

Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire
Institut de Chimie de Strasbourg

THESE

présentée par

Aurélie Loison

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG

Recherches sur l'origine de la vie :

**Synthèse prébiotique de composés organiques simples dans
des conditions simulant des sources hydrothermales sous-marines**

Soutenue publiquement le 29 septembre 2010 devant le jury composé de :

Mme	S. Derenne	Rapporteur
M.	J-F. Muller	Rapporteur
Mme	L. Sabatier	Rapporteur
M.	A. Brack	Examineur
M.	P. Adam	Co-Directeur de thèse
M.	P. Albrecht	Co-Directeur de thèse

*« C'est le temps que tu as perdu pour ta rose, qui
fait ta rose si importante. »
Saint-Exupéry*

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire, dirigé par Monsieur Pierre Albrecht, Directeur de Recherche Émérite au CNRS à l'Université de Strasbourg, puis par Monsieur Pierre Adam, Directeur de Recherche à l'Université de Strasbourg.

Je tiens à leur exprimer mes remerciements les plus chaleureux pour l'accueil bienveillant qu'ils m'ont réservé dans leur laboratoire. Ils ont, de plus, dirigé ce travail avec efficacité et compétences.

Je remercie également Monsieur Pierre Adam pour son aide, ses qualités humaines, ses compétences scientifiques et surtout pour sa disponibilité constante qui fut essentielle pour l'accomplissement de ce travail.

Que soient remerciés pour leur participation à ce jury de thèse Monsieur André Brack, Directeur de Recherche Émérite au CNRS, Centre de Biophysique Moléculaire, UPR 4301, Orléans ; Madame Sylvie Derenne, Directeur de Recherche au CNRS, UMR 7618, Biogéochimie et Écologie des Milieux Continentaux, Paris ; Monsieur Jean-François Muller, Professeur Émérite à l'Université de Metz ; ainsi que Madame Laurence Sabatier, Professeur à l'École Européenne de Chimie Polymères et Matériaux de Strasbourg. C'est un grand honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail.

Je ne manquerai pas de remercier tous les membres actuels et anciens de l'équipe du Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire, pour l'ambiance sympathique qu'ils ont su créer autour de la paillasse, comme au coin café (et chocolat chaud), pour leur soutien, leurs conseils et leur gentillesse : Agnès Schmitt, Armelle Charrié-Duhaut, Clément Richert, Estelle Mastio-Motsch, Gaby Schmitt, Jean-Michel Trendel, Philippe Schaeffer, Raymonde Baltenweck-Guyot et Ruben Ocampo Torres. J'ai une pensée toute particulière pour Marie-Claude Schweigert, arrachée cruellement à notre affection par le destin, et qui travaillait également dans le domaine de la synthèse prébiotique d'acides aminés.

Mes remerciements vont également à tous mes camarades thésards et stagiaires, pour leur sympathie et leur bonne humeur : Ali Khalil, Aurélie Même, Claire Bastien, Claude Le Milbeau, Diana Salem, Hassan Traboulsi, Ibtisam Salem, Inès M'Rabet, Jonathan Prunier, Joseph Chamieh, Julien Célérier, Julien Dalvai, Leslie Carlier, Mohamad Hmadeh, Mojgan Ladjavardi, Nicolas Rouquette, Pauline Burger, Pierre Le Métayer, Sabine Méhay, Samir Safi, Stéphane Dubant, Sylvestre Gug, Yann Hautevelle, Zeina Mehyou...

Je voudrais tout particulièrement remercier mes amis, rencontrés au laboratoire, sur le campus, à Strasbourg ou ailleurs, qui ont toujours trouvé le temps de prendre de mes nouvelles, de m'écouter et de me soutenir.

Enfin, je souhaite faire part de ma plus profonde gratitude à chacun des membres de ma famille. Je remercie mes parents, Stéphanie et Elodie d'avoir cru en moi, de m'avoir encouragée et aidée, en particulier pendant les dernières années de la thèse. Je remercie Elias pour sa foi en moi, sa patience, ses encouragements, ses bons conseils, mais aussi pour son aide précieuse. Je leur dédie donc cette thèse

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	I
TABLE DES MATIÈRES	III
GLOSSAIRE	VII
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE I : IL ÉTAIT UNE FOIS LA VIE	5
A. INTRODUCTION.....	6
B. HISTOIRE DE LA TERRE & EVOLUTION DES CONDITIONS RÉGNANT SUR LA TERRE PRIMITIVE.....	7
C. PRINCIPALES THÉORIES POUR L'APPARITION DE LA VIE SUR LA TERRE	12
<i>C.1 Scénarios de l'apparition de la vie les plus connus.....</i>	<i>12</i>
C.1.1 Le monde de l'ARN	12
C.1.2 Approche métabolique	16
C.1.3 Approche compartimentée.....	21
<i>C.2 Différents lieux pour l'apparition de la vie sur la Terre</i>	<i>22</i>
D. SOURCES HYDROTHERMALES.....	24
<i>D.1 Descriptions des différents types de sources hydrothermales sous marines.....</i>	<i>24</i>
D.1.1 Les « fumeurs noirs ».....	24
D.1.2 Les sources hydrothermales liées exclusivement au processus de serpentinisation : Exemple du champ hydrothermal de « Lost City ».....	28
<i>D.2 Intérêt des sources hydrothermales sous-marines.....</i>	<i>29</i>
<i>D.3 Mise en évidence de composés organiques d'origine abiotique dans des fluides hydrothermaux.....</i>	<i>31</i>
E. SYNTHÈSE PRÉBIOTIQUE DES BRIQUES DU VIVANT	32
<i>E.1 Historique & Expérience de S. Miller</i>	<i>32</i>
<i>E.2 Formation de compartiments par interaction de composés amphiphiles.....</i>	<i>34</i>
E.2.1 La vie cellulaire actuelle.....	34
E.2.2 Recherches sur la formation de micelles ou vésicules.....	36
<i>E.3 Étude de la synthèse abiotique de composés organiques lipidiques et de réactions d'intérêt prébiotique au niveau de sites hydrothermaux.....</i>	<i>40</i>
E.3.1 Expériences en absence de soufre.....	41
E.3.2 Expériences réalisées en présence de sulfures métalliques	41
<i>E.4 Synthèse prébiotique d'acides aminés</i>	<i>46</i>
E.4.1 Formation abiotique d'acides aminés dans l'atmosphère primitive	47
E.4.2 Synthèse prébiotique d'acides aminés dans l'espace.....	49
E.4.3 Abiogenèse des acides aminés dans l'eau	51
<i>E.5 Quelques découvertes récentes et marquantes en chimie prébiotique</i>	<i>53</i>
F. AXES DE RECHERCHE SUIVIS AU COURS DE CETTE THÈSE ET OBJECTIFS	55

CHAPITRE II : DÉMARCHES EXPÉRIMENTALES	57
A. INTRODUCTION	58
B. MATÉRIEL UTILISÉ	59
<i>B.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)</i>	<i>59</i>
<i>B.2 Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)</i>	<i>59</i>
B.2.1 Analyse des composés organiques liquides	59
B.2.2 Analyse des composés gazeux	60
<i>B.3 Microextraction sur phase solide (SPME)</i>	<i>61</i>
<i>B.4 Autoclave</i>	<i>64</i>
<i>B.5 Réacteurs en verre</i>	<i>66</i>
<i>B.6 Gaz toxiques :</i>	<i>67</i>
C. EXPÉRIENCES DE SIMULATION	69
<i>C.1 Conditions et précautions particulières</i>	<i>69</i>
<i>C.2 Expériences de simulation en autoclave</i>	<i>70</i>
<i>C.3 Expériences de simulation en réacteurs en verre</i>	<i>73</i>
C.3.1 Expérience de simulation de base dans un réacteur en verre de 100mL	74
C.3.2 Expérience de simulation de base dans un flacon Sovirel de 50mL	75
<i>C.4 Expériences avec des réactifs marqués au deutérium ou au carbone 13</i>	<i>76</i>
C.4.1 Expériences dans D ₂ O	77
C.4.2 Expériences mettant en jeu un marquage au ¹³ C	77
<i>C.5 Résumé des différents substrats organiques utilisés lors d'expériences de simulation en autoclave et en réacteurs en verre</i>	<i>77</i>
D. PROTOCOLES DE TRAITEMENT DES MILIEUX RÉACTIONNELS ET PROTOCOLES ANALYTIQUES	79
<i>D.1 Procédures expérimentales et analytiques pour les expériences de simulation en autoclave</i>	<i>80</i>
D.1.1 Prélèvement et analyse des composés volatils et gazeux	80
D.1.2 Dérivation et analyse des thiols	82
D.1.3 Analyse qualitative des acides carboxyliques de faible poids moléculaire	88
D.1.4 Analyse des acides carboxyliques de haut poids moléculaire (>C7), ou de diacides	89
D.1.5 Quantification des petits acides carboxyliques deutériés	90
<i>D.2 Procédures expérimentales et analytiques pour les expériences de simulation en réacteur en verre</i>	<i>103</i>
D.2.1 Traitement de base du milieu réactionnel	103
D.2.2 Analyse quantitative des composés liposolubles et des composés hydrosolubles	105
E. CARACTÉRISATION DES PRODUITS FORMÉS LORS D'ESSAIS EN LABORATOIRE	108
<i>E.1 Première identification par l'interprétation des spectres de masse</i>	<i>108</i>
<i>E.2 Caractérisation des molécules d'intérêt prébiotique à l'aide de composés de référence</i>	<i>108</i>
E.2.1 Composés de référence commerciaux utilisés pour la caractérisation	108
E.2.2 Synthèse de composés de référence pour la caractérisation	109
E.2.3 Caractérisation des produits clés par comparaison de leur comportement chromatographique et de leur spectre de masse (IE) avec ceux des composés de références	112

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION LA FORMATION DE LIAISONS CARBONE - CARBONE	115
A. INTRODUCTION	116
B. FORMATION PRÉBIOTIQUE DE LIAISONS CARBONE-CARBONE DANS DES CONDITIONS SIMULANT CELLES DES FUMEURS NOIRS	117
<i>B.1 Mise au point des expériences en autoclave simulant les conditions régnant aux alentours des sources hydrothermales sous-marines.....</i>	<i>117</i>
<i>B.2 Expériences de simulation en autoclave à partir de CO comme source de carbone</i>	<i>121</i>
B.2.1 Introduction	121
B.2.2 Molécules gazeuses ou volatiles observées lors d'expériences de simulation typiques	122
B.2.3 Acides carboxyliques observés dans la phase liquide d'expériences de simulation typiques	136
<i>B.3 Conclusions sur la formation de liaisons C-C observée dans des conditions simulant celles aux alentours des fumeurs noirs</i>	<i>142</i>
C. ÉLUCIDATION DES MÉCANISMES MIS EN JEU DANS LA FORMATION DE LIAISONS CARBONE-CARBONE	144
C.1 Introduction	144
C.2 Travaux antérieurs effectués au laboratoire	144
C.3 Expériences de simulation impliquant des substrats organiques	146
C.3.1 Conditions réactionnelles choisies	146
C.3.2 Résultats	148
C.4 Discussion des résultats	171
C.4.1 Processus itératif d'élongation de chaîne	171
C.4.2 Rôle intermédiaire clé des aldéhydes dans le processus itératif de synthèse de petits composés organiques	172
C.4.3 Catalyse par Ni(0) sous la forme de complexes carbonylés de nickel	176
C.4.4 Quelques remarques sur la synthèse des produits observés lors des expériences en autoclave et en flacons en verre	184
C.4.5 Mise en évidence d'une voie de formation de composés branchés	193
C.4.6 Autres approches mécanistiques possibles pour la formation de liaisons carbone-carbone	202
C.5 Conclusion	207

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSION LA FORMATION DE COMPOSÉS BI-FONCTIONNALISÉS 211

A. INTRODUCTION	212
B. FORMATION PRÉBIOTIQUE DE COMPOSÉS BI-FONCTIONNALISÉS DANS DES CONDITIONS SIMULANT CELLES DES FUMEURS NOIRS	213
<i>B.1 Mise en évidence de composés bi-fonctionnalisés dans des expériences de laboratoire.....</i>	<i>214</i>
B.1.1 Mise en évidence de dérivés de l'acide acétique portant une fonction soufrée en position 2	214
B.1.2 Recherche d'autres composés di-fonctionnalisés	218
<i>B.2 Éluclation des mécanismes de formation des composés bi-fonctionnalisés</i>	<i>218</i>
B.2.1 Proposition de mécanismes de synthèse de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2	218
B.2.2 Discussion sur la nature des mécanismes proposés basée sur des expériences complémentaires impliquant des substrats organiques	225
B.2.3 Proposition de mécanismes de formation de l'acide oxalique	237
B.2.4 Discussion sur le mode de formation de composés bi-fonctionnalisés dans les conditions régnant au niveau des sources hydrothermales suggéré par G. Wächtershäuser et G. Cody	240
<i>B.3 Conclusions</i>	<i>247</i>

C.	FORMATION PRÉBIOTIQUE D'ACIDES AMINÉS DANS DES CONDITIONS SIMULANT CELLES DES FUMEURS NOIRS....	249
C.1	<i>Observation d'un acide aminé lors d'une expérience de simulation impliquant une source azotée</i>	249
C.1.1	Voies possibles de formation d'acides aminés dans des conditions simulant celles régnant au niveau des fumeurs noirs.....	249
C.1.2	Mise au point des conditions opératoires pour la réalisation d'expériences de simulation visant à tester notre hypothèse de formation d'acides aminés dans le contexte des sources hydrothermales.....	251
C.1.3	Résultats obtenus lors d'une expérience de simulation visant à tester notre hypothèse de formation d'acides aminés dans le contexte des sources hydrothermales : synthèse de la glycine.....	257
C.2	<i>Proposition et discussion de mécanismes</i>	264
C.2.1	Processus de transformation en acides aminés des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en α	264
C.2.2	Essai impliquant un substrat organique, un N,S-acétal, pour élucider le mécanisme.....	267
C.2.3	Proposition d'un nouveau mécanisme général pour la synthèse des acides aminés dans les conditions régnant au niveau des sources hydrothermales.....	269
C.3	<i>Conclusions sur la synthèse des acides aminés</i>	273
D.	CONCLUSIONS SUR LA FORMATION DE COMPOSÉS BI-FONCTIONNALISÉS.....	274
	CONCLUSIONS & PERSPECTIVES	277
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	283
	ANNEXES.....	309
A.	VÉRIFICATION DE L'IMPROBABILITÉ DE L'ÉCHANGE HYDROGÈNE – DEUTÉRIUM.....	310
B.	SOLUBILITÉ DE CO ET H ₂ S DANS L'EAU	313

GLOSSAIRE

- **ADN** : Acide **d**ésoxyribonucléique
- **ADP** : Adénosine **d**iphosphate
- **Apex** : Mot latin signifiant sommet ou pointe
- **ARN** : Acide **r**ibonucléique
- **ATP** : Adénosine **t**riphosphate
- **CAR/PDMS** : **C**arboxen / **P**oly**d**iméthylsiloxane
- **CG/SM** : Chromatographie **g**azeuse couplée à la spectrométrie de **m**asse
- **CPG** : Chromatographie en **p**hase **g**azeuse
- **FID** : **F**lame **i**onisation **d**etector - **D**étecteur à **i**onisation de **f**lamme
- Composé « **géo**chimique » ou « **géo** » : substrat organique purifié par distillation, chromatographie sur colonne de silice ou extraction liquide-solide par solvant, à l'aide d'un soxhlet.
- Matériel « **géo** »: matériel ultra-propre, ayant été lavé soigneusement et rincé avec des solvants « **géo** », puis n'ayant pas été en contact direct avec les mains notamment.
- Solvants « **géo** » : appellation locale pour les solvants distillés au laboratoire avant utilisation pour le rinçage de la verrerie, les extractions ...
- **IC** : **I**onisation **c**himique
- **IE** : **I**mpact **é**lectronique
- **NEM** : **N**-éthyl**m**aleimide
- **PDMS/DVB** : **P**oly**d**iméthylsiloxane / **D**ivinyl**b**enzène
- **PTFE** : **P**oly**t**étrafluor d'**é**thylène
- **RIC** : **R**econstitued **I**on **C**urrent - **C**ourant d'**I**on **R**econstitué
- **SIM** : **S**ingle **I**on **M**onitoring – Détection de un ou quelques ions caractéristiques
- Injection en mode **Split/Splitless** : Injection à division de flux ou sans division de flux
- **SPME** : **S**olid **p**hase **m**icro**e**xtraction - **M**icro**e**xtraction sur **p**hase **s**olide
- **TFAA** : **T**rifluoro**a**cetic **a**cid – Acide **t**rifluoro**a**cétique
- **TIC** : **T**otal **I**on **C**urrent – **C**ourant d'**I**on **T**otal

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Comment la vie est-elle apparue sur Terre ? Pourtant habitués à remonter le cours du temps à la recherche des origines des espèces, les paléontologues sont bien en peine de répondre. Un fossé, large de plusieurs centaines de millions d'années, sépare en effet les plus anciens fossiles dont ils disposent et les tout premiers ancêtres de ces organismes.

Comment pouvons-nous étudier scientifiquement l'origine de la vie sur Terre ? Cet événement n'a pas laissé de traces fossiles, ou du moins, nous ne savons pas les reconnaître. Ainsi, nous sommes obligés de considérer que la vie est apparue à partir de la matière inanimée via un processus continu et spontané d'évolution moléculaire, régulé par les lois de la chimie et de la physique. La nature n'a en fait produit la vie qu'après plusieurs millions d'années d'essais et d'erreurs. Le chimiste pourra peut-être un jour recréer la vie en laboratoire, en quelques mois, jours ou heures.

La chimie prébiotique est une branche spéciale de la chimie organique. Son but est de définir et d'explorer la chimie de l'apparition des premiers processus vivants. Elle se différencie par le fait qu'elle est régie par l'obligation de mettre en œuvre des conditions réactionnelles potentiellement prébiotiques. Ainsi, la difficulté majeure des recherches dans ce domaine est de déterminer exactement quelles étaient les conditions régnant sur la Terre primitive. A ce propos, les géologues et les paléontologues fournissent quelques indications par leur étude de l'évolution de la Terre et délimitent donc un domaine de conditions autorisées pour les synthèses prébiotiques en laboratoire. D'autre part, les travaux en chimie prébiotique révèlent combien des réactions simples en synthèse conventionnelle peuvent apparaître impossibles ou très difficiles sous les contraintes de la chimie prébiotique.

Au cours de cette thèse, nous avons particulièrement suivi la théorie selon laquelle les sources hydrothermales de type fumeurs noirs auraient été le berceau de la vie.

L'objectif principal du travail de thèse présenté dans ce manuscrit est donc d'élucider et d'optimiser les processus impliqués dans la synthèse abiotique de composés organiques d'intérêt prébiotique dans les conditions compatibles avec celles qui existaient aux alentours des fumeurs noirs primitifs.

Dans le chapitre I, nous aborderons les événements majeurs de l'histoire de la Terre. Nous présenterons, en outre, les principales théories pour l'apparition de la vie sur la Terre et nous nous intéresserons aux sources hydrothermales sous-marines. Enfin, nous présenterons une synthèse bibliographique des différentes recherches effectuées en chimie prébiotique, dans le domaine de la formation de petits composés organiques, particulièrement dans les conditions hydrothermales, et nous définirons les principaux axes de recherche de cette thèse.

Le chapitre II présente les démarches expérimentales des travaux de recherche effectués au cours de cette thèse, plus précisément, le matériel utilisé, la mise en œuvre des expériences de simulation en laboratoire, les protocoles de traitement et d'analyse des milieux réactionnels ainsi que les méthodes utilisées pour identifier les composés d'intérêt prébiotique observés au cours des différentes expériences.

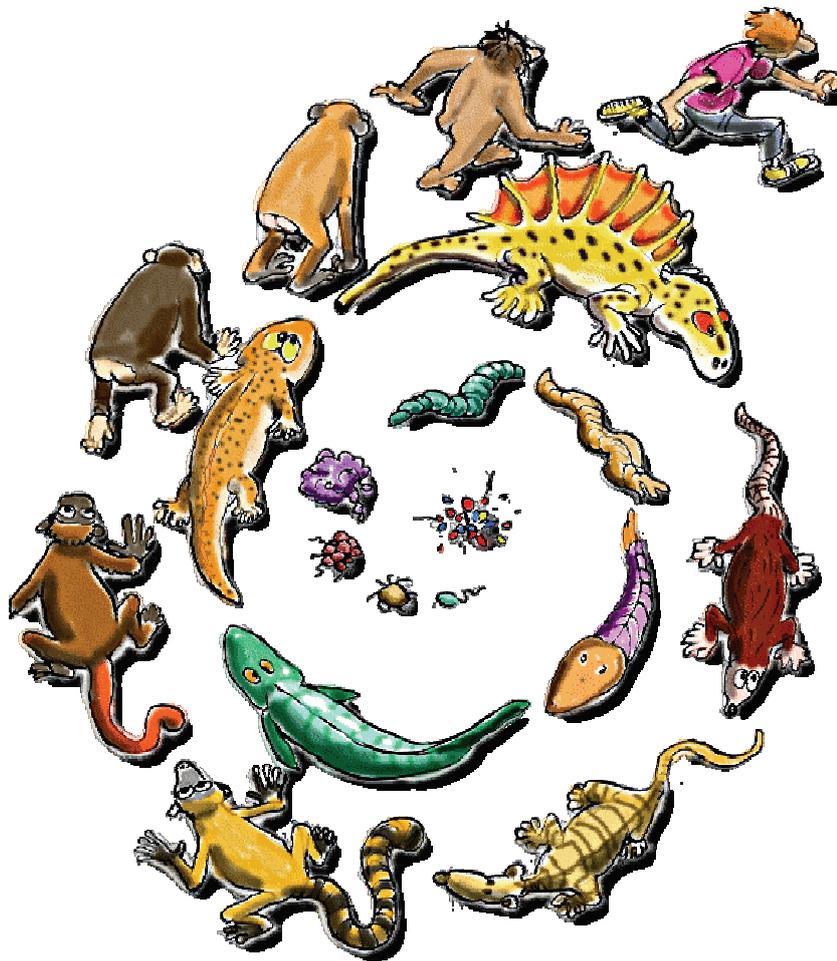
Dans le chapitre III, nous présenterons l'étude de la formation prébiotique de liaisons carbone-carbone, susceptible de permettre notamment la synthèse abiotique de chaînes hydrocarbonées mono-fonctionnalisées, telles que les acides carboxyliques linéaires, précurseurs potentiels de constituants membranaires, à partir de matières premières simples et prébiotiquement vraisemblables, dans les conditions compatibles avec celles qui existaient aux alentours des fumeurs noirs primitifs. Nous nous pencherons bien entendu sur les aspects mécanistiques de la formation de liaisons C-C.

Dans le chapitre IV, nous aborderons l'évaluation du potentiel des conditions régnant aux alentours des fumeurs noirs pour la formation de composés organiques poly-fonctionnalisés simples, notamment les dérivés d'acides carboxyliques soufrés, les cétoacides, les diacides et les acides aminés. Nous nous intéresserons évidemment aux voies réactionnelles permettant leur formation.

Enfin, nous présenterons les principales conclusions que nous pouvons tirer des travaux de recherche présentés dans ce manuscrit et nous donnerons quelques perspectives pour continuer les recherches dans le domaine de la synthèse prébiotique de composés mono-ou bi-fonctionnalisés dans les conditions compatibles avec celles qui existaient aux alentours des fumeurs noirs primitifs.

Chapitre I :

IL ÉTAIT UNE FOIS LA VIE ...



A. Introduction

Dans ce chapitre, tout d'abord, afin que le lecteur ait une vue d'ensemble sur l'apparition de la vie, nous fournirons dans la partie B (page 7), des informations sur les étapes principales de l'histoire de la Terre et de l'évolution des conditions régnant sur la Terre primitive.

Puis, dans la partie C (page 12), nous aborderons les principales théories scientifiques publiées pour l'apparition de la vie sur la Terre, en nous intéressant aux scénarios les plus connus, puis aux différents lieux suggérés comme berceaux de la vie.

Dans la partie D (page 24), nous nous intéresserons plus particulièrement aux sources hydrothermales, sites potentiels pour l'abiogenèse et les premières étapes de l'évolution chimique. Les différents types de sources hydrothermales sous marines seront décrits, puis nous présenterons leurs atouts pour la chimie prébiotique. Enfin, nous fournirons quelques détails concernant les composés organiques d'origine abiotique qui ont pu être mis en évidence dans des fluides hydrothermaux, montrant ainsi le potentiel de ces sites pour la formation prébiotique de molécules organiques.

Ensuite, dans la partie E (page 32), nous entrerons dans le vif du sujet, c'est-à-dire la synthèse prébiotique des briques du vivant. Après un petit historique des découvertes en chimie prébiotique, nous aborderons les recherches effectuées auparavant sur l'origine des cellules et en particulier sur la formation de compartiments dans des environnements aqueux à l'aide de composés amphiphiles. Ces derniers étant en fait des chaînes hydrocarbonées de type lipidique, nous décrirons les principales découvertes en relation avec la synthèse abiotique de composés organiques lipidiques au niveau de sites hydrothermaux, une problématique au cœur des travaux présentés dans cette thèse. Nous ajouterons quelques détails sur les différentes réactions d'intérêt prébiotique pouvant s'être déroulées aux alentours des sources hydrothermales. Les recherches effectuées au cours de cette thèse portant également pour une bonne part sur l'abiogenèse des acides aminés, nous nous intéresserons aussi dans ce chapitre aux principales découvertes publiées à ce sujet. Enfin, nous présenterons les faits les plus marquants des dernières années dans le domaine de la synthèse prébiotique en général.

Finalement, dans la partie F (page 55), après toutes ces informations sur l'origine de la vie, nous resituerons les axes de recherches suivis au cours de cette thèse, ainsi que nos principaux objectifs.

B. Histoire de la Terre & Evolution des conditions régnant sur la Terre primitive

Dans le cadre de la recherche scientifique consacrée à l'origine de la vie sur la Terre il est indispensable de connaître les conditions environnementales qui régnaient sur la Terre il y a plusieurs milliards d'années, afin de proposer des scénarios crédibles pour la synthèse prébiotique des molécules importantes pour la vie et de mettre en œuvre des expériences simulant ces conditions primitives. Les données géologiques recueillies jusqu'à présent ont donné quelques informations sur un certain nombre de points, tels que la composition atmosphérique, la présence d'eau liquide, de terres émergées ainsi que la nature des roches présentes.

Dans les paragraphes suivants, nous allons suivre les grands événements de l'histoire de la vie sur la Terre, résumés et illustrés dans la Figure I - 1 page suivante.

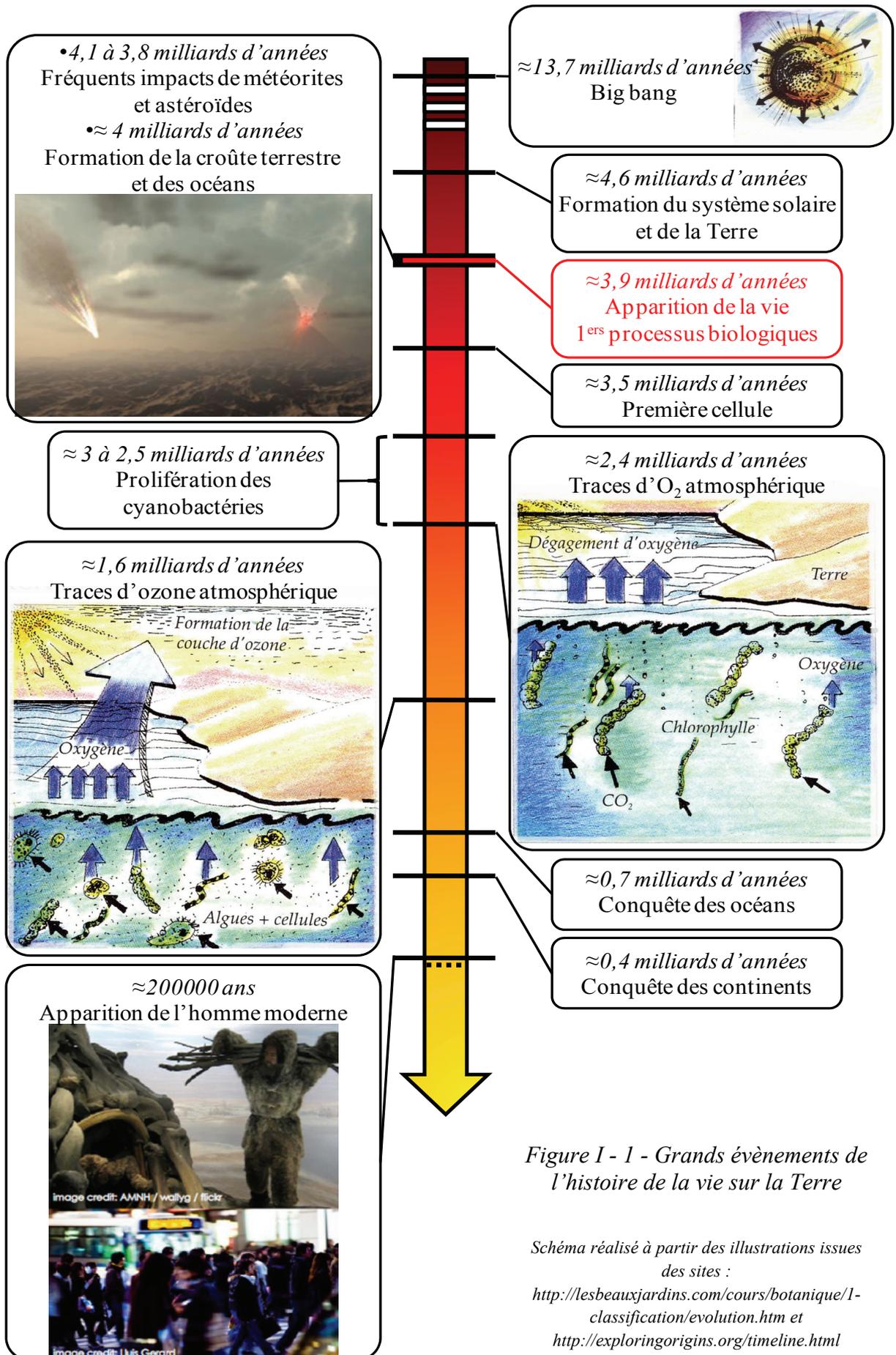


Figure I - 1 - Grands évènements de l'histoire de la vie sur la Terre

Schéma réalisé à partir des illustrations issues des sites :

<http://lesbeauxjardins.com/cours/botanique/1-classification/evolution.htm> et

<http://exploringorigins.org/timeline.html>

La Terre se forma il y a 4,6 milliards d'années sous la forme d'une masse chaude de roches en fusion, d'après l'ouvrage de Bada J. & Wills C. - 2000.

Sleep N.H. *et al.* - 2001 proposent que, quelques 600 millions d'années après sa formation, la Terre se soit refroidie. Ainsi, les températures initialement très hautes diminuèrent, la croûte terrestre et les continents se formèrent ; et une grande partie de la vapeur d'eau présente dans l'atmosphère primitive se condensa en eau liquide et s'accumula pour former les océans.

Dans sa revue traitant de l'origine et de l'évolution des océans et des continents, Nutman A.P. - 2006 mentionne que des preuves géologiques de l'existence d'eau liquide il y a environ 4 milliards d'années sont fournies par des roches sédimentaires âgées de plus de 3,8 milliards d'années. Notamment, d'après l'article de Mojzsis S.J. *et al.* - 2001, une indication de l'existence de l'eau liquide a été découverte sur des cristaux de sulfate de zirconium ($ZrSO_4$) datés de 3,9 à 4,28 milliards d'années et présentant un enrichissement en oxygène ^{18}O attestant que $ZrSO_4$ a bien cristallisé en présence d'eau liquide.

L'eau présente dans l'atmosphère primitive proviendrait de l'émission volcanique de gaz après l'accrétion de la Terre ou de collisions de notre planète avec des comètes ou des astéroïdes contenant de l'eau, d'après Rubey W.W. - 1964, Delsemme A.H. - 1992, Robert F. - 2001 et Chyba C.F. & Sagan C. - 1997.

Les géologues Sagan C. & Mullen G. - 1972 et Gough D.O. - 1981, proposent que les températures sur la Terre chutèrent en dessous ou proches de la température de solidification de l'eau pendant 500 millions d'années à cause du plus faible rayonnement solaire de l'époque. Toutefois, il a été proposé par Owen T. *et al.* - 1979 et Kasting J.F. & Howard M.T. - 2006, que CO_2 et la vapeur d'eau résultant de l'activité volcanique intense de l'époque aient provoqué un effet de serre qui put compenser le faible rayonnement du jeune soleil et maintenir les océans liquides. D'autre part, d'après Neukum G. - 1987 et Bada J.L. *et al.* - 1994, les conditions climatiques primitives étaient probablement variables, la terre étant à plusieurs reprises réchauffée par des impacts de météorites (diamètres jusqu'à environ 100 kilomètres) encore fréquents et suffisants pour faire fondre les océans éventuellement gelés. En outre, selon Teerikorpi P. *et al.* - 2009, les conditions climatiques variaient également sous l'influence de vents et de marées violents causés par la lune dont l'orbite était alors plus proche de la Terre qu'aujourd'hui. Par ailleurs, la variation diurne de la Terre était rapide puisque celle-ci tournait sur elle-même en cinq heures. Enfin, il y avait des lieux localement plus chauds que d'autres, constituant vraisemblablement des environnements chimiques très réactifs, notamment les sites volcaniques et géothermiques. Ainsi, l'évolution chimique aurait pu avoir lieu dans des milieux aqueux liquides, dans les océans à l'abri des bombardements de météorites et d'astéroïdes et des éventuels déchaînements climatiques.

La composition chimique de l'océan primitif, sa température et son pH restent incertains. Le caractère acide des émanations volcaniques a probablement rendu l'océan primitif également acide. Toutefois, selon l'ouvrage de Rauchfuss H. - 2008d, un peu plus tard dans l'histoire des débuts de la Terre, un lessivage par des pluies intenses auraient pu conduire à un pH neutre. La possibilité que l'océan ait été basique a également été discutée par Abelson P.H. - 1966. Dans ce cas, l'érosion de roches basiques, telles que des basaltes ou de l'olivine, aurait entraîné une

augmentation du pH de l'océan primitif. De nos jours, les océans ont un pH proche de 8 et il est possible que le pH ait très peu varié pendant les millions d'années de l'histoire de la Terre, d'après Rauchfuss H. - 2008d. De plus, Bada J. & Wills C. - 2000 proposent que la quantité de sel ait été probablement plus importante que celle d'aujourd'hui, mais nous ne possédons pas d'information exacte à ce sujet. Par ailleurs, en plus des divers sels dissous, des substances dans certains cas très toxiques entreraient dans la composition chimique de l'océan ancestral. Enfin, nous ne savons pas s'il y avait un seul océan ou plusieurs.

Selon Rauchfuss H. - 2008d, il est également crédible que des lacs et des étangs existaient avec des compositions chimiques différentes.

La composition de l'atmosphère primitive est très controversée. Plusieurs théories ont été proposées au cours de l'histoire. Tous les modèles suggérés sont hypothétiques car aucun échantillon de l'atmosphère primitive n'est disponible et les plus vieilles roches ne nous donnent que des informations limitées.

Il est certain que le dioxygène était totalement absent de l'atmosphère primitive. Étant donné que l'hydrogène est l'élément le plus commun dans l'univers, beaucoup de chercheurs de la première moitié du siècle dernier, notamment Miller S.L. & Urey H.C. - 1959, supposèrent que beaucoup de composés étaient présents sous une forme hydrogénée pendant la formation de la Terre, c'est-à-dire dans leur état réduit. La théorie d'une atmosphère réductrice a donc été fortement soutenue par les expériences historiques de Miller S.L. - 1953. Pourtant deux années auparavant, le géochimiste Rubey W.W. - 1951 avait suggéré que les dégagements gazeux volcaniques, à forte concentration en dioxyde de carbone, étaient la source principale de gaz de l'atmosphère primitive. Les expériences de S. Miller et H. Urey avaient été suivies par d'autres synthèses à succès dans des conditions réductrices, entraînant dans un premier temps l'oubli de la proposition de W. Rubey.

Toutefois, des doutes survinrent au sujet de la réalité des propriétés réductrices de la Terre à ses débuts, basés sur les points suivants. En premier lieu, si l'atmosphère primitive avait été riche en gaz hydrogénés au tout début de l'existence de la Terre, le bombardement intense de la Terre ou les vents violents de l'époque auraient chassé ces gaz de l'atmosphère, selon l'ouvrage de Rauchfuss H. - 2008a. De plus, l'atmosphère des deux voisins directs de la Terre, Vénus et Mars, contient entre 95 et 98% de dioxyde de carbone. En outre, Decker R. & Decker B. - 1997 et Holland H.D. - 1984 rappellent que les dégagements gazeux volcaniques d'aujourd'hui sont constitués principalement d'eau et de dioxyde de carbone. Il y a de bonnes raisons géologiques, géochimiques et géophysiques de supposer que les dégagements actuels ne sont pas bien différents de ceux qui se produisaient il y a environ 4 milliards d'années. Et nous ne pouvons qu'accepter l'idée que l'activité volcanique était alors beaucoup plus importante que de nos jours. Par ailleurs, des études consacrées aux plus vieilles roches sédimentaires indiquent que l'air de la jeune Terre était riche en dioxyde de carbone et diazote (Rauchfuss H. - 2008a). Des expériences, publiées par Owen T. *et al.* - 1979, ont également montré que les gaz ammoniac et méthane, proposés dans les théories réductrices, sont des molécules labiles photochimiquement qui sont facilement décomposées par le rayonnement solaire ou les radiations cosmiques. Enfin, comme nous l'avons évoqué plus tôt, d'après Owen T. *et al.* - 1979, une concentration

conséquente en dioxyde de carbone a probablement pu contribuer à l'apparition d'un effet de serre permettant d'éviter le gel des océans et rendant possible les mécanismes synthétiques pour la formation des biomolécules.

Certains chercheurs, notamment Tian F. *et al.* - 2005 et Chyba C.F. - 2005, ont toutefois récemment proposé que la fuite du dihydrogène éventuellement présent au tout début aurait été moins importante et rapide que prévue et donc que l'air primitif aurait pu contenir jusqu'à 40% de dihydrogène. Cette nouvelle suggestion bien que peu vérifiable montre combien nous manquons de certitudes sur les conditions régnant il y a 4 milliards d'années et combien de telles différences dans la composition de l'atmosphère peuvent affecter les voies possibles pour la chimie prébiotique.

Il est désormais généralement admis que l'atmosphère primitive était constituée de dioxyde de carbone, gaz dominant, de diazote, d'eau, de monoxyde de carbone et de dihydrogène, comme le proposent Walker J.C.G. *et al.* - 1983 et Kasting J.F. & Howard M.T. - 2006. Par ailleurs, il est supposé que la pression atmosphérique était alors environ 10 à 20 fois celle d'aujourd'hui (Teerikorpi P. *et al.* - 2009). Il est toutefois possible que des vapeurs de fer et des formes réduites de carbone provenant d'impacts de météorites sur les océans aient conduit à l'existence de régions localement réductrices (Rauchfuss H. - 2008b).

L'ozone était probablement présent à l'état de traces dans l'atmosphère de la Terre à ses débuts, étant donné que l'oxygène libre était absent ou en concentrations extrêmement faibles. La jeune Terre n'avait par conséquent pas de couche d'ozone protectrice, laissant les rayons Ultra-violet à courtes longueurs d'ondes pénétrer l'atmosphère (Rauchfuss H. - 2008a).

Les plus vieilles roches sédimentaires restées en partie intactes sont âgées d'environ 3,8 milliards d'années et ont été observées à Isua, sur la côte ouest du Groenland, par Schopf J.W. - 1999 et Mojzsis S.J. *et al.* - 1996. Ces roches contiendraient de petites inclusions de carbone, correspondant probablement à des restes d'organismes vivants. Ce carbone aurait probablement été transformé au cours du temps en carbone graphite, ne laissant malheureusement aucune trace de structures cellulaires ou de composés biochimiques. Toutefois, l'origine biotique du carbone observé a été prouvée par son enrichissement en ^{12}C par rapport au ^{13}C , en comparaison avec le rapport isotopique du dioxyde de carbone de l'air, d'après Schidlowski M. - 1988, Mojzsis S.J. *et al.* - 1996 et Rosing M.T. - 1999. Les processus biologiques favorisent en effet fortement l'utilisation de l'isotope ^{12}C et donc un enrichissement en ^{12}C indique une origine biologique des composés. Plusieurs chercheurs, dont Eiler J.M. - 2007, émettent toutefois des doutes sur l'implication des premiers processus biologiques dans l'enrichissement en ^{12}C observé.

Il est admis que la vie serait donc apparue sur la Terre il y a environ 3,9 milliards d'années, pendant ou juste après l'ère des bombardements lourds, pendant laquelle la Terre subissait des impacts massifs accompagnant la fin de la formation du système solaire, il y a 4 milliards d'années (Maher K.A. & Stevenson D.J. - 1988 ; Abramov O. & Mojzsis S.J. - 2009).

C. Principales théories pour l'apparition de la vie sur la Terre

C.1 Scénarios de l'apparition de la vie les plus connus

Il y a bien sûr beaucoup de modèles et scénarios mentionnés dans la littérature afin d'expliquer l'apparition de la vie. Chacun représente une façon différente de considérer l'origine de la vie et conduit à proposer différentes approches expérimentales pour l'étudier. Il y a plus de trente modèles dont certains ont été construits mathématiquement ou par modélisation informatique et ne peuvent pas être contrôlés expérimentalement. Une question est posée très souvent, notamment par Shapiro R. - 2007, semblable au dilemme de l'œuf et de la poule. Qui fut le premier, l'information, c'est-à-dire la réplication, ou le métabolisme ?

