des biologistes évolutionnistes récents.

Quant à lui, l'historien nord-africain Ibn Khaldoun (1332–1406), a présenté des idées similaires à celles de la théorie de l'évolution moderne. Dans son livre *Al-Muqaddimah* connu en occident comme les *Prolégomènes*, il a insisté sur l'évolution de l'homme à partir d'un ancêtre animal, il a écrit :

« One should then look at the world of creation. It started out from the minerals and progressed, in an ingenious, gradual manner, to plants and animals. The last stage of minerals is connected with the first stage of plants, such as herbs and seedless plants. The last stage of plants, such as palms and vines, is connected with the first stage of animals, such as snails and shellfish which have only the power of touch. ... The higher stage of man is reached from the world of the monkeys, in which both sagacity and perception are found, but which has not reached the stage of actual reflection and thinking. At this point we come to the first stage of man after (the world of monkeys). This is as far as our (physical) observation extends »

De la même manière qu'el-Jahiz, Ibn Khaldoun a observé le contraste de la couleur de peau entre les habitants du nord et du sud, et a suggéré une relation causale entre les climats chauds

du sud et la pigmentation sombre, une idée désormais connue pour être correcte. Il a aussi écrit sur les changements héréditaires que les humains peuvent subir, et qui affectent les générations futures. Selon lui c'est ainsi que Dieu procède avec ses serviteurs.

L'origine de la vie dans le monde occidental

Le naturaliste français Jean-Baptiste de Lamarck (1744-1829) a été le premier à éveiller par ses conclusions une attention sérieuse au sujet de l'évolution des espèces.³ Dans ses publications Lamarck soutient l'idée que les espèces descendent les unes des autres. Il semble avoir été principalement conduit à cette conclusion par la difficulté rencontrée à distinguer les espèces et les variétés. Lamarck croyait également à une loi de développement progressif, et que toutes formes de vie avaient ainsi tendance à progresser. En outre, il expliquait la présence des espèces simples de nos jours par leur génération spontanée actuelle.

Un autre français, le naturaliste Geoffroy Saint-Hilaire (1772 – 1844) imaginait que ce que nous appelons espèces sont diverses dégénérescences du même type. En 1828 Saint-Hilaire proposa que les mêmes formes n'aient pas été perpétuées depuis l'origine de toutes choses. Il rajouta que les causes de changement seraient principalement appuyées sur les conditions de vie, ou sur le monde ambiant.

Son fils Isidore Geoffroy Saint-Hilaire (1805 – 1861) partageait le même point de vue. Dans ses écritures publiées en 1850, il explique que des caractères spécifiques sont fixes pour chaque espèce, tant qu'elle se perpétue au sein des mêmes circonstances. Ils se modifient si les circonstances ambiantes viennent à changer.

Un autre exemple est celui du comte Alexander Keyserling (1815 – 1891), un géologue et naturaliste germano-balte. Il a suggéré que, comme de nouvelles maladies, censées être causées par des miasmes (une vapeur très désagréable ou malsaine), sont apparues et se sont propagées dans le monde, à certaines périodes, les germes d'espèces existantes peuvent avoir été chimiquement affectés par des molécules ambiantes d'une nature particulière, et ont ainsi donné lieu à de nouvelles formes.

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

Quelques années plus tard Charles Darwin a révolutionné le monde scientifique avec ses travaux sur l'origine de la vie en proposant les théories d'évolution et de la sélection naturelle, suite à ses observations lors de ses voyages, notamment sur les îles Galápagos.

« Finally, the several classes of facts which have been considered in this chapter, seem to me to proclaim so plainly, that the innumerable species, genera, and families of organic beings, with which this world is peopled, have all descended, each within its own class or group, from common parents, and have all been modified in the course of descent, that I should without hesitation adopt this view, even if it were unsupported by other facts or arguments »

Origin of species-chapter 14, page 378.

« It is often said that all the conditions for the first production of a living organism are now present, which could ever have been present.— But if (& oh what a big if) we could conceive in some warm little pond with all sorts of ammonia & phosphoric salts,—light, heat, electricity &c present, that a protein compound was chemically formed, ready to undergo still more complex changes, at the present day such matter we be instantly devoured, or absorbed, which would not have been the case before living creatures were formed »

Letter from Darwin to J. D. Hooker, 1 February 1871

A travers son ouvrage Darwin développe les principes de ses théories qui peuvent être résumés dans trois axes :

Génération spontanée (Abiogenèse) : Selon Darwin la première forme de vie sur la terre serait née dans un étang chaud contenant de l'ammoniaque et des sels phosphoriques, en présence de lumière, de chaleur et des conditions environnementales favorables à l'émergence de la vie. Les détails de ce concept seront détaillés dans la partie concernant l'évolution chimique.

Caractéristiques avantageuses héréditaires : Selon la théorie de l'évolution, les caractères acquis au cours de l'existence peuvent se transmettre à la descendance.

Sélection naturelle : Désigne l'ensemble de phénomènes qui explicite les différences dans le succès reproductif chez les organismes. Elle est définie comme l'avantage, le caractère reproductif, permettant aux individus le possédant d'assurer une descendance plus fertile que les individus ne l'ayant pas.

La théorie de l'évolution au regard du grand public

Parmi les facteurs qui influencent et dirigent la façon dont le grand public reçoit les idées scientifiques, la capacité des personnes à saisir les informations et la lentille culturelle à travers laquelle ces informations sont filtrées ont leur importance.⁴ En ce qui concerne la théorie de l'évolution de Charles Darwin beaucoup d'opinions ont été exprimées depuis sa publication il y a 150 ans. En Angleterre, par exemple, l'église a mal réagi à la théorie de Darwin, allant jusqu'à dire qu'y croire c'était mettre son âme en péril. Mais en Chine, les idées de Darwin étaient considérées en accord avec la croyance des confucéens en la perfectibilité de l'ordre cosmique. La théorie évolutionniste est également devenue une base de réflexion pour les mouvements politiques de révolution et de réforme, qui ont finalement jeté les bases du communisme. Dans la Russie du 19^{ième} siècle, une tendance à se méfier du capitalisme a contribué à éloigner les naturalistes d'une vision de l'évolution qui mettait l'accent sur la concurrence entre les espèces. Au lieu de cela, ils ont adopté une «théorie de l'aide mutuelle», un récit centré sur le rôle de la coopération pour assurer la survie dans un environnement difficile.

En Amérique, bien que la théorie de l'évolution soit acceptée par quasiment tous les scientifiques, elle continue d'être rejetée par de nombreuses personnes. Pour de nombreux religieux, la vision darwinienne de la vie - un panorama de lutte brutale et de changement constant - entre en conflit avec le concept judéo-chrétien-islamique.⁵ Selon les créationnistes l'évolution ne permet pas la création de nouvelles structures et espèces.⁶

De plus, affirmer que la vie évolue sans but et en absence de finalité est choquant pour beaucoup car cela se heurte l'idée du sens de la vie.⁷

⁴ Darwin and culture. *Nature* **2009**, 461, 1173-1174.

⁵ Masci, D. The history of the evolution debate in the United States. *Pew research center*. **2019**.

⁶ Anti-Darwin comments outrage researchers. *Nature* **2018**, 554, 16-17.

⁷ Dubochet, J. Why is it so difficult to accept Darwin's theory of evolution? *BioEssays*. **2011**, 33, 240-242.

Au début des années 1980, des penseurs évolutionnistes ont popularisé l'évolution darwinienne. Stephen Jay Gould par exemple a rendu public ses révisions de la théorie darwinienne traditionnelle et ouvert l'évolution de nouveaux à la critique des créationnistes.⁸ Il a fait valoir que ce n'était pas la complexité de la théorie, mais ses implications qui s'étaient révélées si difficiles à gérer pour la société occidentale. Comme Gould l'a compris, le darwinisme a forcé la société humaine à reconnaître que l'évolution de la vie n'avait aucun but, aucune direction, et que le monde était essentiellement matériel.

Nous ne sommes pas tous des scientifiques, mais nous sommes tous, plus ou moins, des philosophes. Tout le monde s'interroge sur le sens de la vie. Sur cette question également, Darwin a quelque chose à dire. Un début possible est une affirmation classique: la science traite de la question «comment ?». Alors que la philosophie traite de la question «pourquoi ?». Les deux affirmations reposent sur de lourdes présuppositions. Le premier implique la causalité. Il incarne l'espoir que les choses peuvent être comprises et finalement maîtrisées, fournissant ainsi une base pour la philosophie des Lumières.

⁸ Sheldon, M, P. Claiming darwin : stephen jay Gould in contests over evolutionary orthodoxy and public perception, *Stud. Hist. Philos. Sci.* **2014**, 45, 139.

B. La terre primitive

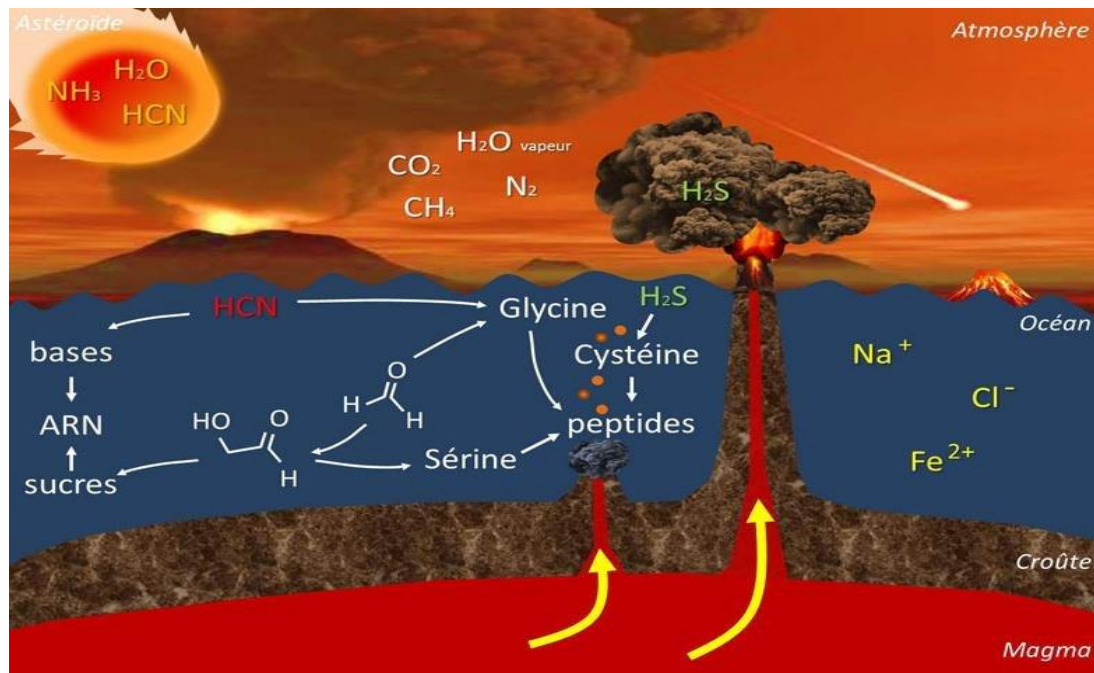


Figure 2 : Une représentation très schématisée de la terre primitive <https://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/etait-vie-chimie-locean-terrestre-y-a-4-milliards-dannees/>

Malgré les découvertes spatiales de plus en plus importantes, à ce jour la vie n'est observée que sur Terre. La première période de l'histoire de la terre, terre primitive ou terre jeune, commence il y a 4.5 Ga (Ga = Milliard d'années) et se poursuit plus au moins jusqu'à la fin du grand bombardement tardif, il y a 3,8 milliards d'années.

Les traces géologiques de cette période, ou éon géologique, appelée « Hadéen » (de "Hadeus", le dieu grec de l'enfer) ont été en grande partie effacées par l'intense activité tectonique de la terre.⁹

Cependant, la découverte importante de zircons détritiques par Jack Hills en Australie a permis de mieux connaître les conditions sur la terre Hadéenne.¹⁰ Des conditions qui auraient

⁹ Pinti, D.L. The origin and evolution of the oceans. *In Lectures in Astrobiology*/ed. par Gargaud, M., Barbier, B., Martin, H., Reisse, J. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, **2005**, Vol. 1, p. 83–112.

permis à ces roches d'avoir une composition magmatique spécifique avec une valeur $\delta^{18}\text{O}$ très élevé (rapport isotopique $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ dans un échantillon).

Pour les granites primitifs, des zircons avec un rapport de $\delta^{18}\text{O}$ très élevé sont connus pour se former dans des magmas subissant une altération, une érosion ou une diagenèse (transformation de sédiments en roches sédimentaires) à basse température et en présence substantiel d'eau.^{11, 12} Cette découverte de zircons détritiques suggère donc la présence de l'eau liquide très tôt dans l'histoire de la terre.

Après la période d'accrétion (*Figure 3*), l'eau se trouvait sur la surface de la terre. Quelques dizaines de millions d'années plus tard, les océans pouvaient avoir atteint les conditions de température, de salinité et de pH propices à l'apparition d'une vie microbienne (peut-être extrémophile¹³).

¹⁰ Valley, J. W.; Peck, W. H.; King, E. M.; Wilde, S. A. A cool early earth. *Geology*, **2002**, *30*, 351-354.

¹¹ Taylor, H. P.; Sheppard, S. M. F. Igneous rocks; I, Processes of isotopic fractionation and isotope systematic. *Rev. Mineral. Geochem*, **1986**, *16*, 227-271.

¹² Gregory, R. T. Oxygen isotope history of seawater revisited: Timescales for boundary event changes in the oxygen isotope composition of seawater. *Stable Isotope Geochemistry: A Tribute to Samuel Epstein*/ed. Par Taylor, H.P.; O'Neill, J. R.; and Kaplan, I.R. Washington: Geochemical Society, **1991**, p, 516.

¹³ Rothschild, L. J. Mancinelli, R. L. Life in Extreme Environments. *Nature* **2001**, *409*, 1092-1101.

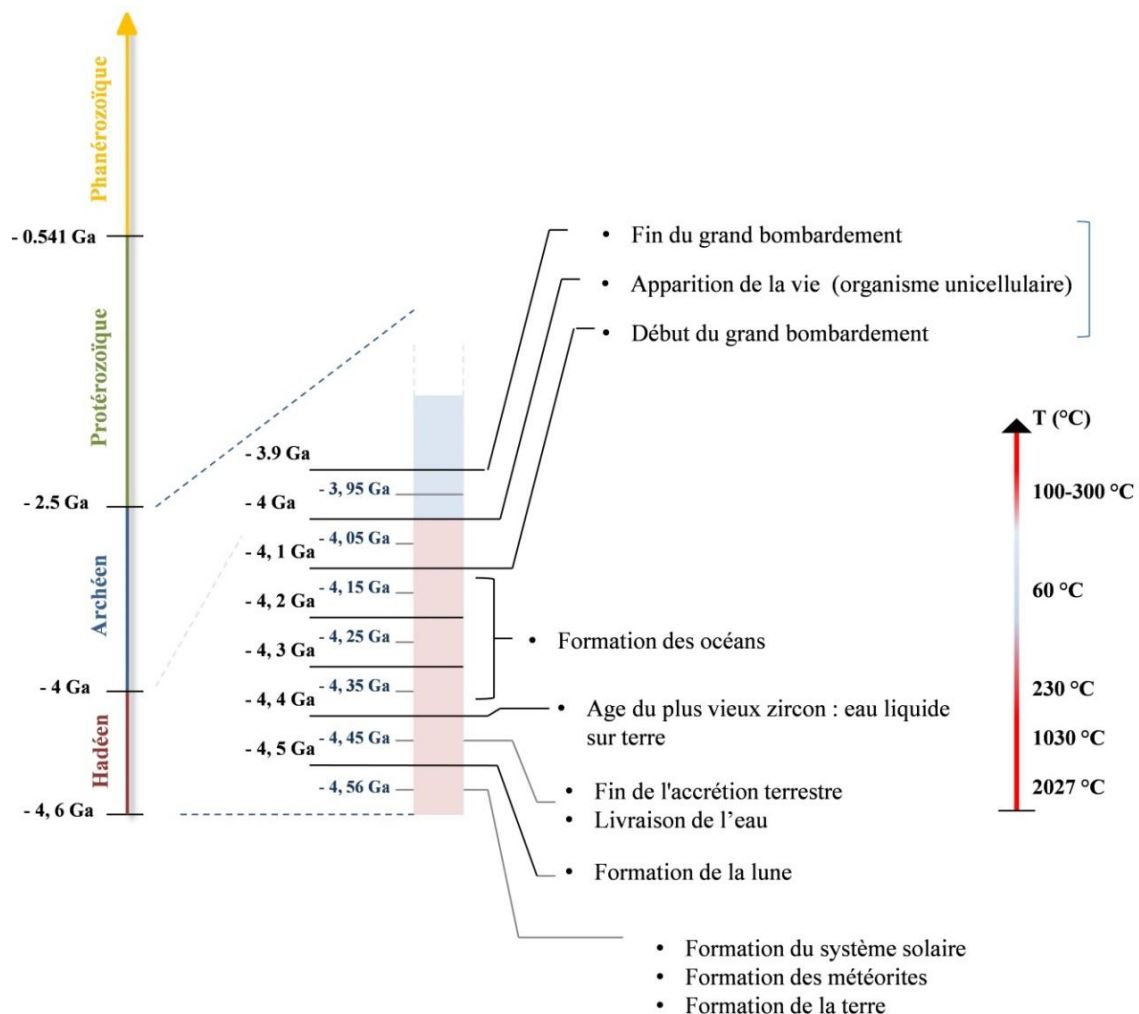


Figure 3 : Les évènements majeur de l'éon Hadean

Avec la fin du grand bombardement tardif et le début de l'Archéen, la température de l'océan primitif serait passée de ≥ 230 °C (calculée à l'équilibre avec une atmosphère massive de CO₂) à environ 80 – 110 °C.¹⁴ Dans un climat si chaud et en absence total d'oxygène, le pH de l'océan Archéen est estimé de 4.8 à 6.5, avec une pression CO₂ allant de 40 à 210 bars.^{15,16}

¹⁴ Ronde, C. E. J., Channer, D. M. D. R., Faure, K., Bray, C. J., Spooner, T. C. Fluid chemistry of Archean seafloor hydrothermal vents: Implications for the composition of circa 3.2 Ga seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1997**, *61*, 4025–4042.

¹⁵ Nisbet, E. G., Sleep, N. H. The habitat and nature of early life. *Nature* **2001**, *409*, 1083– 1091.

L'océan est resté probablement acide jusqu'à 2 Ga (la grande oxygénation) pour devenir progressivement basique jusqu'à la valeur actuelle de 8,2.

La présence du fer sous sa forme réduite Fe^{2+} soluble dans l'eau à pH inférieur à 6, combiné à l'excès de Cérium trouvé dans les microbialites (2.5 Ga Campbell rand platform northern South Africa),¹⁷ ainsi que d'autres signes géochimiques ont révélé que l'océan primitif de l'Hadéen et de l'Archéen était très probablement totalement anoxique.¹⁸

En plus du fer, la chimie des océans primitifs était dominée par les halites, comme c'est le cas des océans d'aujourd'hui. La concentration en halogènes était très élevée,¹¹⁴ ainsi que celles du calcium, magnésium, manganèse, potassium et phosphores (sous forme de phosphates).¹⁹

Il est donc évident que parmi toutes les autres planètes du système solaire, la terre disposait du climat, des ingrédients et des conditions favorables à l'apparition de la vie. Toutefois, certains facteurs auraient pu freiner ou retarder ce phénomène. La forte dilution des molécules dans l'océan primitif ne facilite guère l'assemblage de molécules complexes, jusqu'à la formation de la première cellule vivante. Il est donc proposé que la première vie ait surgi à des endroits plus limitées et concentrée en matières organique que dans les océans, dans des étangs par exemple. Pour nos recherches sur l'origine chimique de la vie nous avons adopté cette hypothèse, et nous avons décidé de réaliser nos expériences dans des conditions ressemblant à un tel milieu, qui sera cité dans cette thèse sous le nom de « milieu primitif ».

¹⁶ Tajika, E., Matsui, T. Degassing history and carbon cycle of the Earth: From an impact-induced steam atmosphere to the present atmosphere. *Lithos*, **1993**, 30, 267–280.

¹⁷ Yang, W., Holland, H. D., Rye, R. Evidence for low or no oxygen in the late Archean the atmosphere from the ~ 2.76 Ga Mt. Roe #2 paleosol, Western Australia : Part3. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **2002**, 66, 3707–3718.

¹⁸ Shaw, G. H. Earth's Atmosphere – Hadean to early proterozoic. *Geochemistry*, **2008**, 68, 235–264.

¹⁹ Santosh, M.; Arai, T.; Maruyama, S. Hadean Earth and Primordial Continents: The Cradle of Prebiotic Life. *Geosci. Front.* **2017**, 8, 309–327.

Biodiversité

La caractéristique la plus marquante de la terre est l'existence de la vie, et la caractéristique la plus extraordinaire de la vie est sa biodiversité.²⁰ Au moins 9 millions d'espèces vivantes⁸ (sans compter les bactéries, peut-être jusqu'à 100 millions d'espèces en tout),²¹ de types de plantes, d'animaux, de protistes et de champignons habitent la terre.

La diversité des micro-organismes, qui sont les plus anciens habitants de la terre permet de comprendre leur distribution dans l'espace et le temps ainsi que celles des autres espèces. Les bactéries par exemple peuvent croître dans des milieux qui offrent des conditions idéales pour la plupart des créatures vivantes aussi bien que dans des milieux qui sont trop extrêmes pour supporter la plupart des formes de vie.²² Les cyanobactéries en particulier sont soupçonnées être à l'origine de l'accumulation au paléoprotérozoïque de l'oxygène atmosphérique à partir du « grand événement d'oxydation ». ²³ Par ailleurs, il est de plus en plus évident que l'immense diversité de micro-organismes vivants sous terre contribue de manière significative à façonner la biodiversité aérienne et le fonctionnement des écosystèmes terrestres.

La perte de la biodiversité affecte les fonctions des écosystèmes.²⁴ Il a été démontré que la réduction du nombre de gènes, d'espèces et de groupes fonctionnels d'organismes réduit l'efficacité avec laquelle des communautés entières capturent les ressources biologiquement essentielles (nutriments, eau, lumière, proies) et convertissent ces ressources en biomasse.^{25, 26}

²⁰ Cardinale, B. J *et al.* Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **2012**, 486, 59-67.

²¹ Tonson. Benoît. *Biodiversité, combien de millions d'espèces ?* [En ligne] 20 juillet 2016. Disponible sur : <https://theconversation.com/biodiversite-combien-de-millions-despeces-61875>.

²² Bohannan, B. J. M., Carney, K. M., Horner-devine, M. C. An ecological perspective on bacterial biodiversity. *Proc. R. Soc.* **2004**, 271, 113.

²³ Hurley, S. J.; Wing, B. A.; Jasper, C. E.; Hill, N. C.; Cameron, J. C. Carbon isotope evidence for the global physiology of proterozoic cyanobacteria. *Sci. Adv.* **2021**, 7, [10.1126/sciadv.abc8998](https://doi.org/10.1126/sciadv.abc8998).

²⁴ Hector, A.; Bagchi, R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature* **2007**, 448, 188-190.

²⁵ Cardinale, B. J *et al.* Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **2012**, 486, 59-67.

C. Origine de l'eau et des espèces chimiques simples

Origine de l'eau sur la terre

Comme pour l'origine de la vie, l'origine de l'eau sur terre est un des sujets de débat et de controverse les plus importants. Il est estimé que l'eau a été disponible peu après la formation de la terre. Une première hypothèse suggère qu'elle est dérivée de l'altération de la croûte continentale qui contient de grandes quantités d'eau principalement sous forme de minéraux hydratés. Mais, des études ont montré qu'uniquement 10% de l'eau sur terre peut être générée par ce phénomène (2.4×10^{22} kg de la croûte terrestre ne contient que 1% d'eau).²⁷

Il a aussi été proposé que l'eau et d'autres molécules volatiles proviennent des gaz et poussières de la nébuleuse solaire. Or, la distance entre la terre et le soleil implique une température de condensation élevée qui ne permet pas l'incorporation d'éléments très volatils tels que N, C, O, H. En outre, les conditions d'oxydoréduction qui prévalaient dans ce secteur du système solaire ne permettent pas non plus à l'eau de se former. Ce qui suggère une source différente que la poussière de la nébuleuse solaire pour les océans.

Ceci a été confirmé par le rapport isotopique de l'hydrogène (D / H) mesuré dans l'eau de mer moderne (valeur de l'eau océanique moyenne normalisée, SMOW), qui est égal à $155,7 \times 10^{-6}$. Le rapport D/H est très variable dans le système solaire, mais d'une manière générale, il augmente en se déplaçant vers l'extérieur du système solaire en raison d'un enrichissement progressif en deutérium. Le rapport D/H dans la poussière de la nébuleuse solaire a été estimé à $21 \pm 5 \times 10^{-6}$ en utilisant comme référence la composition isotopique de l'hélium dans le soleil et la composition isotopique de l'hydrogène moléculaire dans la haute atmosphère des planètes géantes (Gautier et Owen 1983).²⁸

²⁶ Jenkins, M. Prospects for biodiversity. *Science* **2003**, *302*, 1175-1177.

²⁷ Rubey, W. W. Geologic history of seawater: An attempt to state the problem. *GSA. Bull.* **1951**, *62*, 1111-1147.

²⁸ Geiss, J., Gloecker, G. Abundance of Deuterium and Helium in the protosolar Cloud. *Space Science Rev.* **1998**, *84*, 239-250.

Une valeur de $21 \pm 5 \times 10^{-6}$ est sept fois inférieure au rapport D/H mesuré dans les océans. En utilisant des modèles appropriés de la nébuleuse solaire, il s'est avéré que seuls des planétésimaux formés dans la région de Jupiter – Saturne et dans la ceinture d'astéroïdes externe pouvaient contenir de l'eau avec un rapport D/H similaire à celui des océans. Seuls deux types de corps planétaires pourraient être à l'origine de cette eau: les comètes et les chondrites carbonées hydratées.^{29,30}

D'autres expériences plus larges ont montré qu'entre ces deux candidats potentiels ce sont les chondrites carbonées hydratées qui auraient largement contribué à l'apport de l'eau sur la terre. La valeur du rapport D/H mesuré pour l'eau des comètes Halley,³¹ Hyakutake³² et Hale-Bopp³³ est 10-20 fois plus grand que celui trouvé pour la poussière de la nébuleuse solaire et 2-3 fois plus grand que l'eau océanique moyenne. Quant aux chondrites carbonées hydratées les valeurs mesurées ($128-180 \times 10^{-6}$, pour une moyenne de $149 \pm 6 \times 10^{-6}$) sont très proches de celle obtenue pour l'eau océanique (*Figure 5*).

²⁹ Drouart, A., Dubrulle, B., Gautier, D., Robert, F. Structure and transport in the solar nebula from constraints on deuterium enrichment and giant planets formation. *Icarus*, **1999**, 140, 59–76.

³⁰ Morbidelli, A., Chambers, J., Lunine, J. I., Petit, J. M., Robert, F.; Valsecchi, G. B.; Cyr, K. E. Source regions and timescales for the delivery of water to the Earth. *Meteoritics Planet. Sci.* **2000**, 35, 1309–1320.

³¹ Eberhardt, P., Reber, M., Krankowski, D., Hodges, R.R. The D/H and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios in water from comet P/Haley. *Astron. Astrophys.* **1995**, 302, 301–316.

³² Bockelée-Morvan, D. *et al.* Deuterated water in comet C/1996 B2 (Hyakutake) and its implications for the origin of comets. *Icarus*. **1988**, 193, 147–162.

³³ Meier, R., Owen, T. C., Matthews, H. E., Jewitt, D. C., Bockelée-Morvan, D., Biver, N., Crovisier, J., Gautier, D. A determination of the $\text{DH}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ ratio in Comet C/1995 O1 (Hale-Bopp). *Science* **1998**, 279, 842–844.

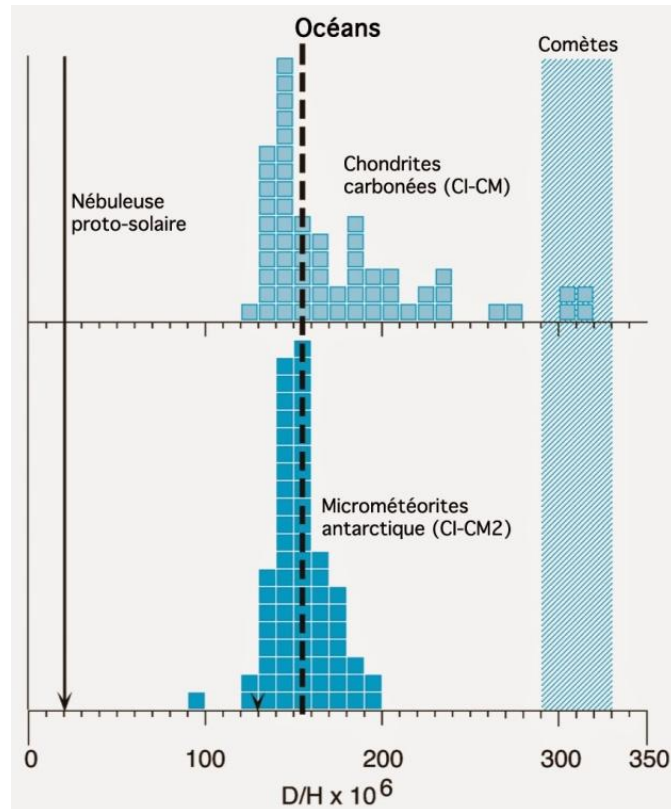


Figure 4 : Distribution de fréquence des rapports D/H mesurés dans les chondrites carbonées et les micrométéorites antarctiques par rapport aux valeurs du PSN, des océans terrestres et des comètes (adapté de la référence 9 © 2005 Springer Link)

Dans l'état actuel des connaissances on peut conclure que 90% au moins de l'eau a été apportée par de petits astéroïdes ayant une composition chondritique et provenant de la ceinture d'astéroïdes externe.³² Le moment de la livraison se situe probablement à la fin de l'accrétion de la terre il y a bien environ 4.5 Ga (1 Ga = 1 milliard d'année) (Figure 3).³⁴ Ceci est suggéré par la présence de quantités anormales d'éléments sidérophiles dans le manteau.³⁵

Il est important de surligner ici la particularité de la terre à contenir autant d'eau liquide à sa surface par comparaison avec d'autres planètes de notre galaxie, la Voie lactée. La température, la pression et la position de la terre par rapport au soleil sont les principaux

³⁴ Dauphas, N. The dual origin of the terrestrial atmosphere. *Icarus*, **2003**, 165, 326–339.

³⁵ Dauphas, N., Marty, B. Inference on the nature and the mass of Earth's late veneer from noble metals and gases. *J. Geophys. Res.* **2001**, 107, doi:10.1029/2001JE001617.

facteurs influençant l'état de l'eau. Et comme la présence de la vie sur la terre est très certainement corrélée à la présence de l'eau liquide, on comprend pourquoi la vie n'est détectée, en tout cas pour l'instant, que sur notre planète et dans quel cadre environnemental elle peut s'être développée.

Apport de matière organique depuis l'espace

Il est possible qu'une grande partie des composés organiques sur la terre primitive a été livrée par des objets extraterrestres. Il est estimé que l'apport de carbone organique par les particules de poussière interplanétaires vers 4,0 Ga était de l'ordre de 10^8 kg/an, tandis que qu'il y a environ 6×10^{14} kg de matière organique dans la biosphère actuelle.^{36, 37}

Les chondrites carbonées contiennent une grande variété de composés organiques, notamment des acides aminés, des purines, des pyrimidines, des composés de type sucre et des acides monocarboxyliques à longue chaîne ayant des propriétés amphiphiles. Il est ainsi possible que ces composés aient pu être utilisés comme composant de la vie primitive.^{38, 39,}

Les composés extraterrestres peuvent être identifiés en regardant de nos jours les composants des météorites. Chaque année, plusieurs agences d'études spatiales parmi elles La National Aeronautics and Space Administration (NASA), envoient des expéditions en Antarctique pour analyser les météorites qui sont moins contaminées que d'autres récupérées dans des environnements plus habités. Les analyses ont conduit à la classification d'au moins 45 types

³⁶ Chyba, C.; Sagan, C. Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life. *Nature* **1992**, 355, 125-132.

³⁷ Kitadai, N.; Maruyama, S. Origins of building blocks of life: A review. *Geoscience Frontiers* **2018**, 9, 1117-1153.

³⁸ Pizzarello, S.; Cooper, G. W.; Flynn, G. J. *The nature and distribution of the organic material in carbonaceous chondrites and interplanetary dust particles*. In: Meteorites and the Early Solar System II, Univ. Arizona Press, **2006**, 625-651.

³⁹ Zaia, D.A.M., Zaia, C. T. B. V., De Santana, H. Which amino acids should be used in prebiotic chemistry studies? *Orig. Life Evol. Biosph.* **2008**, 38, 469-488.

différents de météorites qui diffèrent en composition élémentaire, isotopique et minéralogique.⁴⁰

Une autre manière d'identifier ces composés extraterrestres consiste à observer les comètes, les astéroïdes et d'autres corps de l'espace. Ce qui a permis au final de démontrer que la nébuleuse solaire qui a engendré notre système planétaire était riche en eau et en molécules organiques amenés à la surface de notre jeune planète suite aux bombardements.⁴¹

Origine des espèces chimiques simples

Dans le cadre d'une origine chimique de la vie, **le cyanure d'hydrogène HCN** semble être un précurseur potentiel des acides aminés et des acides nucléiques ainsi que d'autres briques moléculaires nécessaires à l'essor de la vie. Il a été postulé que HCN sur la jeune planète terre a été formé par réaction entre le carbone des météorites et l'azote de l'atmosphère primitive, et cela durant le grand bombardement tardif entre 4.1 et 3.9 Ga.⁴²

Une deuxième hypothèse est son apport extraterrestre par les comètes. En 1970 des émissions radio de deux isotopes moléculaires d'HCN interstellaire $\text{H}^{12}\text{C}^{14}\text{N}$ et $\text{H}^{13}\text{C}^{14}\text{N}$ ont été détectées respectivement à 88,6 GHz et 86,3 GHz. Quelques années plus tard, HCN a été observée par les missions Vega et Giotto sur la comète de Halley, dont la couleur noire vient peut-être de polymères de cyanure d'hydrogène.

Il a été démontré en utilisant des techniques chimiques et des calculs quantiques que la réaction de deux molécules de HCN dans des conditions interstellaires ne peut pas conduire efficacement à un dimère ($\text{H}_2\text{C}_2\text{N}_2$) et donc par la suite à des molécules plus complexes à

⁴⁰ Burton, A. S., Stern, J. C., Elsila, J. E., Glavin, D. P., Dworkin, J. P. Understanding prebiotic chemistry through the analysis of extraterrestrial amino acids and nucleobases in meteorites. *Chem. Soc. Rev* **2012**, *41*, 5459-5472.

⁴¹ Öberg, K. I et al. The comet-like composition of a protoplanetary disk as revealed by complex cyanides. *Nature* **2015**, *520*, 198-200.

⁴² Nicholas. W. Making Sense of the Chemistry That Led to Life on Earth [en ligne]. New York Times, May 2015. Disponible sur : <https://www.nytimes.com/2015/05/05/science/making-sense-of-the-chemistry-that-led-to-life-on-earth.html>.

l'instar de l'adénine.⁴³ Les molécules d'HCN présentes dans les nuages sont chimiquement liées que par les forces de van der Waals. Ainsi des agrégats d'HCN ont été largement détectés dans de nombreux corps de notre système solaire, y compris des lunes, des astéroïdes, des planètes et des comètes.

Les recherches sur la présence dans l'espace des molécules organiques ont conduit à des résultats importants. Ainsi les dérivés d'HCN, CH₃CN et HC₃N ont été détectés au niveau du disque protoplanétaire autour de la jeune étoile MWC480.

L'**aminoacetonitrile** qui peut jouer un rôle dans la synthèse de la glycine, et donc des protéines, a été observés dans le milieu interstellaire, plus précisément dans la région du nuage moléculaire géant Sagittarius B2 (Sgr B2). Par ailleurs des dérivés aromatiques d'HCN tel que le **benzonitrile** C₆H₅CN ont été détectés dans le nuage moléculaire 1 du Taureau TMC-1 situé à environ ~457 années-lumière de la terre ce qui fait d'elle la région de formation d'étoiles la plus proche du système solaire. Des molécules aromatiques simples, comme le benzonitrile, peuvent être des précurseurs pour la formation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques.⁴⁴

Le sulfure d'hydrogène H₂S, qui dans le gaz magmatique terrestre et les émanations volcaniques est le constituant dominant après H₂O et CO₂, a aussi été observé dans l'espace. Il a été détecté, ainsi que ses isotopes deutérés HDS et D₂S, dans sept régions de naissance d'étoiles.^{45, 46}

⁴³ Smith, I. W. M.; Talbi, D.; Herbst, E. The production of HCN dimer and more complex oligomers in dense interstellar clouds. *Astron. Astrophys.* **2001**, 369 (2), 611–615.

⁴⁴ McGuire, B. A *et al.* Detection of the aromatic molecule benzonitrile (c-C₆H₅CN) in the interstellar medium. *Science* **2018**, 359, 202-205.

⁴⁵ Kutner, M. L *et al.* Interstellar hydrogen sulphide. *Astrophys. J.* **1972**, 176, L73-L76.

⁴⁶ Vastel, C.; Phillips, T. G.; Ceccarelli, C.; Pearson, J. First detection of doubly deuterated hydrogen sulphide. *Astrophys. J.* **2003**, 593, L97-L100.

La molécule **d'ammoniac** NH_3 a été détectée en 1968 dans le milieu interstellaire.⁴⁷ Son isotope $^{15}\text{NH}_3$ a été observé vers le nuage moléculaire d'Orion.⁴⁸ Plus tard des molécules d'ammoniac deutérées ont été trouvées dans différentes régions de l'espace. L'ammoniac mono-deutééré (NH_2D) a été détecté dans le nuage moléculaire géant Sagittarius B2 (Sgr B2),⁴⁹ alors que l'ammoniac di-deutééré l'a été dans le cœur du nuage noir L134N.⁵⁰ Les émissions d'ammoniac à 3 atomes de deutérium ont été enregistrées depuis la région de la nébuleuse NGC 1333.⁵¹

Le **formaldéhyde** (H_2CO) a été détecté en 1969, puis en 1973 l'acétaldéhyde⁵² ainsi que d'autres aldéhydes dans les années 1980 dont le propynal (HCCHO),⁵³ propenal (H_2CCHCHO), et le propanal ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$).⁵⁴ Le glycolaldéhyde (HOCH_2CHO) qui est

⁴⁷ Welch, W. J. Detection of NH_3 molecules in the interstellar medium by their microwave emission. *Phys. Rev. Lett* , **1968**, *21*, 1701-1705.

⁴⁸ Pauls, T.; Wilson, T. L. the detection of interstellar $^{15}\text{NH}_3$. *Astron. Astrophys*, **1979**, *73*, L10-L12.

⁴⁹ Palmer, P.; Morris, M.; Zuckerman, B.; Turner, B. E. Microwave detection of interstellar deuterated ammonia. *Astrophys. J.* **1987**, *219*, L43-L47.

⁵⁰ Roueff, E *et al.* Detection of doubly deuterated ammonia in L134N. *Astron. Astrophys.* **2000**, *354*, L63-L66.

⁵¹ Van der Tak, F. F. S.; Schilke, P.; Müller, H. S. P.; Lis, D. C.; Phillips, T. G.; Gerin, M.; Roueff, E. Triply Deuterated Ammonia in NGC 1333. *Astron. Astrophys.* **2002**, *388* (3), L53–L56.

⁵² Fourikis, N.; Sinclair, M.; Robinson, B.; Godfrey, P.; Brown, R. Microwave Emission of the $2_{11} \rightarrow 2_{12}$ Rotational Transition in Interstellar Acetaldehyde. *Aust. J. Phys.* **1974**, *27* (3), 425-30.

⁵³ 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. A New Interstellar Polyatomic Molecule - Detection of Propynal in the Cold Cloud TMC-1. *Astrophys. J.* **1988**, *335*, L89.

⁵⁴ Hollis, J. M.; Jewell, P. R.; Lovas, F. J.; Remijan, A.; Møllendal, H. Green Bank Telescope Detection of New Interstellar Aldehydes: Propenal and Propanal. *Astrophys. J.* **2004**, *610* (1), L21–L24.

l'unité la plus simple des monosaccharides a été observée un peu plus tard vers le nuage moléculaire géant Sagittarius B2 (Sgr B2).⁵⁵

- **Acides aminés**

Bien sûr, la recherche des aminoacides est particulièrement importante. Les études menées par la NASA sur la composition de la météorite Murchison tombée en Australie en 1969 ont dévoilé la présence de 100 acides aminés différents dont 80 ont été clairement identifiés. En ce qui concerne les acides aminés protéinogènes, les plus abondants sont la glycine, l'acide glutamique, l'alanine, la proline, la leucine et la valine. Toutefois, la météorite contenait aussi des acides aminés non-protéinogènes tel que l'acide α -aminoisobutyrique (*Figure 6*).⁵⁶

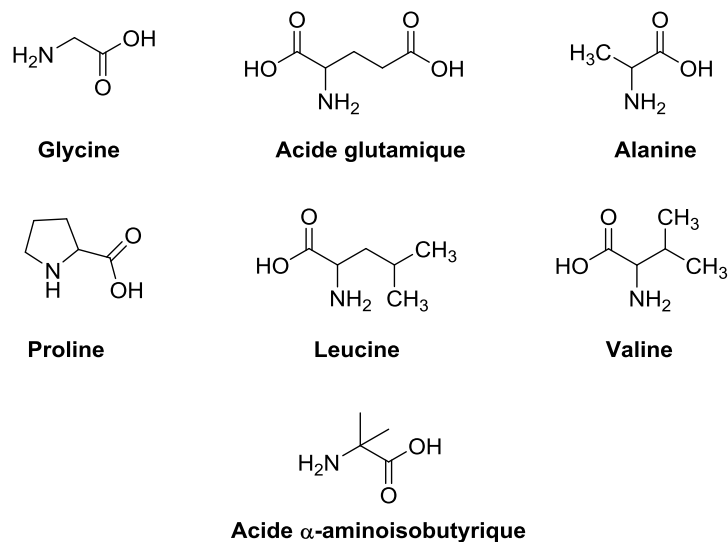


Figure 5 : Quelques acides aminés de la météorite Murchison

⁵⁵ Hollis, J. M.; Lovas, F. J.; Jewell, P. R. Interstellar Glycolaldehyde: The First Sugar. *Astrophys. J.* **2000**, *540* (2), L107–L110.

⁵⁶ Peltzer, E. T.; Bada, J. L.; Schlesinger, G.; Miller, S. L. The chemical conditions on the parent body of the murchison meteorite: Some conclusions based on amino, hydroxy and dicarboxylic acids, *Adv. Space Res.* **1984**, *4*, 69–74.

Notons d'abord la grande diversité de ces acides aminés qui ne sont pas tous intégrés dans la biologie d'aujourd'hui. Notons aussi, et par comparaison avec les conditions expérimentales de l'expérience Miller sur la synthèse abiotique des acides aminés (que nous verrons plus loin), que ces derniers peuvent être facilement formés à partir de mélanges de gaz simples abondants dans l'espace.⁵¹

HCN, l'ammoniac et divers composés carbonylés sont des molécules abondantes dans la météorite de Murchison. Les réactions de ces molécules entre elles sont généralement proposées à la base à la fois de la synthèse des acides α -aminés et α -hydroxylés trouvés également dans Murchison. Cela suggère que la synthèse d'acides aminés par la réaction de Strecker s'est produite dans le corps parent de la météorite.⁵⁸

- **Bases azotés**

Moins d'études ont été menées sur l'éventuelle origine extraterrestre des bases azotées des acides nucléiques.⁵⁷ Ces bases azotées sont des composés à un hétérocycle (les pyrimidines) ou à deux hétérocycles (les purines). Les pyrimidines incluent l'uracile, la thymine et la cytosine ; les purines sont l'adénine, la guanine, l'hypoxanthine et la xanthine (*Figure 7*). Les bases nucléiques avec le ribose et un groupement phosphate forment les nucléotides qui sont les éléments de base des acides nucléiques ADN et ARN.

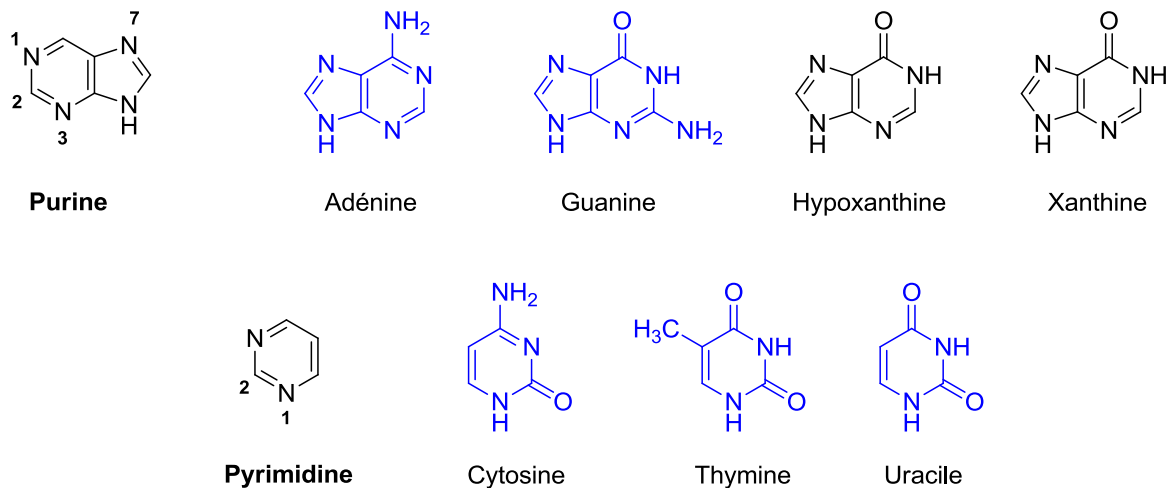


Figure 6 : Les bases nucléiques du métabolisme cellulaire

Durant les années 90, les études menées sur la composition et la richesse en matière organique de certains météorites ont montré, la présence de toutes les bases puriques ainsi que d'une seule base pyrimidique, l'uracile, dans ces corps.^{58, 59, 60, 61} Les études concernaient d'abord les

⁵⁷ Callahan, M. P.; Smith, K. E.; Cleaves, H. J.; Ruzicka, J.; Stern, J. C.; Glavin, D. P.; House, C. H.; Dworkin, J. P. Carbonaceous Meteorites Contain a Wide Range of Extraterrestrial Nucleobases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, 108 (34), 13995–13998.

⁵⁸ Schwartz, W. A.; Stoks, P. G. Uracil in carbonaceous meteorites. *Nature* **1997**, 282, 709-710.

météorites Murchison, Murry, Orgueil, et LoneWolf Nunataks 94102 – ce sont tous des chondrites carbonées – puis elles se sont portées sur d'autres météorites, parfois de nature différente comme les météorites ureilites.⁶²

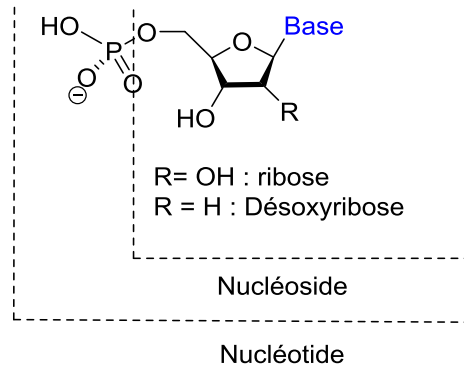


Figure 7 : composant des nucléosides et nucléotides

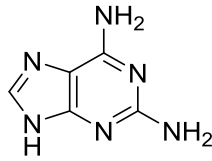
La possibilité d'une éventuelle contamination terrestre a été plus tard exclue, d'abord par la découverte d'autre nucléobases rares, ou non biologiques, la purine elle-même, la 2,6-diaminopurine.

⁵⁹ Horn, D. R., Hom, B. M. & Delach, M. N. Sedimentary Provinces of the North Pacific. *Geological investigations of the North Pacific*/ed. par Hays, J. D. Boulder: Geological Society of America, **1970**, Vol. 126, p. 41.

⁶⁰ Rawson, M. D. & Ryan, W. B. F. Ocean floor sediment and polymetallic nodules/ed. par Rawson, M. D. Palisades, New York: Lamont-Doherty Geological Observatory, **1978**.

⁶¹ Opdyke, N. D. & Foster, J. H. Paleomagnetism of Cores from the North Pacific. *Geological Investigations of the North Pacific*/ed. Hays, J. D. Boulder: Geological Society of America, **1970**, Vol. 126, p. 83.

⁶² Callahan *et al.* Carbonaceous meteorites contain a wide range of extraterrestrial nucleobases. *PNAS*, **2011**, 108, 13995-13998.



2,6-diaminopurine

De plus, la possible origine extraterrestre de l'uracile et de la xanthine a été étayée par une étude sur la météorite Murchison en utilisant des méthodes de chromatographies, GC-C-I RMS, (Gas Chromatography-Combustion-Isotope Ratio Mass Spectrometry).⁶³ Ces deux composés détectés dans la météorite présentent des valeurs positives de rapport isotopique $\delta^{13}\text{C}$, qui sont spécifiques aux composés d'origine extraterrestre.

D'autre part, les purines détectées dans les météorites sont compatibles avec les produits de la chimie du cyanure d'ammonium, ce qui fait penser à un mécanisme plausible pour leur synthèse dans le corps parent d'astéroïdes, par condensation ou polymérisation d'HCN, ce qui est en faveur d'une origine extraterrestre.^{56, 64, 65}

Avant l'évolution biologique, l'évolution chimique

« L'évolution chimique » est devenue le terme qui désigne tous les processus chimiques qui auraient eu lieu dans l'océan primitif, des étangs, des mares, ou des lacs... donnant naissance à la première cellule vivante, il y a entre 4.5 à 3.5 milliards d'années. L'ensemble de ces processus chimiques accumulés a permis d'une façon ou d'une autre de générer de la matière vivante à partir de la matière inerte organique et inorganique de la terre primitive. L'évolution

⁶³ Martins, Z.; Botta, O.; Fogel, M. L.; Sephton, M. A.; Glavin, D. P.; Watson, J. S.; Dworkin, J. P.; Schwartz, A. W.; Ehrenfreund, P. Extraterrestrial nucleobases in the murchison meteorite. *Earth Planet. Sci. Lett.* **2008**, 270 (1–2), 130–136.

⁶⁴ Oró, J.; Kimball, A. P. Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. I. Adenine from hydrogen cyanide. *Arch. Biochem. Biophys.* **1961**, 94 (2), 217–227.

⁶⁵ Orgel, L. E. The Origin of Life a Review of Facts and Speculations. *Trends Biochem. Sci.* **1998**, 23 (12), 491–495.

chimique est donc la suite des événements qui auraient précéder l'évolution biologique de Darwin.⁶⁶

Abiogenèse / chimie prébiotique

Bien que Darwin répugne à aborder en public la question de l'origine de la vie, la possibilité que les organismes vivants soient le résultat évolutif de la transformation progressive de la matière sans vie s'est répandue peu après la publication en 1859 de *L'Origine des espèces*.

De nombreux scientifiques plaidaient alors en faveur de la théorie de **la génération spontanée** à l'origine des êtres vivants. Selon cette théorie des microorganismes, bactérie, microbes et levures sont nés de la matière inerte.

Plusieurs expériences ont été réalisées pour évaluer la validité de cette hypothèse. Louis Pasteur (1822-1895) a clairement montré que les formes de vie microscopiques ne sont pas générées spontanément dans des récipients de liquide stérilisé, mais y parviennent plutôt par contamination par exposition à des microbes dans l'air environnant.⁶⁷ Notons que Pasteur infirme donc la possibilité de génération spontanée d'espèces déjà complexes, mais ne s'interroge pas sur les processus chimiques primitifs à l'origine de la vie sur terre.

D'autres scientifiques ont tenté d'expliquer l'origine de la vie en introduisant de nouveaux concepts et des termes tels que « **protoplasme primordial** ». ^{68, 69} La caractérisation physico-chimique du protoplasme permet de définir les propriétés de la vie. De nos jours, nous parlons de la chimie prébiotique qui est la chimie qui s'est produite avant le début de la vie ou la chimie qui a conduit à la vie sur terre, et peut-être sur d'autres planètes.

⁶⁶ Lemmon, R. M. Chemical evolution. *Chem. Rev.* **1970**, 70 (1), 95-109.

⁶⁷ Cleaves II, H. J. Prebiotic chemistry: What we know, what we don't. *Evo Edu Outreach.* **2012**, 5, 342-360

⁶⁸ Welch, G. R. T. H. Huxley and the protoplasmic theory of life. 100 Years Later. *Trends Biochem. Sci.* **1995**, 20, 481

⁶⁹ Olby, R. The macromolecular concept and the origins of molecular biology. *J. Chem. Educ.* **1970**, 47, 168.

Plus précisément **la chimie prébiotique** comprend l'ensemble des réactions qui auraient permis la synthèse des premiers monomères organiques, puis des polymères, qui se sont organisés en un système auto-répliatifs formant ainsi une toute première version du métabolisme cellulaire. En plus de la synthèse de ces monomères dans l'atmosphère primordiale et dans les premiers océans de notre planète, il est possible qu'une partie de ces composés ait été livrée à partir de l'espace par des corps extraterrestres (météorites, comètes et particules de poussière interplanétaires), comme déjà présenté plus haut.

Les expériences visant à reproduire la synthèse des molécules organiques dans des conditions « prébiotiques » commencent avec Joseph Louis Proust (1754 – 1826). Proust, qui n'appelait pas cela de la synthèse prébiotique, a rapporté que sous conditions basiques, HCN produit un polymère complexe, ainsi que d'autres composés non caractérisés qui pourraient avoir inclus de l'adénine.⁷⁰

Quelques années plus tard, Friedrich Wöhler (1800-1882) a démontré que l'urée pouvait se former avec un bon rendement en chauffant du cyanate d'ammonium dans des conditions qui seraient aujourd'hui qualifiées de prébiotique (*Figure 9*).

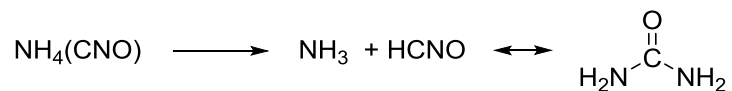


Figure 8: Wöhler synthesis of urea

En 1850, le chimiste allemand Adolph Strecker (1822-1871) a réalisé la synthèse en laboratoire d'alanine à partir d'un mélange d'acétaldéhyde, d'ammoniac et d'HCN (*Figure 10*).

⁷⁰ Miller, S. L. Lazcano, A. Formation of the building blocks of life. *In Life's Origin: The beginnings of biological evolution*/Ed. Par Schopf, J. W. Berkeley: California University Press, **2002**, p. 78–112.

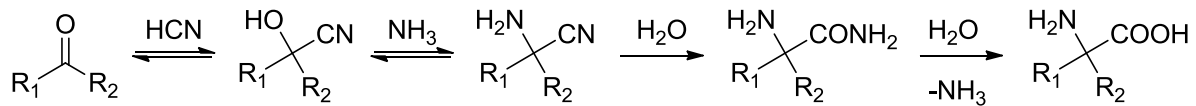


Figure 9 : Les mécanismes de Strecker pour la formation d'acides aminés à partir de NH₃, HCN et d'aldéhydes (ou de cétones)

Puis viennent les expériences d'Alexander Butlerov (1828-1886), montrant que le traitement du formaldéhyde par des catalyseurs basiques forts, tels que l'hydroxyde de sodium, conduit à la synthèse de sucres, c'est la réaction de Formose (*Figure 18*).

Les recherches sur la synthèse abiotiques de nombreux autres monomères d'importance biochimique se sont poursuivies avec les travaux de Walther l'öb, Oskar Baudisch et d'autres. Toutefois, on peut dater la naissance d'une vraie « chimie prébiotique » à 1953, lorsque Miller publie les résultats de ses fameuses expériences.⁷¹

Avec l'objectif de reproduire les conditions de la terre primitive Stanley Miller (1930-2007), sous la direction d'Harold Urey (1893-1981), a appliqué pendant une semaine des décharges électriques à un ballon chargé d'un mélange de gaz ressemblant à ce qu'il pensait être l'atmosphère primitive (eau, ammoniac, méthane, hydrogène et monoxyde de carbone).

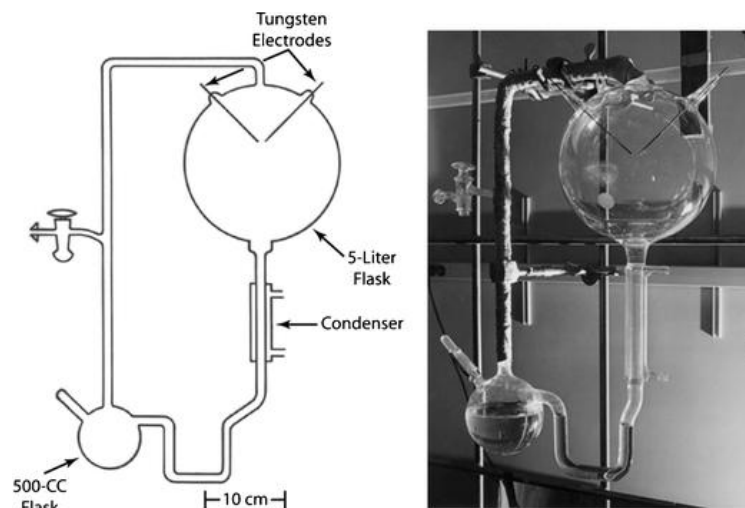


Figure 10 : Montage de l'expérience de Miller (Adaptée de la référence 74 © 1953 Science)

⁷¹ Miller, S. L. A Production of Amino Acids Under Possible Primitive Earth Conditions. *Science* **1953**, *117*, 528–529.

A la fin de l'expérience il a constaté la présence de molécules organiques nécessaires à la vie, notamment le formaldéhyde, HCN, des acides aminés dont treize sont utilisés dans la synthèse des protéines, et quelques composants des acides nucléiques. Il a ainsi confirmé qu'il est possible et facile de former les éléments de base des molécules biologiques à partir d'éléments plus simples sans doute présents sur la Terre primitive.

- *Les peptides*

Dans le métabolisme cellulaire les protéines jouent un rôle très important. Elles sont responsables en majeure partie des fonctions structurales et catalytiques de la cellule. En biochimie, la synthèse des protéines commence avec la polymérisation des acides aminés en présence classiquement de ribosomes, ou plus rarement de peptides synthétases dans le cas des protéines non-ribosomiques. Cet assemblage d'acides aminés nécessite plusieurs enzymes et cofacteurs ainsi que l'adénosine triphosphate (ATP).⁷² Mais comment les premières protéines se sont-elles formées sur le chemin de la chimie à la vie ?

Bien que la synthèse des peptides dans un milieu aqueux soit thermodynamiquement défavorable, il a été prouvé que dans certains cas la formation de cette liaison à partir des acides aminés libres est possible. En effet, l'auto-condensation des monomères de la glycine, la méthionine ou la sérine, par exemple, a été vérifié expérimentalement, toutefois les rendements sont très faibles.⁷⁵ La condensation des fragments peptidiques s'est avérée plus facile à pH quasi-neutre, principalement grâce à l'ionisation des groupes terminaux amino et carboxyle. Néanmoins, la formation des peptides notamment dans l'environnement primitif en grande quantité exige sans doute des catalyseurs ainsi que des conditions spécifiques.