Trois théories principales vont être présentées dans les paragraphes suivants : le monde de l'ARN, l'approche métabolique non enzymatique et l'approche compartimentée. Une classification similaire a été faite par Bolli M. *et al.* - 1997a et Bolli M. *et al.* - 1997b.

C.1.1 Le monde de l'ARN

La vie est basée sur l'information génétique, encodée dans la séquence nucléique de l'acide désoxyribonucléique ADN, et interprétée par l'acide ribonucléique ou ARN afin de produire des protéines, médiatrices des fonctions biochimiques à l'intérieur des cellules (voir Figure I - 2).

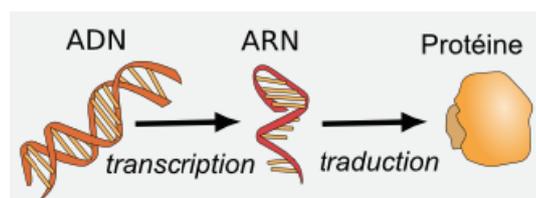


Figure I - 2 - Résumé des relations actuelles entre l'ADN, l'ARN et les protéines

Bien que l'ARN serve actuellement principalement de transporteur de l'information génétique, il peut également remplir la fonction de catalyseur dans de nombreuses réactions. Son potentiel catalytique n'est pas aussi bon que celui des catalyseurs protéiques, cependant, des molécules d'ARN spécifiques accomplissent une partie des fonctions les plus centrales pour la vie (Woese C.R. - 1967 ; Orgel L.E. - 1968 ; Crick F.H.C. - 1968 ; Guerrier-Takada C. *et al.* - 1983).

Il est ainsi proposé que le processus complexe actuel fût précédé d'un système plus simple basé sur l'ARN. Donc, selon la théorie du monde de l'ARN, la vie débuta sous l'apparence des premières molécules auto-répliquantes, les polymères d'ARN, dont dériveraient l'ADN et les

protéines (Eigen M. - 1971 ; Kuhn H. - 1972 ; Woese C.R. - 1979 ; Gilbert W. - 1986 ; Joyce G.F. - 1989 ; Orgel L.E. - 2003). Ainsi, l'ARN aurait émergé de la matière non vivante et aurait effectué les diverses fonctions qui sont désormais exécutées par l'ARN, l'ADN et les protéines. Le principal atout du monde de l'ARN serait donc l'auto-réplication, condition importante pour les débuts de la vie. L'ARN aurait ainsi été capable de s'auto-répliquer et aurait parfois également pu conduire à des versions mutantes elles aussi capables de se répliquer. Les mutants les mieux adaptés aux conditions régnant sur la jeune Terre auraient remplacé les versions précédentes.

Toutefois, dans cette théorie, l'origine de la vie reste floue car un certain nombre d'étapes intervenant dans l'apparition de l'ARN sont incertaines et font encore l'objet de nombreuses études. C'est le cas notamment de la formation des différents constituants de l'ARN (sucres, bases nucléiques) mais également de leur combinaison par des esters de phosphates pour former les molécules d'ARN proprement dites.

Les éléments composant l'ARN, les nucléotides, sont des molécules organiques complexes (voir Figure I - 3). Chaque nucléotide contient un sucre (ribose), un phosphate et une des 4 bases nucléiques (guanine, adénine, uracile et cytosine) (voir Figure I - 3 et Figure I - 4).

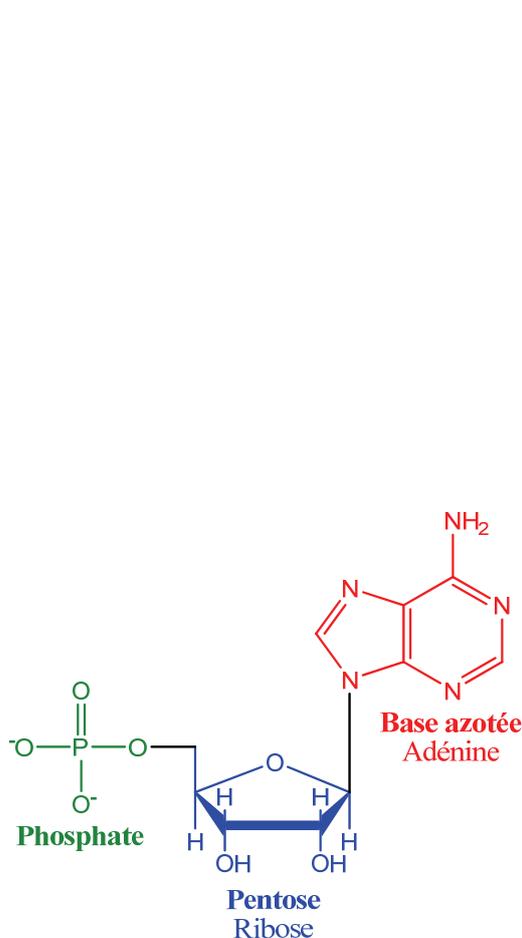


Figure I - 3 - Structure d'un nucléotide de l'ARN

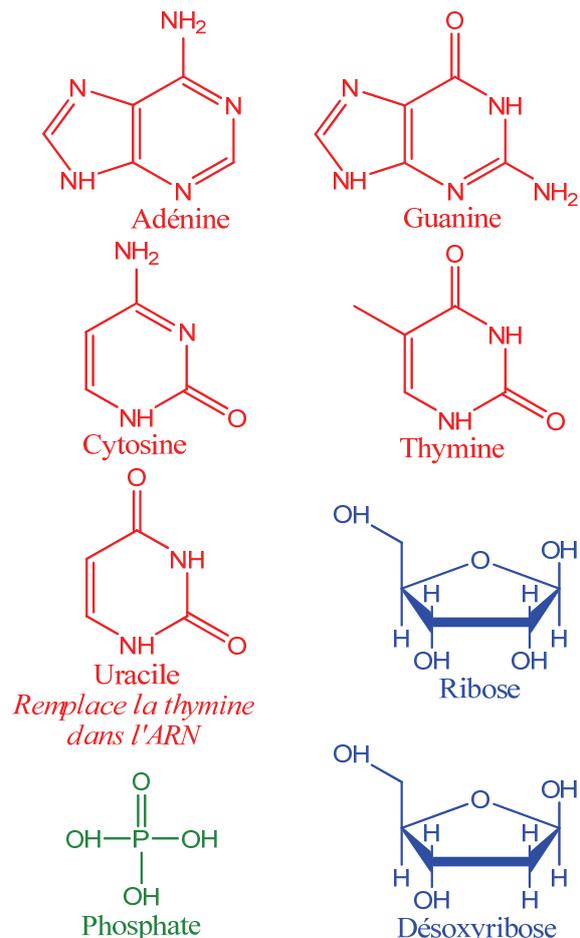


Figure I - 4 - Composants des nucléotides de l'ARN et de l'ADN

Ainsi, chaque nucléotide contient neuf à dix atomes de carbone, de nombreux atomes d'azote et d'oxygène et le groupe phosphate (voir Figure I - 3). Tous ces éléments sont liés selon un motif précis en trois dimensions (voir Figure I - 5 et Figure I - 6).

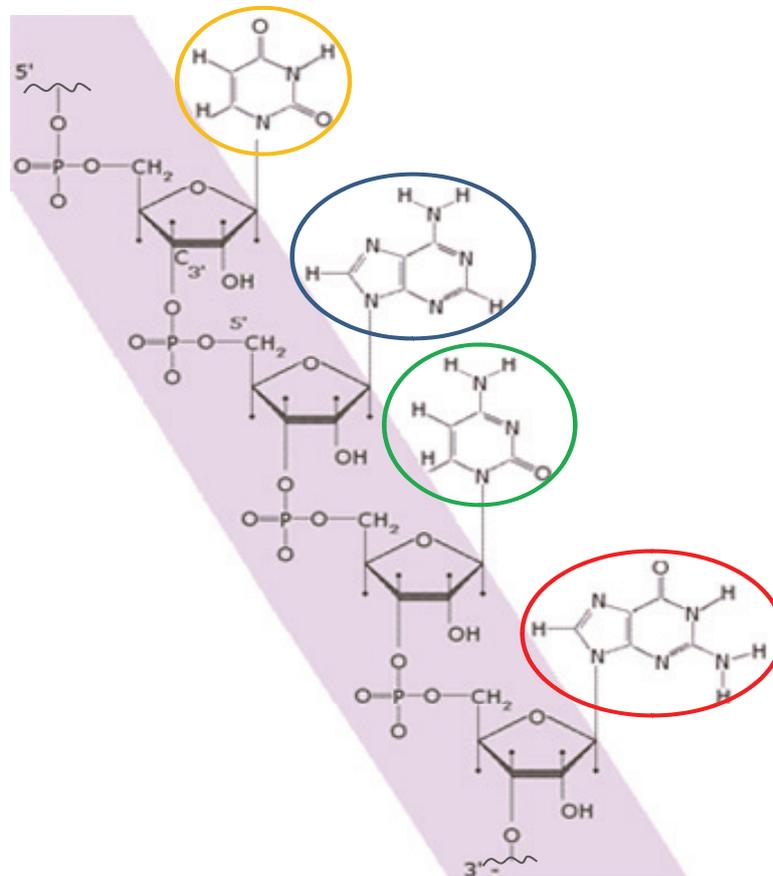


Figure I - 5 - Structure de l'ARN : chaîne de nucléotides réalisée à partir d'une image extraite du site www.mathcell.ru/pic/en/rna.gif

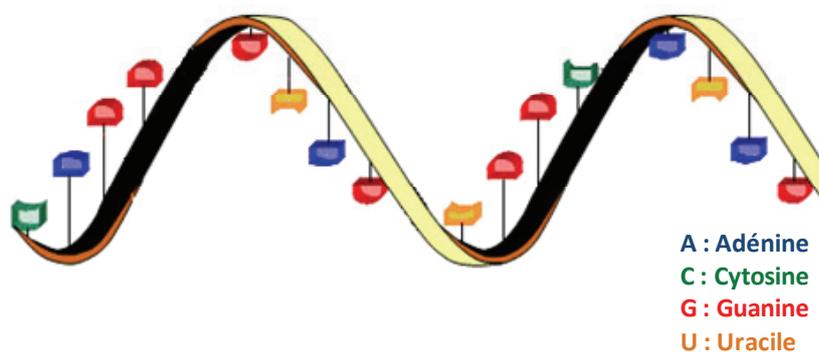


Figure I - 6 - Structure en hélice de l'ARN réalisée à partir d'une image extraite du site www.mathcell.ru/pic/en/rna.gif

Pour la formation de l'ARN, tel que nous le connaissons dans le monde vivant actuel, nous voyons que nous disposons de quatre bases azotées. Par conséquent, il existe quatre nucléotides différents. Ces nucléotides sont construits d'une façon très particulière, puisque nous remarquons

que la liaison Base azotée-Ribose est établie en position 1, alors que la liaison Ribose-Phosphate est formée en position 4.

Si nous regardons bien la molécule de ribose, nous remarquons que quatre fonctions alcools sont disponibles pour établir la connexion Base azotée-Pentose. Une fois celle-ci faite, il reste encore trois sites possibles pour la liaison Pentose-Phosphate. Au final, statistiquement si on ne regarde que les réactions possibles pour ces quatre fonctions OH du ribose, nous comptons douze molécules différentes envisageables. Bien sûr, si nous considérons les sites aminés potentiels sur chaque base azotée, le nombre de molécules possibles augmente, puisque par exemple la guanine possède deux NH et un NH₂ pouvant se lier au ribose. Par ailleurs, nous ne pouvons pas exclure d'autres réactions chimiques, telles que, par exemple, celles impliquant les fonctions OH du ribose et les carbonyles de certaines bases azotées *etc.* Par conséquent, il est important de remarquer que d'un point de vue chimique un grand nombre de combinaisons sont réalisables entre les bases azotées, le ribose et le phosphate. Et parmi les nombreuses molécules dont la synthèse est réalisable, seules quatre ont intégré les processus biologiques et constituent des nucléotides fonctionnels de nos jours.

Ainsi, des milliers de nucléotides possibles existent et pourraient facilement se lier à la place des composants standards de l'ARN. Il ne faut pas négliger les centaines de milliers voir les millions de molécules organiques de taille similaire qui ne sont pas des nucléotides.

Des processus abiotiques ont-ils pu favoriser l'unique création des quatre nucléotides d'ARN caractéristiques de la vie actuelle ? Théoriquement les éléments auraient du se combiner au hasard, produisant de petites chaînes préférentiellement à de plus longues possédant une géométrie particulière et uniforme. Comme le précisent Joyce G.F. & Orgel L.E. - 1999 et Springsteen G. & Joyce G.F. - 2004, le problème majeur de la chimie prébiotique de l'ARN est le manque de spécificité lors des réactions de synthèse. Nous ne comprenons pas parfaitement, pour l'instant, comment des processus auraient engendré les nucléotides actuels, en absence de réactions enzymatiques sélectives, et comment des liaisons auraient été réalisées à des positions précises.

Par ailleurs, il faut remarquer que les réactions permettant l'assemblage du sucre, du phosphate et de la base azotée nécessitent la libération de molécules d'eau. Ces étapes de condensation sont de façon logique très défavorisées en milieux aqueux et nécessitent probablement la présence d'agents activateurs.

Par conséquent, considérant les nombreux obstacles chimiques, il semble que la cascade de réactions nécessaires pour la formation de polynucléotides fonctionnels, incluant la synthèse des bases nucléiques, du ribose, l'assemblage des nucléosides, leur phosphorylation et leur activation, et enfin, la polymérisation des nucléotides et la stabilisation des polymères d'ARN, est très difficile dans des conditions prébiotiques.

De nombreux chercheurs ont investi le domaine de la synthèse prébiotique de l'ARN et de ses composants, utilisant des réactions contrôlées, des conditions et des matières premières pertinentes (*cf.* Saladino R. *et al.* - 2005 ; Saladino R. - 2006 ; Ferris J.P. & Delano J.W. - 2007 ; Rajamani S. *et al.* - 2008 ; Saladino R. *et al.* - 2008 ; Powner M.W. *et al.* - 2009). Dans les articles de Ferris J.P. *et al.* - 2007, Joshi P. *et al.* - 2007, Ferris J.P. *et al.* - 2008 et Joshi P.C. *et*

al. - 2009, la possibilité de polymériser des nucléotides activés en solution aqueuse en présence d'argile (phosphate activé par un imidazole, par le 1-méthyladénine *etc.*) a notamment été étudiée. La structure des argiles, composée de grains chargés positivement, permettrait aux nucléotides chargés négativement de se lier et de se concentrer à la surface du minéral. Les réactions de polymérisation seraient favorisées dans ces conditions. Ensuite, les polymères d'ARN ainsi formés seraient stabilisés et protégés de réactions de dégradation comme l'hydrolyse. D'autre part, Powner M.W. *et al.* - 2009 ont publié des découvertes sur la synthèse des nucléotides, constitués comme nous l'avons mentionné précédemment d'un sucre, d'un groupement phosphate et d'une base azotée, en montrant qu'il est possible de construire la base azotée et le sucre en une seule unité, ne nécessitant ainsi pas de lier les deux constituants après leur synthèse séparée et s'affranchissant donc d'une réaction de condensation par élimination de H₂O en milieux aqueux.

Il y a de nombreuses critiques au sujet de ce monde de l'ARN (voir Shapiro R. - 2002 et Shapiro R. - 2007), mais il y a un consensus général admettant que l'ARN est une molécule clé de l'origine de la vie elle-même.

C.1.2 Approche métabolique

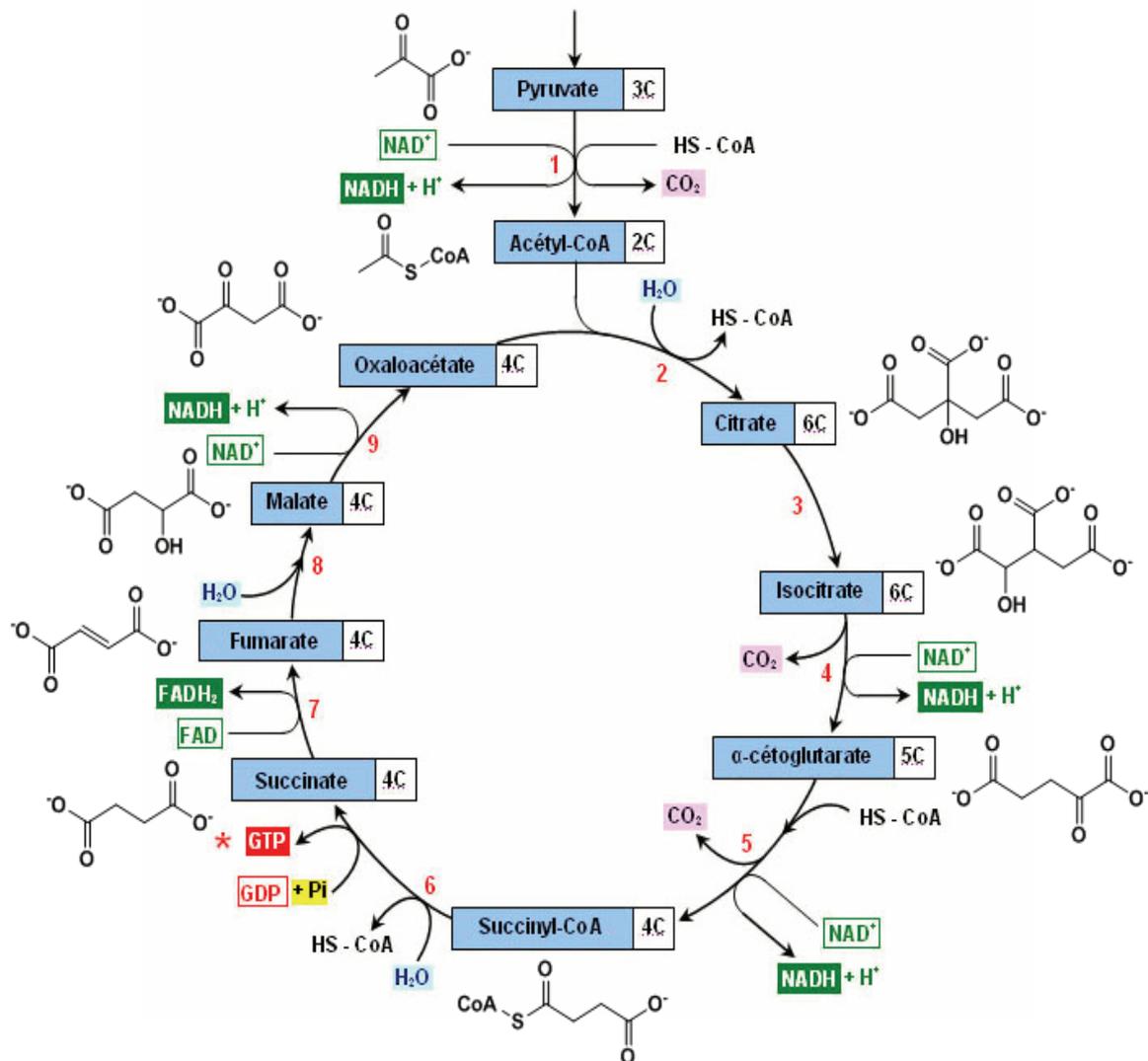
Une seconde théorie propose qu'un métabolisme prébiotique ait pu se développer en l'absence d'une structure ou molécule permettant le stockage de l'information, sa duplication et sa transmission aux descendants. Ainsi, les premières molécules auto-répliquantes, telles que les polymères d'ARN, seraient apparues bien plus tard au cours de l'évolution (*cf.* Ycas M. - 1955 ; Dyson F.J. - 1982 ; Dyson F.J. - 1985 ; Kauffman S.A. - 1986 ; Wächtershäuser G. - 1988 ; Kauffman S.A. - 1993 ; Shapiro R. - 2000 ; Szathmary E. - 2000 ; Shapiro R. - 2002 ; Shapiro R. - 2004 ; Shapiro R. - 2006 ; Shapiro R. - 2007).

C.1.2.1 Théories les plus connues

Parmi toutes les propositions soutenant l'approche métabolique de l'apparition de la vie, les plus connues sont celles de Wächtershäuser G. - 1990a et Wächtershäuser G. - 1992, de Morowitz H.J. *et al.* - 2000 et de Smith E. & Morowitz H.J. - 2004, qui proposent une émergence de la vie basée sur l'assimilation réductrice du carbone, au sein de systèmes chimiques auto-catalytiques semblables au cycle inversé de l'acide citrique. Ce cycle est en résumé et de façon simplifiée l'inverse du cycle de Krebs (voir Figure I - 7, page 17).

De plus, Wächtershäuser G. - 1990a et Cairns-Smith A.G. *et al.* - 1992 soutiennent en particulier des théories selon lesquelles, dans l'eau, des métabolismes primitifs supportés par des minéraux (par exemple des sulfures métalliques) ou des argiles auraient permis la synthèse et la polymérisation de composés organiques et auraient également précédé les macromolécules catalytiques (voir aussi Cairns-Smith A.G. & Walker G.L. - 1974 ; Cairns-Smith A.G. - 1977 ; Cairns-Smith A.G. - 1978 ; Cairns-Smith A.G. - 1982 ; Cairns-Smith A.G. - 1990). Alors que Wächtershäuser G. - 1990a propose l'importance du cycle de l'acide citrique basé sur la pyrite, Cairns-Smith A.G. *et al.* - 1992 suggèrent que les surfaces des argiles auraient pu adsorber des

composés organiques, augmentant ainsi localement la concentration de ces derniers et permettant leur polymérisation.



Enzymes impliquées :

1. Pyruvate déshydrogénase
2. Citrate synthase
3. Aconitase
4. Isocitrate déshydrogénase
5. α -cétoglutarate déshydrogénase
6. Succinyl-CoA synthétase
7. Succinate déshydrogénase
8. Fumarase
9. Malate déshydrogénase

Noms des molécules :

- NAD^+ : nicotine adénine dinucléotide
 FAD : flavine adénine dinucléotide
 GDP : guanosine 5'-diphosphate
 GTP : guanosine 5'-triphosphate
 HS-CoA : coenzyme A
 Pi : phosphore inorganique

Remarques :

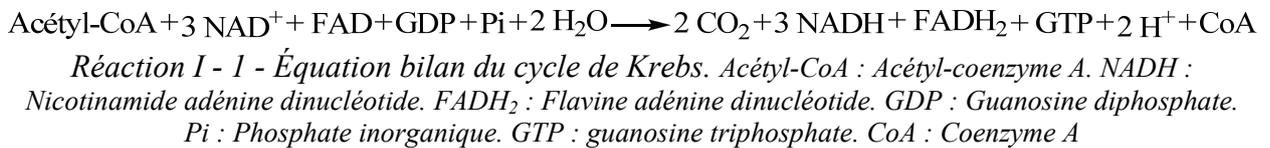
- * Chez les végétaux le GDP/GTP est remplacé par l' ADP/ATP

Figure I - 7 - Cycle de Krebs existant de nos jours
réalisé à partir d'un extrait de http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/article.php3?id_article=1219

C.1.2.2 Théorie de G. Wächtershäuser basée sur le cycle de Krebs

Le cycle de Krebs ou cycle des acides tricarboxyliques ou encore cycle de l'acide citrique se déroule de nos jours chez les eucaryotes et les bactéries, en conditions aérobies. Il consiste en une série de réactions biochimiques dont la finalité est de produire des intermédiaires énergétiques qui serviront à la production d'ATP dans la chaîne respiratoire.

Le cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs dans le sens direct, oxydant) est résumé dans la Figure I - 7 (page 17). L'acide acétique activé (C₂), sous la forme de l'acétyl-coenzyme A, rejoint le cycle et transfère son groupement acétyle sur l'acide oxalacétique (C₄) pour former de l'acide citrique (C₆). L'acétyl-coenzyme A est une forme de transporteur des groupements acétyles qui proviennent de l'acide pyruvique. Ensuite une molécule de CO₂ est libérée pour donner l' α -cétoglutarate (C₅). Ce dernier perd également un CO₂ pour former un composé à quatre carbones. Après plusieurs étapes, l'acide oxalacétique (C₄) est synthétisé et peut ensuite réagir à nouveau dans la première étape et recommencer le cycle. De nos jours, le cycle de Krebs implique dix étapes catalysées par huit enzymes. Le rôle de ce processus biologique n'est évidemment pas de former du CO₂ mais de fournir notamment des électrons et des ions H⁺, au cours de la chaîne respiratoire, dans le but de produire de l'énergie, plus précisément de l'ATP, ou de synthétiser des intermédiaires utilisés pour d'autres réactions. Nous rappelons que l'adénosine triphosphate (ATP) est la molécule qui fournit lors de son hydrolyse l'énergie nécessaire aux réactions chimiques des cellules. Le cycle de Krebs peut être résumé par l'équation suivante.



La théorie de Wächtershäuser a suscité et suscite encore un grand intérêt, incitant de nombreuses équipes de chercheurs à commenter et explorer la viabilité de chacune des réactions chimiques proposées. Nous allons aborder, ci-dessous, cette théorie plus en détails, en nous basant sur les publications suivantes, Wächtershäuser G. - 1988, Wächtershäuser G. - 1990b et Wächtershäuser G. - 1990a.

Recherchant un cycle auto-catalytique permettant de fixer le carbone, G. Wächtershäuser s'intéressa au cycle réducteur de l'acide citrique, nommé également cycle de Krebs inversé. Ce processus n'est pas un processus hypothétique mais a réellement été observé au sein de cellules existant de nos jours, telles que la bactérie photosynthétique *Chlorobium thiosulfatophilum* (voir Evans M.C.W. *et al.* - 1966 et Buchanan B.B. & Evans M.C.W. - 1966), la bactérie thermophile *Hydrogenobacter thermophilus* (*cf.* Shiba H. *et al.* - 1985), la bactérie sulphato-réductrice *Desulfobacter hydrogenophilus* (Schauder R. *et al.* - 1987), l'archée thermophile *Sulfolobus brierleyi* (Kandler O. & Stetter K.O. - 1981), mais également l'archée thermophile *Thermoproteus neutrophilus* (Schaefer S. *et al.* - 1986). Comme l'ont suggéré Hartman H. - 1975

et Kandler O. & Stetter K.O. - 1981 auparavant, le cycle réducteur de l'acide citrique pourrait être considéré comme le précurseur du cycle oxydant de Krebs.

Le cycle inversé de l'acide citrique ou cycle réducteur de l'acide citrique procède exactement dans le sens opposé, de l'acide oxalacétique (C₄) à l'acide citrique (C₆), via l'insertion de CO₂ (voir Figure I - 7, page 17 et Figure I - 8 a).

Ainsi, Wächtershäuser G. - 1990a s'est inspiré de ce processus à la fois contemporain et archaïque pour proposer un système chimique primitif de fixation du carbone.

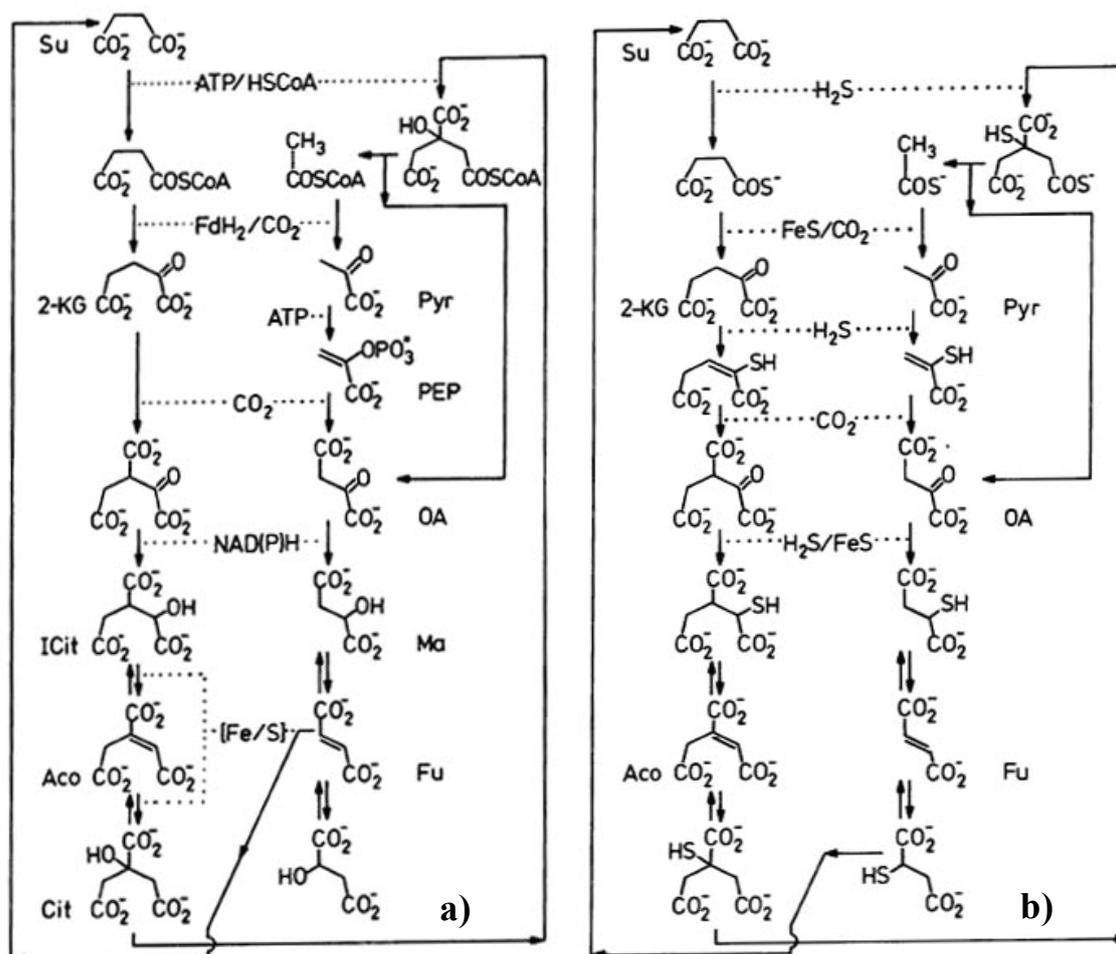
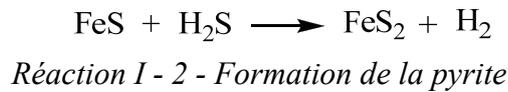


Figure I - 8 a) Cycle réducteur de l'acide citrique. b) Cycle primitif hypothétique de fixation du carbone. Extraits de l'article de Wächtershäuser G. - 1990a. Les stœchiométries ne sont pas respectées. Su : succinate. 2-KG : 2-cétoglutarate. ICit : isocitrate. Aco : aconitate. Cit : citrate. Pyr : pyruvate. PEP : phosphoénol pyruvate. OA : oxaloacétate. Ma : malate. Fu : fumarate. FdH₂ : ferrédoxine réduite, protéine à base de soufre et de fer. NAD(P)H, soit NADH et NADPH : coenzymes nicotinamide adénine dinucléotide phosphate et nicotinamide adénine dinucléotide. [Fe/S] : enzyme constituée d'un cluster fer-soufre. HSCoA : coenzyme A libre.

Dans la Figure I - 8 a), le cycle enzymatique réducteur de l'acide citrique est représenté sous la forme d'un huit. La Figure I - 8 b) illustre, quant à elle, le processus primitif reconstruit par G. Wächtershäuser à partir du cycle a), et qui serait apparu lors de l'apparition de la vie, ne faisant intervenir aucune enzyme. Les agents réducteurs du cycle enzymatique actuel, tels que les ferrédoxines, NADH, NADPH *etc.* seraient remplacés par l'association FeS/H₂S. En effet, le

pouvoir réducteur nécessaire aux réactions du cycle primitif serait fourni par la formation de la pyrite FeS₂ à partir de FeS et H₂S, selon la réaction suivante.



Ainsi, le métabolisme prébiotique serait situé à la surface de la pyrite, permettant d'ailleurs de concentrer localement les molécules organiques dans un milieu aqueux dilué, facilitant ainsi les réactions chimiques primitives. Les composés impliqués dans le cycle seraient, en fait, anioniques et fixés à la surface du minéral chargée positivement.

De plus, G. Wächtershäuser propose que les thioesters R-CO-S-CoA, faisant intervenir le coenzyme A, soient remplacés par des thioacides.

Par conséquent, dans cette théorie d'un monde centré sur la pyrite, le cycle de Krebs inversé existant de nos jours descendrait d'un processus primitif né dans un environnement riche en H₂S. Bien après, de nombreuses modifications évolutives auraient conduit à la migration de ce processus de fixation du carbone de plus en plus loin de ce milieu, à l'existence du cycle réducteur de l'acide citrique tel que nous le connaissons et à l'apparition du cycle de Krebs.

La théorie du cycle réducteur non enzymatique a été investiguée par plusieurs équipes dans le but de démontrer expérimentalement sa viabilité.

Les observations publiées à ce sujet portent notamment sur la formation, par Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2001, de l'acide pyruvique, impliqué dans les métabolismes contemporains de l'acide citrique (oxydant ou réducteur) comme dans le cycle primitif hypothétique. La détection de cette molécule fit sensation et fut considérée comme un soutien à la théorie d'un système métabolique primitif tel que le cycle réducteur non enzymatique de Krebs.

Enfin, de nouvelles idées ont récemment été proposées. Dans les articles de Zhang X.V. & Martin S.T. - 2006, Zhang X.V. *et al.* - 2007, Guzman M.I. & Martin S.T. - 2008 et Guzman M.I. & Martin S.T. - 2009, la faisabilité du cycle réducteur de l'acide citrique a été étudiée, dans sa version primitive donc non enzymatique, non plus uniquement à l'aide de sulfures métalliques dans l'eau mais également au moyen de réactions photochimiques à la surface de ces minéraux. Il a ainsi été démontré que les radiations UV du soleil peuvent exciter les électrons de sulfures métalliques et que l'énergie libérée est suffisante pour initier les réactions du cycle de fixation du carbone. Des expériences ont, en effet, été effectuées par irradiation UV de suspensions colloïdales de particules semi-conductrices de ZnS dans l'eau et la formation d'oxoglutarate à partir du succinate et de α -cétoglutarate a notamment été démontrée. Ces photochimistes prébioticiens suggèrent donc que l'océan primitif contenait des particules semi-conductrices, des sulfures métalliques issus des fluides de sources hydrothermales sous-marines, à la surface desquelles des synthèses photochimiques pourraient avoir eu lieu.

L'intérêt particulier porté à la théorie du cycle réducteur de Krebs vient du fait qu'elle implique une congruence entre l'apparition d'un métabolisme primitif et une version réductrice

du cycle métabolique central de la vie contemporaine. Par ailleurs, un tel cycle primitif de fixation du carbone aurait permis, d'après les prébioticiens défenseurs de cette théorie, notamment Morowitz H.J. - 1992 et Smith E. & Morowitz H.J. - 2004, de former des intermédiaires réactionnels pouvant conduire à des briques du vivant (*cf.* Figure I - 9).

Au cours des travaux de recherche présentés dans ce manuscrit nous reviendrons notamment sur la théorie du cycle réducteur de l'acide citrique proposée par Wächtershäuser G. - 1990a.

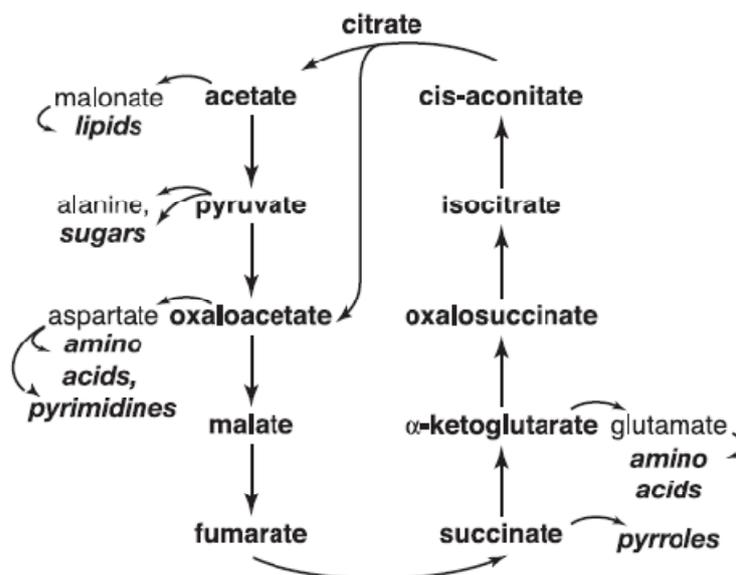


Figure I - 9 - Rôle du cycle réducteur de l'acide citrique (en gras) pour la synthèse des principales classes de biomolécules (en gras italique), via la synthèse d'intermédiaires réactionnels spécifiques (écriture normale), d'après l'article de Smith E. & Morowitz H.J. - 2004

C.1.3 Approche compartimentée

L'approche compartimentée propose que tout ait commencé à l'intérieur d'une enceinte fermée et protégée. Toute vie sur Terre est cellulaire et donc basée sur des compartiments fermés. Si nous prenions toutes les cellules de la Terre et que nous vidions leurs contenus dans l'océan, nous aurions tout l'ARN et l'ADN du monde mais aucune vie. L'approche compartimentée suggère que, pour explorer l'origine de la vie, nous devons commencer par considérer la nécessité d'une frontière primitive fermée et semi perméable. Ce scénario est renforcé par le fait que des compartiments de type cellulaire, des micelles ou des vésicules, pourraient se former spontanément à partir de molécules d'origine prébiotique. Une membrane primitive aurait ainsi été synthétisée puis des réactions chimiques auraient pu se produire à l'abri du milieu extérieur.

Les premiers ouvrages sur l'origine de la vie de Oparin A.I. - 1953, Dyson F.J. - 1985 et Morowitz H.J. - 1992 soulignèrent l'importance de l'apparition de compartiments de type cellulaire correspondant au premier acte de l'évolution qui conduirait éventuellement à des

cellules auto-répliquantes. L'idée principale de cette théorie est ainsi que des sphères primitives auraient pu encapsuler diverses molécules et auraient pu engendrer un métabolisme proto-cellulaire.

L'approche compartimentée n'exclut pas la précédente théorie du développement de métabolismes primitifs avant l'apparition de macromolécules catalytiques. Une série de voies réactionnelles aurait ainsi probablement permis de synthétiser à partir de matériaux simples l'ensemble des composantes nécessaires à la construction et à la pérennité d'un « proto-organisme ». Ainsi, Shapiro R. - 2007 suggère que des processus cycliques auraient pu se développer à l'intérieur de petits compartiments à partir de petites molécules et auraient mené à des systèmes plus complexes.

Nous discuterons plus loin de la formation prébiotique de cellules et de la synthèse abiotique de composés lipidiques amphiphiles, précurseurs potentiels des constituants membranaires (*cf.* E.2, page 34 et E.3, page 40).

C.2 Différents lieux pour l'apparition de la vie sur la Terre

Les scénarios présentés dans la partie précédente (*cf.* C.1 page 12) peuvent s'être réalisés dans différents endroits sur la jeune Terre.

Certains pensent que les premières molécules organiques se seraient formées dans l'atmosphère primitive sous l'action de diverses sources d'énergie. Les expériences historiques de Miller S.L. - 1953, notamment, seront présentées dans le paragraphe E (page 32).

Une hypothèse alternative, soutenue par Bernstein M.P. *et al.* - 1999 notamment, serait que la vie ou les constituants organiques nécessaires au développement de la vie sur terre soient d'abord apparus hors de la Terre et qu'ils aient été importés par des météorites ou des comètes. Beaucoup de petits composés organiques ont d'ailleurs été détectés dans des météorites (voir Kvenvolden K.A. *et al.* - 1970, Studier M.H. *et al.* - 1972 et Cronin J. - 1998), dans des nuages interstellaires (*cf.* Klemperer W. - 2006) et ont été associés à des particules de poussières cosmiques, où leur synthèse semble avoir été menée par la radiation ultraviolette abondante des étoiles (Hill H.G.M. & Nuth J.A. - 2003). En ce qui concerne le cas particulier des météorites chondrites carbonées, elles contiennent jusqu'à 4% de matière organique, dont la majorité est insoluble, composée de macromolécules de type kérogène, et une petite partie est constituée de produits solubles simples (Poreda R.J. *et al.* - 2001 ; Pizzarello S. - 2006). La matière organique insoluble (IOM) regroupe de petites unités aromatiques liées par des chaînes hydrocarbonées courtes et branchées, induisant un haut degré de réticulation (voir Gardinier A. *et al.* - 2000, Remusat L. *et al.* - 2005a, Remusat L. *et al.* - 2005b et Remusat L. *et al.* - 2007). Dans la fraction organique soluble, en plus de divers petits composés, jusqu'à soixante-dix acides aminés différents, des acides organiques et des sucres ont été détectés, d'après Kvenvolden K.A. *et al.* -

1970, Shimoyama A. *et al.* - 1990 et Cronin J. - 1998. Il est assez possible que la chimie prébiotique extraterrestre ait contribué de façon significative et additive à l'inventaire des composés organiques sur la jeune Terre. Les substances importées de l'espace auraient peut-être même ensuite subi des réactions supplémentaires sur la Terre, comme le proposent Meierhenrich U.J. *et al.* - 2004, Brinton K.L.F. *et al.* - 1998, Maurette M. - 1998 et Kuan Y.J. *et al.* - 2003.

Enfin, les océans et les possibles lagons ou étangs ont attiré l'attention des chimistes prébioticiens, entre autres Corliss J.B. *et al.* - 1981, Baross J.A. & Hoffman S.E. - 1985, Holm N.G. - 1992, Robertson M.P. *et al.* - 1996 et Nelson K.E. *et al.* - 2001, comme sites potentiels pour l'apparition de la vie.

Rappelons que les conditions essentielles pour la survie de la forme de vie la plus primitive sont une source d'énergie convenable, des éléments nutritifs, c'est-à-dire des composés organiques carbonés et des minéraux, pour la synthèse de biomolécules nécessaires au maintien et à la réplication des structures de l'organisme, de l'eau liquide dissolvant les composés chimiques et les transportant, ainsi que des conditions ne détruisant pas les biomolécules formées. L'eau, solvant de toutes les réactions biochimiques, est le composé majeur des organismes vivants.

Les premières formes de vie étaient sans doute chimiotrophes. Comme nous l'avons déjà mentionné, vraisemblablement les premiers organismes vivants étaient très simples et n'étaient pas capables d'effectuer des réactions complexes de conversion d'énergie, que celle-ci soit lumineuse ou chimique. Ainsi, l'énergie devait être facilement disponible de façon directe, par réactions entre divers substrats inorganiques comprenant, en particulier, des gaz réduits (sources d'atomes d'hydrogène) et des minéraux réduits (sources d'électrons), notamment à base de fer et de soufre. En outre, des nutriments oxydés, comme les phosphates, les nitrates et les sulfates, ainsi que des ions métalliques (Fe, Ni, Cu, Mg), auraient été nécessaires et utilisés pour l'élaboration de cofacteurs dans différentes enzymes.

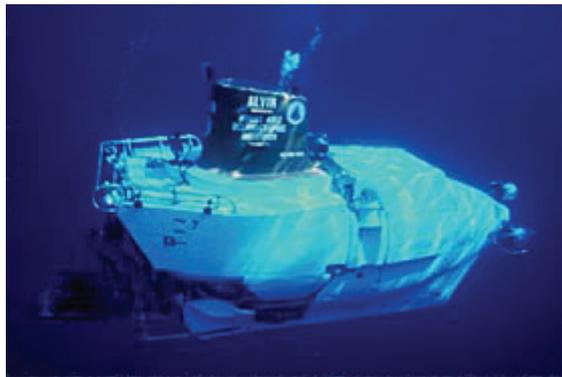
De tels petits composés réduits et de tels ions métalliques solubles auraient pu être produits prébiotiquement dans quelques endroits sur Terre comme les systèmes hydrothermaux sous-marins et volcaniques. Il paraît donc vraisemblable que la vie soit apparue au voisinage de ces sources d'énergie. Dans la partie D (page 24), consacrée spécifiquement aux sources hydrothermales sous-marines, nous aborderons particulièrement la théorie de l'apparition de la vie au fond des océans, au niveau des fumeurs noirs situés près de dorsales océaniques. D'ailleurs, les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit suivront essentiellement cette théorie.

Une alternative aux sites chauds volcaniques et hydrothermaux serait la possibilité que les solutions aqueuses aient subi une concentration par évaporation (lagons, étangs ou plages) ou par congélation à faibles températures (entraînant également une concentration des solutions). En effet, Miller S.L. & Lazcano A. - 1995, Levy M. & Miller S.L. - 1998 et Trinks H. *et al.* - 2005 proposent que la chimie prébiotique aurait eu plus de chance dans les conditions d'une Terre primitive froide voir même gelée qu'au voisinage des régions hydrothermales chaudes.

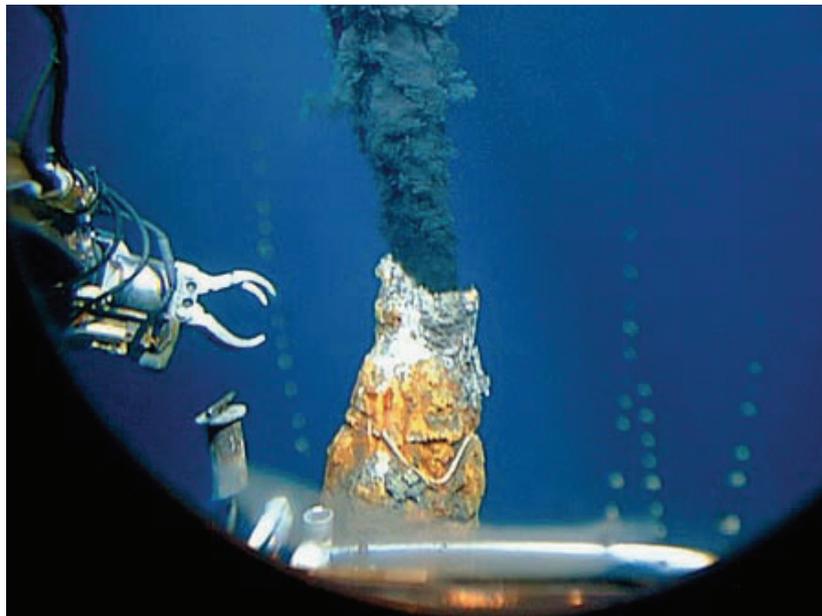
D. Sources hydrothermales

D.1 Descriptions des différents types de sources hydrothermales sous marines

D.1.1 Les « fumeurs noirs »



*Figure I - 10 - Sous-marin Alvin de la marine américaine (U.S. Navy)
Ce mini sous-marin de haute technologie mesure sept mètres de long et peut emmener deux scientifiques et un pilote jusqu'à 4500 mètres de profondeur, lors d'une plongée de huit heures environ. www.divediscover.who.edu/images/marine_alvin2.jpg*



*Figure I - 11 - Vue à travers le hublot du bras articulé du sous-marin Alvin atteignant une cheminée de fumeur noir
www.who.edu/cms/images/oceanus/2005/7/v41n2-tivey1en_5063_12133.jpg*

En 1977, la découverte de l'existence d'événements hydrothermaux appelés fumeurs noirs, grâce à un sous-marin baptisé Alvin, fit sensation auprès non seulement des géologues mais aussi des biologistes et chercheurs tentant de résoudre le problème de l'origine de la vie. Ces sources hydrothermales sous-marines ont ainsi attiré l'attention des chimistes prébioticiens comme sites potentiels de l'origine de la vie.

De plus, on découvrit par la même occasion un écosystème riche dans lequel l'énergie solaire n'intervient pas. Des colonies de palourdes mesurant 25 à 30 centimètres vivent aux côtés de crabes blancs et de vers géants ressemblant à de longs tubes (pogonophores vestimentifères). La chaîne alimentaire de ce remarquable milieu est basée sur des microorganismes utilisant l'oxydation du sulfure d'hydrogène émis par l'événement comme source d'énergie primaire et métabolisant des sulfures, et le dioxyde de carbone (Macdonald K.C. & Luyendyk B.P. - 1981 ; Edmond J.M. & Von Damm K. - 1983 ; Hekinian R. - 1984). Par ailleurs, de la chaleur est fournie par l'eau chauffée au contact du magma.

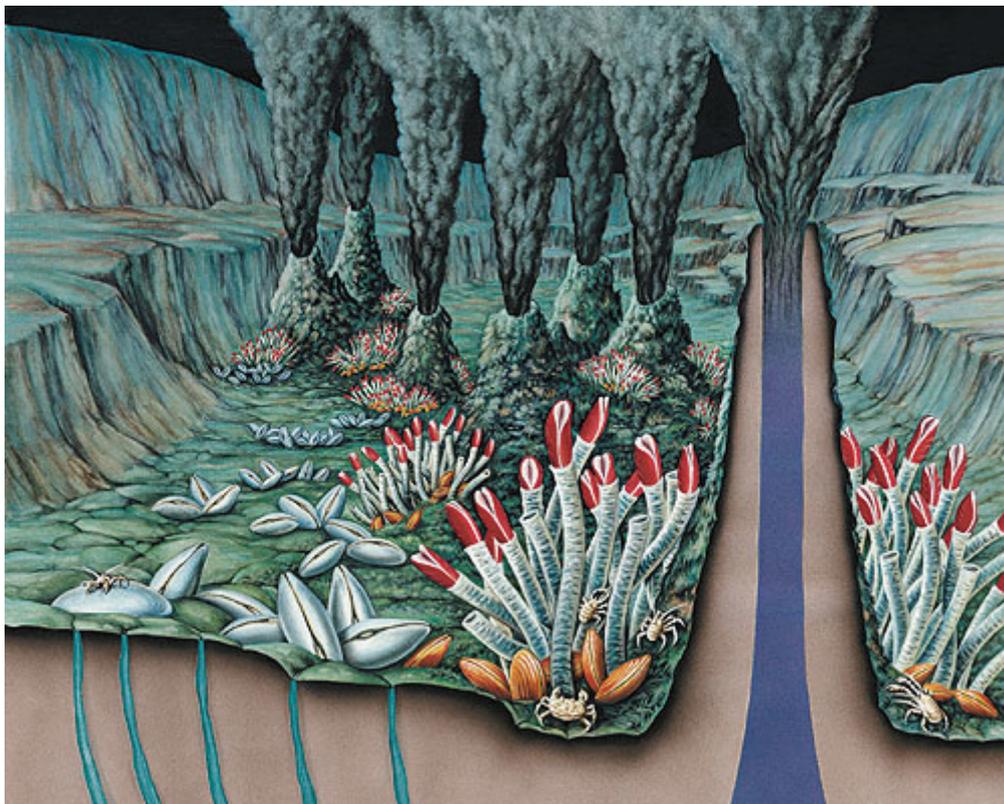


Figure I - 12 - Représentation de fumeurs noirs et exemple d'écosystème vivant aux abords des cheminées

<http://www.klett.de/sixcms/media.php/76/smoker.jpg>

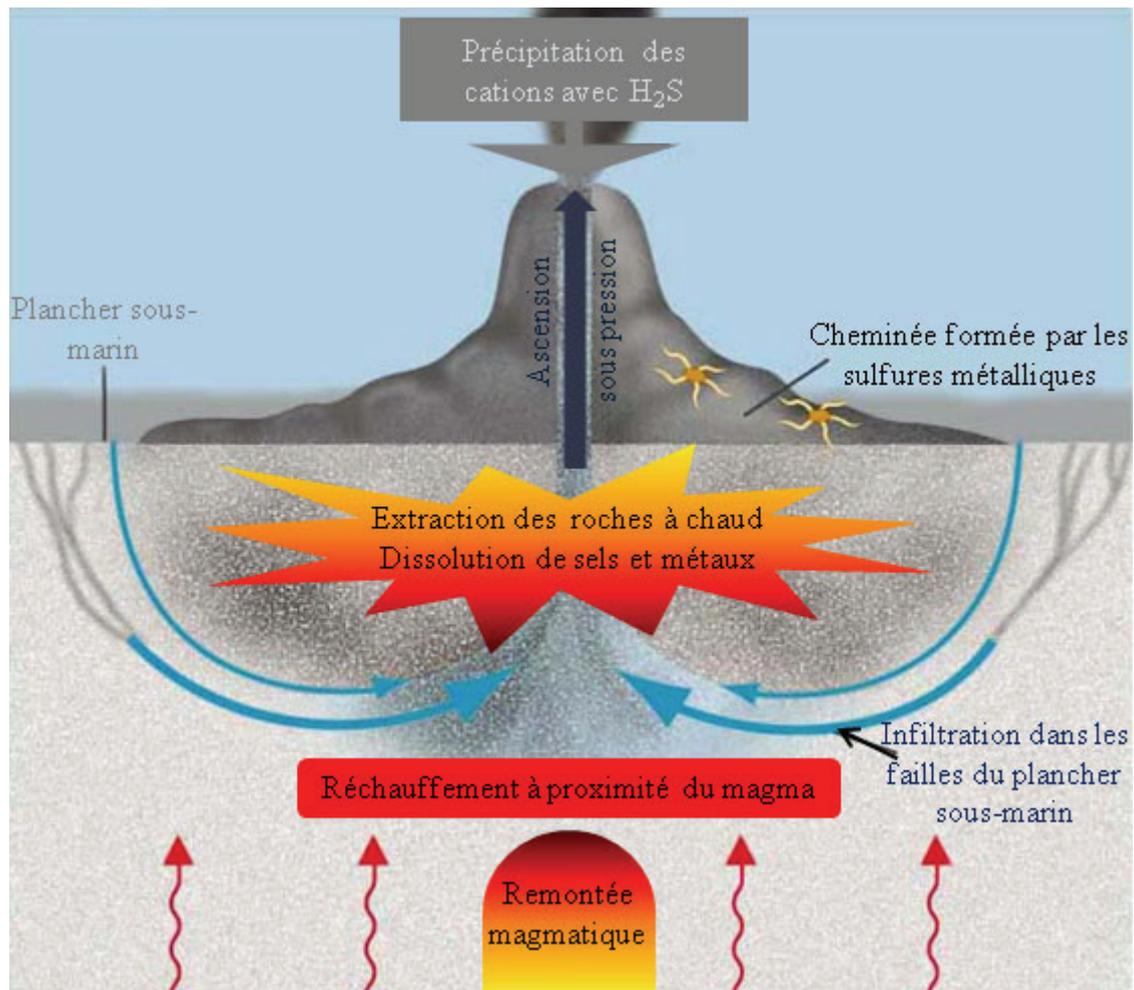


Figure I - 13 - Schéma du fonctionnement d'un fumeur noir et de la formation de sa cheminée
réalisé à partir de <http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/summer2002/blacksmoker.jpg>

Les fumeurs noirs sont des phénomènes géologiques relativement courants aux alentours des dorsales océaniques, lieux où la croûte terrestre sous-marine permet au magma de monter du manteau de la Terre pour former un nouveau plancher sous-marin, formant également des failles dans la roche. La Figure I - 13 en montre le principe de fonctionnement. L'eau de mer s'infiltration dans les failles du plancher sous-marin et se réchauffe à proximité du magma. A chaud, elle extrait les roches en contact, dissout les sels, les métaux et commence son ascension à travers la croûte terrestre, entraînée par l'émission de divers gaz sous pression. Arrivée en surface, au contact de l'eau de mer à 3°C environ, les cations métalliques présents dans le fluide émis précipitent avec le sulfure d'hydrogène et peuvent dans certains cas former une cheminée constituée de sulfures métalliques, ne cessant de grandir et pouvant mesurer de 1 à 3 mètres de hauteur.

Les fluides émis par les fumeurs noirs contiennent de nombreux composés. De petites molécules gazeuses sont présentes telles que le dioxyde de carbone et le sulfure d'hydrogène principalement, ainsi que le monoxyde de carbone, l'oxysulfure de carbone, le dihydrogène et le méthane et plus rarement, en quantités bien inférieures, l'ammoniac (cf. Hekinian R. *et al.* - 1980 ; Merlivat L. *et al.* - 1987 ; Gamo T. - 1995 ; Langmuir C. *et al.* - 1997 ; Gamo T. *et al.* - 2001 ;

Charlou J.L. *et al.* - 2002). De nombreux métaux sont dissous par l'eau chaude dont le fer principalement, puis en quantités beaucoup plus faibles, le cuivre, le zinc, le nickel, le manganèse, le plomb, le cobalt, l'argent, le chrome ou même l'or (voir Gamo T. - 1995 ; Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Gamo T. *et al.* - 2001 ; Douville E. *et al.* - 2002). On peut également trouver plusieurs autres cations divalents tels que le calcium ou le magnésium, eux-mêmes également susceptibles de précipiter sous forme de sulfures avec le sulfure d'hydrogène présent. Les proportions entre les différents métaux peuvent varier grandement selon les sites (*cf.* exemple de dépôts de sulfures d'un événement hydrothermal de l'océan Pacifique, Hekinian R. *et al.* - 1980).

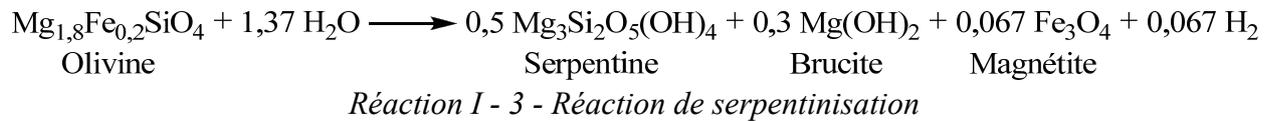
L'eau à la sortie de la cheminée a un pH d'environ 3-4 et l'eau de mer d'environ 8,0. Sur une courte distance aux alentours du cône d'expulsion, le pH croît graduellement jusqu'à 8, au fur et à mesure de la dilution des fluides hydrothermaux par l'eau de mer, offrant une gamme de pH assez variée dans l'environnement des fumeurs noirs. La température de l'eau à la sortie varie selon les sites entre 10 et 400°C. Là encore, la température varie selon un gradient entre la température d'expulsion du fluide et les 3°C de l'eau de mer. En outre, les sites hydrothermaux se trouvant à 2000 ou 3000 mètres de profondeur, l'eau s'y trouve à une pression importante.

De nombreux sites hydrothermaux de type fumeurs noirs, où des fluides sont émis à haute température dans l'eau de mer, ont été découverts au niveau des dorsales océaniques au cours des dernières années (voir par exemple Gamo T. - 1995). L'analyse des fluides rejetés a permis de mettre en évidence une grande variété de caractéristiques (minéraux, pH, gaz, *etc.*) qui peut s'expliquer par divers processus géologiques et géochimiques affectant l'eau de mer lors de son interaction à haute température avec les minéraux et roches du plancher océanique. En effet, les propriétés physico-chimiques des fluides sont influencées notamment par la nature des roches, les températures atteintes lorsque l'eau de mer entre en contact avec ces roches, le temps de résidence, et la profondeur à laquelle l'interaction a lieu (*cf.* Gamo T. - 1995 ; Petersen S. *et al.* - 2009).

Ainsi, on peut distinguer un premier type qui correspond à des sources hydrothermales associées à des roches basaltiques. Dans ce cas, des fluides acides, riches en espèces soufrées réduites et en CO₂, sont émis à haute température dans la mer (voir Merlivat L. *et al.* - 1987 ; Gamo T. - 1995 ; Charlou J.L. *et al.* - 1996 ; Petersen S. *et al.* - 2009). Ces fluides contiennent également de faibles quantités de méthane et d'hydrogène.

Dans un deuxième type de fumeurs noirs, les fluides rejetés à haute température contiennent des quantités plus faibles d'H₂S. Par contre, ils présentent une teneur plus importante en méthane, hydrogène et monoxyde de carbone (Charlou J.L. *et al.* - 1998 ; Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007). Les caractéristiques chimiques de ces fluides sont expliquées par l'interaction de l'eau de mer au cours de sa migration, et après son réchauffement dû à l'activité magmatique, avec des roches telles que les péridotites (Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002 ; Douville E. *et al.* - 2002 ; Petersen S. *et al.* - 2009). Ces dernières, constituants importants du plancher océanique, sont des roches ultramafiques, c'est-à-dire ultrabasiques, principalement constituées d'olivine associée à d'autres silicates ferro-magnésiens, essentiellement des pyroxènes. Au cours de l'interaction avec

l'eau de mer, les péridotites sont altérées par un processus appelé serpentinitisation impliquant l'olivine et correspondant à la réaction suivante.



Lors de ce processus, le fer(II) sous la forme de silicate est oxydé en magnétite (oxyde mixte de fer(II) et de fer(III)). En parallèle, cette oxydation s'accompagne de la réduction de l'eau qui conduit à la génération d'hydrogène. Les conditions réductrices qui prévalent dans les fluides associés au processus de serpentinitisation sont supposées favoriser la formation de méthane par réduction du CO₂, notamment. La présence de quantités appréciables de CO peut peut-être s'expliquer par l'équilibre dit de « gaz à l'eau » qui fait intervenir CO₂ et l'hydrogène, d'une part et le monoxyde de carbone et l'eau d'autre part.

D.1.2 Les sources hydrothermales liées exclusivement au processus de serpentinitisation : Exemple du champ hydrothermal de « Lost City »

En plus des fumeurs noirs, il existe un deuxième type de sources hydrothermales sous-marines qui n'est pas directement lié au chauffage de l'eau de mer infiltrée dans le plancher océanique sous l'effet de l'activité magmatique. Ce type de source est exclusivement lié au processus de serpentinitisation mentionné plus haut (voir Réaction I - 3). Une telle situation se rencontre de manière spectaculaire au niveau du site hydrothermal de Lost City (*cf.* Kelley D.S. *et al.* - 2001 ; Früh-Green G.L. *et al.* - 2003) où les fluides hydrothermaux sont rejetés dans l'eau de mer au niveau d'immenses cheminées carbonatées blanches. Celles-ci sont issues de la précipitation de carbonates marins causée par l'extrême basicité des fluides hydrothermaux. Les températures au niveau de ce site (<91°C) sont inférieures à celles rencontrées au niveau de sources hydrothermales de type fumeurs noirs. Les fluides émis au niveau de Lost City sont particulièrement réducteurs et contiennent des proportions significatives d'hydrogène, de méthane et également de CO. Ils sont de plus très pauvres en CO₂, en raison, notamment de l'extrême basicité des fluides qui conduit à la précipitation de CO₂ sous forme de carbonates. Ils sont également pauvres en sulfures et en métaux de transition, contrairement au cas des fumeurs noirs. Néanmoins, les conditions extrêmement réductrices régnant dans le plancher océanique dans les zones où se produit la serpentinitisation sont favorables à des processus réducteurs conduisant à la formation de minéraux à bas degrés d'oxydation. Ainsi, par exemple, la serpentinitisation favorise la formation d'alliages de nickel et de fer (Frost R.B. - 1985).

Le site hydrothermal de Lost City est le siège d'un écosystème exclusivement microbien (Kelley D.S. *et al.* - 2005) dominé par des microorganismes intervenant dans le cycle du méthane.

D.2 Intérêt des sources hydrothermales sous-marines

Corliss J.B. *et al.* - 1981 furent les premiers à mentionner le lien possible entre les processus géologiques de tectonique des plaques au fond des océans et le problème de la biogénèse. Cette hypothèse fut reprise par la suite par de nombreux auteurs (voir notamment Holm N.G. - 1992 ; Holm N.G. & Andersson E.M. - 1995 ; Russell M.J. & Hall A.J. - 1997 ; Crabtree R.H. - 1997 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007). En effet, de nombreux paramètres font des fumeurs noirs des sites privilégiés pour le développement d'une chimie organique prébiotique.

Ainsi, les systèmes hydrothermaux se situant à des milliers de mètres sous la surface des océans auraient pu abriter les premières étapes de la vie à l'abri des radiations cosmiques à haute énergie de l'époque, des éventuels déchaînements climatiques, mais aussi à l'abri des impacts de météorites. De même, l'évaporation partielle de l'eau de mer, due aux chocs violents provoqués par la chute des météorites, n'aurait ainsi pas dérangé les éventuels organismes primitifs en développement dans les grandes profondeurs (Holm N.G. & Andersson E.M. - 1995). D'autre part, de nombreux géologues pensent que l'activité hydrothermale sur la Terre primitive était probablement plus importante que de nos jours, étant donné que l'épaisse croûte continentale n'était pas encore formée et que l'intérieur de la Terre était encore plus chaud qu'actuellement (Holm N.G. - 1992).

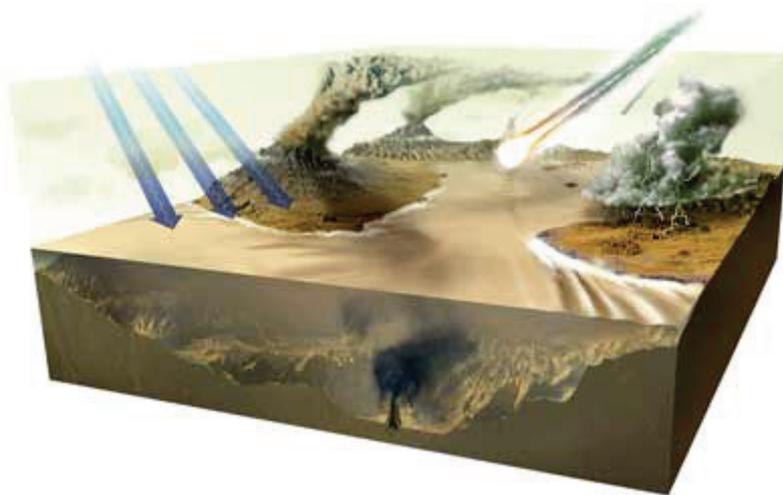


Figure I - 14 - Représentation des conditions régnant sur la Terre primitive et de la position des fumeurs noirs constituant un abri potentiel pour les premières formes de vie
<http://earthguide.ucsd.edu/virtualmuseum/images/>

Par ailleurs, une arrivée constante de matière aurait fourni suffisamment d'éléments nutritifs pour la synthèse de molécules organiques d'intérêt prébiotique. En effet, les gaz hydrothermaux émis (CO_2 , CO , COS , H_2S , NH_3 , N_2 et H_2) ainsi que les sels minéraux variés, plus particulièrement les sulfures métalliques (sulfures de Fe, Ni, Co,...), ont sans aucun doute un intérêt pour la chimie prébiotique (Hekinian R. *et al.* - 1980 ; Merlivat L. *et al.* - 1987 ; Langmuir C. *et al.* - 1997 ; Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002).

A cet égard, on peut noter que les métalloprotéines possédant des complexes soufre-métaux de transition au niveau de leur site actif jouent un rôle catalytique crucial dans de nombreuses

voies métaboliques d'organismes actuels. Ces clusters métalliques interviennent par exemple dans la catalyse de processus de fixation de carbone tels que l'acétogénèse par la voie de Wood (Ragsdale S.W. & Kumar M. - 1996 ; Ragsdale S.W. - 1998 ; Drennan C.L. & Peters J.W. - 2003 ; Volbeda A. & Fontecilla-Camps J.C. - 2006 ; Ragsdale S.W. - 2008 ; Ragsdale S.W. & Pierce E. - 2008), ou dans celle de réactions d'oxydo-réduction dans les hydrogénases (Peters J.W. - 1999 ; Nicolet Y. *et al.* - 2002 ; Armstrong F.A. - 2004), les nitrogénases (Einsle O. *et al.* - 2002 ; Drennan C.L. & Peters J.W. - 2003). En raison de la diversité des fonctions des complexes soufre-métaux de transition en tant que cofacteurs enzymatiques et de la simplicité intrinsèque de la structure des clusters métalliques présents dans les enzymes, de nombreux auteurs ont attribué un rôle prébiotique aux sulfures de métaux de transition en tant que catalyseurs des premières étapes de l'évolution chimique (Wächtershäuser G. - 1988 ; Wächtershäuser G. - 1992 ; Russell M.J. *et al.* - 1994 ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 ; Russell M.J. & Hall A.J. - 1997 ; Crabtree R.H. - 1997 ; Beinert H. - 2000 ; Rees D.C. & Howard J.B. - 2003 ; Johnson D.C. *et al.* - 2005). A cet égard, il convient également de mentionner la capacité des sulfures de métaux de transition à activer des molécules simples telles que CO₂, CO, H₂, N₂ (Ragsdale S.W. & Kumar M. - 1996 ; Ragsdale S.W. - 1998 ; Peters J.W. - 1999 ; Nicolet Y. *et al.* - 2002 ; Einsle O. *et al.* - 2002 ; Drennan C.L. & Peters J.W. - 2003 ; Armstrong F.A. - 2004) qui font parti des gaz émis au niveau des sources hydrothermales.

En outre, de nombreux auteurs ont également envisagé un rôle de catalyseurs au sein de processus abiotiques de synthèse organique pour des minéraux autres que des sulfures métalliques, présents dans les roches du plancher océanique et pouvant être en interaction avec les fluides alimentant les sites hydrothermaux. C'est le cas notamment pour les minéraux tels que l'olivine, les alliages FeNi et divers oxydes métalliques que l'on peut trouver en association avec les roches ultramafiques subissant le processus de serpentinisation (Berndt M.E. *et al.* - 1996 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2001 ; Foustoukos D.I. & Seyfried W.E., Jr. - 2004 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2006 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007 ; Fu Q. *et al.* - 2007). Or, comme mentionné plus haut, les fluides impliqués dans les processus de serpentinisation peuvent conduire à des sources hydrothermales telles que celles rencontrées au niveau du site de Lost City (Kelley D.S. *et al.* - 2001 ; Früh-Green G.L. *et al.* - 2003) ou contribuer aux fluides émis au niveau de sources hydrothermales de type fumeurs noirs (Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002 ; Douville E. *et al.* - 2002 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007).

De plus, il faut noter qu'une gamme très large de conditions physico-chimiques peut être rencontrée aux alentours des cheminées selon, notamment la distance à laquelle on se trouve de la zone d'émission des fluides hydrothermaux. Il en résulte que les sites hydrothermaux offrent potentiellement une large palette de conditions physico-chimiques (pH, température, potentiel d'oxydo-réduction, minéraux disponibles *etc.*) pour des réactions d'intérêt prébiotique.

Enfin, la découverte des systèmes hydrothermaux sous-marins de type fumeurs noirs ainsi que des bactéries et archées y métabolisant le soufre, a éveillé l'intérêt des chercheurs pour l'élément soufre.

Par conséquent, dans ce contexte, les fumeurs noirs seraient de bons candidats pour l'apparition de la vie. Nous avons ainsi choisi au cours de cette thèse d'étudier la synthèse prébiotique dans les conditions régnant aux alentours des fumeurs noirs.

D.3 Mise en évidence de composés organiques d'origine abiotique dans des fluides hydrothermaux

Un certain nombre de travaux réalisés au cours des dernières années avait pour objectif de déterminer si la géosynthèse de composés organiques avait effectivement lieu au niveau de sources hydrothermales et si elle pouvait être mise en évidence.

Il s'agit là d'une tâche difficile dans la mesure où ces molécules organiques peuvent, à l'heure actuelle, servir de substrats pour les écosystèmes qui se développent au niveau des sources hydrothermales. D'autre part, dans la mesure où les sites hydrothermaux sont souvent colonisés par la vie, les produits organiques que l'on peut y trouver pourraient également être d'origine biologique. Enfin, même si l'on arrive à prélever des fluides hydrothermaux non contaminés par de la matière organique d'origine biologique avant leur mélange avec l'eau de mer, il est possible que ces fluides aient traversé, avant leur émission dans l'eau de mer, des roches sédimentaires riches en matière organique pouvant libérer des composés organiques sous l'effet de l'altération hydrothermale (Simoneit B.R.T. *et al.* - 1992 ; Cruse A.M. & Seewald J.S. - 2006 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007).

Néanmoins, la formation d'hydrocarbures (C_1 à C_4) ou d'acides carboxyliques de bas poids moléculaire a été mise en évidence dans des fluides hydrothermaux qui n'ont, en principe, pas pu subir de contribution d'origine sédimentaire (Holm N.G. & Charlou J.L. - 2001 ; Proskurowski G. *et al.* - 2008 ; Konn C. *et al.* - 2009 ; Lang S.Q. *et al.* - 2010). L'attribution d'une origine abiotique aux hydrocarbures allant de C_1 à C_4 observés dans ces fluides hydrothermaux repose en fait sur l'étude de leur composition isotopique. En effet, dans le cas d'une synthèse abiotique directe à partir d'une source de carbone en C_1 comme le monoxyde de carbone, les proportions de ^{13}C par rapport au ^{12}C devraient décroître avec l'augmentation du nombre de carbone. Une tendance inverse est normalement observée dans les cas d'hydrocarbures provenant de la pyrolyse de matière organique sédimentaire (Sherwood Lollar B. *et al.* - 2002 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007 ; Proskurowski G. *et al.* - 2008 ; Konn C. *et al.* - 2009).

E. Synthèse prébiotique des briques du vivant

Dans cette section de chapitre, après un petit historique des découvertes en chimie prébiotique, nous aborderons les recherches effectuées auparavant sur l'origine des cellules et en particulier sur la formation de compartiments dans des environnements aqueux à l'aide de composés amphiphiles. Nous décrirons les principales découvertes en relation avec la synthèse abiotique de composés organiques lipidiques, précurseurs potentiels des constituants membranaires actuels, au niveau de sites hydrothermaux, une problématique au cœur des travaux présentés dans cette thèse. Nous ajouterons quelques détails sur les différentes réactions d'intérêt prébiotique pouvant s'être déroulées aux alentours des sources hydrothermales. Par ailleurs, les recherches effectuées au cours de cette thèse portant également pour une bonne part sur l'abiogenèse des acides aminés, nous nous intéresserons aussi aux principales découvertes publiées à ce sujet. Enfin, nous présenterons les faits les plus marquants des dernières années dans le domaine de la synthèse prébiotique en général.

E.1 Historique & Expérience de S. Miller

Le pionnier de la recherche en chimie prébiotique fut le Prix Nobel russe A. Oparin qui proposa en 1938, dans son livre *Origin of Life* (réédité en 1953), des théories modernes pour l'origine de la vie sur Terre (Oparin A.I. - 1953). Il déclara que les structures vivantes n'ont vraiment pas pu déclencher leur propre synthèse, ou la synthèse de leurs constituants, mais qu'elles ont dû être assemblées par des réactions chimiques spontanées à partir de nutriments préexistants.

En 1953, l'étude expérimentale en synthèse prébiotique prit son essor lorsque H. Urey et son étudiant S. Miller publièrent les résultats de test effectués dans le but d'élucider comment les éléments de la vie (C, H, N, O, P, S) auraient pu être convertis en biomolécules lors de simulations de l'atmosphère primitive de la Terre (voir Miller S.L. - 1953).

L'air de la jeune Terre aurait été, selon eux, composé d'eau, de méthane, d'ammoniac et de dihydrogène. Ainsi, des réactions furent testées en laboratoire (voir Figure I - 15, page 33) en mettant en jeu différents mélanges de gaz, enfermés dans un récipient en verre, au dessus d'eau. Des décharges électriques furent utilisées comme source d'énergie pour simuler la foudre dans l'atmosphère primitive, permettant ainsi des réactions de synthèse.

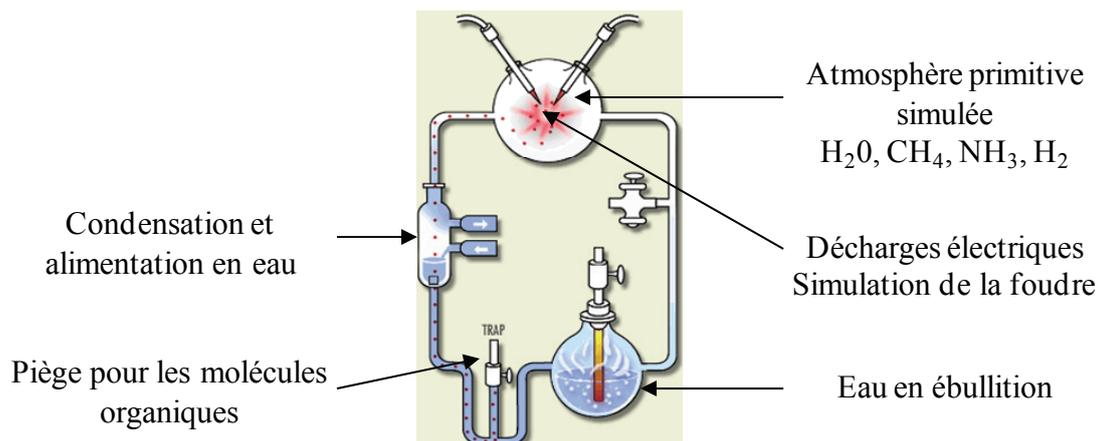


Figure I - 15 - Schéma de l'expérience de Miller
réalisé à partir de <http://www.nirgal.net/graphics/miller-urey.gif>

Une large variété de composés simples, d'acides organiques, entre autres plusieurs acides aminés tels que la glycine et l'alanine, apparurent de façon abiotique lors de réactions durant seulement quelques jours dans ces conditions réductrices. Les rendements en produits organiques formés dépendaient de la composition du mélange de gaz. En effet, la production de composés organiques nécessitait des gaz réduits (méthane ou dihydrogène). Si le dioxyde de carbone, une forme oxydée de carbone, ou le dioxygène étaient présents dans les mélanges gazeux de simulation, aucun produit n'était obtenu.

L'expérience a été reproduite de nombreuses fois depuis (voir Figure I - 16). En outre, les conditions de cette simulation historique ainsi que les produits formés ont été réétudiés.



Figure I - 16 - Photo de l'expérience de Miller reproduite à la NASA
(NASA-Ames Research Center)

Il est désormais généralement admis que l'atmosphère primitive était constituée de dioxyde de carbone, gaz dominant, de diazote, d'eau, de monoxyde de carbone et de dihydrogène, comme le proposent Walker J.C.G. *et al.* - 1983 et Kasting J.F. & Howard M.T. - 2006. Ainsi, même si depuis les premières expériences de Miller S.L. - 1953, le mélange de gaz utilisé s'est révélé être une représentation d'atmosphère primitive probablement inadéquate, car trop réductrice, ces expériences ont eu le mérite de fournir les premières preuves que la question de l'origine de la vie est un problème scientifique qui peut être abordé et peut-être résolu au moyen d'investigations scientifiques. Les simulations de S. Miller et H. Urey ne présentent désormais plus qu'un intérêt historique. Elles ont surtout ouvert le domaine de l'origine chimique de la vie à l'expérimentation et ont prouvé clairement que la synthèse de composés organiques peut avoir lieu facilement à partir de précurseurs inorganiques.

E.2 Formation de compartiments par interaction de composés amphiphiles

Comme nous l'avons évoqué précédemment la théorie compartimentée et celle d'un métabolisme peuvent être considérées en parallèle. Il paraît alors important de s'intéresser de plus près à la formation de vésicules et de micelles comme précurseurs des cellules. Il est également intéressant d'étudier le rôle de ces compartiments en chimie prébiotique. Cet axe de recherche a été particulièrement suivi au cours des travaux présentés dans ce manuscrit.

E.2.1 La vie cellulaire actuelle

Le simple fait d'appeler une entité organisme implique la nécessité pour ce dernier d'être isolé de son environnement et donc impose l'existence d'une barrière entre le milieu extérieur et l'endroit où prennent place les réactions assurant la survie de l'entité.

La formation de cette barrière dans des conditions prébiotiquement raisonnables est donc une étape cruciale dans le cadre de l'émergence de la vie cellulaire. En effet, sa présence permettrait d'effectuer dans un milieu fermé des réactions qui seraient défavorisées dans l'environnement de l'organisme, par des phénomènes d'hydrolyse par exemple, en considérant notamment l'apparition de la vie dans les océans (Oparin A.I. - 1953 ; Dyson F.J. - 1985 ; Morowitz H.J. - 1992).

Par ailleurs, d'un point de vue thermodynamique, la vie se distingue par son haut niveau d'organisation. Cependant, la deuxième loi de thermodynamique requiert que l'univers évolue dans le sens d'un désordre croissant (entropie croissante). Une exception dans cette loi autorise toutefois que l'entropie décroisse dans une aire limitée à condition qu'une plus grande augmentation se produise à l'extérieur. Quand les cellules vivantes grandissent et se multiplient, elles convertissent l'énergie chimique ou les radiations en chaleur. La chaleur ainsi libérée augmente l'entropie de l'environnement, compensant la baisse d'entropie au sein des systèmes

vivants. Une barrière maintient cette division du monde en poches de vie dans un environnement inanimé.

De nos jours, l'unité de base de la vie est la cellule. Celle-ci peut être de différentes formes mais elle est habituellement microscopique. La cellule est entourée par une membrane. Celle-ci, loin d'être une limite hermétique, constitue une surface d'échanges permettant la mise en place de flux. A travers cette barrière semi perméable, l'organisme se procure des nutriments et d'autres molécules de l'extérieur et, dans la direction opposée, rejette d'autres produits tels que des déchets. L'intérieur de la cellule est rempli d'une solution aqueuse, le cytoplasme, et d'une multitude de macromolécules différentes. Il existe deux types fondamentaux de cellules selon qu'elles possèdent ou non un noyau. Les procaryotes n'en ont pas et l'ADN est libre dans le cytoplasme. Les eucaryotes ont quant à eux une organisation complexe, renfermant entre autres des ribosomes et un noyau où sont stockés les chromosomes de l'ADN, séparés du cytoplasme par une membrane.

La quasi-totalité des barrières ou membranes cellulaires actuelles sont constituées de phospholipides (phosphoglycérolipides) organisés en bicouches lipidiques dans lesquelles diverses protéines sont incorporées (voir Figure I - 17). Les membranes isolent les fonctions vitales de la cellule de l'extérieur, permettant tout de même aux éléments essentiels à la survie de l'organisme de diffuser à travers les bicouches. Les phospholipides sont des molécules assez complexes et donc peu probables comme composés prébiotiques ayant servi à l'établissement des premières parois cellulaires. Néanmoins, il est connu que la propriété première de ces constituants membranaires est l'amphiphilie. Nous remarquons en effet une tête polaire et une chaîne lipidique (voir Figure I - 18, page 36).