⁷² Danger, G.; Plasson, R.; Pascal, R. Pathways for the formation and evolution of peptides in prebiotic environments. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (16), 5416–5429.

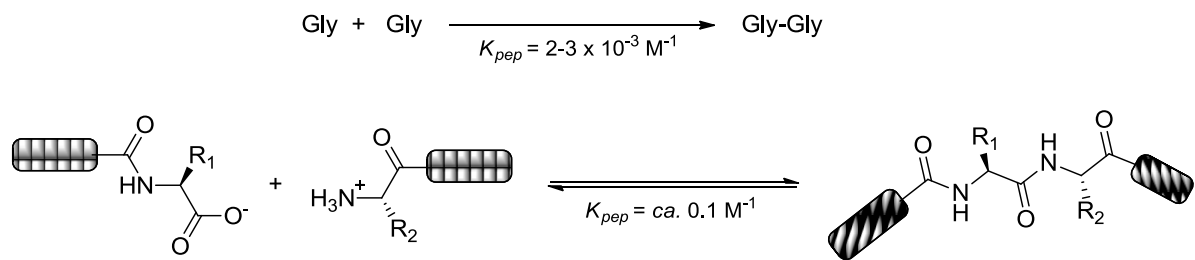


Figure 11 : Formation de liaison peptidique par condensation de : a) deux monomères d'acides aminés; b) deux segments peptidiques. (Adapté de la référence 75 © 2012 The Royal Society of Chemistry).

Comme la polymérisation des acides aminés implique une étape de déshydratation, il a été souvent proposé que cette polymérisation ait pu se produire dans des conditions d'hydratation/déshydratation «Wet/Dry cycles». Ainsi, l'adsorption des acides aminés sur des argiles et des surfaces minérales dans ces conditions facilite la formation de peptides.^{73,74,75}

Ce processus de polymérisation se fait d'une façon aléatoire qui permet d'aboutir aux premières séquences peptidiques, qu'il est toutefois difficile de qualifier de « protéines », cela demandant la présence d'un code : l'information génétique qui, dans un tel scénario, a dû être

⁷³ Rohlffing, D. L. Thermal Polyamino Acids: Synthesis at Less Than 100°C. *Science* **1976**, 193, 68–70.

⁷⁴ Rimola, A.; Sodupe, M.; Ugliengo, P. Alumino silicate surfaces as promoters for peptide bond formation: An assessment of Bernal's hypothesis by ab Initio Methods. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 8333–8344.

⁷⁵ Lambert, J. F. Adsorption and Polymerization of Amino Acids on Mineral Surfaces: A Review. *Origins Life Evol. Biospheres*, **2008**, 38, 211–242.

introduit plus tard au cours de l'évolution. La polymérisation des acides aminés sous conditions d'hydratation/déshydratation peut est donc efficace mais manque d'un plan.^{76,77}

Les environnements sous-marins ont aussi été examinés pour la synthèse prébiotique des peptides. Des oligopeptides peuvent être générés en chauffant des solutions aqueuses d'acides aminés à des températures élevés 200-250 °C.⁷⁸ Pour des températures plus basses, le monoxyde de carbone CO sur les surfaces minérale (Ni,Fe)S avec H₂S (ou CH₃SH) se sont avérés efficaces comme agents de condensation des acides aminés.⁷⁹

Les mêmes études ont révélé que la concentration des acides aminés nécessaires dans ce processus ($> 10^{-2}$ M) n'est pas compatible avec celles de l'océan primitif, bien plus dilué, comme cela a été mentionné précédemment, ce qui exclurait la possibilité de synthèse des peptides dans ces zones sous-marines. Toutefois la contribution de composés inorganiques, des dérivés de phosphates ou de sulfures, dans l'apparition des peptides reste plausibles.⁷³

Les dioxopipérazines sont des sous-produits indésirables souvent obtenus dans les expériences de polymérisation des acides aminés dans des conditions primitives (*Figure 13*). Ces hétérocycles ont été trouvés également dans les chondrites carbonées de Yamato – 791198 et de Murchison.⁸⁰

⁷⁶ Rodriguez-Garcia, M *et al.* Formation of oligopeptides in high yield under simple programmable conditions. *Nat. Commun.* **2015**, 6, 8385

⁷⁷ Forsythe, J. G *et al.* Surveying the sequence diversity of model prebiotic peptides by mass spectrometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2017**, 114, E7652-E7659.

⁷⁸ Cleaves, H. J.; Aubrey, A. D.; Bada, J. L. An Evaluation of the critical parameters for abiotic peptide synthesis in submarine hydrothermal systems. *Orig Life Evol Biosph.* **2009**, 39, 109–126.

⁷⁹ Huber, C.; Wächtershäuser, G. Peptides by Activation of amino acids with CO on (Ni,Fe)S Surfaces : Implications for the Origin of Life. *Science* **1998**, 281, 670–672.

⁸⁰ Shimoyama, A.; Ogasawara, R. Dipeptides and Diketopiperazines in the Yamato-791198 and Murchison carbonaceous chondrites. *Orig Life Evol Biosph.* **2002**, 32, 165–179.

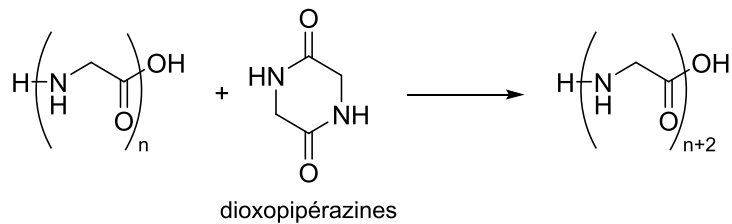


Figure 12 : allongement d'un oligoglycine à partir de la glycine dioxopipérazine

Les dioxopipérazines, qui sont des produits d'hydrolyse des oligopeptides, peuvent aussi être considérés comme précurseurs de peptides (*Figure 14*). L'ouverture du cycle de dioxopipérazine par aminolyse peut conduire à un allongement des oligopeptides. De plus, l'attaque nucléophile de l'anion phosphate sur un tel hétérocycle peut former un intermédiaire réactionnel acyl-phosphate.⁸¹

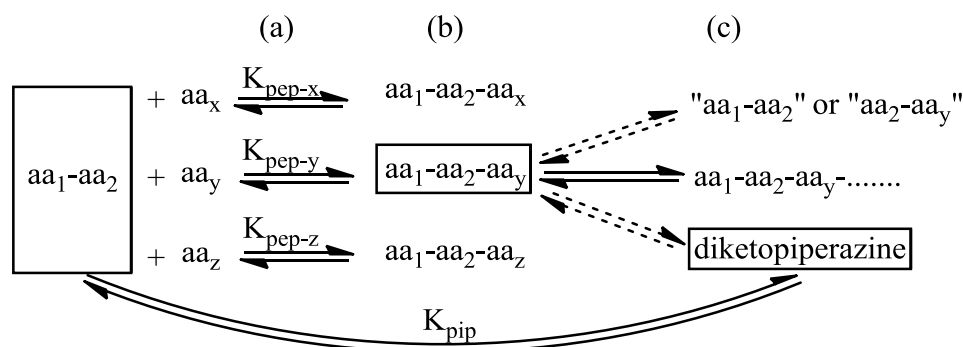


Figure 13 : condensation d'un dipeptide entouré de différents acides aminés (x, y et z). Les voies préférées dépendent des constantes d'équilibre pour la formation de liaisons peptidiques (a). Chaque peptide résultant (b) a une réactivité spécifique qui contrôle les étapes suivantes (c) l'hydrolyse, l'élongation ou la cyclisation).

⁸¹ Takaoka, O.; Yamagata, Y.; Inomata, K. Diketopiperazine-mediated peptide formation in aqueous solution II. Catalytic effect of phosphate. *Orig Life Evol Biosph*, **1991**, *21*, 113–118.

Les *N*-carboxyanhydrides d' α -aminoacides (NCA) sont également considérés comme de potentiels précurseurs des oligopeptides. Ils sont obtenus à partir des dérivés d'acides aminés dans des milieux contenant des bicarbonates HCO_3^- . En plus de leur rôle important dans la synthèse peptidique en tant qu'intermédiaires réactifs, ils peuvent être aussi utilisés dans la formation d'anhydrides mixtes avec des phosphates ou des nucléotides.

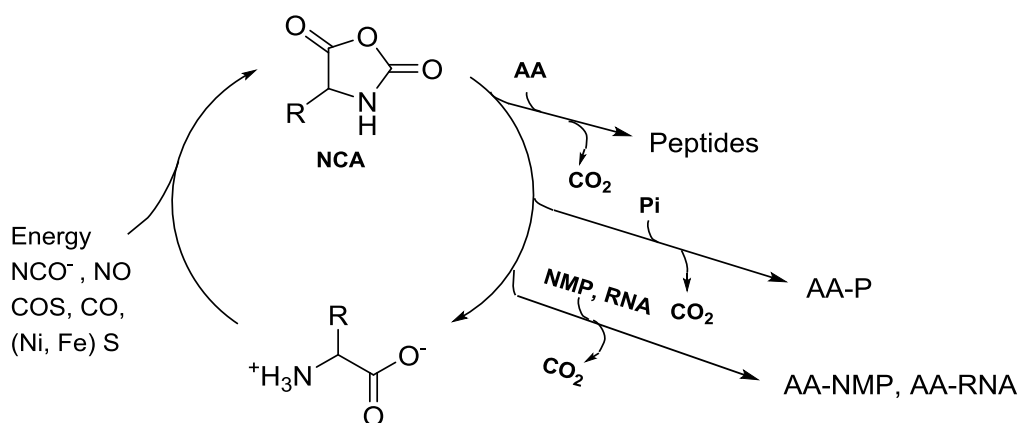


Figure 14 : Les voies pour la formation de NCA et d'autres réactions, y compris la polymérisation et les interactions avec le phosphate inorganique (Pi), les nucléotides (NMP) et l'ARN. (Adapté de la référence 75 © 2012 The Royal Society of Chemistry).

L'anion cyanate, et ses analogues activent les acides aminés et les oligopeptides au niveau de l'extrémité C-terminale. Leur emploi est une méthode efficace de synthèse de polypeptides.⁸²

En se référant aux peptides non ribosomiques une approche alternative concernant la polymérisation des aminonitriles via l'intervention des thiols a été proposée. Des dipeptides ont été obtenus à partir de dérivés nitriles d'acides aminés acétylés en présence de *N*-acétylcystéine dans l'eau et à pH neutre. Il a été observé que seules la sérine, la thréonine et la

⁸² Danger, G.; Charlot, S.; Boiteau, L.; Pascal, R. Activation of carboxyl group with cyanate: peptide bond formation from dicarboxylic acids. *Amino Acids* **2012**, *42*, 2331–2341.

cystéine pourraient être couplées aux α -amidonitriles de manière stéréosélective, ce qui pourrait avoir des implications sur les origines de l'homochiralité biologique.^{83, 84, 85, 86, 87, 88}

Pendant le déroulement de mes travaux de thèse, j'ai participé à la rédaction d'un chapitre le livre sur la synthèse prébiotique des peptides.⁸⁹

- ***Les lipides***

Plusieurs travaux ont démontré que les phospholipides - les constituants majeurs de la membrane cellulaire – ainsi qu'une variété d'amphiphiles à chaîne unique, peuvent être synthétisés dans des conditions prébiotiques et s'auto-assembler en structure vésiculaire.⁹⁰ La

⁸³ Muchowska, K. B.; Moran, J. Peptides synthesis at the origin of life. *Science* **2020**, 370, 767-768

⁸⁴ Foden, C. S *et al.* Prebiotic synthesis of cysteine peptides that catalyze peptide ligation in neutral water. *Science* **2020**, 370, 865-869.

⁸⁵ Shalayel, I.; Vallée, Y. Chemistry of homocysteine thiolactone in a prebiotic perspective. *Life*, **2019**, 9, doi: 10.3390/life9020040.

⁸⁶ Shalayel, I.; Coulibaly, S.; Ly, K. D.; Milet, A.; Vallée, Y. The Reaction of Aminonitriles with Amino thiols: A Way to Thiol-Containing Peptides and Nitrogen Heterocycles in the Primitive Earth Ocean. *Life*. **2018**, 8 (4). doi: 10.3390/life8040047.

⁸⁷ Shalayel, I., Youssef-Saliba S., Vazart F., Ceccarelli C., Bridoux M., & Vallee Y. Cysteine Chemistry in Connection with Abiogenesis. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 3019–3023.

⁸⁸ Youssef-Saliba, S., & Vallee Y. Sulfur amino acids: from prebiotic chemistry to biology and vice versa. *Synthesis*. **2021**, 53(16), 2798-2808.

⁸⁹ LEQRAA, N.; Vallée, Y. From Amino acids to Peptides before the Coming of Ribosomes. *Prebiotic Chemistry and Life's Origin; Chemical Biology Series/* ed. par Michele Flore Royal Society of Chemistry, **2022**.

⁹⁰ Fiore, M.; Strazewski, P. Prebiotic Lipidic Amphiphiles and condensing Agents on the Early Earth. *Life*, **2016**, 6 (2), 17, <https://doi.org/10.3390/life6020017>.

longueur de chaîne minimale pour des vésicules fermées à des températures physiologiques est de 10 atomes de carbone.

En 1973 Klein and Pilpel ont été les premiers à prouver qu'une synthèse des amphiphiles à base d'hydrocarbures est possible par une réaction d'alcane normaux sous UV, en utilisant des composés aromatiques polycycliques comme photosensibilisateurs.^{91,92} Les dérivés du pyrène, du fluoranthène et de l'anthracène ont été utilisés comme modèles d'hydrocarbures aromatiques polycycliques. Leur présence a été confirmée dans la météorite Murchison. Cette méthode d'oxydation photochimique des alcanes a permis la synthèse d'alcools et de cétones à longue chaîne (*Figure 16*).

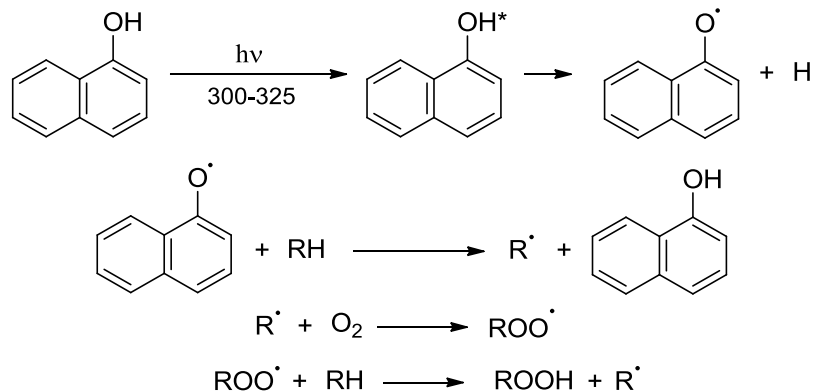


Figure 15 : Synthèse d'amphiphiles à partir d'hydrocarbures par la méthode de Klein et Pilpel

- *Les glucides*

Les glucides, avec les peptides, les acides gras et nucléiques, constituent les piliers du métabolisme cellulaire de tous organismes vivants.

⁹¹ Segré, D *et al.* The lipid world. *Orig Life Evol Biosph.* **2001**, 31, 119-145.

⁹² Klein, A. E.; Pilpel, N. Oxidation of *n*-alkanes photosensitized by 1-naphthol. *J. Chem. Soc., Faraday I*, **1973**, 69, 1729–1736.

Ces molécules sont parmi les produits des voies anaboliques de fixation de CO₂, comme le cycle de Calvin des organismes photosynthétiques qui permet de fournir le glucose nécessaire à leur fonctionnement. Les glucides ont dû participer à l'essor du proto-métabolisme, après qu'ils aient été formés dans le milieu par des réactions plus simples que celles d'aujourd'hui.

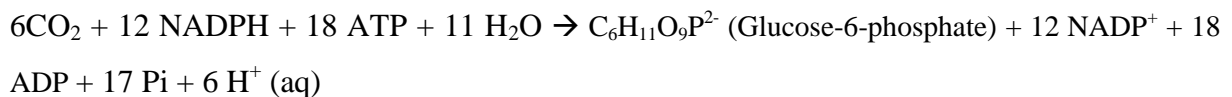


Figure 16: Bilan total des réactions du cycle de Calvin

Comme nous l'avons déjà indiqué, la réaction de Formose (également connue sous le nom de synthèse de Butlerov) est considérée comme une voie prébiotique potentielle de synthèse des sucres. Cette réaction a été découverte par Butlerov en 1861.⁹³ Elle a une grande importance concernant l'étude de l'origine de la vie, car les sucres (ribose et désoxyribose) sont des molécules clés pour construire les squelettes d'ARN et d'ADN (*Figure 8*).

La condition essentielle pour que la réaction de Butlerov ait lieu et produise des sucres est la présence des catalyseurs hydroxydes alcalins, tels que Ca(OH)₂ ou CaCO₃, dans le milieu réactionnel.⁵⁶ Ces catalyseurs peuvent facilement être trouvés dans des argiles ou remplacé par d'autres comme le kaolin, composé essentiellement de kaolinite (Al₂Si₂O₅(OH)₄). Sous des conditions favorables, différents sucres peuvent être formés, notamment le ribose.⁹⁴ La *figure 18* montrent certains des sucres issus de la réaction de formose.

⁹³ Butlerov, A. Bildung Einer Zuckerartigen Substanz Durch Synthese. *Ann. der Chemie und Pharm.* **1861**, 120 (3), 295–298.

⁹⁴ Gabel, N. W.; Ponnamperna, C. Model for Origin of Monosaccharides. *Nature* **1967**, 216 (5114), 453–455.

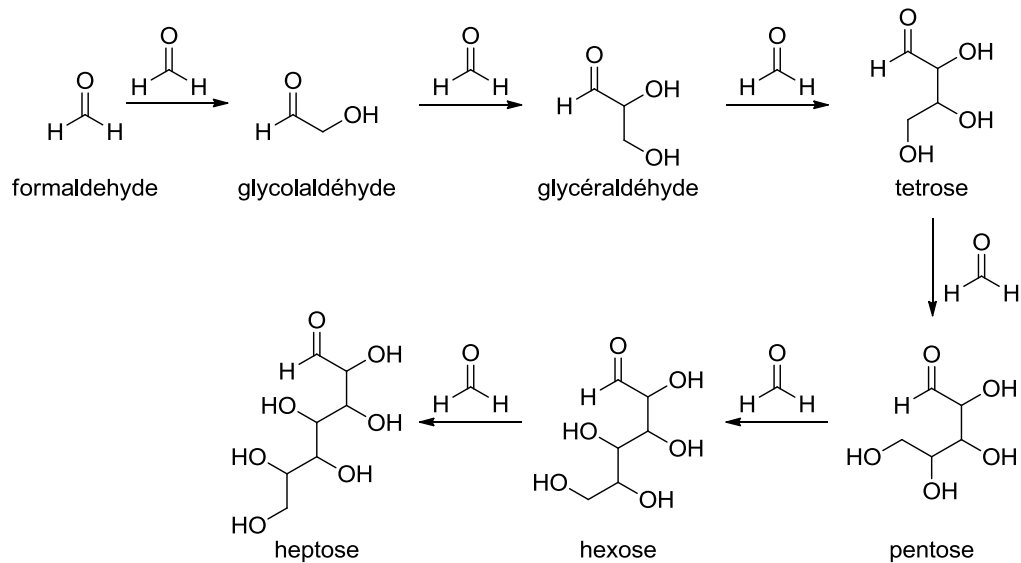


Figure 17 : Voie simple pour la synthèse de sucre via la réaction de formose

Cependant, des mélanges de sucres plus complexes pourraient aussi être obtenus à partir de cette réaction. Par exemple, Decker et al, ont observé plus de 40 sucres dans un mélange réactionnel.⁹⁵ Cette complexité signifie que la réaction est difficile à contrôler, ce qui limite sa fiabilité comme méthode principale de synthèse de sucres dans le milieu primitif. De plus, il a été montré qu'à pH neutre et en général dans les conditions de la réaction de Butlerov, les sucres formés, tel que le ribose, peuvent se dégrader à une vitesse qui serait plus rapide que leur accumulation dans l'environnement.^{56, 96}

De façon alternative, une solution aqueuse d'HCN et H₂CO mène au glycolonitrile qui peut être à la fois un précurseur des sucres et de purines.⁹⁷

⁹⁵ Reid, C.; Orgel, L. E. Synthesis of sugars in potentially prebiotic conditions. *Nature* **1967**, 216 (5114), 455–455.

⁹⁶ Larralde, R.; Robertson, M. P.; Miller, S. L. Rates of decomposition of ribose and other sugars: Implications for chemical evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1995**, 92 (18), 8158–8160.

⁹⁷ Arrhenius T, Arrhenius G, *et al.* Archean geochemistry of formaldehyde and cyanide and the oligomerization of cyanohydrin. *Orig Life Evol Biosph.* **1994**, 24 (1), 1–17.

La synthèse de sucres a aussi été réalisée en utilisant des systèmes photorédox. Ainsi, il a été reporté que des sucres simples peuvent être formés à partir de cyanure d'hydrogène par irradiation ultraviolette en présence de cyanométalate.⁹⁸

- **Les nucléobases**

Les nucléobases, ou bases nucléiques, sont des composés organiques azotés qui, avec le ribose (ou le désoxyribose) forment les nucléosides qui eux-mêmes, associé au phosphate, mènent aux nucléotides, les unités de base des acides nucléiques (*Figure 8*). Dans les systèmes biologiques on retrouve essentiellement 5 bases : l'adénine, la guanine, la cytosine, la thymine et l'uracile (*Figure 7*). Trouver une synthèse prébiotique des nucléobases est d'une grande importance, notamment pour la validation de l'hypothèse du « monde d'ARN » mentionnée plus loin dans cette introduction.

Parmi les premières méthodes de synthèse prébiotiques des nucléobases, la synthèse de J. Oro consiste à chauffer un mélange d'HCN et d'ammoniac pendant plusieurs jours pour former l'adénine.^{99, 66} La méthode a également aboutit à d'autres produits comprenant des purines, des pyrimidines, des imidazoles, des acides aminés, l'urée, l'acide oxalique et la guanidine.¹⁰⁰

L'adénine peut être considérée comme un pentamère d'HCN. L'étape initiale d'une voie possible vers l'adénine est la dimérisation d'HCN suivie d'autres réactions pour donner l'aminomalononitrile (un trimère d'HCN) et le diaminomalononitrile (un tétramère d'HCN). Ensuite, le tétramère subit une isomérisation photochimique suivie d'une réaction de fermeture du cycle, et enfin le cycle réagit avec une autre molécule d'HCN pour fournir l'adénine (*Figure 19*).

⁹⁸ Ritson, D.; Sutherland, J. D. Prebiotic synthesis of simple sugars by photoredox systems chemistry. *Nat. Chem.* **2012**, *4* (11), 895–899.

⁹⁹ Oró, J.; Kimball, A. P. Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. I. Adenine from hydrogen cyanide. *Arch. Biochem. Biophys.* **1961**, *94* (2), 217–227.

¹⁰⁰ Oro, J.; Kamat, S. S. Amino-acid Synthesis from Hydrogen Cyanide under possible primitive earth conditions. *Nature* **1961**, *190*, 442.

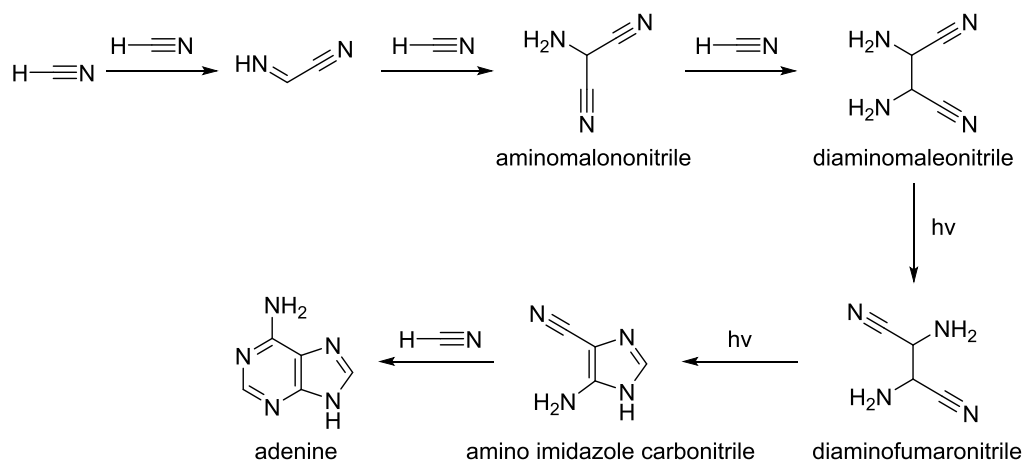


Figure 18 : Voie proposée pour la formation d'adénine dans une solution aqueuse de NH_4CN

De plus, le réarrangement photochimique du diaminomaléonitrile à la lumière du soleil pour donner l'amino-imidazole carbonitrile a été démontré par Ferris et Orgel en 1966.¹⁰¹

Concernant les noyaux de pyrimidine, plusieurs synthèses prébiotiques ont été proposées. L'uracile par exemple a été obtenu à partir d'un mélange d'urée et d'acide malique, et la cytosine à partir de cyanoacétylène (HCCCN) et de cyanate (NCO^-) (Figure 20).^{102, 103} La réaction de l'uracile avec le formaldéhyde et l'acide formique mène à la thymine ainsi qu'à d'autres dérivés tels que le 5-hydroxyméthyluracil (5-HMU), et le méthylènebiuracil (MBU).¹⁰⁴

¹⁰¹ Ferris, J. P.; Orgel, L. E. Studies in Prebiotic Synthesis. I. Aminomalononitrile and 4-Amino-5 cyanoimidazole 1,2. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88 (16), 3829–3831.

¹⁰² Fox, S. W.; Harada, K. Synthesis of Uracil under conditions of a thermal model of prebiological chemistry. *Science* **1961**, 133 (3468), 1923–1924.

¹⁰³ Sanchez, R. A.; Ferris, J. P.; Orgel, L. E. Cyanoacetylene in prebiotic synthesis. *Science* **1966**, 154 (3750), 784–785.

¹⁰⁴ Choughuley, A. S. U.; Subbaraman, A. S.; Kazi, Z. A.; Chadha, M. S. A Possible Prebiotic Synthesis of Thymine: Uracil-Formaldehyde-Formic Acid Reaction. *Biosystems* **1977**, 9 (2–3), 73–80.

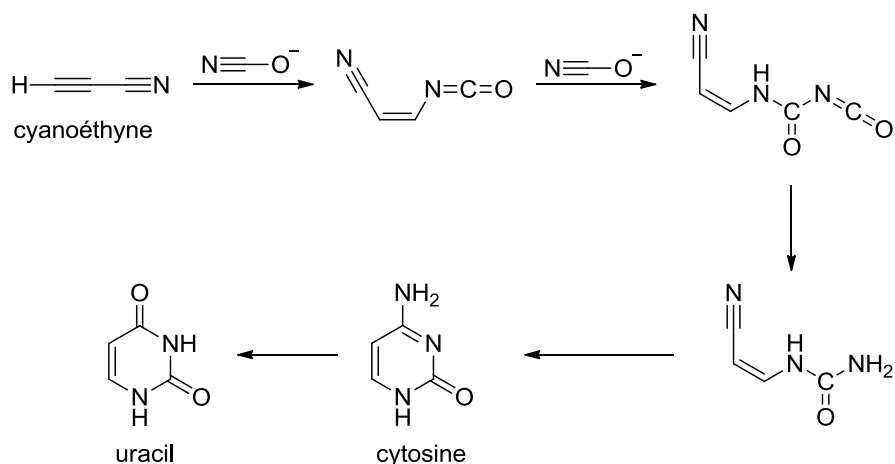


Figure 19 : Mécanismes proposés pour la synthèse prébiotique des pyrimidines

- *Sélection chimique*

Il est probable que les systèmes vivants primitifs ont développé des activités qui avec des processus de sélection moléculaires ont permis de former des structures d'ordre supérieur et de complexité grandissante, avec un gain de stabilité. Une stabilité qui dans le cas d'acides aminés est particulièrement importante, car elle aurait permis de résister à une racémisation spontanée. D'ailleurs, une question fondamentale concernant l'origine de la vie est de savoir si l'homochiralité observée au niveau des acides aminés (et d'autres briques du vivant) est le résultat d'une sélection énantiomérique ou d'un événement fortuit ? La question n'est pas tranchée, par exemple on ne sait pas si le choix d'un énantiomère dominant a pu être fait dans l'espace (molécules extraterrestres) où sur terre, et par quel processus (dans cette thèse nous ne nous concentrerons pas sur cette question de l'homochiralité).

La question sur la sélection chimique peut être élargie aux autres espèces chimiques telles que les composants de l'ARN, et en particulier au ribose, l'aldopentose sur lequel la structure de l'ARN est fondée. Les conditions environnementales ont pu influencer le choix de cet ose avec un cycle à cinq contre les pyranoses.¹⁰⁵ L'augmentation de la température, à environ 134°C dans une eau dont la composition reproduit la composition de l'océan à l'Hadéen, peut

¹⁰⁵ Dass, A. V *et al.* Equilibrium and non-equilibrium furanose selection in the ribose isomerization network. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 2749.

causer une inversion de population entre D-ribofuranose et D-ribopyranose (*Figure 21*). Cela peut donc expliquer la présence du ribose dans la structure des acides nucléiques d'aujourd'hui plutôt que leurs analogues pourtant plus stables les pyranoses.

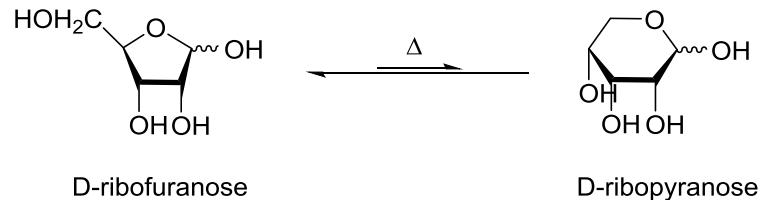


Figure 20 : inversion de population entre D-ribofuranose et D-ribopyranose à température élevée

Sur un autre plan, les métabolites des voies métaboliques sont également des substrats qui auraient pu être triés sélectivement. Cela est probablement lié au scénario de leur formation et de leurs interactions avec d'autres espèces. Nos travaux sont centrés sur les intermédiaires du cycle de Krebs. Les étapes les plus importantes de ce cycle (et du cycle inverse) sont des formations de thioesters ce qui permet un échange d'énergie avec l'extérieur. Pourquoi les thioesters ont-ils été sélectionnés ? Et pourquoi les céto-acides ? Le citrate, le malate, le succinate ?

Cette sélection naturelle chimique représente une étape essentielle de la création de la vie sur la terre : elle a permis, au niveau moléculaire, de déterminer les éléments du proto-métabolisme et donc du métabolisme actuel. Les critères et facteurs influençant ce processus ont été à la fois les conditions environnementales donc les conditions physicochimiques sur la terre primitive (des facteurs extérieurs) et la stabilité des molécules qui dépend de leur structure chimique.

D. Le soufre et ses dérivés dans un monde prébiotique

Le soufre contribue de manière significative à la diversité chimique de la nature et grâce à ses caractéristiques particulières permet des réactions biologiques fondamentales qu'aucun autre

élément ne permettrait.¹⁰⁶ Il fait partie des éléments essentiels à la vie dans le milieu sous-marin, ainsi qu'à celle des plantes et microorganismes. La plupart des espèces supérieures sont dépendants des composés organiques soufrés. Chez les êtres humains le soufre est en particulier un élément indispensable pour les réactions biochimiques redox. Il est également l'élément chimique idéal pour les réactions de transfert d'électron grâce à ses multiples états d'oxydation.

Les thiols comme la cystéine, les sulfures comme la méthionine et les disulfures comme l'acide lipoïque sont parmi les composés organiques soufrés largement répondeu dans le métabolisme cellulaire des êtres vivants. Le soufre est très courant dans les enzymes et dans les cofacteurs. Les groupements thiols par exemple et en particulier celui la cystéine permet de piéger les métaux lourds comme le nickel,¹⁰⁷ le Zinc^{108,109} et le Cobalt responsables de l'intoxication et la cancérogenèse des cellules.

Thiols

Les thiols ont probablement permis en présence des ions ferreux la synthèse des clusters soufre-fer dans l'environnement prébiotique. Ces clusters inorganiques considérés comme des cofacteurs auraient eu un grand impact sur la chimie menant à la vie.¹¹⁰ Aujourd'hui les protéines fer-soufre « ferrédoxine » qui se trouvent dans les différents compartiments de la

¹⁰⁶ Francioso, A *et al.* Chemistry and biochemistry of sulfur natural compounds: key intermediates of metabolism and redox biology. *Oxid Med Cell Longev*, **2020**, DOI: 10.1155/2020/8294158.

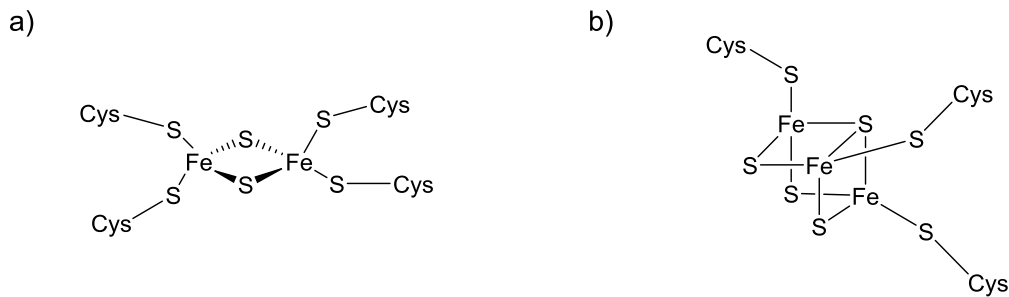
¹⁰⁷ Kozlowski, H. Nickel complexes with sulfhydryl containing peptides. Potentiometric and spectroscopic studies. *J. Inorg. Biochem.* **1987**, *29*, 187-197.

¹⁰⁸ Sovago, I *et al.* Cobalt and zinc complexes of cysteine containing dipeptides. *Polyhedron*. **1988**, *7*, 1089-1093

¹⁰⁹ Gockel, P.; Gelinsky, M.; Vogler, R.; Vahrenkamp, H. Solution behaviour and zinc complexation of tripeptides with cysteine and/or histidine at both termini. *Inorganica Chimica Acta*, **1998**, *272*, 115-124.

¹¹⁰ Bonfio, C *et al.* UV-light-driven prebiotic synthesis of iron-sulfur clusters. *Nat. Chem*, **2017**, *9*, 1229-1234.

cellule (*Figures 22*), sont fondamentales pour la production de l'énergie, la régulation de l'expression des gènes, la traduction génétique ainsi que pour les réponses antivirales.¹¹¹ Par exemple, il s'est avéré que l'oxydation des clusters Fe-S au niveau de la ARN polymérase dépendante de l'ARN du SRAS-CoV provoque leur désassemblage ce qui inhibe l'activité protéinique et donc bloque la réplication et la propagation du virus dans la cellule.¹¹²



*Figure 21 : Des exemples de clusters des ferrédoxines. a) Géométrie d'un cluster [2Fe-2s];
b) Géométrie d'un cluster [3Fe-4S]*

Thioester

Les thioesters sont formés par la condensation déshydratante des acides carboxyliques avec les thiols (*Figure 23*). L'équilibre est déplacé vers la gauche en conditions physiologiques, l'énergie libre d'hydrolyse de la liaison thioester est de l'ordre de -12 kcal/mole (environ - 50 kJ/mole), ce qui rend cette liaison énergétiquement équivalente aux liaisons pyrophosphates de l'ATP (- 7,3 kcal/mole (30,5 kJ/mol) dans les conditions normales ; - 14 kcal/mole (- 57 kJ/mol) dans les conditions physiologique), et qui permet de la considérer comme une alternative possible à l'ATP dans le milieu prébiotique.

¹¹¹ Braymer, J. J.; Lill, R. Iron-sulfur cluster biogenesis and trafficking in mitochondria. *J Biol Chem*, **2017**, 292, 12754-12763.

¹¹² Maio *et al.* Fe-S cofacteurs in the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase are potential antiviral targets. *Science* **2021**, 373, 236-241.

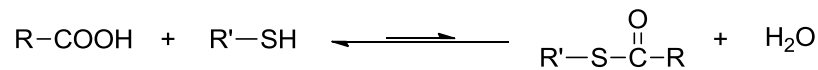


Figure 22 : Equilibre de formation des thioester en physiologie

Dans ce milieu primitif, la présence des acides organiques et des thiols, les ingrédients nécessaires pour la formation des thioesters, a été prouvé.¹¹³ Cependant leur assemblage n'est pas favorable d'un point de vue thermodynamique. Dans un milieu aqueux le rendement de cette condensation en thioester reste très faible, et insuffisant pour alimenter d'autres réseaux. Une des possibilités proposée mais peu explorée implique la synthèse des thioesters dans une phase de vapeurs à partir des réactifs volatiles.¹¹⁴

Une synthèse oxydative peut également être considérée à condition qu'un accepteur d'électrons approprié soit disponible (*Figure 24*).

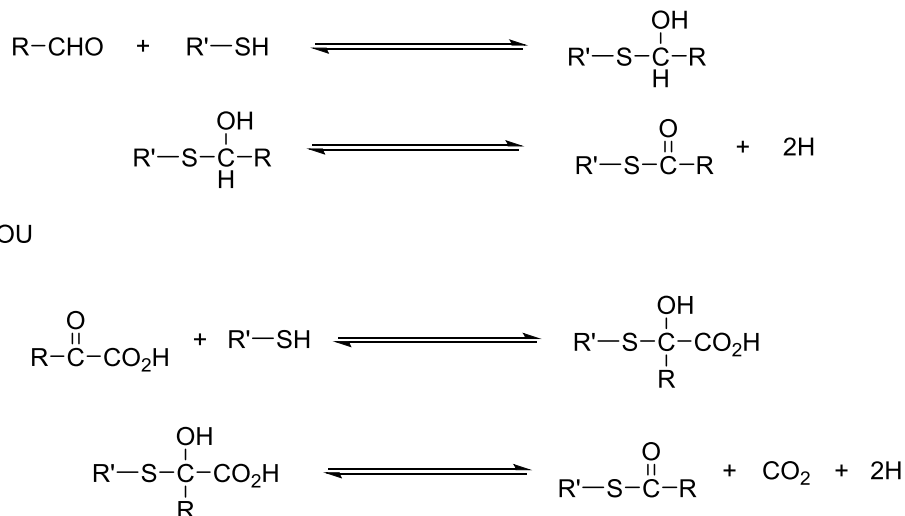


Figure 23 : Synthèse oxydative possible des thioesters

¹¹³ Kaschke, M.; Russell, M. J.; Cole, W. J. [FeS/FeS₂], a redox system for the origin of life (some experiments on the pyrite-hypothesis). *Orig Life Evol Biosph*, **1994**, *24*, 43-56.

¹¹⁴ Mescall, Kimberly Ann, "The chemical origin of life: an exploration of thioesters as energy in the prebiotic world" (1994). Presidential Scholars Theses (1990 – 2006). 113. <https://scholarworks.uni.edu/pst/113>.

Quel que soit la méthode qui a permis de former des thioesters dans le milieu prébiotique, leur contribution à l'essor d'un proto-métabolisme ne peut pas être négligée. Il a été proposé que les thioesters aient pu être impliqués dans la synthèse des premiers peptides, par assemblage à partir de thioesters d'aminoacyles.^{115, 116}

Par ailleurs, il est évident que les réactions du proto-métabolisme auraient pu utiliser de l'énergie des thioesters. Les thioesters, comme dans le métabolisme d'aujourd'hui, auraient pu permettre et nourrir un grand nombre de mécanismes de synthèse dépendant d'un transfert de groupe, dont l'assemblage de multimères, l'assemblage d'esters lipidiques (constituants de la membrane cellulaire), la synthèse des pyrophosphates et bien d'autres.¹³²

Concernant les réactions d'oxydo-réductions, les thioesters auraient pu faciliter les processus de thio-estérification en permettant de surmonter la barrière énergétique qui s'oppose à la réduction des groupes carboxyles en groupes carbonyle des aldéhydes ou des α -cétoacides par exemple (*Figure 24*). Les réactions inverses restent également possibles (*Figure 25*). En effet ce qui peut diriger cet équilibre est la disponibilité de donneurs ou d'accepteurs d'électrons appropriés dans le milieu. Dans le proto-métabolisme des complexes fer-soufre ont peut-être pu jouer ce rôle.¹¹⁷

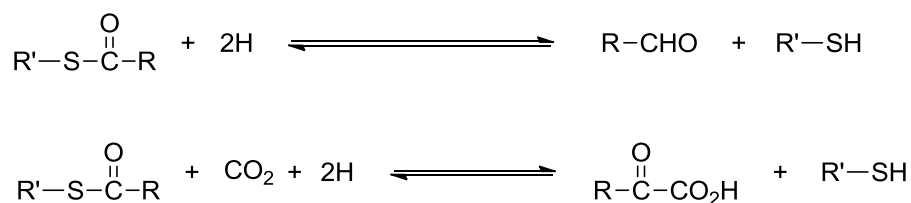


Figure 24 : Réduction et oxydation des groupements carboxyles via l'intermédiaire des thioesters

¹¹⁵ Kleinkauf, H., von Döhren, H. Nonribosomal biosynthesis of peptide antibiotics. *Eur. J. Biochem.* **1990**, *192*, 1–15.

¹¹⁶ Kleinkauf, H., and von Döhren, H. A nonribosomal system of peptide biosynthesis. *Eur. J. Biochem.* **1996**, *236*, 335–351.

¹¹⁷ Cammack, R. Evolution and diversity in the iron-sulfur proteins. *Chem. Scr.* **1983**, *21*, 87–95.

E. Hypothèses globales sur l'origine abiotique de la vie

La vie est complexe. Il est évident que la diversité des espèces, la complexité du métabolisme cellulaire et ses fonctions sont le résultat d'une longue évolution. Une évolution qui a commencé avec des molécules organiques simples dans le milieu primitif pour conduire à un réseau de voies métaboliques. Dans le but d'expliquer comment cette transition a eu lieu plusieurs hypothèses ont été publiées au fil des années qu'on peut classer sous deux grandes catégories, deux écoles : « **monde d'ARN** » ou « **métabolisme d'abord** ».

L'hypothèse du monde d'ARN est l'une des hypothèses les plus influentes concernant les origines de la vie sur la terre. Dans ce monde hypothétique avant l'émergence de l'ADN et des protéines, la vie sur la terre primitive aurait été constituée de molécules d'ARN qui aurait stocké à la fois de l'information génétique et catalysé des réactions d'autoréplication.¹ Cette théorie remonte au microbiologiste américain Carl Woese dans son ouvrage *The genetic code*, et développée plus tard par plusieurs scientifiques en particulier Walter Gilbert.

Malgré sa popularité, l'hypothèse du monde d'ARN souffre de la difficulté à expliquer son origine (son « point de départ »). Le nombre élevé de combinaisons aléatoires possibles de dérivés de nucléobases, de sucres et de phosphate qui pouvaient être présents dans la soupe prébiotique rend peu probable qu'une molécule d'ARN capable de catalyser sa propre auto-réplication soit apparue spontanément dans l'océan prébiotique. Et même si ce scénario de formation est possible, la molécule d'ARN survivrait difficilement dans le climat primitif rude. Même dans les organismes vivants d'aujourd'hui, la stabilité de ces molécules génétiques dépend de certaines protéines spécifiques, des protéine de liaison à l'ARN,^{118, 119} dont l'existence au premier stade de vie est tout à fait invraisemblable. C'est peut-être la

¹¹⁸ Nowakowski, J.; Tinoco, Jr, I. RNA Structure and Stability. *Seminars in Virology*, **1997**, 8, 153-165.

¹¹⁹ Hentze, M. W *et al.* A brave new world of RNA-binding proteins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2018**, 19, 327-341.

raison pour laquelle l'ADN est apparu, car il est bien plus stable que l'ARN (on le retrouve même dans des fossiles anciens).¹²⁰

Cela a conduit à suggérer que le monde d'ARN n'était pas un produit direct des processus abiotiques, mais pouvait être le résultat évolutif de certains systèmes (proto-)vivants primordiaux dans ce que l'on appelle maintenant le monde pré-ARN.

On peut ainsi revenir aux travaux d'Alexandre Oparine (1894 – 1980) et John Haldane (1892 – 1964). Ils ont proposé que la vie ait été précédée d'une longue période de synthèses abiotiques et d'accumulation de composés organiques simples dans l'océan primitif.¹ La naissance et le développement de la chimie organique au cours du 19^{siècle} et jusqu'à aujourd'hui prouve que ces processus sont réalisables. Leurs travaux sont à l'origine de l'hypothèse sur l'origine abiotique de la vie appelée « **métabolisme d'abord** ». Dans cette hypothèse les réactions métaboliques ont précédé les porteurs d'informations génétiques. Les réactions se sont produites d'une façon autonome avant d'aboutir à des boucles, pour se transformer en cycles métaboliques. Par la suite des cofacteurs et des enzymes ont été introduits au cours de l'évolution pour assurer le fonctionnement d'un protoplasme primordial, puis d'une première cellule vivante. Sous ce concept général de « métabolisme d'abord », plusieurs scénarios sont proposés.

Günter Wächtershäuser a publié son hypothèse du monde Fer-Soufre en 1988.¹²¹ Il suggère que la vie aurait commencé avec l'apparition d'un système métabolique auto-catalytique basé sur la fixation autotrophique du CO₂ et l'emploi de la pyrite (FeS₂), en présence d'H₂S. Ces réactions peuvent produire de l'hydrogène moléculaire, favoriser la formation d'ammoniac à partir d'azote, et de molécules organiques, dans des conditions douces. Malgré le fait que la variété des molécules produites dans les conditions de Wächtershäuser soient faible par rapport à d'autres expériences comme celle de Miller, la démonstration que FeS₂/ H₂S peut en particulier réduire l'azote en ammoniac fait de l'hypothèse du monde Fer-Soufre une proposition importante.

¹²⁰ RNA Stability. Jove. [Consulté le 15 septembre 2021]. Disponible sur : <https://www.jove.com/science-education/11009/rna-stability>.

¹²¹ Wächtershäuser, G. From volcanic origins of chemoautotrophic life to Bacteria, Archaea and Eukarya. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. **2006**, *361*, 1787-1808.

Alternativement, le scénario d'un monde de zinc propose que l'émergence de la vie ait démarré sur des surfaces de sulfure de zinc (ZnS, sphalérite) d'origine hydrothermale et a été permise par un rayonnement solaire riche en UV. Cette lumière UV peut avoir favorisé l'enrichissement sélectif de polymères photo-stables de type ARN. De plus, les ions Zn^{2+} sont les sous-produits attendus de la photosynthèse du ZnS. En conséquence, la vie pourrait avoir évolué à des niveaux élevés d'ions Zn^{2+} .¹²²

Enfin, il est possible que «le monde de thioesters», proposé par de Duve, ait précédé «le monde d'ARN».¹²³

Ces processus précoces de la vie peuvent expliquer les réactions essentielles de tous les organismes vivants d'aujourd'hui et doivent avoir existées chez l'ancêtre commun universel, LUCA.

D'importants travaux sur la théorie du métabolisme d'abord publié récemment mettent en évidence en particulier la transition de la géochimie à la chimie prébiotique et ses perspectives pour la biochimie du métabolisme cellulaire actuel. Dans le but de présenter une version crédible du proto-métabolisme, Joseph Moran et son équipe se basent sur les analyses qualitatives et quantitatives du métabolisme cellulaire.¹²⁴ Cette approche permet de déduire une version de proto-métabolisme avec des réactions séquentielles, compatibles entre elles et mettant en jeu des réactifs non étrangers à la biochimie.

Ces auteurs sont parvenus en suivant cette méthodologie à évaluer deux voies de fixation du carbone, le cycle rTCA (acide tricarboxylique réducteur) et la voie réductrice AcCoA (Wood-

¹²² Mulkidjanian, A. Y.; Galperin, M. Y. On the Origin of Life in the Zinc World. 2. Validation of the hypothesis on the photosynthesizing zinc sulfide edifices as cradles of life on earth. *Biol. Direct* **2009**, *4*, 27.

¹²³ de Duve, C. A Research Proposal on the Origin of Life. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2003**, *33* (6), 559–574.

¹²⁴ Muchowska, K. B.; Chevallot-Beroux, E.; Moran, J. Recreating ancient metabolic pathways before enzymes. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 2292-2297.

Ljungdahl), qui auraient pu fonctionner sans enzymes et donc pourraient provenir de la chimie prébiotique.

L'équipe de Krishnamurthy a aussi mené des études afin de déchiffrer les racines des voies métaboliques.¹²⁵ Ces travaux sont centrés essentiellement sur les conditions permettant de former les intermédiaires, les céto-acides, du cycle de krebs inverse en absence totale d'enzymes et même de métaux.¹²⁶ Ils ont aussi réussi à élaborer un réseau bicyclique de réactions non enzymatiques qu'ils proposent comme analogue protométabolique du rTCA. Les principales réactions de formation de liaison C-C dans ce réseau sont les réactions d'aldolisation du glyoxylate avec le pyruvate, l'oxaloacétate et le malonate.

Les hypothèses citées ci-dessous visent à expliquer comment le métabolisme cellulaire actuel est né, et quelle est la chimie prébiotique qui a permis son émergence et son développement. On voit donc que les efforts sont de plus en plus dirigés vers l'explication de l'origine des voies et l'organisation du métabolisme cellulaires plutôt que vers la synthèse des molécules. Les travaux de cette thèse s'inscrivent dans cette démarche, plus précisément ils se concentrent sur un des cœurs du métabolisme cellulaire, le cycle de Krebs et son inverse.

F. D'un ancêtre commun à l'arbre de vie

Un ancêtre commun

LUCA (Last universal Common Ancestor) est défini comme le dernier ancêtre commun universel, et la plus récente forme de vie dont toutes les autres espèces vivantes sur la terre sont issues. Le scénario réel de l'apparition du ou des premiers organismes vivants sont encore inconnu et le restera sans doute encore longtemps (voire à jamais), mais il est largement considéré que la vie a été formée via une série de réactions chimiques ayant eu lieu en parallèle. Ces réactions peuvent avoir eu lieu en un seul endroit, ou en différents endroits

¹²⁵ Krishnamurthy, R. Life's Biological Chemistry: A Destiny or Destination Starting from Prebiotic Chemistry? *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 16708 – 16715.

¹²⁶ Springsteen, G.; Yerabolu, J. R.; Nelson, J.; Rhea, C. J.; Krishnamurthy, R. Linked cycles of oxidative decarboxylation of glyoxylate as protometabolic analogs of the citric acid cycle. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 91.

avant de se rassembler pour former la première cellule vivante.^{11, 127} Il est plus que probable qu'une sorte d'évolution «chimique» s'est produite avant l'apparition de LUCA. Étant le dernier ancêtre commun de toutes les formes de vie que nous connaissons de nos jours, LUCA devait contenir des membranes, des protéines, de l'ARN et de l'ADN. Il était capable de faire la réplication, la transcription, la traduction et possédait déjà un métabolisme complexe. Cette combinaison parfaite et déjà très complexe a pu être le résultat d'une énorme quantité de processus évolutifs qui auraient pu se produire entre l'origine «vraie» (mais perdue) de la vie et l'apparition de LUCA.¹³ Il est possible que de nombreuses tentatives aient été faites avant la forme finale de LUCA.

L'arbre de vie universel

Un des aspects majeurs du système évolutif de la nature est la biodiversité des espèces présentes sur notre planète aujourd'hui. Des espèces qui dérivent d'un ancêtre commun unique et qui sont liées les unes aux autres par ce qu'on appelle aujourd'hui l'arbre de la vie (*Figure 4*). L'arbre de vie est l'un des principes d'organisation les plus importants de la biologie actuelle.¹²⁸ Il montre les relations évolutives entre tous les types de vie connus. Il a été initialement conçu pour classer les organismes vivants en fonction de leurs propriétés physiques et métaboliques. Depuis Darwin, les dessins pertinents de l'arbre de vie ont été mis à jour et modifiés en fonction des nouvelles découvertes. De nos jours, l'arbre de vie peut être dessiné de plusieurs manières qui montrent le développement de chaque espèce individuelle comme une branche indépendante. Il montre une diversité totale, comprend des interactions biologiques entre les espèces et prend en compte le lien entre les différentes formes de vie, des bactéries aux animaux.

¹²⁷ Bardgett, R. D & van der Putten, W. H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* **2014**, *515*, 505-511.

¹²⁸ Woese, R, C. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1990**, *87*, 4576-4579.

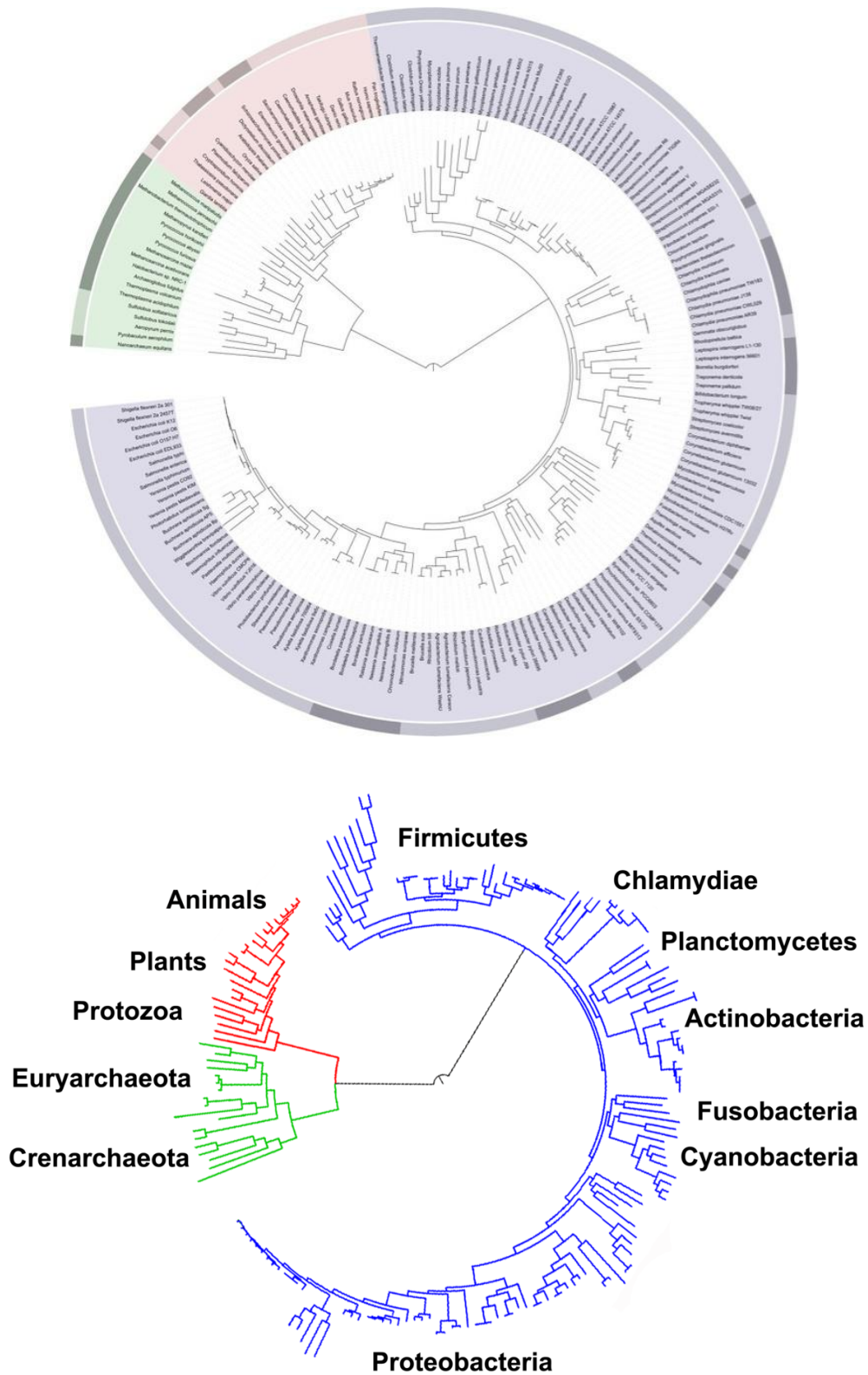


Figure 25: a) Un exemple de l'arbre de vie : Ivica Letunic, Mariana Ruiz Villarreal. L'image a été réalisée en utilisant iTOL : Interactive tree of life. b) Un exemple simplifié de l'arbre de vie (droits d'auteur accordés)

G. Les traces du proto-métabolisme dans la biologie d'aujourd'hui

Les cofacteurs et les coenzymes

Les coenzymes et les cofacteurs sont des molécules essentielles à la survie de tous les organismes.¹²⁹ Ils permettent de diriger les forces thermodynamiques qui contrôlent les interactions des enzymes et de catalyser les réactions. Par exemple, les **nicotinamides adénine dinucléotide (phosphate) NAD(P)**, grâce à leur gamme de potentiel de réduction, autorisent un grand nombre des réactions d'oxydoréduction réversibles dans le métabolisme central, ce qui laisse penser qu'ils ont été (ou peut être des précurseurs plus simples) disponibles au début de l'évolution.¹³⁰

Ces coenzymes sont tous des porteurs d'électrons, le couple NAD^+/NADH intervenant dans des réactions cataboliques, et dans la synthèse de l'ATP. Leurs dérivés phosphorylés sont impliqués dans des réactions anaboliques, donc dans la synthèse des métabolites (*Figure 26*).

131

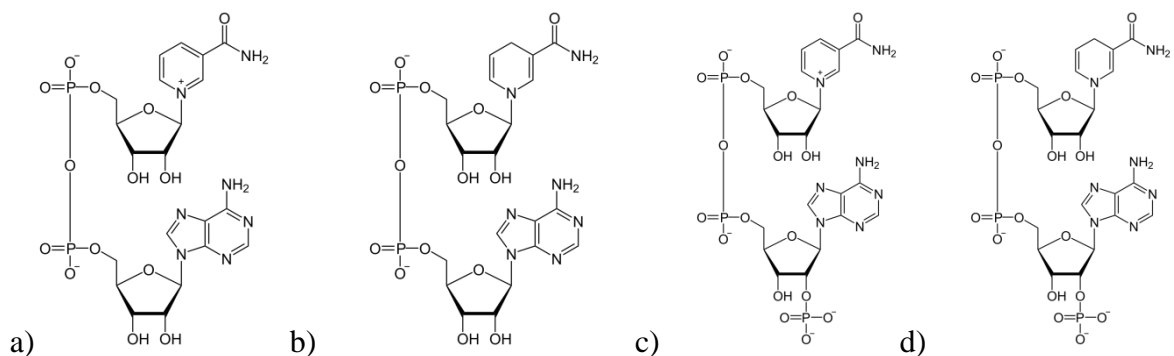


Figure 26 : Les 4 coenzymes de la famille Nicotinamide adénine dinucléotide (phosphate). a) NAD^+ ; b) NADH ; c) NADP^+ ; d) NADPH .

¹²⁹ Webb, E. M.; Marquet, A.; Mendel, R. R.; Rébeillé, F.; Smith, A.G. Elucidating biosynthetic pathways for vitamins and cofactors. *Nat. Prod. Rep.*, **2007**, *24*, 988 -1008.

¹³⁰ Jinich, A. Quantum Chemistry reveals thermodynamic principles of redox biochemistry. *PLoS Comput Biol.*, **2018**, *14*(10):e1006471.doi: 10.1371/journal.pcbi.1006471.

¹³¹ Goldford, J. E.; George, A. B.; Flamholz, A. I.; Segrè, D. Thermodynamics drives coenzyme redundancy in metabolism. *BioRxiv*, **2021**, <https://doi.org/10.1101/2021.05.17.444566>.