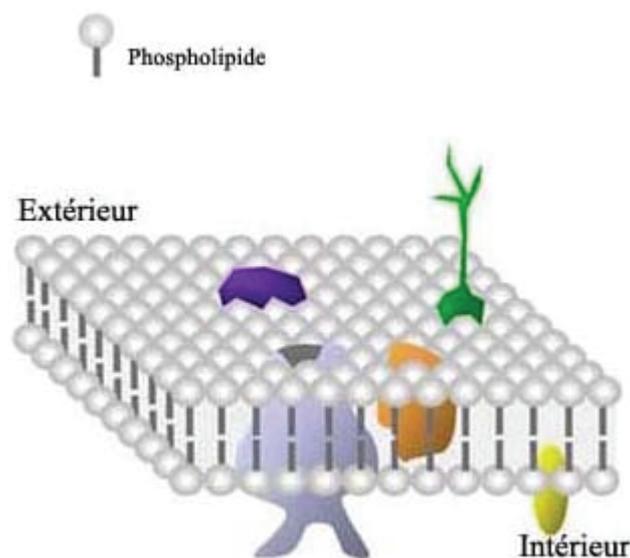


Figure I - 17 - Schéma d'une membrane cellulaire actuelle
Bicouche phospholipidique et protéines incorporées
réalisé à partir d'une image extraite de Teerikorpi P. et al. - 2009

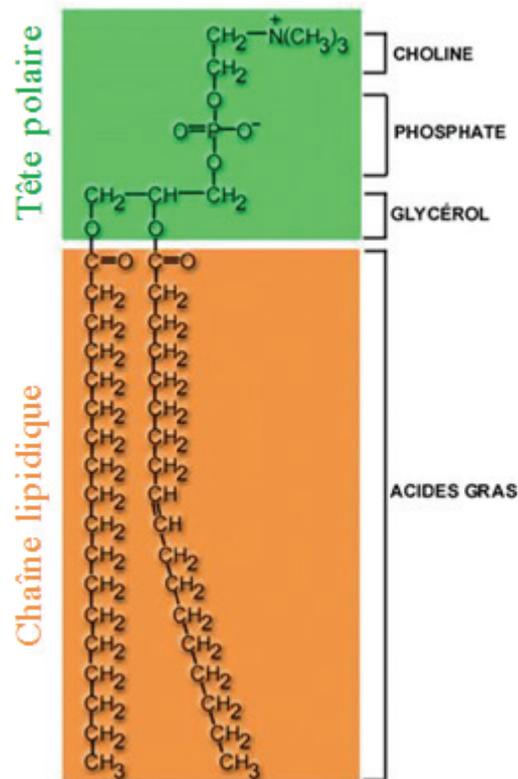


Figure I - 18 - Exemple de constituant d'une paroi cellulaire actuelle
extrait de Dubant S. - 2004

E.2.2 Recherches sur la formation de micelles ou vésicules

Ces dernières années, le comportement et le rôle potentiel en chimie prébiotique de composés amphiphiles, susceptibles de s'assembler en vésicules et micelles par interactions non-covalentes (voir Figure I - 19 et Figure I - 20), ont été étudiés par de nombreux chercheurs (voir par exemple Nakatani Y. *et al.* - 1993 ; Deamer D.W. - 1998 ; Blocher M. *et al.* - 1999 ; Luisi P.L. & Oberholzer T. - 2001 ; Segre D. *et al.* - 2001 ; Luisi P.L. - 2002 ; Nomura Shin-Ichirou M. *et al.* - 2002 ; Noireaux V. & Libchaber A. - 2004 ; Ishikawa K. *et al.* - 2004 ; Zhu T.F. & Szostak J.W. - 2009).

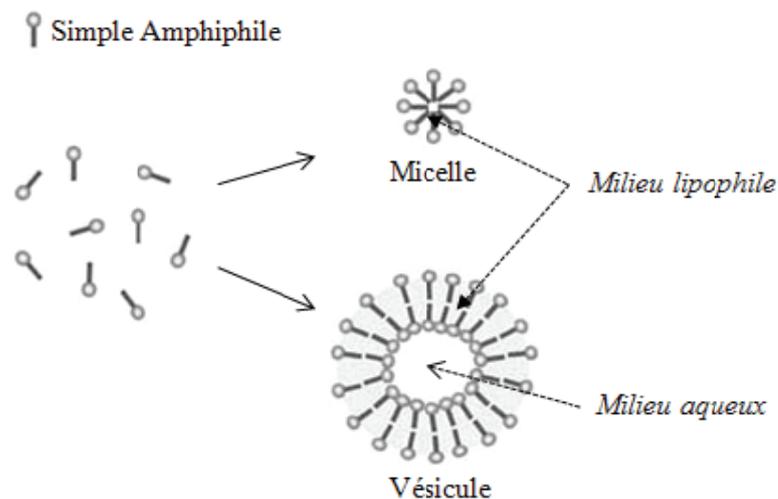


Figure I - 19 - Auto-assemblage de simples molécules amphiphiles en solution aqueuse

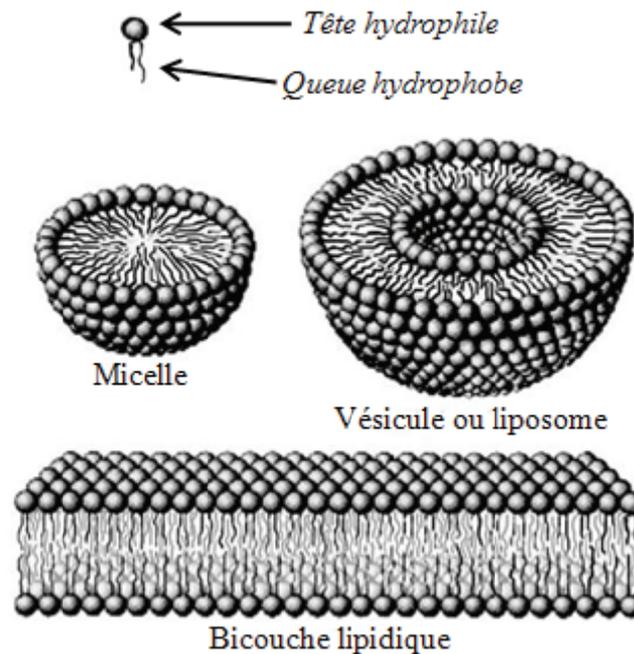


Figure I - 20 - Schéma en 3D d'une micelle, d'une vésicule et d'une bicouche lipidique
réalisé à partir d'une image extraite de Teerikorpi P. et al. - 2009

A cet égard, Nakatani Y. *et al.* - 1993 ont montré que des phosphates de polyprényles, qu'ils ont postulé comme prébiotiquement disponibles, forment spontanément des vésicules dans l'eau.

Il est tout à fait envisageable également que de simples acides carboxyliques linéaires puissent être considérés comme des précurseurs des composants membranaires actuels, étant donné que ce sont des molécules amphiphiles. En outre, ils sont encore présents sous forme d'esters de glycérol dans les phospholipides membranaires des organismes vivants actuels (voir Figure I - 18, page 36). Par ailleurs, il a été démontré que des acides carboxyliques de plus de huit carbones peuvent s'assembler spontanément en micelles dans l'eau. De plus, à partir d'une longueur de chaîne plus grande et de concentrations en composés amphiphiles suffisantes des vésicules peuvent se former Shinoda K. - 1954 ; Shinoda K. & Kinoshita K. - 1954.

En outre, des vésicules formées d'acides gras seraient semi-perméables, de telle façon qu'elles autoriseraient le passage de petites molécules à travers la membrane, comme de simples nucléotides ou des acides aminés, mais ne permettraient pas le passage de plus gros composés, tels que les structures macromoléculaires issues de la polymérisation de ces sous-unités Sacerdote M.G. & Szostak J.W. - 2005.

Il y a des milliards d'années, cela aurait probablement permis d'introduire ainsi dans le milieu prébiotique aqueux un environnement lipophile dans lequel les substrats hydrophobes auraient pu se concentrer et dans lequel certaines réactions importantes auraient été favorisées.

D'une part, d'après plusieurs chercheurs, grâce à des interactions lipophiles entre les vésicules ou micelles lipidiques et des substrats peu solubles dans un environnement aqueux, la polymérisation de monomères, comme les acides aminés puis les peptides, aurait été facilitée. A cet égard, admettant que des acides gras et des acides aminés soient synthétisés dans l'environnement des sources hydrothermales, Matsuno K. - 2004 a étudié l'interaction entre des

vésicules d'acide oléique et la glycine. La glycine pourrait s'adsorber à la surface des vésicules ou pourrait y être encapsulée. Il a ainsi été démontré que la synthèse de l'oligoglycine est améliorée en présence de vésicules lipidiques, en comparant à la formation en phase aqueuse sans membrane d'acide oléique. Par conséquent, il en est déduit que des vésicules d'acide gras pourraient avoir facilité l'oligomérisation, bien avant l'émergence des phospholipides, constituants actuels des membranes cellulaires. Par ailleurs, Hitz T. & Luisi P.L. - 2001 proposent en plus de la formation de chaînes polypeptidiques longues, hydrophobes et généralement insolubles dans l'eau, que des membranes soient capables de sélectionner certaines molécules parmi divers monomères de départ, permettant ainsi la formation de polypeptides possédant des séquences spécifiques. Au cours de leurs expériences, Hitz T. & Luisi P.L. - 2001 ont utilisé un agent condensateur lipophile et la réaction de polymérisation sélective a uniquement eu lieu en présence de vésicules et de l'agent sélectif. Des interactions hydrophobes entre la membrane lipidique, l'agent condensateur et les acides aminés ou peptides expliquent la sélectivité observée pour la synthèse des polypeptides (voir également Luisi P.L. *et al.* - 2000 et Luisi P.L. & Oberholzer T. - 2001). Enfin, Blocher M. *et al.* - 2000 ont investigué l'efficacité de liposomes chargés, par l'association de membranes lipidiques avec des molécules chargées. Ainsi, il est proposé que la polymérisation d'acides aminés et de peptides chargés, donc hydrophiles, s'ajoute à celle des substrats hydrophobes. Dans ce cas, des interactions électrostatiques s'ajoutent à celles entre molécules lipophiles. La polymérisation s'applique alors à tous types d'acides aminés et peptides, qu'ils soient chargés ou non.

En outre, intéressons nous de plus près aux réactions chimiques intervenant dans la polymérisation de monomères. La liaison peptidique est fondamentale dans la formation des peptides, des polypeptides et des protéines. Elle est le résultat de la réaction entre la fonction acide carboxylique d'un premier acide aminé et la fonction amine d'un deuxième, avec comme produit secondaire une molécule d'eau H_2O . Ainsi, en considérant toujours l'apparition de la vie dans l'eau (océans, lagons *etc.*), on comprend facilement que la formation de peptides à partir d'acides aminés notamment est très défavorisée en phase aqueuse. Par conséquent, en plus des interactions favorables entre les substrats et les compartiments lipidiques présents dans l'environnement aqueux, la disponibilité d'un milieu hydrophobe pour la formation de liaisons peptidiques par libération de molécules d'eau est facilitée.

De plus, notons que certains chercheurs encapsulent de façon synthétique des macromolécules afin de tester leur réactivité dans des vésicules et de montrer qu'un métabolisme pourrait évoluer dans des proto-cellules (*cf.* Oberholzer T. *et al.* - 1995a ; Blocher M. *et al.* - 1999 ; Oberholzer T. *et al.* - 1999 ; Luisi P.L. - 2002 ; Nomura Shin-Ichirou M. *et al.* - 2002 ; Ishikawa K. *et al.* - 2004 ; Chen I.A. *et al.* - 2005 ; Stano P. *et al.* - 2010). Un métabolisme aurait donc pu se développer au sein des proto-cellules, à l'abri du milieu extérieur. La perméabilité sélective des compartiments primitifs aurait favorisé l'absorption des briques du vivant dans l'environnement tout en retenant ensuite à l'intérieur des vésicules les biomolécules polymérisées au sein des compartiments. Ainsi, Chen I.A. *et al.* - 2005 ont publié des résultats montrant que des membranes faites de simples amphiphiles, en particulier un mélange d'acide myristoléique et d'ester de glycérol correspondant, peuvent former des vésicules assez stables pour retenir des molécules d'ARN encapsulées. Des cations divalents (Mg^{2+}) et des nucléotides,

nécessaires au fonctionnement des ribozymes, ont été ajoutés dans le milieu aqueux. Il a été démontré que les membranes formées autorisent le passage des ions et des mono-nucléotides. Des réactions catalysées par l'ARN, impliquant la réplication de l'ARN, pourraient alors être possibles, permettant la construction expérimentale de proto-cellules pouvant évoluer. Par conséquent, d'après Chen I.A. *et al.* - 2005, cette combinaison de stabilité et de dynamisme serait essentielle pour construire en laboratoire des proto-cellules modèles et aurait été impliquée dans l'évolution cellulaire primitive.

Par ailleurs, les membranes et vésicules construites spontanément pourraient se développer, croître, en intégrant des molécules amphiphiles supplémentaires disponibles dans leur environnement. Elles seraient également capables de se diviser et donc de se multiplier (Takakura K. *et al.* - 2003 ; Stanó P. *et al.* - 2006). Par conséquent, dans le cas où les proto-cellules posséderaient un métabolisme au sein de leur entité, en se divisant spontanément elles donneraient naissance à des proto-cellules filles possédant la même information et capables de se développer à partir du même métabolisme (Oberholzer T. *et al.* - 1995b ; Hanczyc M.M. *et al.* - 2003 ; Zhu T.F. & Szostak J.W. - 2009). Cette étape serait qualifiable d'autoréplication. A cet égard, l'une des découvertes marquantes de ces dernières années, traitant des structures de type cellulaire, est celle de Szostak J.W. *et al.* - 2001, Chen I.A. *et al.* - 2005 et Zhu T.F. & Szostak J.W. - 2009. Ces chercheurs proposent que la génétique et les membranes auraient pu évoluer ensemble. Ils suggèrent en effet que des proto-cellules se seraient formées à partir d'acides gras, organisés en bicouches lipidiques sphériques, et qu'elles auraient pu encapsuler des briques du vivant telles que des nucléotides pour former des macromolécules à l'intérieur de la cellule. L'ARN aurait pu se répliquer au sein de vésicules et une autoréplication de la proto-cellule aurait permis la distribution du génome primitif (molécules d'ARN) aux vésicules filles.

En résumé, la formation de micelles et vésicules aurait eu lieu de façon spontanée dans un environnement produisant suffisamment de lipides amphiphiles (Segre D. *et al.* - 2001). Les proto-cellules se seraient développées, auraient grandi en intégrant plus de lipides fournis par l'environnement. Elles auraient encapsulé de simples catalyseurs avec d'autres molécules permettant à un métabolisme primitif proto-cellulaire de se développer de cette façon. Enfin, elles se seraient divisées spontanément en de nouvelles petites vésicules, possédant donc des propriétés d'autoreproduction.

Toutefois, une zone d'ombre persiste. La source et la formation des molécules lipidiques n'a pas encore été élucidée totalement et constitue un axe de recherche à part entière. Bien que des acides carboxyliques linéaires soient des molécules structurellement simples, ils ne sont pas pour autant faciles à synthétiser dans des conditions prébiotiquement raisonnables. La formation de chaînes carbonées nécessite en effet une quantité importante d'énergie (réductrice).

Cette thématique est un des principaux axes de recherche suivis au cours de cette thèse. Nous aborderons donc dans la partie E.3 l'état des recherches dans ce domaine. Les travaux présentés dans ce manuscrit constituent d'ailleurs des découvertes innovantes pour la synthèse abiotique de chaînes hydrocarbonées, telles que des acides gras, à partir de précurseurs chimiques très simples

(CO₂, CO, H₂O, H₂S etc.), dans des conditions opératoires supposées simuler celles aux alentours des fumeurs noirs.

E.3 Étude de la synthèse abiotique de composés organiques lipidiques et de réactions d'intérêt prébiotique au niveau de sites hydrothermaux

Rappelons qu'au cours de cette thèse nous avons particulièrement adhéré à la théorie selon laquelle une compartimentation aurait été nécessaire lors des premières étapes de l'apparition de la vie. Nous considérons également, sans l'étudier expérimentalement, la théorie selon laquelle ensuite des proto-cellules auraient développé un métabolisme qui aurait permis une autoréplication des proto-organismes et la transmission d'une information génétique primitive. Nous admettons que les premiers processus biologiques seraient nés au fond des océans au niveau des événements hydrothermaux de type fumeurs noirs. Une compartimentation aurait nécessité la formation abiotique de composés lipidiques amphiphiles, c'est à dire la synthèse de chaînes hydrocarbonées fonctionnalisées, par conséquent la construction de liaisons carbone-carbone dans ces conditions.

Si de nombreux travaux ont été consacrés à la formation prébiotique des sucres, des acides aminés et des bases nucléiques, l'origine prébiotique des lipides est un aspect qui a été peu étudié jusque là. Il s'agit pourtant d'une question clé, puisque, comme nous l'avons mentionné dans la partie E.2.2 (pages 36 à 40), les lipides permettent la formation spontanée de vésicules ou micelles, capables d'encapsuler des molécules organiques, ainsi que de catalyser de nombreuses réactions d'intérêt prébiotique.

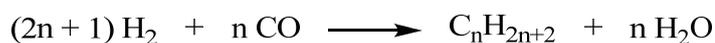
Comme nous l'avons évoqué auparavant, les fumeurs noirs sont considérés comme des sites potentiels pour les premières étapes de l'évolution chimique ayant conduit à la formation abiotique de composés organiques (voir Holm N.G. - 1992 ; Russell M.J. & Hall A.J. - 1997 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007). En effet, les fluides émis par leurs cheminées contiennent des sulfures métalliques (Fe, Ni, Co,...) et des gaz (H₂S, CO₂, CO, H₂, COS...) dont le rôle en chimie prébiotique est envisagé (Hekinian R. *et al.* - 1980 ; Merlivat L. *et al.* - 1987 ; Langmuir C. *et al.* - 1997 ; Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002).

Corliss J.B. *et al.* - 1981 furent les premiers à mentionner un possible lien entre les sources hydrothermales et le concept de la biogénèse. Ils proposèrent le premier modèle de synthèse de biomolécules dans des conditions hydrothermales, considérant les événements hydrothermaux comme des réacteurs idéaux pour une synthèse abiotique. La possibilité que des réactions de synthèse abiotique de composés organiques ou que d'autres réactions d'intérêt prébiotique (réactions de réduction et de condensation, notamment) puissent se produire dans les conditions régnant au niveau des sites hydrothermaux a ensuite été reprise par Wächtershäuser G. - 1988 et Russell

M.J. *et al.* - 1989. Elle a également été étudiée au cours des dernières années. Pour cela, des expériences en laboratoire ont été réalisées et mettent en jeu les constituants des fluides émis par les cheminées, dans des conditions compatibles avec celles régnant au niveau des sources hydrothermales sous-marines ou celles existant dans le soubassement rocheux des sites hydrothermaux.

E.3.1 Expériences en absence de soufre

Un premier type d'expériences visant à simuler les réactions de synthèse organique abiotique se produisant dans le contexte des sources hydrothermales a été réalisé dans des conditions ne mettant pas en jeu d'espèces soufrées, dont les sulfures métalliques. Les essais réalisés étaient supposés simuler les conditions régnant au niveau des roches ultramafiques lors du processus de serpentinisation. Dans ce type d'expériences, les catalyseurs utilisés sont, par exemple, l'olivine, un silicate de Fe et de Mg, constituant important des roches ultramafiques, ou des minéraux connus pour être formés lors de la serpentinisation tels que des oxydes métalliques (la magnétite ou les chromites, par exemple) ou des alliages Ni Fe (awaruite). Le substrat de départ est généralement le CO₂ et les produits observés sont, outre le méthane qui est généralement majeur, des hydrocarbures légers allant de C₂ à C₄. La formation de ces produits, qui peut rendre compte de la synthèse abiotique d'hydrocarbures légers observée en milieux naturels (*cf.* paragraphe D.3, page 31), est interprétée comme étant due à des réactions de type Fischer-Tropsch (*cf.* Réaction I - 4 et voir Berndt M.E. *et al.* - 1996 ; Rushdi A.I. & Simoneit B.R.T. - 2001 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2001 ; Foustoukos D.I. & Seyfried W.E., Jr. - 2004 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2006 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007 ; Fu Q. *et al.* - 2007).



Réaction I - 4 - Équation de base des réactions de type Fischer-Tropsch

Les réactions de type Fischer-Tropsch sont cependant supposées être sévèrement inhibées en présence d'espèces réduites du soufre (Miller S.L. & Bada J.L. - 1988 ; Keefe A.D. *et al.* - 1995 ; McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007) et semblent donc être exclues ou tout au moins limitées en présence de grandes quantités d'H₂S ou de sulfures métalliques, aux alentours des fumeurs noirs.

E.3.2 Expériences réalisées en présence de sulfures métalliques

Un deuxième type d'études expérimentales a porté sur le rôle potentiellement prébiotique des sulfures de métaux de transition en tant que catalyseurs des premières étapes de l'évolution chimique.

Ce rôle a largement été évoqué, dans la lignée de la théorie de G. Wächtershäuser (*cf.* C.1.2.2, page 18 et Wächtershäuser G. - 1988 ; Wächtershäuser G. - 1990a ; Wächtershäuser G. - 1990b ; Wächtershäuser G. - 1992 ; Wächtershäuser G. - 2006). Ce dernier soutient plus

particulièrement la place centrale des sulfures métalliques dans sa théorie d'une émergence autotrophe de la vie. Les essais réalisés dans ce contexte ont mis alors en jeu des sulfures métalliques (sulfures de fer et de nickel, notamment), des gaz soufrés ou non, émis au niveau des fumeurs noirs (CO₂, CO, H₂S, COS, N₂,...) et, éventuellement, différents substrats organiques.

L'attention des chercheurs a principalement porté sur les éléments fer et soufre et sur leur capacité à former des complexes Fe-S de structure définie, les clusters fer-soufre Rees D.C. & Howard J.B. - 2003. En effet, dès 1974, R. Österberg proposa l'importance des sulfures de fer, en particulier la pyrite FeS₂ et la pyrrhotite Fe_{0,86}S, dans des réactions pouvant mener à la synthèse de biomolécules. Ces sulfures de fer seraient ainsi impliqués dans la formation de ferrédoxines primitives et dans le transfert d'électrons permettant des processus photochimiques (voir Österberg R. - 1974).

Rappelons que G. Wächtershäuser, plus particulièrement, attribue un rôle clé aux sulfures de métaux de transition dans sa théorie d'un proto-métabolisme centré sur le minerai pyrite FeS₂, liant le domaine des fumeurs noirs à celui de la catalyse de surface (voir Drobner E. *et al.* - 1990 ; Wächtershäuser G. - 1990b ; Wächtershäuser G. - 1992 ; Blöchl E. *et al.* - 1992 ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 2006 ; Wächtershäuser G. - 2007). Le concept proposé par G. Wächtershäuser est, en résumé, l'émergence autotrophe de la vie, basée sur un proto-métabolisme, ne faisant intervenir aucune enzyme, permettant la synthèse et la polymérisation de composés organiques et ayant lieu à la surface du minerai pyrite, dans des conditions réductrices comme celles régnant aux alentours des sources hydrothermales sous-marines. La vie serait apparue par un cycle de réactions en cascades à partir de la réduction de CO₂/CO et N₂ couplée au pouvoir réducteur de la formation de la pyrite.

Remarquons que A. Cairns-Smith, un des leaders de la théorie d'une implication minérale dans l'apparition de la vie, a montré un intérêt particulier pour la théorie de la biogénèse hydrothermale mais aussi pour l'hypothèse de G. Wächtershäuser d'un monde centré sur la pyrite (Cairns-Smith A.G. *et al.* - 1992).

E.3.2.1 Réactions de réduction d'intérêt prébiotique

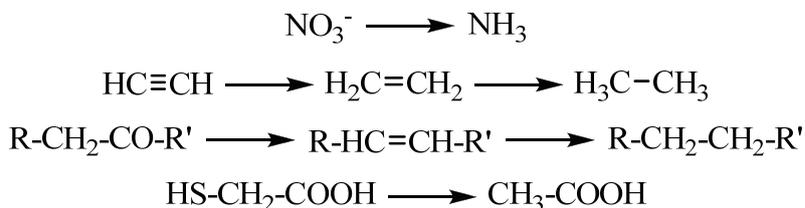
Le pouvoir réducteur du système FeS/H₂S lié à la grande stabilité de la pyrite en milieu anoxique est au cœur de la théorie de G. Wächtershäuser sur l'origine de la vie.



Réaction I - 5 - Réaction de formation de H₂ par oxydation de FeS par H₂S

Ainsi, il a été montré par Drobner E. *et al.* - 1990 que du dihydrogène, ainsi que de la pyrite, peuvent être formés par oxydation du sulfure de fer en présence de sulfure d'hydrogène, selon la réaction décrite ci-dessus. Cette réaction est maintenant bien établie et est susceptible de rendre compte de la formation de pyrite en milieu anaérobie. Il a, de plus, été postulé que le pouvoir réducteur du système FeS/H₂S soit à la base de nombreuses réactions de réduction d'intérêt prébiotique (*cf.* Wächtershäuser G. - 1988 ; Wächtershäuser G. - 1990a ; Wächtershäuser G. - 1992).

En effet, Blöchl E. *et al.* - 1992 ont pu montrer qu'effectivement ce système pouvait permettre la réduction de divers substrats organiques ou inorganiques par des expériences simulant les fumeurs noirs (phase aqueuse proche de la neutralité, 100°C, anaérobie) et mettant en jeu du sulfure de fer et H₂S. Blöchl E. *et al.* - 1992 ont ainsi mis en évidence notamment la réduction de nitrate en ammoniacque ou celle d'alcynes en alcènes et alcanes (*cf.* Réaction I - 6).



Réaction I - 6 - Réactions de réduction en présence de FeS/H₂S mises en évidence par Blöchl E. et al. - 1992

Des expériences de simulation ont également montré le pouvoir réducteur de FeS seul.



Réaction I - 7 - Réactions de réduction en présence de FeS mentionnées par Blöchl E. et al. - 1992

De plus, le pouvoir réducteur du système FeS/H₂S a été étudié par Kaschke M. *et al.* - 1994 qui ont montré, comme l'ont fait Blöchl E. *et al.* - 1992 deux ans auparavant, que le système est capable de réduire les groupes carbonyles, en utilisant la cyclohexanone comme composé modèle. Parmi les produits observés, cependant, le cyclohexanethiol et le dicyclohexyldisulfure sont sans doute le résultat d'une réduction par H₂S seul et n'impliquant pas le sulfure de fer. En effet, il a été montré précédemment, par Schouten S. *et al.* - 1994, Schneckenburger P. *et al.* - 1998 et Hebbing Y. *et al.* - 2006, notamment, que H₂S est capable de transformer les carbonyles en thiols par un processus de sulfuration réductrice qui ne nécessite pas de catalyse métallique.

Un an plus tard, une autre équipe (Keefe A.D. *et al.* - 1995) mentionna le rôle potentiel du système FeS/H₂S en chimie prébiotique. Les résultats obtenus dans les expériences réalisées par ces auteurs semblent montrer, cependant, que ce système n'est pas capable de conduire à la réduction de CO₂, ni de conduire à la formation d'acides aminés ou de purines.

Par ailleurs, des travaux réalisés par Dorr M. *et al.* - 2003 ont montré que FeS/H₂S était capable également d'induire la réduction de N₂ en NH₃ à l'aide d'expériences mettant en jeu du diazote marqué. Ce résultat a bien entendu des implications importantes pour la synthèse abiotique de composés azotés tels que les acides aminés ou les bases nucléiques.

E.3.2.2 Réactions de formation de liaisons C-C. Abiogenèse de composés organiques.

Des travaux ont également été réalisés dans le but de mettre en évidence le potentiel des conditions régnant au niveau des sources hydrothermales sous-marines et mettant en jeu des sulfures métalliques et H₂S. Ainsi, l'abiogenèse de composés organiques a été testée à partir de sources de carbone en C₁.

A cet égard, lors d'expériences reproduisant les conditions que l'on suppose avoir régné au niveau des fumeurs noirs sur la terre primitive (100°C, conditions de pH et de pression variées, FeS et NiS précipités *in situ*), Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 ont constaté que du thioacétate de méthyle et de l'acide acétique étaient formés en solution aqueuse, par réaction du méthanethiol et du monoxyde de carbone en présence de sulfure de fer et de nickel (*cf.* Réaction I - 8). L'acide acétique résulterait de l'hydrolyse partielle du thioester. Un mécanisme de catalyse de surface a été proposé et nous le discuterons dans la partie de ce manuscrit consacrée aux mécanismes (voir page 205).



Réaction I - 8 - Formation de thioacétate de méthyle et d'acide acétique observée par Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997

D'un point de vue chimique, ces expériences ont montré que des liaisons carbone-carbone peuvent être formées dans les conditions des événements hydrothermaux sous-marins et Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 proposent que les sulfures de métaux de transition catalysent cette fixation abiotique du carbone. Il semble, de plus, que le nickel soit absolument indispensable dans le processus de formation de liaisons C-C.

Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 furent parmi les premiers, avec G. Wächtershäuser, à évoquer la possibilité d'une synthèse abiotique et itérative de molécules organiques de plus en plus complexes à partir d'une source carbonée à un carbone, impliquant la formation de liaisons carbone-carbone et des réactions de réduction catalysées par des sulfures de métaux de transition. Toutefois, Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 ne proposèrent pas de voie précise pour cette synthèse. Ils montrèrent que CO₂ pourrait être la source de carbone au sein d'un processus prébiotique, en rapportant la formation de thiols de un à cinq carbones, de H₂, de CS₂ et de H₃C-SS-CH₃ à partir de CO₂ en présence de sulfure de fer et de sulfure d'hydrogène, dans des conditions anaérobies et à des températures inférieures à 100°C (Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996). Le processus proposé pourrait également avoir eu lieu dans les conditions régnant aux alentours des fumeurs noirs sur la terre primitive. La formation des thiols au-delà de C₂ est visiblement le résultat de processus itératifs dont les mécanismes ne sont pas connus mais qui pourraient potentiellement être à l'origine de composés de type lipidique.

Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. - 2004 ont également exploré le rôle catalytique potentiel des sulfures métalliques à hautes températures (250°C) et pressions (50, 100 et 200 mégapascals). Ils ont montré la possible formation itérative de liaisons C-C à partir d'un thiol alkylique dans des expériences mettant en jeu CO, issu de la dégradation thermique de l'acide formique utilisé comme source de carbone, et divers sulfures métalliques comme catalyseurs

(FeS, NiS, CoS *etc.*). En effet, dans les conditions expérimentales mises en œuvre, ils ont mis en évidence, d'une part, la synthèse des acides carboxyliques C₁₀ et C₁₁ à partir de nonanethiol, indiquant qu'une carbonylation itérative a bien eu lieu. D'autre part, ces auteurs ont également observé la formation du méthylonylthioéther, démontrant qu'une partie de CO est réduite en résidus méthylés dans ces conditions, le radical méthyle se retrouvant dans les produits de réaction sous la forme de méthylthioéthers. Enfin, pour la première fois dans l'histoire de la chimie prébiotique, la synthèse d'acide pyruvique dans des conditions hydrothermales fut mise en évidence, ce qui fit sensation car cet acide est une des substances les plus importantes dans le métabolisme des formes vivantes contemporaines (*cf.* Cody G.D. *et al.* - 2000 ; Cody G.D. - 2004).

Toutefois, peu de recherches ont été consacrées à la synthèse prébiotique de petites chaînes carbonées, notamment à celle de petits acides carboxyliques linéaires, ancêtres potentiels des constituants membranaires, à partir des précurseurs chimiques parmi les plus simples (source carbonée à un carbone, source hydrogénée à un ou deux hydrogènes). En effet, l'étape de la formation de liaisons carbone-carbone a souvent été étudiée à partir de composés prébiotiquement vraisemblables mais déjà assez complexes.

Cet aspect a, néanmoins, été abordé au cours de la thèse précédente, effectuée au laboratoire par Stéphane Dubant (Dubant S. - 2004). Les investigations scientifiques ont été consacrées à la formation de composés lipidiques amphiphiles simples, tels que les acides carboxyliques linéaires (idéalement avec un nombre de carbones >10) à partir de sources carbonées les plus simples (CO₂ ou CO).

Des expériences de simulation mettant en jeu CO₂/CO, H₂S et des sulfures métalliques (FeS, NiS, CoS, PbS, ...) dans l'eau, en autoclave et en flacon en verre, ont mis en évidence une voie géochimiquement vraisemblable de formation de thiols, d'acides carboxyliques, de thioacides et de thioesters.

Les investigations préliminaires sur lesquelles se basent nos travaux de recherche ont proposé l'existence d'un processus itératif pour l'une des premières étapes de l'apparition de la vie, à l'époque peu étudiée. L'étape de la formation de liaisons C-C à partir des précurseurs les plus simples disponibles au niveau des fumeurs noirs primitifs a ainsi été ébauchée et quelques mécanismes ont été proposés.

E.3.2.3 Autres réactions d'intérêt prébiotique : condensation et phosphorylation en milieu aqueux

Les réactions de condensation et de phosphorylation sont en principe des réactions fondamentales en chimie prébiotique puisqu'elles sont directement liées au mode de formation de composés macromoléculaires, tels que les polypeptides ou les oligonucléotides qui sont, respectivement, issus de la condensation des acides aminés et des nucléotides. Puisque ces réactions s'accompagnent de l'élimination d'eau, elles sont normalement extrêmement défavorisées en milieu aqueux (Brack A. - 2007). Si de nombreux travaux ont été consacrés

jusqu'à la question des réactions de condensation en chimie prébiotique, les conditions expérimentales mises en œuvre pour étudier ces réactions ne sont souvent pas très pertinentes. En effet, les expériences sont parfois réalisées en conditions anhydres ou mettent en jeu des réactifs de condensation ou des acides aminés activés dont la pertinence géochimique est discutable (voir Brack A. - 2007 et références citées).

Cependant, un certain nombre de travaux récents ont montré que les conditions régnant au niveau des sources hydrothermales sont susceptibles de favoriser les réactions de condensations. Ainsi, Imai E.I. *et al.* - 1999 et Ogata Y. *et al.* - 2000 ont montré que des polypeptides pouvaient être synthétisés à partir d'acides aminés, si l'on fait circuler une solution aqueuse d'acides aminés dans un réacteur simulant les conditions hydrothermales où la solution passe successivement d'une zone chaude à une zone refroidie. Par ailleurs, Huber C. & Wächtershäuser G. - 1998 ont publié des résultats attestant que des acides aminés peuvent être condensés en polypeptides lorsqu'on les fait réagir avec CO et H₂S en présence des sulfures de nickel et de fer. Plusieurs explications ont été proposées pour expliquer les réactions de condensation observées, dont une fait intervenir COS et la formation intermédiaire de N-carboxyanhydrides. A cet égard, il a également été montré que COS, un gaz émis au niveau des sources hydrothermales sous-marines (*cf.* Graupner T. *et al.* - 2001), pouvait être considéré comme un agent prébiotique de condensation d'acides aminés en milieu aqueux (Leman L. *et al.* - 2004a ; Leman L. *et al.* - 2004b) ou de phosphorylation (formation de polyphosphates ou d'esters de phosphates) en milieu aqueux (Leman L.J. *et al.* - 2006a ; Leman L.J. *et al.* - 2006b).

E.3.2.4 Conclusions

Ainsi, pour conclure, plusieurs études récentes ont montré le potentiel de la chimie des sulfures de métaux de transition, ou plus généralement de la chimie susceptible de se produire au niveau des sources hydrothermales sous-marines où sont émis des fluides riches en soufre, comme axe central possible d'une théorie très complète de chimie prébiotique. Cette théorie amènerait des réponses à plusieurs questions fondamentales portant, notamment, sur la synthèse abiotique de constituants organiques de différentes natures, à partir de sources de carbone simples, sur les processus réducteurs intervenant dans l'abiogenèse de produits organiques d'intérêt prébiotique, tels que l'ammoniaque, ou sur les réactions de phosphorylation et de polymérisation d'acides aminés en milieux aqueux.

E.4 Synthèse prébiotique d'acides aminés

Nous avons précédemment abordé le fait que les briques de base du vivant, de petites molécules telles que les acides gras, les bases nucléiques et les acides aminés, auraient été synthétisées à partir de précurseurs chimiques (CO₂, H₂S, N₂ *etc.*) lors de l'apparition de la vie sur Terre. Plus tard au cours de l'évolution, ces petites molécules auraient subi des polycondensations aboutissant à des macromolécules. Une partie des travaux de recherche effectués au cours de cette thèse a été consacrée à la synthèse abiotique, dans les conditions hydrothermales, de chaînes hydrocarbonées mono-fonctionnalisées, de type lipidique, et une

deuxième partie a été dédiée à la formation de composés bi-fonctionnalisés, tels que les acides aminés. Les résultats présentés dans le chapitre IV montreront d'ailleurs que la formation prébiotique des acides aminés est étroitement liée à celle de liaisons C-C et donc que les deux axes de recherche en chimie prébiotique, présentés dans les parties E.3 (page 40) et E.4 sont en relation.

L'origine des acides aminés et des polymères qui en découlent a été plus étudiée que la synthèse de petites chaînes hydrocarbonées à partir de précurseurs chimiques simples. En effet, de nombreux résultats expérimentaux ont été publiés. Nous allons donc dans ce qui suit tenter de résumer les différentes théories pour la formation des acides aminés sur la Terre primitive.

Les acides aminés sont des composants moléculaires essentiels à la vie. Ils sont en effet les constituants de base des protéines et plus particulièrement des enzymes. Leur chiralité a certainement joué un rôle dans l'apparition de la vie et dans l'émergence de l'homo-chiralité des espèces vivant sur la Terre. Les protéines des organismes vivants sont composées de vingt acides aminés de base. Il est fort probable que la plupart de ces acides aminés existaient sur la Terre primitive. Comment ces ingrédients indispensables à l'évolution moléculaire et à l'apparition de la vie ont-ils pu se former abiotiquement ?

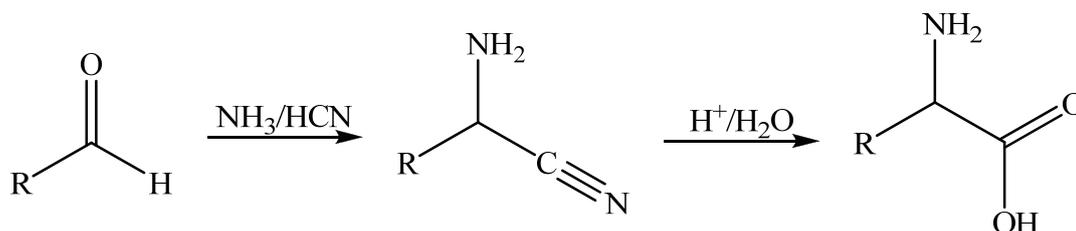
Parmi les recherches en chimie prébiotique, nous distinguons trois modèles principaux pour la genèse des acides aminés primitifs. En effet, leur synthèse abiotique se serait déroulée soit dans l'atmosphère primitive, soit dans l'hydrosphère, soit dans l'espace, suivie dans ce cas par l'importation de ces produits réactionnels par des météorites ou comètes.

E.4.1 Formation abiotique d'acides aminés dans l'atmosphère primitive

Très peu d'expériences chimiques ont eu autant d'impact et autant de publicité que la première synthèse de biomolécules réalisée dans des conditions prébiotiques par Miller S.L. - 1953. Comme nous l'avons évoqué dans la partie E.1 (page 32) de ce chapitre, une atmosphère réductrice, supposée représenter celle de la Terre primitive, a été simulée, suivant ainsi les hypothèses proposées en 1924 par A. Oparin et J. Haldane.

S. Miller utilisa un mélange de CH_4 , NH_3 , H_2O et H_2 et ce système fut soumis à des décharges électriques. S. Miller put mettre en évidence la formation abiotique de dix des vingt acides aminés utilisés dans les protéines modernes, en particulier la glycine (rendement de 2,1% par rapport à la quantité initiale de CH_4) (Miller S.L. - 1953), l'alanine (1,9%), ainsi que d'autres molécules organiques simples telles que l'acide formique, l'acide lactique et l'acide glutamique. Ces résultats très innovants furent publiés dans Science sous le titre « A Production of Amino Acids Under Possible Primitive Earth Conditions » (*cf.* Miller S.L. - 1953). D'après S. Miller, il est possible que la synthèse des acides aminés observés implique la formation de radicaux libres. On peut également envisager la formation des acides aminés par la réaction de Strecker, impliquant HCN , NH_3 et HCHO , suivie d'une hydrolyse (voir Strecker A. - 1850 ; Strecker A. - 1854 ; Rauchfuss H. - 2008a). Lors de cette réaction, du cyanure d'hydrogène et du

formaldéhyde réagissent avec l'ammoniaque pour aboutir à la formation d'acides aminés selon le schéma ci-dessous.



Réaction I - 9 - Formation d'acides aminés par la Réaction de Strecker

Cependant, il a depuis été proposé que l'atmosphère terrestre primitive ait été faiblement réductrice et probablement composée de CO_2 , N_2 , H_2O , avec de petites quantités de CO et H_2 . Cette composition a été déduite du fait que les gaz de l'air provenaient à l'époque principalement des émanations volcaniques intenses sur la jeune Terre (Kasting J.F. & Brown L.L. - 1998 ; Kasting J.F. & Howard M.T. - 2006).

Le problème avec les fameuses expériences de S. Miller est qu'elles ne sont pas complètement transposables à une atmosphère faiblement réductrice (Schlesinger G. & Miller S.L. - 1983 ; Miller S.L. & Schlesinger G. - 1984 ; Miller S.L. - 1998). En effet, l'intermédiaire HCN , nécessaire à la synthèse des acides aminés, est essentiellement formé lors de décharges électriques appliquées à un mélange gazeux contenant N_2 et CH_4 . Ainsi, il n'est pas observé lors d'expériences impliquant N_2 et CO_2 , et est notamment remplacé par NO (Kasting J.F. & Brown L.L. - 1998). Il est important de préciser que les composés obtenus lors de toutes ces expériences se présentent dans des proportions racémiques. En effet, aucune asymétrie n'est engendrée par des décharges électriques.

L'importance de la synthèse abiotique de biomolécules dans l'atmosphère demeure toutefois soutenue. En effet, bien que les rendements semblent inférieurs à ceux présentés initialement par S. Miller, la synthèse d'acides aminés reste possible au sein d'atmosphères non réductrices.

Certains chimistes prébioticiens, notamment Khare B.N. & Sagan C. - 1971, Sagan C. & Khare B.N. - 1971 et Bar-Nun A. & Chang S. - 1983, se sont en effet intéressés à la photosynthèse d'acides aminés, en faisant subir à divers mélanges gazeux des rayonnements ultraviolets à hautes longueurs d'ondes, dans le but de simuler les radiations solaires sur la jeune Terre.

D'autres chercheurs ont proposé l'efficacité de rayonnements cosmiques, c'est-à-dire de flux de noyaux atomiques et de particules de haute énergie (par exemple des protons), appliqués à des atmosphères non réductrices, telles qu'un système $\text{CO}/\text{N}_2/\text{H}_2\text{O}$ (cf. Kobayashi K. *et al.* - 1998 ; Miyakawa S. *et al.* - 2002).

Enfin, certains auteurs ont approfondi les expériences historiques de S. Miller. Ruiz-Bermejo M. *et al.* - 2007 ont notamment appliqué des décharges électriques à une atmosphère gazeuse en présence d'un aérosol aqueux. En outre, le montage initialement utilisé par S. Miller fut modifié de nombreuses fois. L'utilisation d'un réacteur rempli à moitié d'eau et d'une atmosphère de CO_2 , N_2 et H_2O , soumis à des décharges électriques par une électrode dans l'eau et une électrode en phase gazeuse, est un des exemples fructueux des adaptations des toutes premières

simulations de Miller S.L. - 1953 et a été mentionnée par Plankensteiner K. *et al.* - 2004. Par ailleurs, Cleaves H. *et al.* - 2008 ont montré que l'association d'une atmosphère gazeuse non réductrice (CO₂/N₂) et de la disponibilité d'inhibiteurs d'oxydation présents dans l'océan primitif, tels que des ions Fe²⁺, améliorerait significativement la synthèse des biomolécules par des décharges électriques.

Toutes ces données publiées sur la synthèse d'acides aminés dans l'atmosphère, qu'elle soit réductrice ou oxydante, ne prennent toutefois pas en compte l'environnement défavorable qu'était l'atmosphère primitive. Comme nous l'avons mentionné auparavant (voir partie B page 9), la surface de la jeune Terre était la scène de déchaînements de la nature, tels que des éruptions volcaniques soutenues, des tempêtes et des orages, mais aussi de bombardements intenses d'objets extraterrestres de toutes tailles (Teerikorpi P. *et al.* - 2009). Par ailleurs, il n'y avait sans doute pas de couche d'ozone, ainsi des rayons solaires ultraviolets et cosmiques irradiaient fortement l'atmosphère. Par conséquent, des rayons énergétiques, ultraviolets ou cosmiques, ont pu participer à la formation de molécules organiques, comme le proposent les défenseurs de cette théorie, mais accompagnés d'éclairs, de chocs *etc.* Ces rayons ont fort probablement aussitôt dégradé une grande partie des produits réactionnels. L'endroit le plus à l'abri pour le berceau de la vie est certainement le fond des océans. On peut concevoir que certains des composés formés dans l'atmosphère se soient peut-être dissous dans les océans. Toutefois les eaux peu profondes demeurent également soumises aux principales sources de dégradations.

E.4.2 Synthèse prébiotique d'acides aminés dans l'espace

Environ 90 acides aminés chiraux ont été découverts dans des météorites de type chondrites carbonées (voir par exemple Kvenvolden K.A. *et al.* - 1970, Cronin J.R. & Pizzarello S. - 1997, Ehrenfreund P. *et al.* - 2001, Meierhenrich U.J. *et al.* - 2004 et Meierhenrich U.J. - 2008). Les chondrites proviennent de corps relativement petits (de diamètre inférieur à quelques dizaines de kilomètres), se sont formées en même temps que le système solaire et se sont conservées ainsi depuis. Parmi ce type de météorites, on distingue les chondrites carbonées qui renferment de faibles quantités de carbone organique (jusqu'à 6%). Les nombreux composés observés au sein d'objets extraterrestres sur la Terre auraient été synthétisés dans des environnements interstellaires puis délivrés sur la Terre par des météorites. Ils auraient ainsi enrichi le berceau de la vie en petites molécules organiques chirales telles que les acides aminés.

Les milieux interstellaires et circumstellaires sont des environnements rudes où de simples molécules gazeuses et des poussières interstellaires sont bombardées par des rayonnements ultraviolets (photons) et cosmiques (protons, rayons x, rayons γ *etc.*) intenses (voir Mennella V. *et al.* - 2001 ; Caro G.M.M. *et al.* - 2001). On trouve dans les nuages interstellaires des poussières sous la forme de glaces renfermant principalement H₂O, CO, CO₂, CH₃OH et NH₃ (Gibb E.L. *et al.* - 2001 ; Gibb E.L. *et al.* - 2004). Les rayons ultraviolets sont responsables de la dissociation de ces molécules, celles-ci se recombinent ensuite pour former des molécules organiques (Munoz Caro G.M. *et al.* - 2004). Des chercheurs, notamment Briggs R. *et al.* - 1992, Kobayashi K. *et al.* - 1999, Munoz Caro G.M. *et al.* - 2002 et Meierhenrich U.J. - 2008, ont

simulé la chimie interstellaire en laboratoire et reproduit des particules interstellaires à l'aide d'expériences dans le vide, à très basse température, nécessitant un appareillage spécifique. Un mélange gazeux, du même type que ceux observés dans l'espace, contenant H₂O, NH₃, CH₃OH, CO et CO₂, a été déposé dans un réacteur sur une surface froide et irradié par une lampe UV. Des radicaux sont ainsi formés puis se recombinent, formant diverses molécules organiques. Après prélèvement et traitement chimique, des acides aminés ont été observés, notamment la glycine, l'alanine, la valine, la proline, la sérine et l'acide aspartique. Les molécules organiques prélevées se trouvent en fait probablement sous la forme de polypeptides ou oligomères (assemblage d'acides aminés) dont les structures et les voies de formations restent floues (*cf.* Meierhenrich U.J. *et al.* - 2005a ; Elsila J.E. *et al.* - 2007). Ces polymères seraient hydrolysés lors du traitement de l'échantillon libérant ainsi des acides aminés (Engel M.H. & Macko S.A. - 2001). Par ailleurs, la plupart des acides aminés synthétisés lors des simulations en laboratoire des environnements interstellaires ont été identifiés dans les prélèvements des météorites chondrites carbonées (voir Cronin J.R. & Pizzarello S. - 1997 ; Ehrenfreund P. *et al.* - 2001 ; Engel M.H. & Macko S.A. - 2001 ; Meierhenrich U.J. *et al.* - 2004). Enfin, étant donné que des acides aminés ont été observés sous la forme de mélanges non racémiques dans diverses météorites, par Cronin J.R. & Pizzarello S. - 1997 ; Cronin J.R. & Pizzarello S. - 1999 ; Pizzarello S. & Cronin J.R. - 2000 ; Pizzarello S. *et al.* - 2003 notamment, des chercheurs ont abordé la photosynthèse asymétrique d'acides aminés en laboratoire. A cet égard, Meierhenrich U.J. *et al.* - 2005b et Nuevo M. *et al.* - 2006 proposent en fait d'irradier des particules interstellaires glacées à l'aide d'une lumière polarisée, nécessitant l'utilisation de synchrotrons. Pour l'instant, cette formation asymétrique manque de résultats concrets non contestables.

Par conséquent, il est proposé que des acides aminés existent dans les environnements interstellaires, assemblés en polymères. Aucune mesure directe dans l'espace de tels polymères ou d'acides aminés libres n'a toutefois été réalisée à l'aide des techniques astronomiques actuelles. De plus, la structure et les voies de formation des produits interstellaires restent à élucider. Cependant, il est supposé que, dans l'espace, des petites particules glacées auraient permis d'importantes réactions abiotiques lors de leurs irradiations par des rayons solaires ultraviolets. Il ne serait ainsi pas exclu que des poussières interstellaires auraient pu être importées sur la jeune Terre, notamment par des (micro)-météorites et, ou des comètes, comme le suggèrent Oro J. *et al.* - 1991 et Maurette M. - 2006. La survie d'une partie des molécules organiques interstellaires, durant la pénétration des objets extraterrestres dans l'atmosphère et le choc de leur impact, dépendrait de la taille, de la densité, de la structure des particules, comètes ou météorites *etc.* (Greenberg J.M. - 1993 ; Greenberg J.M. *et al.* - 1995). La chimie interstellaire aurait alors peut-être pu jouer un rôle dans l'approvisionnement de la Terre en matières premières organiques nécessaires à l'apparition de la vie (*cf.* Meierhenrich U.J. - 2008).

Ce domaine de recherche demeure à notre connaissance encore flou quant aux mécanismes de synthèse des molécules observées et quant à la survie de ces éventuels composés lors des bombardements extraterrestres de la Terre primitive et une fois importés sur la jeune Terre. En conséquence, nous privilégions une synthèse des premiers composés organiques au fond des océans mais nous n'excluons pas totalement une contribution extraterrestre en parallèle.

E.4.3 Abiogenèse des acides aminés dans l'eau

Au cours de cette thèse, nous avons suivie la théorie proposant l'apparition de la vie au fond des océans, en particulier au niveau des fumeurs noirs. Nous avons abordé dans la partie E.3 (page 40) la synthèse abiotique de chaînes hydrocarbonées aux alentours de ces sources hydrothermales. Il est également proposé que les fumeurs noirs aient permis la formation des acides aminés sur la jeune Terre.

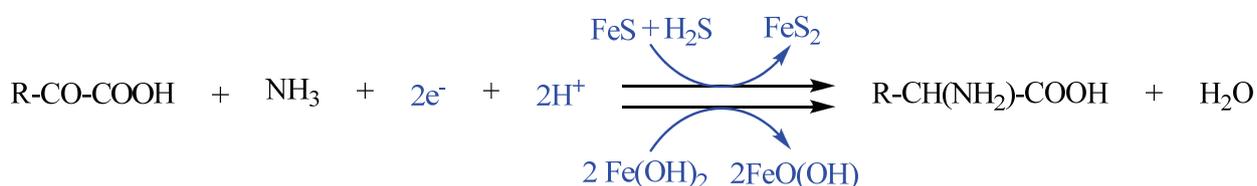
D'une part, Oro J. *et al.* - 1959, un des pionniers de la chimie prébiotique, a publié des résultats démontrant que plusieurs acides aminés, des hydroxy-acides et d'autres composés biochimiques, principalement la glycine, l'alanine, l'acide aspartique et l'acide α -aminobutyrique, peuvent être synthétisés en chauffant à 80°C un mélange aqueux de HCHO et de NH₂OH, HCl. HCN et NH₃ seraient parmi les premiers composés formés et la réaction de Strecker (voir Réaction I - 9, page 48) serait impliquée dans la formation des acides aminés. Oro J. & Kamat S.S. - 1961, Oro J. - 1961 et Oro J. & Kimball A.P. - 1962 développèrent ensuite cette nouvelle voie et proposèrent la synthèse d'acides aminés par réaction de HCN et NH₄OH en solution aqueuse à 70°C, ainsi que la polymérisation de HCN. En outre, la formation abiotique d'acides aminés proposée par Oro *et al.* fut confirmée par Lowe C.U. *et al.* - 1963. Dix ans plus tard, elle fut également reprise et développée par Ferris J.P. *et al.* - 1973a ; Ferris J.P. *et al.* - 1973b ; Ferris J.P. *et al.* - 1974. Dans toutes les expériences effectuées selon cette voie de synthèse, la glycine est l'acide aminé majoritaire et le rendement de synthèse correspondant est d'environ 1% (basé sur les réactifs azotés). Par ailleurs, les rendements des autres acides aminés sont bien plus faibles.

D'autre part, Wolman Y. *et al.* - 1971 proposèrent l'implication du formaldéhyde en tant que source carbonée dans l'apparition de la vie et expérimentèrent la synthèse d'acides aminés par chauffage à 185°C d'une solution aqueuse de HCHO (10mol/L) et d'ammoniaque introduit sous la forme de NH₄OH (3,7mol/L). Ces expériences furent toutefois assez infructueuses (traces d'acides aminés) et surtout sujettes à polémiques car les concentrations élevées en réactifs ne respectaient pas les conditions supposées avoir régné sur la Terre primitive. Kamaluddin Y.H. & Egami F. - 1979 continuèrent cependant dans cette voie utilisant le méthanal et furent parmi les premiers à proposer l'influence des métaux de transition dans la synthèse des acides aminés, se rapprochant ainsi des conditions particulières (abondance de sulfures métalliques de métaux de transition) existant aux alentours des sources hydrothermales. D'après Kamaluddin Y.H. & Egami F. - 1979, les principaux acides aminés produits par réaction de HCHO et de NH₂OH en présence d'ions métalliques sont la glycine, la sérine, l'acide aspartique et la β -alanine. La formation de HCN et la réaction de Strecker seraient impliquées dans la synthèse des acides aminés.

Par ailleurs, Hennes R.J.C. *et al.* - 1992 rapportèrent des simulations également proches de l'environnement des fumeurs noirs et proposèrent la synthèse de la glycine, l'acide aspartique et l'alanine par réaction de HCN, HCHO et NH₄Cl dans l'eau, à 150°C, à pH proche de 7 et sous une pression de 10bar (CO₂, H₂, mélange 3:1), en présence du tampon rédox pyrite/pyrrhotite/magnétite.

Yanagawa H. & Kobayashi K. - 1992 présentèrent l'obtention d'acides aminés par réaction de CH₄ avec NH₄Cl à 325°C, en présence de plusieurs cations métalliques (Fe²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Ca²⁺, Ba²⁺). En outre, Marshall W.L. - 1994 proposa la formation d'acides aminés par réaction de NH₄OH ou NH₄HCO₃ avec HCHO, NaCN et H₂, dans l'eau, à 210°C.

Par ailleurs, des découvertes ont également été faites en relation avec les composés bi-fonctionnalisés et donc l'hypothèse d'un cycle réducteur de Krebs inversé proposée par Wächtershäuser G. - 1990a (voir C.1.2.2, page 18). En effet, tout d'abord, G. Wächtershäuser a suggéré la possible conversion d' α -cétoacides en acides- α -aminés dans l'eau, par amination réductrice à l'aide de NH₃, d'un point de vue uniquement théorique. Puis, il démontra sa théorie expérimentalement à 100°C, en présence du système FeS/H₂S ou de Fe(OH)₂, agissant tous deux comme agents réducteurs et catalyseurs, en fournissant des électrons et des protons, selon la réaction suivante (voir Hafenbradl D. *et al.* - 1995 ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 2003).



Réaction I - 10 - Amination réductrice de cétoacides en acides aminés

Au cours de ces travaux, Hafenbradl D. *et al.* - 1995 et Huber C. & Wächtershäuser G. - 2003 ont, en effet, rapporté la synthèse de la phénylalanine à partir du phénylpyruvate, impliquant les systèmes FeS/(NH₄)₂CO₃, FeS/NH₄Cl/Na₂CO₃ ou FeS/NH₄Cl/CO₂, dans l'eau à pH=8,5 et à 100°C. Tous ces résultats supportent la théorie d'une origine de la vie basée sur la pyrite et suggèrent que l'amination réductrice des α -oxoacides (acides possédant un CO en α) du cycle réducteur de l'acide citrique primitif, notamment le pyruvate, l'oxalacétate, l' α -cétoglutarate et l'acide glyoxylique, pourraient avoir joué un rôle dans la synthèse prébiotique des acides aminés sur la jeune Terre. En outre, Morowitz H.J. *et al.* - 1995 proposèrent également l'amination réductrice de cétoacides, en démontrant la formation d'acide glutamique à partir de d' α -cétoglutarate, de NH₃ et HCOOH, en solution aqueuse. D'ailleurs, comme nous l'avons déjà évoqué, la synthèse du pyruvate a été rapportée par Cody G.D. *et al.* - 2000, lors d'expériences de simulation impliquant CO, FeS et du nonanethiol à 250°C et sous une pression totale de 2000bar.

Un peu plus tard, Huber C. & Wächtershäuser G. - 2006 publièrent de nouvelles découvertes sur la formation d'acides aminés ainsi que d'hydroxyacides. Des réactions impliquant KCN, CO, les cations Ni²⁺ ou Fe²⁺ ou Ni²⁺/Fe²⁺, CH₃SNa, et facultativement Na₂S, à pH basique, et à 100°C +/- 20°C, génèrent des produits du type R-CHA-COOH, avec A=OH ou NH₂ et R=H, HOCH₂, CH₃, C₂H₅ ou C₃H₇. Les résultats de Huber C. & Wächtershäuser G. - 2006 indiqueraient une possible extension de chaîne pour des acides α -aminés. De la glycine-amide fut détectée présumant que les acides aminés auraient été formés à partir de CN, via Ni(CN)₂ et via des carboxamides (R-CHA-CO-NH₂). Par ailleurs, des traces de pyruvate ayant été également

observées, le processus de formation d'acides aminés impliquerait également des intermédiaires de type α -cétoacides et α -iminoacides ($\text{HN}=\text{CR}-\text{COOH}$). Les sources d'électrons demeureraient, dans ce cas, les formes réduites de fer ou de nickel, telles que FeS.

Enfin, Aubrey A.D. *et al.* - 2009 ont récemment publié leurs conclusions concernant la possibilité de synthétiser des acides aminés au niveau des sources hydrothermales, en chauffant une solution aqueuse de NH_4HCO_2 ou un mélange de HCHO, NH_4Cl et Na_2S . D'ailleurs, leurs résultats coïncident avec les très faibles rendements de synthèse d'acides aminés ($R \leq 0,01\%$) obtenus par d'autres équipes lors de simulations à plus de 200°C (voir Yanagawa H. & Kobayashi K. - 1992 ; Marshall W.L. - 1994). Le mécanisme proposé par A. Aubrey pour la synthèse des acides aminés passerait par la formation de HCN, suivie de la polymérisation de ce dernier. En outre, Aubrey A.D. *et al.* - 2009 ont démontré que les hautes températures et pressions (300°C et 200bar pendant 20min) favorisent la dégradation des acides aminés (glycine, sérine, alanine, acide aspartique et acide glutamique), notamment leur décarboxylation, plutôt que leur formation, ce qui expliquerait peut-être les faibles rendements obtenus. Finalement, Aubrey A.D. *et al.* - 2009 préconisent la formation abiotique des premiers composés organiques à une température modérée ($\sim 100^\circ\text{C}$), ce qui correspondrait au refroidissement du fluide hydrothermal chaud dans l'océan ($\sim 4^\circ\text{C}$).

Parmi toutes les expériences de simulation citées ci-dessus, un grand nombre nous semble ne pas être prébiotiquement vraisemblable, par l'utilisation de réactifs dont le caractère primitif est contestable, tels que HCN et NH_2OH , par les hautes températures et hautes pressions appliquées dans certains cas, ainsi que par les concentrations en réactifs parfois trop élevées. Ainsi, à notre connaissance, aucune expérience de simulation n'est en réelle adéquation avec les conditions supposées avoir régné aux alentours des fumeurs noirs (pH légèrement acide ou neutre, en température due au refroidissement des fluides dans l'eau de mer inférieure ou égale à 100°C , sulfures de métaux de transition, CO et H_2S). Ainsi, les résultats que nous présenterons dans le chapitre IV (page 211) apparaissent innovants notamment par les conditions expérimentales que nous avons choisies lors de nos travaux de recherche.

E.5 Quelques découvertes récentes et marquantes en chimie prébiotique

Ces dernières années, quelques découvertes ont replacé la théorie d'une origine terrestre de la vie sur le devant de la scène.

D'une part, la formation des nucléotides formés d'une base azotée, d'un groupe phosphate et d'un sucre n'a pas encore été clarifiée pour l'instant. Il a été démontré qu'il est difficile de lier une base, telle que l'adénine, avec un ribose (voir Anastasi C. *et al.* - 2006a et références indiquées).

A cet égard, John Sutherland et son groupe de Manchester ont démontré que la formation de ribonucléotides activés, briques de base de l'ARN, est possible à partir d'espèces chimiques très simples probablement présentes dans un monde prébiotique. La voie utilisée est loin d'être une reproduction de la voie biochimique actuelle, les composants du nucléotide (base azotée, ribose, phosphate) ne sont pas des intermédiaires de la synthèse mentionnée dans l'article de Powner M.W. *et al.* - 2009 qui se déroule par un chemin totalement différent. L'avantage, est alors de s'affranchir de la synthèse du ribose, trop instable, et de rendre inutile la condensation base-sucre, trop difficile. Il est par ailleurs intéressant de noter que les phosphates jouent des rôles multiples dans cette voie de synthèse et pas seulement celui de pont entre les briques de bases.

Ainsi, au lieu d'essayer de coupler un sucre et une base, formés séparément, ce que les chimistes prébioticiens n'ont pas réussi à faire en 50 ans d'efforts, Powner M.W. *et al.* - 2009 proposent de partir des précurseurs des sucres et des bases, glycolaldéhyde, cyanamide, cyanoacétylène et de phosphate pour obtenir un nucléotide activé. Une irradiation avec des UV permet de plus de dégrader les sous-produits indésirables.

Après plusieurs approches préliminaires qui décrivent certaines des étapes importantes (*cf.* Anastasi C. *et al.* - 2006a ; Anastasi C. *et al.* - 2006b), ces travaux ont fait l'objet d'une publication récente dans Nature (voir Powner M.W. *et al.* - 2009).

Par ailleurs, Lincoln T.A. & Joyce G.F. - 2009 publièrent leur découverte sur la possibilité de la réplication de l'ARN. En effet, deux molécules d'ARN, capables de promouvoir leur synthèse respective à partir des quatre nucléotides de l'ARN, ont été développées. Powner M.W. *et al.* - 2009 se rapprochent ainsi de l'autoréplication de l'ARN.

Enfin, nous rappelons que Szostak J.W. *et al.* - 2001 proposent que la génétique et les membranes auraient pu évoluer ensemble. Des proto-cellules auraient en effet pu se former et encapsuler des nucléotides conduisant à la synthèse de macromolécules à l'intérieur des vésicules (*cf.* Chen I.A. *et al.* - 2005 ; Zhu T.F. & Szostak J.W. - 2009). L'ARN aurait pu s'y répliquer et une autoréplication de la proto-cellule aurait permis la distribution du génome primitif (molécules d'ARN) aux vésicules filles.

Ces dernières découvertes laissent entrevoir un futur optimiste et un possible rapprochement des chemins expérimentaux suivis pour l'instant de façon parallèle et étudiant notamment l'origine de l'ARN, la réplication de l'ARN et la formation de proto-cellules.

F. Axes de recherche suivis au cours de cette thèse et objectifs

Après la présentation de l'histoire de la vie et des différentes théories proposées par les scientifiques prébioticiens, recadrons les travaux effectués au cours de cette thèse parmi toutes les données fournies dans ce premier chapitre.

Au cours de cette thèse, nous avons notamment adhéré aux idées proposées par G. Wächtershäuser sur le potentiel des sources hydrothermales sous-marines, plus particulièrement sur le rôle clé des métaux de transitions et des gaz disponibles au niveau des fumeurs noirs.

Ces sources hydrothermales présentent en effet de nombreux atouts pour l'apparition de la vie au fond des océans primitifs.

D'une part, une arrivée constante de matière aurait fourni suffisamment d'éléments nutritifs pour la synthèse de molécules organiques d'intérêt prébiotique. En effet, les gaz hydrothermaux émis (CO_2 , CO , COS , H_2S , NH_3 , N_2 et H_2) ainsi que les sels minéraux variés, plus particulièrement les sulfures métalliques (sulfures de Fe, Ni, Co,...), ont un intérêt certain pour la chimie prébiotique (Hekinian R. *et al.* - 1980 ; Merlivat L. *et al.* - 1987 ; Langmuir C. *et al.* - 1997 ; Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002). D'ailleurs, de nombreux auteurs ont attribué un rôle prébiotique aux sulfures de métaux de transition en tant que catalyseurs des premières étapes de l'évolution chimique (voir Wächtershäuser G. - 1988 ; Wächtershäuser G. - 1992 ; Russell M.J. *et al.* - 1994 ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 ; Russell M.J. & Hall A.J. - 1997 ; Crabtree R.H. - 1997 ; Beinert H. - 2000 ; Rees D.C. & Howard J.B. - 2003 ; Johnson D.C. *et al.* - 2005).

A cet égard, plusieurs études récentes ont montré le potentiel de la chimie des sulfures de métaux de transition, à activer des molécules simples telles que CO_2 , CO , H_2 , N_2 (Ragsdale S.W. & Kumar M. - 1996 ; Ragsdale S.W. - 1998 ; Peters J.W. - 1999 ; Nicolet Y. *et al.* - 2002 ; Einsle O. *et al.* - 2002 ; Armstrong F.A. - 2004 Drennan C.L. & Peters J.W. - 2003) qui font parti des gaz émis au niveau des sources hydrothermales. Ainsi, la synthèse abiotique de constituants organiques de différentes natures a été mentionnée, en particulier des processus réducteurs (voir Blöchl E. *et al.* - 1992 Kaschke M. *et al.* - 1994 Dorr M. *et al.* - 2003) impliqués dans l'abiogenèse de divers produits d'intérêt prébiotique (*cf.* Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 ; Cody G.D. *et al.* - 2000 ; Cody G.D. - 2004 ; Dubant S. - 2004), mais aussi des réactions phosphorylation (Leman L.J. *et al.* - 2006a ; Leman L.J. *et al.* - 2006b) et de condensation (voir Imai E.I. *et al.* - 1999 ; Ogata Y. *et al.* - 2000 ; Graupner T. *et al.* - 2001 ; Leman L. *et al.* - 2004a ; Leman L. *et al.* - 2004b) en milieu aqueux.

D'autre part, les systèmes hydrothermaux se situant à des milliers de mètres sous la surface des océans auraient pu abriter des écosystèmes en évolution à l'abri des radiations cosmiques de l'époque, des éventuels déchaînements climatiques, mais aussi à l'abri des impacts de météorites et de l'évaporation partielle de l'eau de mer due à ces chocs violents (Holm N.G. & Andersson

E.M. - 1995). De plus, de nombreux géologues pensent que l'activité hydrothermale sur la Terre primitive était probablement plus importante que de nos jours (Holm N.G. - 1992).

Enfin, les sites hydrothermaux offrent potentiellement une large palette de conditions physico-chimiques (pH, température, potentiel d'oxydo-réduction, minéraux disponibles *etc.*) pour des réactions d'intérêt prébiotique.

Étant convaincus de la nécessité de la construction de compartiments lors de l'apparition de la vie au fond des océans primitifs, nous avons souhaité tout d'abord contribuer aux recherches sur l'origine des composés lipidiques, tels que les acides carboxyliques linéaires, précurseurs potentiels de constituants membranaires, ceci à partir de matières premières simples et prébiotiquement vraisemblables.

Nous appuyant sur les résultats de la thèse précédente (voir Dubant S. - 2004), nous avons ainsi étudié les processus intervenant dans la synthèse abiotique de chaînes hydrocarbonées mono-fonctionnalisées, à partir d'une source carbonée à un seul carbone, catalysés par des sulfures de métaux de transition et se déroulant dans les conditions compatibles avec celles qui existaient aux alentours des fumeurs noirs primitifs. Nous avons donc essentiellement effectué des expériences de simulation en laboratoire dans l'eau à partir de sulfures métalliques et des gaz CO et H₂S principalement. Des essais impliquant diverses molécules organiques clés, parfois marquées (deutérium ou ¹³C), ont également été réalisés dans le but de mettre en évidence les produits intermédiaires et leur réactivité, et donc d'élucider les mécanismes abiotiques impliqués. Par ailleurs, nous nous sommes intéressés aux processus contrôlant la longueur des chaînes hydrocarbonées, mais aussi à ceux influençant leur forme, linéaire ou ramifiée.

Puis, dans le but de former d'autres briques du vivant, en ne partant toujours que de précurseurs chimiques simples, nous avons souhaité compléter nos recherches par l'évaluation du potentiel des conditions régnant aux alentours des fumeurs noirs et de la catalyse par les sulfures de métaux pour la formation de composés organiques poly-fonctionnalisés simples, tels que les cétoacides, les hydroxyacides, les polyacides carboxyliques et les acides aminés.

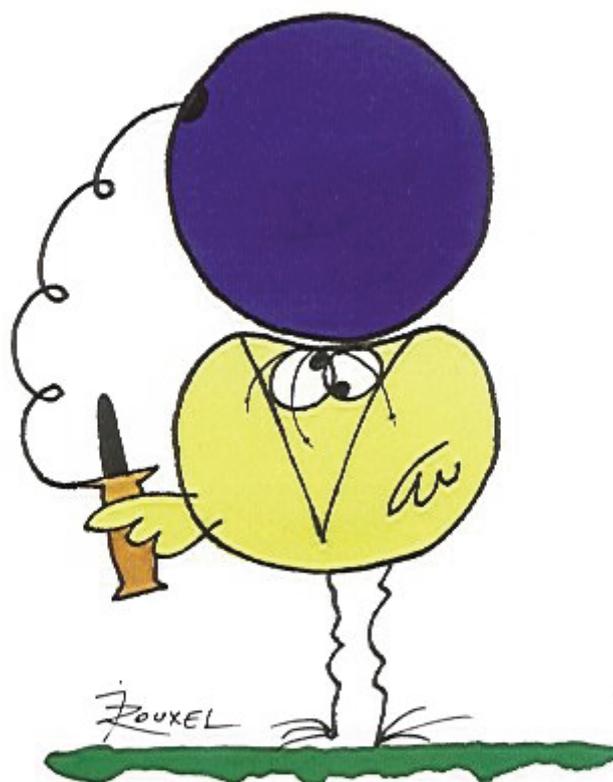
Tout d'abord, nous avons recherché l'existence de réactions prébiotiques permettant la synthèse de composés poly-fonctionnalisés, dans les conditions simulant celle des fumeurs noirs. Nous avons alors étudié les voies mécanistiques impliquées à l'aide d'expériences mettant en jeu des substrats organiques clés, marqués ou non.

Ensuite, dans le cadre particulier de l'abiogenèse d'acides aminés, composés essentiels à la vie, nous avons investigué l'influence de la présence d'une source azotée prébiotiquement vraisemblable dans les conditions simulant celles des fumeurs noirs. Nous avons également abordé l'aspect mécanistique de l'apparition de produits organiques azotés d'intérêt prébiotique, selon la même démarche que les études précédemment citées, c'est-à-dire lors d'essais avec divers composés organiques.

Chapitre II :

DÉMARCHES EXPÉRIMENTALES

Les devises Shadok



EN ESSAYANT CONTINUELLEMENT
ON FINIT PAR RÉUSSIR. DONC:
PLUS ÇA RATE, PLUS ON A
DE CHANCES QUE ÇA MARCHE.

A. Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons les démarches expérimentales que nous avons réalisées au cours des travaux de recherche de cette thèse.

Dans la partie B (page 59), nous abordons les techniques analytiques utilisées avec le matériel nécessaire. Puis, nous présentons les différents réacteurs dont nous disposons au laboratoire afin d'effectuer des expériences de simulation de sources hydrothermales sous-marines.

Dans la partie C (page 69), nous entrons dans le vif du sujet avec les détails expérimentaux des différents essais réalisés en laboratoire pour simuler les conditions supposées avoir régné au niveau des fumeurs noirs.

Ensuite, la partie D (page 79) regroupe les divers protocoles de traitement et d'analyse des milieux réactionnels issus d'expériences de simulation.

Enfin, la partie E (page 108) détaille un aspect essentiel en chimie prébiotique, la caractérisation des produits d'intérêt prébiotique observés lors d'essais en laboratoire, à l'aide de composés de référence.

B. Matériel utilisé

B.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les analyses CPG ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse HP 6890 équipé d'un injecteur « on-column » (injection directement dans la colonne) et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

Colonnes capillaires en quartz :

- J&W HP-5 (5% phényle - 95% diméthylpolysiloxane) l. 30m x d. i. 0,25mm x e. 0,1µm
- J&W HP-5 l. 30m x d. i. 0,32mm x e. 0,25µm
- J&W DB-17(diphényle 50% - 50% diméthylsiloxane) l. 30m x d. i. 0,25mm x e. 0,15µm
- J&W HP-FFAP l. 25m x d. i. 0,32mm x e. 0,5µm
(polyéthylène glycol modifié à l'acide nitrotéréphthalique)

Température du détecteur FID : 300°C ou 250°C pour la colonne HP-FFAP

Gaz vecteur : dihydrogène

Principaux programmes de température utilisés et adaptés à la distribution des produits analysés :

Pour les colonnes HP-5 et DB-17

40°C (5min), 40-300°C (2 à 5 °C/min), 300°C (5 ou 10min)

40°C (1min), 40-200°C (5°C/min), 200-300°C (10°C/min), 300°C (5 ou 10min)

40°C (5min), 40-200°C (1 ou 2°C/min), 200-300°C (10°C/min), 300°C (5 ou 10min)

Pour la colonne HP-FFAP

60°C (5min), 60-240°C (3°C/min), 240°C (30min)

D'autres programmes adaptés à la nature des produits ont été utilisés ponctuellement.

B.2 Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

B.2.1 Analyse des composés organiques liquides

Les analyses CG/SM ont été principalement réalisées sur un spectromètre de masse VARIAN 1200L couplé à un chromatographe gazeux CP 3800, équipé d'un injecteur « on-column » à température programmable. Certaines analyses ont été effectuées sur un spectromètre FINNIGAN MAT TSQ 700 connecté à un chromatographe gazeux VARIAN 3400, équipé d'un injecteur « on-column » à température programmable également.

Température de l'injecteur : 300°C

Gaz vecteur : hélium

Colonnes capillaires en quartz :

- | | |
|---------------|-----------------------------------|
| - J&W HP-5 | l. 30m x d. i. 0,32mm x e. 0,25µm |
| - J&W DB-17 | l. 30m x d. i. 0,25mm x e. 0,15µm |
| - J&W HP-FFAP | l. 25m x d. i. 0,32mm x e. 0,5µm |

Programmes de température du four CG : identiques à ceux de la CPG

Types d'ionisation : - Impact électronique positif, énergie d'ionisation à 70eV
- Ionisation chimique positive à l'isobutane

Température de la source : 180°C

Logiciel d'acquisition et de traitement de données : Varian, Saturn, GC/MS Workstation, System Control, Version 6.41

B.2.2 Analyse des composés gazeux

Les gaz ont été analysés par CG/SM sur un spectromètre de masse CARLO ERBA MAT QMD 1000 couplé à un chromatographe gazeux FISIONS GC 8000 SERIES, équipé d'un injecteur « split-splitless ».

Température de l'injecteur : 200°C

Gaz vecteur : hélium 65kPa

Colonnes capillaires en quartz :

- | | |
|--|--------------------------------|
| - J&W DB-1 (100% diméthylpolysiloxane) | l. 30m x d. i. 0,32mm x e. 5µm |
| - J&W DB-1 | l. 50m x d. i. 0,32mm x e. 5µm |
| - J&W DB-WAX (polyéthylène glycol) | l. 30m x d. i. 0,32mm x e. 5µm |

Programmes de température du four CG :

25 à 50°C (5 ou 10min), T₀-250°C (5,8 ou 10°C/min), 250°C

Type d'ionisation : Impact électronique positif, énergie d'ionisation à 70eV

Température de la source : 150°C

Logiciel d'acquisition et de traitement de données : Fisons, Masslab, Mass Spectrometry Data Handling System for Windows, Version 1.3

B.3 Microextraction sur phase solide (SPME)

La microextraction sur phase solide ou SPME est une technique innovante d'extraction et de concentration de composés organiques sans solvant.



Figure II - 1 - Support de fibre SPME pour échantillonnage manuel



Figure II - 2- Aiguille contenant la fibre SPME

Le système de microextraction en phase solide ressemble à une microsiringue et s'organise autour de plusieurs éléments principaux (voir Figure II - 3) :

- (1)- Une fibre en silice fondue revêtue d'une phase polymérique ou phase stationnaire
- (2)-Une tige en acier inoxydable à l'extrémité de laquelle est fixée la fibre
- (3)-Une aiguille à l'intérieur de laquelle la tige et la fibre peuvent coulisser et sortir (voir également Figure II - 2)
- (4)-Un support sur lequel vient se fixer l'aiguille (voir également Figure II - 1)
- (5)- Un repère et guide de l'aiguille réglable, faisant partie du support, grâce auquel il est possible de régler la profondeur d'introduction de la fibre dans l'échantillon ou dans le dispositif d'injection des chromatographes

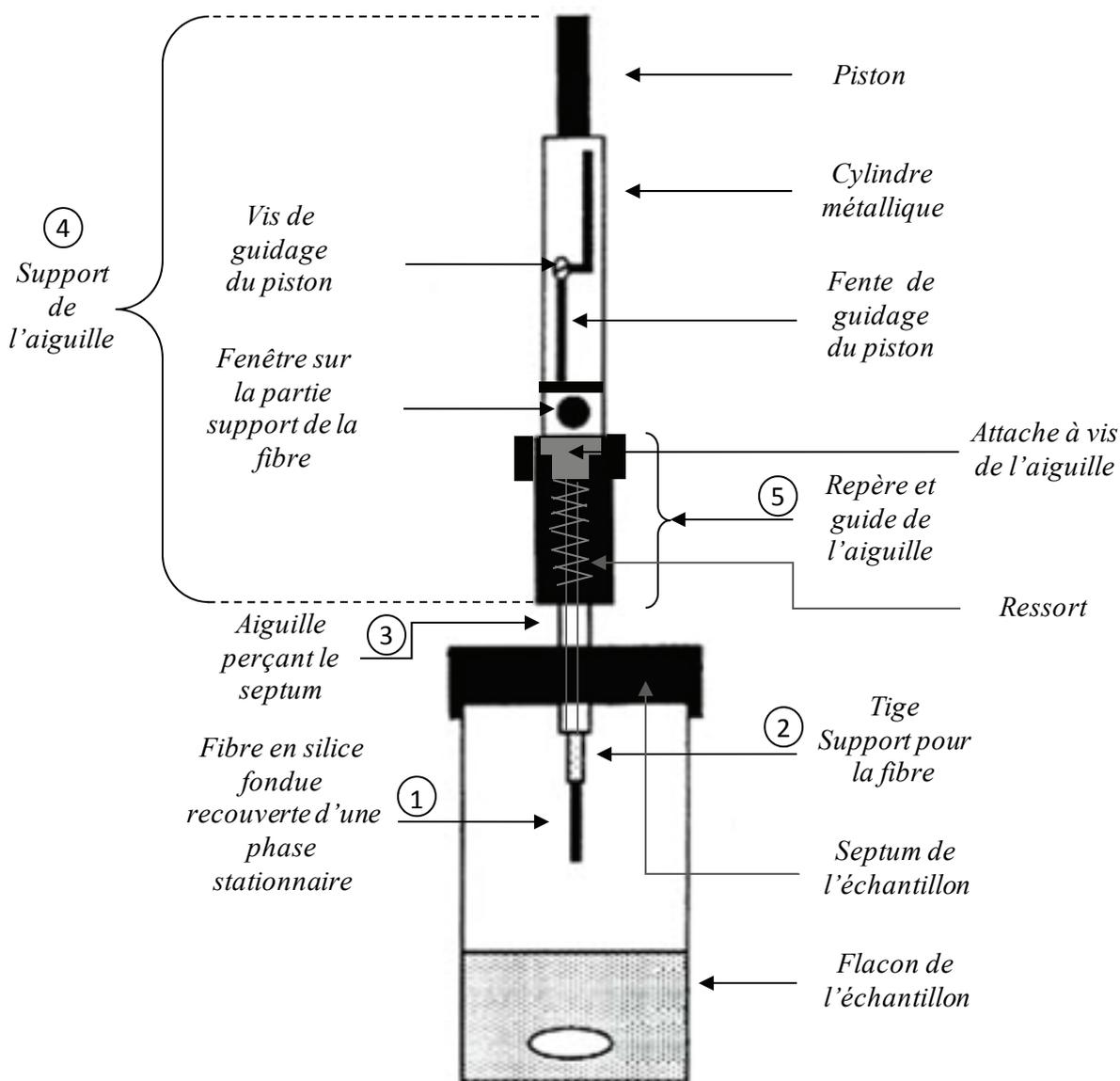


Figure II - 3 - Description d'une fibre SPME

Le choix du polymère de la fibre dépend de la nature des composés à analyser, de leur polarité et de leur volatilité. De nombreuses fibres sont disponibles commercialement.

Les composés à analyser peuvent être en solution ou dans une phase gazeuse. Les analytes sont alors directement adsorbés et prélevés de l'échantillon par la fibre (voir Figure II - 3). L'aiguille du système de microextraction perce le septum du flacon contenant l'échantillon, ensuite en appuyant sur le piston la fibre est déployée hors de l'aiguille dans l'espace de tête ou immergée en solution (voir Figure II - 4). Alors, les analytes se répartissent entre la matrice de l'échantillon et la phase stationnaire jusqu'au moment où un équilibre est atteint. Ils sont ainsi concentrés dans la phase solide polymère. Par simple action du piston, la fibre est ensuite réintroduite dans l'aiguille. Celle-ci est retirée du flacon puis introduite dans l'injecteur d'un chromatographe (chromatographie en phase gazeuse, chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, chromatographie liquide, chromatographie liquide couplée à la

spectrométrie de masse). La température élevée de l'injecteur en chromatographie gazeuse entraîne la diminution de la capacité de la fibre à retenir les composés. Ces derniers sont alors désorbés et le gaz vecteur arrivant dans l'injecteur les entraîne à l'entrée de la colonne (voir Figure II - 4). Se trouvant à une température proche de 30°C, les produits se condensent en tête de colonne en attendant le début de l'analyse et du gradient de température. Dans le cas de la chromatographie liquide, les composés sont désorbés par la phase mobile dans la chambre de désorption installée sur l'appareil spécialement pour l'utilisation de la SPME. Le solvant entraîne ainsi les molécules libérées vers la colonne.