Pour les réactions d'oxydo-réduction, il faut mentionner le rôle important des cofacteurs de clusters Fer-Soufre (*Figure 22, page 3*).

Chez les organismes procaryotes anaérobies le pyruvate ferrédoxine oxydoréductase (PFOR) permet la décarboxylation oxydative du pyruvate, un composant central du métabolisme.¹³² Ses **clusters Fe-S** transfèrent les électrons avec des potentiels plus négatifs que ceux des NAD^+ utilisés par le complexe multienzymatique pyruvate déshydrogénase (PHD) pour oxyder le même substrat chez les eucaryotes (*Figure 27*).

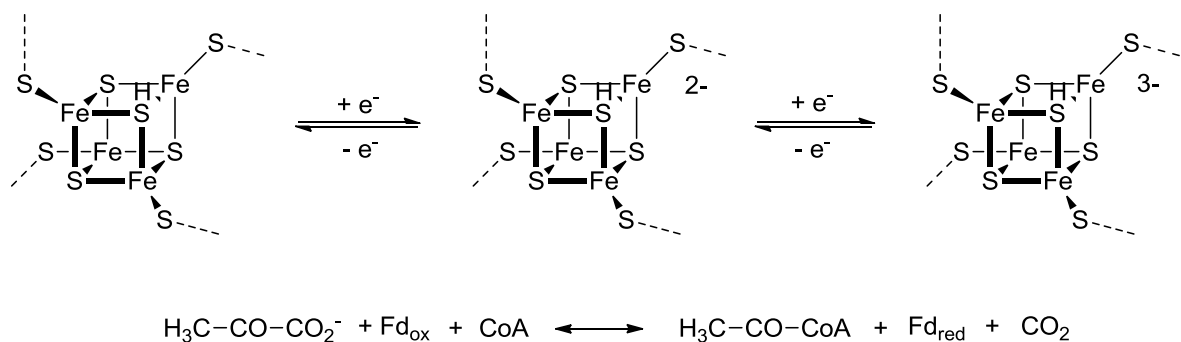


Figure 27 : oxydation du pyruvate en Acétyle-coenzyme A par les clusters [4Fe4S] de PFOR

L

a composition chimique, assez simple, de ces cofacteurs formés de soufre et de fer, des atomes abondants sur terre et possédant plusieurs états d'oxydation, n'est sans doute pas due simplement au hasard. De plus, le PFOR, complexe enzymatique utilisant ces cofacteurs, est capable de catalyser la réaction inverse permettant de former la matière organique par insertion du CO_2 . Tous ces indices mènent à une seule conclusion : les clusters Fe-S sont parmi les premiers cofacteurs du métabolisme primitif, et en ce qui concerne le complexe enzymatique PFOR présents chez les microorganismes, il est probablement l'ancêtre d'une variété de protéine ferrédoxine tels que pyruvate déshydrogénase (PHD).

¹³² Chabrière, E *et al.* Crystal structure of the free radical intermediate of pyruvate: ferredoxin oxidoreductase. *Science* **2001**, 294, 2559-2563.

Une coenzyme permettant le transfert du CO_2 dans la synthèse de la matière organique est la **vitamine B₈** connu aussi sous le nom de **biotine** (*Figure 28*). La biotine est impliquée dans des réactions de carboxylations, *trans*-carboxylations et décarboxylations.¹³³ Dans le corps humain la biotine s'attache à cinq enzymes différentes intervenant dans la synthèse et dégradation des acides gras, la gluconéogenèse ainsi que dans d'autres voies biochimiques. Tout cela distingue la biotine clairement de la plus part des autres cofacteurs du métabolisme. L'origine de ce cofacteur pourrait remonter à la période précédant l'apparition du code génétique puisque sa structure chimique n'inclue pas de nucléotide comme c'est le cas pour plusieurs autres cofacteurs (NAD^+/NADH et $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$...).

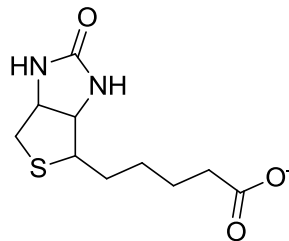


Figure 28 : La biotine (la vitamine B₈)

La thiamine ou **vitamine B₁** est un autre métabolite jouant un rôle important dans les processus biologiques. Il est le précurseur de la thiamine diphosphate qui est une coenzyme essentiel dans plusieurs décarboxylases et qui favorise une grande variété de couplages C-C, ce qui semble indiquer aussi une possible participation au proto-métabolisme (*Figure 29*).

La thiamine diphosphate est très répandue entre les espèces vivantes, ce qui explique le grand nombre des études effectués sur sa biosynthèse.

¹³³ Visser, C. M.; Kellogg, R. M. Biotin. Its place in evolution. *J. Mol Evol.* **1978**, *11*, 171-87.

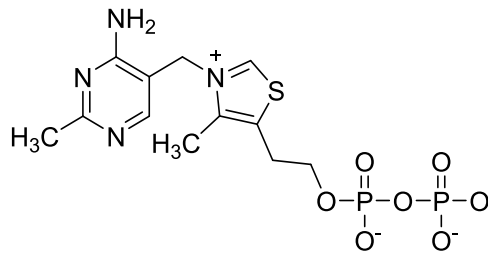


Figure 29 : La thiamine diphosphate

Une autre famille de la coenzyme joue un rôle central dans le métabolisme cellulaire, ce sont les transporteurs de métabolites. Dans cette thèse nous allons insister sur la coenzyme A et la coenzyme M.

La coenzyme A est un thiol de structure assez complexe (*Figure 30*). Il est composé de l'adénosine diphosphate (ADP), de l'acide pantoïque, de β -alanine, et de la cystéamine. L'extrémité cystéamine est la partie active de cette coenzyme, elle interagit avec des acyles pour les transférer sous forme de thioester. Contrairement aux autres transporteurs d'acyle tels que les anhydrides mixtes, les thioesters sont moins sujet à l'hydrolyse et peuvent survivre dans l'eau pendant de longues périodes dans des conditions prébiotiques plausibles.

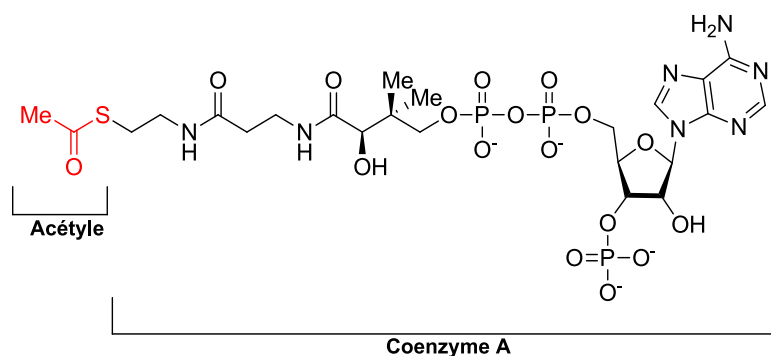


Figure 30 : la coenzyme A

Concernant l'origine de la coenzyme A, plusieurs études ont été publiées, présentant des synthèses prébiotiques des différents fragments.^{134, 135} Nous résumons dans la [figure 31](#) les résultats obtenus dans ce cadre.^{136, 73,137,138}

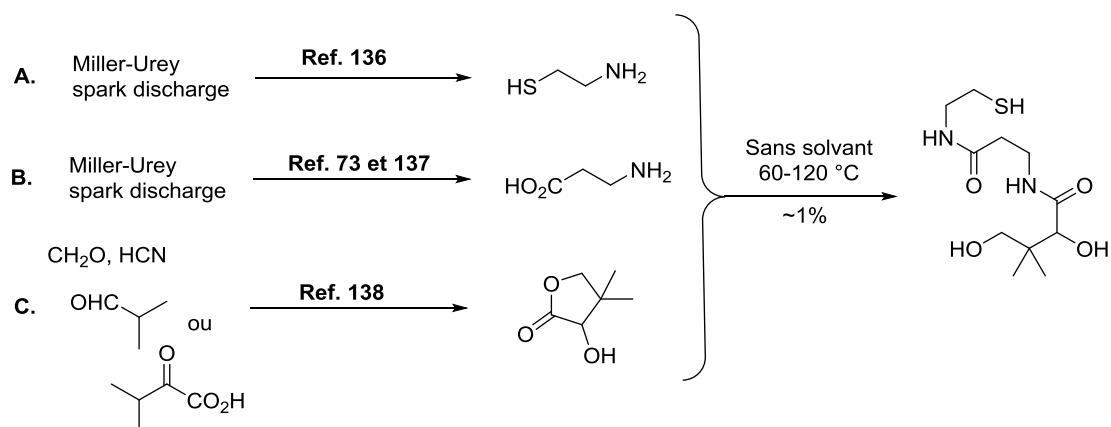


Figure 31 : Synthèse prébiotique possible des différents fragments de la coenzyme A

¹³⁴ Kirschning, A. Coenzymes and their role in the evolution of life. *Angew. Chem. Int.* **2021**, *60*, 6242 – 6269.

¹³⁵ Begley, T. P.; Kinsland, C.; Strauss, E. The biosynthesis of coenzyme A in bacteria. *Vitam Horm.* **2001**, *61*, 157-71.

¹³⁶ Parker, E. T.; Cleaves, H. J.; Callahan, M. P.; Dworkin, J. P.; Glavin, D. P.; Lazcano, A.; Bada, J. L., Prebiotic synthesis of Methionine and other sulfur-containing organic compounds on the Primitive Earth: A contemporary Reassessment Based on an Unpublished 1958 Stanley Miller Experiment. *Orig Life Evol Biosph.* **2011**, *41*, 201-12.

¹³⁷ Miller, S. L.; Urey, H. C. Organic Compound Synthesis on the Primitive Earth. *Science* **1959**, *130*, 245-251.

¹³⁸ Miller, S. L. Schlesinger, G. Prebiotic syntheses of vitamin coenzymes: I. Cysteamine and 2-mercapto-ethanesulfonic acid (coenzyme M). *J Mol Evol*, **1993**, *36*, 302-307.

La synthèse de la coenzyme A est possible mais reste difficile, le rendement obtenu en est faible. Il est donc probable que la formation de cette coenzyme soit intervenue plus tard quand des catalyseurs étaient présents pour catalyser sa synthèse.

La coenzyme M ou mercaptoethanesulfonate se trouve dans les méthanogènes (*Figure 32*), où elle est responsable de réactions de transfert de méthyle au cours de la méthanogénèse.¹³⁹ La coenzyme M possède un groupement sulfonate $-SO_3^-$ responsable de sa solubilité dans l'eau.

Selon Miller et Schlesinger, la coenzyme M peut être formée à partir de l'éthylène,¹³⁸ généré dans les atmosphères planétaires,¹⁴⁰ En présence de soufre élémentaire l'éthylène serait transformé en sulfure d'éthylène, qui en présence de sulfite donnerait la coenzyme M.¹⁴¹

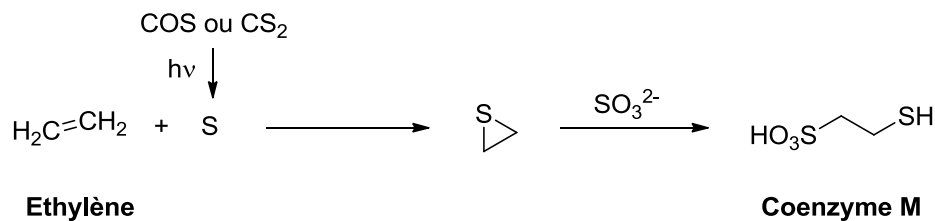


Figure 32 : la Coenzyme M

Il est donc très probable que les coenzymes, et d'une façon générale les cofacteurs, sont des relais importants dans la course de l'évolution de la vie. Leur structure chimique apporte beaucoup d'information. Des catalyseurs minéraux simples pourrait correspondre à une

¹³⁹ Enzmann, F.; Mayer, F.; Rother, M.; Holtmann, D. Methanogens: biochemical background and biotechnological applications. *AMB express*. **2018**, 8, <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0531-x>.

¹⁴⁰ Frère, C.; Raulin, F. Processus prébiotiques dans les atmosphères planétaires. *Grana*, **1991**, 30, 510-513.

¹⁴¹ Breckenridge, W. H.; Taube, H. Some Reactions of Ground-State (3P) and Electronically Excited (1D) Sulfur Atoms. *J. Chem. Phys.* **1970**, 53, 1750 – 1766.

période précoce de la vie, quand les premières briques et voie métabolique s'installaient dans le milieu primitif, alors que des coenzymes, de structure plus complexe, correspondraient à une période un peu plus avancée. La présence de base nucléique dans le squelette de plusieurs cofacteurs pourrait être la preuve de leur cohabitation avec les acides nucléiques, composants d'un monde d'ARN, peut-être même ces cofacteurs seraient-ils à l'origine de ce monde ARN.

Les cycles métaboliques

Cycle de Krebs et le cycle de Krebs inverse

Le cycle de Krebs et le cycle de Krebs inverse occupent un rôle central dans le métabolisme cellulaire. Cela signifie sans doute qu'ils ont eu un développement très précoce à l'origine de la vie. Les deux cycles sont à peu près inverses l'un de l'autre, ils comprennent 13 intermédiaires dont 5 sont les « précurseurs universels » du métabolisme biologique actuel.

- **Cycle de Krebs**

Le cycle de Krebs (*Figure 33*) fournit des précurseurs pour la biosynthèse des acides aminés et joue un rôle essentiel dans la dégradation des acides gras, la respiration cellulaire et le métabolisme énergétique et d'oxydo-réduction.¹⁴²

Il n'y a pas de doute sur le fait que cette voie métabolique soit apparue à un stade très précoce de l'évolution. Il est difficile de déterminer si elle est venue avant, avec, ou après le monde d'ARN. Cependant, une origine post-génétique ne paraît pas crédible, puisque les briques des polymères génétiques sont des dérivés de certaines molécules obtenues par ce cycle. C'est pourquoi des auteurs ont recherché une origine non-enzymatique au cycle de Krebs.

¹⁴² Krebs, H. A. & Johnson, W. A. The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. *FEBS Lett.* **1980**, *117*, K1–K10.

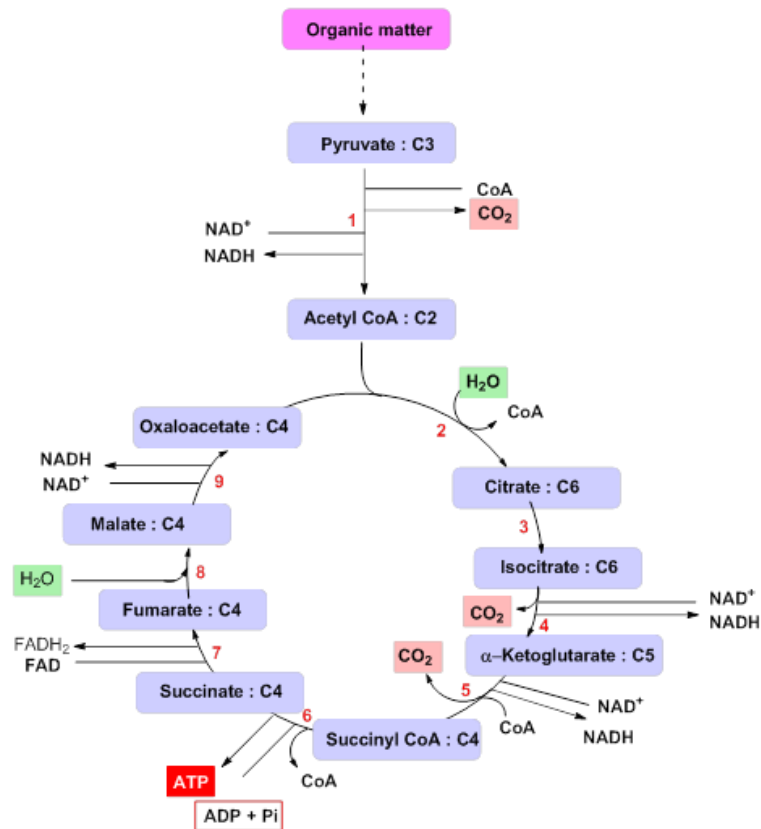


Figure 33 : Cycle de Krebs

L'équipe de Markus Ralser a présenté une version non-enzymatique primitive du cycle de Krebs.¹⁴³ 24 réactions d'inter-conversion non-enzymatiques des intermédiaires du cycle de Krebs se sont produites en présence de radicaux sulfate générés à partir du peroxydisulfate (*Figure 34*). Ces réactions qui ressemblent à celle d'isomérisation et d'oxydation du cycle enzymatique de Krebs, du cycle de glyoxylate et de la voie du semi-aldéhyde succinique, forment un réseau, avec 90 % de récupération du carbone, qui peut être un précurseur plausible à l'origine d'un cycle de Krebs précoce.

¹⁴³ Keller, M. A.; Kampjut, D.; Harrison, S. A.; Ralser, M. Sulfate radicals enable a non-enzymatic Krebs cycle precursor. *Nature* **2017**, *1*, doi: 10.1038/s41559-017-0083.

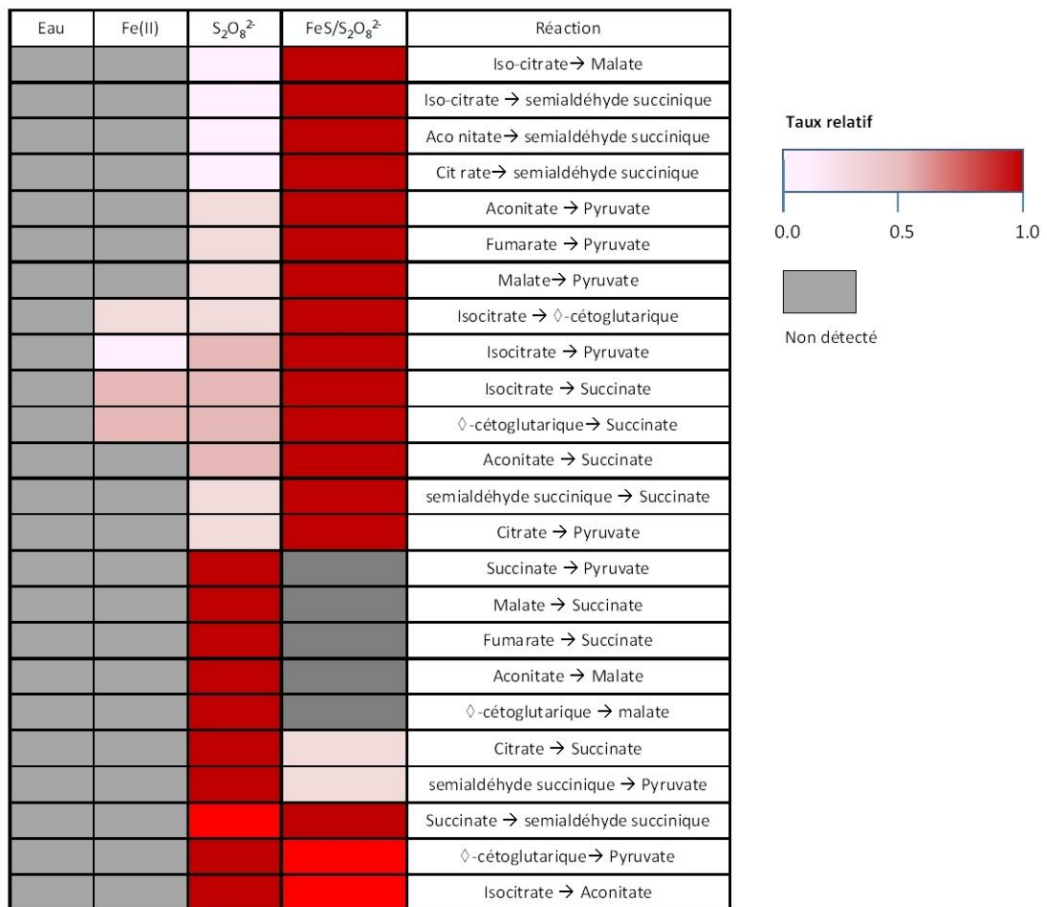


Figure 34 : Réactions non enzymatiques de type cycle de Krebs en présence de peroxydisulfate et de peroxydisulfate/sulfure ferreux.

- **Cycle du glyoxylate**

Le cycle du glyoxylate (*Figure 35*) est une variante du cycle de Krebs contribuant à l’anabolisme des végétaux et certains micro-organiques. Il produit des unités à quatre atomes de carbone en convertissant l’acétyle-CoA (donc l’acide acétique) en succinate utilisé ensuite dans la biosynthèse des glucides. Il permet la synthèse des glucides à partir des produits de dégradation des acides gras.

Le cycle du glyoxylate commence avec la condensation de l’acide oxaloacétique et de l’acétyle-CoA pour donner l’acide citrique qui par l’intermédiaire de l’acide *cis*-aconitique est transformé en acide isocitrique. Ce dernier se décompose en acides succinique et glyoxylique,

lui-même convertit en acide malique via une condensation avec une deuxième molécule d'acétyl-CoA.

Le cycle du glyoxylate partage 3 enzymes, la malate déshydrogénase, le citrate synthase et l'aconitase, avec les cycles de Krebs. Les deux autres enzymes spécifiques de ce cycle sont l'isocitrate lyase et la malate synthase. Elles peuvent être considérées comme marqueurs de ce cycle chez les organismes vivants.

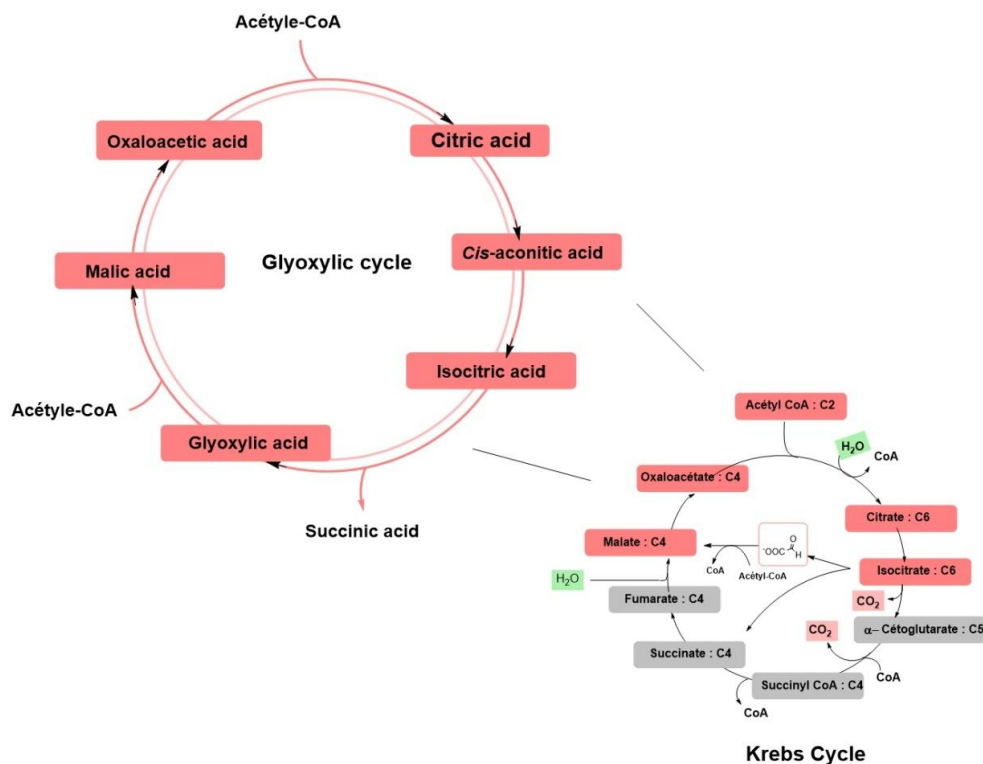


Figure 35 : Cycle du glyoxylate

- Voie de Wood-Ljungdahl et cycle de Krebs inverse

Aux premiers stades de la chimie prébiotique à l'origine de la vie, et avant l'avènement des enzymes ou des cellules, des voies chimiques anaboliques pourraient avoir agi pour construire la complexité moléculaire à partir de la matière première plus simple.¹⁴⁴

¹⁴⁴ Muchowska, K. B.; Varma, S. J.; Chevallot-Beroux, E.; Lethuillier-Karl, L.; Li, G.; Moran, J. Metals promote sequences of the reverse Krebs cycle. *Nat. Ecol. Evol* **2017**, *1*, 1716-1721.

Les voies anaboliques importantes du métabolisme cellulaire sont les voies de fixation du CO_2 chez les chimioautotrophes : la voie de Wood-Ljungdahl, parfois appelée la voie réductrice de l'acétyl-CoA, et une version complète ou incomplète du cycle de Krebs inverse, ou la combinaison des deux. 3 autres voies partagent de nombreuses similitudes : le cycle 3-hydroxypropionate, le cycle dicarboxylate hydroxybutyrate, et le cycle 3-hydroxypropionate-4-hydroxybutyrate.

La voie de Wood-Ljungdahl est la voie anabolique la plus simple et peut-être la plus ancienne à avoir émergé sur terre. Elle est linéaire, courte et produit deux précurseurs universels (acétate et pyruvate) (*Figure 36*). Le cycle de Krebs inverse rTCA, lui, peut être considéré comme une évolution, plus répandu dans le règne des autotrophes.

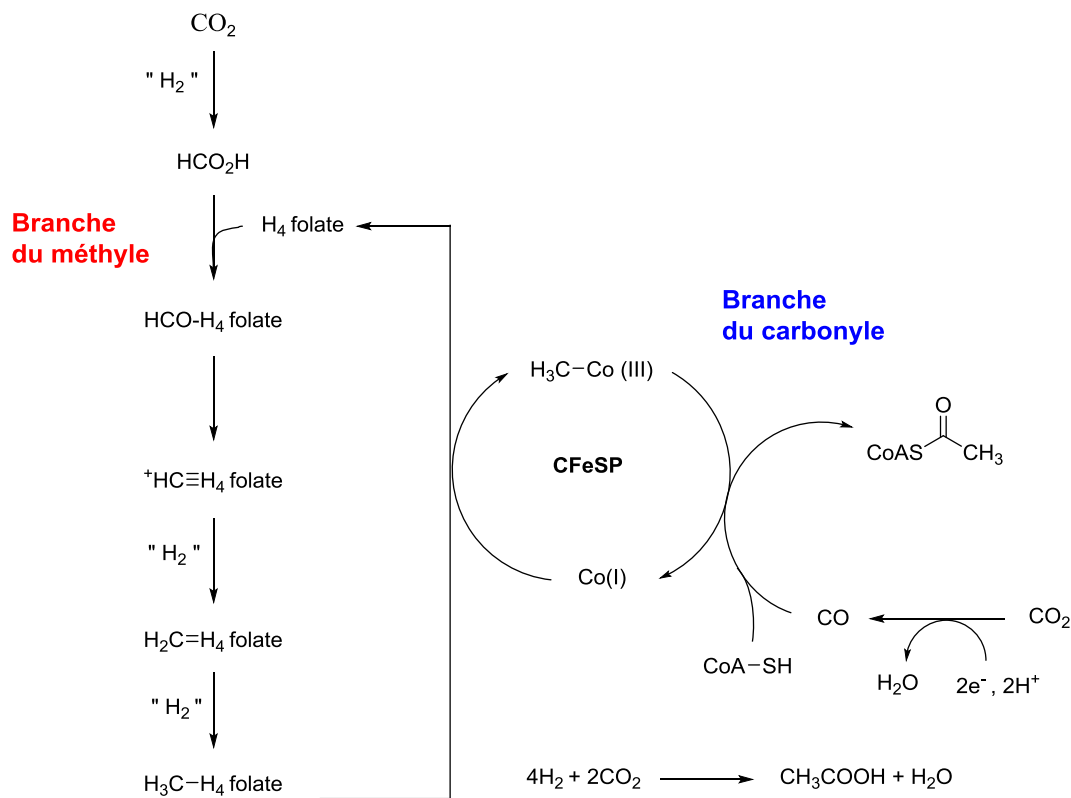


Figure 36 : La voie de Wood-Ljungdahl

Il est proposé que ces voies synthétiques soient apparues du fait de leur capacité à dissiper les gradients redox géochimiques accumulés entre le noyau réduit de la terre (principalement Fe^0) et son atmosphère relativement oxydée, fournissant un scénario d'origine qui est continu de la

géochimie aux organismes réducteurs thermophiles fixateurs de carbone trouvés à la racine de l'arbre de vie.^{145, 146}

La fixation du CO₂ est un processus chimique qui permet à une variété d'organismes de synthétiser la matière organique nécessaire à leurs activités vitales. Elle fait partie des réactions importantes du cycle de Krebs inverse (*Figure 37*). Ce cycle est aujourd'hui régulé par pas moins de 10 enzymes distinctes. Cependant des études sur son origine ont montré que la majorité de ces étapes peuvent être catalysées par des espèces plus simples. Sur ce point, nous avons présenté les travaux de l'équipe Moran et Krishnamurthy dans la section « Hypothèses sur l'origine abiotique de la vie ». ⁸⁴

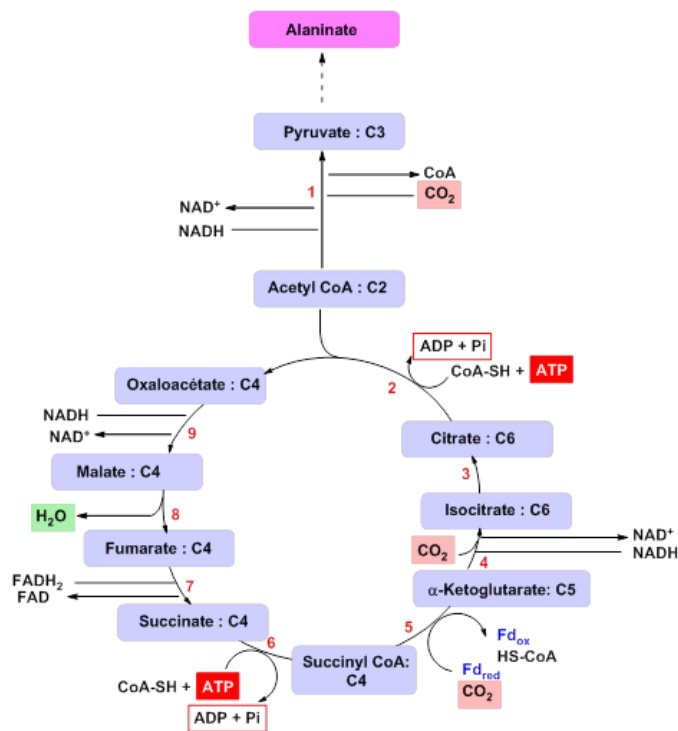


Figure 37 : Cycle de Krebs inverse

¹⁴⁵ Russell, M. J., Hall, A. J. & Mellersh, A. R. On the dissipation of thermal and chemical energies on the early earth. *Natural and laboratory simulated thermal geochemical processes/* ed. par Raphael, I. Dordrecht: Springer Netherlands, **2003**, p. 325-388.

¹⁴⁶ Smith, E. & Morowitz, H. J. *The Origin and Nature of Life on Earth: The emergence of the Fourth Geosphere*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, **2016**, p 691.

Les enzymes de la décarboxylation oxydative et carboxylation réductrices

Dans le métabolisme cellulaire, le pyruvate est associé à la formation de l'acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA), intermédiaire d'une « ramification » reliant le cycle des acides tricarboxyliques, la chaîne respiratoire, la synthèse des acides aminés et la production des lipides.

La réaction permettant la transformation de l'acide pyruvique en acétyl-coenzyme A est une décarboxylation oxydative catalysée par le complexe enzymatique pyruvate déshydrogénase (PDH) contenant trois enzymes différentes et utilisant plusieurs cofacteurs pour produire l'acétyl-CoA avec dégagement d'une molécule de CO₂. Les composants de ce complexe enzymatique : E1 (pyruvate déshydrogénase) et E2 (dihydrolipoamide acétyl-transférase) génèrent l'acétyl coenzyme A, tandis que E3 (dihydrolipoamide déshydrogénase), dépendant de FAD/NAD⁺, effectue un recyclage redox (*Figure 38*).¹⁴⁷

¹⁴⁷ Patel, M. S., Nemeria, N. S., Furey, W. & Jordan, F. The pyruvate dehydrogenase complexes: Structure-based function and regulation. *J. Biol. Chem.* **2014**, 289, 16615–16623.

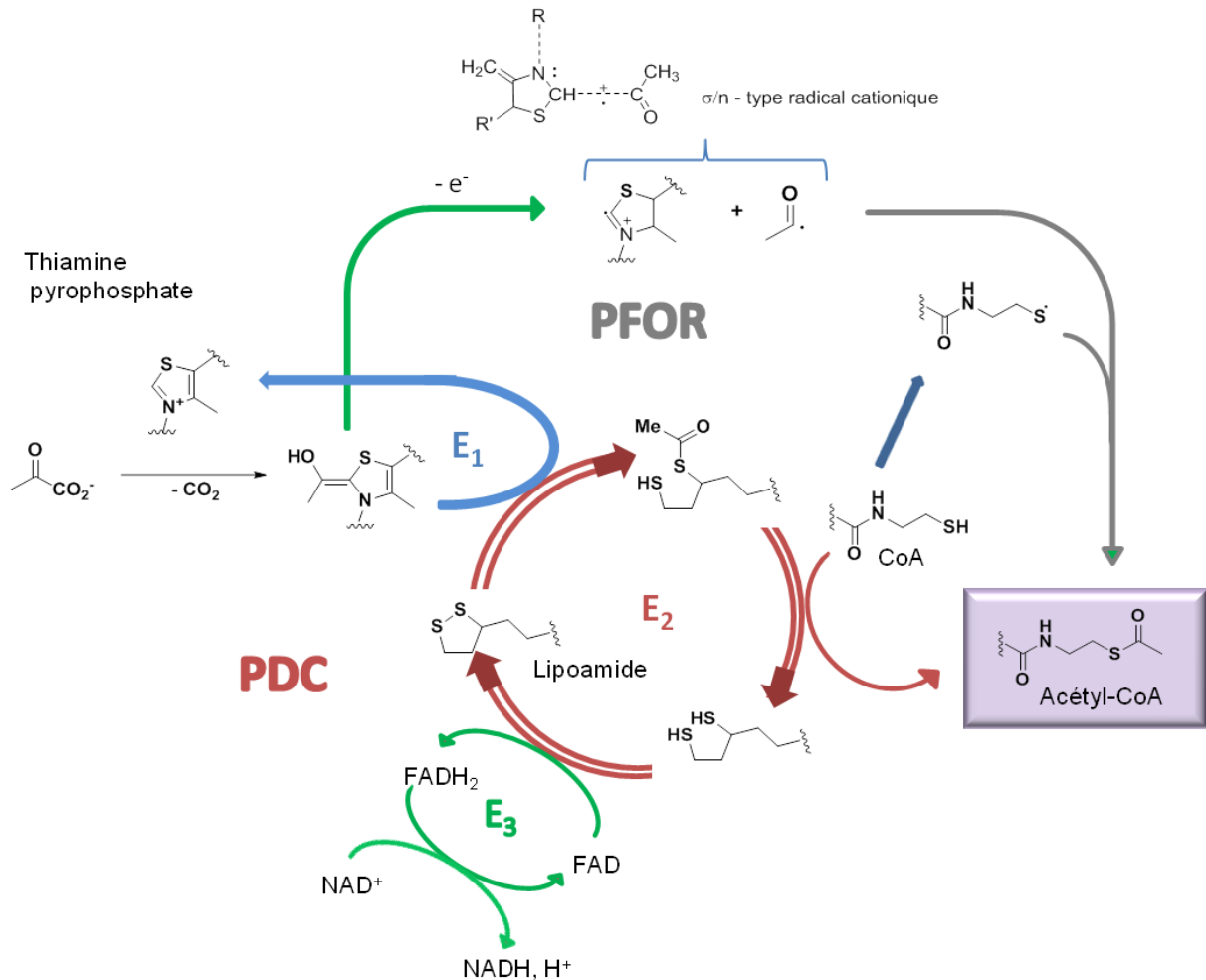


Figure 38 : Les composants du complexe enzymatique pyruvate déshydrogénase et le mécanisme enzymatique du métalloenzyme pyruvate : la ferredoxine oxydoréductase (PFOR)

Chez les organismes anaréobies, la métalloenzyme pyruvate la ferredoxine oxydoréductase (PFOR) catalyse cette transformation de l'acide pyruvique ainsi que sa réaction inverse, la synthèse de l'acide pyruvique à partir de l'acétyle CoA.

Bien que ces deux complexes enzymatiques, les PFOR et les PHD, contiennent tous les deux du diphosphate de thiamine, leurs mécanismes d'action sont différents. Le complexe PFOR procède via un mécanisme radicalaire, qui génère un intermédiaire radicalaire stable (à base de diphosphate d'acétylthiamine), le seul de son type à avoir été isolé et identifié (*Figure 39*). La fragmentation de ce substrat permet de régénérer le noyau thiazole et fournir le radical

acyle qui réagit avec la coenzyme A pour donner le l'acétyle coenzyme A.^{148, 149} Concernant le complexe PDH, la formation d'un radical est remplacée par l'acétylation réductrice de l'acide lipoïque à partir de l'énamine.

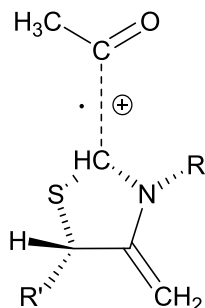


Figure 39 : σ/n -type radical cationique

Comme pour la plupart des molécules du métabolisme cellulaire, la présence d'un noyau thiazole au niveau du site active de ces protéines enzymatiques n'est sans doute pas un hasard. La libération du groupement acétyle, soit par une voie radicalaire, soit suite à une attaque de type S_N2 , devait préserver la nature de ce noyau thiazole, indispensable dans les 2 cas.

En effet l'aromaticité du thiazole qui est due à la délocalisation d'une seule paire d'électrons du soufre à travers le cycle, fait de ce noyau un des hétérocycles les plus stables.¹⁵⁰ Cette aromaticité permet également de stabiliser le carbanion formé en position C2. Par comparaison, les noyaux oxazole et imidazole, pourtant similaires, sont moins stables dans l'eau, et probablement vis-à-vis des réactions impliquées. Ces propriétés peuvent expliquer

¹⁴⁸ Fontecilla-Camps, C. J. Crystal structure of the free radical intermediate of pyruvate: Ferredoxin Oxidoreductase. *Science* **2001**, 294, 2559-2563.

¹⁴⁹ Katsyv, A.; Schoelmerich, M. C.; Basen, M.; Müller, V. The pyruvate: ferredoxin oxidoreductase of the thermophilic acetogen, *Thermoanaerobacter kivui*. *FEBS Open Bio.* **2021**, 11, 1332-1342.

¹⁵⁰ Gupta, V.; Kant, V. A review on biological activity of imidazole and thiazole moieties and their derivatives. *Sci. int.* **2013**, 1, 253-260.

l'omniprésence de la thiamine di-phosphate dans la structure de plusieurs enzymes : pyruvate décarboxylate, benzoylformate decarboxylase...

Ces voies de synthèse anaboliques biologiques auraient pu naître spontanément avant l'existence d'enzymes, d'ARN ou de cellules.

Résumé

Depuis son apparition, la vie n'a pas cessé d'évoluer, de croître, de se manifester en de multiples formes sur notre planète. Si son origine est encore mal comprise, il est évident que de nombreux facteurs se sont combinés pour donner la vie. Les événements de la formation de la terre, le milieu géochimique primitif (et les molécules qu'il contenait), les corps extraterrestres et leur apport en eau, en espèces inorganiques et en molécules ont dirigé l'histoire de la vie depuis son commencement jusqu'au aujourd'hui.

Selon le facteur étudié et le domaine concerné, les recherches pour révéler son origine se fondent sur les empreintes qu'a pu laisser l'évolution dans la vie telle qu'elle apparaît aujourd'hui. En biochimie, le métabolisme cellulaire, commun et essentiel à tous les organismes vivants, est une trace importante du développement de la vie. Il est donc incontestable qu'un réseau de réactions chimiques permettant de rompre ou former des liaisons de manières ressemblant étroitement à la biochimie d'aujourd'hui aurait émergé dans le milieu primitif. Ce proto-métabolisme associe donc la synthèse des premiers métabolites par des réactions chimiques simple non-enzymatique, avec la capacité à capturer et maintenir de l'énergie chimique.

Dans cette thèse, nous cherchons à savoir ce qu'était ce proto-métabolisme, et les processus chimiques qui l'ont construit. Nous nous focalisons sur le cycle de Krebs et cycle de Krebs inverse qui sont au cœur des voies cataboliques et anaboliques du métabolisme cellulaire actuel. Les deux cycles sont responsables de la synthèse de métabolite nécessaires à différentes autres parties du métabolisme, et dirigent les échanges de flux d'énergie (via des molécules énergétiques telles que les thioesters et l'ATP) (*Figure 40*).

Nous décrivons ici brièvement, nos synthèses prébiotiques des métabolites et molécules nécessaires pour les réactions du cycle de Krebs et son inverse, que nous allons tenter de reproduire partiellement (et idéalement, en entier), dans des conditions plausiblement proche celles de celles qui régnaient sur la terre primitive.

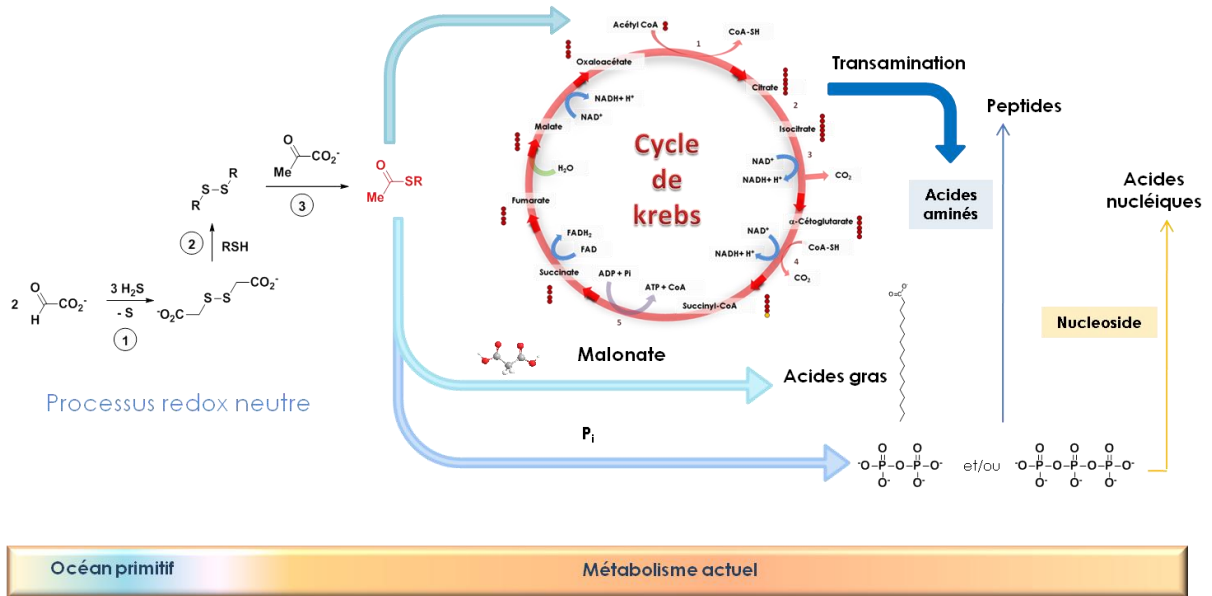
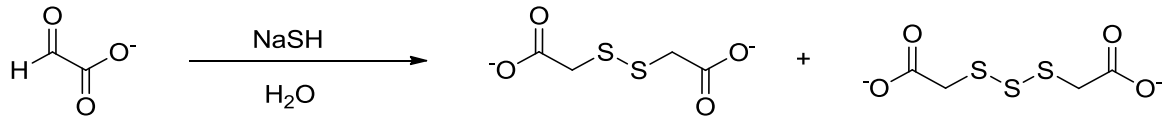


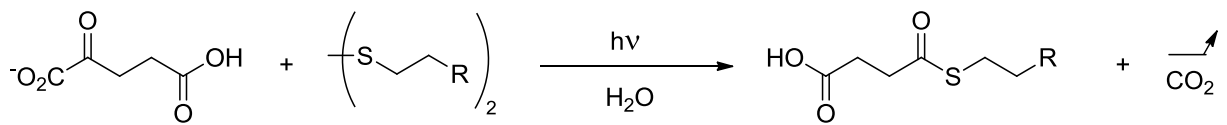
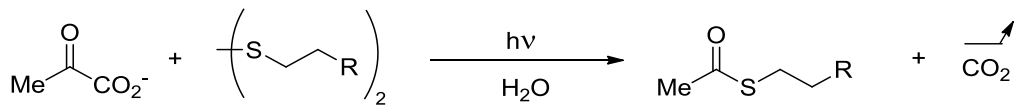
Figure 40: Processus global conduisant aux thioesters et ouvrant la voie à diverses voies d'un protométabolisme proche de celui d'aujourd'hui.

Résumé graphique

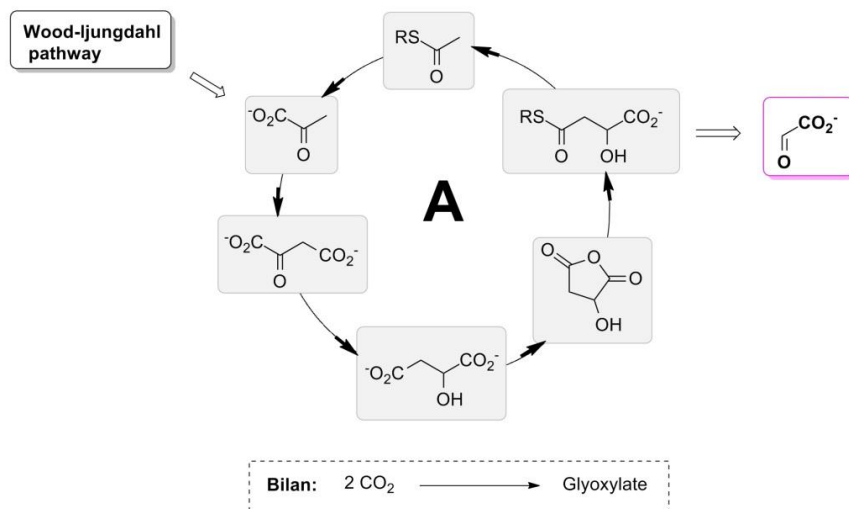
Chapitre I : Synthèse des disulfures dans un monde pré-biotique



Chapitre II : Synthèse de thioesters par décarboxylation oxydative des cétoacides



Chapitre III : Vers une version primitive du cycle de Krebs inverse







Chapitre I : Synthèse des disulfures dans un monde prébiotique

Objectif

Afin de parvenir à reproduire le processus de décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique dans une version plus simple que celle employée dans la biologie actuelle, et dans des conditions plausiblement prébiotiques, nous nous sommes inspirés du mécanisme biologique actuel du complexe enzymatique du pyruvate déshydrogénase (PDH).

Le complexe enzymatique du pyruvate déshydrogénase (PDH) utilise le lipoamide, qui est un disulfure cyclique, comme cofacteur pour terminer la transformation de l'acide pyruvique en thioester de l'acétyl-CoA (voir l'introduction). Il est possible qu'un ancêtre du lipoamide ait été présent dans le monde primitif et ait aidé, grâce à son pont disulfure, au développement d'un proto-métabolisme. Cependant, dans un environnement primitif non oxydant et anaérobique, il est probable que la voie synthétique qui a permis l'apparition des disulfures n'a pas pu utiliser un oxydant fort tel que le dioxygène O₂.

Dans ce chapitre nous décrivons nos résultats sur la synthèse d'espèces contenant des groupements disulfures dans des conditions compatibles avec un monde primitif non-oxydant. Ces substrats sont nécessaires pour nos recherches sur la décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique (qui sera traité au chapitre suivant).

Etat de l'art

L'équipe d'Adam a montré en 2012 que la réaction du glyoxylate avec Na₂S à 90 °C conduit à un mélange complexe de produits contenant de l'acide dithioglycolique **1** (*Schéma I-1*).¹⁵¹ Dans ce processus, deux atomes de carbone aldéhydiques sont réduits, tandis que deux atomes de soufre, provenant d'anions sulfures, sont oxydés avec formation d'un pont disulfure et de soufre élémentaire.

¹⁵¹ Kajjout, M.; Hebting, Y.; Albrecht, P.; Adam, P. Reductive coupling of aldehydes by H₂S in aqueous solutions, a C-C bond forming reaction of prebiotic interest. *Chem. Biodivers*, **2012**, 9 (4), 714-726.

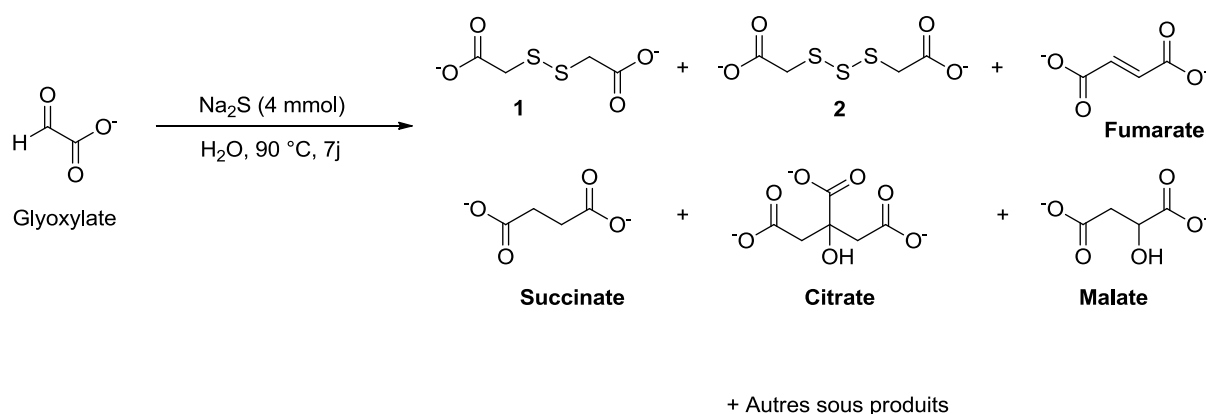


Schéma I-1 : Evolution de l'acide glyoxylique en présence de sulfure de sodium (Na_2S)

La présence de soufre (S_8) a également été mise en évidence lorsque NaSH a réagi avec de l'acide dichloroacétique (qui est au même niveau d'oxydation que l'acide glyoxylique) pour donner principalement l'acide dithioglycolique **1** (60%) et des traces d'acide trithiodiglycolique **2** (Figure I-1).¹⁵² D'un point de vue redox, ces réactions sont globalement neutres, et la réaction en présence du glyoxylate, qui est un des dérivés de CO_2 ,^{153, 154} gaz prédominant de l'atmosphère primitif, peut être considérée comme potentiellement prébiotique.^{155,156,157}

¹⁵² Labat, Y.; Darles, P.; Vallée, Y. The reaction of dichloroacetate acid with hydrosulfides. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Ele.* **1989**, *46*, 33-45.

¹⁵³ Eiggins, B. R et al. Formation of Two-Carbon Acids from carbon dioxide by photoreduction on Cadmium Sulphide. *J. Chem. Soc.* **1988**, <https://doi.org/10.1039/C39880001123>

¹⁵⁴ Eiggins, B. R et al. Carbon dioxide fixation by electrochemical reduction in water to oxalate and glyoxylate. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 945-948.

¹⁵⁵ Sprinsteen, G., Yerabolu, J. R., Nelson, J., Rhea, C. J. & Krishnamurthy, R. Linked cycles of oxidative decarboxylation of glyoxylate as protometabolic analogs of the citric acid cycle. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 91.

¹⁵⁶ Weber, A. L. The sugar model: catalysis by amines and amino acid products. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2001**, *31*, 71-86.

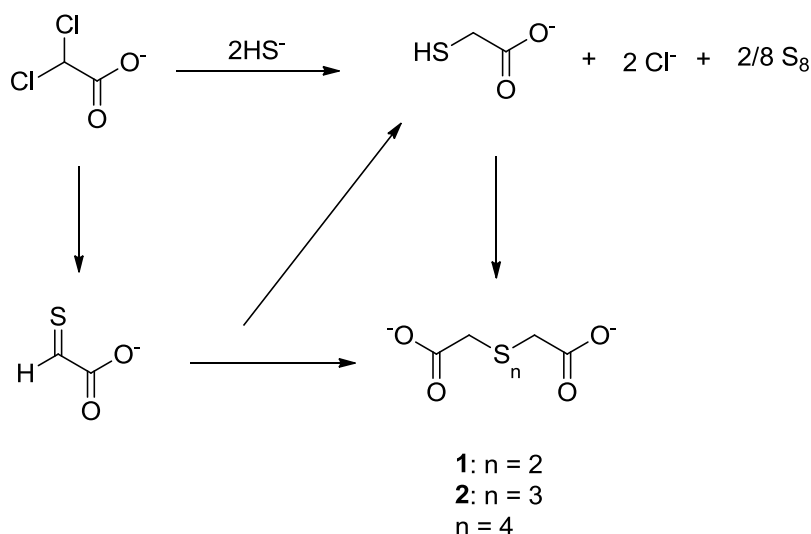


Figure I-1 : Synthèse de disulfure à partir de l'acide dichloroacétique

Dans nos expériences de synthèse de disulfures nécessaires pour la décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique, nous avons testé la réaction du glyoxylate décrite ci-dessus, en utilisant toutefois des conditions plus douces et plus proches de ce qui aurait pu être les conditions prébiotiques. Puis, l'acide dithioglycolique ainsi obtenu a été utilisé pour la synthèse d'autres disulfures par un échange disulfure-thiol en milieu aqueux.

Résultats

I.1 Synthèse d'un premier disulfure dans un monde prébiotique

Il est important de mentionner ici que puisque nous cherchons des conditions prébiotiques de synthèse, le rendement et la pureté ne sont pas les critères majeurs de réussite puisqu'il faut surtout que le composé puisse se former pour ensuite réagir. La présence de contaminants fait donc partie du processus puisque le système n'est ni parfait ni exclusif. L'apparition des enzymes a permis de résoudre ce problème plus tard.

¹⁵⁷ Mohammed, F. S., Chen, K., Mojica, M., Conley, M., Napoline, J. W., Butch, C., Pollet, P., Krishnamurthy, R. & Liotta, C. L. A plausible prebiotic origin of glyoxylate: nonenzymatic transamination reactions of glycine and formaldehyde. *Synlett*, **2017**, 28, 93-97.

Un mélange d'acide glyoxylique et d'hydrogénosulfure de sodium NaSH, dans l'eau dégazée (pH *ca* 6) et sous argon, a été chauffé à 70 °C (*Schéma I-2*). Après une nuit, l'acide dithiodiglycolique **1** (24 %) a été détecté par RMN comme produit majeur de la réaction. L'acide trithioglycolique **2** (5%) (Ratio **1/2** : 4.8/1) ainsi que des produits secondaires non identifiés ont été également observés (*Figure I- 2 : a) et b)*). Les spectres de masse ont également révélé la présence de ces produits dans le mélange réactionnel :

1 : [M-H⁻] calculée : 180.96347 ; trouvée : 180.96373.

2 : [M-H⁻] calculée : 212.93554; trouvée : 212.93505.

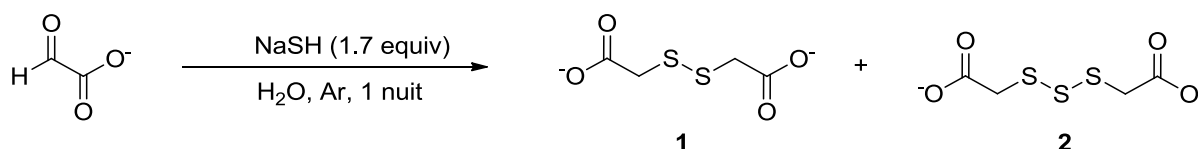
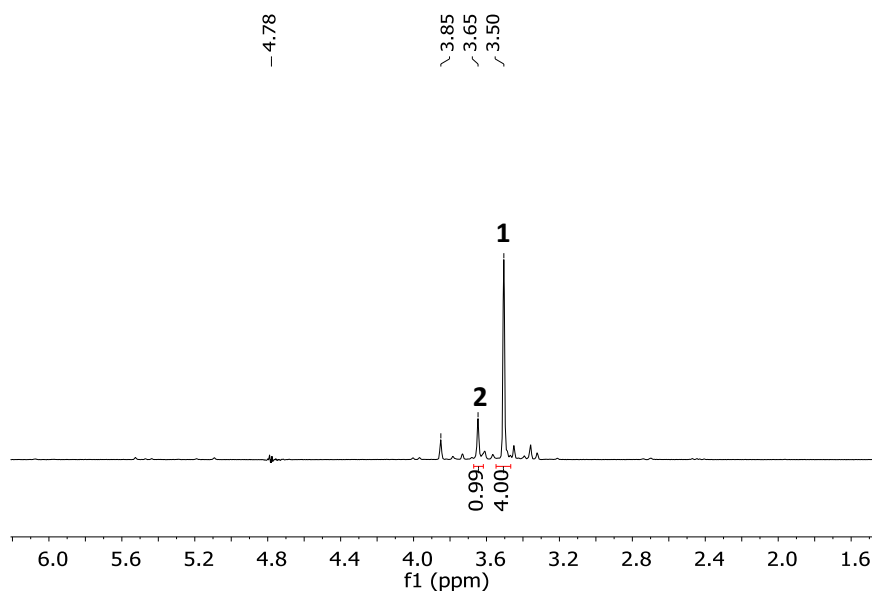


Schéma I-2 : Synthèse de l'acide dithiodiglycolique compatible avec des conditions prébiotiques

a)



b)

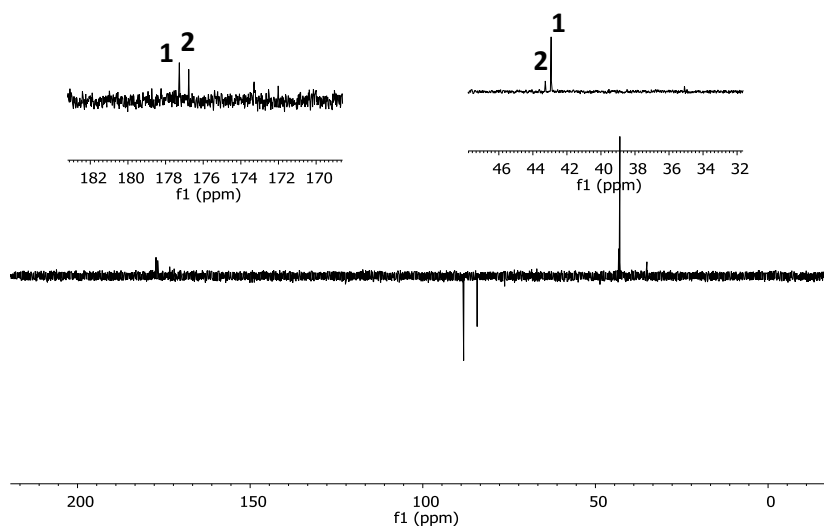


Figure I-2 : Spectres a) : ^1H et b) ^{13}C RMN du mélange réactionnel après 1 nuit à 70 °C.

Afin de vérifier la présence de l'acide trithioglycolique **2** dans le milieu réactionnel, nous l'avons préparé selon la procédure de l'équipe de Smith pour avoir un standard authentique.¹⁵⁸ Après l'avoir ajouté dans le milieu réactionnel, nous observons une augmentation de la taille du pic à 3.64 ppm ce qui confirme que ce signal correspond bien au trisulfure (Figure I-3).