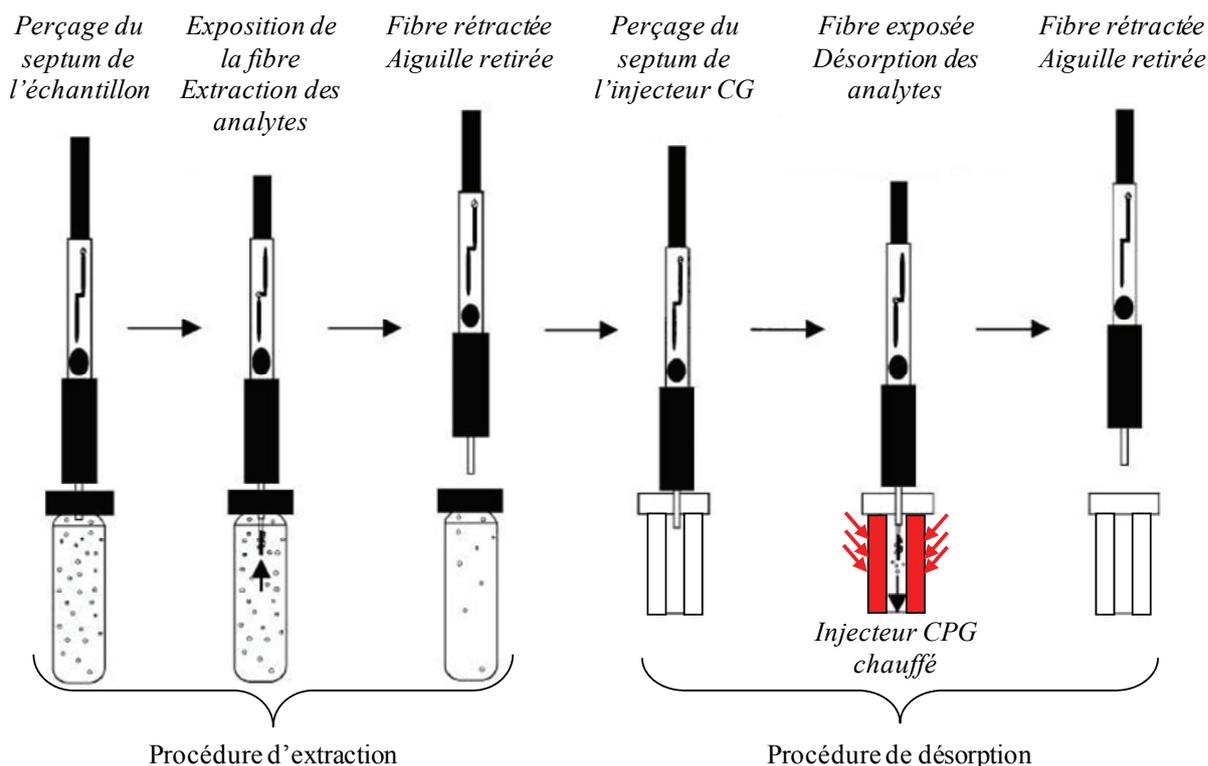


Figure II - 4 - Procédure d'échantillonnage manuel pour la SPME appliquée à la CPG ou la CG/SM

Nous avons utilisé deux types de fibres :

Fibre Carboxen / Polydiméthylsiloxane (CAR/PDMS)

Épaisseur du film stationnaire : 75µm

Gamme de pH : 2 – 11

Température maximum : 320°C

Gamme de température conseillée : 250 – 310°C

Température de conditionnement : 300°C

Utilisation : Gaz et composés de faible poids moléculaire (M : 30 – 225)

Fibre Polydiméthylsiloxane / Divinylbenzène (PDMS/DVB)

Épaisseur du film stationnaire : 65 μ m

Gamme de pH : 2 – 11

Température maximum : 270°C

Gamme de température conseillée : 200 – 270°C

Température de conditionnement : 250°C

Utilisation : Composés volatils, amines et nitroaromatiques (M : 50 – 300)

B.4 Autoclave

Lors de cette thèse, nous nous sommes consacrés à l'évaluation du potentiel des conditions régnant au niveau des fumeurs noirs et de la catalyse par les sulfures de métaux de transition pour la formation abiotique de composés organiques simples. Étant donné les larges gammes de pression, de température et de pH présentes aux alentours des événements hydrothermaux, nous avons réalisé une partie des expériences de simulation en laboratoire sous pression et sous chauffage. Un appareillage spécifique a donc été utilisé afin de mettre en place de telles conditions.

Nous avons utilisé un autoclave de type I de la marque Roth. Ce modèle (voir Figure II - 5) se compose d'un corps cylindrique (1) en acier inoxydable de type V4A 1.4571 et d'une tête d'autoclave vissée sur laquelle sont raccordés un dispositif de sécurité par disque de rupture (2), une vanne d'entrée et de sortie de gaz (3) et un manomètre (4). L'étanchéité est assurée par des joints en PTFE (polytétrafluorure d'éthylène, supportant jusqu'à 180°C) ou en argent fin (supportant jusqu'à 300°C). Le corps de l'autoclave a une capacité de travail de 100mL. Sa gamme de température de fonctionnement est - 60 à +300 °C et sa pression de service est 100 bars maximum.

Le corps de l'autoclave est chauffé à l'aide d'une calotte chauffante (voir Figure II - 5 - (5) et Figure II - 6) exactement ajustée aux dimensions de l'autoclave, afin de permettre une répartition optimale de la chaleur. La base de la calotte chauffante contient l'ensemble de l'installation électrique et électronique, ainsi qu'un mécanisme d'agitation magnétique (voir Figure II - 6). Ce mécanisme d'agitation met en mouvement, à l'aide d'un champ magnétique tournant, un barreau aimanté revêtu de PTFE et provoque ainsi, à l'intérieur de l'autoclave de laboratoire fermé, une agitation réglable en continu et sans entraînement direct. Le chauffage et l'agitation sont réglables individuellement.

Nous avons de plus, pour des raisons de sécurité, branché la base de la calotte chauffante à un régulateur de température. Ce dernier nous permet d'ajouter un contrôle supplémentaire de la température de chauffage de l'autoclave, en fixant une consigne de température maximum mesurée par une sonde à l'extérieur de l'autoclave (6) (sonde avec velcro, située juste au dessus de la calotte, en bas de la tête de l'autoclave, voir Figure II - 6). Si la température mesurée par la sonde du régulateur dépasse la consigne de sécurité, le courant d'alimentation de la calotte chauffante est coupé.

Enfin, un tube en verre de 100mL, adapté à l'intérieur du corps de l'autoclave, est utilisé pour les simulations. Les réactifs sont introduits dans le récipient en verre, puis ce dernier est placé dans le corps de l'autoclave.



Figure II - 5 - Photo de l'autoclave complet à gauche et de l'ensemble du montage de chauffage et d'agitation de l'autoclave à droite cf. http://www.fr.carlroth.com/media/_fr-fr/Graphics/00033142_0.jpg et http://www.fr.carlroth.com/media/_fr-fr/Graphics/00013860_0.jpg



Figure II - 6 - Photo de la calotte chauffante à gauche et du montage sur la paillasse à droite

B.5 Réacteurs en verre

Deux types de flacons en verre ont également été utilisés au cours de cette thèse.

La Figure II - 7 illustre un flacon de 100mL environ sur lequel deux arrivées de gaz ont été installées via un tube en verre d'entrée, plongeant dans le liquide et fermé par un robinet en téflon, et un tube en verre de sortie, situé dans l'espace de tête et fermé lui aussi par un robinet en téflon. L'ajout des réactifs se fait par le goulot du récipient. Ce dernier est fermé de façon étanche à l'aide d'un bouchon à septum en téflon se vissant sur le goulot.

La Figure II - 8 illustre un simple flacon Sovirel de 50mL fermé par un septum ainsi qu'un bouchon adapté et troué. L'ajout des réactifs se fait par le goulot puis à travers le septum à l'aide de seringues en verre lorsque le flacon est fermé hermétiquement.

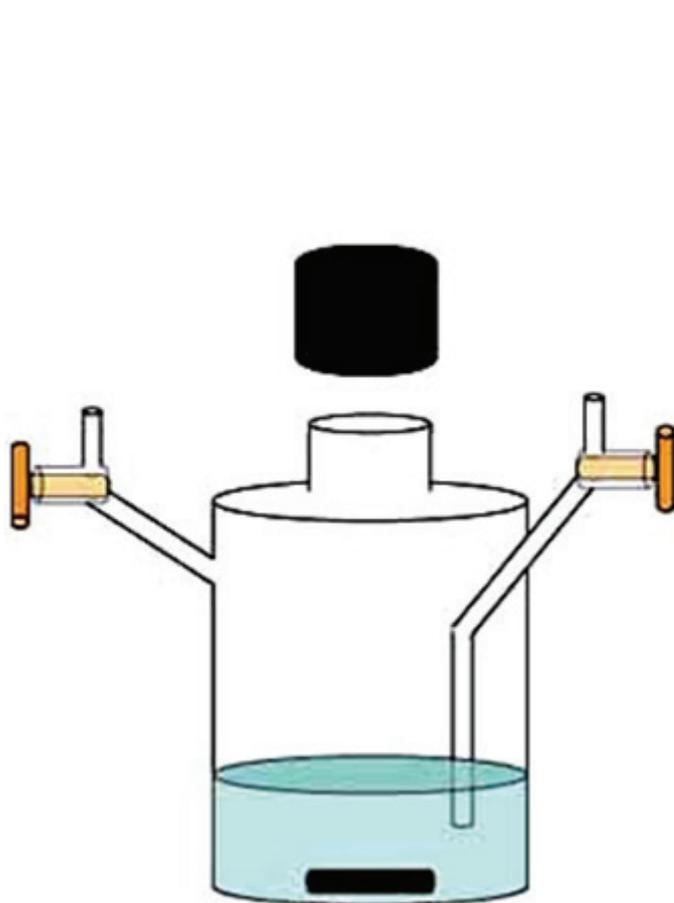


Figure II - 7 - Réacteur en verre à entrée et sortie de gaz

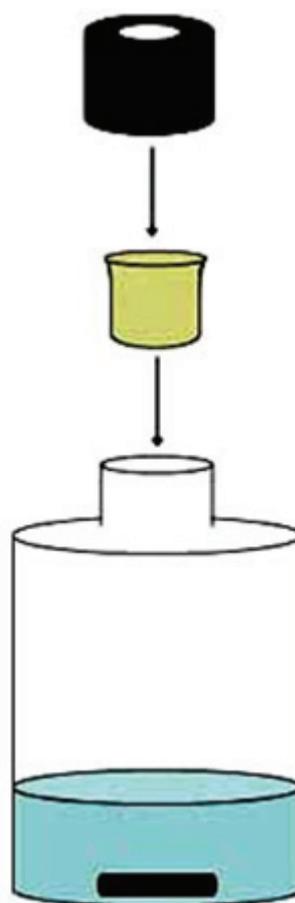


Figure II - 8 - Réacteur Sovirel en verre

B.6 Gaz toxiques :

Les manipulations en laboratoire ont été effectuées en prenant de grandes précautions lors de l'utilisation des gaz H₂S et CO.

Caractéristiques de la bouteille de H₂S (indiquées sur la bouteille) :

Sulfure d'hydrogène N25 ; Pression à 15°C: 14 bars ; Charge 2m³ ; Raccord E ; H₂O<10ppm mol ; COS<0,2% mol ; CS₂<0,2% mol ; CO₂< 100ppm mol ; CH₄< 500ppm mol ; H₂<500ppm mol

La bouteille de H₂S est placée sous la hotte aspirante et l'écran de protection de la sorbonne de laboratoire est maintenu baissé lors des manipulations à risques.

H₂S est un gaz comprimé liquéfié, incolore, d'odeur caractéristique d'œufs pourris. Il est inflammable et est considéré comme un poison à large spectre. Étant donné que la présence d'H₂S est détectable par l'homme à l'état de ppb et que l'inhalation prolongée de sulfure d'hydrogène peut causer la dégénérescence du nerf olfactif (rendant la détection du gaz impossible) et provoquer la mort, toute odeur suspecte dans le laboratoire entraînerait l'évacuation systématique des personnes présentes et une ventilation des locaux.

Caractéristiques de la bouteille de CO (indiquées sur la bouteille) :

Monoxyde de carbone N47 ; Pression à 15°C: 200 bars ; Charge 4m³ ; Raccord E ; H₂O<3ppm mol ; O₂<3ppm mol ; C_nH_m< 2ppm mol ; CO₂< 1ppm mol ; N₂<10ppm mol ; H₂<1ppm mol ; Ar<10ppm mol

Le monoxyde de carbone est un gaz comprimé incolore, inodore et insipide. Une inhalation de CO peut avoir des effets sur le sang, le système cardio-vasculaire et le système nerveux central. L'exposition à des concentrations élevées peut entraîner une diminution de conscience et la mort.

La bouteille de CO est placée à côté de la sorbonne de laboratoire. Un détecteur spécifique au CO, fixé sur la bouteille, mesure en permanence la qualité de l'air du laboratoire, même lorsque la bouteille de CO est inutilisée. Un deuxième détecteur « mobile » est employé lors des expériences de simulation et de l'utilisation du CO. Il permet de vérifier l'absence de fuites sur les montages. Les montages sont évidemment réalisés sous la sorbonne de laboratoire, l'écran de protection complètement fermé.

Description des détecteurs portatifs spécifiques au CO utilisés :

Détecteurs de gaz mono-fonction : MicroPac Plus et Pac 7000 de la marque Dräger

Principe de mesure : capteur électrochimique permettant une mesure instantanée de la concentration de gaz dans l'air ambiant

Affichage permanent de la concentration

En cas de détection de CO : alarmes sonores, lumineuses et vibrantes

2 seuils d'alarmes : $A_1 = 30\text{ppm}$, $A_2 = 60\text{ppm}$



Figure II - 9 - Détecteurs portatifs spécifiques au CO utilisés
voir <http://www.draeger.com/FR/fr/>

C. Expériences de simulation

C.1 Conditions et précautions particulières

La chimie prébiotique correspond à un domaine de recherche particulier où des scénarios sont proposés afin de simuler les conditions qui régnaient sur la Terre primitive, donc longtemps avant l'apparition de l'homme et en absence de dioxygène. Par conséquent, il est impératif d'élaborer des simulations en laboratoire dans des conditions anaérobies et des efforts considérables doivent être fournis pour éviter toutes contaminations extérieures.

L'homme ne doit intervenir que dans la mise en place des montages expérimentaux et le lancement des simulations et ne doit en aucun cas influencer le déroulement des réactions chimiques par la participation involontaire de cellules humaines notamment via l'apposition de traces digitales sur le matériel de simulation par exemple. Dans ce cas, un dépôt de sueur (sécrétion des glandes sudoripares) et un dépôt de sécrétions sébacées (glandes sébacées) pourraient contribuer aux réactions se déroulant lors des simulations.

La paillasse réservée aux simulations de chimie prébiotique était nettoyée avant chaque nouvel essai. Les solvants utilisés, que ce soit pour les extractions, les réactions chimiques ou la vaisselle, étaient systématiquement distillés ; ainsi les solvants purifiés par distillation portent l'appellation locale « géo » ou « géochimique ». La verrerie utilisée était soigneusement lavée à l'eau du robinet et au détergent, puis était abondamment rincée à l'eau du robinet puis à l'eau osmosée. Ensuite, plusieurs rinçages avec des solvants géo étaient effectués, avec de l'éthanol géo puis du dichlorométhane géo. La verrerie géo (appellation « géo » pour tout matériel ultra-propre, lavé dans les conditions décrites précédemment et n'ayant pas été en contact direct avec les mains notamment) était ensuite séchée à l'air libre, puis protégée à l'aide de papier d'aluminium et placée à l'étuve une nuit. Tout contact digital était évité par l'utilisation de gants en latex ou nitrile, de pinces et de papier d'aluminium.

Par ailleurs, il est évident que tout composé chimique (gaz, substrat organique) intervenant dans les simulations de chimie prébiotique était choisi d'une grande pureté chimique. La pureté des substrats organiques était de plus vérifiée par CPG. Lorsque des impuretés étaient observées, le substrat était purifié par distillation (c'est le cas pour le butanol) ou par chromatographie sur gel de silice (c'est le cas pour l'octanol). Les composés solides comme la silice, la célite et le coton étaient systématiquement purifiés par extraction des impuretés par le dichlorométhane à l'aide d'un soxhlet. Un composé chimique purifié avant utilisation porte l'appellation « géo ».

Enfin, tout le matériel utilisé (verrerie, paillasse, sorbonne de laboratoire, évaporateur rotatif etc.) était réservé aux expériences de chimie prébiotique, afin d'éviter toutes contaminations extérieures provenant de diverses réactions chimiques organiques voisines, effectuées au Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire.

C.2 Expériences de simulation en autoclave

Dans une expérience typique, 1mmol de $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ est dissoute dans 20mL d'eau ultra-pure acidifiée à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 0,6mol/L. Le liquide est versé dans le manchon en verre de 100mL. La solution aqueuse verte ainsi obtenue est ensuite dégazée par bullage avec du diazote pendant une heure.

D'autre part, 1mmol de $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ est pesée dans un pilulier de 2mL ultra-propre (intérieur et extérieur), dans lequel se trouve un petit barreau aimanté.

Puis, le pilulier contenant Na_2S est placé en flottaison dans la solution de NiCl_2 à l'aide d'une baguette en verre géo, tout en évitant de contaminer le milieu réactionnel (manipulation avec des gants et du papier d'aluminium) (voir Figure II - 10, page 71). Le manchon en verre, ultra-propre à l'intérieur comme à l'extérieur, est alors placé dans le corps de l'autoclave avec les mêmes précautions. Une olive aimantée géo est ensuite positionnée à l'aide d'une pince à épiler géo à l'intérieur du réacteur, au dessus du liquide et est maintenue à l'aide d'un gros aimant plaqué contre la paroi extérieure de l'autoclave (voir Figure II - 11, page 71).

L'autoclave est ensuite fermé de façon hermétique manuellement puis à l'aide de clés plates, et enfin délicatement introduit dans la calotte chauffante, tout en laissant l'aimant en place.

Ce dispositif est maintenu afin d'effectuer la précipitation in situ du sulfure métallique, NiS , à l'abri de toutes traces de dioxygène, au dernier moment. Lorsque l'aimant à l'extérieur de l'autoclave est retiré, l'olive aimantée en suspension chute faisant couler le pilulier contenant Na_2S . Le sulfure métallique NiS peut alors précipiter. Le catalyseur est alors à l'abri de toute oxydation et totalement disponible pour les réactions chimiques à suivre.

Le pH initial est ajusté entre 2 et 7 en prenant en compte l'éventuel excès de Na_2S et la libération de H_2S au moment de la précipitation du catalyseur. La simulation se fait sous pression de 5 bars de monoxyde de carbone et 5 bars de sulfure de dihydrogène, à 90°C et sous agitation magnétique pendant 4 jours.

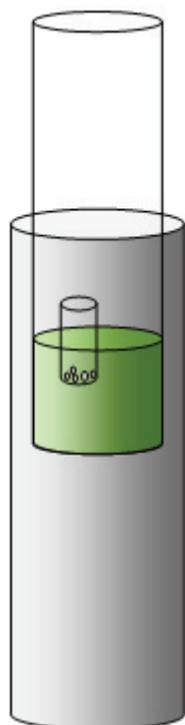


Figure II - 10 - Mise en place du manchon en verre avec flottaison du pilulier contenant Na_2S

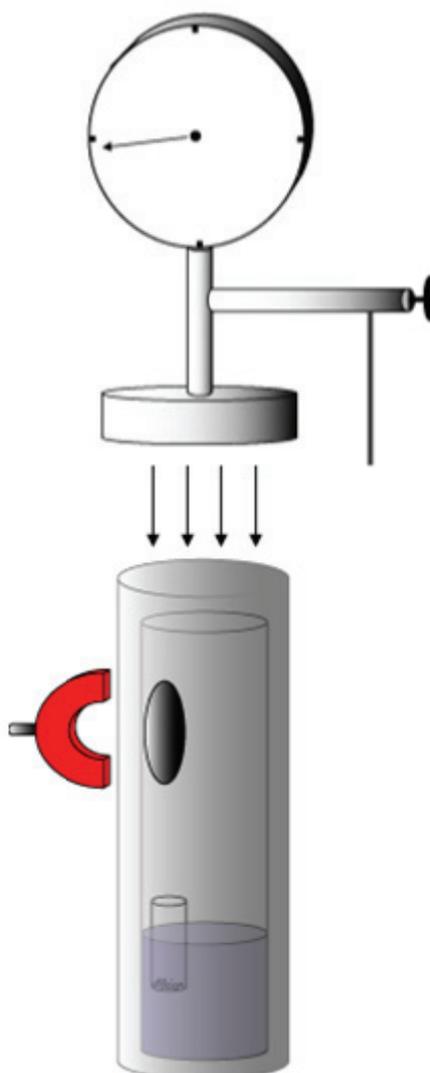


Figure II - 11 - Mise en place de l'olive aimantée et flottaison du pilulier contenant Na_2S

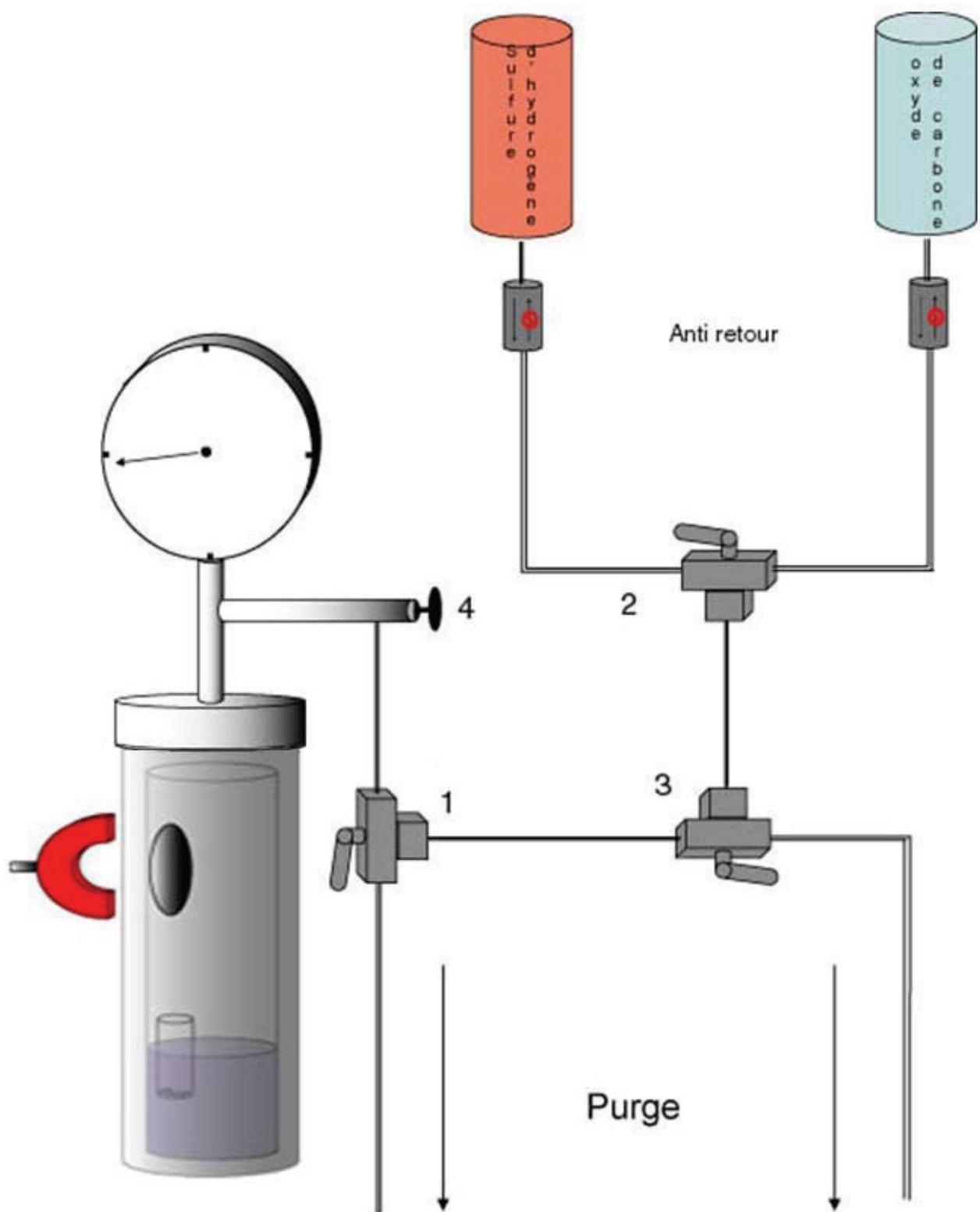


Figure II - 12 - Montage d'alimentation de l'autoclave en gaz CO et H₂S

La Figure II - 12 illustre le montage qui a été installé afin d'alimenter l'autoclave avec deux gaz, le monoxyde de carbone et le sulfure de dihydrogène.

Une procédure de purges et de mise sous pression a été mise en place. Les deux détecteurs de CO sont alors en marche.

Dans un premier temps, une partie des tuyaux du montage est purgée avec CO, à l'aide des vannes à trois voies 2 et 3 (voir Figure II - 12, page 72). Rapidement après cette purge, la vanne 3 est basculée vers l'alimentation de l'autoclave.

Ensuite, l'autoclave est connecté à l'arrivée de CO à l'aide des vannes 1 et 4. Une pression de 5 bars environ est fournie par la bouteille de CO et l'autoclave est ainsi alimenté. Un basculement de la vanne 1 permet de vider l'autoclave puis un autre basculement de le remplir de nouveau. Cette manipulation est répétée plusieurs fois afin de purger la totalité du volume de l'autoclave et d'éliminer ainsi tout l'air et donc tout le dioxygène. L'autoclave est ensuite vidé.

Puis, les tuyaux sont purgés avec H₂S à l'aide des vannes 2 et 3. Rapidement après cette purge, la vanne 3 est basculée vers l'alimentation de l'autoclave.

Après cela, l'autoclave est rempli avec 5 bars de H₂S, puis fermé à l'aide de la vanne 4.

Les tuyaux sont alors rapidement vidés à l'aide de la vanne 3.

L'autoclave est de nouveau connecté à l'alimentation en CO à l'aide des vannes 2 et 3, la vanne 4 de l'autoclave restant fermée. Une pression légèrement supérieure à celle contenue dans l'autoclave est réglée sur le manomètre de la bouteille de CO et appliquée à l'ensemble du montage isolé de l'autoclave.

La vanne 4 de l'autoclave est alors ouverte et une pression partielle de 5 bars de CO est ajoutée dans l'autoclave. La pression est contrôlée et ajustée jusqu'à la graduation de 10 bars sur le manomètre de l'autoclave, en jouant sur la vanne du manomètre branché sur la bouteille d'oxyde de carbone. Une fois l'autoclave rempli et donc sous pression de 5 bars de H₂S et de 5 bars de CO, sa vanne 4 est fermée pour toute la durée de la simulation.

La pression dans les tuyaux est ensuite baissée à l'aide de la vanne 3.

Puis, l'étanchéité de l'autoclave est testée à l'aide du détecteur mobile de CO. Si aucune fuite n'est détectée, l'aimant alors encore plaqué contre la paroi extérieure de l'autoclave est retiré et la chute de l'olive est détectable à l'oreille.

La sonde de température est placée autour du corps de l'autoclave, la température de consigne est fixée à 100°C, puis le chauffage et l'agitation magnétique sont déclenchés.

Enfin, tous les tuyaux sont vidés et l'alimentation en H₂S, y compris le manomètre de la bouteille de H₂S, sont purgés avec N₂.

C.3 Expériences de simulation en réacteurs en verre

Des expériences de simulation ont également été réalisées dans des flacons en verre. Dans un premier temps, la transposition de certaines réactions réalisées en autoclave dans un réacteur en verre a été décidée afin de tester l'inertie chimique du corps de l'autoclave au sein des réactions observées, donc de prouver que l'alliage de l'autoclave n'influence en aucun cas les simulations et que les mêmes familles de produits peuvent être synthétisées dans un réacteur en verre à pression atmosphérique, même si une baisse de la pression des réactifs gazeux diminue les quantités de produits observés et donc le rendement de synthèse.

Dans un deuxième temps, nous avons ajouté des substrats organiques précis parmi les réactifs afin de tester la réactivité de certains composés, de fonctions chimiques variées, dans les conditions typiques de simulation et d'élucider les mécanismes réactionnels intervenant lors des expériences.

C.3.1 Expérience de simulation de base dans un réacteur en verre de 100mL

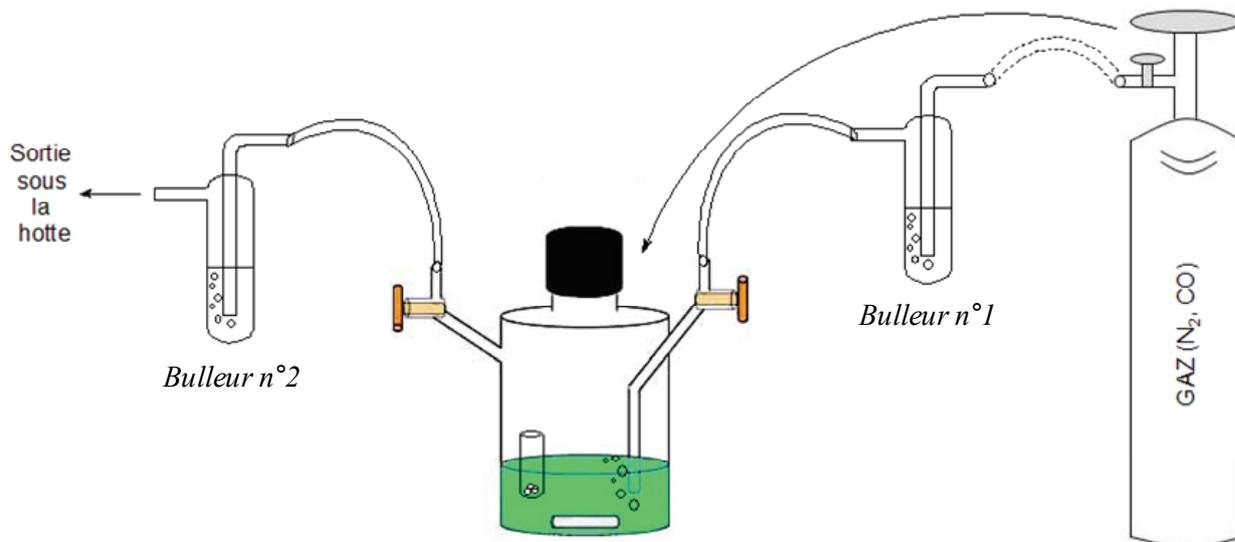


Figure II - 13 - Montage de l'alimentation en CO et de purge du réacteur en verre

Lors d'une expérience typique, 1,25mmol ou 1,5mmol de Na_2S , 9H₂O sont pesées dans un pilulier de 2mL. Dans certains cas, on ajoute également un ou plusieurs substrats organiques (voir Figure II - 15, page 78). Ensuite, le pilulier, ultra-propre à l'intérieur comme à l'extérieur, est délicatement placé dans le réacteur en verre à l'aide d'une pince à épiler géo. 1mmol de NiCl_2 , 6H₂O est alors ajouté dans le réacteur, puis 20mL d'eau ultra-pure sont versés. Le pilulier se retrouve ainsi en flottaison dans la solution verte obtenue. Ensuite, celle-ci est acidifiée à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 0,6mol/L.

Le réacteur est fermé hermétiquement, puis les branchements du montage de la Figure II - 13 sont effectués. Comme le montre la Figure II - 13, le réacteur est isolé de l'extérieur par des bulleurs contenant de l'huile de vaseline. Mise à part la possibilité de vérifier visuellement le bon fonctionnement du montage lors des flux gazeux, la présence des bulleurs permet d'éviter un retour de dioxygène au niveau du bulleur n°2 précisément, notamment lorsqu'on coupe le flux du gaz pour basculer de N_2 à CO.

En amont du bulleur n°1 se trouve un raccord de deux vannes à trois voies permettant une purge du montage complet avec N_2 ou bien une alimentation en CO. Il suffit de basculer la première vanne afin de connecter au montage soit la bouteille de N_2 soit celle de CO ; et la deuxième vanne permet de connecter le réacteur à l'arrivée des gaz ou de diriger les gaz vers la sortie sous la hotte.

Dans un premier temps, les tuyaux en amont du bulleur n°1 sont purgés avec N_2 . Ensuite, l'air, donc le dioxygène, présent dans le montage est chassé par un léger bullage de N_2 pendant 40 minutes. Le pilulier reste alors en flottaison. Puis, la procédure est répétée avec CO . Le chargement en CO se fait par un léger barbotage de 50 minutes.

Ensuite, le réacteur est fermé hermétiquement à l'aide des deux robinets en téflon situés sur les bras du flacon en verre. L'absence de fuites de CO au niveau des trois ouvertures du réacteur est vérifiée à l'aide du détecteur mobile de CO . Une fois ce contrôle fait, les tuyaux d'entrée et de sortie de gaz sont déconnectés du réacteur.

Le flacon est remué de façon à faire couler le pilulier contenant Na_2S et l'éventuel substrat organique. A cet instant, le sulfure métallique NiS précipite in situ à l'abri de l'oxygène. Le pH initial se situe entre 2 et 7. L'ajout d'acide chlorhydrique, effectué au début, permet en fait de neutraliser l'excès de Na_2S , de libérer H_2S in situ puis d'ajuster le pH.

Enfin, le réacteur est placé dans un bain d'huile de silicone chauffé à $80^\circ C$. L'expérience dure environ 4 jours.

Une variante de cette simulation typique est l'ajout de 1mmol de $Ni(0)$ en poudre à la place de $NiCl_2$. La réactivité du métal sera discutée dans le chapitre III (cf. C.4.3, page 176). Na_2S est alors introduit en plus faible quantité, soit 0,25mmol, dans un pilulier en flottaison, uniquement afin de former H_2S in situ.

C.3.2 Expérience de simulation de base dans un flacon Sovirel de 50mL

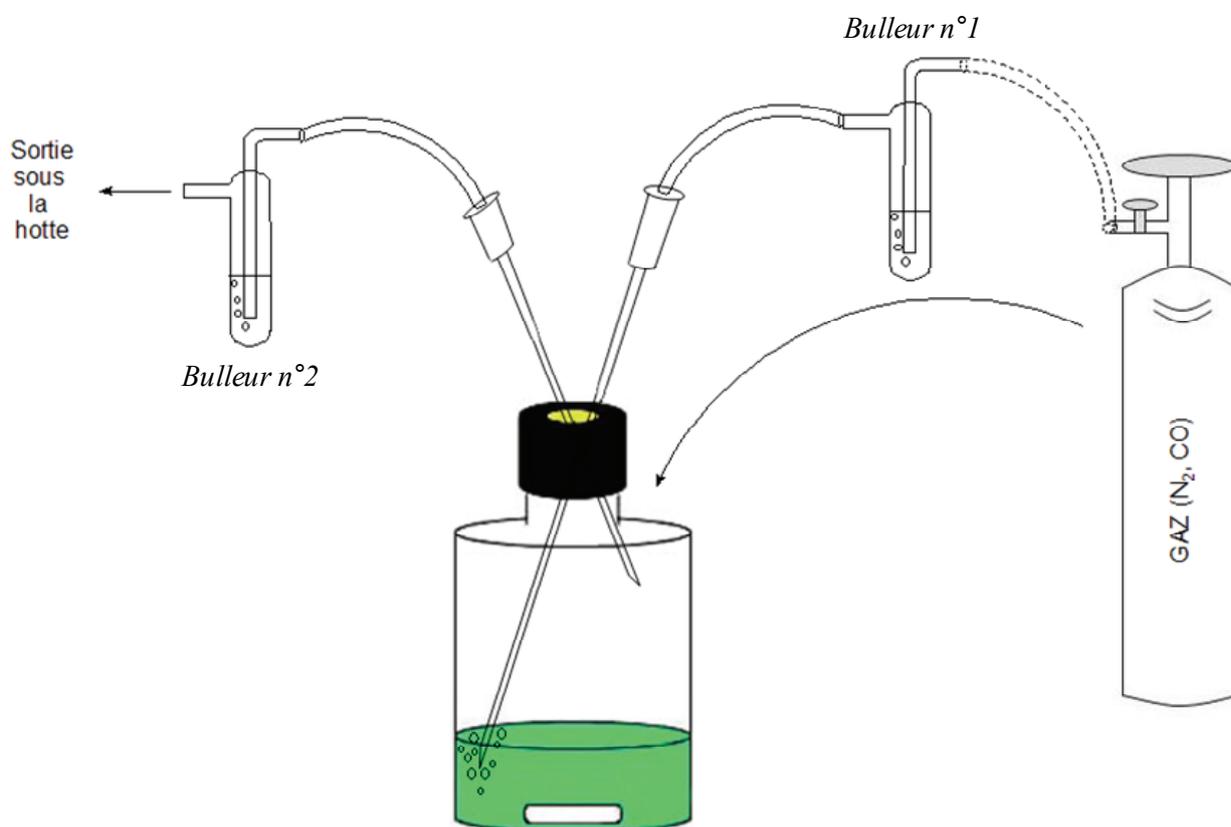


Figure II - 14 - Montage de l'alimentation en CO et de purge du réacteur en verre Sovirel

Dans un premier temps, de l'eau ultra-pure est dégazée dans un bécher par bullage de N_2 pendant 40 minutes. Afin de préparer une solution mère de Na_2S à 0,5mol/L, 2,5mmol de Na_2S , 9 H_2O sont introduits dans un Sovirel de 25mL, puis 5mL d'eau dégazée sont versés. Le flacon est rapidement fermé avec un septum et un bouchon troué, et est réservé pour la suite.

1mmol de $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ sont pesés dans un Sovirel de 50mL. 17,5mL d'eau ultra-pure sont ensuite versés. Le flacon est alors fermé hermétiquement avec un septum et un bouchon troué se vissant sur le goulot.

Puis, deux aiguilles métalliques ultra-propres sont plantées dans le septum comme l'illustre la Figure II - 14 (page 75). Des tuyaux et des bulleurs sont alors connectés aux aiguilles formant le montage de la Figure II - 14. En amont du bulleur n°1, se trouve le raccord de deux vannes à trois voies utilisé pour les expériences dans le réacteur en verre de 100mL.

Les tuyaux sont tout d'abord purgés avec N_2 , puis on élimine le dioxygène du montage complet en faisant buller N_2 pendant 40 minutes. La procédure est ensuite reproduite avec CO et le réacteur est chargé en CO par un léger barbotage de 50 minutes.

L'absence de fuite de CO au niveau du bouchon et du septum est vérifiée à l'aide du détecteur mobile de CO. Une fois ce contrôle fait, l'aiguille d'entrée des gaz est retirée.

L'éventuel substrat organique est alors ajouté à l'aide d'une seringue en verre ultra-propre (aiguille métallique) à travers le septum (*cf.* Figure II - 15, page 78). Ensuite, les 2,5mL de la solution mère de Na_2S sont additionnés. HCl est à son tour injecté à travers le septum. Le pH initial est ajusté entre 2 et 7. Une fois l'ajout des réactifs terminé, l'aiguille de sortie de gaz est retirée.

Le flacon est placé dans un bain d'huile de silicone à 50°C pendant environ 4 jours.

Une variante de la simulation de base est le remplacement de $NiCl_2$ par 1mmol de Ni(0) en poudre et l'ajout d'une quantité plus faible de Na_2S pour former uniquement H_2S in situ.

C.4 Expériences avec des réactifs marqués au deutérium ou au carbone 13

La chimie prébiotique doit faire face à différents problèmes dont celui des contaminations extérieures qui est particulièrement difficile. En effet, les expériences de simulation conduisent souvent à la formation d'espèces moléculaires importantes mais présentes dans des concentrations extrêmement faibles. Ainsi, les découvertes de certaines synthèses abiotiques peuvent paraître sensationnelles, mais il y a toujours un risque que les produits observés soient uniquement des pollutions. Comme nous l'avons mentionné dans les paragraphes précédents des précautions particulières et rigoureuses ont été prises lors des manipulations en laboratoire afin d'éviter les contaminations extérieures. De plus, nous avons développé plusieurs séries d'expériences avec des réactifs marqués afin de distinguer les éventuelles pollutions des produits de réaction.

C.4.1 Expériences dans D₂O

Nous avons, d'une part, développé un ensemble d'expériences en milieu deutérié (D₂O).

Au préalable, nous avons vérifié qu'il n'y a pas d'échange entre les atomes d'hydrogène des éventuelles pollutions et les atomes de deutérium du milieu réactionnel, en réalisant un essai en autoclave, décrit dans l'annexe A page 310, lors de laquelle nous avons remplacé les 20mL d'eau ultrapure par 20mL de D₂O et nous avons ajouté une quantité non négligeable d'acide acétique et propionique purs. Nous nous sommes ainsi assurés par CG/SM que les hydrogènes des deux pollutions introduites, l'acide acétique et l'acide propionique, n'ont pas été remplacés par des deutériums.