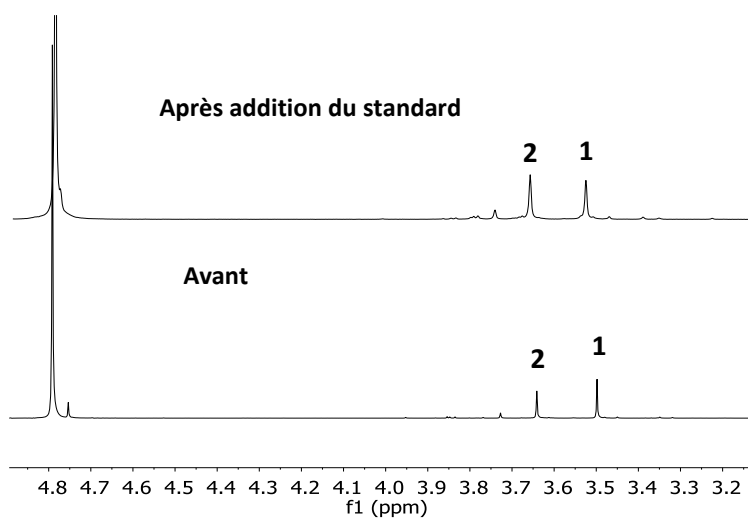


Figure I-3 : Spectre avant et après l'ajout de l'acide trithioglycolique dans le milieu réactionnel

¹⁵⁸ Harpp, D. N. & Smith, R. A. Reaction of trialkyl phosphites with organic trisulfides. Synthetic and mechanistic aspects. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4140-4144.

Les réactions à 25, 45, et 70 °C ont été suivis par RMN (*Figure I-4*). D'après les spectres RMN obtenus nous pouvons conclure qu'une température élevée entraîne la transformation de l' (ou des) intermédiaire(s) réactionnel(s) **X** formés par addition de l'anion hydrogénosulfure sur le glyoxylate en di- et tri-sulfures (et peut-être d'autres polysulfures) avec libération de soufre S₈.

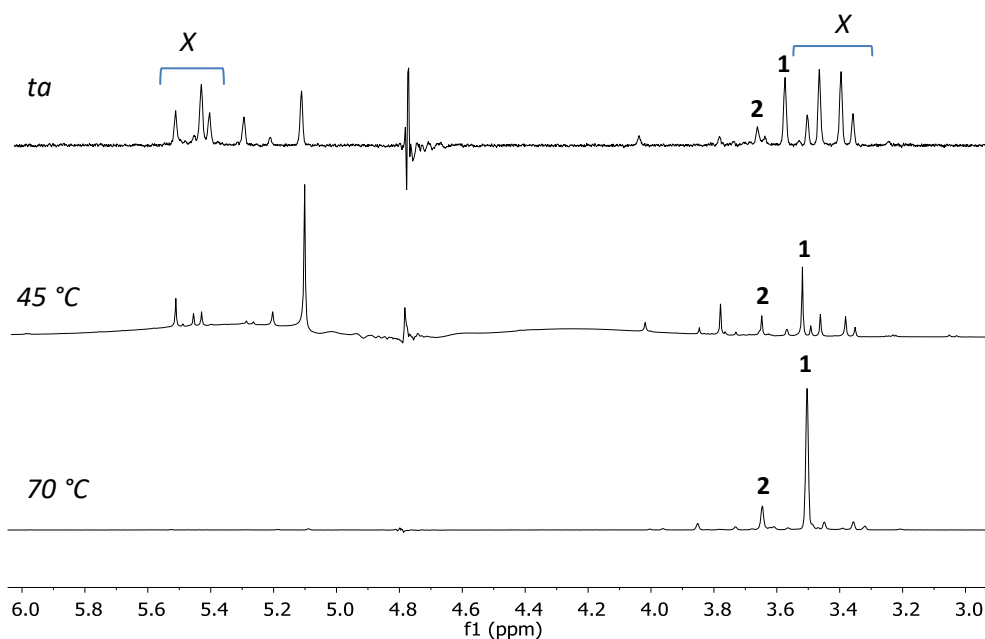


Figure I-4 : RMN ¹H de la synthèse de l'acide dithioglycolique après 1 nuit à différentes température.

En nous basant sur les observations précédentes, le mécanisme réactionnel que nous proposons pour la formation des disulfures (*Figure I-5*), est un processus d'oxydoréduction avec réduction de deux carbones d'aldéhyde contre l'oxydation d'atomes de soufre.

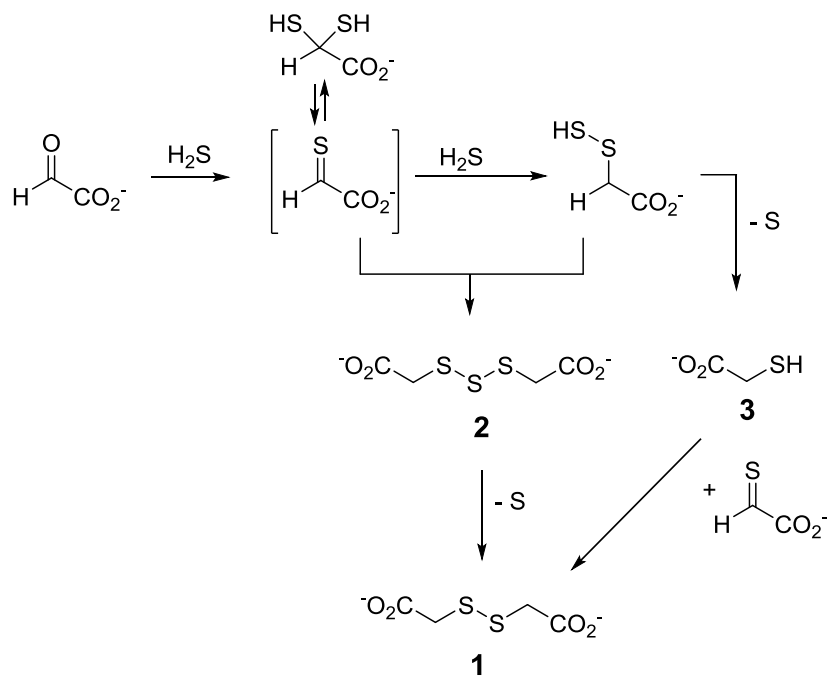


Figure I-5 : mécanisme réactionnel proposé pour la synthèse de l'acide dithioglycolique

Il est donc possible que l'acide dithiodiglycolique (et le trisulfure) ait été présent à un stade plus précoce de la vie.

➤ Rôle de la concentration des réactifs :

Afin d'évaluer la faisabilité de ces réactions en conditions plus diluées, nous les avons répétées avec différentes concentrations en glyoxylate. Pour une concentration en dessous de $1.35 \cdot 10^{-2} \text{ mol/L}$ le disulfure n'est plus détecté ni par RMN ni par spectrométrie de masse. Si cette réaction est donc possible dans une « marre » relativement concentrée, elle ne l'a pas dans un océan où les espèces sont trop diluées.

I.2 Réaction d'échange thiol-disulfure

Objectif

Dans le métabolisme cellulaire, les réactions d'échange thiol-disulfure permettent en particulier aux protéines de former et réarranger des ponts disulfures (*Figure I-6*).¹⁵⁹ Les études cinétiques et théoriques de ces réactions ont permis de conclure que leur mécanisme implique une attaque de type S_N2 de l'ion thiolate sur la liaison S-S du disulfure (*Figure I-7*).^{160, 161} Ces études ont montré qu'à l'état de transition, la densité de charge est uniformément concentrée dans l'atome de soufre d'attaque et de sortie. Il s'est avéré également que le rendement de la réaction dépend de la température ainsi que du pH.

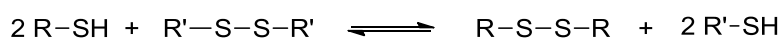


Figure I-6 : Réaction globale

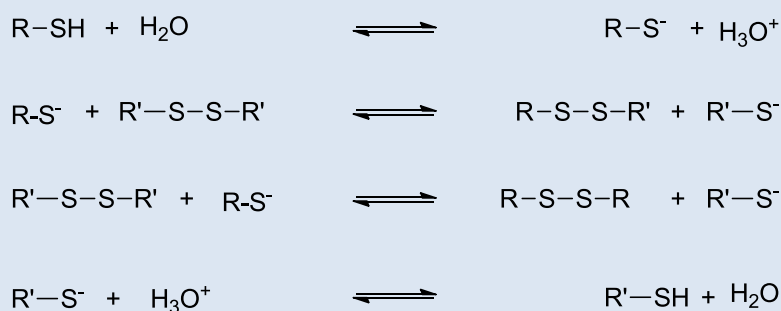


Figure I-7 : Les étapes d'échange thiol-disulfure

¹⁵⁹ Lowther, W. T.; Brot, N.; Weissbach, H.; Honek, J. F.; Matthews, B. W. Thiol-disulfide exchange is involved in the catalytic mechanism of peptide methionine sulfoxide reductase. *PNAS*, **2000**, *97*, 6463-6468.

¹⁶⁰ Ramos, M. J.; Fernandes, P. A. Theoretical insights into the mechanism for thiol/disulfide exchange. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 257-266.

¹⁶¹ Fava, A.; Iliceto, A and Camera, E. Kinetics of thiols-disulfide exchange. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 833-838.

Dans le but de diversifier la nature des oxydants pour l'étape de décarboxylation oxydative, nous avons décidé de préparer par des réactions d'échanges, des disulfures avec différents groupements fonctionnels en partant de l'acide dithioglycolique obtenu précédemment. Il est connu que ces réactions d'échange sont classiquement promues par des bases, cependant en imaginant un océan plutôt acide, il a été décidé de les tester sans ajout de base donc en conditions légèrement acides.

Résultats

Dans un premier temps un mélange d'acide dithioglycolique et de la coenzyme M (CoM) dans l'eau (pH *ca.* 2) a été suivi par RMN pendant 7 jours à température ambiante (*Schéma I-3*). Ce temps est suffisant pour que le rapport entre les produits atteigne l'équilibre.

Les RMN montrent de l'acide thioglycolique **3** résultant de la réduction du disulfure de départ **1**, ainsi que du disulfure de CoM **5** (*Figure I-8*). Le signal à 3.62 ppm a été attribué au disulfure asymétrique **4**. Le rapport molaire mesuré des disulfures **1**, **4** et **5** est de 37/43/20 (aucun autre produit n'a été observé).

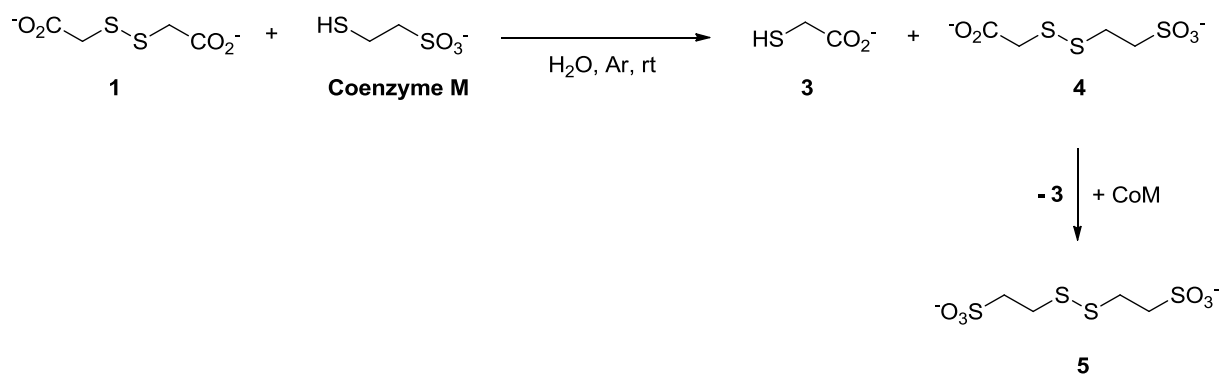


Schéma I-3 : Réaction d'échange de la coenzyme M-Acide dithiodiglycolique

Le choix de la coenzyme M (CoM) comme thiol dans cette réaction repose sur sa solubilité très élevée dans l'eau, ainsi que de son rôle important dans le métabolisme cellulaire actuel.

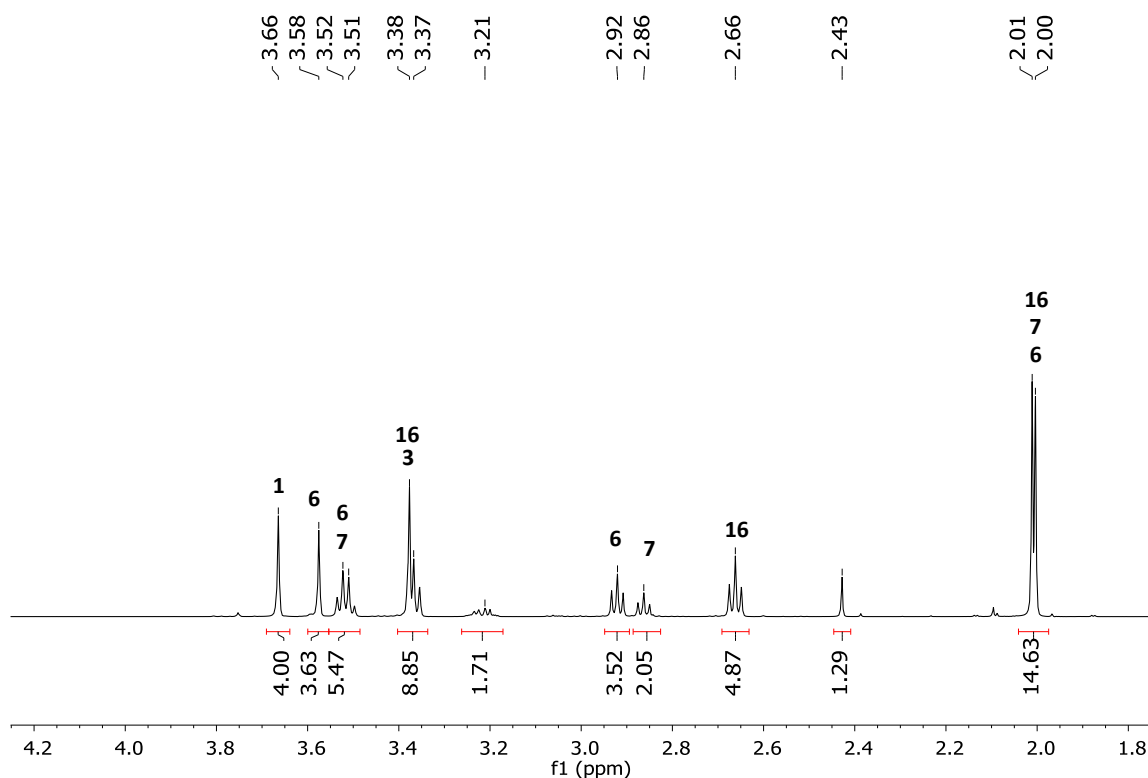


Figure I-9 : Spectre ^1H RMN d'échange de la coenzyme A-Acide dithioglycolique

Nous avons observé que l'augmentation de la quantité de thiol utilisée déplace l'équilibre et mène à la disparition totale de l'acide dithioglycolique du milieu réactionnel. Par ailleurs, une irradiation UV, ou une température plus élevée, 45 °C, peuvent accélérer le processus d'échange (*tableau I-1*). Dans le cas de la réaction sous irradiations UV, le mécanisme est certainement radicalaire.

Entrée	paramètre ajouté	Durée (h)	Conversion (1/6/3) à partir de 1
1	-	5	89/6/5
2	45 °C	5	30/43/27
3	h ν	5	36/43/21

Tableau I-1 : Réaction d'échange de la coenzyme A-Acide dithioglycolique dans différentes conditions expérimentales

Les autres thiols testés ont été le mercaptoéthanol [M], et le dithiothréitol (DTT) souvent utilisés dans le contrôle de l'état redox des groupements cystéine dans les protéines (*Schéma I-5* et *Schéma I-6*).

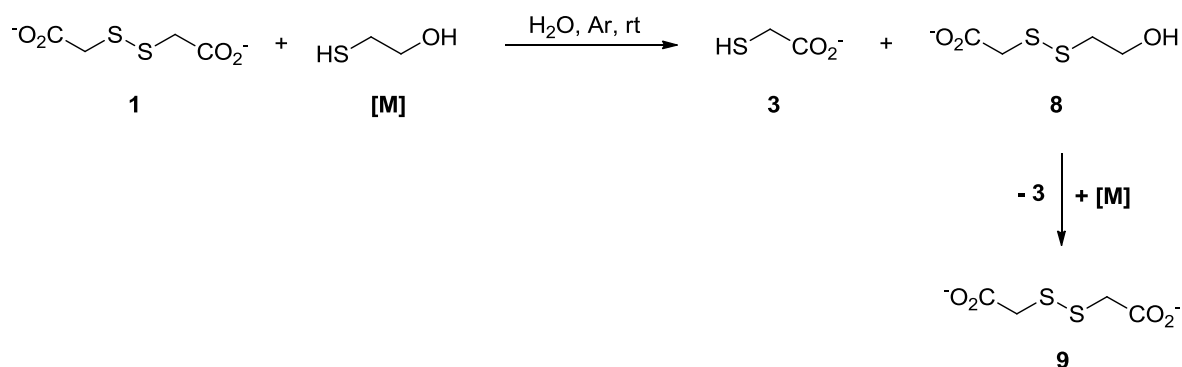


Schéma I-5: Réaction d'échange de Mercaptoéthanol [M] – Acide dithiodiglycolique

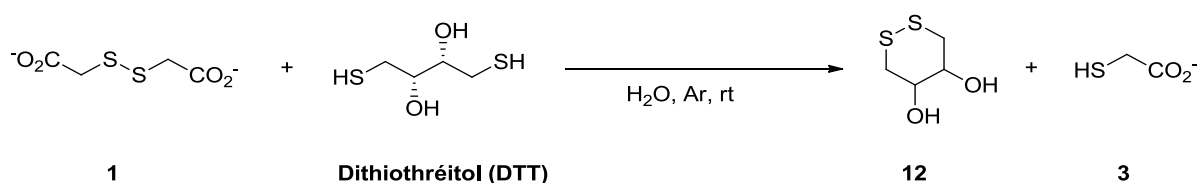
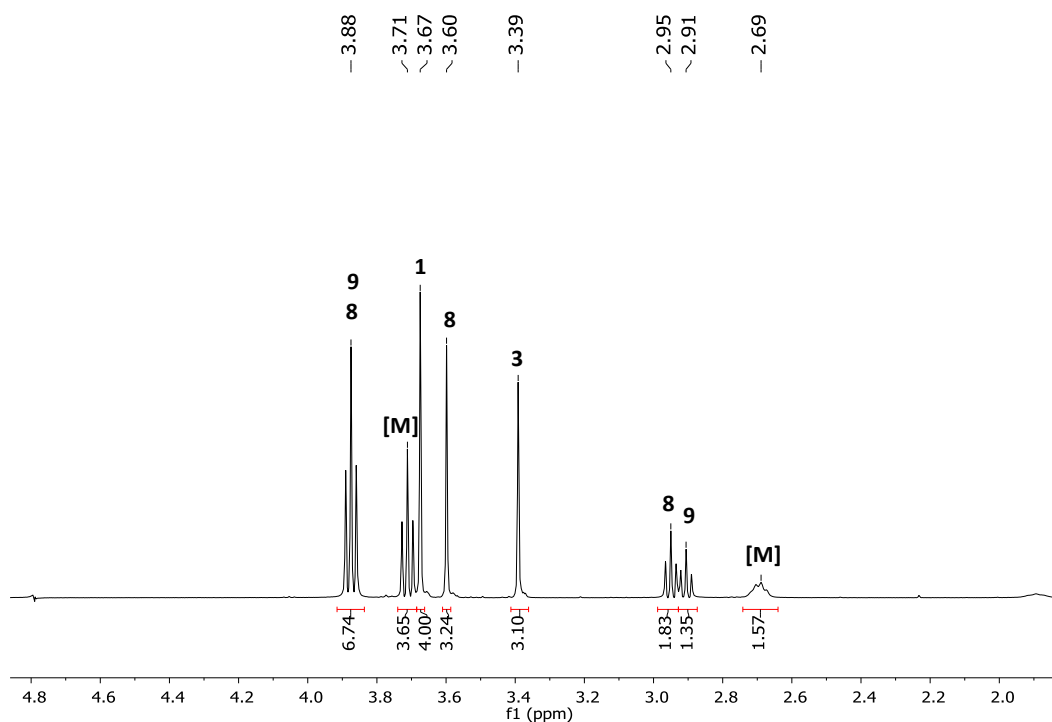


Schéma I-6: Réaction d'échange de Dithiothréitol – Acid dithiodiglycolique

L'échange a été observé dans tous les cas. Dans le cas du mercaptoéthanol, 80 % de l'acide dithioglycolique a été transformé en produits **8** et **3** (rapport **1/3/8** : 24/37/39) (*Figure I-10 : a*). Avec le dithiothréitol (DTT) dont le disulfure est cyclique, le disulfure asymétrique n'a pas été observé (*Figure I-10 : b*), la conversion de l'acide de départ en acide thioglycolique est de 70%.

a)



b)

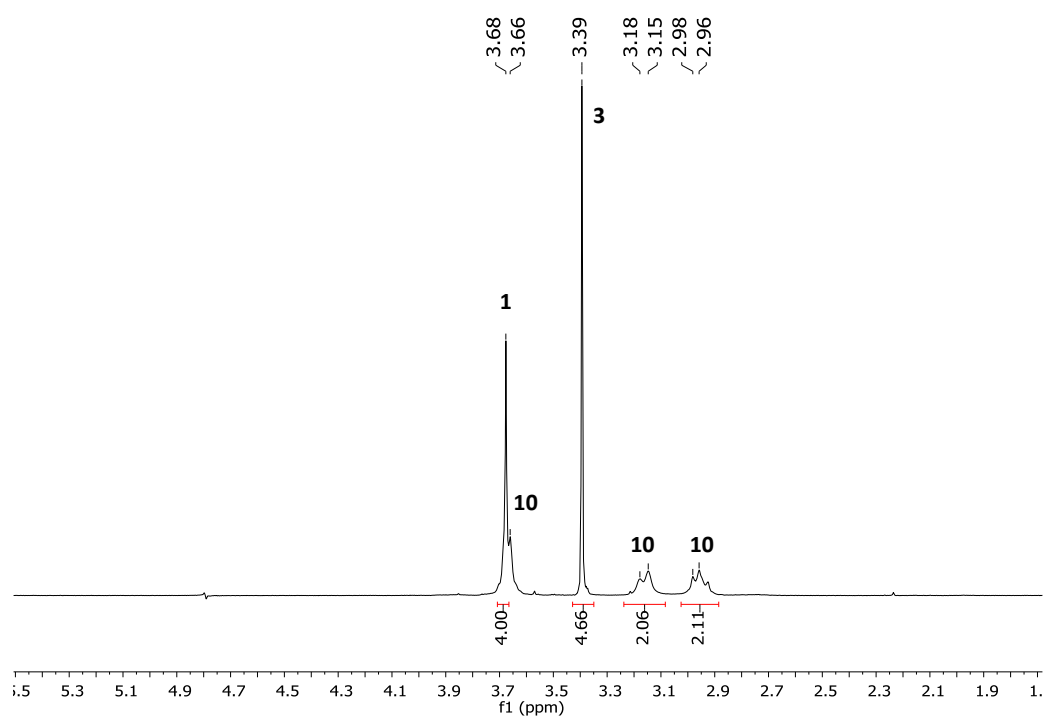


Figure I-10 : Spectre ^1H RMN de l'échange a) Mercaptoéthanol-Acide dithioglycolique et b) DTT-Acide dithioglycolique

Le 1,3-dithiopropane et l'acide lipoiqne ont également été testés, mais ces composés sont peu solubles dans l'eau. Nous avons testé les réactions dans le chloroforme, mais aucun nouveau produit d'échange n'a été observé par RMN. La présence de l'eau semble indispensable, ce qui est compatible avec les étapes d'échange de la figure I-8, et (bien sûr !) avec les conditions environnementales de la terre primitive.

La synthèse d'une variété de disulfures en conditions prébiotiques est donc possible. Nous allons par la suite utiliser ces disulfures comme oxydants dans les réactions de décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique.

Chapitre II : Synthèse de thioesters par décarboxylation oxydative des cétoacides

Introduction

La décarboxylation oxydative est une réaction d'oxydoréduction qui permet d'oxyder un substrat, souvent un acide, en éliminant son groupement carboxyle sous forme d'une molécule de CO_2 . Elle est donc la combinaison d'une oxydation et d'une décarboxylation de la même molécule. Elle est considérée comme un des processus cataboliques importants, qui permet la dégradation des macromolécules pour en extraire de l'énergie.

Parmi les exemples importants de cette réaction dans les systèmes biologiques, comme nous l'avons vu dans l'introduction, on trouve la décarboxylation oxydative des céto-acides du cycle de Krebs, particulièrement la décarboxylation oxydative du pyruvate issu de la dégradation des glucides, protéines et graisses. Il est transformé en acétyl-CoA (*Schéma II-1*), un thioester fondamental du métabolisme qui permet notamment d'initier le cycle de Krebs, sous l'effet du complexe enzymatique pyruvate déshydrogénase (PDC).

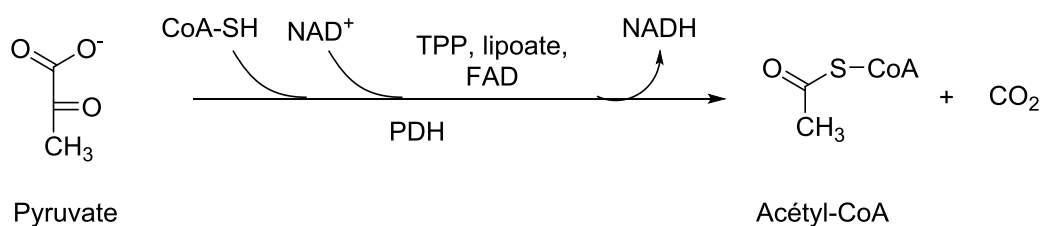


Schéma II-1 : Décarboxylation oxydative du pyruvate

Afin de montrer que cette étape du cycle de Krebs aurait pu être établie de façon prébiotique, il est important de la reproduire en absence d'enzymes. Dans ce chapitre nous décrivons nos résultats sur la décarboxylation oxydative du pyruvate. Nous étudierons aussi brièvement la décarboxylation du céto-glutarate en succinate.

Dans le chapitre précédent, nous avons vu une synthèse plausiblement prébiotique des disulfures. Nous allons décrire leur utilisation comme oxydant dans des décarboxylations oxydatives.

Résultats

II.1 Décarboxylation oxydative du pyruvate

II.1.1 Décarboxylation oxydative sous irradiations UV : expériences

Nos travaux reposent sur l'idée d'obtenir la décarboxylation par un mécanisme radicalaire. Un tel mécanisme suppose la formation d'un radical acyle.¹⁶² Celui-ci pourrait alors réagir avec un disulfure pour donner un thioester (*Schéma II-2*).

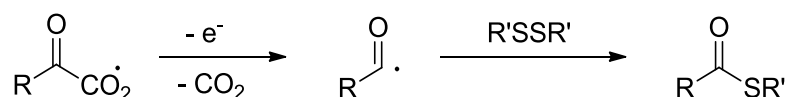


Schéma II-2: Principe du mécanisme radicalaire de la décarboxylation oxydative

Nous avons testé le disulfure de la coenzyme M **5** qui a l'avantage d'être très soluble dans l'eau, et le disulfure de la *N*-acétylcystéamine **7** raisonnablement soluble dans l'eau.

Dans un premier temps nous avons chauffé des solutions aqueuses de mélanges pyruvate – disulfure. Dans ces conditions, nous n'avons pas observé la formation de thioester. Ceci signifie sans doute que les radicaux nécessaires n'ont pas été formés dans ces conditions. Par contre, l'irradiation UV s'est avérée efficace comme source d'énergie pour obtenir les thioesters attendus.

¹⁶² Ryu, I.; Komatsu, M.; Crich, D.; Chatgililoglu, C. Chemistry of acyl radicals. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1991-2070.

Dans un premier essai, un mélange du disulfure **5** (concentration 0.043 mol/L) et de pyruvate (3 équiv.) en solution aqueuse (pH 3) a été irradié pendant 6 heures à température ambiante et sous argon (*Schéma II-3*).

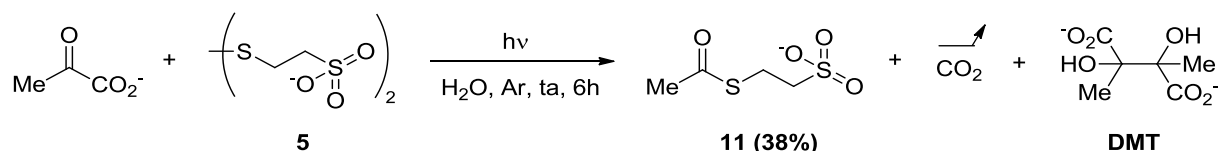


Schéma II-3 : Décarboxylation oxydative du pyruvate en présence du disulfure 5

Le spectre de RMN ^1H de cette réaction est donné dans la *Figure II-1*. Dans ce spectre nous avons identifié en plus des produits de départ, le thioester attendu **11**. Le méthyle de l'acétate est observé à 2.39 ppm. Le système CH_2CH_2 donne un système de deux triplets à 3.12-3.15 et 3.19-3.23 ppm. L'attribution de ces signaux à **11** a été confirmée par la synthèse d'un échantillon authentique (thiol + pyridine + anhydride acétique sans solvant). Après ajout d'un standard de dioxane, le rendement en **11** a été estimé à 38%. Les analyses par spectrométrie de masse, confirme la présence de **11** dans le mélange irradié : [M-H] calculée : 182.97912; trouvée : 182.97951.

D'autre part, les singulets à 1.52 et 1.53 ppm correspondent au 2,3-diméthyltartrate (DMT) qui est un produit classique de la réduction du pyruvate (30% du pyruvate de départ a été transformé en DMT). Les petits signaux vers 1,41 ppm correspondent peut-être au lactate ou à ses produits d'auto-condensation. On note aussi la présence d'acétate (singulet, 2.09 ppm).

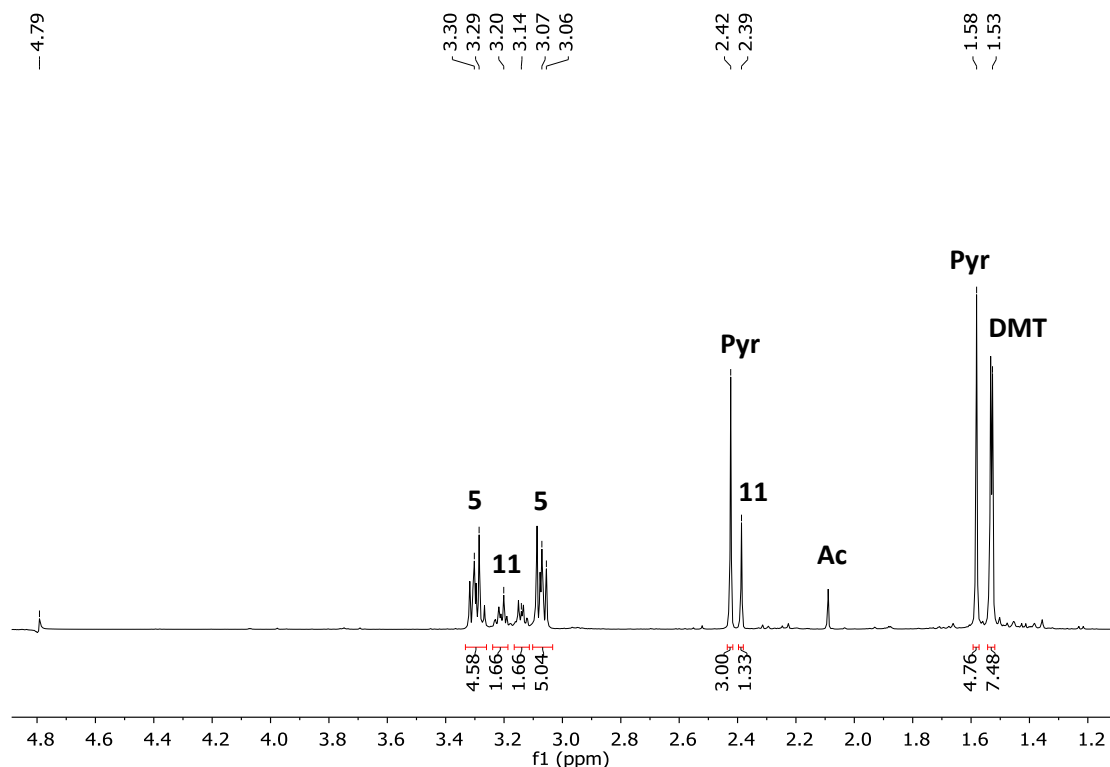


Figure II-1 : Spectre RMN ^1H de la décarboxylation oxydative du pyruvate en présence du disulfure 5

De façon similaire, l'irradiation d'un mélange du disulfure **7** (0.043 mol/L) et du pyruvate a conduit au thioester **12** (*Schéma II-4*) caractérisé dans le spectre de la *Figure II-2* par deux singulets à 2.37 ppm (NAc) et 1.96 ppm (SAc) et deux triplets à 3.01-3.03 et 3.35-3.38 ppm pour le CH_2CH_2 . Ces attributions ont été confirmées par la synthèse d'un authentique. Par ailleurs, la spectrométrie de masse du mélange réactionnel a aussi confirmée sa présence : $[\text{M}+\text{H}]$ calculée : 162.05833; trouvée : 162.05831. Le rendement a été estimé par ajout d'un standard de dioxane à 32%. On observe aussi le DMT (31 % du pyruvate de départ a été transformé en DMT), peut-être une trace de lactate et de l'acétate. Par ailleurs, un triplet est observé à 3.26-3.28 ppm. Nous proposons qu'il s'agisse de l'acétamido-acétaldéhyde, par comparaison avec le spectre décrit dans la littérature,¹⁶³ mais nous n'avons pas pu en apporter

¹⁶³ Lewis, C. A. Jr. & Wolfenden, R. Antiproteolytic aldehydes and ketones: Substituent and secondary deuterium isotope effects on equilibrium addition of water and other nucleophiles. *Biochemistry*. **1977**, *16*, 4886–4890.

la preuve formelle. Ce produit ne se forme pas dans les réactions que nous avons testées à pH basique.

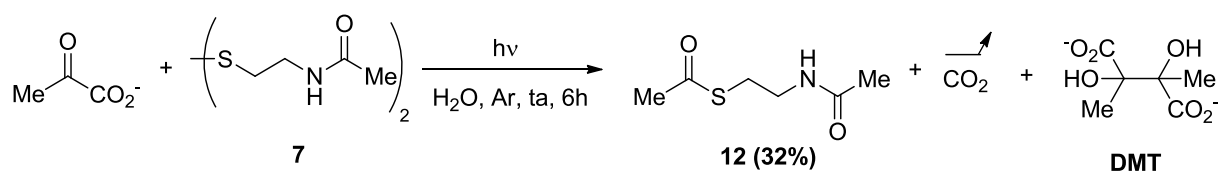


Schéma II-4 : Décarboxylation oxydative du pyruvate en présence du disulfure 7

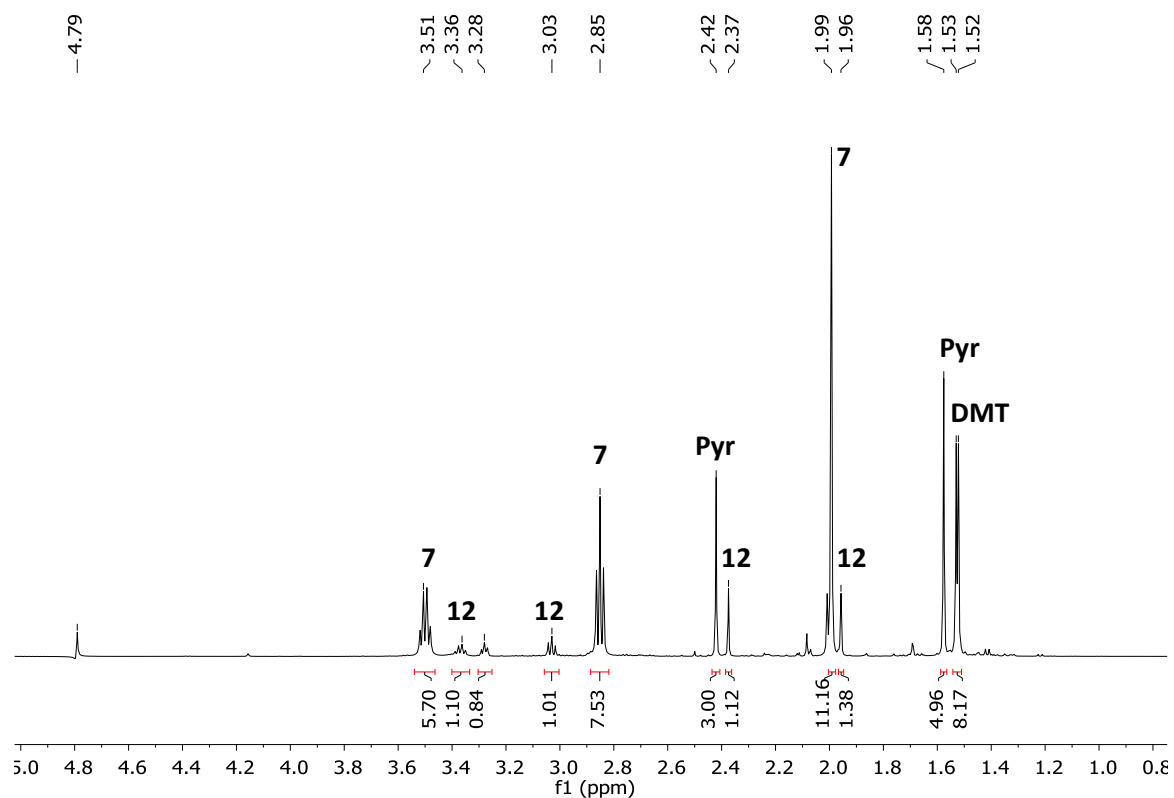
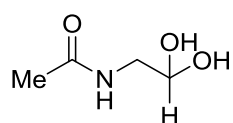


Figure II-2 : Décarboxylation oxydative du pyruvate. a) avec disulfure de CoM 5. b) avec le disulfure de N-acetylcysteamine 7.



L'acétamido-acétaldehyde

Ces deux réactions ont été reproduites avec des mélanges équimolaires disulfure / pyruvate. Nous avons alors obtenu des rendements de 13 % de **11** en partant du disulfure **5**, et 4% de **12** à partir du disulfure **7**.

Sur l'exemple de la réaction avec **7**, nous avons étudié des rapports pyruvate / disulfure plus élevé (dans le [tableau II-1](#), comparer les entrées 1, 2, 5 et 8). Nous nous attendions à une amélioration remarquable du rendement en thioester, mais celle-ci n'est pas observée.

L'influence du pH de la solution a aussi été étudiée. On note que la formation de DMT n'est observée qu'à pH acide (ce qui est cohérent avec la littérature, ^{17, 18} décrivant le DMT comme produit habituel résultant de l'oxydation du pyruvate dans un milieu acide), mais que le pH a peu d'influence sur le rendement en thioester (même si à pH 12 sont hydrolyse en acétate est plus notable). Enfin, à pH 12, nous avons observé la formation de l'acide zymonique **13**, qui résulte de l'auto-condensation aldolique du pyruvate.¹⁶⁴

Entrée	Pyr (équiv)	pH	12 à partir de 7 (%)	DMT à partir du Pyr (%)	13 à partir du pyr (%)
1	1	2	3	8	0
2	3	2	21	31	0
3	3	7	15	0	3
4	3	12	10	0	5
5	10	2	30	17	0
6	10	7	31	0	5
7	10	12	27	0	40
8	20	2	34	16	0
9	20	7	26	0	14
10	20	12	23	0	50

Tableau II-1 : Décarboxylation oxydative du pyruvate à différents pH

¹⁶⁴ Perkins, J. R *et al.* Chemical equilibria and kinetics in aqueous solutions of zymonic acid. *J. Phys. Chem. A.* 2016, *120*, 10096–10107.

Dans le mécanisme enzymatique du complexe pyruvate déshydrogénase, l'acide lipoïque est l'oxydant qui intervient dans la synthèse du thioester. Afin de mimer au plus près ce processus, nous avons testé l'ajout d'acide lipoïque^{165,166} dans nos réactions. Sa présence n'a pas amélioré les résultats précédemment obtenus (*Schéma II-5*). Notons que l'acide lipoïque est peu soluble dans l'eau.

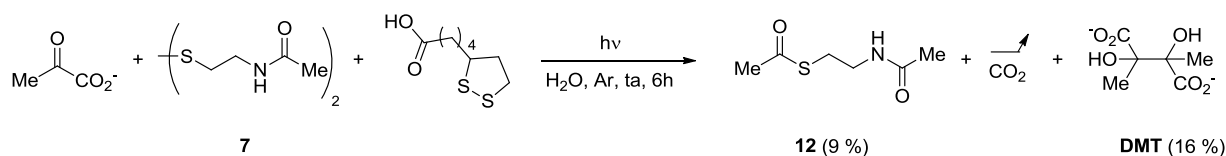


Schéma II-5 : Décarboxylation oxydative du pyruvate en présence du disulfure 7 et de l'acide lipoïque

Enfin, la décarboxylation oxydative du pyruvate a été testée en utilisant la lumière du soleil en présence d'un des disulfures **5** ou **7** (même temps de réaction que précédemment, 6 heures, pH 3, environ 30°C, 3 équiv. de pyruvate). Les rendements observés, **11** (31%) et **12** (34%), sont alors similaires à ceux obtenus en utilisant la lampe UV.

¹⁶⁵ Wada, N.; Wakami, H.; Konishi, T.; Matsugo, S. The effect of biothiol on UV irradiated α -lipoic acid. *Biofactors*, **2008**, *34*, 285-292.

¹⁶⁶ Wada, N.; Wakami, H.; Konishi, T.; Matsugo, S. The degradation and regeneration of lipoic acid under the irradiation of UV light in the existence of Homocysteine. *J. Clin. Biochem. Nutr*, **2009**, *44*, 218-222.

II.1.2 Décarboxylation oxydative sous irradiations UV : interprétation mécanistique.

Comme la réaction est induite par la lumière UV, et que la formation de DMT ne peut s'expliquer que par un couplage pinacolique, le mécanisme de la réaction de décarboxylation doit impliquer un processus radicalaire.

Nous proposons le mécanisme suivant (*Figure II-3*) : l'étape d'initiation est le clivage radicalaire de la liaison disulfure S–S. Puis, le radical thiyle obtenu soustrait un électron au pyruvate, ce qui conduit à un radical carboxyle. La décarboxylation qui en résulte donne un radical carbonyle qui réagit sur le disulfure pour générer le thioester.

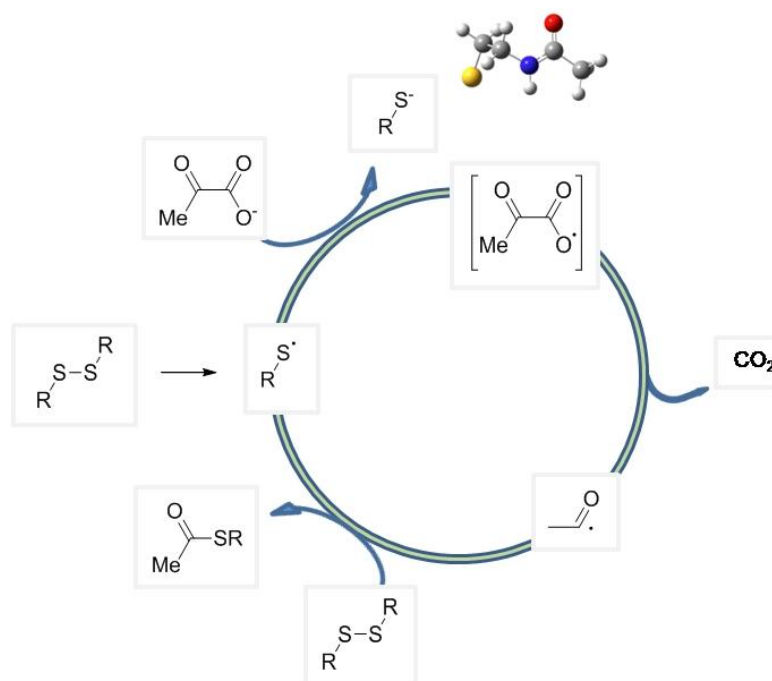


Figure II-3 : Mécanisme proposé pour la réaction de décarboxylation oxydative du pyruvate sous irradiation UV

Afin d'évaluer la faisabilité de ce mécanisme, des calculs théoriques ont été effectués (*Figure II-4*). En collaboration avec le Pr. Anne Milet, plusieurs niveaux de théorie ont été testés, notamment pour décrire correctement la force de la liaison soufre-soufre, conduisant à l'utilisation de la base M06-2X/6-311++g(3df,p) en conjonction avec un solvant implicite

pour l'eau en utilisant le modèle IEFPCM (formalisme d'équations intégrales Polarizable Continuum Model).

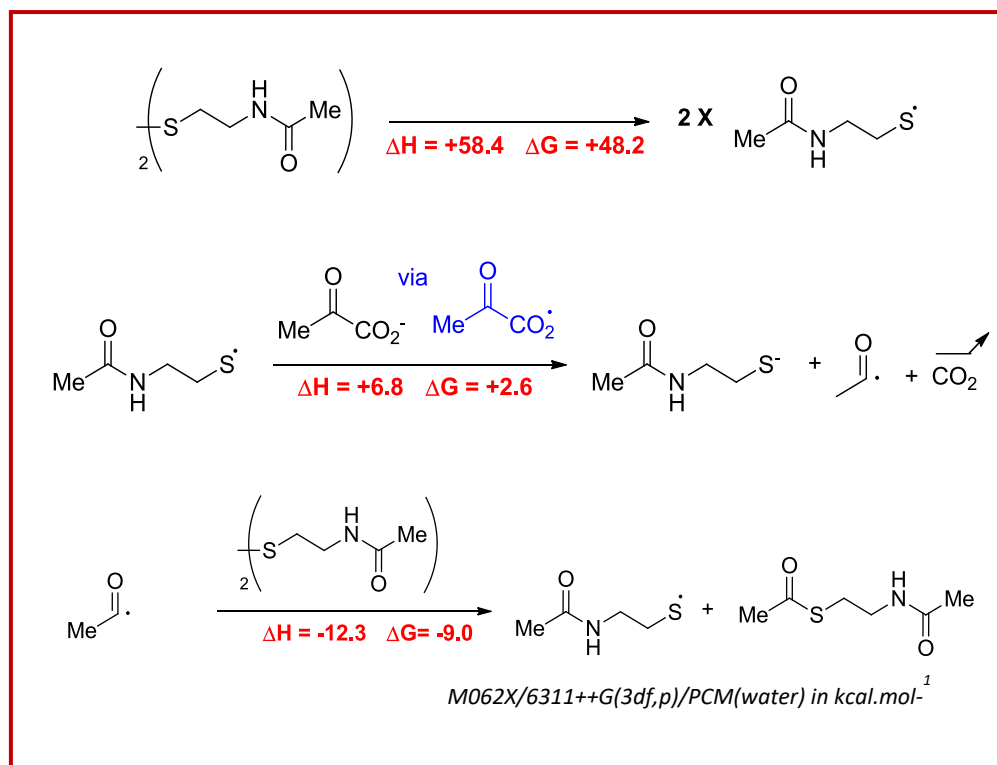


Figure II-4 : Calculs théoriques pour les étapes de la réaction de décarboxylation oxydative du pyruvate sous irradiation UV (énergies en kcal.mol⁻¹)

Comme déjà rapporté sur d'autres exemples,¹⁶⁷ la dissociation de la liaison S-S nécessite environ 60 kcal mol⁻¹. Il est intéressant de noter que le radical carboxyle du pyruvate est prédit être instable. Il est instantanément clivé en dioxyde de carbone et radical acyle. Le coût énergétique de la réaction du radical thiyle avec le pyruvate pour donner CO₂ et le radical acyle est faible (6 kcal. mol⁻¹). Enfin, le radical acyle réagit avec le disulfure de départ,

¹⁶⁷ Denk, M. The variable strength of the sulfur-sulfur bond: 78 to 41 kcal—G3, CBS-Q, and DFT bond energies of sulfur (S₈) and disulfanes XSSX (X = H, F, Cl, CH₃, CN, NH₂, OH, SH). *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, 22, 1358–1368.

conduisant au thioester attendu et à un nouveau radical thiyle prêt pour un autre cycle. Cette étape est exothermique ($-12 \text{ kcal.mol}^{-1}$).

Les énergies calculées ne s'opposent pas à notre proposition de mécanisme.

I.1.3. Etude du mécanisme par résonance paramagnétique électronique

Dans le but de fournir plus de preuves sur la nature des radicaux formés au cours de la transformation du pyruvate en thioester, nous avons utilisé la résonance paramagnétique électronique (RPE). Trois pièges à radicaux ont été testés : le 2-méthyl-2-nitrosopropane (MNP), la *N-tert*-butyl- α -phenylnitron (PBN), et la 5,5-diméthyl-1-pyrroline N-oxyde (DMPO) (*Figure II-5*).

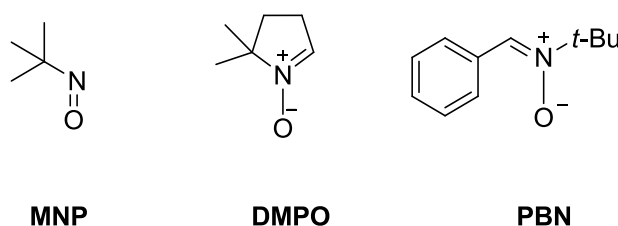


Figure II-5 : les pièges des radicaux (spin trap) testés dans la réaction de décarboxylation oxydative du pyruvate.

Les spectres RPE du DMPO seul dans l'eau montre qu'il se dégrade. Selon des études effectuées sur la stabilité de ce composé dans un milieu aqueux, le produit de dégradation peut correspondre à un dimère paramagnétique de DMPO-OH ^{168,169} (*Figure II-6*).

¹⁶⁸ Fontmorin, J. M. *et al.* Stability of 5,5-dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide as a spin-trap for quantification of hydroxyl radicals in process based on Fenton reaction. *Water Res*, **2016**, 99, 24-32.

¹⁶⁹ Tuccio, B.; Lauricella, R. Détection et caractérisation de radicaux libres par RPE après piégeage de spins (ou spin trapping): *La spectroscopie de résonance paramagnétique électronique – Applications.*; EDP Sciences : Paris. **2014**.

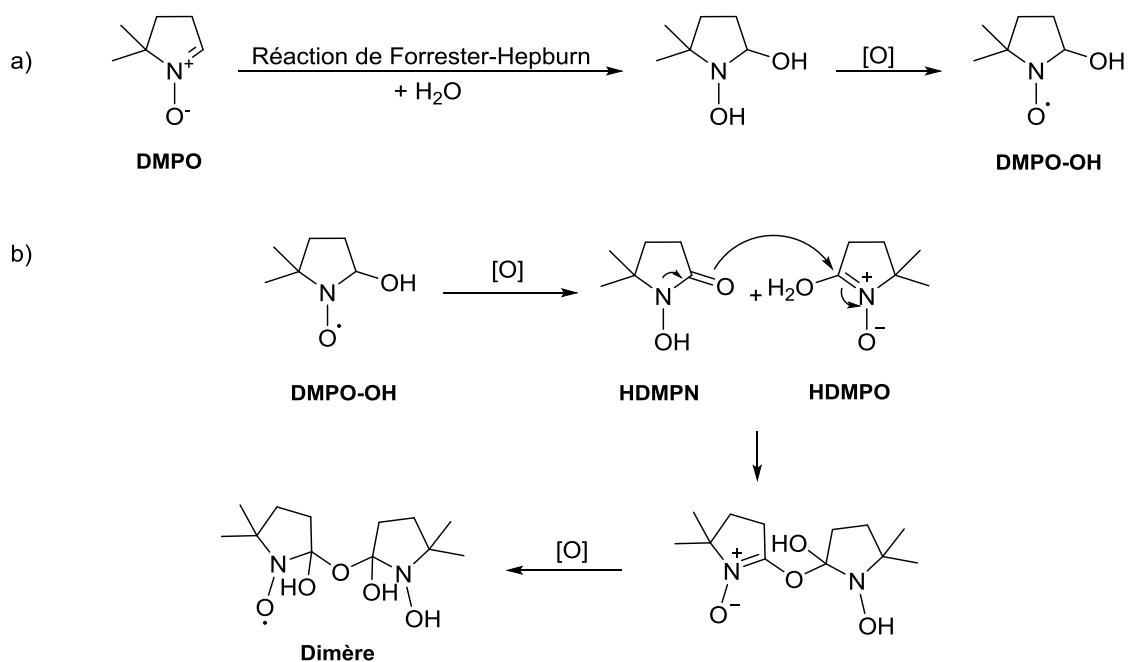


Figure II-6 : produits possibles issus de la dégradation de DMPO dans l'eau

Néanmoins, des expériences RPE de décarboxylation oxydative du pyruvate, ainsi que celles des réactifs de départ seuls, en présence de DMPO ont été effectuées. Le signal intense résultant des sous-produits de DMPO rend difficile l'identification d'autres signaux sur les spectres RPE, il a donc été décidé d'utiliser d'autre pièges à radicaux (Figure II-7).

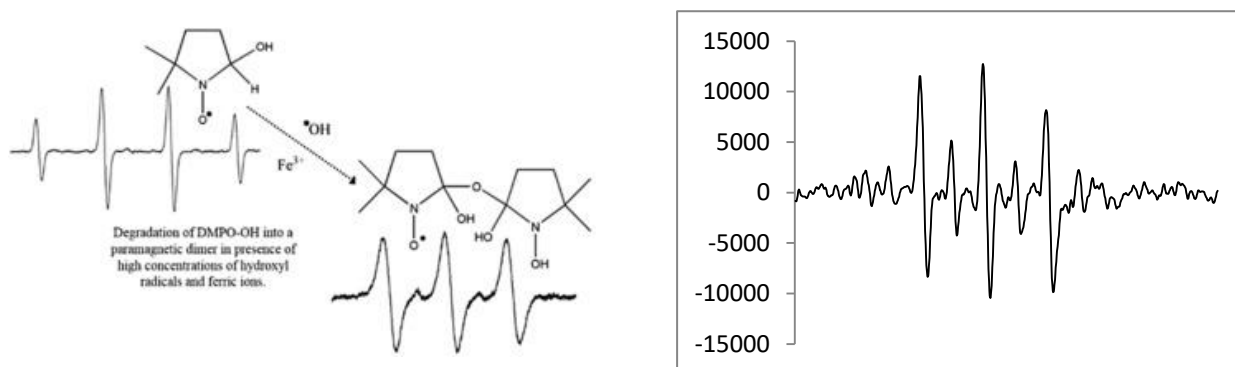


Figure II-7 : Signal RPE résultant du produit de dégradation de DMPO-OH

La *N-tert-butyl nitron* (PBN), une nitron plus encombrée que DMPO, a été testée. Sa faible solubilité dans l'eau, estimée à ≈ 21 g/L, entrave le piégeage des radicaux et les analyses RPE n'ont encore une fois pas pu être réalisées de façon concluante.¹⁷⁰

Le 2-méthyl-2-nitrosopropane (MNP) est stable dans l'eau : aucun signal n'a été détecté durant l'expérience « à blanc ». Mais, à partir d'un mélange de disulfure **7** et de MNP irradié pendant 2h nous avons observé un triplet, avec une constante de couplage $a_N = 12.849$ G, ce qui peut correspondre selon la littérature, à la formation d'un adduit du radical thiyle avec le MNP **14** (*Figure II-8*). La simulation pour ce type d'adduit ainsi que les données de la littérature confirment cette hypothèse.¹⁷¹

Avec un mélange MNP – pyruvate – disulfure **7** irradié pendant 2 heures, nous avons observé un nouveau triplet avec une constante de couplage plus petite $a_N = 8.300$ G. On observe aussi le triplet précédent (adduit **14**), avec $a_N = 12.849$ G, mais il est faible et disparaît au cours de l'expérience (*Figure II-8*).

En comparant les valeurs des constantes du couplage à celles de la littérature, le nouveau triplet avec $a_N = 8.300$ G correspond bien à l'adduit de MNP et du radical acyle **15** issu de la décarboxylation de pyruvate.

¹⁷⁰ Rosselin, M *et al.* Reactivities of substituted α -Phenyl-*N-tert-butyl Nitron*s. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 6615 – 6626.

¹⁷¹ Buettner, G.R. Spin trapping: ESR parameter of spin adducts. *Free Radic. Biol. Med.*, **1987**, 3, 259-303.

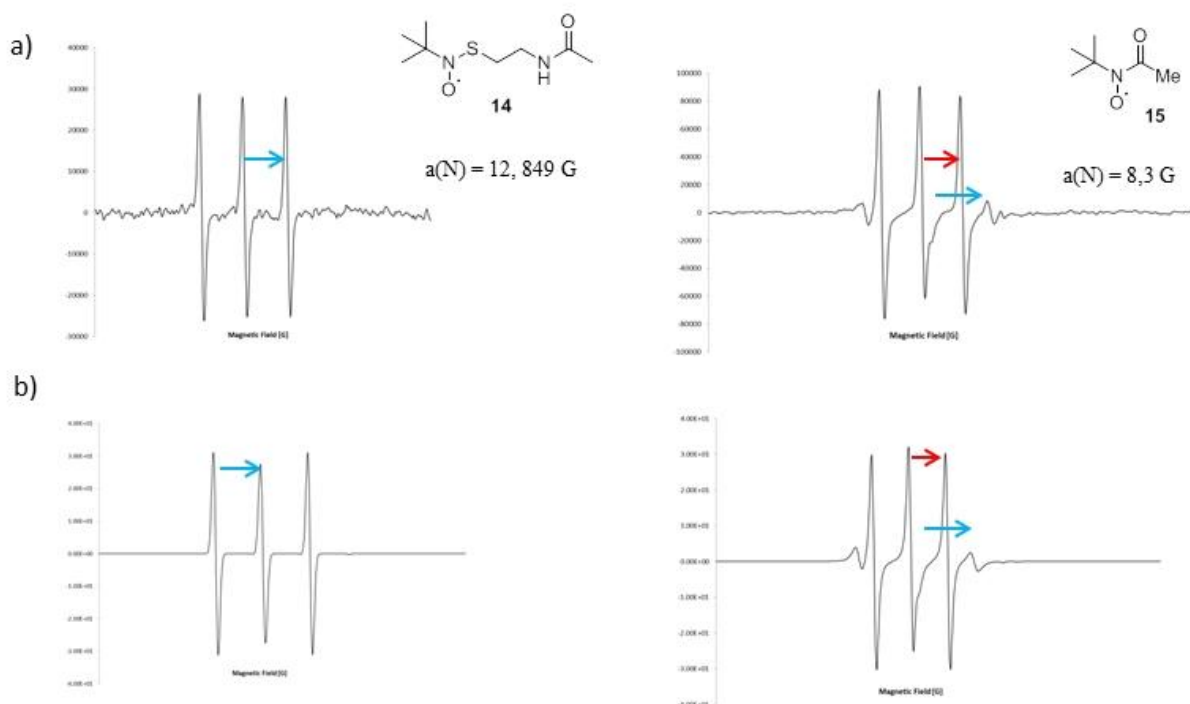


Figure II-8 : a) spectre enregistré après 2 h d'irradiation, b) Spectre simulé

Ces résultats confirment la présence de l'espèce radicalaire issue du pyruvate et du disulfure dans le milieu réactionnel sous irradiation, et donc aussi le mécanisme réactionnel que nous avons proposé.

Décarboxylation oxydative de l' α -cétoglutarate

II.2.1 Décarboxylation oxydative sous irradiations UV

Peu de résultats ont été publiés sur la décarboxylation oxydative du cétoglutarate.¹⁷² Toutefois son importance dans les voies biochimiques est incontestable, ce qui laisse envisager sa disponibilité dans l'environnement prébiotique.

¹⁷² Cleland, W. W. Mechanisms of enzymatic oxidative decarboxylation. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 10, 862–868.

L'évolution du cétooglutarate seul sous irradiation dans l'eau et sous argon a été étudiée par l'équipe de Waddell.¹⁷³ Le produit majoritaire est le succinate, mais d'autres produits sont aussi obtenus (*Figure II-9*). Par contre, le cétooglutarate résiste à la chaleur (80 °C).¹⁷⁴

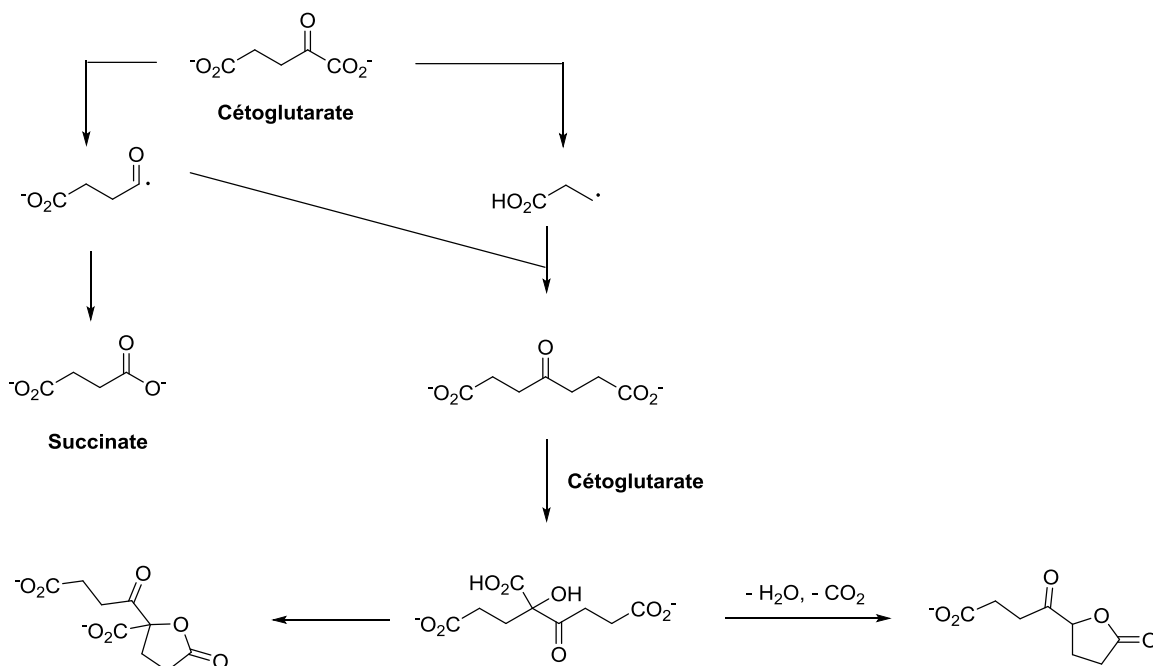


Figure II-9 : Produits possibles de la décomposition de l'acide céto-glutarique sous UV

Même si le cétooglutarate est donc réputé instable sous irradiation UV, nous avons tenté sa décarboxylation oxydative dans nos conditions expérimentales (même temps de réaction que précédemment, 6 heures, pH 2, environ 30°C, 3 équiv. de cétooglutarate) (*Schéma II-6*).

¹⁷³ Waddell, T. G.; Henderson, B. S.; Morris, R. T.; Lewis, C. M.; Zimmermann, A. G. Chemical evolution of the citric acid cycle : sunlight photolysis of α -ketoglutaric acid, *Origins of Life*, **1987**, *17*, 149 - 153.

¹⁷⁴ Ramírez-Vázquez, L & Negrón-Mendoza, A. Stability of α -ketoglutaric acid simulating an impact-generated hydrothermal system: implications for prebiotic chemistry studies. *Int. J. Astrobiol*, **2020**, *19*, 253-259.

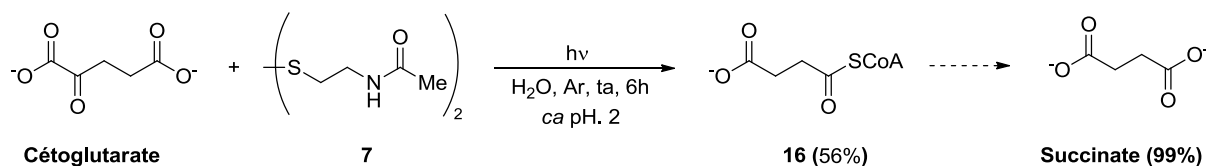


Schéma II-6 : Décarboxylation oxydative de l'acide α -cétoglutarique

Le thioester de cétoglutarate **16** a alors été détecté avec un rendement de 56 % (en utilisant le 1,4-dioxane comme référence interne) (Figure II-10). Sa présence a été confirmée par spectrométrie de masse : [M+1] trouvée 220.06395; calculée 220.06381.¹⁷⁵

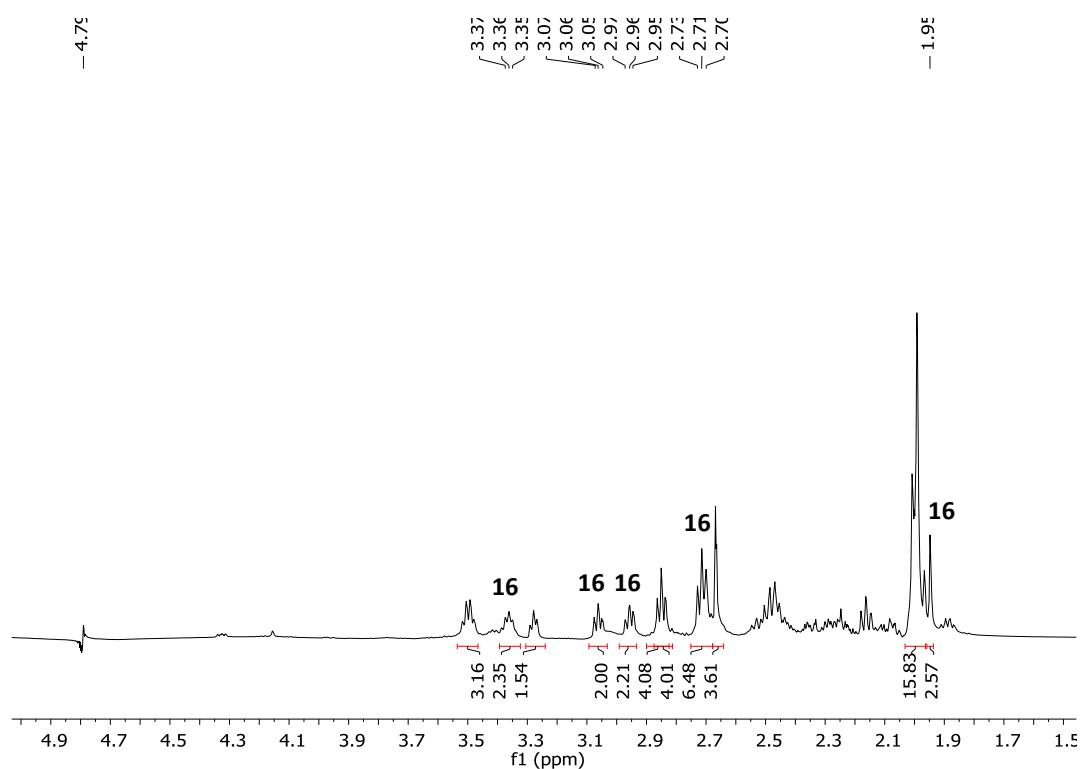


Figure II-10 : Spectre RMN de la réaction de décarboxylation du cétoglutarate

¹⁷⁵ Chevallot-Beroux, E.; Gorges, J.; Moran, J. Energy Conservation via Thioesters in a Non-Enzymatic Metabolism-like Reaction Network. *ChemRxiv*. 10.26434/chemrxiv.8832425.v1.

II.2.2 L'énergie solaire comme source des irradiations

De la même façon que pour le pyruvate, la décarboxylation oxydative du cétooglutarate a été effectuée au soleil (*tableau II-2*). Il apparaît que la décomposition du cétooglutarate est moins rapide au soleil que sous la lampe UV. Le thioester a été obtenu avec un rendement similaire à celui de la réaction sous UV. Même avec un mélange équimolaire, le rendement en thioester est notable.

Entrée	cétooglutarate (équiv.)	16 (%)	Source (hv)
1	3	56	Lampe
2	3	47	Soleil
3	1	15	Soleil

Tableau II-2 : Décarboxylation oxydative du cétooglutarate sous le soleil

Alors que notre publication sur cette partie de la thèse était en cours de révision (modifications mineures), nous avons pris connaissance d'une intéressante prépublication par l'équipe Moran, sur le même domaine.¹⁷⁶

Leur méthode de synthèse des thio-esters emploie des oxydants inorganiques et/ou de la lumière UV (*Figure II-11*). L'acide pyruvique par exemple en présence de *N*-acétylcystéamine, $K_2S_2O_8$, FeS, sous irradiation UV mène au thioester **12** avec un rendement de 31.2 %. D'un point de vue prébiotique l'utilisation du $K_2S_2O_8$ qui est un oxydant puissant ne semble pas être compatible avec les conditions géochimiques environnementales.

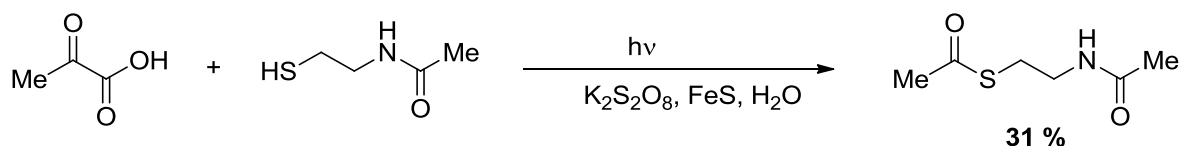


Figure II-11 : Spectre RMN de la réaction de décarboxylation du cétooglutarate

Toutefois, il devient évident que la simplicité des conditions de synthèse des thioesters dans un milieu réducteur/neutre (notre méthode) ou oxydant (Moran) défendent l'idée qu'un réseau bioénergétique construit autour des thioesters peut donc avoir émergé très tôt, préparant le terrain pour des voies biochimiques plus complexes.

Chapitre III : Vers une version primitive du cycle de Krebs inverse

<i>Objectif</i>

Comme il est mentionné dans l'introduction, le cycle réducteur de l'acide tricarboxylique (rTCA) est parmi les candidats les plus plausibles pour un premier métabolisme autotrophe aux origines de la vie. Il permet aux micro-organismes de former la matière organique nécessaire pour leur développement en assimilant le dioxyde de carbone CO₂ provenant du milieu environnant, ce qui est thermodynamiquement favorable dans cet environnement très riche en CO₂.

Dans la biologie d'aujourd'hui le cycle de Krebs inverse (rTCA) est formé de 9 séquences réactionnelles (*Figure 35 dans l'intro*) dont une grande partie peut être reproduite aisément sous conditions primitives. Toutefois, les carboxylations neutre et réductrice ne sont pas si simples à imiter, comme aussi les étapes de formation de thioester qui demandent de l'énergie sous forme d'ATP.

Sans l'intervention des enzymes, dans un environnement prébiotique, ces réactions semblent être difficiles à réaliser. Il est donc envisageable que d'autres intermédiaires et processus chimiques plus simples aient permis de former les thioesters et des liaisons C-C.

Nous suggérons que les anhydrides des 1,4-diacides sont ces intermédiaires utilisés dans la synthèse des thioesters. Nous proposons donc un nouveau modèle de cycle de Krebs inverse qui peut correspondre à sa version primitive ; il est plus long, avec plus d'étapes et de métabolites (*Figure III-1*).

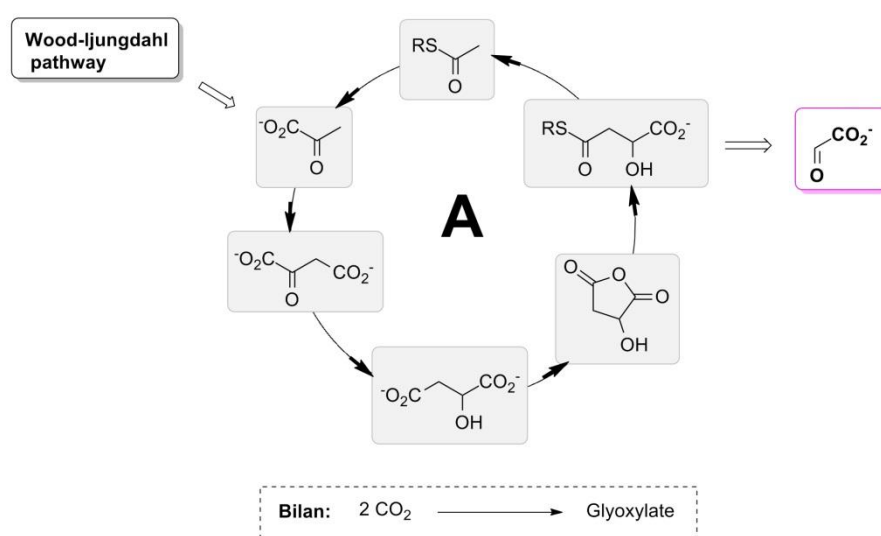


Figure III-2 : synthèse de glyoxylate par proto-rTCA

Notons qu'en principe, le chemin vers le pyruvate déclencheur (ou de toute autre molécule du cycle considérée comme déclencheur alternatif) n'aurait pas besoin d'être à haut rendement. Grâce au cycle, même de petites quantités de la molécule initiatrice conduiraient à de grandes quantités de glyoxylate.

Ce premier cycle peut être mis en relation avec un second petit cycle très similaire grâce à la déshydratation du malate en fumarate suivie de la réduction du malate en succinate, deux réactions possibles sous conditions prébiotiques (en présence d' H_2S par exemple). L'anhydride du succinate obtenu peut mener à un thioester grâce à son ouverture par un thiol (*Figure III-3*).

Le thioester du succinate enclencherait alors la série des réactions : carboxylation réductrice, carboxylation neutre, réduction, déshydratation en anhydride, suivie par une autre ouverture par un thiol et enfin une réaction de rétroaldolisation (*cycle B de la figure III-3*). Dans la dernière étape, une molécule de glyoxylate a été formée ainsi qu'une nouvelle molécule de thioester de succinate.

Un deuxième chemin permettant de relier les deux mini cycles, démarre avec la déshydratation de l'isocitrate qui est un intermédiaire du cycle B, suivi de l'hydratation de

l'aconitate, de la cyclisation en anhydride du citrate, lui-même ouvert par un thiol, et enfin d'une rétroaldolisation qui donne l'oxaloacétate et le thioacétate (*Figure III-3*). Si cette hypothèse était vraie, elle permettrait d'expliquer pourquoi un certain nombre des intermédiaires du cycle de Krebs auraient été sélectionnés. Par exemple, les diacides-1,4 auraient été sélectionnés pour leur capacité à former des anhydrides cycliques à 5 chaînons.

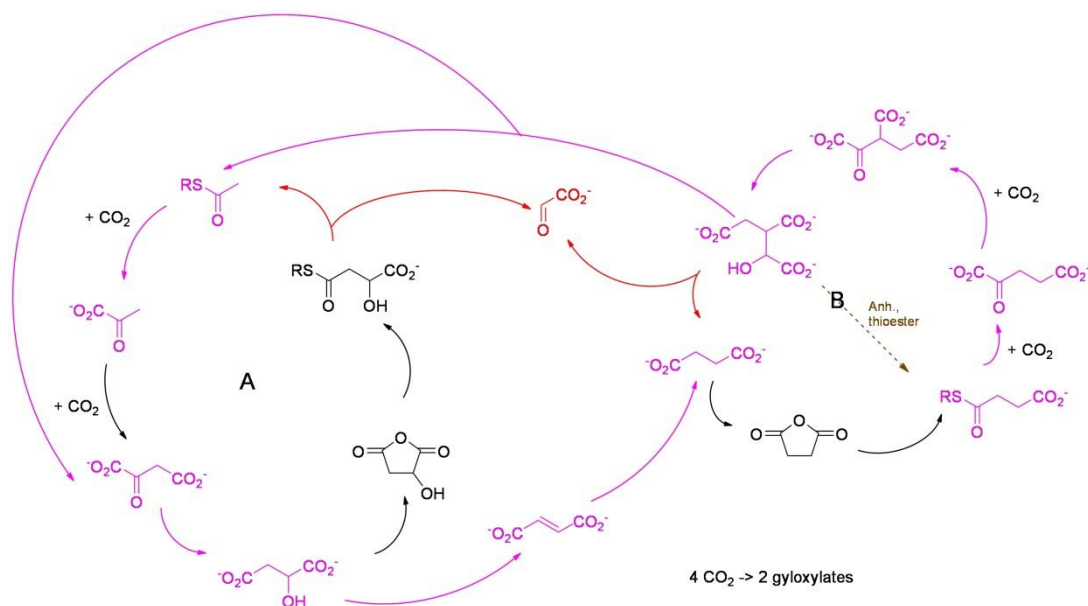


Figure III-3 : construction « par partie » du proto-cycle de Krebs inverse

Dans ce chapitre, nous allons présenter nos résultats sur certaines séquences réactionnelles des proto-cycles rTCA proposés. Nous commencerons avec la synthèse des anhydrides et de thioesters, puis poursuivrons par nos essais de synthèse d'hétérocycles aromatiques à priori nécessaires pour certaines réactions de carboxylation. Enfin, nous présenterons brièvement nos résultats sur la synthèse d'acides aminés à partir des métabolites du cycle.

<i>Résultats</i>

III.1 Synthèse des anhydrides et rétroaldolisation

La cyclisation des diacides-1,4 en anhydride est bien connue. Ainsi, il a été proposé que la force motrice pour la formation des anhydrides des 1,4-diacides dans l'eau semble être le soulagement de gêne stérique (fortes interactions non liantes dans le diacide) dans l'anhydride par rapport au diacide correspondant.¹⁷⁶ Pour l'équilibre : diacide = anhydride + H₂O la constante d'équilibre augmente avec le degré de substitution de l'acide de départ, cela peut être expliqué par l'effet *gem*-dialkyle.¹⁷⁷

III.1.1 Résultats préliminaires : réactivité comparée des monoacide et diacide carboxyliques

Afin de mettre en évidence le rôle des anhydrides dans la formation des thioesters, il était nécessaire de comparer la réactivité des acides dicarboxyliques à celle des acides monocarboxyliques. Le butyrate a été choisi comme acide monocarboxylique, le succinate comme acide dicarboxylique et l'éthanolamine comme espèce nucléophile. L'idée est de montrer que dans des conditions compatibles avec l'origine de la vie, seul le diacide réagira.

Pour une étude préliminaire, nous avons préparé une solution 1/1 de butyrate et de succinate (*Schéma III-1*). Nous y avons ajouté de l'éthanolamine dans diverses conditions (*tableau III-1*). A température ambiante rien ne se passe (*entrée 1*). A reflux de l'eau pour 3h, il n'y a que l'amide du succinate **17** qui est détecté en très faible quantité (*entrée 2*). Mais avec l'ajout d'un agent d'activation, KOCN (dont le rôle sera détaillé dans les pages suivantes), ou sur une surface minérale, l'amide du succinate se forme mieux, alors que nous n'avons toujours

¹⁷⁶ Ebersson, L. Studies on cyclic anhydrides equilibrium constants for the equilibrium between acid and anhydride in an aqueous solution of some alkylsubstituted maleic acid. *Acta chem. Scand.* **1964**, *18*, 1276 – 1282.

¹⁷⁷ Ebersson, L.; Welinder, H. Studies on cyclic anhydrides. III. Equilibrium Constants for the Acid Anhydride equilibrium in Aqueous Solutions of certain vicinal diacids. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 5821-5826.

pas observé l'amide du butyrate **18** (*entrée 3 et 4*). La formation de l'amide du succinate **17** suggère la présence intermédiaire de sa forme activée, l'anhydride succinique. De tels résultats soutiennent le choix prébiotique des diacides-1,4 comme métabolites à cause de leur réactivité spécifique (leur aptitude à former des anhydrides).

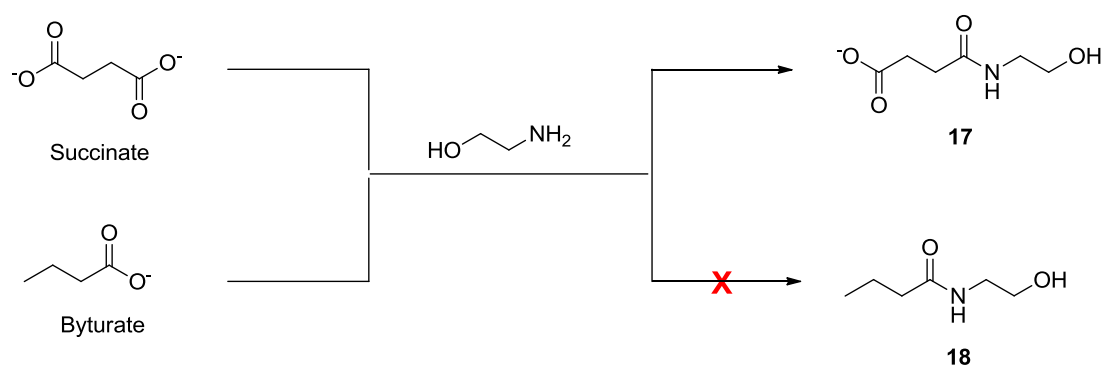


Schéma III-1 : Réactivité de l'acide succinique et l'acide butyrique en présence de l'éthanolamine

Entrée	Additives	T (°C)	17 (%)	18 (%)
1	-	25	0	0
2	-	100 ^a	2	0
3	KOCN	25	38	0
4	SiO ₂	80 [*]	3-10	0

a Pour une durée de 3h ; b A l'évaporateur rotatif pour une durée entre 10 et 30 min.

Tableau III-I : Réactivité des monoacides et diacides vis-à-vis de l'éthanol-amine

III.1.2. Formation de l'anhydride succinique

Le succinate cède ses électrons par la réaction $\text{succinate} + \text{FAD} \rightarrow \text{fumarate} + \text{FADH}_2$ permettant ainsi de former le fumarate dans le cycle de Krebs direct (*Figure 33*). Dans le cycle de Krebs inverse (*Figure 37*) son thioester est indispensable pour l'étape de carboxylation réductrice conduisant à l'acide α -cétoglutarique.

La constante d'équilibre de l'acide succinique/anhydride succinique dans l'eau⁴, à 60 °C a été estimée à $K = 7 \times 10^{-6}$. Ce qui signifie que la présence dans l'eau de l'anhydride sera rare mais pas nulle. Afin de prouver cette formation nous avons réalisées plusieurs expériences dans des conditions plausiblement prébiotiques.

Pour notre part, par des calculs théoriques (collaboration avec Fanny Vazart et Cecilia Ceccarelli, IPAG, Grenoble) nous avons pu estimer qu'à 25 °C, dans l'eau (*Schéma III-2*), la cyclisation du diacide demande une énergie d'activation d'environ 36 kcal/mol (*Figure III-4*). C'est une barrière élevée, mais pas infranchissable. En plus du continuum d'eau, une molécule d'eau explicite a été introduite dans notre modèle.

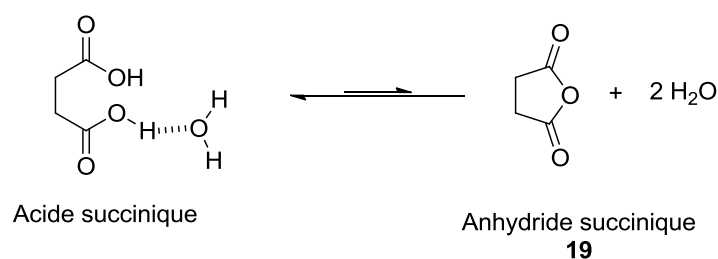


Schéma III-2 : Équilibre de synthèse de l'anhydride succinique en milieu aqueux

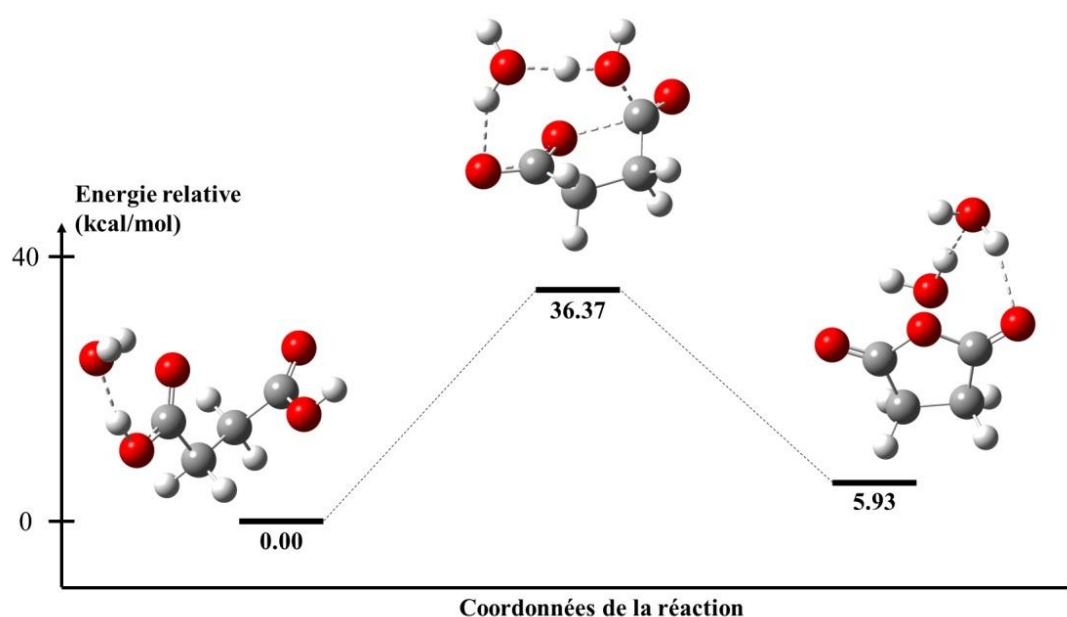


Figure III-4 : Diagramme énergétique de l'équilibre acide succinique/l'anhydride succinique en milieu aqueux

La différence d'énergie entre l'état initial et l'état final est estimée à environ 6 kcal.mol^{-1} , ce qui signifie bien sûr que la proportion d'anhydride restera faible. La constante d'équilibre correspondant à cette valeur de ΔG° est anhydride/acide = $4,018 \times 10^{-5}$ (à comparer à la donnée expérimentale 7×10^{-6})⁴, soit une molécule d'anhydride pour 400 000 molécules d'acide.

De façon peu étonnante, par RMN nous n'avons pas observé d'anhydride dans des solutions d'acide succinique dans l'eau, même après chauffage à 100°C ou en milieu acide (jusqu'à pH 1). D'ailleurs, lorsque de l'anhydride succinique est dissout dans de l'eau à pH = 1, l'hydrolyse est complète en quelques heures. Dans la [figure III-4](#), la barrière d'activation pour cette hydrolyse est estimée à $30,44 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

En nous appuyant sur des résultats préalablement publiés sur l'activation^{178,179} de diacides pour des synthèses protéiques, nous avons testé différents agents d'activation pour favoriser la cyclisation (*tableau III-2*).

La cyanamide qui est souvent utilisée comme agent de condensation dans des expériences de chimie prébiotique et a été détectée dans le milieu interstellaire (Sagittarius B2)¹⁸⁰, n'a eu aucun impact sur la formation de l'anhydride succinique (*entrée 1*). Il est possible que la cyanamide ait été hydrolysée en urée.¹⁸¹

Entrée	Température (°C)	Additives	pH	19 (%)
1	25	H ₂ NCN	3	0
2	25	KOCN ^a	6	3.5
3	25	KOCN ^b	4	2
4	25	KOCN ^c	3	0

^a conditions stochiométrique ; ^b 10% de KOCN ; ^c 1% de KOCN.

Tableau III-2 : Essais de synthèse de l'anhydride succinique en présence de cyanamide et cyanate

¹⁷⁸ Mullen, L. B.; Sutherland, J. D. Simultaneous nucleotide activation and synthesis of amino acid amides by a potentially prebiotic multi-component reaction. *Angew Chem Int Ed.* **2007**, *46*, 8063-8066.

¹⁷⁹ Huber, C.; Wächtershäuser G. Peptides by activation of amino acids with CO on (Ni, Fe)S surfaces: implications for the origin of life. *Science* **1998**, *281*, 670-672.

¹⁸⁰ Turner, B. E.; Liszt, H. S. ; Kaifu, N.; Kisliakov, A. G. Microwave detection of interstellar cyanamide. *Astrophys. J.* **1975**, *201*, L149-L152.

¹⁸¹ Kilpatrick, L. M. A mechanism for the hydrolysis of cyanamide in acid solution. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 40-46.

Le cyanate de potassium est un autre agent d'activation classique en chimie prébiotique. Il a été suggéré qu'il peut s'être formé spontanément sur la terre primitive. Il aurait pu contribuer à la synthèse abiotique de peptides (à partir des aminoacides)⁸⁴, de la pyrimidine et de l'adénosine diphosphate¹⁸² ainsi qu'être une source d'azote pour les cyanobactéries vivant sur la terre pré-oxygénée.^{183, 184}

La réaction de l'acide succinique en présence de cyanate de potassium en quantité stœchiométriques s'est avérée efficace pour donner l'anhydride succinique **19** (*entrée 2*), avec une conversion certes faible (maximum 3,5%) (*Figure III-5*). En dessous de 10% de KOCN l'anhydride **19** n'est plus détecté (*entrées 3-4*). En effet, le cyanate après avoir réagi avec le substrat est transformé en ammoniac et CO₂ (*Schéma III-3*). Le mécanisme n'est donc pas catalytique.

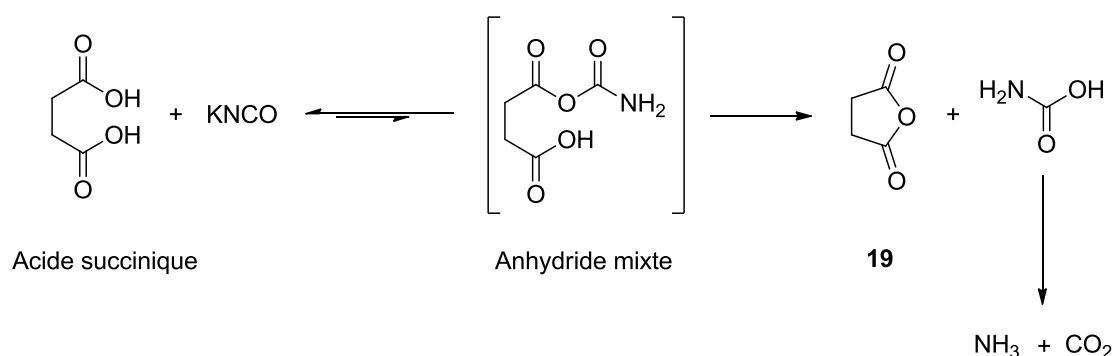


Schéma III-3 : Processus d'activation d'acide succinique par le cyanate de potassium

¹⁸² Yamagata, Y.; Mohri, T. Formation of cyanate and carbamyl phosphate by electric discharges of model primitive gas. *Orig Life*, **1982**, 12, 41-44.

¹⁸³ Yamagata, Y. Prebiotic formation of ADP and ATP from AMP calcium phosphates and cyanates in aqueous solution. *Orig Life Evol Biosph.* **1999**, 29, 511-520.

¹⁸⁴ Widner, B *et al.* Distribution, sources, and sinks of cyanate in the coastal north atlantic ocean. *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2016**, 3, 297-302.

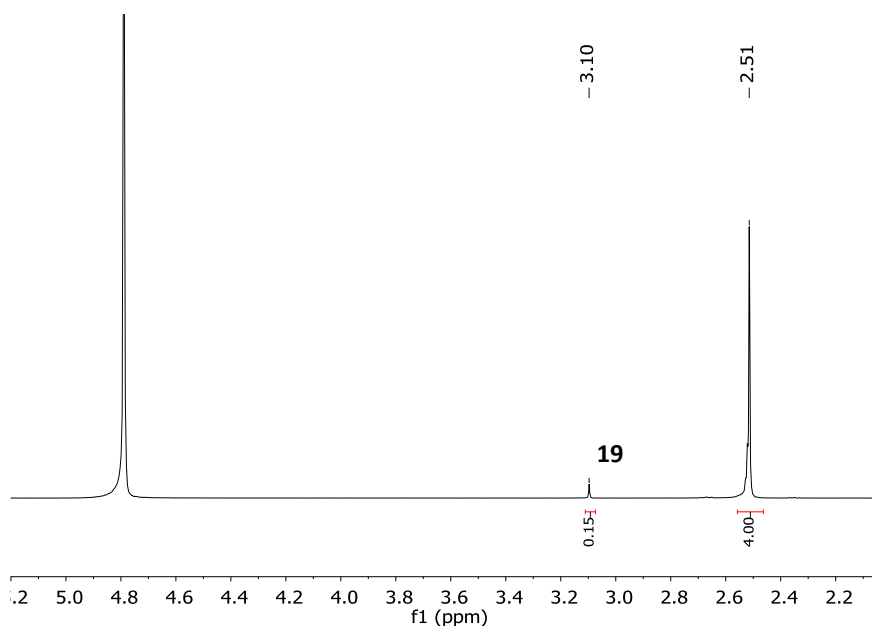


Figure III-5 : RMN ¹H de la réaction de synthèse de l'anhydride succinique en présence de KOCN

Ces résultats, similaires à ceux déjà décrits, ¹⁸⁶ rendent évident l'effet d'une substance activatrice telle que le cyanate sur la cinétique de la réaction de cyclisation. La formation de l'anhydride succinique à partir de son acide est accélérée en présence de cet agent d'activation.

Par ailleurs, nous avons testé différents acides de Lewis ($ZnCl_2$, $FeAc_2$, $FeCl_2$, $MnCl_2$, KCl , $NaCl$, $CaCl_2$ et $NaBr$) dans cette réaction. Aucun n'a permis d'activer la cyclisation.

La déshydratation de l'acide succinique sur de la silice, ou de la pyrite a également été testée (*tableau III-3*). Dans ces conditions, il est possible de détecter l'anhydride par RMN, en faible quantité.

Entrée	Surface	pH	19 (%)
1	-	3	0
2	SiO ₂	3	3
3	FeS ₂	2	traces
4	FeS ₂ /SiO ₂	2	1

Tableau III-3 : Déshydratation à 80°C de l'acide succinique sur des surfaces minérales

En conclusion, l'anhydride succinique peut être généré de façon significative dans un milieu aqueux en présence d'un agent d'activation ou sur une surface. Même si la conversion est plus faible sur les surfaces, cette catalyse hétérogène nous semble plus proche des conditions primitives. Cet anhydride va être utilisé dans la suite pour la formation des thioesters via une ouverture par un thiol.

III.1.3. Ouverture de l'anhydride succinique par les thiols

Dans notre « mini cycle A », l'étape qui suit la formation de l'anhydride succinique est son ouverture par un thiol (*Schéma III-4*). Nous avons testé ce principe en partant du succinate, en présence de KOCN, avec le thiol analogue de la coenzyme A (A-CoA) (*Tableau III-4*).

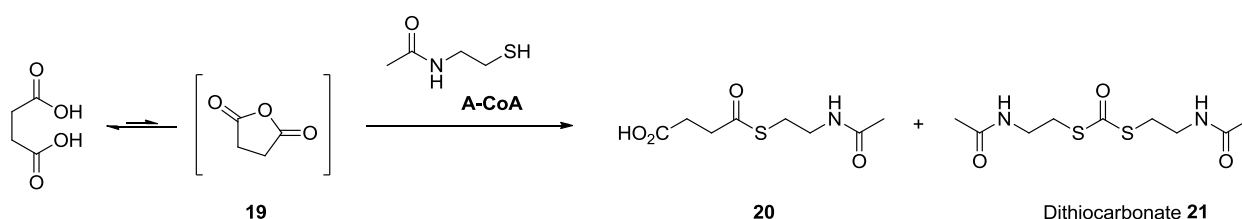


Schéma III-4 : Formation de thioester à partir de l'anhydride succinique

Entrée	T (°C)	Additives	pH	20 (%)	21 (%)
1	25	-	4	0	-
2	100	-	4	0	-
3	25	KOCN	7	19	53
4	100	KOCN	7	0	0

Tableau III-4 : Synthèse des thioesters à partir de l'anhydride succinique

Le thioester **20** est formé à température ambiante en présence de cyanate avec une conversion non négligeable. A des températures plus élevées le thioester n'est plus observé, c'est donc qu'il s'hydrolyse et redonne le diacide (*Figure III-6*). Notons toutefois que le thiol réagit aussi avec l'anion cyanate en donnant un dithiocarbonate **21** à 25 °C. Les attributions sur le spectre RMN ci-dessous ont été effectuées à l'aide du spectre COSY.

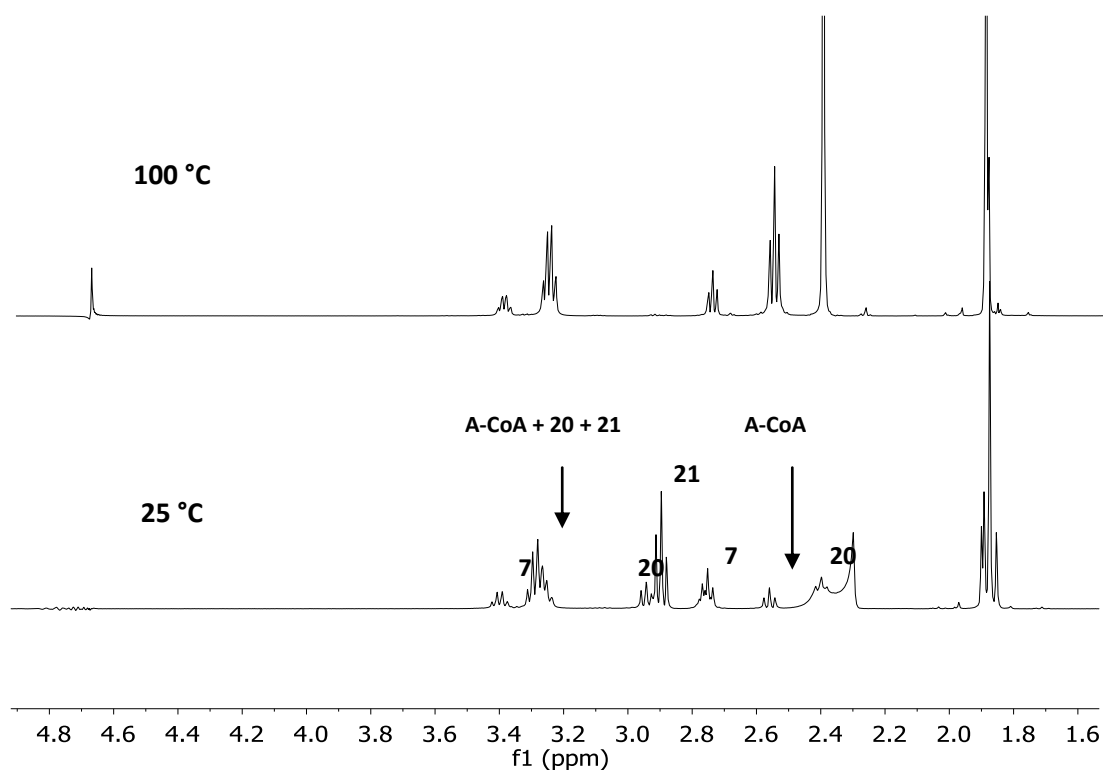


Figure III-6 : RMN ¹H de la réaction du succinate avec thiol « A-CoA » en présence de KOCN

Ces résultats montrent qu'il est possible de parvenir à des thioesters dans un milieu prébiotique à partir de l'anhydride succinique.

III.1.4. Formation de l'anhydride malique

Il a été rapporté que l'anhydride de l'acide malique est chimiquement difficile à former et isoler.¹⁸⁵

Comme pour le succinate, les calculs théoriques effectués sur la cyclisation du malate révèlent qu'à 25 °C, l'énergie d'activation nécessaire pour cette réaction est de l'ordre de 36 kcal/mol, avec une différence d'énergie entre l'état initial et l'état final estimée à environ 6 kcal/mol (*Schéma III-5 et Figure III-7*). Cela signifie que la cyclisation est possible, même si la proportion d'anhydride restera faible dans le milieu. La barrière d'activation pour l'hydrolyse de l'anhydride est estimée à 31,24 kcal/mol.

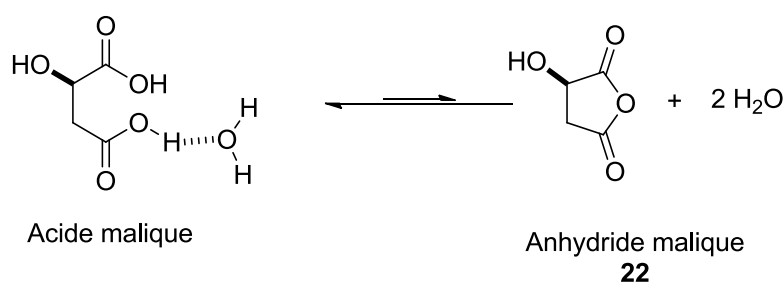


Schéma III-5 : Équilibre de synthèse de l'anhydride malique en milieu aqueux

¹⁸⁵ Liesen, G. P.; Sukenik, C. N. Activated anhydrides of tartaric and malic acids. Basic techniques of preparative organic chemistry. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 455-457.

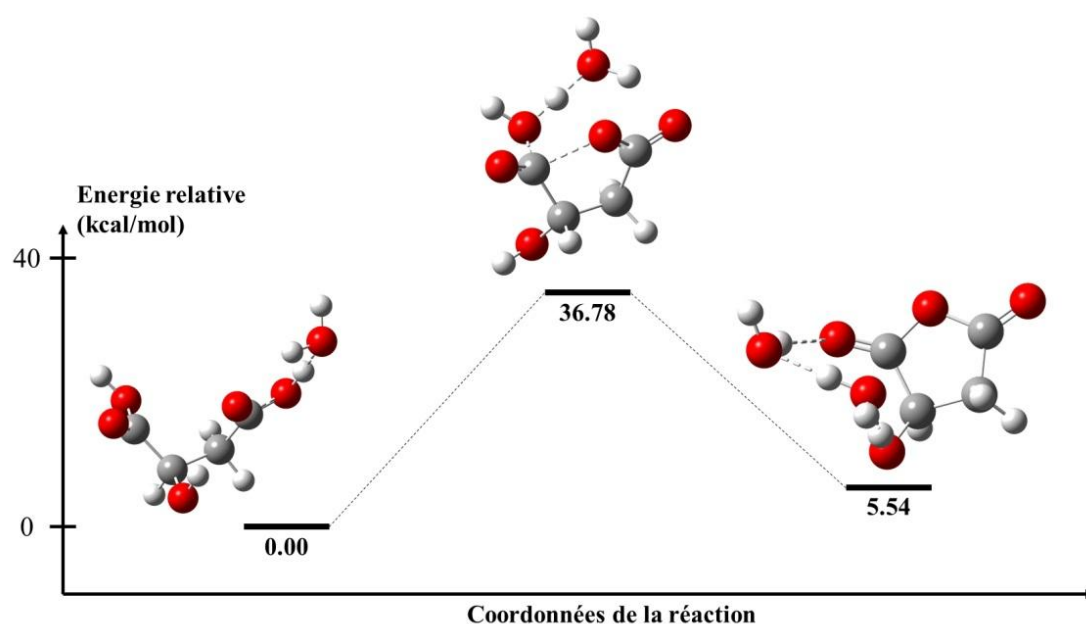


Figure III-7 : Diagramme énergétique de l'équilibre acide malique/l'anhydride malique en milieu aqueux

Suite à ces résultats théoriques, nous avons donc tenté la déshydratation du malate (*Schéma III-6 et tableau III-5*). L'anhydride **22** n'est observé qu'en présence de KOCN (*entrée 3*). Il est caractérisé par un système ABX qui donne un quasi-triplet correspondant au CH-OH centré à 5.23 ppm, et dont la partie AB est situé à 2.89-3.0 ppm (*Figure III-8*). Sa formation immédiate à température ambiante a été confirmée par spectrométrie de masse : [M-H] trouvée 115.00392; calculée 115.00368. Ces analyses par spectrométrie n'ont pas révélé la présence du dimère du malate dans le milieu réactionnel.

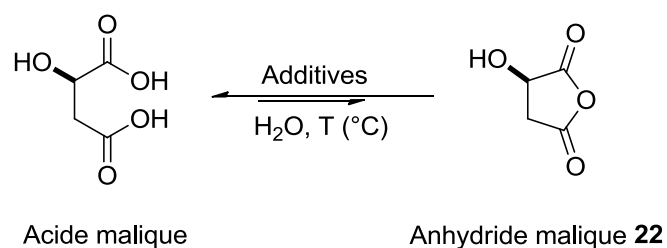


Schéma III-6 : Formation de l'anhydride malique en présence de KOCN

Entrées	Température (°C)	Additives	pH	22 (%)
1	25	-	3	0
2	80	-	3	0
3	25	KOCN	5	23

Tableau III-5 : Essais de synthèse de l'anhydride malique

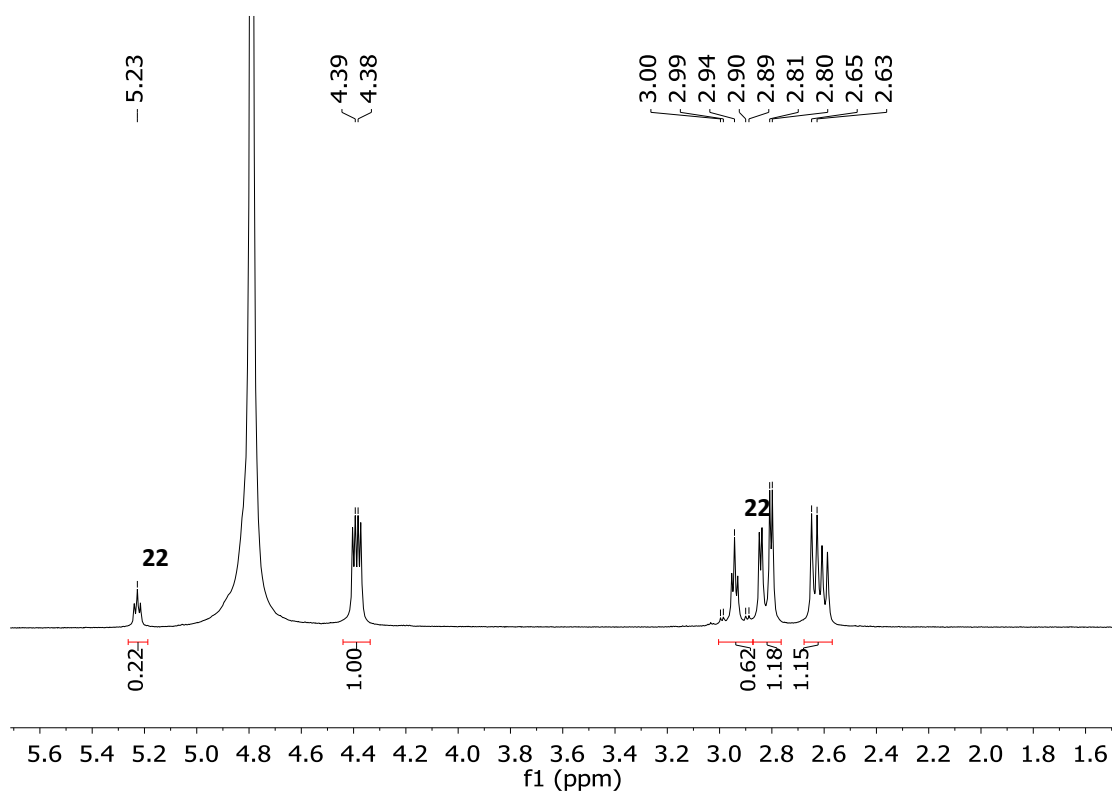
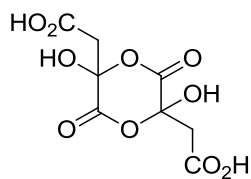


Figure III-8 : RMN ¹H de la formation de l'anhydride malique en présence de KOCN



Dimère de l'acide malique

III.1.5. Réaction avec un thiol, rétroaldolisation

Dans ce cas, il existe un problème de régiosélectivité. L'ouverture de l'anhydride du malate a été très peu étudiée dans la littérature. En 2008, Kagarlitskii, A. D *et al* ont reporté que l'ouverture par une amine se fait par le côté le moins encombré.¹⁸⁶ Cette sélectivité correspond à celle que nous recherchons, c'est-à-dire à la voie menant au thioester de l'acétate et au glyoxylate après la rétroaldolisation (*Figure III-9*).

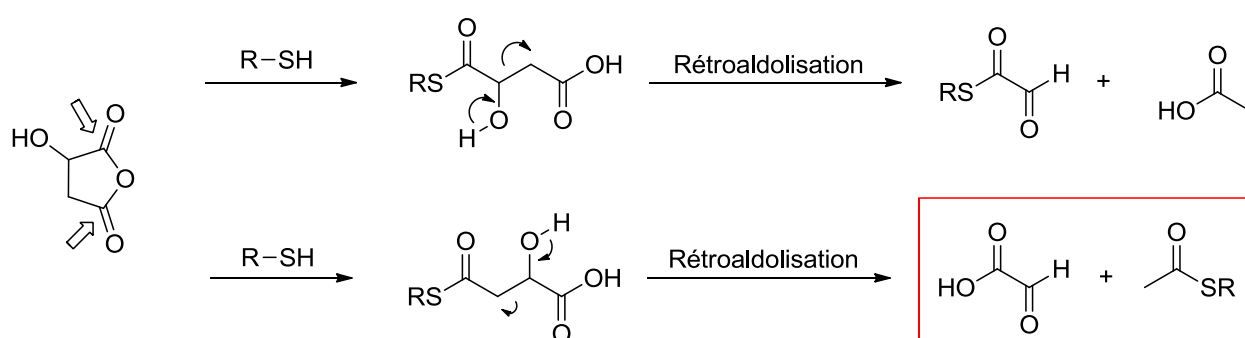


Figure III-9 : Produits possible de l'ouverture de l'anhydride malique et rétroaldolisation

Les calculs théoriques que nous avons effectués sur la réaction d'ouverture de l'anhydride malique par un thiol (en utilisant le méthanthiol comme thiol simple) montrent que parmi les 4 états de transitions possibles (*Figure III-10*), TS1, où l'attaque nucléophile se fait du côté le moins encombré et sur la face opposée au groupement OH, est le plus bas en énergie (*Tableau III-6*), ce qui est en cohérence avec les résultats expérimentaux que nous présentons ci-dessous.

¹⁸⁶ Kagarlitskii, A. D., Krichevskii, L. A., Astaf'eva, Z. M.; Akhmetova, S. B., Seidakhmetov R. B. & Drab, A. I. Synthesis and antifungal and antibacterial activity of hexahydronicotine derivatives. *Pharm. Chem. J*, **2008**, *42*, <https://doi.org/10.1007/s11094-008-0098-6>.

La différence d'énergie entre l'état initial et l'état final est estimée à environ $-10 \text{ kcal.mol}^{-1}$, ce qui signifie que la formation du thioester est largement favorisée.

Etat de transition	Energie (kcal/mol)
TS1	20,59
TS2	24,01
TS3	25,83
TS4	24,02

Tableau III-6 : Les énergies des états de transitions possible de l'ouverture de l'anhydride malique par un thiol

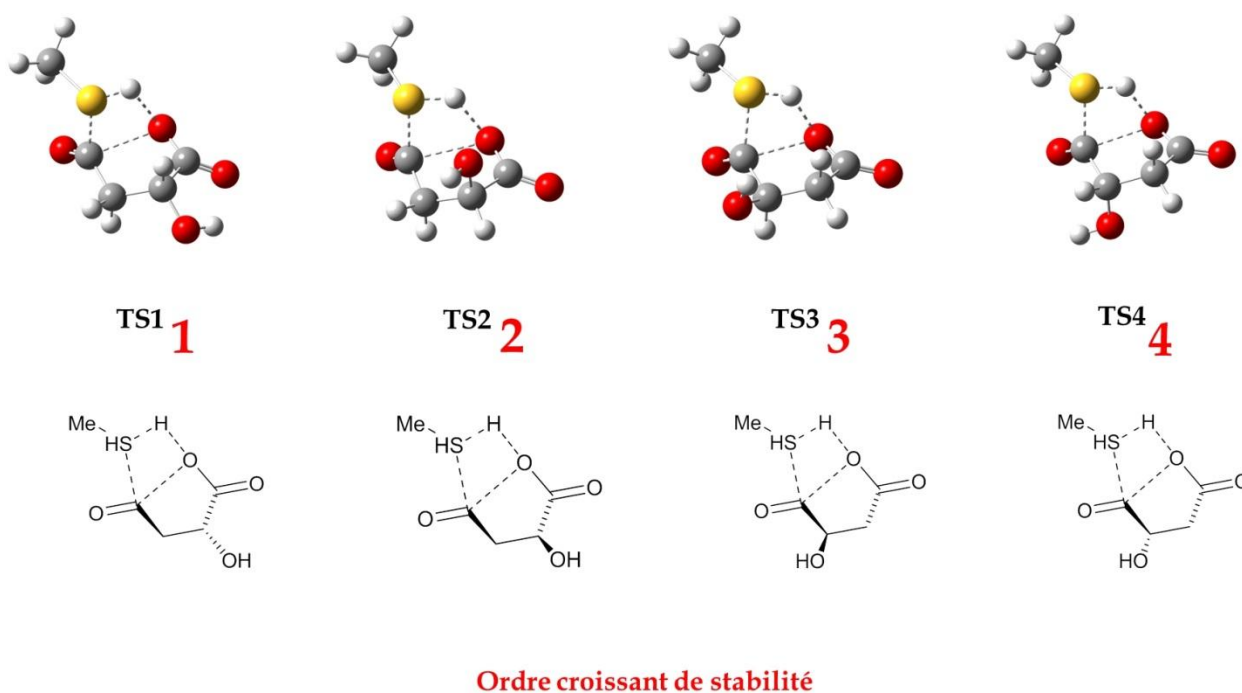


Figure III-10 : Les états de transition possibles de l'ouverture de l'anhydride malique par un thiol

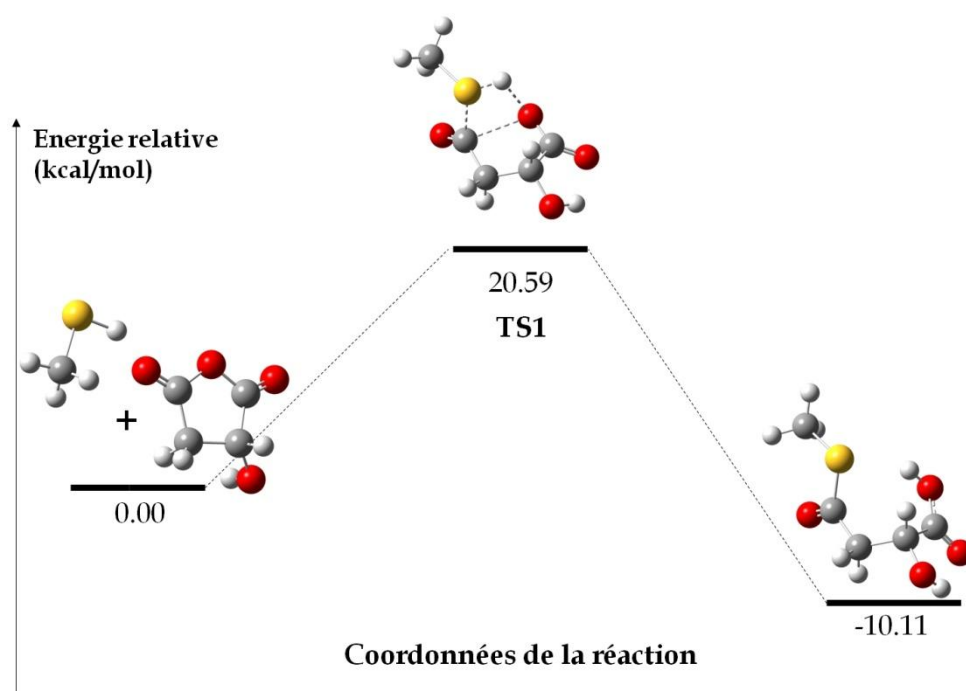


Figure III-11 : Diagramme énergétique de l'ouverture de l'anhydride malique par un thiol

La réactivité de malate avec le thiol « A-CoA » a été étudiée dans les conditions expérimentales élaborées précédemment (Figure III-12).

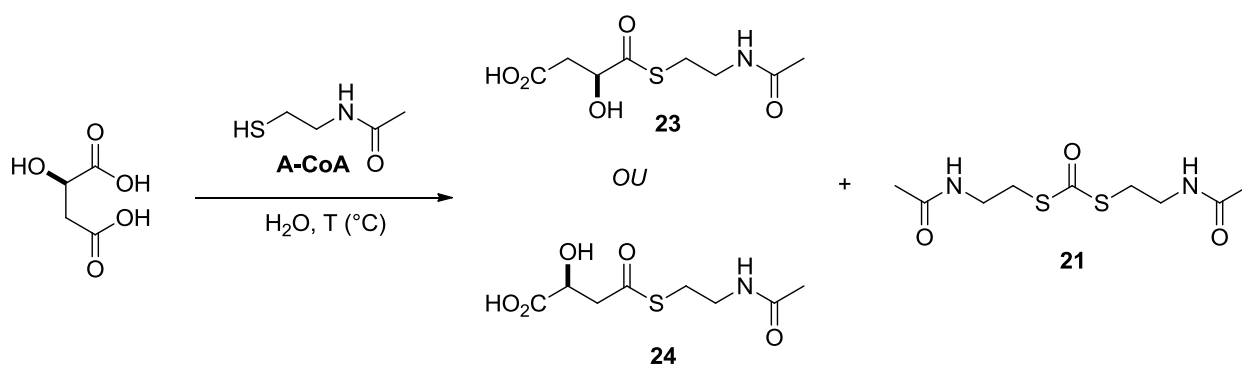


Figure III-12 : Formation de thioester à partir d'anhydride malique

Le thioester (**22** ou **23**) a été formé à température ambiante en présence du cyanate qui permet d'activer l'acide malique en anhydride (*tableau III-7 : entrée 1 et 2*). Nous n'avons détecté qu'un seul régioisomère, sans pouvoir déterminer à ce stade lequel des 2 possibles (*Figure III-13*).