Par conséquent, lors de certaines expériences, les 20mL d'eau ultra-pure de la solution initiale de NiCl₂ sont simplement substitués par 20mL de D₂O. Nous avons alors clairement pu discriminer les composés formés en faibles quantités possédant des atomes de deutérium des pollutions extérieures non deutériées.

C.4.2 Expériences mettant en jeu un marquage au ¹³C

Nous avons, d'autre part, réalisé des essais en laboratoire avec du formaldéhyde marqué au ¹³C. Cela permet de distinguer clairement les composés dérivant du formaldéhyde, possédant un ou plusieurs atomes de ¹³C, des pollutions extérieures ne présentant que des atomes de ¹²C.

C.5 Résumé des différents substrats organiques utilisés lors d'expériences de simulation en autoclave et en réacteurs en verre

La Figure II - 15 (page 78) présente les principaux essais réalisés avec des substrats organiques, dans le but de former de nouveaux produits d'intérêt prébiotique ou d'élucider les intermédiaires réactionnels et les mécanismes impliqués lors des essais ayant mis en évidence des molécules intéressantes. Par ailleurs, de nombreuses variantes pour les quantités de réactifs, pour la température ou pour la durée ont été réalisées. Il est évident que certains des essais cités ont été répétés pour confirmer les résultats correspondants.

Substrat	Quantité (mol)	Réacteur utilisé	NiCl ₂ (mol)	Ni(0) (mol)	Na ₂ S (mol)	HCl (mol)	CO (bar)	H ₂ S (bar)	T (°C)	Durée (jours)
CH ₃ Na	3,5.10 ⁻³	Autoclave	1.10 ⁻³	/	1.10 ⁻³	3,5.10 ⁻³	10	5	90	11
CH ₃ CH ₂ SH	1,5.10 ⁻³	Autoclave	1.10 ⁻³	/	1.10 ⁻³	2.10 ⁻⁴	5	5	90	4
H ¹³ CHO	1,1.10 ⁻³	Autoclave	1.10 ⁻³	/	1.10 ⁻³	2.10 ⁻⁴	5	5	90	4
C ₈ H ₁₇ SH	3,7.10 ⁻⁴	Réacteur en verre de 100mL	/	1,3.10 ⁻³	2,7.10 ⁻⁴	6.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	80	7
C ₆ H ₅ SH	1.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	/	1.10 ⁻³	3,1.10 ⁻⁴	6,3.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	50	4
C ₆ H ₅ SH	1.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	1.10 ⁻³	/	1,3.10 ⁻³	7,2.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	50	4
C ₆ H ₅ SH	1.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	1.10 ⁻³	/	1,2.10 ⁻³	3.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	50	4
C ₆ H ₅ SH HCHO	1.10 ⁻³ 1,5.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	/	8,9.10 ⁻⁴	5,1.10 ⁻⁴	6.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	50	4
C ₆ H ₅ SH HCHO	1.10 ⁻³ 1,5.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	1.10 ⁻³	/	1,3.10 ⁻³	3.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	50	4
C ₆ H ₅ SH H ¹³ CHO	1.10 ⁻³ 1,5.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	/	9,9.10 ⁻⁴	1.10 ⁻³	1,7.10 ⁻³	1	<i>in situ</i>	50	4
C ₆ H ₅ SH H ¹³ CHO NH ₄ Cl	1.10 ⁻³ 1,5.10 ⁻³ 3.10 ⁻⁴	Sovirel de 50mL	/	1.10 ⁻³	2.10 ⁻³	3.10 ⁻³	1	<i>in situ</i>	50	4
C ₆ H ₅ SCH ₂ NC ₅ H ₁₀	3,6.10 ⁻⁴	Sovirel de 50mL	/	1.10 ⁻³	/	/	1	/	50	4
C ₆ H ₅ SCH ₂ SC ₆ H ₅	4,3.10 ⁻⁴	Sovirel de 50mL	/	1.10 ⁻³	/	/	1	/	50	4
HSCH ₂ COOH	1.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	/	9,8.10 ⁻⁴	2,5.10 ⁻⁴	3.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	50	4
HSCH ₂ COOH	1.10 ⁻³	Sovirel de 50mL	1.10 ⁻³	/	1,3.10 ⁻³	3.10 ⁻⁴	1	<i>in situ</i>	50	4

Figure II - 15 - Résumé des principaux essais faisant intervenir des substrats organiques

D. Protocoles de traitement des milieux réactionnels et protocoles analytiques

L'étude de l'origine chimique de la vie a nécessité de relever un défi analytique important résidant dans le fait que les composés formés lors des simulations en laboratoire sont parfois instables, souvent volatils voire même gazeux, partiellement solubles dans l'eau, et possèdent des fonctions chimiques très diverses (thiols, sulfures, thioesters, acides carboxyliques *etc.*). Leur analyse qualitative et quantitative nécessite donc la mise au point de méthodes spécifiques à chaque type de fonction en prenant en compte leur volatilité et leur solubilité. Par ailleurs, un problème, qui est familier aux chimistes organiciens, est la formation de produits secondaires inattendus lors de réactions de synthèse. Pour la chimie prébiotique, dont le but est principalement la simulation de conditions régnant sur la Terre primitive et la modélisation d'une réaction spontanée, ce n'est pas surprenant, mais néanmoins frustrant, que des produits non désirés consomment une grande partie de la matière première et qu'ils conduisent le plus souvent à des mélanges complexes nécessitant un long traitement de plusieurs étapes. Un des exemples les plus connus est l'expérience de Miller S.L. - 1953. Bien que cette expérience historique ait produit un ensemble impressionnant de composés d'intérêt prébiotique qui ont pu être identifiés, une partie considérable des réactifs a été transformée en un résidu marron, ressemblant à un goudron, qui n'a pas pu être caractérisé (seuls 15% du carbone de départ ont été retrouvés dans les molécules identifiées, *cf.* Miller S.L. - 1959). En outre, en chimie prébiotique, même si nous nous focalisons uniquement sur les produits solubles en phase aqueuse ou organique, les expériences de simulation conduisent généralement à des mélanges de produits extrêmement complexes (voir Schwartz A.W. - 2007). Il a donc fallu mettre au point des protocoles expérimentaux permettant de fractionner les mélanges complexes obtenus, afin de caractériser les produits formés au cours de ces expériences. Une autre particularité de la chimie prébiotique est que les composés obtenus sont souvent en quantités très faibles et qu'il est nécessaire de les concentrer. Nous avons ainsi développé des procédures expérimentales de traitement et des méthodes analytiques permettant l'identification et la caractérisation de produits à l'état de traces, en évitant les contaminations extérieures pouvant nous induire en erreur. En complément, comme nous l'avons mentionné plus haut (voir C.4.1 et C.4.2, pages 77), des séries d'expériences avec des réactifs marqués ont permis de vérifier nos découvertes et de discriminer clairement les molécules organiques de synthèse des pollutions extérieures.

D.1 Procédures expérimentales et analytiques pour les expériences de simulation en autoclave

D.1.1 Prélèvement et analyse des composés volatils et gazeux

Les essais en autoclave sont effectués principalement à partir des composés gazeux, CO et H₂S, et présentent donc un espace de tête pouvant contenir des molécules de synthèse intéressantes.

L'analyse de la phase gazeuse requiert un récipient spécifique (voir Figure II - 16) et conçu spécialement pour nos expériences de simulation. Il s'agit d'une ampoule en verre, munie d'une entrée et d'une sortie fermées par des robinets en téflon, et d'un goulot sur lequel est placé un septum puis est vissé un bouchon percé. Le récipient peut ainsi être fermé hermétiquement et le prélèvement d'un petit volume de gaz peut être effectué à l'aide d'une seringue à travers le septum.

Le prélèvement est effectué à l'aide d'une seringue en plastique à usage unique, sur laquelle est fixée une vanne en téflon (ouvert/fermé), puis une aiguille métallique (voir Figure II - 17), ou bien à l'aide d'un système de microextraction sur phase solide, équipé d'une fibre SPME Carboxen/Polydiméthylsiloxane (75µm) (voir Mestres M. *et al.* - 1998 ; Mestres M. *et al.* - 1999a ; Mestres M. *et al.* - 1999b).

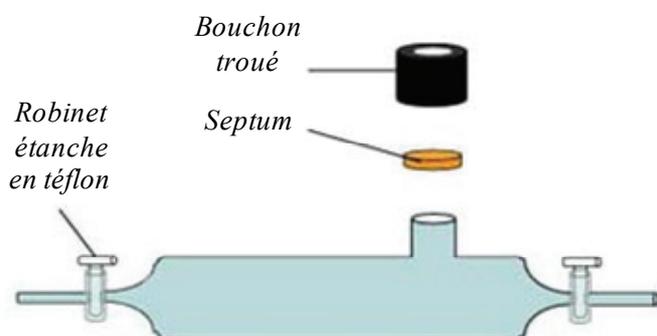


Figure II - 16 - Ampoule de prélèvement de gaz

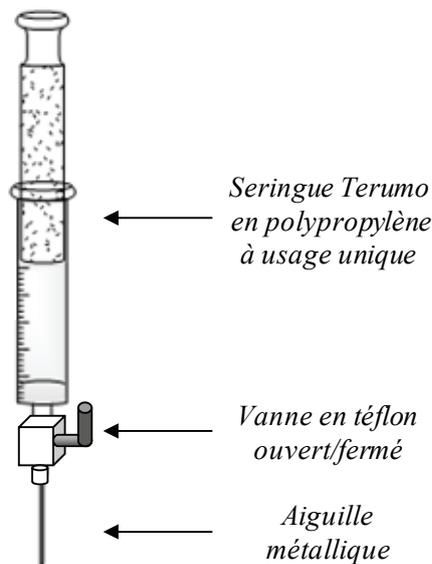


Figure II - 17 - Seringue de prélèvement des gaz

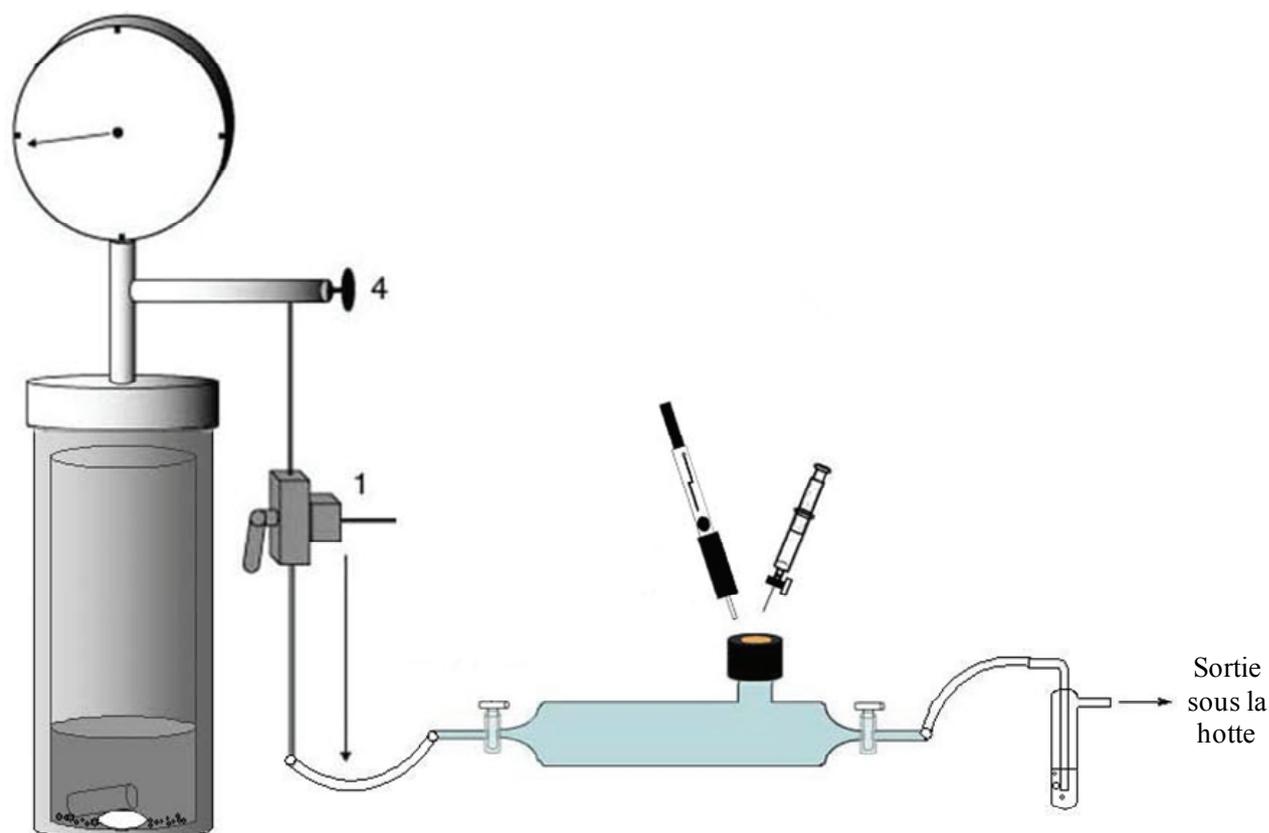


Figure II - 18 - Montage du prélèvement des gaz de l'espace de tête à la fin d'une expérience typique en autoclave

L'ampoule à gaz a été lavée et séchée au préalable, selon les procédures « géo » habituelles. Dans un premier temps, l'ampoule est connectée à l'arrivée de N_2 à son entrée et à un bulleur à sa sortie. On fait passer un flux d'azote à travers l'ampoule pendant quelques minutes. Ainsi, l'air et l'oxygène sont chassés. Les gaz de l'espace de tête seront alors prélevés et enfermés dans une enceinte anaérobie. Le bulleur permet d'isoler l'ampoule et a une fonction d'anti-retour.

Des analyses CG/SM de contrôle préliminaire sont effectuées sur la seringue, sur la fibre SPME CAR/PDMS et sur des prélèvements de l'atmosphère présente dans l'ampoule à gaz avant échantillonnage, afin de vérifier qu'aucune contamination extérieure n'est présente. Une fois ces blancs réalisés et validés, nous passons à l'échantillonnage.

A la fin d'une expérience en autoclave, le chauffage est coupé, le réacteur est sorti du manchon chauffant et laissé à refroidir pendant 15 minutes, puis le montage illustré sur la Figure II - 18 est mis en place. La vanne 1 permet de relier l'autoclave à une sortie sous la hotte. Un tuyau relie alors cette sortie à l'entrée de l'ampoule en verre, la sortie de l'ampoule ayant été auparavant connectée à un bulleur. L'autoclave est légèrement ouvert à l'aide de la vanne 4. On laisse la pression dans le réacteur baisser doucement en contrôlant celle-ci sur le manomètre de l'autoclave, ainsi les tuyaux sont purgés et l'ampoule est remplie. Ensuite l'autoclave est fermé de nouveau. L'autoclave est alors encore sous pression, ce qui laisse la possibilité d'effectuer des prélèvements supplémentaires par la suite. Le robinet de sortie de l'ampoule est fermé et enfin celui de l'entrée.

Une aliquote de l'espace de tête recueilli dans l'ampoule à gaz est prélevée à l'aide de la seringue à gaz de 1mL, puis injectée aussitôt dans l'injecteur split/splitless (split de 2 à 8mL/min) du chromatographe gazeux couplé au spectromètre de masse QMD, équipé en général d'une colonne capillaire apolaire (DB-1) et épaisse (5 μ m) spécifique à l'analyse de gaz.

Les produits observés sont principalement des thiols, ainsi que des sulfures et polysulfures. Des tests ont démontré que l'utilisation d'une fibre SPME CAR/PDMS améliore la détection des thiols présents dans nos échantillons gazeux. Des analyses complémentaires ont donc été réalisées avec ce système.

La fibre neuve est conditionnée selon les recommandations du fournisseur. Lorsqu'elle n'est pas utilisée, elle est placée dans un flacon géo vide et fermé hermétiquement avec un bouchon percé et un septum. Avant chaque utilisation, la fibre est placée dans l'injecteur à 300°C pendant 15 minutes, le flux du split étant alors élevé. Une analyse de contrôle de la propreté de la fibre est ensuite effectuée en la désorbant pendant 2 minutes dans l'injecteur (split de 2 à 8mL/min). Une fois le blanc validé, la fibre est placée dans la phase gazeuse de l'ampoule en verre pendant 1h30, à température ambiante. Puis, l'analyse est réalisée en exposant la fibre pendant 2 minutes dans l'injecteur à 300°C (split de 2 à 8mL/min).

D.1.2 Dérivation et analyse des thiols

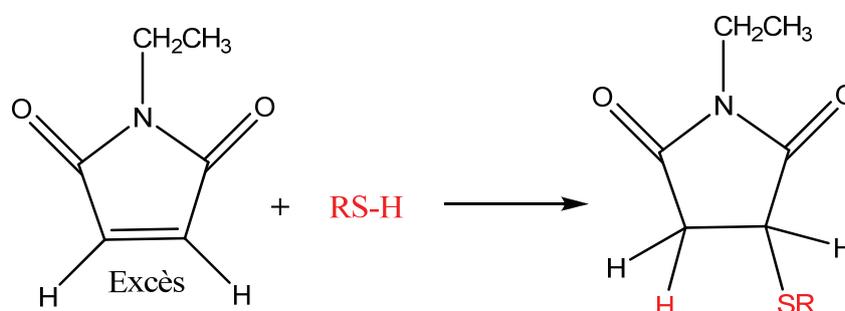
Comme nous l'avons mentionné précédemment, les principaux produits de synthèse observés dans l'espace de tête d'une expérience de simulation typique en autoclave sont des petits thiols, sulfures et polysulfures. Les thiols identifiés dans la phase gazeuse possèdent, en effet, très rarement plus de quatre atomes de carbone.

Étant donné que nous laissons l'autoclave refroidir un peu avant de prélever les gaz de l'espace de tête, à une température légèrement supérieure à la température ambiante, les analytes sont gazeux ou volatils. Il est possible que des thiols plus longs, donc moins volatils, aient été synthétisés, soient présents dans le milieu réactionnel aqueux et soient en trop faibles quantités dans la phase gazeuse pour être détectés en CG/SM. La méthode d'échantillonnage des composés gazeux, présentée ci-dessus, ne permet ainsi pas d'analyser les thiols de toute taille. Il paraissait donc utile de rechercher un protocole de traitement et d'analyse des thiols permettant de détecter les petits thiols comme les plus longs, ce qui permettrait idéalement, dans le cas de simulations fructueuses, de mettre en évidence une élongation de chaîne vers des composés de grande taille.

Les alcanethiols primaires sont des espèces chimiques très réactives étant donné qu'ils peuvent facilement être oxydés. De plus, leur forme anionique se comporte comme un nucléophile dans de nombreuses réactions. Par conséquent, les alcanethiols peuvent subir des transformations qui peuvent conduire à les perdre lors du protocole analytique, alors que nous désirons les identifier et qu'ils sont présents en faibles quantités. La procédure de traitement de tels produits afin de surmonter ces problèmes serait de préparer des dérivés chimiques moins polaires et plus stables thermiquement. Il existe plusieurs composés organiques capables de

réagir avec les thiols en formant des dérivés stables, mais la plupart de ces réactifs sont hydrolysables en solution aqueuse et requièrent l'utilisation de solvants organiques anhydres. Or nos analytes sont présents dans un milieu réactionnel aqueux. Les maleimides sont une classe chimique utilisée largement pour réagir avec les groupes SH de protéines ou d'autres molécules, afin de les protéger, les bloquer ou bien de les marquer, même en milieux aqueux (*cf.* van Berkel W.J. *et al.* - 1984 ; Asensi M. *et al.* - 1994 ; Graaf-Hess A. *et al.* - 1999 ; Sahaf B. *et al.* - 2003 ; Luche S. *et al.* - 2004). Nous avons choisi la N-éthylmaleimide (NEM) comme agent de dérivation, car cette molécule se comporte comme un électrophile formant des liaisons covalentes avec les groupes libres SH. Il s'agit d'un réactif efficace pour des thiols en solution aqueuse conduisant à des dérivés stables, et la NEM est généralement considérée comme étant hautement spécifique aux thiols (Sahaf B. *et al.* - 2003 ; Salgado-Petinal C. *et al.* - 2005).

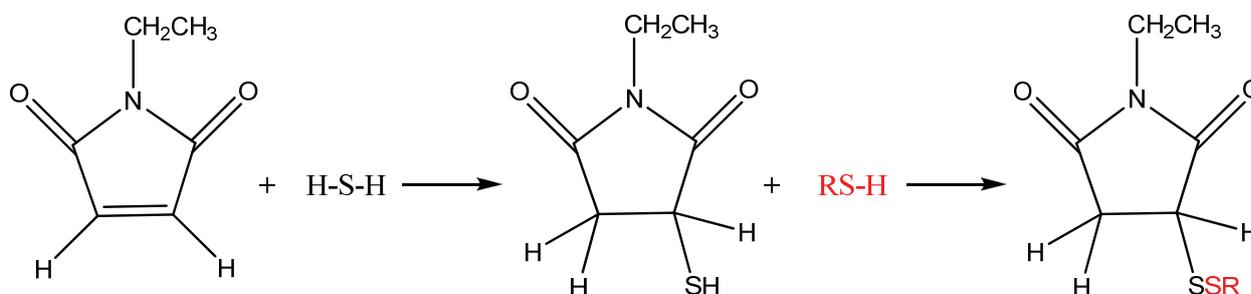
La réaction de dérivation des thiols par la NEM formant les dérivés NEM-SR est la suivante :



Réaction II - 1 - Formation des dérivés NEM-SR ($R=H$, alkyle ou aryle)

Le sulfure de dihydrogène présent lors de nos simulations réagit avec la NEM sous la forme HS- conduisant à la formation du dérivé NEM-SH. Remarquons qu'une deuxième forme intervient également. NEM-S-, formé lors de la dérivation de H_2S , réagit avec la NEM pour mener à NEM-S-NEM. La forme bi-substituée possède deux centres asymétriques conduisant à deux diastéréoisomères.

Par ailleurs, le dérivé NEMSH réagit également avec les thiols pour former des dérivés NEM-SSR (voir ci-dessous), par une réaction d'oxydation induite, par exemple, par le soufre élémentaire ou les polysulfures organiques ou inorganiques présents dans le milieu réactionnel.



Réaction II - 2 - Formation des dérivés NEM-SSR ($R=H$, alkyle ou aryle)

On peut également envisager que les dérivés de type NEM-SSR soient synthétisés par addition nucléophile d'espèces de type RSS- présentes dans les produits de réaction. De plus, le dérivé NEM-SS-NEM peut être formé par l'intermédiaire de NEM-SSH.

Une microextraction sur phase solide à l'aide d'une fibre Polydiméthylsiloxane / Divinylbenzène (65 μ m) permet ensuite d'extraire et de concentrer les dérivés NEM-SR et NEM-SSR, puis d'injecter ces produits dans l'injecteur « on-column » du chromatographe gazeux couplé au spectromètre de masse VARIAN.

Nous avons donc développé une méthode permettant de stabiliser et de concentrer les thiols de toutes tailles formés en faibles quantités, mais aussi de réduire la volatilité des thiols les plus petits. Les dérivés sont ainsi chromatographiables sur une colonne apolaire (HP-5) à usage général (composés liquides volatils) en CG/SM.

Les spectres de masse des principaux composés sont représentés ci-après.

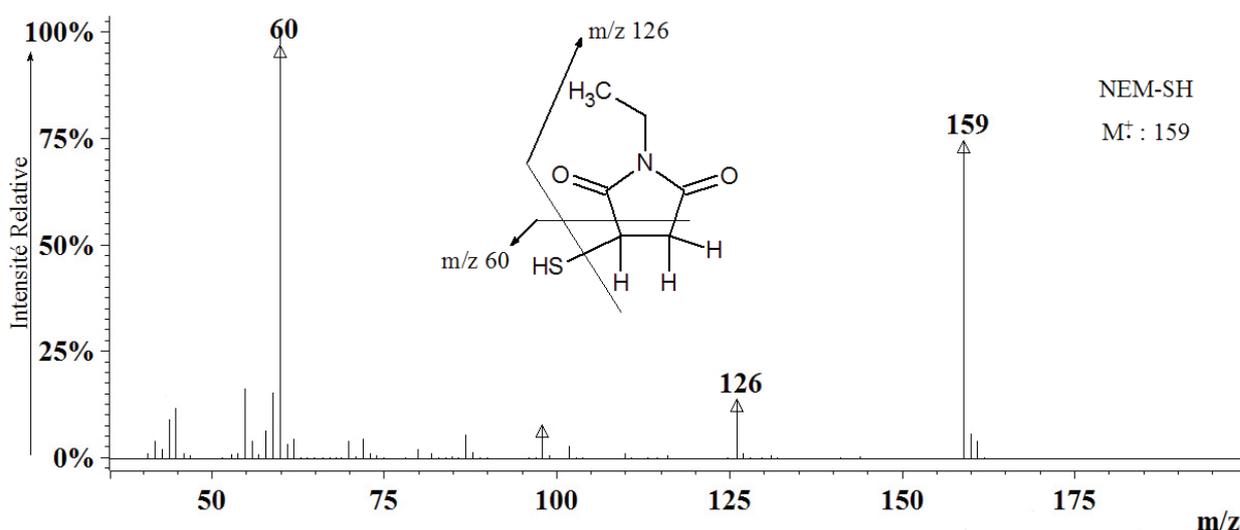


Figure II - 19 - Spectre de masse de NEM-SH, 1^{er} composé dérivé de H₂S

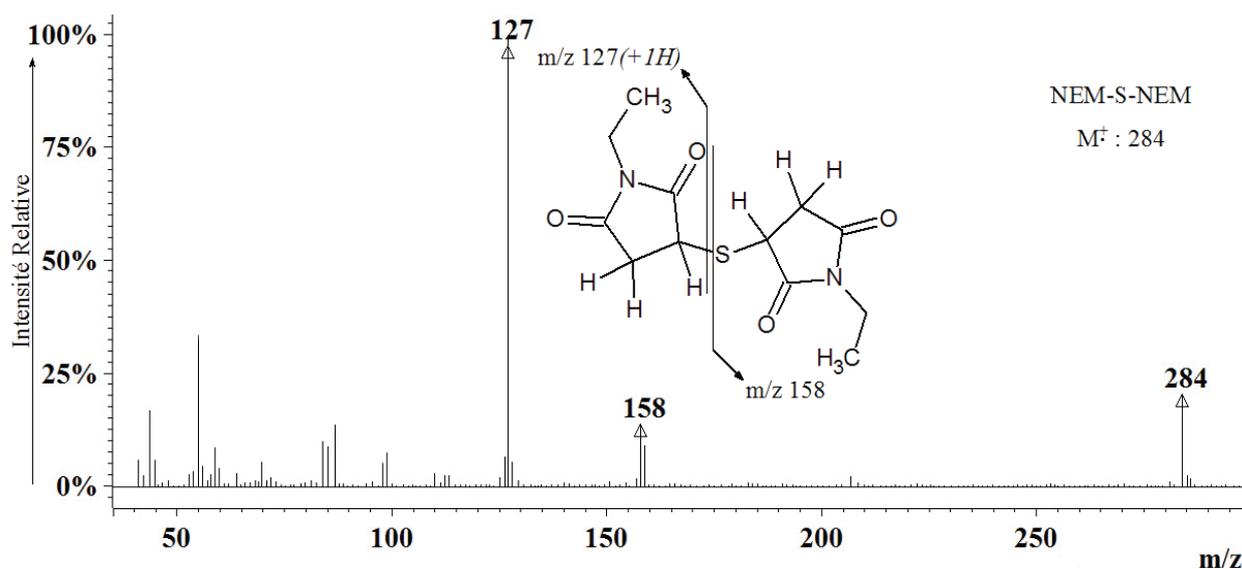


Figure II - 20 - Spectre de masse de NEM-S-NEM, 2^{ème} composé dérivé de H₂S

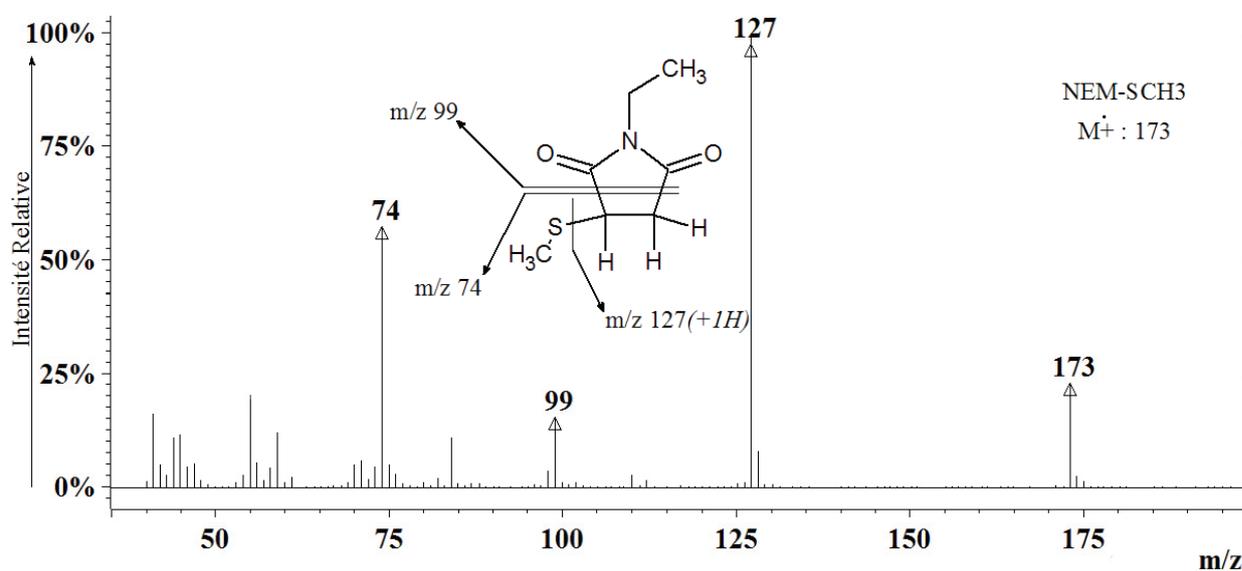


Figure II - 21 - Spectre de masse de NEM-S-CH₃, 1^{er} composé dérivé de CH₃SH

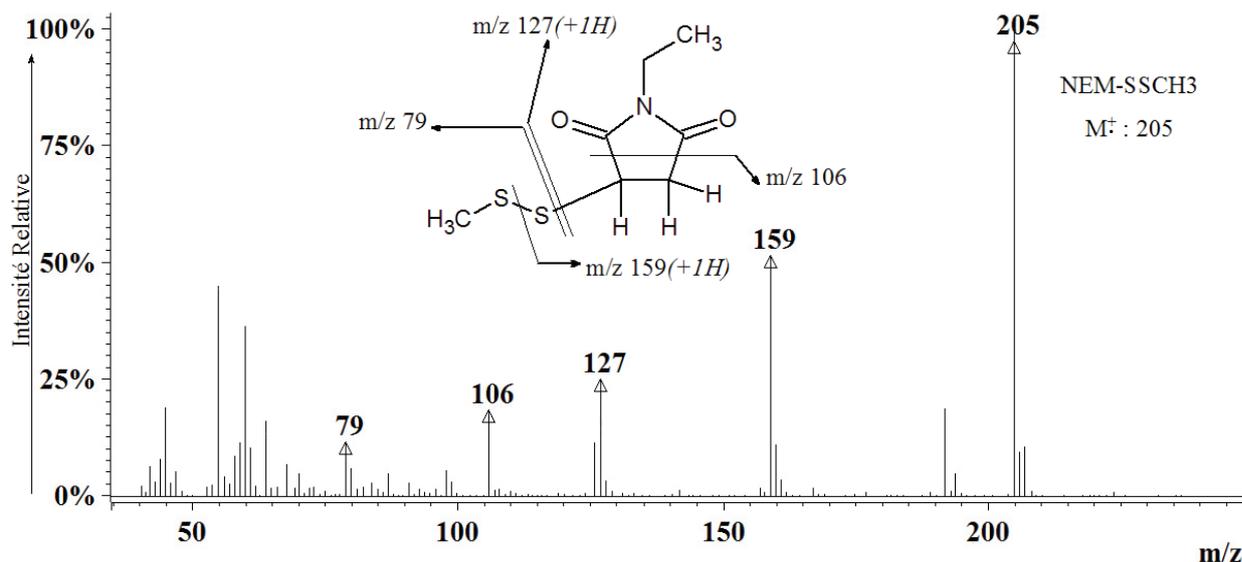


Figure II - 22 - Spectre de masse de NEM-SSCH₃, 2^{ème} composé dérivé de CH₃SH

Analyte	Composé dérivé	Temps de rétention (min)	Fragments caractéristiques m/z (intensité relative, %)
H ₂ S	NEM-SH	13,9	60(100), 98(7), 126(13), 159(69)
CH ₃ -SH	NEM-SCH ₃	16,0	74(55), 99(16), 127(100), 173(24)
CH ₃ CH ₂ -SH	NEM-SCH ₂ CH ₃	17,7	88(7), 99(19), 127(100), 187(13)
(CH ₃) ₂ CH-SH	NEM-SCH(CH ₃) ₂	18,6	75(16), 99(13), 127(100), 201(12)
CH ₃ -SH	NEM-SSCH ₃	21,5	79(10), 106(17), 127(24), 159(49), 205(100)
CH ₃ CH ₂ -SH	NEM-SSCH ₂ CH ₃	23,1	93(20), 127(81), 159(78), 219(100)
H ₂ S	NEM-S-NEM	33,2 - 33,5	127(100), 158(15), 284(20)

Figure II - 23 - Résumé des principaux analytes et des dérivés correspondants, de leur temps de rétention et de leur fragmentation en spectrométrie de masse, dans les conditions d'analyses citées précédemment.

Le protocole expérimental et analytique de la dérivation des thiols est décrit ci-dessous.

Dans un premier temps, nous stoppons le chauffage et refroidissons l'autoclave jusqu'à quelques degrés au dessus de 0°C. Ainsi, tous les thiols sont à l'état liquide en solution aqueuse et disponibles pour la dérivation. De plus, une telle température ralentit l'oxydation des thiols en disulfures. Ensuite, la vanne de l'autoclave est ouverte et nous laissons baisser la pression dans le réacteur. Puis, nous ouvrons l'autoclave complètement et patientons environ 30 minutes pour que les gaz toxiques encore présents s'échappent, le réacteur étant maintenu dans un bain de glace fondue.

Au préalable, de la poudre de Cu(0), rincée avec de l'éthanol géo et du dichlorométhane géo, puis séchée, est activée dans une solution d'acide chlorhydrique à environ 0,6mol/L dans de l'eau ultra-pure, Une fois la poudre bien brillante et orange rouge, nous rinçons celle-ci avec de l'eau ultra-pure,

Dans un flacon Sovirel géo de 25mL, également placé dans un bain de glace fondue, nous ajoutons plusieurs spatules de Cu(0) activé, nous faisons passer un léger flux de N₂ dans le flacon, puis nous versons les 20mL du milieu réactionnel brut contenu dans le réacteur. Le flacon Sovirel est fermé rapidement. A froid et avec un espace de tête réduit au dessus du liquide, la volatilisation et l'oxydation des thiols est réduite.

Nous laissons le milieu réactionnel au contact de Cu(0) pendant environ 30 minutes, sous agitation magnétique. Le métal réduit élimine notamment les éventuelles traces de soufre S₈, causant un encrassement accéléré du spectromètre de masse.

Ensuite, la solution aqueuse est filtrée sur de la célite géo afin d'éliminer les solides Cu(0), Ni(0) et NiS. Le filtrat est partagé en deux, une fraction étant destinée à la recherche des acides carboxyliques et l'autre à la dérivation des thiols avec la NEM.

Le pH de la fraction prévue pour le traitement des thiols est mesuré et ajusté à des valeurs légèrement acides ou neutres. La NEM n'étant pas soluble au-delà d'un pH de 10, nous évitons les pH supérieurs à 9.

10mg de NEM sont pesés dans un petit flacon géo en verre, scellable avec une capsule métallique trouée et munie d'un septum. Un petit barreau aimanté est ajouté. Le flacon est choisi de façon à ce que l'espace de tête soit petit une fois les 10mL de filtrat versés. De plus, le récipient est préalablement purgé avec N₂. Ainsi, encore une fois, la volatilité et l'oxydation des thiols sont réduites. La fraction du filtrat prévue pour le traitement des thiols est versée dans le flacon. Celui-ci est rapidement fermé et scellé.

Comme la NEM est sensible à la lumière, le flacon est couvert de papier d'aluminium et nous laissons réagir la NEM pendant environ une heure à température ambiante, dans l'obscurité et sous agitation magnétique. La réaction se déroule à environ 25°C car une température plus élevée augmenterait la volatilisation et l'oxydation des thiols.

Avant chaque utilisation, la fibre Polydiméthylsiloxane / Divinylbenzène (65µm) est désorbée pendant environ 15 minutes à 250°C. Une analyse de contrôle de la propreté de la fibre est ensuite effectuée. Une fois le blanc effectué et validé, nous passons à l'échantillonnage.

La fibre PDMS/DVB est immergée pendant 30 minutes dans la solution aqueuse sous agitation magnétique, dans l'obscurité et à température ambiante, puis elle est désorbée dans l'injecteur du chromatographe gazeux couplé au spectromètre de masse VARIAN.

Les conditions d'analyse typiques sont les suivantes :

Injecteur : 250°C (40min), 250-300°C (200°C/min), 300°C (14min)

Désorption de la fibre : 2min

Colonne capillaire : HP-5 l. 30m x d. i. 0,32mm x e. 0,25µm

Four CPG : 60°C (2min), 60-300°C (5°C/min), 300°C (5min)

Allumage du filament de l'impact électronique : 1min

D.1.3 Analyse qualitative des acides carboxyliques de faible poids moléculaire

Lors des expériences de simulation en autoclave réalisées à partir d'une source de carbone en C₁, nous obtenons des acides carboxyliques de petites tailles. Les plus petits sont très volatils (acide formique et acide acétique) et peuvent être détectés lors de l'analyse de l'espace de tête du réacteur. Toutefois, ces acides très volatils sont mal résolus sur le type de colonne que nous utilisons. Par ailleurs, les acides un peu plus longs ne sont plus détectables lors de l'analyse des gaz. Il nous a ainsi paru nécessaire de mettre au point un protocole expérimental et analytique permettant de détecter et d'identifier des acides carboxyliques de toute taille. Pour cela, il a été nécessaire de former des dérivés de ces acides carboxyliques qui soient un peu plus lourds, moins polaires et chromatographiables en CG/SM sur une colonne à usage général, de type HP-5, comme pour le reste des composés présents dans notre milieu réactionnel. En outre, comme nous l'avons déjà mentionné, les acides carboxyliques synthétisés sont présents à l'état de traces. Il a donc été essentiel de les concentrer sans pertes. Ainsi, nous avons mis en place un protocole analytique de concentration puis de dérivation des acides sous la forme d'esters octyliques.

Une fois le milieu réactionnel filtré sur de la célite géo et partagé pour les différents traitements du liquide, nous mesurons le pH de la solution aqueuse. Étant donné que les acides carboxyliques ont un pKa inférieur à 5, si nous ajustons le pH de la phase aqueuse à une valeur comprise entre 7 et 9, les analytes se retrouvent sous la forme de carboxylates.

Le filtrat est donc basifié si nécessaire avec une solution de NaOH à 2mol/L ou $5 \cdot 10^{-3}$ mol/L. Nous pouvons alors évaporer à sec la solution aqueuse sans pertes de matière, à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite. Le résidu solide obtenu contient les acides carboxyliques sous la forme de carboxylates de sodium.

Nous ajoutons ensuite sur les analytes ioniques 1mL d'une solution d'acide chlorhydrique dans de l'octanol géo à 1,5mol/L (soit $m_{\text{HCl } 37\%} = 0,15\text{g}$ dans 1mL d'octanol ultra-pur). Nous laissons le mélange réagir pendant environ 2 heures à 60°C.

Une fois la réaction achevée, nous ajoutons quelques gouttes de dichlorométhane géo et une pointe de spatule de crocétine dialdéhyde géo dans notre échantillon. Puis, les esters octyliques formés sont séparés de l'octanol en excès par chromatographie sur gel de silice. Nous avons

utilisé une colonne de taille 3,5 x 16,0cm et avons choisi CH_2Cl_2 comme éluant. Le crocétine dialdéhyde utilisé constitue un indicateur coloré orange éluant après les esters et avant l'octanol. La première fraction élue avant l'arrivée du colorant en bas de colonne et donc avant l'élution de l'octanol ($R_f > R_{f \text{ Octanol}} = 0,3$) contient ainsi les esters ($R_f = 0,8$). La fraction recueillie est alors concentrée à l'évaporateur rotatif, puis analysée en CPG et CG/SM.

D.1.4 Analyse des acides carboxyliques de haut poids moléculaire (>C7), ou de diacides

Nous avons développé un protocole expérimental et analytique un peu plus simple et court que le précédent, dans le cas où nous ne nous intéressons pas aux très petits acides carboxyliques mais à des acides carboxyliques beaucoup moins volatils ou à des diacides. En fait, les diacides estérifiés ne peuvent pas être observés lors du traitement à l'octanol car ils ne sont pas facilement séparables sur colonne de silice de l'excès d'octanol dans les conditions opératoires mises en place.