Entrée	T (°C)	Additives	pH	23 ou 24 (%)	21
1	25	KOCN	7	38	55
2	100	KOCN	7	0	0
3	25/100	-	3	0	-

Tableau III-7 : Essais de synthèse des thioesters à partir du malate

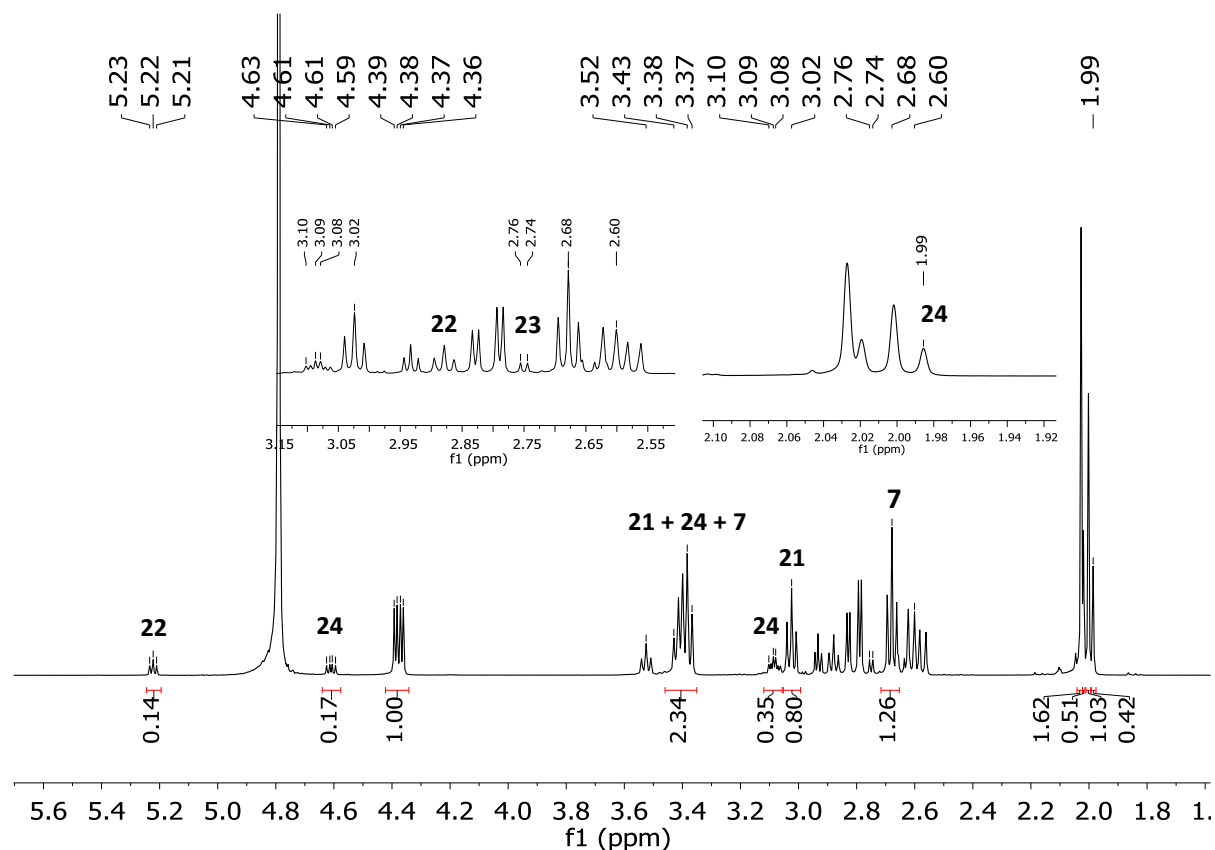


Figure III-13 : RMN ^1H de la réaction de l'anhydride malique avec le thiol A-CoA à ta

A des températures élevées (45 °C), le thioester du malate commence à disparaître pour laisser place au thioester de l'acétate **12** (3 %) (Figures III-14), que nous avons identifié formellement par spectrométrie de masse. La rétroaldolisation nécessaire dans notre « mini cycle A » (Figure III-2) a donc eu lieu. De plus la formation du thioester de l'acétate, par rétroaldolisation, démontre la formation du thioester **24** (avec donc la « bonne » régiosélectivité).

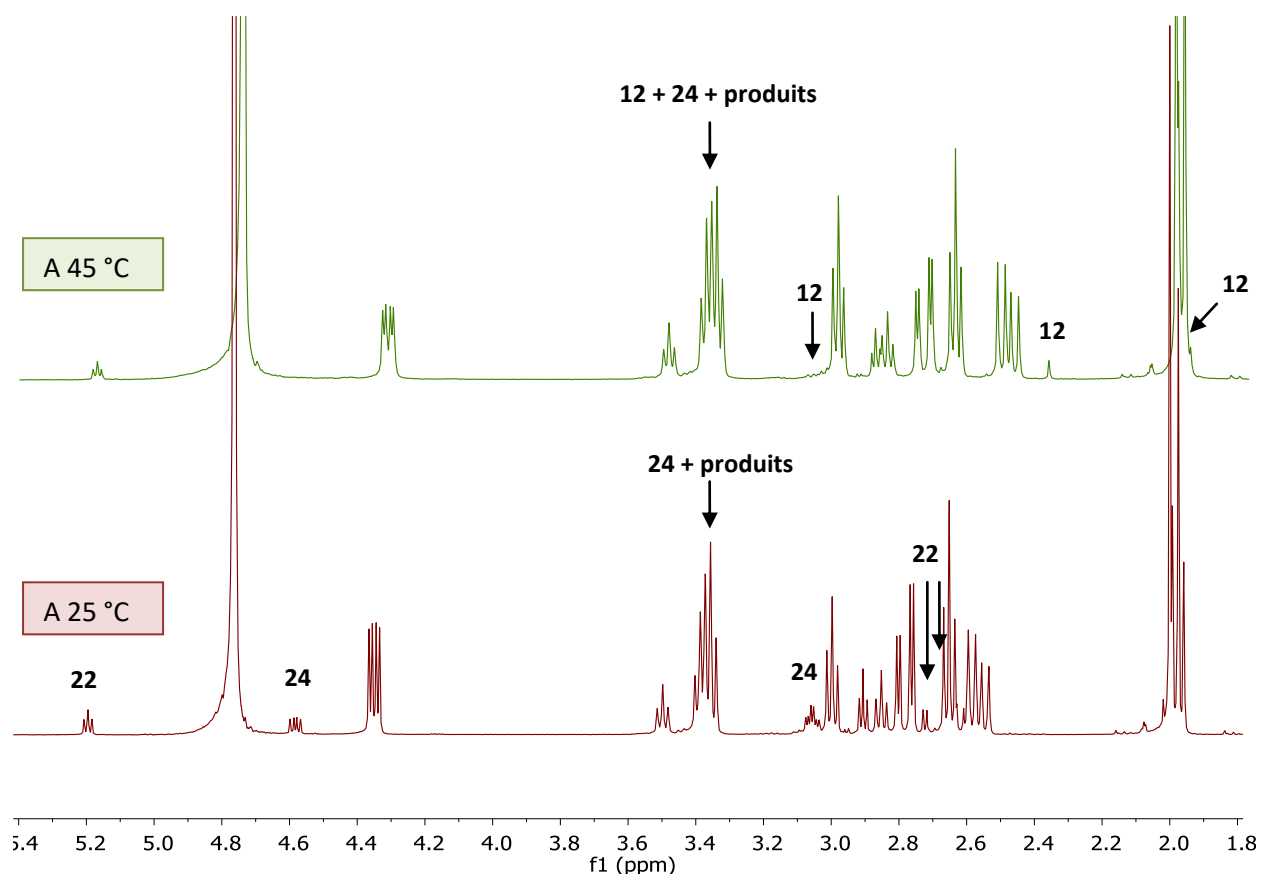


Figure III-14 : RMN ¹H de la réaction de l'anhydride malique avec le thiol A-CoA à différentes températures

En fait, l'emploi d'un activateur n'est pas nécessaire dans ce processus. Dans l'eau, à 80 °C, à partir du malate et du thiol **A-CoA**, nous avons détecté la formation du thioacéate **12**. L'anhydride est donc formé, il a été ouvert par le thiol, et la rétroaldolisation a eu lieu (*Schéma III-7 et Figure 15*). La conversion en thioester **12** devrait être plus élevée dans le premier cas, mais comme le pH en présence de KOCN est plus basique, une partie du produit **24** finit par s'hydrolyser.

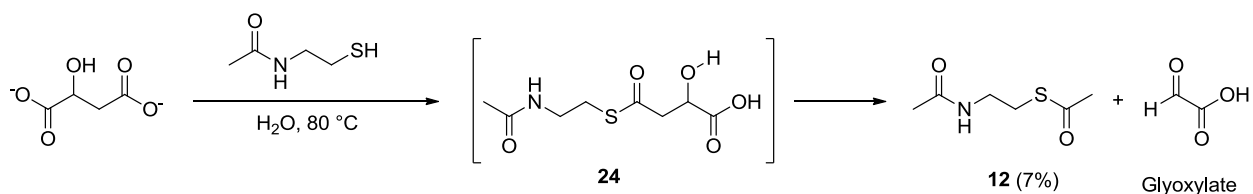


Schéma III-7 : Formation de l'anhydride malique en présence de KOCN

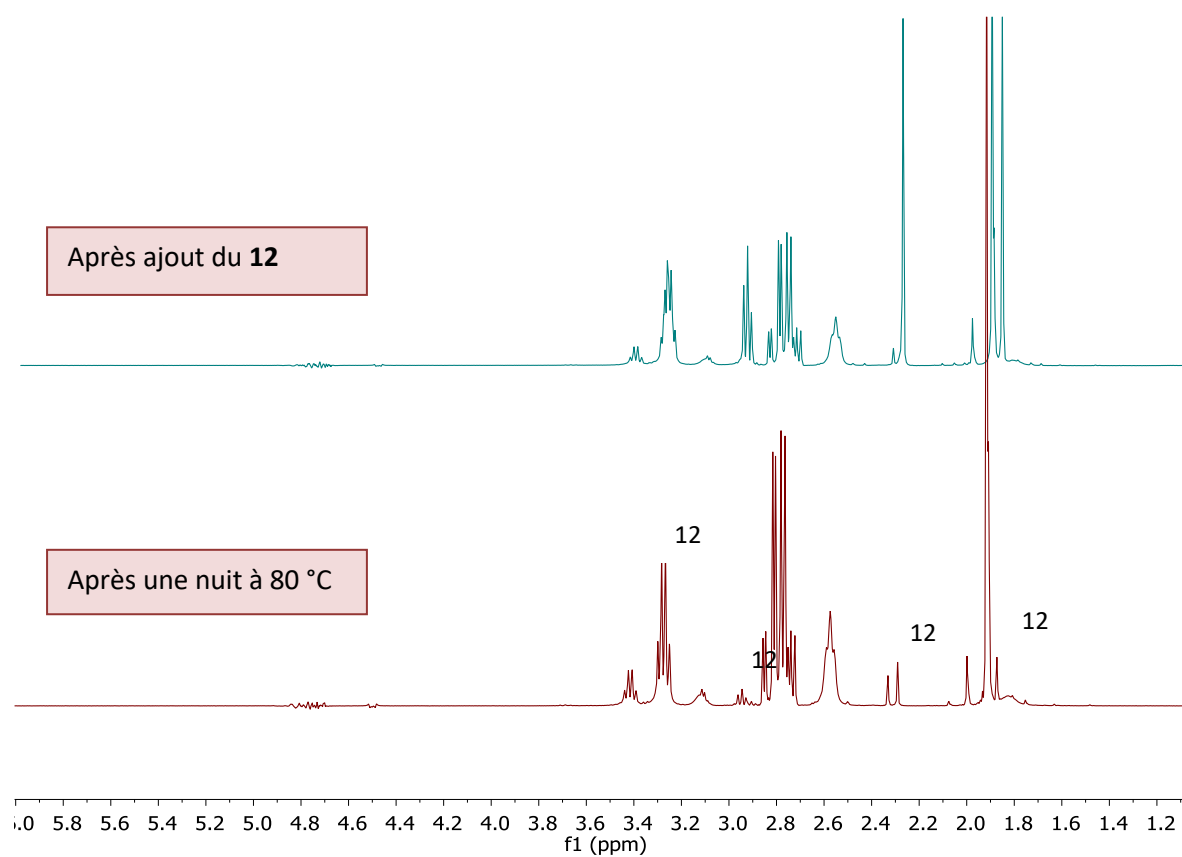


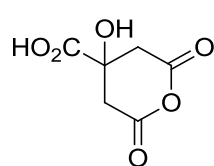
Figure III-15 : ¹H RMN de la réaction

Ces résultats semblent permettre de conclure à la faisabilité de trois des six réactions du « mini-cycle (A) » (*Figure III-3*) dans des conditions plausiblement prébiotiques. Ils restent toutefois à confirmer.

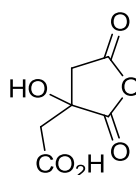
III.1.6. Formation de l'anhydride citrique

L'anhydride citrique est utilisé en chimie industriels. Comme forme activée de son acide, il permet d'accéder à divers produits chimiques.

Pour notre étude sur l'origine du cycle de Krebs inverse, la présence de cet anhydride nous paraît envisageable pour passer de l'acide au thioester. Dans la littérature plusieurs études ont été reportées sur la synthèse et l'isolement de l'anhydride citrique,^{187,188} cependant des méthodes de synthèse dans l'eau sont inexistantes. L'anhydride citrique est obtenu par réaction de l'acide avec l'anhydride acétique, parfois en présence de l'acide acétique afin de contrôler le processus d'acétylation. Dans ces conditions deux anhydrides sont présents, les anhydrides symétrique **25** et asymétrique **26** avec une légère prédominance remarqué de ce dernier.



Anhydride symétrique
25



Anhydride asymétrique
26

Figure III-16 : Deux possibles anhydrides de l'acide citrique

Une influence du pH sur l'hydrolyse de cet anhydride a été reportée.¹⁵ Le taux d'hydrolyse diminue avec l'augmentation du pH pour une région de $2 < \text{pH} < 5$ (*Figure III-17*). Ce comportement est probablement dû à l'ionisation du groupement carboxylique libre, ce qui

¹⁸⁷ Repta, A. J.; Higuchi, T. Synthesis and isolation of citric acid anhydride. *J. Pharm. Sci.* **1969**, 58, 1110-1114.

¹⁸⁸ Repta, A. J.; Higuchi, T. Synthesis, isolation, and some chemistry of citric acid anhydride. *J. Pharm. Sci.* **1969**, 58, 1110-1114.

veut dire que la charge négative crée augmente apparemment l'énergie de l'état de transition formée lors de l'attaque de la molécule d'eau sur le cycle qui est alors thermodynamiquement moins favorable. L'énergie d'activation calculée pour l'hydrolyse de la forme acide de l'anhydride est de 10,7 kcal/mole alors que dans le cas de la forme ionique elle est de 12,9 kcal/mol.

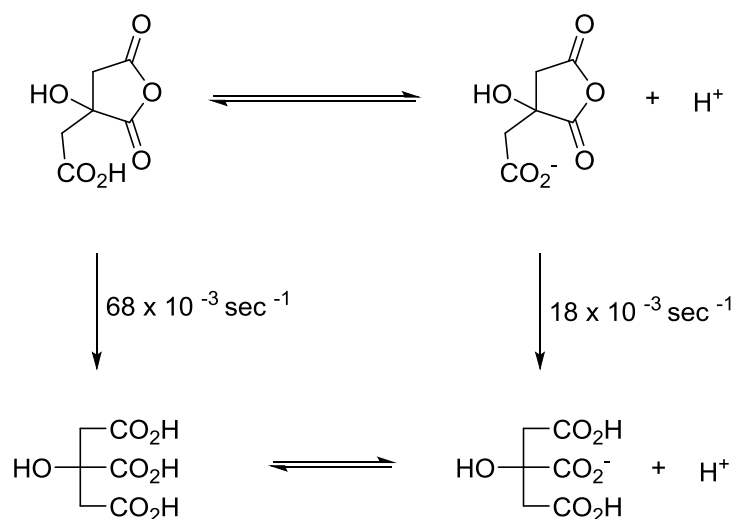


Figure III-17 : comportement de l'anhydride succinique à différents pH

Dans nos essais, chauffer l'acide citrique dans l'eau, jusqu'à 80 °C, ne suffit pas à permettre la détection de l'anhydride (*Schéma III-8; Tableau III-8 entrées 1, 2 et 3*). A une température plus élevée, qui entraîne l'évaporation de l'eau, l'anhydride commence à se former dans le milieu, mais aussi des produits de décompositions (*entrée 4*). En nous fondant sur une étude réalisée en 1995 sur la thermolyse de l'acide citrique, nous sommes parvenus à identifier la majorité des produits issus de cette réaction.¹⁸⁹

¹⁸⁹ Fischer, J. W.; Merwin, L. H.; Nissan, R. A. NMR investigation of the thermolysis of citric acid. *Appl Spectrosc.* **1995**, *49*, 120-126.

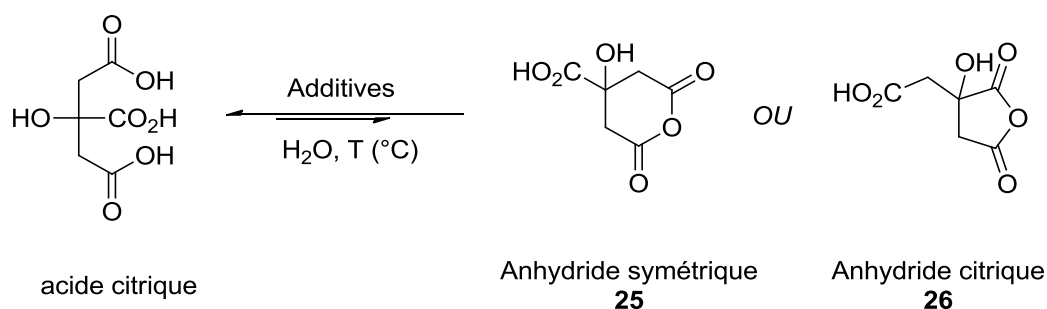


Schéma III-8 : Formation de l'anhydride citrique

Entrée	Température (°C)	Additives	pH	25 ou 26 (%)
1	25	-	4	-
2	60	-	4	-
3	80	-	4	-
4	110	-	4	5
5	25	KOCN	5	16

a l'évaporateur rotatif

Tableau III-8 : Conditions de formation de l'anhydride citrique

Après 6 h à 110 °C, l'anhydride de l'acide citrique **26** (ou **25**) a été détecté ainsi que l'acide *cis*-aconitique (*C*-acon.) qui est un des métabolites de cycle de Krebs avec un ratio de (ac. citr./**26**/ *C*-acon. : 94/5/1) (Schéma III-9). Un autre produit secondaire est présent dans le milieu, nous supposons qu'il s'agit du dimère de l'acide citrique. Après une nuit de chauffage le *trans*-aconitate (*T*-acon.) est aussi apparu, le ratio est (ac. citr./**26**/*C*-acon./*T*-acon. : 91/6/2/1).

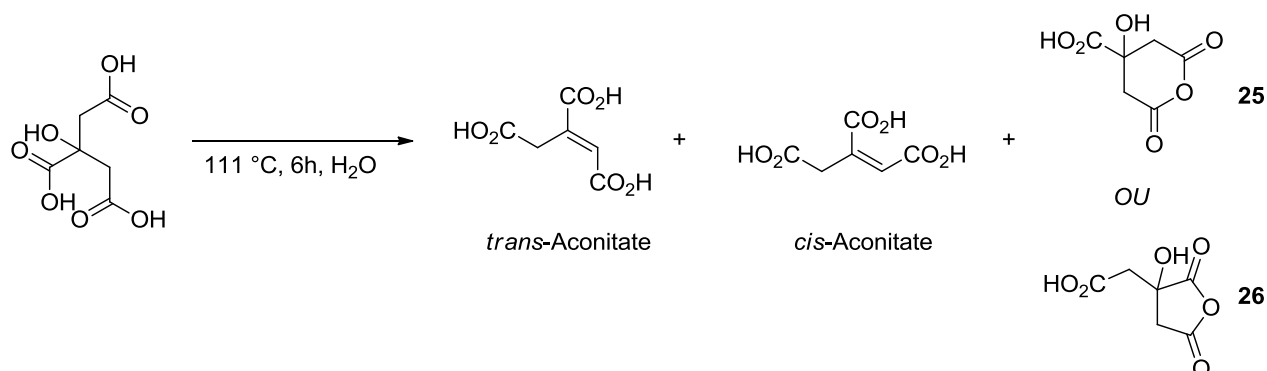
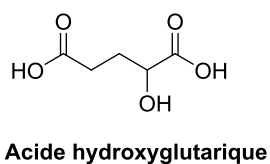


Schéma III-9: Conditions de formation de l'anhydride citrique

En présence de cyanate, sans chauffage, nous avons aussi observé la formation de l'anhydride (*entrées 5*). Le produit a été détecté par RMN ainsi que par spectrométrie de masse [M-H] : trouvée 173.00914; calculée 173.00916.

En présence d'un acide de Lewis, Zn²⁺ ou Mg²⁺, la cyclisation n'est pas observée. Nous avons aussi testé la déshydratation du citrate sur des surfaces minérales, la pyrite ou la silice, mais l'anhydride n'a pas été détecté. Seule la formation d'acide 3-hydroxyglutarique, le produit de décarboxylation de l'acide citrique a été détecté.



Nos résultats permettent de conclure sur la cyclisation possible de l'acide citrique, toutefois il est a été difficile pour nous de déterminer précisément lequel des deux anhydrides est favorisé sous nos conditions. Les calculs thoriques sur la formation de l'anhydride citrique n'ont pas été terminés, nous allons les présenter le jour de la soutenance de thèse. A bien

noter que les deux formes cycliques de l'acide citrique peuvent jouer le même rôle dans la formation des thioester, comme étant les deux des espèces intermédiaires activées.

III.1.7. Ouverture de l'anhydride citrique

A partir du citrate, le thioester attendu **27** n'a pas été observé en RMN, cependant les produits de rétroaldolisation, le pyruvate et le thioester **12** sont détectés en chauffant le milieu réactionnel à une température qui ne dépasse pas 70-80 °C (*Schéma III-10*). A température ambiante et comme le pH = 4, l'anhydride semble être relativement stable. Clairement, ces réactions devront être reprises pour aboutir à des résultats vraiment conclusifs.

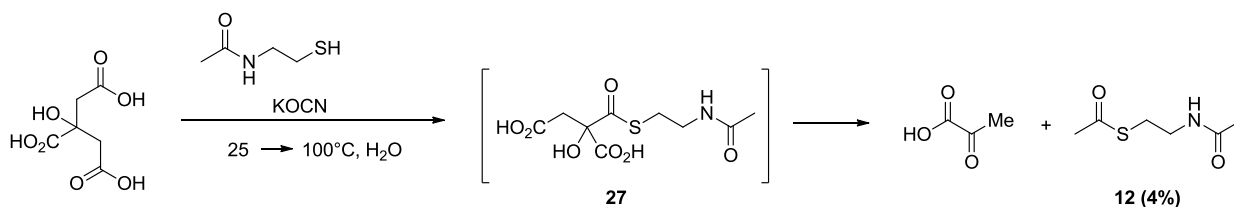


Schéma III-10: Formation de thioester à partir d'anhydride citrique

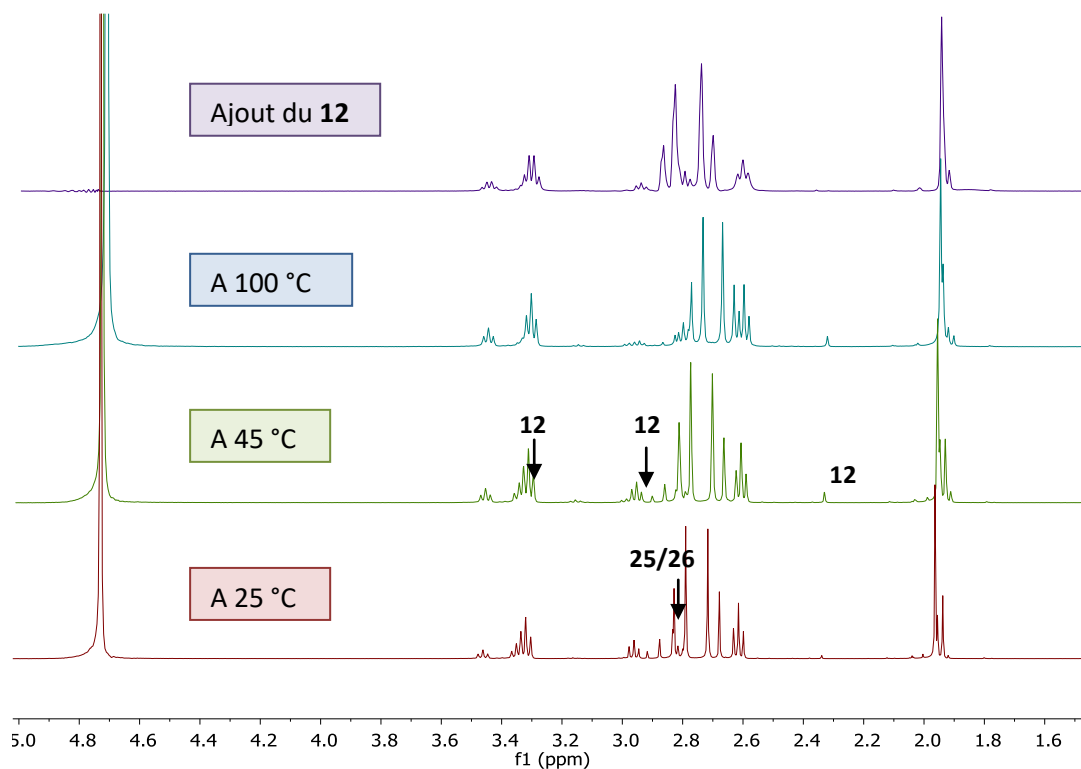


Figure III-18 : RMN 1H de synthèse des thioesters à partir de l'anhydride citrique

En conclusion sur la formation des anhydrides, leur ouverture et la rétroaldolisation, même si nos résultats doivent être complétés, il nous semble qu'ils donnent de bons arguments en faveur de l'implication des anhydrides des 1,4-diacides et de leur ouverture par les thiols dans un proto rTCA.

III.2 Carboxylation réductrice

Objectif

On désigne par le terme carboxylation, toute réaction chimique aboutissant à additionner un groupement carboxyle à une molécule organique. Un exemple très connu en chimie organique est la préparation commerciale du salicylate, précurseur de l'aspirine. Le traitement du phénolate de sodium avec du CO_2 à haute pression (100 atm) et haute température (390K) produit le sel de salicylate qui, par acidification, donne l'acide salicylique (*Schéma III-11*). Ce processus est connu sous le nom de réaction de Kolbe-Schmitt.

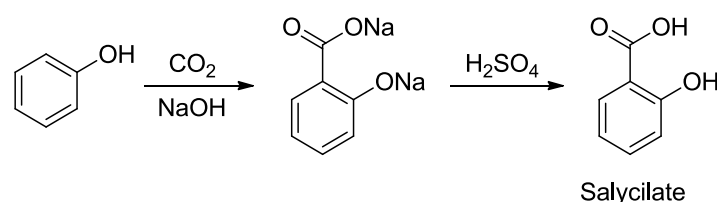


Schéma III-11: carboxylation de Kolbe –Schmitt

En chimie prébiotique, il est toujours difficile d'élaborer un processus non-enzymatique d'assimilation du CO_2 . Il a été toutefois démontré par une étude électrochimique que des clusters du fer « FeMoS » sont capables de transformer des thioesters en cétoacides (*Schéma III-12*).¹⁹⁰ Des études similaires basées sur la réduction photo-électrochimique du CO_2 et sa fixation pour donner des composés du cycle rTCA grâce à un semi-conducteur colloïdal ZnS sous irradiation UV ont été reportées.^{191, 192, 193}

¹⁹⁰ Tanaka, K.; Mastui, T.; Tanaka, T. Catalytic Formation of keto Acids by artificial CO_2 Fixation. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3767-3769.

¹⁹¹ Martin, S. T.; Zhang, X. V. Driving parts of Krebs cycle in reverse through mineral photochemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16032–16033.

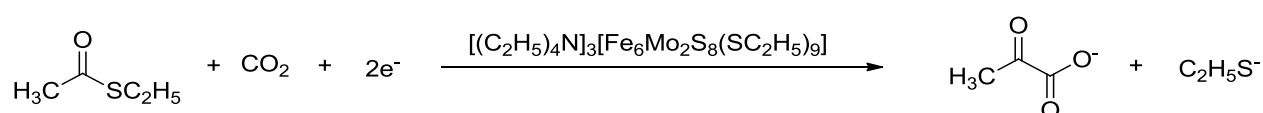
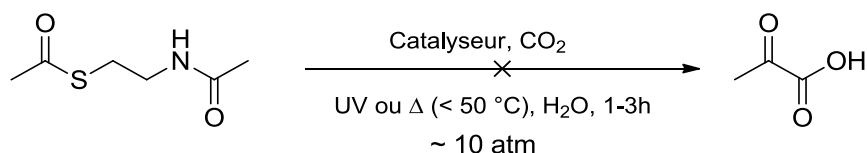


Schéma III-12: Fixation artificielle du CO₂ pour former des cétoacides

Résultats

III.2.2 Carboxylation réductrice non enzymatique

Pour notre part nous essayons de reproduire ces étapes de carboxylation du cycle de Krebs inverse. Nos essais préliminaires de carboxylation réductrice d'un thioester pour former l'acide pyruvique ont été effectués en présence des composés minéraux simples FeS₂, ZnS et MnCO₃ sous irradiations UV ou en chauffant le milieu réactionnel à une température qui ne dépasse pas 50°C (*Schéma III-13*). Dans aucun des trois cas le pyruvate n'a été détecté. Nous n'avons observé que les produits d'hydrolyse du thioester. De telles études devront être reprises au laboratoire en visant à utiliser des pressions élevées en CO₂.



Catalyseur: FeS₂, ZnS ou MnCO₃

Schéma III-13: Essais de carboxylation réductrice non enzymatique pour produire le pyruvate

¹⁹² Martin, S. T.; Guzman, M. I. Prebiotic metabolism: production by mineral photo-electrochemistry of a-ketocarboxylic acids in the reductive tricarboxylic acid cycle. *Astrobiology*, **2009**, 9, 833-842.

¹⁹³ Martin, S. T.; Guzman, M. I. Photo-production of lactate from glyoxylate: How minerals can facilitate energy storage in a prebiotic world. *Chem Commun (Camb)*. **2010**, 46, 2265-7.

Comme ces résultats ne sont pas convaincants, notre stratégie alternative consiste à reproduire la réaction de décarboxylation oxydative dans le sens inverse (*Figure III-3*). Cette voie nécessite des hétérocycles aromatiques, nous parlons ici du noyau thiazole de la thiamine, comme cela est mentionné dans l'introduction (*pages 58*). Une question préalable à toute étude est : de tels hétérocycles existaient-ils sur la terre primitive ?

Pour notre étude d'une éventuelle carboxylation réductrice prébiotique, l'idée est donc de tenter d'acétyler une forme tronquée de thiamine (**a**), par exemple le méthylthiazolium, de carboxyler la cétone obtenue (**b et c**) puis de libérer le pyruvate (**d**). Dans ce but, nous avons d'abord cherché à obtenir le thiazole, et certains de ses dérivés et analogues, dans des conditions plausiblement prébiotiques (*Figure III-19*).

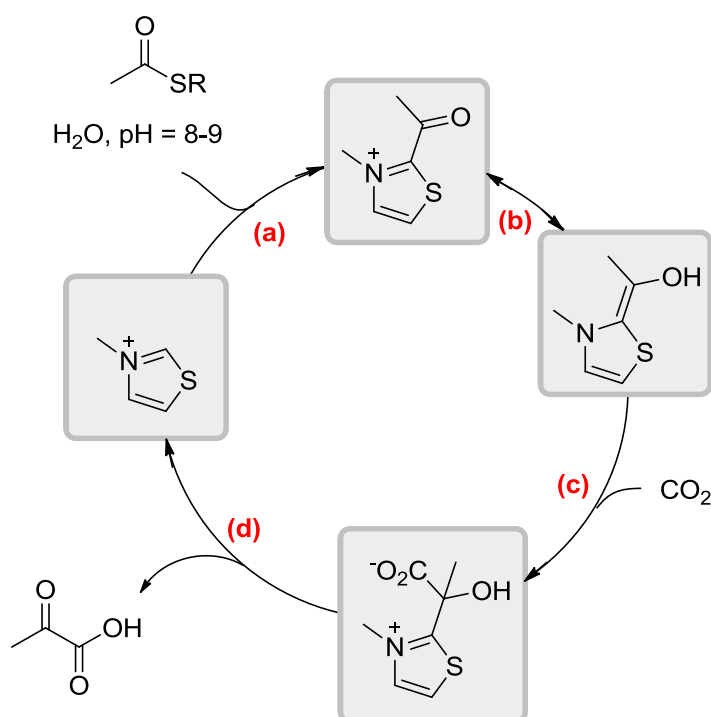


Figure III-19 : Stratégie proposée pour la carboxylation réductrice non enzymatique dans des conditions prébiotiques

III.2.2 Analogues du cofacteur du pyruvate déshydrogénase : cycles hétéroaromatiques

A. La cystéine comme source des deux carbones et des deux hétéroatomes S et N.

Notre première stratégie consistait à synthétiser des hétérocycles saturés puis à les aromatiser. Le composé doublement carboxylé **28**, l'acide 2,4-thiazolidine dicarboxylique, a été facilement produit (*Schéma III-14 et Figure III-20*)¹⁹⁴, mais tous nos efforts pour faire une double décarboxylation de cet intermédiaire se sont avérés infructueux. La présence du produit **28** a été détectée par spectrométrie de masse [M-H] calculée : 176.00230 ; trouvée : 176.00233.

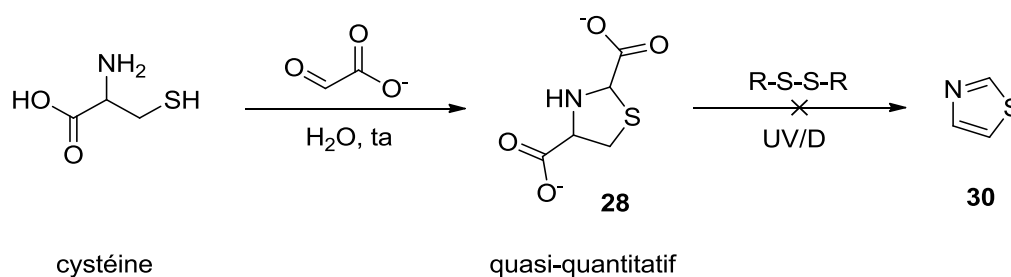


Schéma III-14 : Essai de synthèse du thiazole à partir de la cystéine et glyoxylate

¹⁹⁴ Feng, L *et al.* N-Heterocyclic dicarboxylic acids: Broad-spectrum inhibitors of metallo- β -lactamases with co-antibacterial effect against antibiotic-resistant bacteria. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 5185-5189.

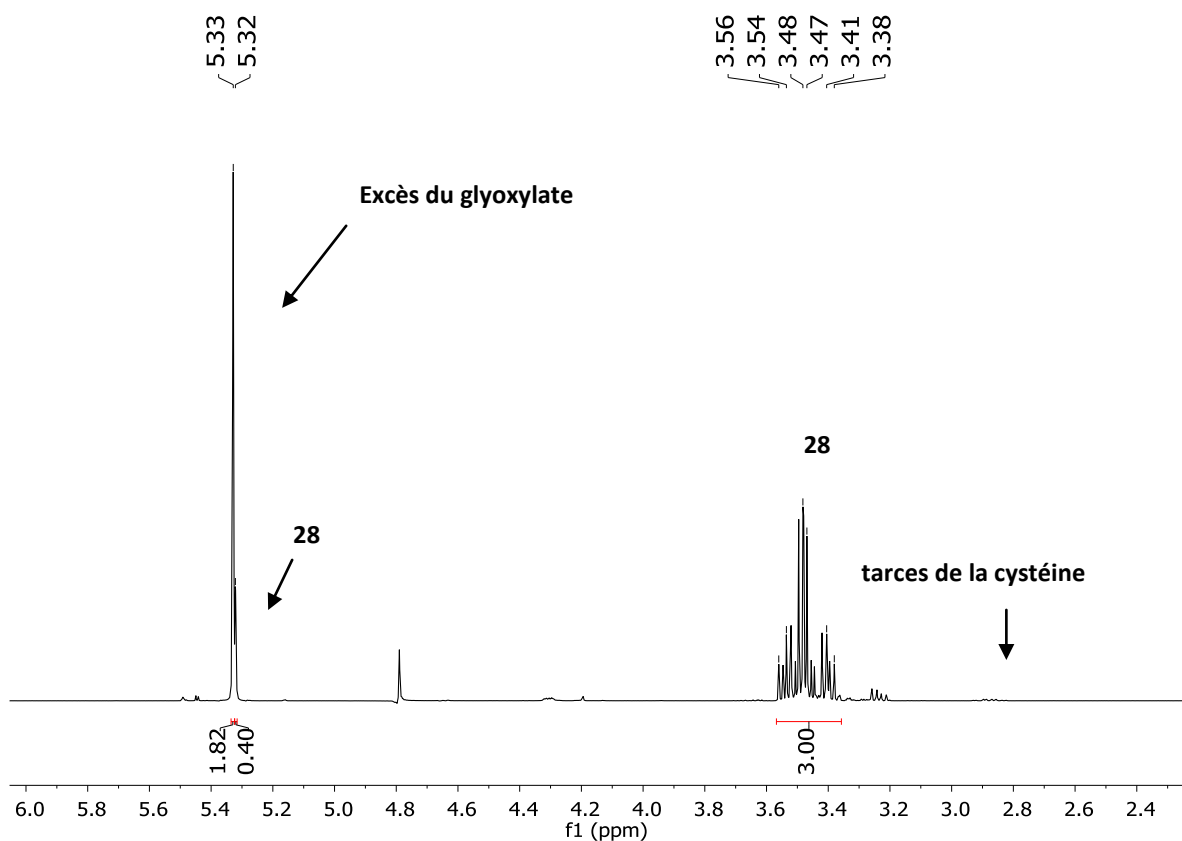


Figure III-20 : RMN ^1H de la réaction de synthèse du thiazole à partir de la cystéine et glyoxylate

Dans une deuxième tentative, nous avons remplacé le glyoxylate comme source du carbone C_2 , par du formaldéhyde (Schéma III-15). La réaction fournit l'hétérocycle saturé **29**, l'acide thiazolidine-4-carboxylique, sans difficulté ($[\text{M}+\text{H}]$ calculée : 134.02703; trouvée : 134.02688).¹⁹⁵ Mais, nous ne sommes pas parvenus à réaliser la décarboxylation et l'aromatisation.

¹⁹⁵ PELLEGRINI, N *et al.* New dipeptides containing thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives: synthesis and characterization using NMR techniques and X-ray data. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 950-955.

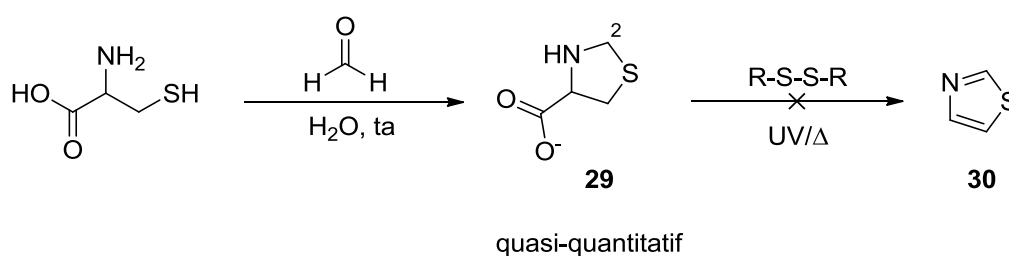


Schéma III-15 : Essai de synthèse de thiazole à partir de la cystéine et formaldéhyde

La même voie a été testé à partir du 2-aminoéthane-1-thiol (la cystamine), sans plus de succès. Comme notre objectif est d'obtenir des hétérocycles aromatiques qui pourraient imiter l'activité de la thiamine, nous avons dû étudier d'autres voies.

B. Le glyoxal comme source de deux carbones

Lorsque nous avons mis en réaction du glyoxal, du formaldéhyde, de l'ammoniaque et du NaSH nous n'avons observé que la formation de l'imidazole (*Schéma III-16*). Le thiazole n'a pas été détecté, l'anion HS⁻ ne réagit pas. Bien sûr, quand la même réaction a été répétée sans H₂S l'imidazole a aussi été obtenu.¹⁹⁶ Dans ces deux cas, la conversion en **31** est d'environ 20%.

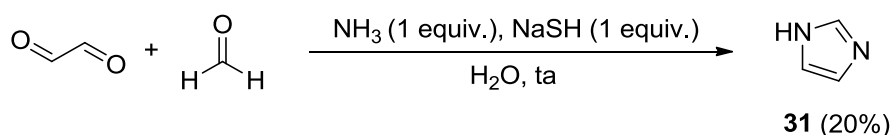


Schéma III-16 : Essai de synthèse des hétérocycles à partir du glyoxal et formaldéhyde

¹⁹⁶ Zhang, D.; Ma, Z.; Zheng, X. Synthesis of imidazole-based medicinal molecules utilizing the van leusen imidazole synthesis. *Pharmaceuticals*, **2020**, *13*, 37.

Par ailleurs, lorsque le glyoxylate a été utilisé (à la place du formaldéhyde) nous avons aussi obtenu l'imidazole **31**, ce qui implique que l'intermédiaire carboxylé a perdu son CO_2 (*Schéma III-17*).

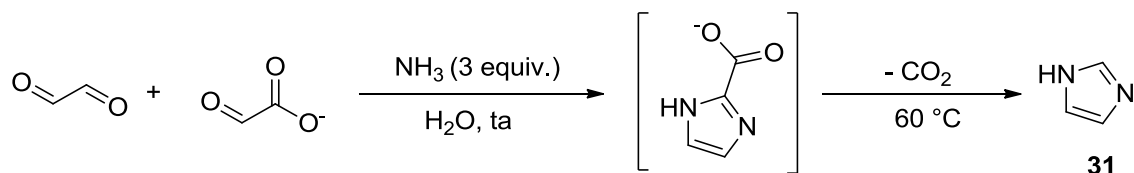


Schéma III-17 : Essais de synthèse des hétérocycles à partir du glyoxal et glyoxylate

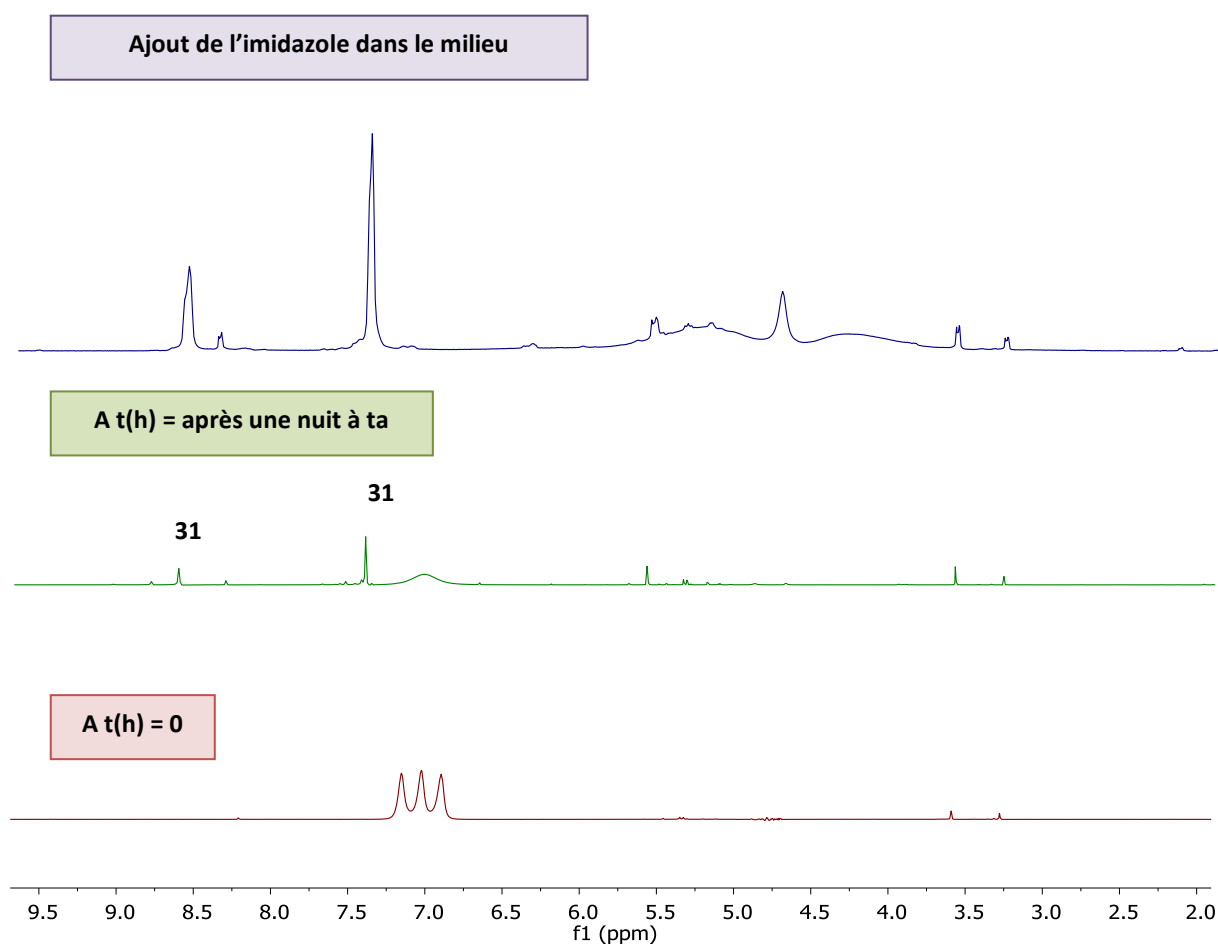


Figure III-21 : Spectre RMN ^1H de la réaction de synthèse des hétérocycles à partir du glyoxal et glyoxylate

En utilisant la méthylamine (à la place de NH_3) nous avons observé la formation du diméthyle imidazolium **32** (*Schéma III-18*).

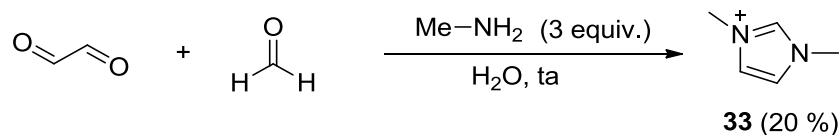


Schéma III-18: Essai de synthèse de diméthyle imidazolium à partir de glyoxal et glyoxylate

De plus, lorsque le formaldéhyde a été remplacé par le glyoxylate (*Schéma III-19*), le produit carboxylé **32** s'est formé à température ambiante. Lorsqu'il est chauffé à 70°C , il se décarboxyle et **33** est le produit final.

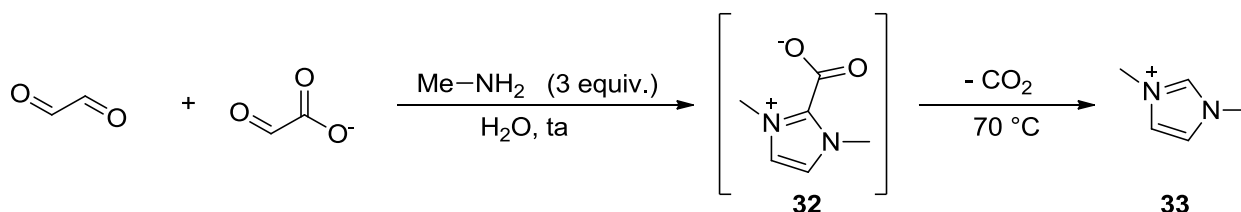
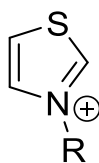


Schéma III-19: Essai de synthèse de diméthyle imidazolium carboxylé

Le composé **33** est stable dans l'eau même en conditions fortement basiques. L'hydrogène au carbone 2 est légèrement acide. Même si son pK_a est nettement supérieur à celui des thiazoliums¹⁹⁷, il peut être considéré comme un candidat à une activité nucléophile dans un proto-cycle rTCA.

¹⁹⁷ Amyes, T. L.; Richard, J. P. Substituent effects on carbon acidity in aqueous solution and at enzyme active sites. *Synlett*, **2017**, 28, doi: 10.1055/s-0036-1588778.



Thazoliums

C. Synthèse du thiazole en employant le thiocyanate d'ammonium

Les réactions avec NaSH pour synthétiser un hétérocyclique contenant du soufre n'ont donné que des hétérocycles azotés. Nous avons alors recherché une autre source de soufre nucléophile. Des résultats encourageants ont été obtenus avec le thiocyanate d'ammonium (*Schéma III-20*).¹⁹⁸ L'imidazole reste le produit majoritaire, mais du thiazole se forme. A condition que l'anion thiocyanate ait existé dans l'océan primitif (ce qui est possible puisqu'il est facilement obtenu par la réaction de l'anion cyanure avec le soufre élémentaire)^{199,200}, nous avons là une synthèse potentiellement prébiotique de cet hétérocycle.

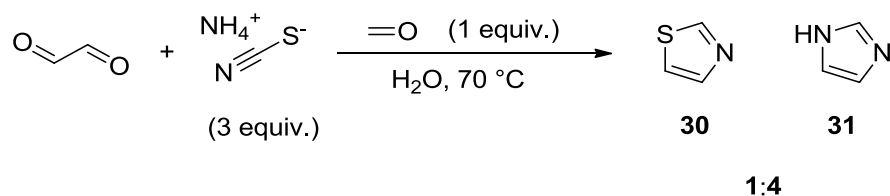


Schéma III-20: Synthèse du thiazole en conditions prébiotiques

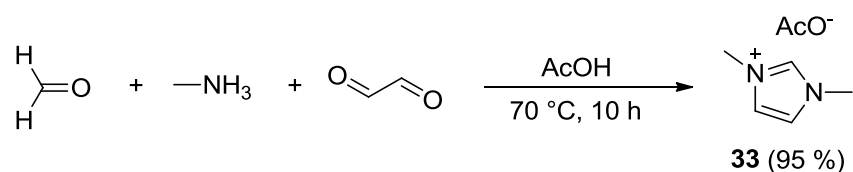
¹⁹⁸ Lunkad, A.S *et al.* Synthesis and screening anthelmintic activity of some thiazole derivatives. *Int. J. Chem. Sci.* **2013**, *11*, 1146-1152.

¹⁹⁹ Bartlett, P.D.; Davis, R.E. Reactions of elemental sulfur. II. The reaction of alkali cyanides with sulfur, and some single-sulfur transfer reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2513–2516.

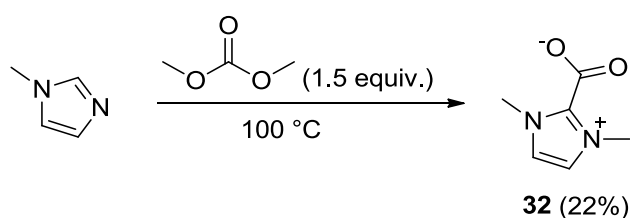
²⁰⁰ Samulewski, R. B *et al.* Magnetite synthesis in the presence of cyanide or thiocyanate under prebiotic chemistry conditions. *Life*, **2020**, *10*, 34; doi:10.3390/life10040034.

D. Synthèse et stabilité dans l'eau d'hétérocycles aromatiques à cinq chaînons

Nous avons alors décidé de réaliser des synthèses « classiques » (non-prébiotiques) de certains de nos précurseurs et de tester leur stabilité dans l'eau, en particulier l'eau basique. L'acétate de diméthyle imidazolium **33** a été obtenu par réaction de formaldéhyde, méthylamine et glyoxal avec un rendement de 95%.²⁰¹ Ce produit s'est avéré stable à pH = 12 (*Schéma III-21*).

*Schéma III-21: Synthèse de l'acétate de diméthyl-imidazolium*

Nous avons obtenu l'imidazolium carboxylé **32** grâce à la réaction du carbonate de diméthyle avec l'imidazole méthylé (*Schéma III-22*). Même à 100°C, il ne se décarboxyle pas.²⁰²

*Schéma III-22: Synthèse de diméthyl-imidazolium carboxylé*

²⁰¹ Gurau, G *et al.* Chlorine-free alternatives to the synthesis of ionic liquids for biomass processing. *Pure Appl. Chem.* **2012**, *84*, 745–754.

²⁰² Derek, M. D.; Thum, M. D.; Falvey, D. E. Photochemical reduction of CO₂ using 1,3-dimethylimidazolylidene. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4152–4155.

Le thiazole est totalement transformé en méthyle thiazolium par traitement avec l'iodométhane.²⁰³ Ce thiazolium ne résiste pas à pH 12 : le cycle s'ouvre pour donner deux isomères *E* et *Z* de la forme ouverte. Toutefois une acidification permet alors de revenir à l'hétérocyclique (*Schéma III-23*).

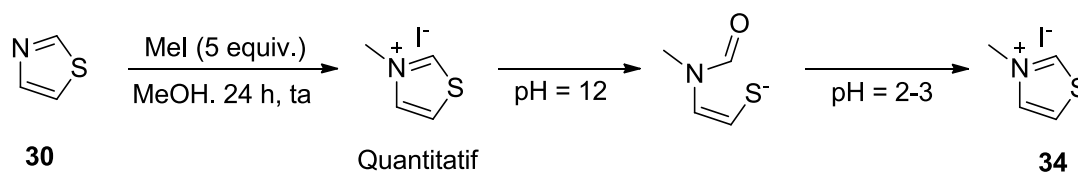


Schéma III-23: Synthèse et stabilité du méthylthiazolium

E. Réactivité des hétérocycles aromatiques à cinq membres

Ayant accès à quelques hétérocycles aromatiques, nous avons testé leur éventuelle condensation avec des électrophiles. Ainsi, le méthyle thiazolium **34** se condense avec le glyoxylate et le pyruvate à un pH compris entre 8 et 9 (*Schéma III-24*).

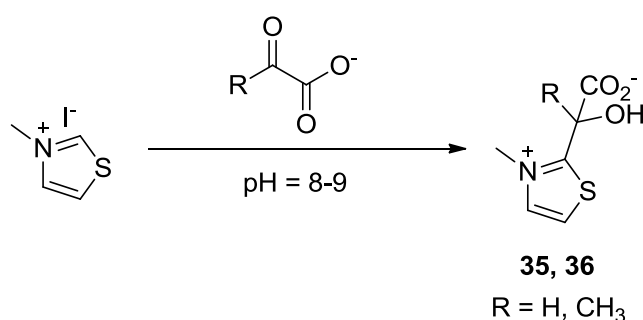


Schéma III-24: Condensation du méthylthiazolium sur le glyoxylate et le pyruvate

²⁰³ Paraknowitsch, J. P.; Wienert, B.; Zhang, Y.; Thomas, A. intrinsically Sulfur- and Nitrogen-Co-doped Carbons from Thiazolium Salts. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 15416 – 15423

La condensation de l'acétate de diméthyle imidazolium avec le glyoxylate a été obtenue à pH 12. Même si nous ne **sommes** pas parvenus à isoler et purifier le produit, le plus important pour nous est d'avoir confirmé que la condensation en C₂ est possible (*Schéma III-25*).

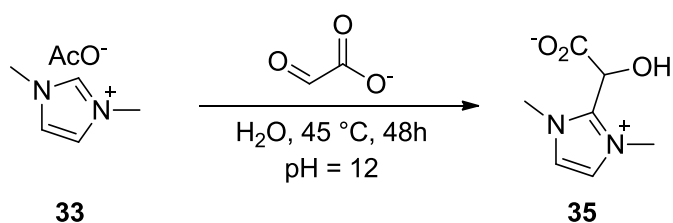


Schéma III-25: Condensation de diméthyl-imidazolium sur le glyoxylate

Entry	Glyoxylate (equiv.)	35 (%)
1	0.5	30%
2	1.0	50%
3	5.0	63%

Tableau 9: Conditions de condensation de diméthyl-imidazolium sur le glyoxylate

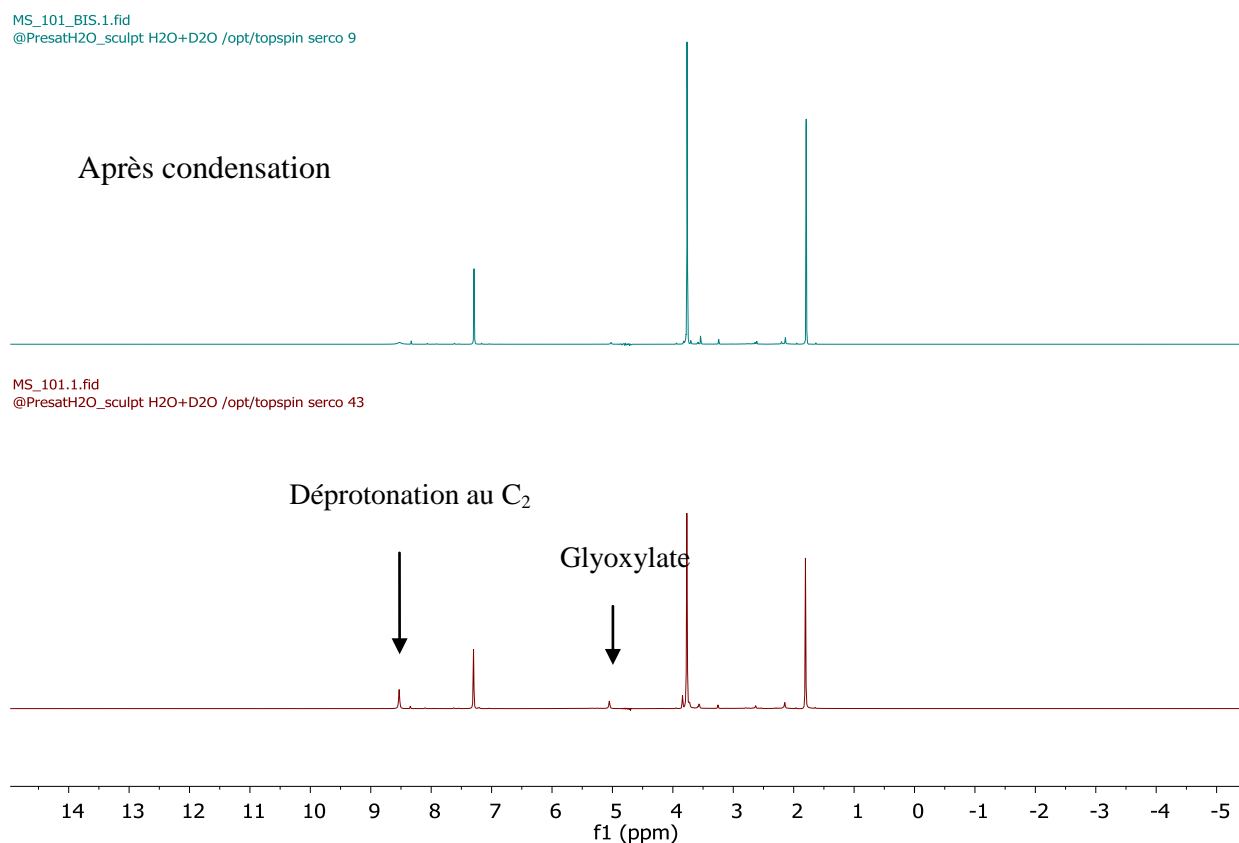


Figure III-22 : Spectre RMN ¹H de la réaction de condensation du méthylthiazolium sur le glyoxylate et le pyruvate

Nous avons également tenté de condenser l'acétate de diméthyl-imidazolium **33** avec le thioester **12**, mais le seul produit que nous avons alors pu détecter est le thiol issu de l'hydrolyse de **12**. Avec le pyruvate, le seul produit observé est l'acide zymonique, le produit issu de l'aldolisation du pyruvate. Aucune réaction avec le formaldéhyde ne s'est produite, à température ambiante ou à 45 °C (*Schéma III-26*).

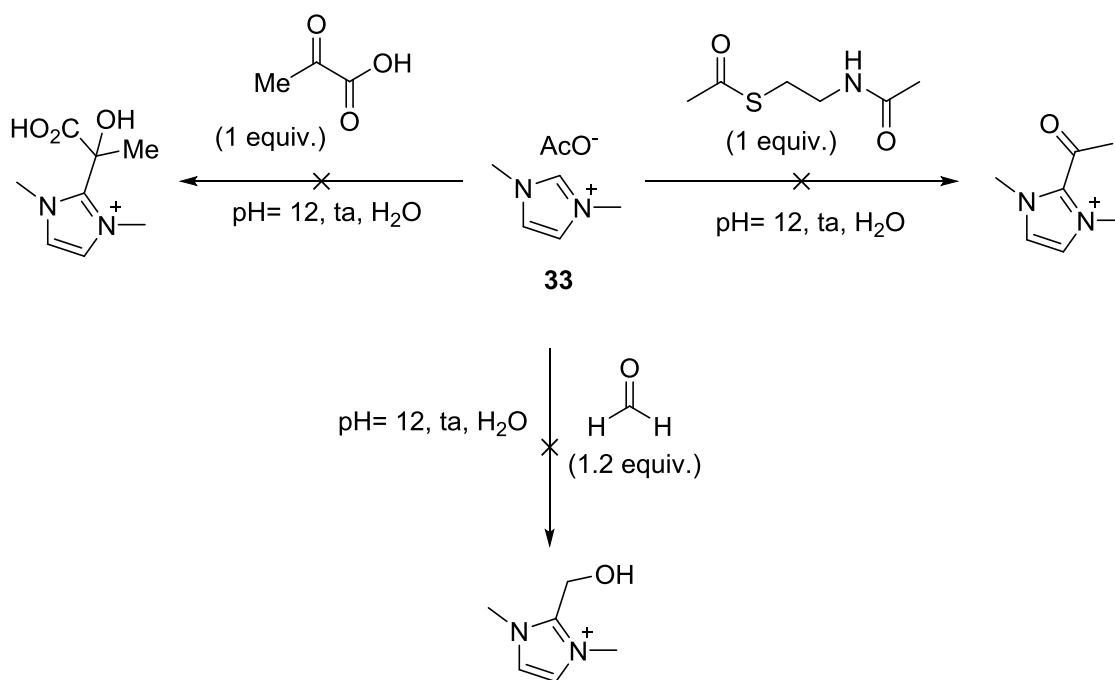


Schéma III-26: Essais de condensation de diméthyl imidazolium avec le pyruvate, thioester, et formaldéhyde

Enfin, nous avons testé la condensation de la thiamine avec le thioester **12** (*Schéma III-27*). Le produit de condensation a été détecté par RMN ¹H avec une conversion de **37** (13%) (Calculer à partir de la thiamine) après 2 jours à température ambiante. La présence du produit a également été confirmée par spectrométrie de masse [M+H] calculée : 307.12245 ; trouvé : 307.12179. Reste que là aussi, nous n'avons pas réussi à le purifier.

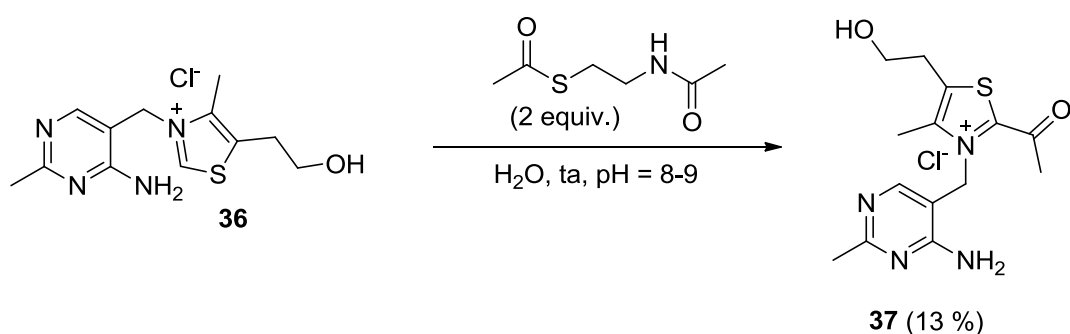


Schéma III-27: Condensation de la thiamine sur le thioester 9

Ces études sur les hétérocycles, dont les thiazoliums, pourront être reprises au laboratoire. Mais elles ne peuvent avoir existé sur la terre primitive qu'à un moment où une chimie organique relativement complexe s'était déjà mise en place. Elles nous semblent donc moins essentielles que des réactions directes $\text{CO}_2 + \text{thioester}$.

Comme nous l'avons indiqué au début de ce chapitre, ces résultats préliminaires devront être précisés et complétés par des études ultérieures.

Si il semble raisonnable d'imaginer que des « thiamines simplifiées » ait existé tôt dans l'océan primitif, il est probable que les premiers catalyseurs des carboxylations réductrices des thioesters ait été des minéraux. Pour l'instant, force est de constater, que c'est un problème plus ardu que celui de la décarboxylation oxydative !

Chapitre III-Annexe : Les cétoacides comme intermédiaires dans la synthèse des acides aminés

Le rôle des intermédiaires du cycle de Krebs (et du cycle inverse) dans la formation des acides aminés a été mis en évidence dans les réactions d'amination réductrice, étudiée par différents groupes de recherche. L'équipe de Moran a utilisé l'hydrazine, un produit de la réduction de N_2 ,²⁰⁴ comme source d'azote en présence d'un agent de réduction tel que Fe^0 ou Ni^0 . Par ce moyen, l'acide pyruvique a été transformé en alanine (*Schéma III-28*).¹⁴⁴

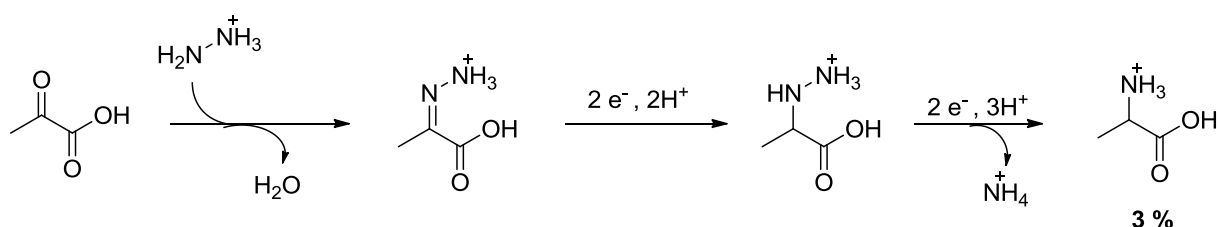


Schéma III-28: Synthèse de l'alanine selon la méthode de l'équipe de Moran.

Il est toutefois possible d'obtenir les aminoacides à partir des α -cétoacides directement par traitement à ammoniac dans l'eau.^{205,206} Parmi les résultats déjà publiés dans la littérature, nous avons décidé de tester celles de l'équipe d'Egami.²⁰⁷

²⁰⁴ Dietl A, *et al.* The inner workings of the hydrazine synthase multiprotein complex. *Nature*. **2015**, 527, 394–397.

²⁰⁵ Huber C, Wächtershäuser G. Primordial reductive amination revisited. *Tetrahedron Lett*. **2003**, 44, 1695–1697.

²⁰⁶ Wang W, *et al.* Photocatalytic reversible amination of α -keto acids on a ZnS surface: implications for the prebiotic metabolism. *Chem Commun*. **2012**, 48, 2146-2148.

Selon leur méthode, nous avons obtenu l'alanine avec un rendement de 14 % après une nuit à 80 °C (*Schéma III-29*). La formation de ce produit à partir de l'acide pyruvique se fait via la *N*-acétyl alanine comme intermédiaire de la réaction.

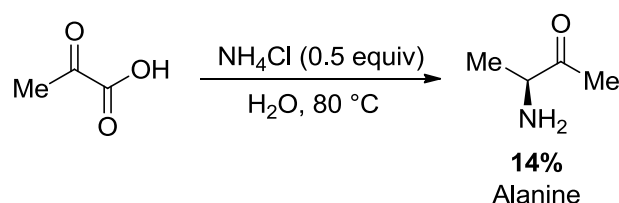


Schéma III-29 : Synthèse de l'alanine selon la méthode d'Egami

D'autres α -cétoacides ont été testés dans les mêmes conditions d'amination réductrice. En partant de l'acide glyoxylique, la glycine a été obtenue ainsi que l'intermédiaire *N*-formyle glycine (qui n'a donc pas subi une hydrolyse complète aboutissant à l'acide aminé) (*Schéma III-30*). Comme le *N*-formyle glycine est un des métabolites de la synthèse des bases puriques, cette méthode d'amination réductrice peut être adoptée dans la synthèse des bases nucléiques en conditions prébiotiques.

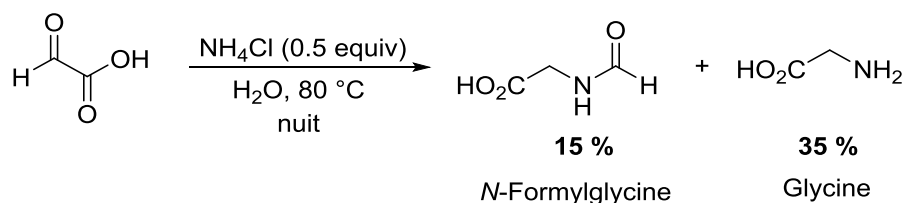


Schéma III-30 : Essai de synthèse de la glycine selon la méthode d'Egami

²⁰⁷ Yanagawa, H., Makino, Y., Sato, K., Nishizawa, Masato. & Egami, F. Novel formation of α -amino acids from α -oxoacids and ammonia in an aqueous medium. *Origins of life*. **1984**, *14*, 163-169.

Par la même méthode, l'acide glutamique a été obtenu à partir de l'acide α -céto glutarique. Le succinate est également obtenu comme produit d'hydrolyse de l'intermédiaire *N*-succinylglutamate (*Schéma III-31*).

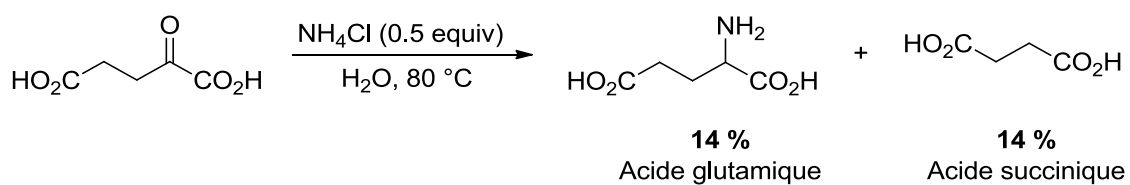


Schéma III-31: Essai de synthèse du glutamate selon la méthode d'Egami

Conclusion

Dans nos recherches sur l'origine du métabolisme cellulaire, nous nous sommes focalisés sur le cycle de krebs et son inverse, qui sont parmi les voies métaboliques les plus importantes dans la synthèse/dégradation de la matière organique et les échanges d'énergie au sein des organismes. Cette importance fait de ces cycles des candidats plausibles pour être parmi les composants du protométabolisme à l'origine de la vie. Ces recherches soutiennent donc l'hypothèse du « métabolisme d'abord », une proposition alternative à l'hypothèse du « monde d'ARN », car les intermédiaires réactionnels du cycle de krebs et son inverse sont utilisés pour la synthèse des acides nucléiques ARN et ADN.

Nous proposons que dans un milieu primitif où des molécules simples organique d'origines différentes ont été fournies et toutes les conditions environnementales ont été favorables, un réseau auto-catalytique de réactions chimique simples s'est mis en place et a pris de l'ampleur au cours de l'évolution avec la synthèse ou l'apport de nouvelles molécules plus complexes.

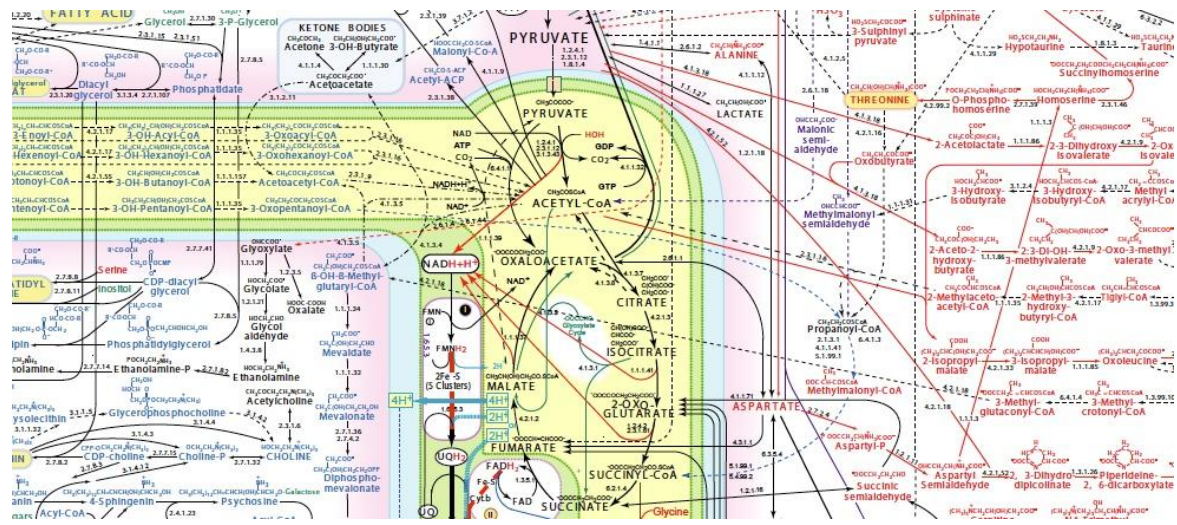


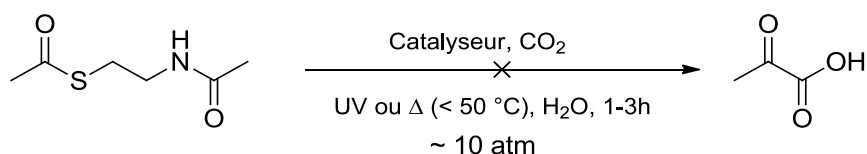
Figure 41 : Cycle de Krebs dans le métabolisme cellulaire (extrait d'un document Sigma Life Science)

Conclusion

Nos travaux pour déterminer la composition du protométabolisme se basent sur l'observation du métabolisme cellulaire actuel et de la biologie d'aujourd'hui. En suivant cette stratégie, nous pouvons conclure que les thioesters, les diacides-1,4 et les triacides ont été sélectionnés et intégrés dans ce protométabolisme pour des raisons que nous essayons d'expliquer et défendre dans cette thèse.

Dans les milieux dépourvus du dioxygène le cycle de Krebs inverse transforme le CO_2 en matière organique tout en conservant l'énergie du milieu pour d'autres synthèses. Ce processus semble convenir parfaitement au milieu prébiotique réducteur et riche en CO_2 . Les thioesters jouent un rôle dans cette transformation car ils sont les substrats sur lesquels le CO_2 est fixé. Nous proposons dans cette thèse une synthèse alternative des thioesters qui ne s'appuie pas sur l'utilisation de l'ATP comme c'est le cas dans le métabolisme d'aujourd'hui. Cette voie de synthèse est basée sur les anhydrides qui sont les formes activées de diacides, ce qui peut donc expliquer la présence de ces acides dans le métabolisme actuel.

Nous avons donc proposé un modèle du cycle de Krebs inverse, dont les étapes clés sont la carboxylation réductrice, carboxylation neutre, réduction, déshydratation en anhydride, suivie par une ouverture par un thiol et enfin une réaction de rétroaldolisation (*Figure III-1*). Nous avons réussi à produire les anhydrides de l'acide succinique, l'acide malique et l'acide citrique ainsi que certaines des étapes de rétroaldolisation. Nos essais de la carboxylation réductrice en présence de catalyseurs inorganiques n'ont pas abouti, pour l'instant, à des résultats encourageants.



Catalyseur: FeS_2 , ZnS ou MnCO_3

Schéma III-13: Essais de carboxylation réductrice non enzymatique pour produire le pyruvate

Conclusion

La deuxième stratégie que nous avons adoptée consiste à reproduire la carboxylation réductrice selon le mécanisme d'action du complexe enzymatique du pyruvate déshydrogénase mais dans le sens inverse. Pour le moment nos expériences nous ont permis de préparer et prouver la présence des hétérocycles en particulier le thiazole dans le milieu prébiotique.

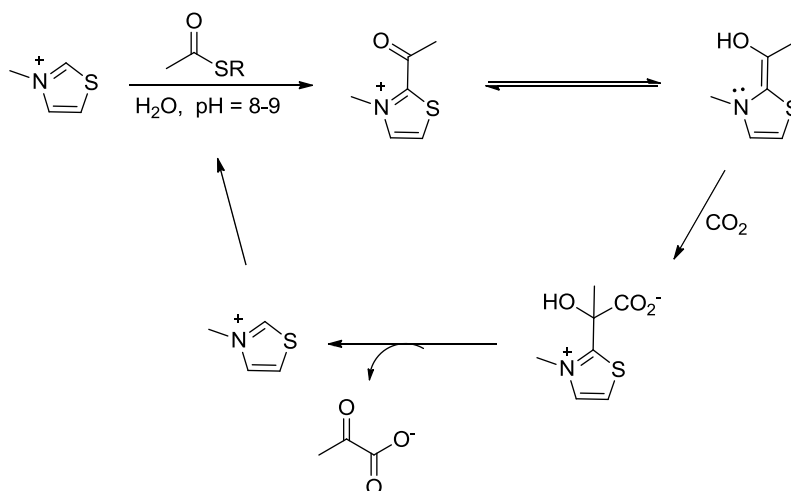


Figure 42 : Notre stratégie de carboxylation réductrice in vitro basée sur l'utilisation du méthylthiazolium

Pour la partie catabolique du protométabolisme représentée dans cette thèse par le cycle de Krebs, nous sommes parvenus à reproduire l'étape de décarboxylation oxydative du pyruvate dans des conditions plausiblement prébiotiques.

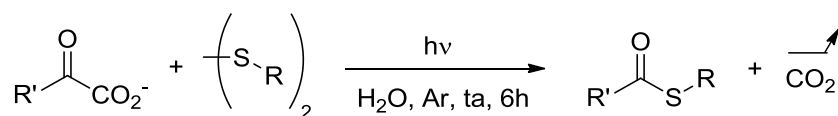


Figure 43 : Stratégie de synthèse des thioesters par décarboxylation oxydative des cétoacides

Conclusion

Les oxydants utilisés dans les réactions oxydatives sont des disulfures que nous avons préparés par une méthode de synthèse non-oxydative compatible avec l'environnement prébiotique.

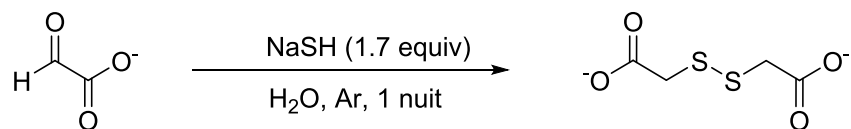


Figure 44 : synthèse des disulfures dans des conditions prébiotiques

Perspectives

Dans cette thèse nous avons obtenu des résultats sur la formation des anhydrides des diacides dans un cadre prébiotique, toutefois nos expériences devront être reprises pour aboutir à des résultats vraiment conclusifs, notamment dans le cas de l'acide citrique.

La réactivité des hétérocycles préparés **32**, **33** et **34** dans des réactions de condensation avec des donneurs d'acyle (thioester, pyruvate ...) a été étudiée et a parfois donnée le produit souhaité, comme c'est le cas avec les composés **35** et **36**. Ces derniers peuvent être utilisés donc dans des réactions de carboxylation réductrice dont les conditions expérimentales restent à élaborer. Le manque du matériel adéquat pour reproduire ces réactions dans une atmosphère riche en CO₂ sous une pression élevée nous a empêchés de finir et achever notre étude. Pour nos essais préliminaires sur la carboxylation réductrice, nous nous sommes limités à une pression d'environ 10 atm, ce qui n'est sans doute pas suffisant pour obtenir la condensation de CO₂ sur nos substrats.



Concernant le cycle de Krebs, des expériences ont été entamées dans le but d'effectuer les différentes parties (synthèse des disulfures, décarboxylation oxydative et les étapes restantes du cycle de Krebs, réduction et déshydratation...) dans un seul pot en permettant ainsi

d'aboutir aux différents métabolites et d'imiter le plus précisément possible un scénario primitif.

Au cours de mes 3 ans de thèse nous avons également travaillé sur la synthèse prébiotique des acides gras en utilisant les intermédiaires du cycle du Krebs. En raison des contraintes du temps, nous n'avons pas pu approfondir cette étude. L'équipe envisage de poursuivre ces travaux, ainsi que ceux mentionnés ci-dessus, pour compléter nos propositions sur le protométabolisme.

J'ai aussi travaillé sur une synthèse prébiotique de la cystéine par transamination (*Figure 45*). Même si nous avons obtenu des complexes intermédiaires intéressants (comme le complexe sérine-acide pyruvique-zinc dont une structure RX est présentée ci-dessous : *Figure 46 et 47*), nous n'avons pas pu former l'acide aminé sulfuré. Ces travaux devront être repris et poursuivis.

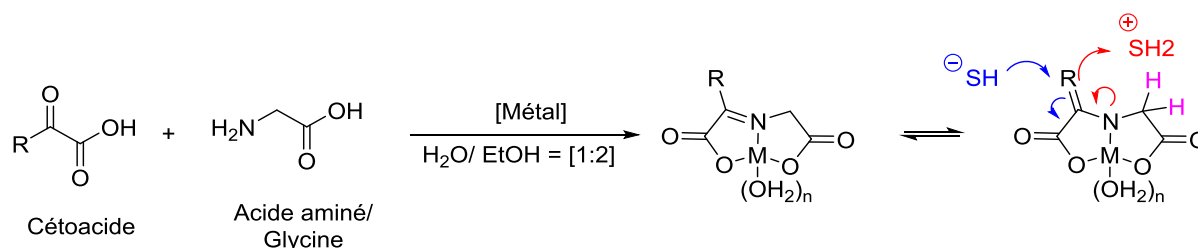


Figure 45 : stratégie pour la synthèse des acides aminés sulfurés par transamination

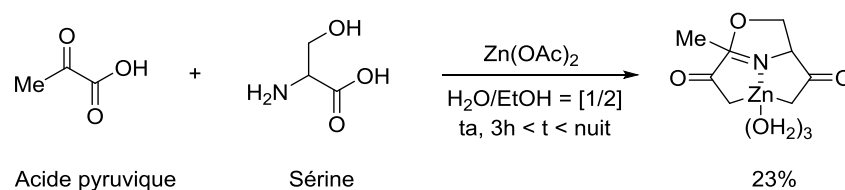


Figure 46 : Exemple de synthèse des acides aminés sulfurés par transamination

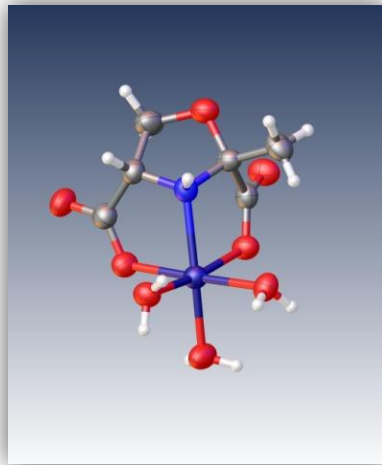


Figure 47 : Structure X-ray (monomère) du complexe sérine-acide pyruvique-zinc

General experimental methods

Reactions were carried out under an inert atmosphere of argon and unless otherwise stated, all reagents used are commercially available and no further purification was done on them. The UV irradiations of the reaction mixtures for the oxidative decarboxylation were carried out using a "Hanau TG 150 High-pressure mercury arc lamp". The reactions were generally run in Pyrex NMR tubes (transparent from 320 nm), but no significant difference was noted with tests performed in UV quartz cells.

Thin layer **chromatography** (TLC) was performed on plates of silica pre-coated with (diameter and sources like with 0.25 mm Kieselgel 60 F254 from Merck). The plates were revealed under ultraviolet light ($\lambda = 254$ nm), potassium permanganate (KMnO₄) in basic medium was used as developer. Flash chromatography was performed using silica gel (Geduran® Si 60 (0.063-0.200 mm) from Merck and Prolabo® silicagel (40-63 μ m) from VWR CHEMICALS). Furthermore, because prebiotic chemistry does not pay too much attention to absolute synthesis and purification, rather presence of interested molecules are studied; almost experiments reported here are for reference purposes and reactivity studies.

NMR spectra were recorded on Bruker AV 400 or AV 500, spectrometer at 400 MHz or 500 MHz for ¹H NMR, at 100 or 125 MHz for ¹³C NMR, at 162 MHz for ³¹P NMR. Coupling constant (J) were reported in Hertz. ¹H and ¹³C {¹H} NMR chemical shifts are given in ppm (δ) relative to SiMe₄, all reactions are in water as solvent unless otherwise indicated.

¹H-NMR spectra are reported as following: chemical shift (ppm), multiplicity (s: singlet; d: doublet; dd: doublet of doublets; t: triplet; m: multiplet), coupling constants (Hz) and integration. Proton and carbon signal assignments were established using COSY experiments.

High-resolution **mass spectra** (HRMS) were recorded on a Waters G2-S Q-TOF mass spectrometer and LTQ Orbitrap XL (Thermo Scientific). MS/MS experiments: Low-resolution ESI analysis was performed on amazon speed (Bruker Daltonics) - IonTrap Spectrometer.

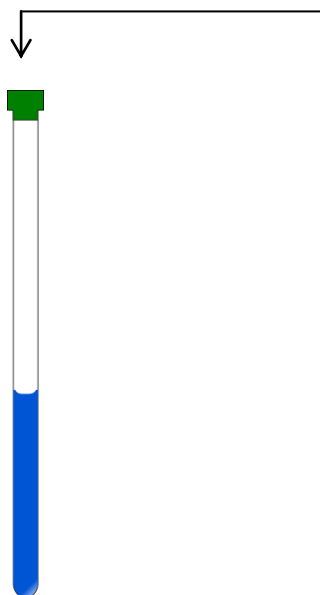
Experimental part

EPR spectra were obtained using an X-band Bruker EMX Plus spectrometer and fitted with the EasySpin simulation package.²⁰⁸

²⁰⁸ Stoll, S.; Schweiger, A. EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. *J. Magn. Reson.* **2006**, *178*, 42-55.

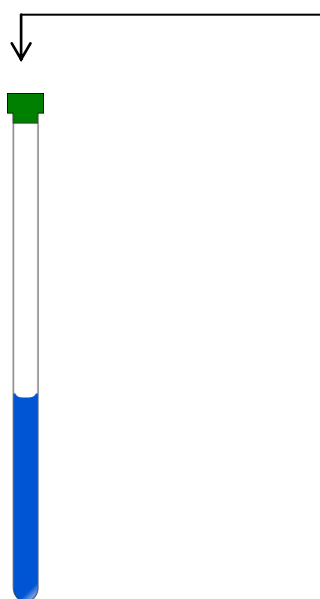
Chapter I

- Synthesis of a first disulfide in a prebiotic world



- Under inert atmosphere
- (10 mg, 0.135 mmol) Glyoxylate
- (1, 7 equiv) NaSH
- 0.7 mL of degassed H₂O
- ➔ Heat overnight at 70 ° C
- ➔ NMR (H₂O/D₂O : 9/1)

- Thiol-disulfide exchange reaction



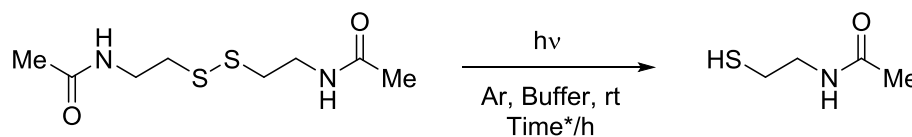
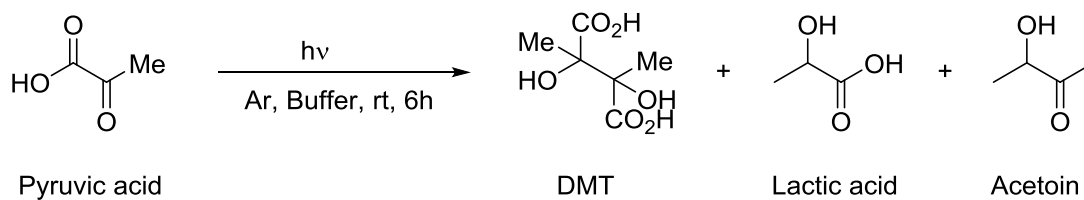
- Under inert atmosphere
- (10 mg, 0.055 mmol) Dithioglycolic acid **1**
- (1 equiv) thiol
- 0.7 mL of degassed H₂O
- ➔ Follow reactions at rt
- ➔ NMR (H₂O/D₂O : 9/1)

Chapter II

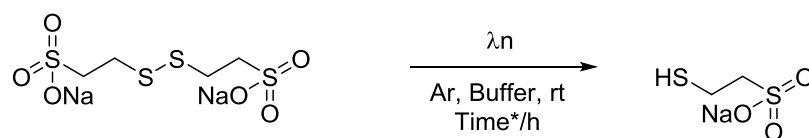


Figure II-16: lampe « Hanau TG 150 High-pressure mercury arc lamp »

- Behavior of the starting products under UV:



Thiol appearance after 4 hours; Max = 7h; thiols = 7%



Thiol appearance after 1 hours ; Max = 7h; thiols = 9%

Experimental part

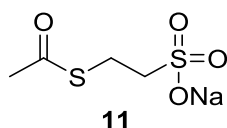
- Procedure for the oxidative decarboxylation of pyruvic acid:

In an NMR tube, the disulfide (0.03 mmol) was introduced, with pyruvic acid (0.09 mmol). Under argon 0.7 mL of degassed water was added and then the NMR tube was properly closed and exposed to UV irradiation (the tube is in parallel with the lamp). After 6 hours of irradiation, 0.1 mL of D₂O was added to the reaction mixture in order to take the NMR and mass analyzes.

- Procedure for the thioester synthesis (A):

In a round-bottom flask equipped with a stir-bar, we introduce the thiol (3.0 mmol) under argon, followed by the addition of pyridine (6.6 mmol) then acetic anhydride (15.0 mmol). The reaction was heated at 70 °C overnight.

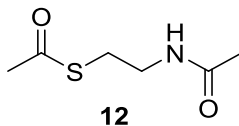
Sodium 2-(acetylsulfanyl)ethane-1-sulfonate (11)



Prepared from sodium 2-mercaptoethanesulfonate according to procedure (A) after evaporation of the crude under vacuum. A white solid was obtained (quantitative yield). ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ (ppm) 3.26-3.22 (t, 2H), 3.14-3.18 (t, 2H), 2.41 (s, 3H, CH₃). ¹³C-NMR (100 MHz, D₂O) δ (ppm) 201.9 (SC=O), 54.5 (SO₃-CH₂), 31.5 (S-CH₂), 25.3 (CH₃).

Experimental part

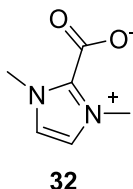
N,S-Diacetylcysteamine (12)



Prepared from *N*-Acetyl cysteamine according to procedure (A), after purification by flash chromatography using ethyl acetate as solvent, a pale brown oily liquid was obtained. $R_f = 0.2$ (100% AcOEt). (1.095g, 87%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, D_2O) δ (ppm) 3.29 (q, 2H), 2.96 (t, 2H), 2.30 (s, 3H, CH_3), 1.88 (s, 3H, CH_3) $^{13}\text{C NMR}$ δ (ppm) = 196.6, 170.4, 39.6, 30.5, 29.0, 23.3. $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O) δ (ppm) 201.0 ($\text{SC}=\text{O}$), 174.3 ($\text{NHC}=\text{O}$), 38.6 ($\text{CH}_3\text{-S}$), 29.9 (S-CH_2), 28.3 (NH-CH_2), 21.8 (NH-CH_3).

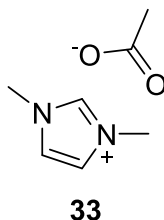
Chapter III

1,3-Dimethyl-1H-imidazol-3-ium-2-carboxylate (32)



To a 9 ml screw top pressure tube, 1-methylimidazole (1.2 ml, 15.6 mmol) and dimethyl carbonate (1.96 ml, 23.4 mmol) and a stir bar was added, the tube was sealed and allowed to stir in an oil bath behind a blast shield for 48 hours at 100o C. After the allotted time, the reaction was allowed to cool to room temperature and the screw cap was removed. The liquid was decanted off and the remaining white crystals were allowed to stir in diethyl ether for 30 minutes. The crystals were vacuum filtered and rinsed with plenty of diethyl ether, acetone and acetonitrile. The remaining white crystals were transferred to a pre-weighed vial and allowed to dry under vacuum. Yielding a white crystalline solid, (0.48g, 21.8%) **¹H NMR (400MHz, D₂O)** δ (ppm) 7.29 (s, 2H), 3.91 (s, 6H, CH₃). **¹³C NMR** δ (ppm) 158.3, 123.05, 36.73.

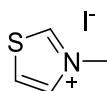
1,3-Dimethylimidazolium acetate (33)



Experimental part

Aqueous formaldehyde (37%) (3.00 mL, 0.04mol) was cooled in a 50 mL roundbottom flask in an ice-salt bath. Aqueous methylamine (40%) (7.66 mL, 0.089mol) was added drop wise. The mixture was stirred with heating at 70°C for 3 min. Glacial acetic acid (100%) (2.9 mL, 0.051mol) was added in droplets while keeping the system temperature below 0 °C. After the addition was complete, aqueous glyoxal (30%) (6.08 ml, 0.04mol) was added dropwise and the resulting mixture was heated at 70 °C overnight. The crude was washed with ethyl acetate (7.5 mL x 3) to remove all traces of reagents that did not react or formed polymers during the cause of the reaction, water was removed by reduced pressure, yielding a brown oily solution (5.954g, 95%). The proton ^1H and carbon ^{13}C NMR confirmed the formation of the desired product. ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ (ppm) 8.55 (s, 1H), 7.30 (s, 2H), 3.79 (s, 6H, CH_3), 1.85, (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR δ (ppm) 180.6, 136.5, 123.5, 35.7, 22.6.

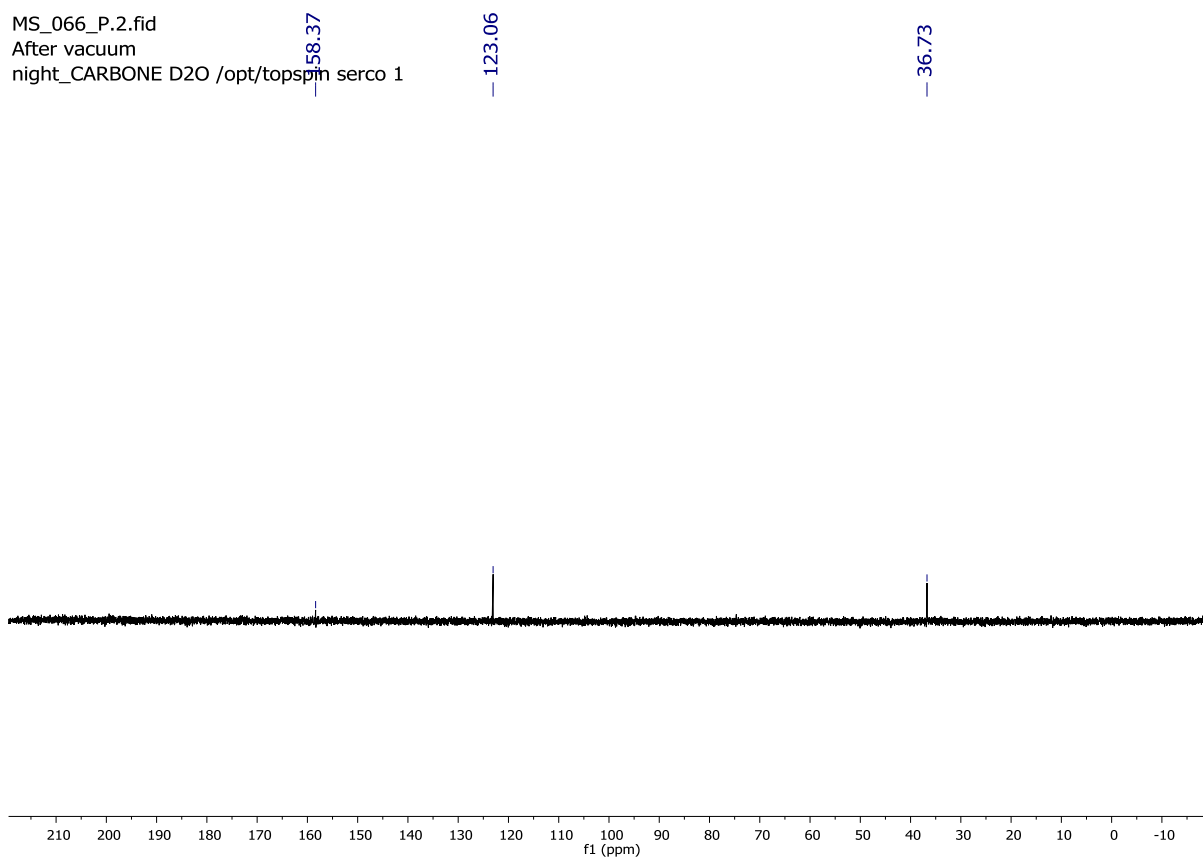
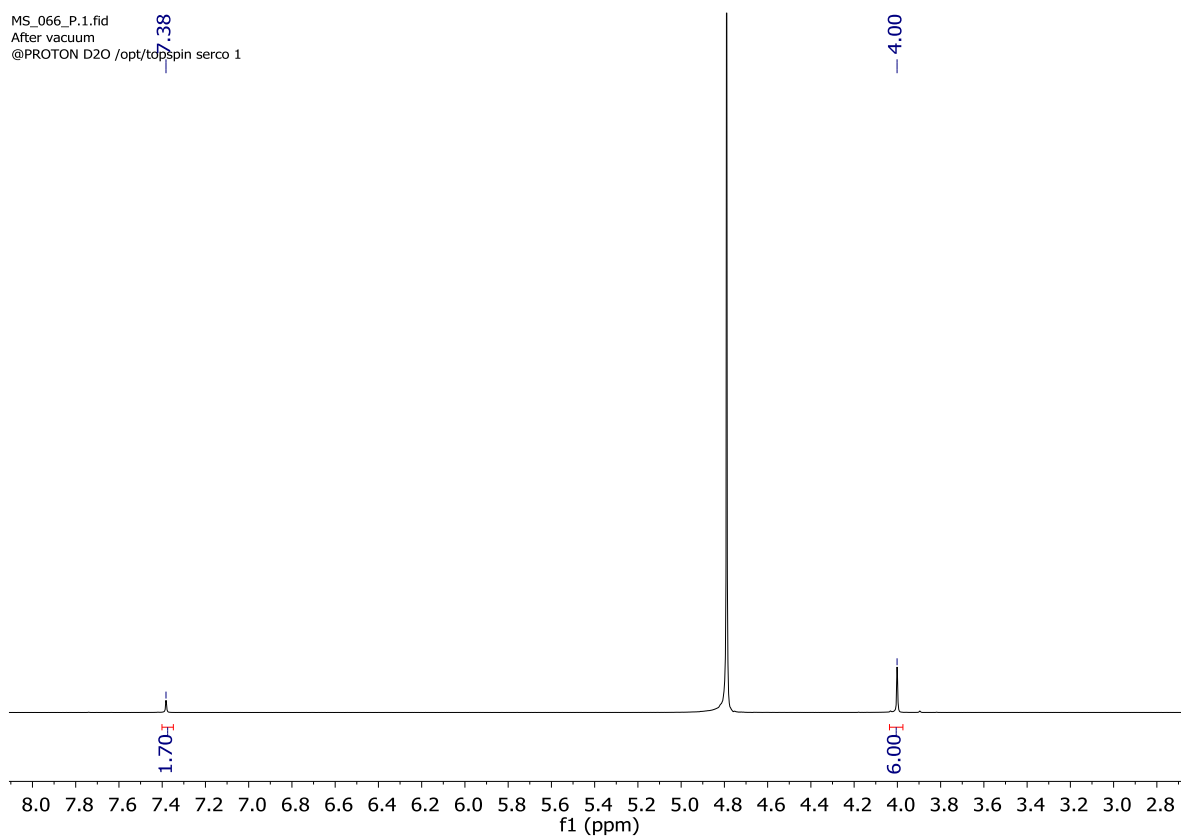
3-MethylThiazoliumiodide (34)



34

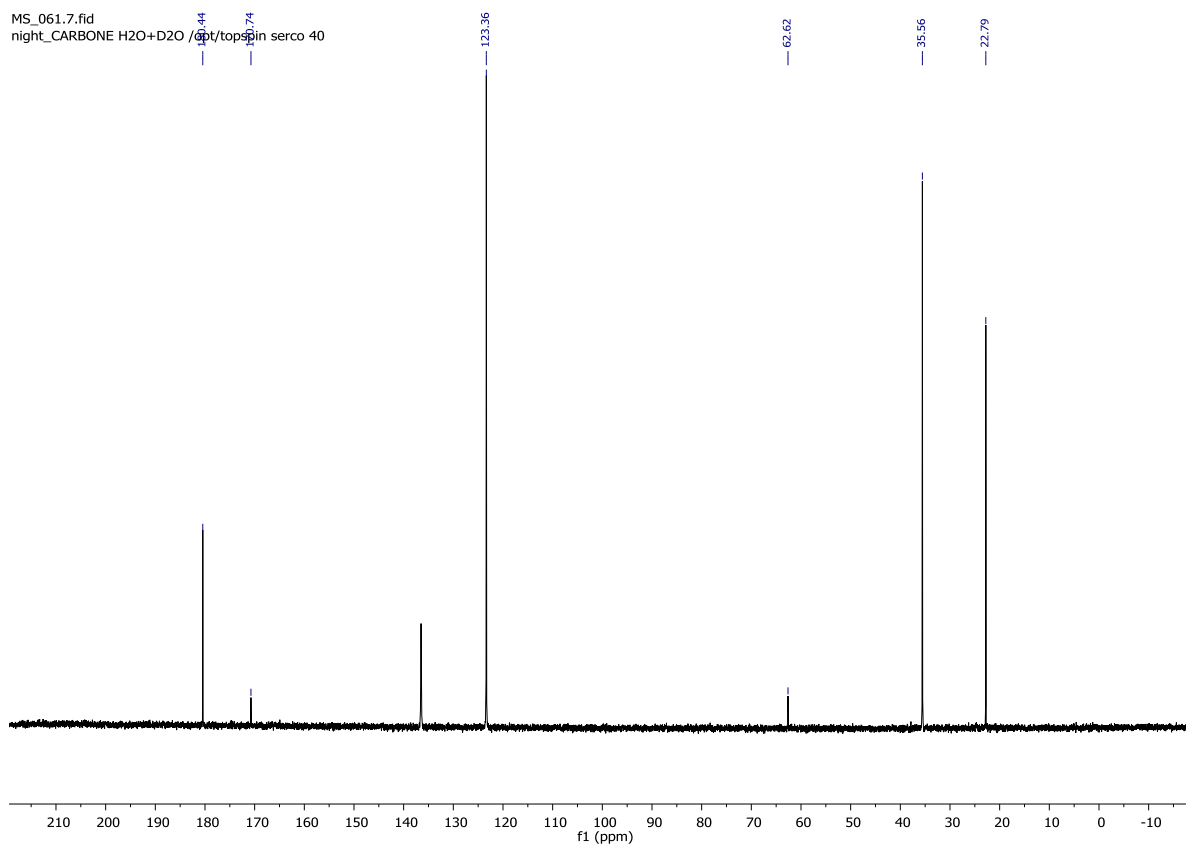
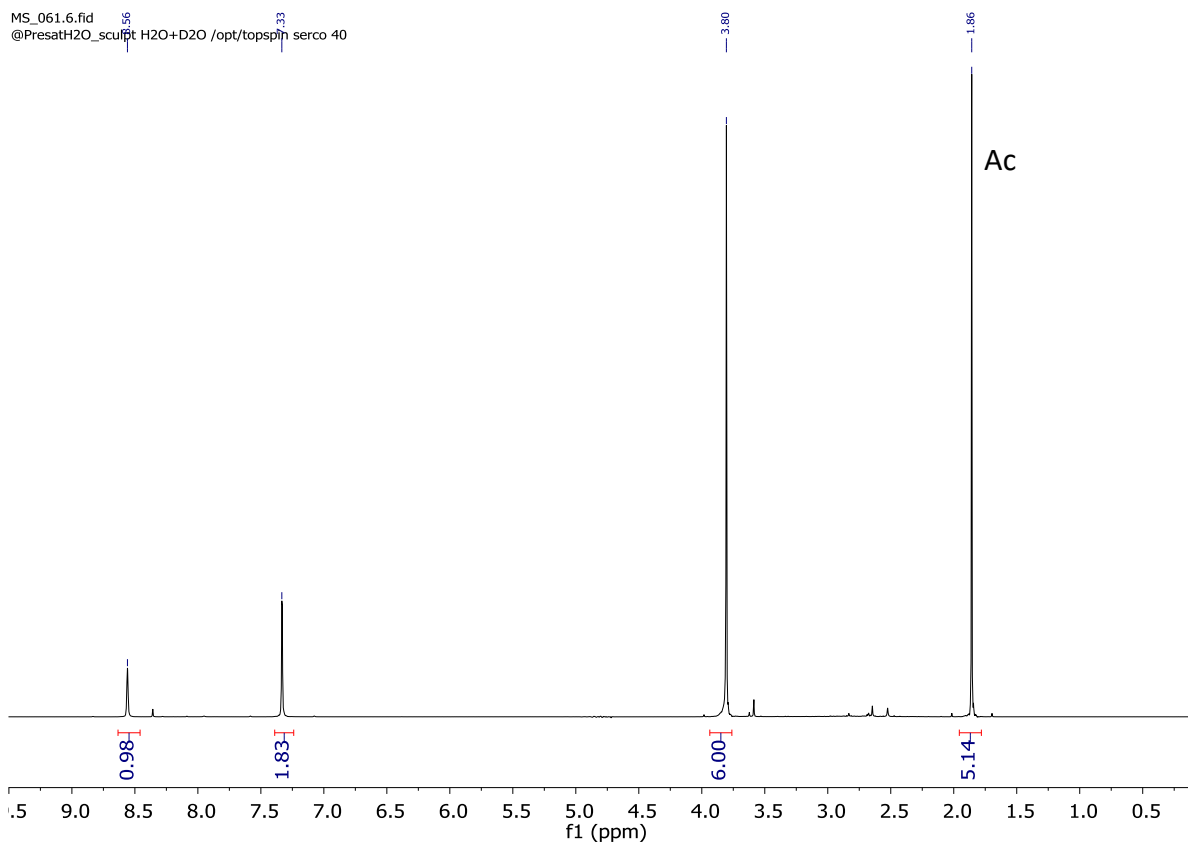
To a solution of Thiazole (0.1 ml, 1.40 mmol) in methanol (0.6 ml), five equivalents of iodomethane (0.45 ml, 7.00 mmol) were added and the mixture was stirred in dark for 48 hours at room temperature. A white solid was obtained and was collected by filtration, washed with ethyl acetate and dried under vacuum to give a brilliant white crystalline substance (0.51g, 100%). ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ (ppm) 9.79 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 4.18 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR δ (ppm) 134.98, 125.45, 125.37, 41.49.

Experimental part



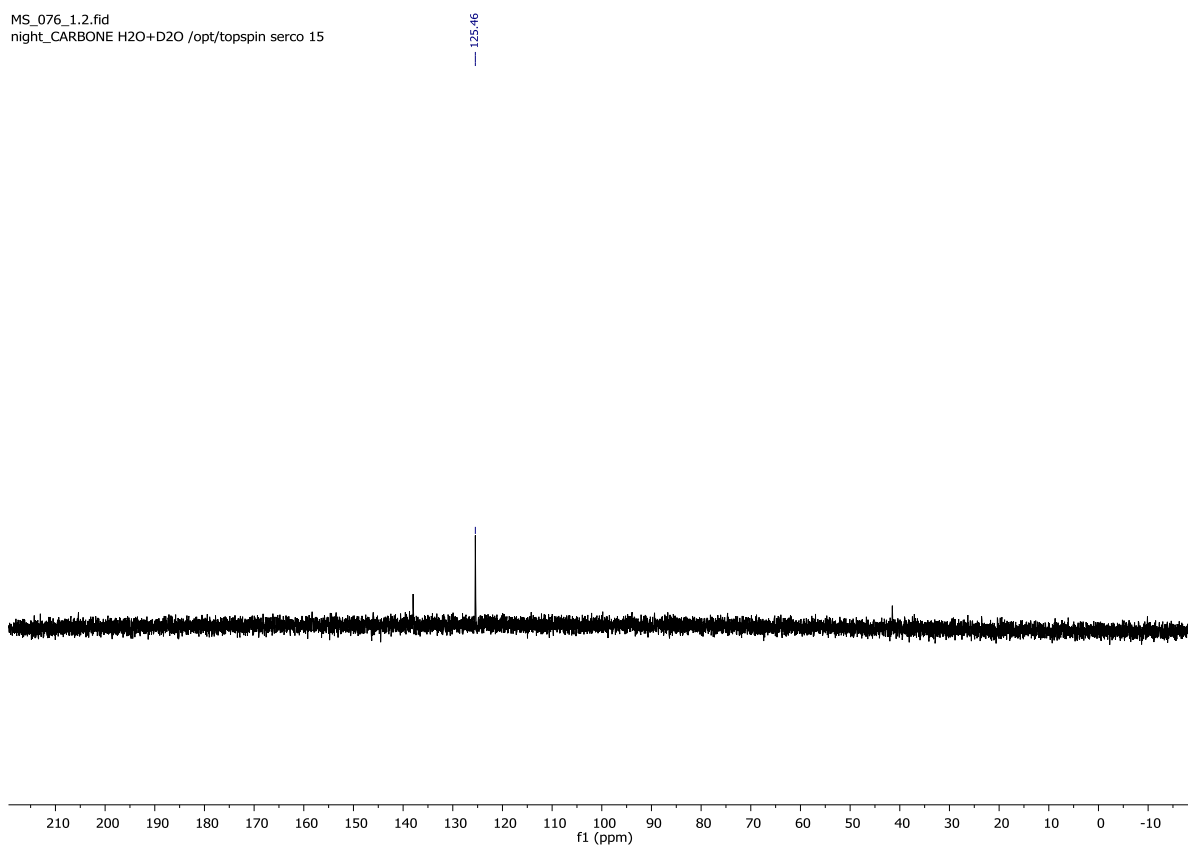
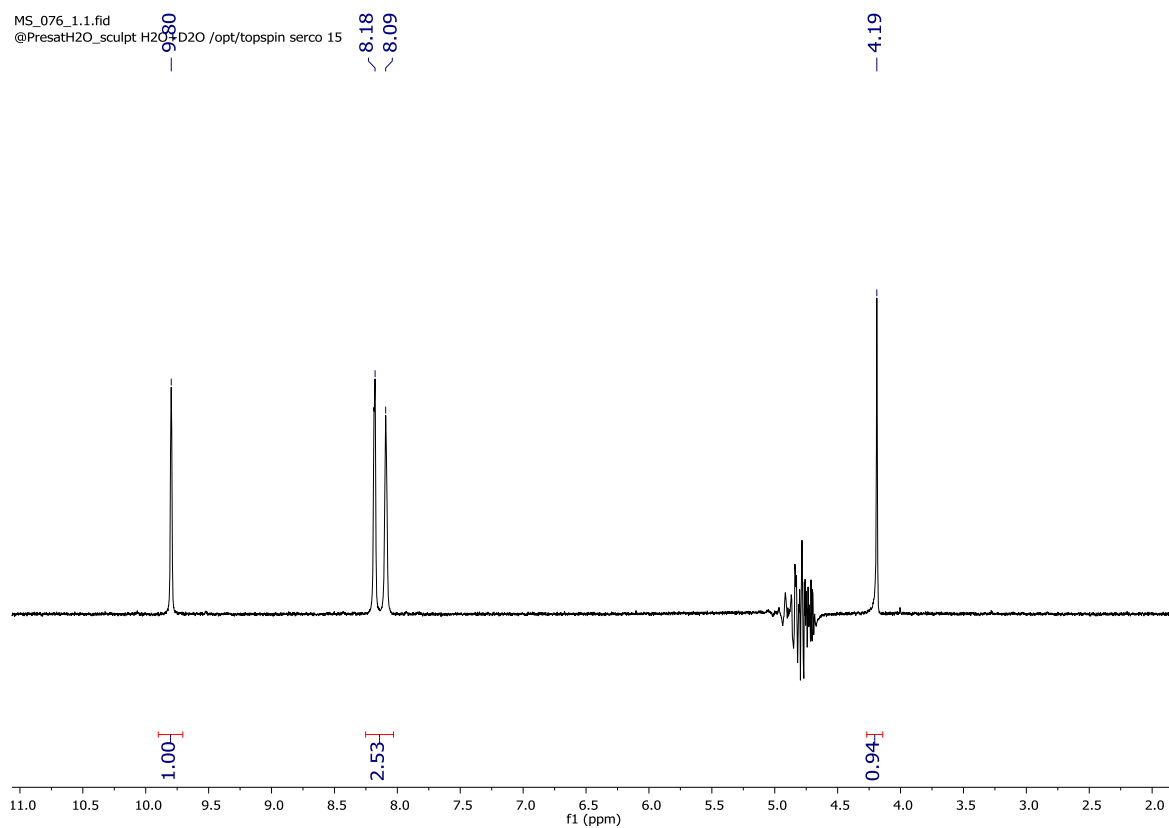
Spectre ^1H et ^{13}C du composé 32

Experimental part



Spectre ^1H et ^{13}C du composé 33

Experimental part



Spectre ^1H et ^{13}C du composé 34

Theoretical calculations

○ For chapter II

Following ref¹, we tested different and recent functionals with or without dispersion correction² and introduced the solvent effect through an implicit continuum using the IEFPCM (integral equation formalism Polarizable Continuum Model)³ or when otherwise stated its SMD variant⁴. These calculations were followed by a frequency calculation in the harmonic approximation to test the nature of the compounds and derived the thermodynamic data. The results obtained for MeSSMe are gathered in Table 1. As previously noted by Denk¹, the B3LYP⁵ functional overestimates the S-S bond distance and logically underestimate the strength of sulfur-sulfur bond. Using dispersion corrections does not change the structural tendency but improves the bond dissociation enthalpy. On the other hand, the M06-2X⁶ functional gives better results and in conjunction a good quality basis set, the structural and energetical parameters are closer to the experimental results and the results obtained at the CBS and CBS-Q level with still a slight underestimation of the S-S bond enthalpy. These calculations were performed using Gaussian16B0.1⁷. These tests lead us to study the reactivity of N-acetylcysteamine disulfide using the M06-2X/6-311++g(3df,p) level of theory in conjunction with an implicit solvent using the IEFPCM model.

MeSSMe	dS-S in Å	dS-C in Å	C-S-S in °	XSSX in °	ΔH(298.15K)
Exp. (MW=microwave)⁸	203.80	181.10(5)	102.8	84.7	
ED⁹	202.9±0.3	181.6±0.3	103.2±0.2	85.3±3.7	
G3/CBS-Q¹					63.07/64.78
B3LYP/631+G**	208.31	183.63	103.4	87.3	51.17
B3LYP/6311G(2d,p)	207.83	183.29	103.4	87.0	52.83
B3LYP/6311++G(2d,p)	207.81	183.30	103.6	87.5	52.95
B3LYP/6311G(3df,p)	205.34	182.32	103.9	87.0	55.91
B3LYP/6311++G(3df,p)	205.36	182.36	104.0	87.2	54.42
M062X/6-31+G**	206.07	181.98	101.9	84.9	57.85
M062X/6311G(2d,p)	205.67	181.74	101.7	84.2	61.23

Experimental part

M062X/6311++G(2d,p)	205.68	181.75	101.8	84.7	59.81
M062X/6311G(3df,p)	203.53	181.00	102.3	84.3	62.87
M062X/6311++G(3df,p)	203.56	180.99	102.3	84.5	61.79
M062X/aug-ccpVTZ	204.67	181.44	102.0	84.8	61.63
M062X/6311++G(3df,p)/PCM (water)	203.86	180.96	102.7	83.2	61.88
B3LYP-D3/6311G(2d,p)	207.79	183.46	102.8	84.7	56.55
B3LYP-D3/6311G(3df,p)	205.26	182.52	103.4	84.7	58.15
B3LYP-D3BJ/6311G(2d,p)	207.55	183.12	102.6	84.9	58.50
B3LYP-D3BJ/6311++G(2d,p)	207.55	183.09	102.8	85.4	57.10
B3LYP-D3BJ /6311G(3df,p)	205.10	182.12	103.2	85.0	60.11
B3LYP-D3BJ /6311++G(3df,p)	205.11	182.16	103.2	85.3	60.08

Table 1: Structural parameters and S-S bond dissociation for MeSSMe (distance in Å and angles in degrees, ΔH in kcal.mol⁻¹). Experimental data from gas phase electron diffraction (ED), microwave (MW) studies. ΔH values are in kcal.mol⁻¹.

For N-Acetylcysteamine disulfide, two conformers were found: one with a folded structure and the other one with a linear structure. The folded structure is stabilized by intramolecular hydrogen bonds but the lack of explicit water molecules in the solvent model complicates the comparison between the two conformers. So QM/MM¹⁰ dynamics was performed starting from the folded structure using CP2K software¹¹. N-Acetylcysteamine disulfide was described at the BLYP level with a DZVP-MOLOPT-SR-GTH basis set in conjunction with GTH pseudopotentials. Dispersion was added by the empirical dispersion correction². Water was described by a TIP3 model¹² and was included through a cubic box of 15 Å around the molecule leading to the addition of 1750 water molecules. The GEEP scheme¹³ was used to calculate the QM/MM interactions. The QM cell has the size of the QM subsystems plus a distance of 8 Å on every direction. A cut-off of 400 Ry was retained to project the electronic structure. Periodic boundary conditions were applied to the MM and the QM system¹⁴. The time step for QM/MM simulations is 0.5 fs in the NVT ensemble with a CSVR thermostat with a 50 fs⁻¹ constant.

Experimental part

This system was generated using amber18 software using gaff (generalized amber force field) parameters for N-Acetylcysteamine disulfide derived from the RESP¹⁵ approach using the electrostatic potential sampled in the MK scheme. Then it was minimized, followed by heating for 25 ps to reach an equilibrium temperature of 300 K, using a Langevin thermostat and a friction constant of 5 fs⁻¹ in the NVT ensemble. This step was followed by 475 steps of equilibration in the NPT ensemble to ensure a correct density of 1. During this set-up the geometry of N-Acetylcysteamine disulfide was kept slightly fixed using a harmonic constraint with a global force constant of 200 kcal mol⁻¹ Å⁻².

After 18000 steps the intra-molecular H-bond between the amide NH and the carbonyl CO (see Figure 1) are replaced by intermolecular H-bonds with water, which are expected to be similar for the disulfide compound and its monomer. The promptness of this process confirms that the stability of N-Acetylcysteamine disulfide in a folded conformation is an artefact due to the absence of explicit water molecules. In the main body of the article, the values presented were therefore obtained from the data on the unfolded conformation.

	dS-S in Å	dS-C in Å	CSSC in °	ΔH(298.15K)	ΔG(298.15K,SMD)
Linear	203.5	182.5	87.8	58.40	48.15/46.25
Folded	203.5	181.5	83.2	65.78	50.06/49.10

Table 2: Structural parameters and S-S bond dissociation for N-Acetylcysteamine disulfide (distance in Å and angles in degrees, ΔH and ΔG in kcal.mol⁻¹, optimized structures at the M06-2X/6-311++g(3df,p)/PCM level of theory. In Italic, the values for Δfl obtained at the same level but using the SMD option in the PCM part of the calculation.

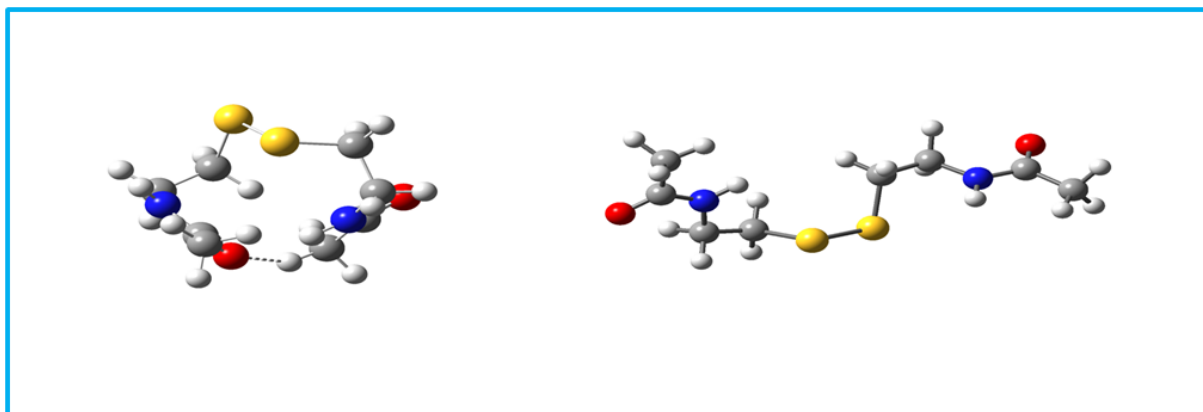


Figure 1: Linear and folded optimized structures of N-Acetylcysteamine disulfide at the M06-2X/6-311++g(3df,p)/PCM level. H-bond of 1.965 Å in the folded conformation.

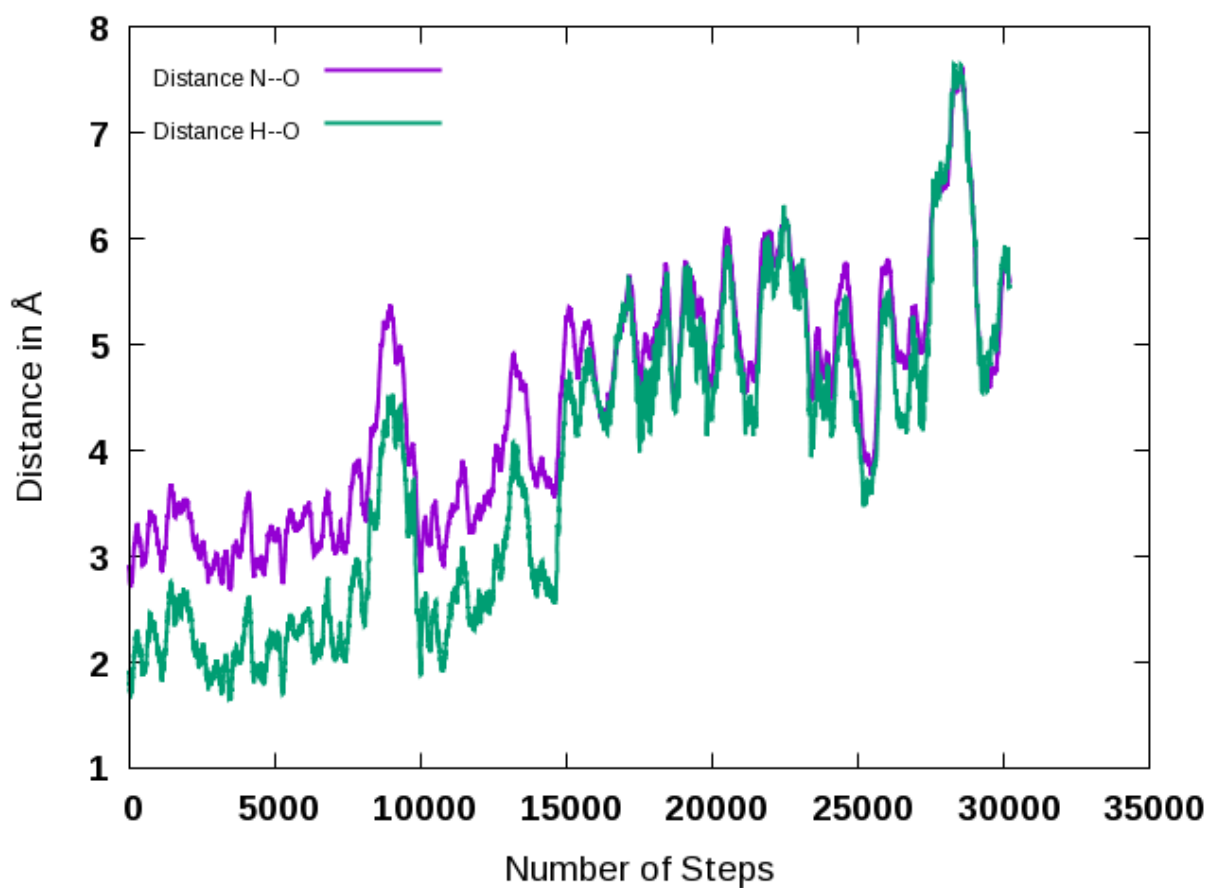


Figure 2: Evolution of the oxygen-nitrogen (initially involved in the intra-molecular H-bond) and of the hydrogen bond distance during the QM/MM dynamics

References (theoretical calculations)

1. Denk, K. M. *Eur. J. Inorg. Chem.* 1358–1368 (2009).
2. Grimme, S., Antony, J., Ehrlich, S. & Krieg, H. *J. Chem. Phys.* **132**, 154104 (2010).
Grimme, S., Ehrlich, S. & Goerigk, L. *J. Comput. Chem.* **32**, 1456-1465 (2011).
3. Tomasi, J., Mennucci, B. & Cammi, R. *Chem. Rev.* **105** 2999-3093 (2005).
4. A. V. Marenich, C. J. Cramer & D. G. Truhlar. *J. Phys. Chem. B*, **113** 6378-96 (2009).
doi: [10.1021/jp810292n](https://doi.org/10.1021/jp810292n)
5. Becke, A.D., *J. Chem. Phys.* 98 (1993) 5648-5652. C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, *Phys. Rev. B* **37**, 785-789 (1988). S.H. Vosko, L. Wilk & M. Nusair, *Can. J. Phys.* **58**, 1200-1211 (1980). P.J. Stephens, F.J. Devlin, C.F. Chabalowski & M.J. Frisch, *J. Phys. Chem.* **98**, 11623-11627 (1994).
6. Zhao, Y. & Truhlar, D. G. *Theor. Chem. Acc.*, **120**, 215-41 (2008).
doi: [10.1007/s00214-007-0310-x](https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x)
7. Gaussian 16, Revision B.01, Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Petersson, G. A., Nakatsuji, H., Li, X., Caricato, M., Marenich, A. V., Bloino, J., Janesko, B. G., Gomperts, R., Mennucci, B., Hratchian, H. P., Ortiz, J. V., Izmaylov, A. F., Sonnenberg, J. L., Williams-Young, D., Ding, F., Lipparini, F., Egidi, F., Goings, J., Peng, B., Petrone, A., Henderson, T., Ranasinghe, D., Zakrzewski, V. G., Gao, J., Rega, N., Zheng, G., Liang, W., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Throssell, K., Montgomery Jr., J. A., Peralta, J. E., Ogliaro F., Bearpark, M. J., Heyd, J. J., Brothers, E. N., Kudin, K. N., Staroverov, V. N., Keith T. A., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A. P., Burant, J. C., Iyengar, S. S., Tomasi, J., Cossi, M., Millam, J. M., Klene, M., Adamo, C., Cammi, R., Ochterski, J. W., Martin, R. L., Morokuma, K., Farkas, O., Foresman, J. B. & Fox, D. J. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
8. Sutter, D., Dreizler, H. & Rudolph, H. D., *Z. Naturforsch. Teil A* **20**, 1676 (1965).
9. Beagley, B. & McAloon, K. T. *Trans. Faraday Soc.* **67**, 3216 (1971).
10. Warshel, A. & Levitt, M. *J. Mol. Biol.* **103**, 227-249 (1976).
11. VandeVondele, J., Krack, M., Mohamed, F., Parrinello, M., Chassaing, T., Hutter, J. *Comput. Phys. Commun.* **167**, 103-128 (2005). Hutter, J., Iannuzzi, M., Schiffmann, F.,

Experimental part

- VandeVondele, J. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **4**, 15 (2014).
12. Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W.; Klein, M. L. *J. Chem. Phys.* **79**, 926-935 (1983).
13. Laino, T., Mohamed, F., Laio, A. & Parrinello, M. *J. Chem. Theory Comput.* **1**, 1176-1184 (2005). Laino, T., Mohamed, F., Laio, A. & Parrinello, M. *J. Chem. Theory Comput.* **2**, 1370-1378 (2006).
14. Blöchl, P. E. *J. Chem. Phys.* **103**, 7422-7428 (1995).
15. Bayly, C. I., Cieplak, P., Cornell, W. & Kollman, P. A. *J. Phys. Chem.* **97**, 10269-10280 (1993).

Experimental part

Optimized Cartesian Coordinates at the M06-2X/6-311++g(3df,p)/PCM-water level.

Pyruvate

9

C	0.86878	-0.11941	0.00042
O	1.07855	-1.34692	0.00555
O	1.68564	0.81337	-0.00597
C	-0.64973	0.28771	0.00048
O	-0.97959	1.44800	0.00523
C	-1.65542	-0.82921	-0.00446
H	-1.49473	-1.46127	-0.87962
H	-1.49849	-1.46549	0.86828
H	-2.66527	-0.42340	-0.00577

Pyruvate radical (CO₂+ acyl radical)

9

C	-1.74944	0.03708	-0.00003
O	-1.54619	1.17345	-0.00034
O	-1.97359	-1.09463	0.00030
C	1.27191	-0.29444	0.00001
O	1.89476	-1.28949	-0.00028
C	1.73460	1.13238	0.00027
H	1.31651	1.62426	-0.87848
H	1.31663	1.62393	0.87926
H	2.82460	1.18704	0.00019

N-acetylcysteamine disulfide linear conformation

30

S	1.00245	-1.19869	0.02850
S	-0.89804	-1.08418	0.74618
C	1.32934	0.52172	-0.48614
H	1.11403	1.17939	0.35681
H	0.67087	0.77446	-1.31592

Experimental part

C	-1.90342	-1.29954	-0.76230
H	-1.77205	-2.31760	-1.12428
H	-1.55280	-0.59928	-1.52141
C	2.77519	0.65476	-0.92788
H	2.93483	1.66463	-1.31392
H	2.99503	-0.03989	-1.74400
C	-3.36511	-1.05039	-0.43776
H	-3.96826	-1.28713	-1.31695
H	-3.69886	-1.71166	0.36839
N	-3.58682	0.33569	-0.07154
C	-4.83002	0.82591	0.09816
H	-2.78952	0.92404	0.11936
O	-5.82302	0.12935	-0.06762
N	3.67956	0.41223	0.18036
C	5.01331	0.53181	0.03573
H	3.29937	0.12392	1.06924
O	5.51577	0.85652	-1.03236
C	-4.93383	2.27606	0.49749
H	-5.46044	2.33526	1.45042
H	-3.96570	2.76539	0.58926
H	-5.53335	2.79812	-0.24860
C	5.85145	0.24749	1.25630
H	5.25924	-0.02805	2.12727
H	6.54389	-0.56076	1.01967
H	6.44044	1.13572	1.48624

N-acetylcysteamine disulfide folded conformation

30

S	-0.78340	1.82774	-1.27779
S	-0.47150	1.76793	0.73958
C	-0.74050	0.09393	-1.81422
H	0.07504	-0.40188	-1.29252
H	-0.49175	0.13526	-2.87722

Experimental part

C	1.34225	1.81369	0.94910
H	1.57403	2.67319	1.57968
H	1.78831	1.96810	-0.03310
C	-2.05164	-0.66474	-1.63571
H	-1.89986	-1.69436	-1.96963
H	-2.82927	-0.21851	-2.25441
C	1.87372	0.53532	1.59085
H	2.93679	0.66789	1.80092
H	1.36314	0.34817	2.53658
N	1.71108	-0.62885	0.74890
C	2.56687	-0.89909	-0.25596
H	0.85585	-1.17162	0.81966
O	3.56015	-0.21595	-0.47769
N	-2.53826	-0.67891	-0.26912
C	-1.88705	-1.31994	0.71369
H	-3.30851	-0.07669	-0.02577
O	-0.89185	-2.00730	0.48787
C	2.23631	-2.11362	-1.08950
H	2.26376	-1.83222	-2.14259
H	3.00830	-2.86711	-0.92486
H	1.26127	-2.53460	-0.84533
C	-2.42156	-1.15101	2.10967
H	-2.58313	-2.13645	2.54637
H	-1.65685	-0.64053	2.69820
H	-3.34541	-0.57645	2.14791

N-acetylcysteamine radical

15

S	-2.33346	-0.78049	-0.22345
C	-1.45260	0.77556	-0.29935
H	-2.19225	1.58058	-0.31578
H	-0.94313	0.79989	-1.26833
C	-0.44324	0.98752	0.82428

Experimental part

H	0.00882	1.97475	0.70952
H	-0.94204	0.94787	1.79198
N	0.61085	-0.00457	0.81710
C	1.62249	0.04522	-0.07401
H	0.53310	-0.80275	1.42642
O	1.72208	0.95479	-0.88743
C	2.63002	-1.07449	-0.00894
H	3.61709	-0.64207	0.15669
H	2.41602	-1.79740	0.77636
H	2.64515	-1.58225	-0.97374

N-acetylcysteamine anion

15

S	-2.54331	-0.70903	0.18164
C	-1.74202	0.80246	-0.46671
H	-2.37296	1.67326	-0.27794
H	-1.62051	0.72055	-1.55065
C	-0.37713	1.07784	0.15108
H	0.08985	1.94946	-0.31361
H	-0.48792	1.28722	1.22136
N	0.49633	-0.06236	-0.04543
C	1.83288	0.00299	0.02432
H	0.02745	-0.95872	-0.09712
O	2.43856	1.05522	0.21386
C	2.57467	-1.30026	-0.15644
H	3.17636	-1.48415	0.73430
H	1.91258	-2.14783	-0.32637
H	3.25501	-1.19875	-1.00262

Acyl radical

6

C	-1.16505	0.09778	-0.00002
H	-1.17429	1.18936	-0.00076

Experimental part

H	-1.67477	-0.29661	-0.87925
H	-1.67412	-0.29531	0.88019
C	0.24279	-0.42355	-0.00002
O	1.25710	0.16965	0.00000

N-acetyl-S-acetylcysteamine

21

S	-1.16387	-0.69809	-0.69324
C	-0.20563	0.84049	-0.69915
H	-0.86157	1.68554	-0.90156
H	0.47464	0.74119	-1.54590
C	0.60640	1.05956	0.57416
H	1.12068	2.01944	0.49395
H	-0.03955	1.09208	1.45122
N	1.59432	0.02296	0.78663
C	2.74421	-0.01371	0.08047
H	1.38645	-0.72618	1.42688
O	3.01860	0.84330	-0.74895
C	3.67311	-1.16517	0.36989
H	4.65221	-0.76269	0.62970
H	3.32040	-1.80874	1.17391
H	3.78484	-1.75496	-0.54065
C	-2.70643	-0.30856	0.10256
O	-3.47439	-1.22001	0.27877
C	-3.01724	1.11234	0.48144
H	-2.23573	1.53834	1.11050
H	-3.09416	1.72437	-0.41948
H	-3.96684	1.12433	1.01205

○ For chapter III

Tous les calculs ont été réalisés en utilisant le logiciel Gaussian16.¹ La fonctionnelle hybride B3LYP², a été employée pour toutes les optimisations de géométrie, en conjonction avec la base triple- ζ aug-cc-pVTZ.³ Les effets de dispersion semi-empiriques ont aussi été inclus grâce au modèle de Grimme D3BJ⁴, menant au niveau de théorie B3LYPD3/aug-cc-pVTZ. Les fréquences de tous les composés impliqués ont aussi été évaluées grâce à cette méthode, dans le but de vérifier que les intermédiaires réactionnels étaient bien des minima de la surface d'énergie potentielle, et que tous les états de transition ne présentaient qu'une seule fréquence imaginaire. Le solvant a été simulé, grâce au modèle PCM.⁵

1. Gaussian 16, Revision C.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
2. A. D. Becke, "Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange," *J. Chem. Phys.*, **1993**, 98, 5648-52.
3. Kendall R. A., Dunning T. H., Harrison R. J., 1992, *J. Chem. Phys.*, 96, 6796
Woon D. E., Dunning T. H., *J. Chem. Phys.*, **1993**, 98, 1358.
4. Grimme S., Ehrlich S., Goerigk L., *J. Comput. Chem.*, **2011**, 32, 1456.

Experimental part

5. J. Tomasi, B. Mennucci, and R. Cammi, "Quantum mechanical continuum solvation models," *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 2999-3093.

References

1. Lazcano, A. What Is Life? A brief historical overview. *Chem. Biodivers.* **2008**, *5*(1), 1-15.
2. Malik, A. H.; Zeirmann, J. M.; Diogo, R. An untold story in biology: the historical continuity of evolutionary ideas of muslim scholars from the 8th century to Darwin's time. *J. Biol. Educ.* **2018**, *52*, 3-17.
3. Darwin, C. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life, 3rd ed.; Murray: London, **1861**.
4. Darwin and culture. *Nature* **2009**, *461*, 1173-1174.
5. Masci, D. The history of the evolution debate in the United States. *Pew research center.* **2019**.
6. Anti-Darwin comments outrage researchers. *Nature* **2018**, *554*, 16-17.
7. Dubochet, J. Why is it so difficult to accept Darwin's theory of evolution? *BioEssays.* **2011**, *33*, 240-242.
8. Sheldon, M, P. Claiming Darwin: stephen jay Gould in contests over evolutionary orthodoxy and public perception, *Stud. Hist. Philos. Sci.* **2014**, *45*, 139.
9. Pinti, D.L. The origin and evolution of the oceans. In *Lectures in Astrobiology*/ed. par Gargaud, M., Barbier, B., Martin, H., Risse, J. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, **2005**, Vol. 1, p. 83–112.
10. Valley, J. W.; Peck, W. H.; King, E, M.; Wilde, S. A. A cool early earth. *Geology*, **2002**, *30*, 351-354.
11. Taylor, H, P.; Sheppard, S. M. F. Igneous rocks; I, Processes of isotopic fractionation and isotope systematic. *Rev. Mineral. Geochem*, **1986**, *16*, 227-271.
12. Gregory, R. T. Oxygen isotope history of seawater revisited: Timescales for boundary event changes in the oxygen isotope composition of seawater. *Stable Isotope Geochemistry: A Tribute to Samuel Epstein*/ed. Par Taylor, H.P.; O'Neill, J. R.; and Kaplan, I.R. Washington: Geochemical Society, **1991**, p, 516.
13. Rothschild, L. J. Mancinelli, R. L. Life in Extreme Environments. *Nature* **2001**, *409*, 1092-1101.
14. Ronde, C. E. J., Channer, D. M. D. R., Faure, K., Bray, C. J., Spooner, T. C. Fluid chemistry of Archean seafloor hydrothermal vents: Implications for the composition of circa 3.2 Ga seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1997**, *61*, 4025–4042.

Références

15. Nisbet, E. G., Sleep, N. H. The habitat and nature of early life. *Nature* **2001**, *409*, 1083–1091.
16. Tajika, E., Matsui, T. Degassing history and carbon cycle of the Earth: From an impact-induced steam atmosphere to the present atmosphere. *Lithos*, **1993**, *30*, 267–280.
17. Yang, W., Holland, H. D., Rye, R. Evidence for low or no oxygen in the late Archean the atmosphere from the ~ 2.76 Ga Mt. Roe #2 paleosol, Western Australia : Part3. *Geochim. Cosmochim. Acta*, **2002**, *66*, 3707–3718.
18. Shaw, G. H. Earth's Atmosphere – Hadean to early proterozoic. *Geochemistry*, **2008**, *68*, 235–264.
19. Santosh, M.; Arai, T.; Maruyama, S. Hadean earth and primordial continents: The cradle of prebiotic life. *Geosci. Front.* **2017**, *8*, 309–327.
20. Bardgett, R. D & van der Putten, W. H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* **2014**, *515*, 505-511.
21. Woese, R, C. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Nati. Acad. Sci.* **1990**, *87*, 4576-4579.
22. Cardinale, B. J *et al.* Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **2012**, *486*, 59-67.
23. Tonson. Benoît. *Biodiversité, combien de millions d'espèces ?* [En ligne] 20 juillet 2016. Disponible sur : <https://theconversation.com/biodiversite-combien-de-millions-despeces-61875>.
24. Bohannan, B. J. M., Carney, K. M., Horner-devine, M. C. An ecological perspective on bacterial biodiversity. *Proc. R. Soc.* **2004**, *271*, 113.
25. Hurley, S. J.; Wing, B. A.; Jasper, C. E.; Hill, N. C.; Cameron, J. C. Carbon isotope evidence for the global physiology of proterozoic cyanobacteria. *Sci. Adv.* **2021**, *7*, [10.1126/sciadv.abc8998](https://doi.org/10.1126/sciadv.abc8998).
26. Hector, A.; Bagchi, R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature* **2007**, *448*, 188-190.
27. Cardinale, B. J *et al.* Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **2012**, *486*, 59-67.
28. Jenkins, M. Prospects for biodiversity. *Science* **2003**, *302*, 1175-1177.
29. Rubey, W. W. Geologic history of seawater: An attempt to state the problem. *GSA. Bull.* **1951**, *62*, 1111–1147.

30. Geiss, J., Gloecker, G. Abundance of Deuterium and Helium in the protosolar Cloud. *Space Science Rev.* **1998**, *84*, 239–250.
31. Drouart, A., Dubrulle, B., Gautier, D., Robert, F. Structure and transport in the solar nebula from constraints on deuterium enrichment and giant planets formation. *Icarus*, **1999**, *140*, 59–76.
32. Morbidelli, A., Chambers, J., Lunine, J. I., Petit, J. M., Robert, F.; Valsecchi, G. B.; Cyr, K. E. Source regions and timescales for the delivery of water to the Earth. *Meteoritics Planet. Sci.* **2000**, *35*, 1309– 1320.
33. Eberhardt, P., Reber, M., Krankowski, D., Hodges, R.R. The D/H and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios in water from comet P/Haley. *Astron. Astrophys.* **1995**, *302*, 301–316.
34. Bockelée-Morvan, D. *et al.* Deuterated water in comet C/1996 B2 (Hyakutake) and its implications for the origin of comets. *Icarus*. **1988**, *193*, 147–162.
35. Meier, R., Owen, T. C., Matthews, H. E., Jewitt, D. C., Bockelée-Morvan, D., Biver, N., Crovisier, J., Gautier, D. A determination of the $\text{DH}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}$ ratio in Comet C/1995 O1 (Hale-Bopp). *Science* **1998**, *279*, 842–844.
36. Dauphas, N. The dual origin of the terrestrial atmosphere. *Icarus*, **2003**, *165*, 326–339.
37. Dauphas, N., Marty, B. Inference on the nature and the mass of Earth’s late veneer from noble metals and gases. *J. Geophys. Res.* **2001**, *107*, doi:10.1029/2001JE001617.
38. Chyba, C.; Sagan, C. Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life. *Nature* **1992**, *355*, 125-132.
39. Kitadai, N.; Maruyama, S. Origins of building blocks of life: A review. *Geoscience Frontiers* **2018**, *9*, 1117-1153.
40. Pizzarello, S.; Cooper, G. W.; Flynn, G. J. *The nature and distribution of the organic material in carbonaceous chondrites and interplanetary dust particles*. In: Meteorites and the Early Solar System II, Univ. Arizona Press, **2006**, 625-651.
41. Zaia, D.A.M., Zaia, C. T. B. V., De Santana, H. Which amino acids should be used in prebiotic chemistry studies? *Orig. Life Evol. Biosph.* **2008**, *38*, 469-488.
42. Burton, A. S., Stern, J. C., Elsila, J. E., Glavin, D. P., Dworkin, J. P. Understanding prebiotic chemistry through the analysis of extraterrestrial amino acids and nucleobases in meteorites. *Chem. Soc. Rev* **2012**, *41*, 5459-5472.
43. Öberg, K. I et al. The comet-like composition of a protoplanetary disk as revealed by complex cyanides. *Nature* **2015**, *520*, 198-200.

Références

44. Nicholas. W. Making Sense of the Chemistry That Led to Life on Earth [en ligne]. New York Times, May 2015. Disponible sur : <https://www.nytimes.com/2015/05/05/science/making-sense-of-the-chemistry-that-led-to-life-on-earth.html>.
45. Smith, I. W. M.; Talbi, D.; Herbst, E. The production of HCN dimer and more complex oligomers in dense interstellar clouds. *Astron. Astrophys.* **2001**, 369 (2), 611–615.
46. McGuire, B. A *et al.* Detection of the aromatic molecule benzonitrile (c-C₆H₅CN) in the interstellar medium. *Science* **2018**, 359, 202-205.
47. Kutner, M. L *et al.* Interstellar hydrogen sulphide. *Astrophys. J.* **1972**, 176, L73-L76.
48. Vastel, C.; Phillips, T. G.; Ceccarelli, C.; Pearson, J. First detection of doubly deuterated hydrogen sulphide. *Astrophys. J.* **2003**, 593, L97-L100.
49. Welch, W. J. Detection of NH₃ molecules in the interstellar medium by their microwave emission. *Phys. Rev. Lett* , **1968**, 21, 1701-1705.
50. Pauls, T.; Wilson, T. L. the detection of interstellar ¹⁵NH₃. *Astron. Astrophys.* **1979**, 73, L10-L12.
51. Palmer, P.; Morris, M.; Zuckerman, B.; Turner, B. E. Microwave detection of interstellar deuterated ammonia. *Astrophys. J.* **1987**, 219, L43-L47.
52. Roueff, E *et al.* Detection of doubly deuterated ammonia in L134N. *Astron. Astrophys.* **2000**, 354, L63-L66.
53. Van der Tak, F. F. S.; Schilke, P.; Müller, H. S. P.; Lis, D. C.; Phillips, T. G.; Gerin, M.; Roueff, E. Triply Deuterated Ammonia in NGC 1333. *Astron. Astrophys.* **2002**, 388 (3), L53–L56.
54. Fourikis, N.; Sinclair, M.; Robinson, B.; Godfrey, P.; Brown, R. Microwave Emission of the 2₁₁ → 2₁₂ Rotational Transition in Interstellar Acetaldehyde. *Aust. J. Phys.* **1974**, 27 (3), 425-30.
55. 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. A New Interstellar Polyatomic Molecule - Detection of propynal in the cold cloud TMC-1. *Astrophys. J.* **1988**, 335, L89.
56. Hollis, J. M.; Jewell, P. R.; Lovas, F. J.; Remijan, A.; Møllendal, H. Green Bank Telescope Detection of new interstellar aldehydes: propenal and propanal. *Astrophys. J.* **2004**, 610 (1), L21–L24.
57. Hollis, J. M.; Lovas, F. J.; Jewell, P. R. Interstellar glycolaldehyde: the first sugar. *Astrophys. J.* **2000**, 540 (2), L107–L110.

Références

58. Peltzer, E. T.; Bada, J. L.; Schlesinger, G.; Miller, S. L. The chemical conditions on the parent body of the murchison meteorite: Some conclusions based on amino, hydroxy and dicarboxylic acids, *Adv. Space Res*, **1984**, 4, 69–74.
59. Callahan, M. P.; Smith, K. E.; Cleaves, H. J.; Ruzicka, J.; Stern, J. C.; Glavin, D. P.; House, C. H.; Dworkin, J. P. Carbonaceous Meteorites contain a wide Range of extraterrestrial nucleobases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, 108 (34), 13995–13998.
60. Schwartz, W. A.; Stoks, P. G. Uracil in carbonaceous meteorites. *Nature* **1997**, 282, 709-710.
61. Horn, D. R., Hom, B. M. & Delach, M. N. Sedimentary Provinces of the North Pacific. *Geological investigations of the North Pacific*/ed. par Hays, J. D. Boulder: Geological Society of America, **1970**, Vol. 126, p. 41.
62. Rawson, M. D. & Ryan, W. B. F. Ocean floor sediment and polymetallic nodules/ed. par Rawson, M. D. Palisades, New York: Lamont-Doherty Geological Observatory, 1978.
63. Opdyke, N. D. & Foster, J. H. Paleomagnetism of Cores from the North Pacific. *Geological Investigations of the North Pacific*/ed. Hays, J. D. Boulder: Geological Society of America, **1970**, Vol. 126, p. 83.
64. Callahan *et al.* Carbonaceous meteorites contain a wide range of extraterrestrial nucleobases. *PNAS*, **2011**, 108, 13995-13998.
65. Martins, Z.; Botta, O.; Fogel, M. L.; Sephton, M. A.; Glavin, D. P.; Watson, J. S.; Dworkin, J. P.; Schwartz, A. W.; Ehrenfreund, P. Extraterrestrial nucleobases in the murchison meteorite. *Earth Planet. Sci. Lett.* **2008**, 270 (1–2), 130–136.
66. Oró, J.; Kimball, A. P. Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. I. Adenine from hydrogen cyanide. *Arch. Biochem. Biophys.* **1961**, 94 (2), 217–227.
67. Orgel, L. E. The origin of life a review of facts and speculations. *Trends Biochem. Sci.* **1998**, 23 (12), 491–495.
68. Lemmon, R. M. Chemical evolution. *Chem. Rev.* **1970**, 70 (1), 95-109.
69. Cleaves II, H. J. Prebiotic chemistry: What we know, what we don't. *Evo Edu Outreach.* **2012**, 5, 342-360
70. Welch, G. R. T. H. Huxley and the protoplasmic theory of life. 100 Years Later. *Trends Biochem. Sci.* **1995**, 20, 481
71. Olby, R. The macromolecular concept and the origins of molecular biology. *J. Chem. Educ.* **1970**, 47, 168.

Références

72. Miller, S. L. Lazcano, A. Formation of the building blocks of life. *In Life's Origin: The beginnings of biological evolution*/Ed. Par Schopf, J. W. Berkeley: California University Press, **2002**, p. 78–112.
73. Miller, S. L. A Production of Amino Acids under possible primitive earth conditions. *Science* **1953**, *117*, 528–529.
74. Danger, G.; Plasson, R.; Pascal, R. Pathways for the formation and evolution of peptides in prebiotic environments. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (16), 5416–5429.
75. Rohlffing, D. L. Thermal polyamino acids: synthesis at less than 100°C. *Science* **1976**, *193*, 68–70.
76. Rimola, A.; Sodupe, M.; Ugliengo, P. Alumino silicate surfaces as promoters for peptide bond formation: An assessment of Bernal's hypothesis by ab Initio Methods. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8333–8344.
77. Lambert, J. F. Adsorption and polymerization of amino acids on mineral surfaces: A Review. *Origins Life Evol. Biospheres*, **2008**, *38*, 211–242.
78. Rodriguez-Garcia, M *et al.* Formation of oligopeptides in high yield under simple programmable conditions. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8385
79. Forsythe, J. G *et al.* Surveying the sequence diversity of model prebiotic peptides by mass spectrometry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2017**, *114*, E7652-E7659.
80. Cleaves, H. J.; Aubrey, A. D.; Bada, J. L. An Evaluation of the critical parameters for abiotic peptide synthesis in submarine hydrothermal systems. *Orig Life Evol Biosph*, **2009**, *39*, 109–126.
81. Huber, C.; Wächtershäuser, G. Peptides by activation of amino acids with CO on (Ni,Fe)S surfaces : implications for the origin of life. *Science* **1998**, *281*, 670–672.
82. Shimoyama, A.; Ogasawara, R. Dipeptides and diketopiperazines in the Yamato-791198 and Murchison carbonaceous chondrites. *Orig Life Evol Biosph*, **2002**, *32*, 165–179.
83. Takaoka, O.; Yamagata, Y.; Inomata, K. Diketopiperazine-mediated peptide formation in aqueous solution II. Catalytic effect of phosphate. *Orig Life Evol Biosph*, **1991**, *21*, 113–118.
84. Danger, G.; Charlot, S.; Boiteau, L.; Pascal, R. Activation of carboxyl group with cyanate: peptide bond formation from dicarboxylic acids. *Amino Acids* **2012**, *42*, 2331–2341.
85. Muchowska, K. B.; Moran, J. Peptides synthesis at the origin of life. *Science* **2020**, *370*, 767-768

Références

86. Foden, C. S *et al.* Prebiotic synthesis of cysteine peptides that catalyze peptide ligation in neutral water. *Science* **2020**, *370*, 865-869.
87. Shalayel, I.; Vallée, Y. Chemistry of homocysteine thiolactone in a prebiotic perspective. *Life*, **2019**, *9*, doi: 10.3390/life9020040.
88. Shalayel, I.; Coulibaly, S.; Ly, K. D.; Milet, A.; Vallée, Y. The Reaction of aminonitriles with aminothiols: A way to thiol-containing peptides and nitrogen heterocycles in the primitive earth ocean. *Life*. **2018**, *8* (4). doi: 10.3390/life8040047.
89. Shalayel, I., Youssef-Saliba S., Vazart F., Ceccarelli C., Bridoux M., & Vallee Y. Cysteine chemistry in connection with abiogenesis. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 3019–3023.
90. Youssef-Saliba, S., & Vallee Y. Sulfur amino acids: from prebiotic chemistry to biology and vice versa. *Synthesis*. **2021**, *53*(16), 2798-2808.
91. LEQRAA, N.; Vallée, Y. From Amino acids to Peptides before the Coming of Ribosomes. *Prebiotic Chemistry and Life's Origin; Chemical Biology Series/* ed. par Michele Flore, The Royal Society of Chemistry, **2022**.
92. Fiore, M.; Strazewski, P. Prebiotic lipidic amphiphiles and condensing agents on the early earth. *Life*, **2016**, *6* (2), 17, <https://doi.org/10.3390/life6020017>.
93. Segré, D *et al.* The lipid world. *Orig Life Evol Biosph.* **2001**, *31*, 119-145.
94. Klein, A. E.; Pilpel, N. Oxidation of *n*-alkanes photosensitized by 1-naphthol. *J. Chem. Soc., Faraday I*, **1973**, *69*, 1729–1736.
95. Butlerow, A. Bildung einer zuckerartigen substanz durch synthese. *Ann. der Chemie und Pharm.* **1861**, *120* (3), 295–298.
96. Gabel, N. W.; Ponnampertuma, C. Model for origin of monosaccharides. *Nature* **1967**, *216* (5114), 453–455.
97. Reid, C.; Orgel, L. E. Synthesis of sugars in potentially prebiotic conditions. *Nature* **1967**, *216* (5114), 455–455.
98. Larralde, R.; Robertson, M. P.; Miller, S. L. Rates of decomposition of ribose and other sugars: Implications for chemical evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1995**, *92* (18), 8158–8160.
99. Arrhenius T, Arrhenius G, *et al.* Archean geochemistry of formaldehyde and cyanide and the oligomerization of cyanohydrin. *Orig Life Evol Biosph.* **1994**, *24* (1), 1–17.
100. Ritson, D.; Sutherland, J. D. Prebiotic synthesis of simple sugars by photoredox systems chemistry. *Nat. Chem.* **2012**, *4* (11), 895–899.

Références

101. Oró, J.; Kimball, A. P. Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. I. Adenine from hydrogen cyanide. *Arch. Biochem. Biophys.* **1961**, *94* (2), 217–227.
102. Oro, J.; Kamat, S. S. Amino-acid synthesis from hydrogen cyanide under possible primitive earth conditions. *Nature* **1961**, *190*, 442.
103. Ferris, J. P.; Orgel, L. E. Studies in Prebiotic Synthesis. I. Aminomalononitrile and 4-Amino-5 cyanoimidazole 1,2. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88* (16), 3829–3831.
104. Fox, S. W.; Harada, K. Synthesis of uracil under conditions of a thermal model of prebiological chemistry. *Science* **1961**, *133* (3468), 1923–1924.
105. Sanchez, R. A.; Ferris, J. P.; Orgel, L. E. Cyanoacetylene in prebiotic synthesis. *Science* **1966**, *154* (3750), 784–785.
106. Choughuley, A. S. U.; Subbaraman, A. S.; Kazi, Z. A.; Chadha, M. S. A Possible prebiotic synthesis of thymine: uracil-formaldehyde-formic acid reaction. *Biosystems* **1977**, *9* (2–3), 73–80.
107. Dass, A. V *et al.* Equilibrium and non-equilibrium furanose selection in the ribose isomerization network. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 2749.
108. Francioso, A *et al.* Chemistry and biochemistry of sulfur natural compounds: key intermediates of metabolism and redox biology. *Oxid Med Cell Longev*, **2020**, DOI: 10.1155/2020/8294158.
109. Kozłowski, H. Nickel complexes with sulfhydryl containing peptides. Potentiometric and spectroscopic studies. *J. Inorg. Biochem.* **1987**, *29*, 187-197.
110. Sovago, I *et al.* Cobalt and zinc complexes of cysteine containing dipeptides. *Polyhedron*. **1988**, *7*, 1089-1093
111. Gockel, P.; Gelinsky, M.; Vogler, R.; Vahrenkamp, H. Solution behaviour and zinc complexation of tripeptides with cysteine and/or histidine at both termini. *Inorganica Chimica Acta*, **1998**, *272*, 115-124.
112. Bonfio, C *et al.* UV-light-driven prebiotic synthesis of iron-sulfur clusters. *Nat. Chem*, **2017**, *9*, 1229-1234.
113. Braymer, J. J.; Lill, R. Iron-sulfur cluster biogenesis and trafficking in mitochondria. *J Biol Chem*, **2017**, *292*, 12754-12763.
114. Maio *et al.* Fe-S cofactors in the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase are potential antiviral targets. *Science* **2021**, *373*, 236-241.
115. Kaschke, M.; Russell, M. J.; Cole, W. J. [FeS/FeS₂], a redox system for the origin of life (some experiments on the pyrite-hypothesis). *Orig Life Evol Biosph*, **1994**, *24*, 43-56.

116. Mescall, Kimberly Ann, "The chemical origin of life: an exploration of thioesters as energy in the prebiotic world" (1994). Presidential Scholars Theses (1990 – 2006). 113. <https://scholarworks.uni.edu/pst/113>.
117. Kleinkauf, H., von Döhren, H. Nonribosomal biosynthesis of peptide antibiotics. *Eur. J. Biochem.* **1990**, *192*, 1–15.
118. Kleinkauf, H., and von Döhren, H. A nonribosomal system of peptide biosynthesis. *Eur. J. Biochem.* **1996**, *236*, 335–351.
119. Cammack, R. Evolution and diversity in the iron-sulfur proteins. *Chem. Scr.* **1983**, *21*, 87–95.
120. Nowakowski, J.; Tinoco, Jr, I. RNA structure and stability. *Seminars in Virology*, **1997**, *8*, 153-165.
121. Hentze, M. W *et al.* A brave new world of RNA-binding proteins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2018**, *19*, 327-341.
122. RNA Stability. Jove. [Consulté le 15 septembre 2021]. Disponible sur : <https://www.jove.com/science-education/11009/rna-stability>.
123. Wächtershäuser, G. From volcanic origins of chemoautotrophic life to Bacteria, Archaea and Eukarya. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **2006**, *361*, 1787-1808.
124. Mulkidjanian, A. Y.; Galperin, M. Y. On the origin of life in the zinc world. 2. Validation of the hypothesis on the photosynthesizing zinc sulfide edifices as cradles of life on earth. *Biol. Direct* **2009**, *4*, 27.
125. de Duve, C. A research proposal on the origin of life. *Orig. Life Evol. Biosph.* **2003**, *33* (6), 559–574.
126. Muchowska, K. B.; Chevallot-Beroux, E.; Moran, J. Recreating ancient metabolic pathways before enzymes. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 2292-2297.
127. Krishnamurthy, R. Life's biological Chemistry: A destiny or destination starting from prebiotic chemistry? *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 16708 – 16715.
128. Springsteen, G.; Yerabolu, J. R.; Nelson, J.; Rhea, C. J.; Krishnamurthy, R. Linked cycles of oxidative decarboxylation of glyoxylate as protometabolic analogs of the citric acid cycle. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 91.
129. Webb, E. M.; Marquet, A.; Mendel, R. R.; Rébeillé, F.; Smith, A.G. Elucidating biosynthetic pathways for vitamins and cofactors. *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 988 -1008.

Références

130. Jinich, A. Quantum Chemistry reveals thermodynamic principles of redox biochemistry. *PLoS Comput Biol*, **2018**, *14*(10):e1006471.doi: 10.1371/journal.pcbi.1006471.
131. Goldford, J. E.; George, A. B.; Flamholz, A. I.; Segrè, D. Thermodynamics drives coenzyme redundancy in metabolism. *BioRxiv*, **2021**, <https://doi.org/10.1101/2021.05.17.444566>.
132. Chabrière, E *et al.* Crystal structure of the free radical intermediate of pyruvate: ferredoxin oxidoreductase. *Science* **2001**, *294*, 2559-2563.
133. Visser, C. M.; Kellogg, R. M. Biotin. Its place in evolution. *J. Mol Evol.* **1978**, *11*, 171-87.
134. Kirschning, A. Coenzymes and their role in the evolution of life. *Angew. Chem. Int.* **2021**, *60*, 6242 – 6269.
135. Begley, T. P.; Kinsland, C.; Strauss, E. The biosynthesis of coenzyme A in bacteria. *Vitam Horm.* **2001**, *61*, 157-71.
136. Parker, E. T.; Cleaves, H. J.; Callahan, M. P.; Dworkin, J. P.; Glavin, D. P.; Lazcano, A.; Bada, J. L., Prebiotic synthesis of Methionine and other sulfur-containing organic compounds on the Primitive Earth: A contemporary reassessment based on an unpublished 1958 stanley miller experiment. *Orig Life Evol Biosph.* **2011**, *41*, 201-12.
137. Miller, S. L.; Urey, H. C. Organic compound synthesis on the primitive earth. *Science* **1959**, *130*, 245-251.
138. Miller, S. L. Schlesinger, G. Prebiotic syntheses of vitamin coenzymes: I. Cysteamine and 2-mercapto-ethanesulfonic acid (coenzyme M). *J Mol Evol*, **1993**, *36*, 302-307.
139. Enzmann, F.; Mayer, F.; Rother, M.; Holtmann, D. Methanogens: biochemical background and biotechnological applications. *AMB express.* **2018**, *8*, <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0531-x>.
140. Frère, C.; Raulin, F. Processus prébiotiques dans les atmosphères planétaires. *Grana*, **1991**, *30*, 510-513.
141. Breckenridge, W. H.; Taube, H. Some Reactions of ground-state (3P) and electronically excited (1D) sulfur atoms. *J. Chem. Phys.* **1970**, *53*, 1750 – 1766.
142. Krebs, H. A. & Johnson, W. A. The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. *FEBS Lett.* **1980**, *117*, K1–K10.
143. Keller, M. A.; Kampjut, D.; Harrison, S, A.; Ralser, M. Sulfate radicals enable a non-enzymatic Krebs cycle precursor. *Nature* **2017**, *1*, doi: 10.1038/s41559-017-0083.

Références

144. Muchowska, K. B.; Varma, S. J.; Chevallot-Beroux, E.; Lethuillier-Karl, L.; Li, G.; Moran, J. Metals promote sequences of the reverse Krebs cycle. *Nat. Ecol. Evol* **2017**, *1*, 1716-1721.
145. Russell, M. J., Hall, A. J. & Mellersh, A. R. On the dissipation of thermal and chemical energies on the early earth. *Natural and laboratory simulated thermal geochemical processes/* ed. par Raphael, I. Dordrecht: Springer Netherlands, **2003**, p. 325-388.
146. Smith, E. & Morowitz, H. J. The Origin and Nature of Life on Earth: The emergence of the Fourth Geosphere. Cambridge: Cambridge Univ. Press, **2016**, p 691.
147. Patel, M. S., Nemeria, N. S., Furey, W. & Jordan, F. The pyruvate dehydrogenase complexes: Structure-based function and regulation. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 16615–16623.
148. Fontecilla-Camps, C. J. Crystal structure of the free radical intermediate of pyruvate: ferredoxin oxidoreductase. *Science* **2001**, *294*, 2559-2563.
149. Katsyv, A.; Schoelmerich, M. C.; Basen, M.; Müller, V. The pyruvate: ferredoxin oxidoreductase of the thermophilic acetogen, *Thermoanaerobacter kivui*. *FEBS Open Bio.* **2021**, *11*, 1332-1342.
150. Gupta, V.; Kant, V. A review on biological activity of imidazole and thiazole moieties and their derivatives. *Sci. int.* **2013**, *1*, 253-260.
151. Kajjout, M.; Hebling, Y.; Albrecht, P.; Adam, P. Reductive coupling of aldehydes by H₂S in aqueous solutions, a C-C bond forming reaction of prebiotic interest. *Chem. Biodivers*, **2012**, *9* (4), 714-726.
152. Labat, Y.; Darles, P.; Vallée, Y. The reaction of dichloroacetate acid with hydrosulfides. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Ele*, **1989**, *46*, 33-45.
153. Eggins, B. R et al. Formation of two-carbon acids from carbon dioxide by photoreduction on cadmium sulphide. *J. Chem. Soc.* **1988**, <https://doi.org/10.1039/C39880001123>.
154. Eggins, B. R et al. Carbon dioxide fixation by electrochemical reduction in water to oxalate and glyoxylate. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 945-948.
155. Sprinsteen, G., Yerabolu, J. R., Nelson, J., Rhea, C. J. & Krishnamurthy, R. Linked cycles of oxidative decarboxylation of glyoxylate as protometabolic analogs of the citric acid cycle. *Nat. Commun*, **2018**, *9*, 91.

156. Weber, A. L. The sugar model: catalysis by amines and amino acid products. *Orig. Life Evol. Biosph*, **2001**, *31*, 71-86.
157. Mohammed, F. S., Chen, K., Mojica, M., Conley, M., Napoline, J. W., Butch, C., Pollet, P., Krishnamurthy, R. & Liotta, C. L. A plausible prebiotic origin of glyoxylate: nonenzymatic transamination reactions of glycine and formaldehyde. *Synlett*, **2017**, *28*, 93-97.
158. Harpp, D. N. & Smith, R. A. Reaction of trialkyl phosphites with organic trisulfides. synthetic and mechanistic aspects. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4140-4144.
159. Lowther, W. T.; Brot, N.; Weissbach, H.; Honek, J. F.; Matthews, B. W. Thiol-disulfide exchange is involved in the catalytic mechanism of peptide methionine sulfoxide reductase. *PNAS*, **2000**, *97*, 6463-6468.
160. Ramos, M. J.; Fernandes, P. A. Theoretical insights into the mechanism for thiol/disulfide exchange. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 257-266.
161. Fava, A.; Iliceto, A and Camera, E. Kinetics of thiols-disulfide exchange. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 833-838.
162. Ryu, I.; Komatsu, M.; Crich, D.; Chatgililoglu, C. Chemistry of acyl radicals. *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1991-2070.
163. Lewis, C. A. Jr. & Wolfenden, R. Antiproteolytic aldehydes and ketones: Substituent and secondary deuterium isotope effects on equilibrium addition of water and other nucleophiles. *Biochemistry*. **1977**, *16*, 4886–4890.
164. Perkins, J. R *et al.* Chemical equilibria and kinetics in aqueous solutions of zymonic acid. *J. Phys. Chem. A.* **2016**, *120*, 10096–10107.
165. Wada, N.; Wakami, H.; Konishi, T.; Matsugo, S. The effect of biothiol on UV irradiated α -lipoic acid. *Biofactors*, **2008**, *34*, 285-292.
166. Wada, N.; Wakami, H.; Konishi, T.; Matsugo, S. The degradation and regeneration of α -lipoic acid under the irradiation of UV light in the existence of Homocysteine. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **2009**, *44*, 218-222.
167. Denk, M. The variable strength of the sulfur-sulfur bond: 78 to 41 kcal—G3, CBS-Q, and DFT bond energies of sulfur (S₈) and disulfanes XSSX (X = H, F, Cl, CH₃, CN, NH₂, OH, SH). *Eur. J. Inorg. Chem.* **2009**, *22*, 1358–1368.
168. Fontmorin, J. M. *et al.* Stability of 5,5-dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide as a spin-trap for quantification of hydroxyl radicals in process based on Fenton reaction. *Water Res.*, **2016**, *99*, 24-32.

169. Tuccio, B.; Lauricella, R. Détection et caractérisation de radicaux libres par RPE après piégeage de spins (ou spin trapping) : *La spectroscopie de résonance paramagnétique électronique – Applications.*; EDP Sciences : Paris. **2014**.
170. Rosselin, M *et al.* Reactivities of substituted α -Phenyl-*N*-tert-butyl Nitrones. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 6615 – 6626.
171. Buettner, G.R. Spin trapping: ESR parameter of spin adducts. *Free Radic. Biol. Med.*, **1987**, 3, 259-303.
172. Cleland, W. W. Mechanisms of enzymatic oxidative decarboxylation. *Acc. Chem. Res.* **1999**, 32, 10, 862–868.
173. Waddell, T. G.; Henderson, B. S.; Morris, R. T.; Lewis, C. M.; Zimmermann, A. G. Chemical evolution of the citric acid cycle : sunlight photolysis of α -ketoglutaric acid, *Origins of Life*, **1987**, 17, 149 - 153.
174. Ramírez-Vázquez, L & Negrón-Mendoza, A. Stability of α -ketoglutaric acid simulating an impact-generated hydrothermal system: implications for prebiotic chemistry studies. *Int. J. Astrobiol.*, **2020**, 19, 253-259.
175. Chevallot-Beroux, E.; Gorges, J.; Moran, J. Energy conservation via thioesters in a non-Enzymatic metabolism-like reaction network. *ChemRxiv*. 10.26434/chemrxiv.8832425.v1.
176. Ebersson , L. Studies on cyclic anhydrides equilibrium constants for the equilibrium between acid and anhydride in an aqueous solution of some alkylsubstituted maleic acid. *Acta chem. Scand.* **1964**, 18, 1276 – 1282.
177. Ebersson, L.; Welinder, H. Studies on cyclic anhydrides. III. Equilibrium Constants for the acid anhydride equilibrium in aqueous solutions of certain vicinal diacids. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 5821-5826.
178. Mullen, L. B.; Sutherland, J. D. Simultaneous nucleotide activation and synthesis of amino acid amides by a potentially prebiotic multi-component reaction. *Angew Chem Int Ed.* **2007**, 46, 8063-8066.
179. Huber, C.; Wachtershauser G. Peptides by activation of amino acids with CO on (Ni, Fe)S surfaces: implications for the origin of life. *Science* **1998**, 281, 670-672.
180. Turner, B. E.; Liszt, H. S. ; Kaifu, N.; Kisliakov, A. G. Microwave detection of interstellar cyanamide. *Astrophys. J.*, **1975**, 201, L149-L152.
181. Kilpatrick, L. M. A mechanism for the hydrolysis of cyanamide in acid solution. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, 69, 40–46.

Références

182. Yamagata, Y.; Mohri, T. Formation of cyanate and carbamyl phosphate by electric discharges of model primitive gas. *Orig Life*, **1982**, *12*, 41-44.
183. Yamagata, Y. Prebiotic formation of ADP and ATP from AMP calcium phosphates and cyanates in aqueous solution. *Orig Life Evol Biosph.* **1999**, *29*, 511-520.
184. Widner, B *et al.* Distribution, sources, and sinks of cyanate in the coastal north atlantic ocean. *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2016**, *3*, 297-302.
185. Liesen, G. P.; Sukenik, C. N. Activated anhydrides of tartaric and malic acids. Basic techniques of preparative organic chemistry. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 455-457.
186. Kagarlitskii, A. D., Krichevskii, L. A., Astaf'eva, Z. M.; Akhmetova, S. B., Seidakhmetov R. B. & Drab, A. I. Synthesis and antifungal and antibacterial activity of hexahydronicotine derivatives. *Pharm. Chem. J.*, **2008**, *42*, <https://doi.org/10.1007/s11094-008-0098-6>.
187. Repta, A. J.; Higuchi, T. Synthesis and isolation of citric acid anhydride. *J. Pharm. Sci.* **1969**, *58*, 1110-1114.
188. Repta, A. J.; Higuchi, T. Synthesis, isolation, and some chemistry of citric acid anhydride. *J. Pharm. Sci.* **1969**, *58*, 1110-1114.
189. Fischer, J. W.; Merwin, L. H.; Nissan, R. A. NMR investigation of the thermolysis of citric acid. *Appl Spectrosc.* **1995**, *49*, 120-126.
190. Tanaka, K.; Mastui, T.; Tanaka, T. Catalytic formation of keto acids by artificial CO₂ fixation. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3767-3769.
191. Martin, S. T.; Zhang, X. V. Driving parts of Krebs cycle in reverse through mineral photochemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16032-16033.
192. Martin, S. T.; Guzman, M. I. Prebiotic metabolism: production by mineral photo-electrochemistry of α -ketocarboxylic acids in the reductive tricarboxylic acid cycle. *Astrobiology*, **2009**, *9*, 833-842.
193. Martin, S. T.; Guzman, M. I. Photo-production of lactate from glyoxylate: How minerals can facilitate energy storage in a prebiotic world. *Chem Commun (Camb)*. **2010**, *46*, 2265-7.
194. Feng, L *et al.* N-Heterocyclic dicarboxylic acids: Broad-spectrum inhibitors of metallo- β -lactamases with co-antibacterial effect against antibiotic-resistant bacteria. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 5185-5189.

Références

195. PELLEGRINI, N *et al.* New dipeptides containing thiazolidine-4-carboxylic acid derivatives: synthesis and characterization using NMR techniques and X-ray data. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 950-955.
196. Zhang, D.; Ma, Z.; Zheng, X. Synthesis of imidazole-based medicinal molecules utilizing the van leusen imidazole synthesis. *Pharmaceuticals*, **2020**, *13*, 37.
197. Amyes, T. L.; Richard, J. P. Substituent effects on carbon acidity in aqueous solution and at enzyme active sites. *Synlett*, **2017**, *28*, doi: 10.1055/s-0036-1588778.
198. Lunkad, A.S *et al.* Synthesis and screening anthelmintic activity of some thiazole derivatives. *Int. J. Chem. Sci.* **2013**, *11*, 1146-1152.
199. Bartlett, P.D.; Davis, R.E. Reactions of elemental sulfur. II. The reaction of alkali cyanides with sulfur, and some single-sulfur transfer reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2513–2516.
200. Samulewski, R. B *et al.* Magnetite synthesis in the presence of cyanide or thiocyanate under prebiotic chemistry conditions. *Life*, **2020**, *10*, 34; doi:10.3390/life10040034.
201. Gurau, G *et al.* Chlorine-free alternatives to the synthesis of ionic liquids for biomass processing. *Pure Appl. Chem*, **2012**, *84*, 745–754.
202. Derek, M. D.; Thum, M. D.; Falvey, D. E. Photochemical reduction of CO₂ using 1,3-dimethylimidazolylidene. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4152–4155.
203. Paraknowitsch, J, P.; Wienert, B.; Zhang, Y.; Thomas, A. intrinsically sulfur- and nitrogen-co-doped carbons from thiazolium salts. *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 15416 – 15423.
204. Dietl A, *et al.* The inner workings of the hydrazine synthase multiprotein complex. *Nature*. **2015**, *527*, 394–397.
205. Huber C, Wächtershäuser G. Primordial reductive amination revisited. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1695–1697.
206. Wang W, *et al.* Photocatalytic reversible amination of α -keto acids on a ZnS surface: implications for the prebiotic metabolism. *Chem Commun.* **2012**, *48*, 2146-2148.
207. Yanagawa, H., Makino, Y., Sato, K., Nishizawa, Masato. & Egami, F. Novel formation of α -amino acids from α -oxoacids and ammonia in an aqueous medium. *Origins of life*. **1984**, *14*, 163-169.
208. Stoll, S.; Schweiger, A. EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. *J. Magn. Reson.* 2006, *178*, 42-55.

Références

Sur la terre primitive, la vie aurait émergé il y a environ 3.8 milliard d'années. Comprendre comment cela a pu commencer est largement basé sur notre compréhension de l'origine du proto-métabolisme. Bien que l'hypothèse du monde d'ARN soit discutable sur certains points, en particulier la synthèse des macromolécules d'ARN, et leur stabilité dans l'environnement primitif, elle reste le scénario le mieux accepté par la communauté scientifique. D'un autre côté, l'hypothèse du métabolisme d'abord attire également un grand intérêt : elle reprend l'idée du plus simple vers le plus complexe qui concorde avec le principe de l'évolution. Dans cette thèse nous travaillons sur cette seconde hypothèse, pour mettre en évidence le début des processus chimiques aboutissant au métabolisme cellulaire actuel. Nous suggérons donc que des molécules organiques simples auraient pu interagir entre elles et avec les autres éléments du milieu primitif (les minéraux, gaz, et métaux ...) pour donner un premier réseau de réactions, auto-catalytique et thermodynamiquement favorable, qui serait l'ancêtre du métabolisme d'aujourd'hui. Nous nous focalisons dans cette étude sur le cycle des acides tricarboxyliques (appelée aussi le cycle de Krebs) ainsi que sur son cycle inverse. Les deux ont un rôle central dans le métabolisme cellulaire des organismes autotrophes ou hétérotrophes. Le cycle de Krebs inverse en particulier permet la fixation du CO₂ pour produire de la matière organique, ce qui correspond à l'effet principal recherché pour un proto-métabolisme. Afin de prouver l'origine abiotique de ces cycles, nous avons mené une étude pour reproduire une partie du cycle de Krebs, la décarboxylation oxydative du pyruvate, ainsi qu'une version non-enzymatique du cycle de Krebs inverse.

Mots clés : Chimie prébiotique, cycle de krebs inverse, protométabolisme, décarboxylation oxydative (TCA), cycle de krebs, acide pyruvique.

On primitive earth, life probably emerged around 3.8 billion years ago. Understanding how it started is largely based on our understanding of the origin of proto-metabolism. Although the RNA world hypothesis is questionable on certain points, in particular the synthesis of RNA macromolecules, and their stability in the primitive environment, it remains the scenario best accepted by the scientific community. On the other hand, the metabolism first's hypothesis is also attracting great interest: it takes up the idea from the simplest to the most complex which accords with the principle of evolution. In this thesis we are working on this second hypothesis, to highlight the beginning of chemical processes leading to the current cellular metabolism. We, therefore, suggest that simple organic molecules could have interacted with

each other and with the other elements of the primitive environment (minerals, gases, and metals ...) to give the first network of reactions, auto-catalytic and thermodynamically favorable, which would be the ancestor of today's metabolism. We focus in this study on the tricarboxylic acid cycle (also called the Krebs cycle) as well as on its reverse cycle. Both have a central role in the cellular metabolism of autotrophic or heterotrophic organisms. The reverse Krebs cycle, in particular, allows the fixation of CO₂ to produce organic matter, which corresponds to the main effect sought for a proto-metabolism. To prove the abiotic origin of these cycles, we conducted a study to replicate part of the Krebs cycle, the oxidative decarboxylation of pyruvate, as well as a non-enzymatic version of the reverse Krebs cycle.

Keywords: Prebiotic chemistry, reverse tricarboxylic acid cycle, protometabolism, oxidative decarboxylation (TCA), krebs cycle, pyruvic acid.