Comme pour le traitement des petits acides, il a été nécessaire de former des dérivés des acides carboxyliques qui soient un peu plus lourds, moins polaires et chromatographiables en CG/SM sur une colonne de type HP-5 (apolaire, usage général). En outre, comme nous l'avons déjà mentionné, les composés synthétisés sont présents à l'état de traces. Il est donc toujours essentiel de les concentrer sans pertes. Ainsi, nous avons mis en place un protocole analytique de concentration puis de dérivation des acides sous la forme d'esters butyliques.

Une fois le milieu réactionnel filtré sur de la célite géo et partagé pour les différents traitements du liquide, nous mesurons le pH de la solution aqueuse et nous l'ajustons si nécessaire entre 7 et 9, dans le but d'obtenir les analytes sous la forme de carboxylates.

Le filtrat est donc éventuellement basifié avec une solution de NaOH à 2mol/L ou $5 \cdot 10^{-3}$ mol/L. Nous pouvons alors évaporer à sec la solution aqueuse sans pertes de matière, à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite. Le résidu solide obtenu contient les acides carboxyliques sous la forme de carboxylates de sodium.

Nous ajoutons ensuite sur les analytes ioniques environ 1mL d'une solution d'acide chlorhydrique dans du butanol géo à 1,5mol/L. Nous laissons le mélange réagir pendant environ 2 heures à 90°C.

Ensuite, l'excès de butanol et l'acide chlorhydrique sont éliminés par évaporation à sec avec un évaporateur rotatif sous pression réduite et en chauffant. Le fait de chauffer et d'évaporer le liquide sous pression réduite peut entraîner la perte partielle ou totale des acides estérifiés les plus petits.

Après cela, nous ajoutons quelques gouttes de dichlorométhane géo dans le ballon afin de solubiliser les éventuels esters butyliques formés. Puis, nous filtrons le mélange sur célite géo et nous concentrons le filtrat à l'évaporateur rotatif.

L'échantillon est enfin analysé en CPG puis CG/SM.

Une variante de ce traitement est la séparation des esters butyliques formés de l'excès de butanol/HCl par chromatographie sur gel de silice en présence de crocétine dialdéhyde. Dans le cas où nous nous intéressons à des molécules risquant d'être perdues lors de l'évaporation sous pression réduite et sous chauffage, ce traitement permet d'observer des diesters contrairement au traitement à l'octanol. Cependant, les petits esters butyliques (formiate butylique et acétate butylique) sont moins bien chromatographiés que les esters octyliques correspondants. En effet, ils sont élués très tôt, se trouvant dans la décroissance du pic du solvant.

D.1.5 Quantification des petits acides carboxyliques deutériés

Afin de déterminer les quantités absolues d'acides carboxyliques marqués lors des expériences de simulation réalisées dans D₂O, nous avons choisi d'introduire une quantité connue d'acide heptanoïque commercial, en tant qu'étalon interne, avant le traitement de dérivation à l'octanol du milieu réactionnel, donc dès l'ouverture de l'autoclave, à la fin de la simulation.

Nous avons choisi un acide carboxylique impair, car les acides pairs ont une plus grande probabilité d'être présents sous formes de pollutions dans le milieu réactionnel que les acides impairs, étant donné que les acides gras pairs sont plus répandus dans la nature. Enfin, nous avons choisi un acide plus long que les acides synthétisés, néanmoins à une longueur raisonnable, afin qu'il ait un comportement chimique proche des acides à quantifier. Cet acide subit ainsi les mêmes réactions que les acides synthétisés et possède les mêmes caractéristiques fonctionnelles que les molécules à quantifier. Par conséquent, lors du traitement de l'échantillon, lors de la séparation par chromatographie sur silice, la référence élue dans la même fraction que les composés à quantifier.

D.1.5.1 Estimation de la quantité d'étalon à ajouter

Il a fallu, tout d'abord, déterminer la quantité d'acide heptanoïque à ajouter dans le milieu réactionnel, afin que l'ester de référence ne soit pas présent en quantités excessives par rapport aux traces d'esters octyliques. En effet, lorsque la fraction finale est analysée, le pic de l'ester de référence doit avoir une intensité du même ordre de grandeur que les intensités des pics des analytes. Dans le cas contraire, nous ne verrions qu'un énorme pic correspondant à l'ester de référence et les analytes ne seraient éventuellement même pas visibles en zoomant sur la zone du chromatogramme où les pics correspondants sont positionnés habituellement.

L'estimation a été réalisée sur deux échantillons correspondant à deux essais réalisés en milieu deutérié. Les milieux réactionnels de ces deux expériences dans D₂O avaient été traités auparavant à l'octanol.

Le protocole expérimental est décrit ci-dessous.

Dans un premier temps, l'heptanoate octylique de référence a été synthétisé par simple estérification de l'acide heptanoïque commercial avec une solution d'acide chlorhydrique dans l'octanol à 1,5mol/L. L'ester a ensuite été purifié par chromatographie sur gel de silice. Des analyses CPG et CG/SM ont confirmé la pureté du produit de synthèse.

Ensuite, des concentrations diluées d'heptanoate octylique ont été injectées en CPG et les intensités du pic de l'ester de référence ont été comparées avec celles des pics des esters octyliques identifiés dans les deux échantillons choisis pour l'estimation. Le but est d'obtenir un pic de l'ester avec une intensité proche de celles des pics des esters à quantifier. Une fois un ordre de grandeur déterminé, des co-injections avec les échantillons des deux simulations ont permis d'affiner l'estimation de la concentration en ester heptanoate octylique et de calculer la quantité d'acide heptanoïque à ajouter en tant qu'étalon interne à la fin d'une simulation. Une co-injection consiste simplement à prélever dans la même micro-seringue un volume V_E de l'échantillon puis un volume V_{Ester} de la solution d'heptanoate octylique (voir Figure II - 24, page 92). Le liquide est ensuite injecté en CPG et le chromatogramme résultant présente les pics des analytes et celui de l'ester de référence. Il est ainsi plus facile et plus précis de comparer sur le même chromatogramme les intensités des pics des analytes avec l'intensité du pic de l'ester butylique du futur étalon interne.

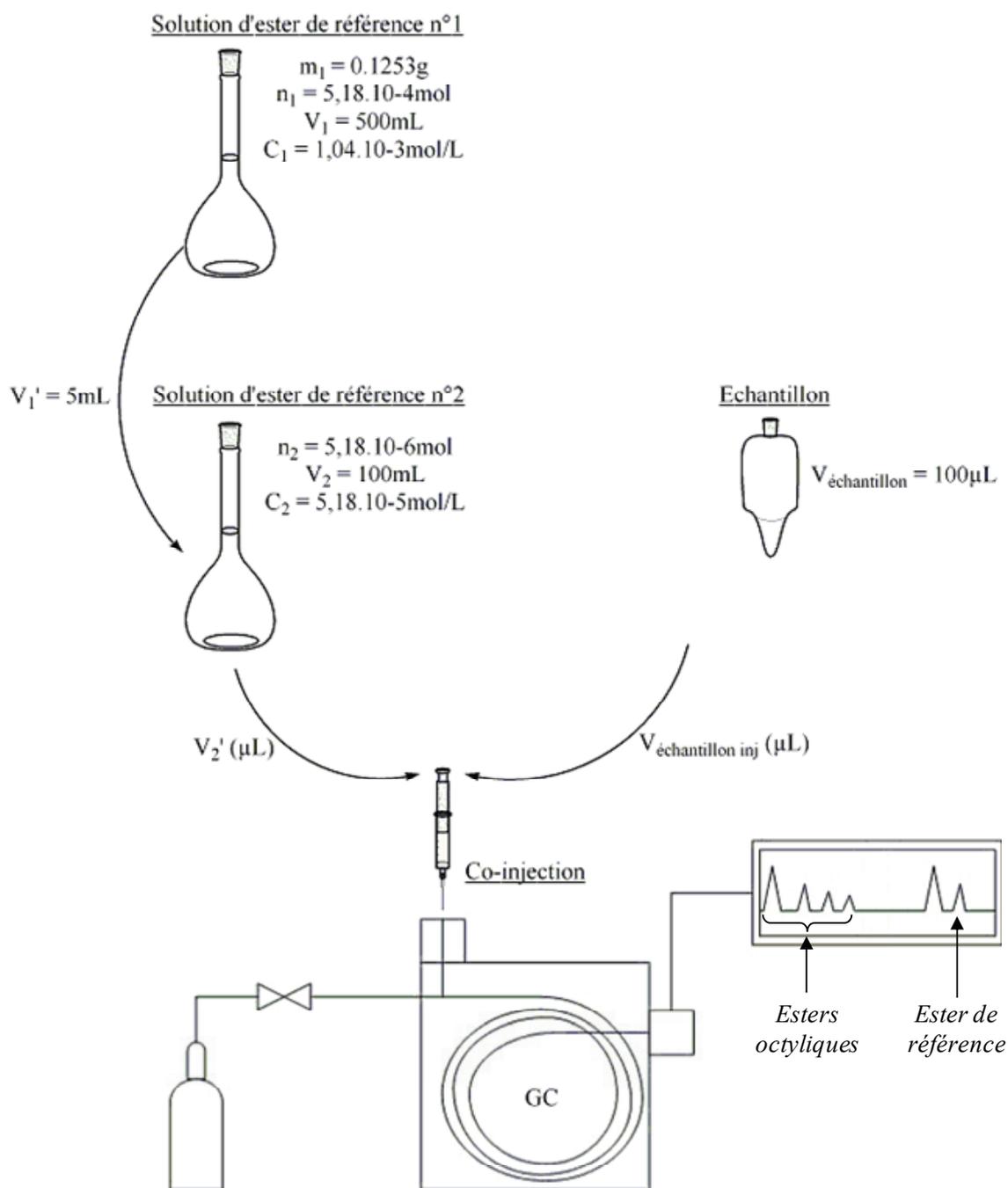


Figure II - 24 - Protocole d'estimation, par coinjection, de la quantité d'acide heptanoïque à ajouter en tant qu'étalon interne

Soit n le nombre de moles d'acide heptanoïque de référence à introduire dans le milieu réactionnel.

$$n = \frac{C_2 \times V_2' \times V_{\text{Echantillon}}}{V_{\text{EchantillonInj}}}$$

Équation II - 1 - Calcul de la quantité d'acide heptanoïque à ajouter

Une fois la quantité d'acide heptanoïque commercial à ajouter estimée, soit $2,9 \cdot 10^{-8}$ mol, nous avons mis en place le protocole de traitement d'une expérience de simulation en milieu deutérié pour la quantification des acides carboxyliques marqués.

D.1.5.2 Protocole expérimental de la quantification des acides carboxyliques deutériés

Le milieu réactionnel des expériences de simulation en milieu deutérié, réalisées dans un but de quantification, est consacré en totalité, soit 20mL, au protocole élaboré. Afin d'obtenir les quantités les plus représentatives possibles, étant donné que les acides carboxyliques synthétisés sont relativement volatils et sachant que la tension de vapeur saturante d'un composé augmente avec la température du milieu ambiant, il a semblé intéressant de diminuer la température de l'autoclave, donc du milieu réactionnel ainsi que des gaz se trouvant dans l'enceinte métallique, avant d'ouvrir l'autoclave, et de traiter le milieu réactionnel final à une température faible. Les acides sont ainsi moins volatils et les pertes de matière sont minimisées.

Comme pour la dérivation des thiols, le chauffage de l'autoclave est coupé puis le réacteur est refroidi dans un bain de glace fondue. La vanne de l'autoclave est ensuite ouverte puis le réacteur est ouvert totalement.

Le milieu réactionnel est filtré sur de la célite géo, puis quelques rinçages de l'autoclave et du tube en verre sont effectués avec de l'eau ultrapure puis du dichlorométhane géo. Le filtrat est récupéré dans un ballon placé dans un bain de glace fondue.

La solution aqueuse est ensuite basifiée avec 100 μ L d'une solution de NaOH à 2mol/L.

$2,9 \cdot 10^{-8}$ mol d'acide heptanoïque pur sont ajoutés dans la solution basique. Celle-ci est agitée afin d'extraire l'acide heptanoïque dans la phase aqueuse sous sa forme ionique. Le pH est alors vérifié et si nécessaire la solution est basifiée une nouvelle fois.

Les deux solvants, le dichlorométhane puis l'eau, sont évaporés avec un évaporateur rotatif à pression réduite.

On fait ensuite réagir le résidu sec avec 2mL d'une solution d'acide chlorhydrique dans de l'octanol géo à 1,5mol/L pendant environ 2 heures à 60°C. Nous supposons que chaque acide présent réagit de la même façon avec l'octanol. L'ajout d'octanol en excès permet d'améliorer le rendement de l'estérification et nous admettons pour la suite du protocole de quantification que la réaction de formation des esters est totale.

Ensuite, une colonne (3,5x16,0cm) de chromatographie sur gel de silice est effectuée afin de séparer les esters formés du large excès d'octanol. Comme pour l'analyse qualitative des acides carboxyliques de faible poids moléculaire décrite dans la partie D.1.3 (page 88), l'élution est réalisée avec du dichlorométhane. La première fraction éluant avant l'octanol ($R_f > R_{f \text{ Octanol}} = 0,3$) et contenant les esters octyliques ($R_f = 0,8$) est concentrée à l'évaporateur rotatif.

Puis, plusieurs spatules de poudre de cuivre activé sont ajoutées directement dans le liquide afin notamment de réduire les traces de soufre S₈ présentes dans notre échantillon. Le mélange est agité et après une heure celui-ci est filtré sur célite géo.

L'échantillon est enfin analysé en CPG puis en CG/SM.

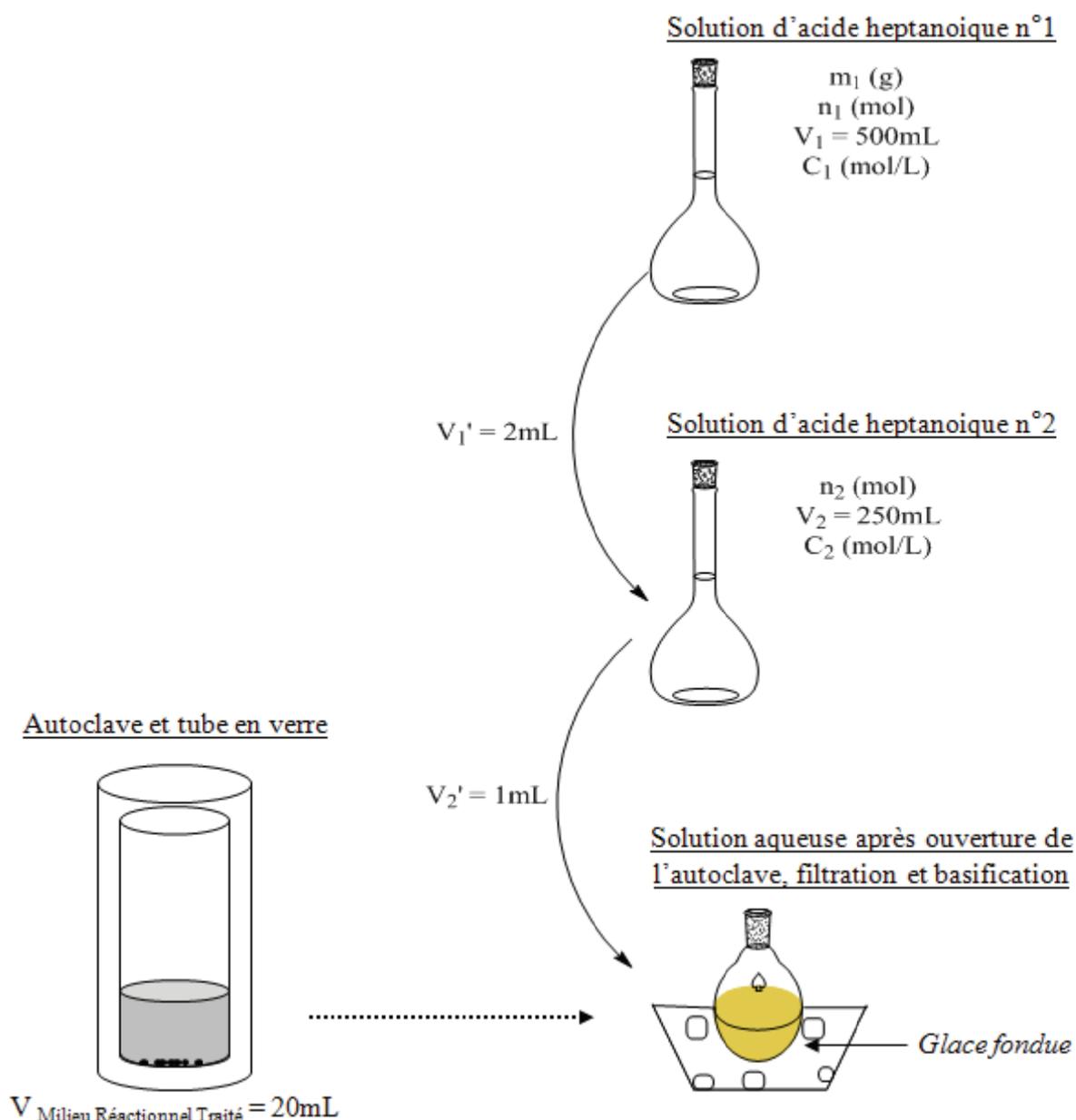


Figure II - 25 - Protocole suivi pour l'ajout de l'acide heptanoïque en tant qu'étalon interne

D.1.5.3 Démarche suivie pour la quantification

La quantification a été réalisée par intégration des pics de chacun des esters octyliques sur le chromatogramme obtenu par CPG-FID. Nous admettons que la réponse du détecteur FID pour un composé est proportionnelle à la masse des carbones de la molécule. Nous n'avons ainsi pas déterminé expérimentalement les facteurs de réponse pour chaque ester octylique. Nous comparons l'aire du pic de chaque ester à quantifier avec celle du pic de la référence interne, l'heptanoate octylique, dont nous connaissons la quantité présente dans le milieu réactionnel de façon précise.

L'acide de référence puis son ester octylique subissent, dès le début, le même traitement que les composés à quantifier. Tous les esters endurent donc les mêmes pertes éventuelles au cours

de ce traitement et donc le rapport entre l'aire de l'ester de référence et l'aire de chacun des esters à quantifier reste à priori inchangé quoiqu'il arrive après l'ajout de l'étalon interne.

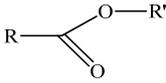
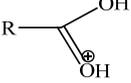
Une combinaison de composés deutériés et non deutériés est obtenue pour chaque acide. Les esters octyliques des acides deutériés correspondent aux produits formés *in situ* et les esters octyliques des acides non deutériés sont considérés comme des contaminations extérieures, même si une partie indéterminée résulte probablement d'une synthèse *in situ* mettant en jeu des atomes d'hydrogène issus de HCl et H₂S notamment.

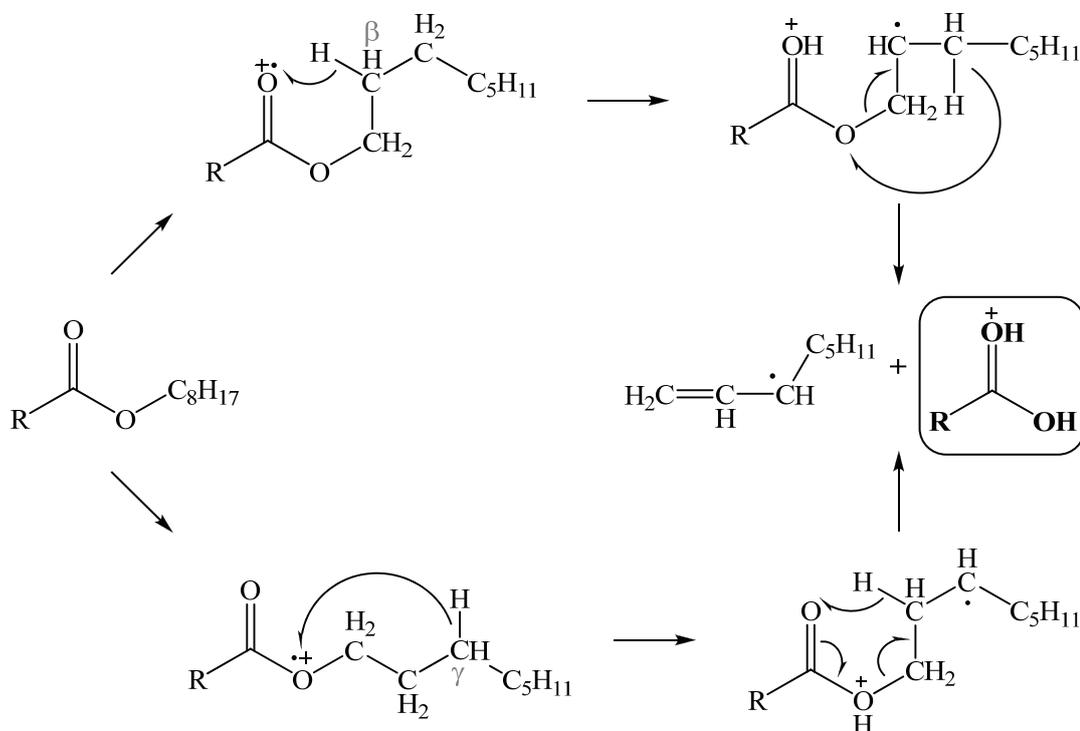
Les composés deutériés forment, en fait, une combinaison de plusieurs molécules, allant de la molécule totalement deutériée, sur la partie acide de l'ester, à la molécule ne possédant qu'un deutérium sur la partie acide. La présence d'atomes d'hydrogène dans les molécules deutériées donc synthétisées est due à l'existence de plusieurs sources d'hydrogène dans le milieu réactionnel H₂S, HCl comme mentionné ci-dessus.

Nous admettons que la réponse du détecteur FID est la même pour les molécules deutériées que pour les molécules hydrogénées, sachant que l'utilisation de références internes deutériées a lieu couramment pour la quantification par détection FID.

Par injection en CPG, nous remarquons que la phase stationnaire de la colonne capillaire utilisée (DB-17) ne permet pas de séparer les esters hydrogénés des esters partiellement ou totalement deutériés. Nous intégrons donc en CPG à la fois les esters synthétisés et ceux provenant de pollutions. Il est donc nécessaire de corriger le fait qu'on comptabilise en même temps les produits réactionnels et les pollutions, avant de comparer les aires des esters obtenues avec l'aire de la référence.

L'échantillon est analysé en CG/SM (ionisation par impact électronique, IE), sur le même type de colonne, afin de déterminer la part des composés deutériés dans les aires totales mesurées en CPG-FID, et afin de calculer les facteurs de correction pour le calcul de quantification à partir des aires en CPG-FID.

Chaque ester  se fragmente en donnant, entre autres, un fragment  (voir Réaction II - 3 et Figure II - 26), d'intensité, en général, non négligeable.



Réaction II - 3 - Mode de fragmentation en IE des esters octyliques
(Budzikiewicz H. et al. - 1967)

Il est alors possible de comparer la distribution deutérium/hydrogène en intégrant séparément chacun des courants d'ions correspondant aux esters deutériés et les courants d'ions correspondant aux esters exclusivement hydrogénés (voir

Figure II - 26, page 97).

L'échantillon est analysé en CG/SM en mode de balayage continu des masses (RIC - Courant d'Ion Reconstitué - balayage 40-700). De plus, pour une plus grande sensibilité, pour les esters présents en très faibles quantités, il est possible d'analyser l'échantillon en mode SIM (Single Ion Monitoring). La détection est alors réalisée uniquement sur les fragments deutériés et hydrogénés sélectionnés pour chacun des esters (voir

Figure II - 26). Pour assurer une sensibilité maximale, le balayage sur les fragments choisis pour un ester donné n'est réalisé que pendant un intervalle de temps précis, correspondant à la durée exacte de l'élution de l'ester. Cet intervalle de temps est préalablement déterminé de façon précise en injectant l'échantillon en CG/SM et en effectuant une analyse en mode RIC.

Esters	Structure	Fragment hydrogéné sélectionné pour la SIM	Fragments deutériés sélectionnés pour la SIM
Formiate octylique			
Acétate octylique			
Propionate octylique			
iso-butanoate octylique			
n-butanoate octylique			

Figure II - 26 - Tableau des fragments sélectionnés pour la détection des esters octyliques en CG/SM en mode SIM

Pour l'analyse CG/SM, les conditions chromatographiques sont les suivantes :

Colonne capillaire en quartz J&W DB-17 HT

Longueur : 30m ; Diamètre Interne : 0.25 mm ; Épaisseur du film : 0.15µm

Un exemple de programmation pour l'analyse en mode SIM est présenté ci-dessous.

- * Pour l'échantillon dilué, le balayage est :
- filament allumé à 5 minutes
 - $m/z = 47$ à 48 , de 5 à 21min
 - $m/z = 61$ à 64 , de 21 à 26min
 - $m/z = 75$ à 80 , de 26min à la fin

Programme de température :

40°C(5min) ;40-200°C(2°C/min);200-300°C(10°C/min);300°C(10min)

- * Pour l'échantillon concentré, le balayage est :
- filament allumé à 34min
 - $m/z = 75$ à 80 , de 34 à 44min
 - $m/z = 89$ à 96 , de 44min à la fin

Programme de température :

40°C(5min) ;40-200°C(1°C/min);200-300°C(10°C/min);300°C(10min)

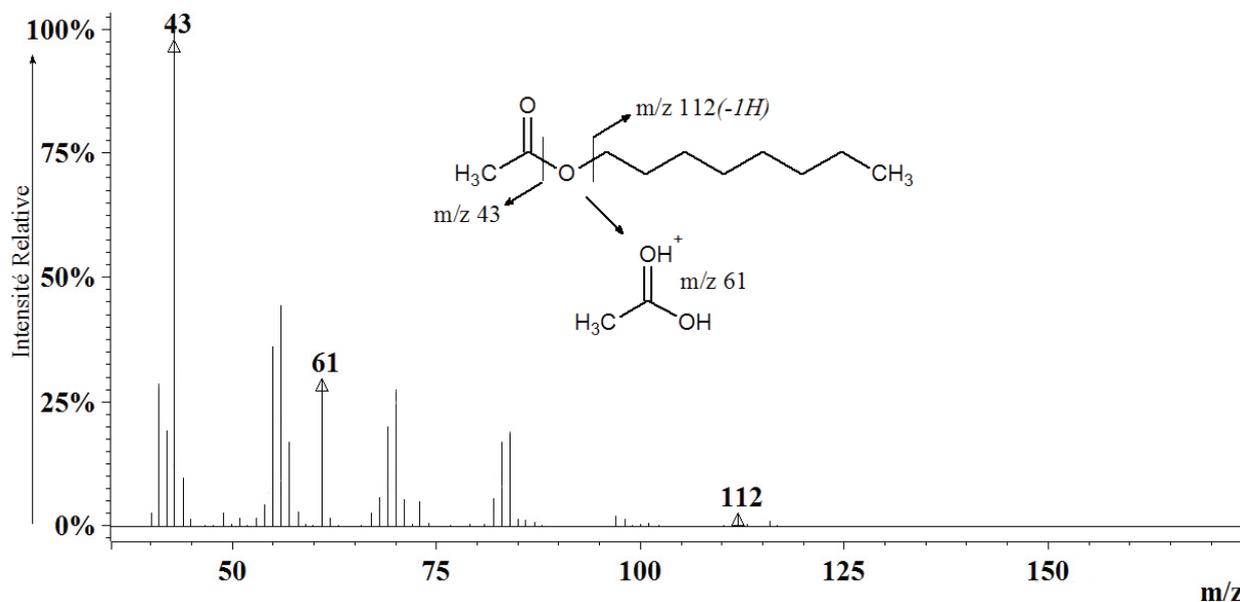


Figure II - 27 - Spectre de masse (IE) de l'acétate octylique non deutérié

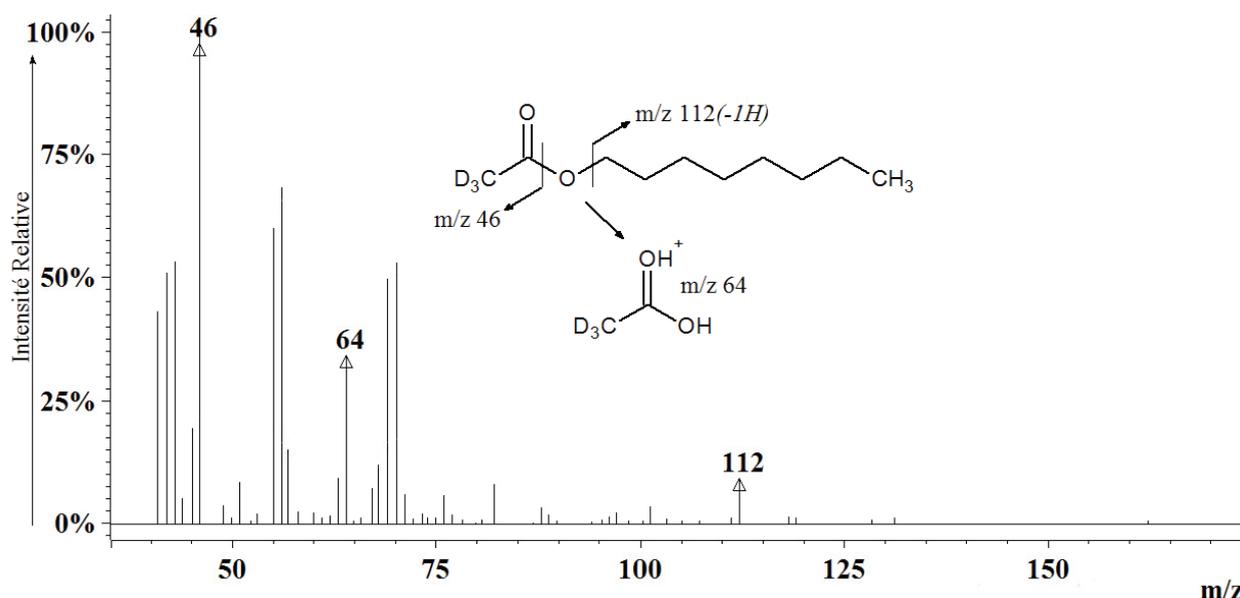


Figure II - 28 - Spectre de masse (IE) de l'acétate octylique totalement deutérié

La proportion naturelle de ^{13}C dans le carbone sur terre est d'environ 1,08%. Il en résulte que les fragments $m/z = 48, 62, 76$ ou 90 , en principe mono-deutériés, correspondent en partie à des fragments d'esters totalement hydrogénés mais portant un ^{13}C .

Étant donné que ces fragments non deutériés et portant un ^{13}C peuvent être en partie liés à une pollution extérieure et que la quantité de pollutions est variable, et même importante dans certains cas, nous ne prendrons en compte que les fragments à partir du bi-deutéié pour quantifier la part des molécules deutériées dans un pic d'ester.

Une exception est faite pour le cas du formiate octylique, car ce-dernier ne possède qu'un fragment deutérié (voir Figure II - 29), le mono-deutéié $m/z = 48$. Par le calcul, pour le fragment $m/z = 48$, nous pouvons estimer l'aire qui correspond au fragment hydrogéné +1 portant un ^{13}C . Il suffit, en fait, de calculer 1% de l'aire du fragment $m/z = 47$ (cf. Figure II - 29). Nous remarquons ainsi que le fragment 48 possède une aire nettement supérieure à celle calculée pour le fragment hydrogéné +1 portant un ^{13}C . Par conséquent, le fragment $m/z = 48$ est essentiellement dû à la présence d'un atome de deutérium, et très peu à celle d'un ^{13}C .

Nous supposons pour les esters suivants que la deutériation se fait presque totalement et que le composé mono-deutéié est présent en faibles quantités par rapport au composé hydrogéné portant un carbone 13. Le fragment de masse $m/z +1$ sera, par conséquent, considéré comme un fragment hydrogéné dans les calculs qui suivent, pour les esters acétate octylique, propionate octylique et butanoate octylique. Il est certain, que la quantité du fragment portant un carbone 13 dépend de celle du composé hydrogéné et donc varie dans les différentes simulations. Nous sous-estimons probablement un peu la quantité d'acides carboxyliques formés in situ, car des produits hydrogénés peuvent être synthétisés à partir de H_2S et HCl et ne sont donc pas des pollutions. Après vérification, dans le cas de notre quantification, les valeurs numériques restent toutefois du même ordre de grandeur lorsqu'on prend en compte ou lorsqu'on exclue le fragment $m/z +1$. Nous ne prenons ainsi pas le risque de comptabiliser des pollutions qui peuvent être exceptionnellement et occasionnellement en quantités importantes.

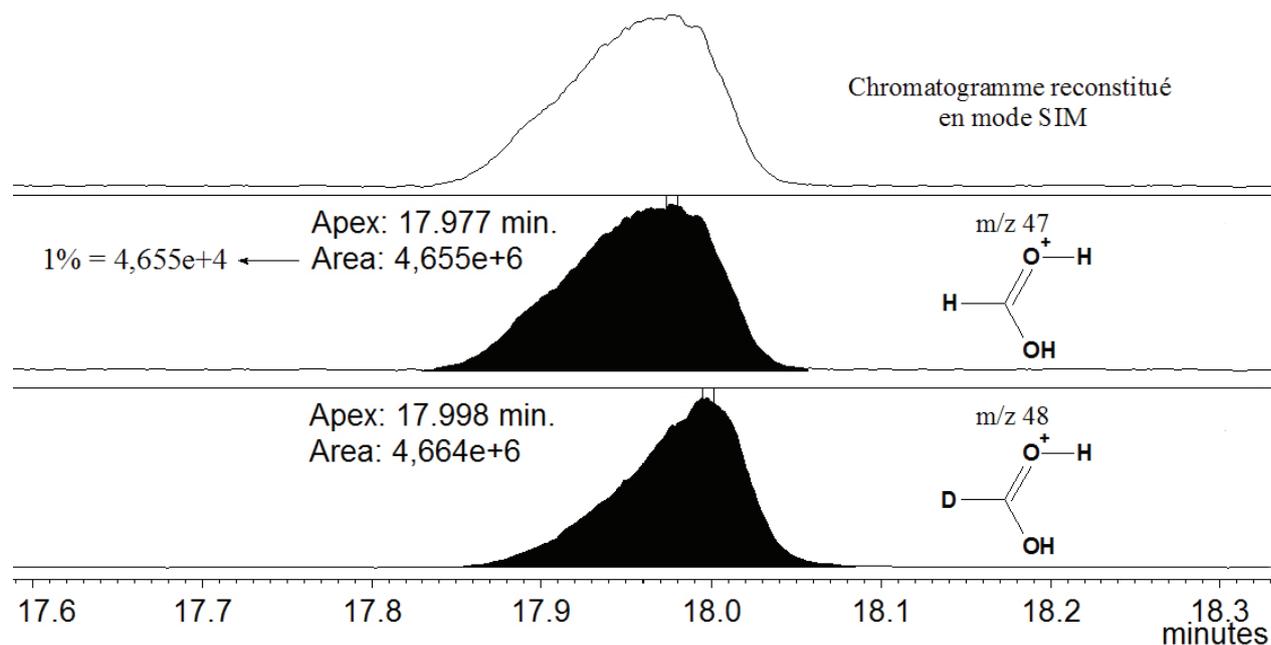


Figure II - 29 - Exemple de distribution du fragment hydrogéné et deutérié pour l'ion caractéristique du formiate octylique

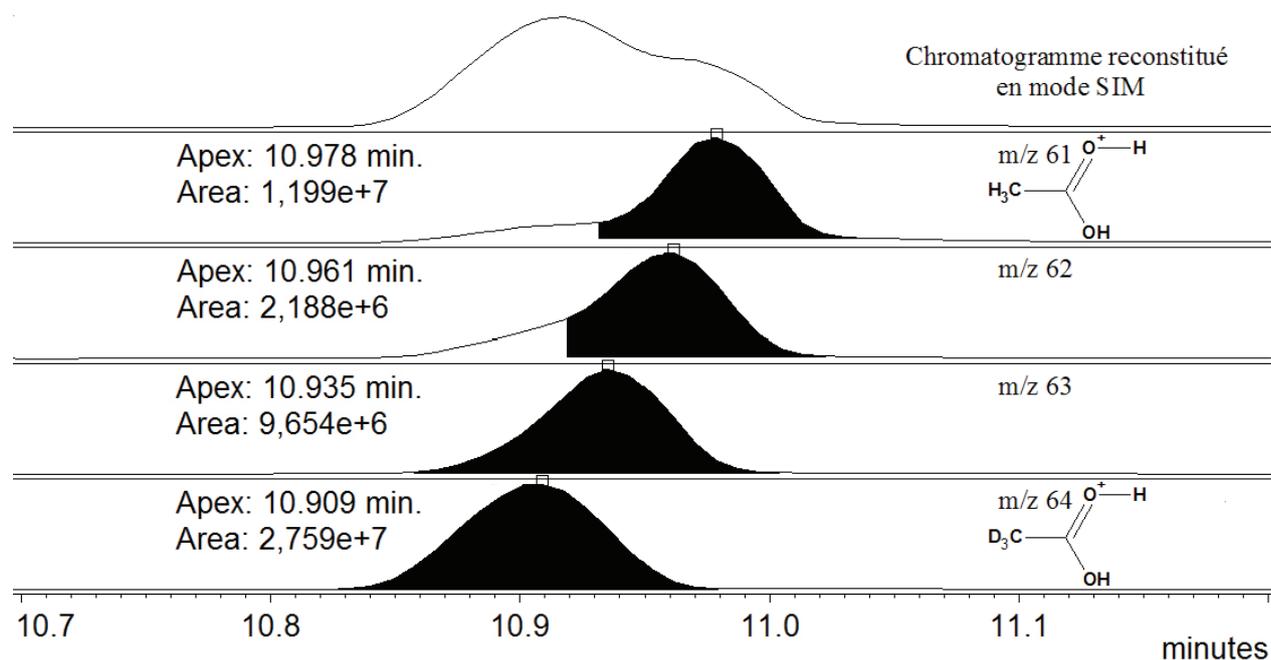


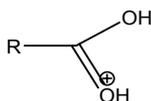
Figure II - 30 - Exemple de distribution des fragments hydrogéné et deutériés pour l'ion caractéristique de l'acétate octylique

En déterminant le rapport de la somme des aires des courants d'ions deutériés sélectionnés sur la somme des aires de tous les courants d'ions hydrogénés et deutériés de l'ester, il est possible de déterminer la part des esters réellement synthétisés dans l'aire totale obtenue en CPG-FID.

- Calculs effectués après l'intégration de chacun des pics obtenus en affichant tous les courants d'ions séparément en CG/SM (RIC ou SIM) :

Soit A_d , la somme des aires de chacun des courants d'ions deutériés, sauf le mono-deutéié.

Soit A_t , la somme des aires de chacun des courants d'ions deutériés et hydrogénés, correspondant au fragment



On a la relation suivante :

$$\alpha = \frac{A_d}{A_t}$$

Équation II - 2

- Calculs réalisés après l'intégration en CPG-FID :

Pour chaque pic intégré sur le chromatogramme en phase gazeuse, d'aire notée A_{Totale} , on peut calculer l'aire correspondant à l'ester deutérié, notée $A_{Ester\ Deutéié}$.

$$A_{EsterDeutéié} = A_{Totale} \times \alpha$$

Équation II - 3

L'aire de l'ester de référence, notée A_{Ref} est proportionnelle à la masse des atomes de carbone de la molécule de référence, notée m_{Ref}^C .

On a :

$$m_{Ref} = n_{Ref} \times M_{Ref}$$

$$m_{Ref} = n_{Ref} \times (M_{Ref}^C + M_{Ref}^{OetH})$$

$$m_{Ref} = m_{Ref}^C + m_{Ref}^{OetH}$$

Donc :

$$m_{Ref}^C = n_{Ref} \times M_{Ref}^C$$

$$m_{Ref}^C = n'_2 \times M_{Ref}^C$$

$$m_{Ref}^C = C_2 \times V'_2 \times M_{Ref}^C$$

(Signification des termes dans la Figure II - 25 page 94)

On a donc la relation suivante :

$$\begin{array}{ccc} C_2 \times V_2' \times M_{Re f}^C & & A_{Re f} \\ m_{EsterDeuté ré}^C & \begin{array}{c} \swarrow \quad \searrow \\ \nwarrow \quad \swarrow \end{array} & A_{EsterDeuté ré} \end{array}$$

Équation II - 4

L'ajout d'une référence interne permet d'utiliser la comparaison en CPG de l'aire des esters à quantifier avec l'aire du composé de référence. Cette proportionnalité reste inchangée dans le volume d'injection, dans le volume final de l'échantillon, alors que les esters à quantifier se trouvent concentrés dans un micro pilulier, en solution dans du dichlorométhane, dont on ne connaît pas le volume exact, dans le volume de la solution biphasique obtenue après ouverture de l'autoclave, transvasement, filtration et rinçages, et dans le milieu réactionnel final brut.

$$n_{Ester} = \frac{A_{EsterDeuté ré} \times C_2 \times V_2' \times M_{Re f}^C}{A_{Re f} \times M_{EsterDeuté ré}^C}$$

$$n_{Ester} = \frac{\alpha \times A_{Totale} \times C_2 \times V_2' \times M_{Re f}^C}{A_{Re f} \times M_{EsterDeuté ré}^C}$$

$$C_{Ester}^{Milieu Réactionnel} = \frac{\alpha \times A_{Totale} \times C_2 \times V_2' \times M_{Re f}^C}{A_{Re f} \times V_{MilieuRéact ionnelTraité} \times M_{EsterDeuté ré}^C}$$

Équation II - 5 - Calcul de la concentration des acides deutériés

D.2 Procédures expérimentales et analytiques pour les expériences de simulation en réacteur en verre

D.2.1 Traitement de base du milieu réactionnel

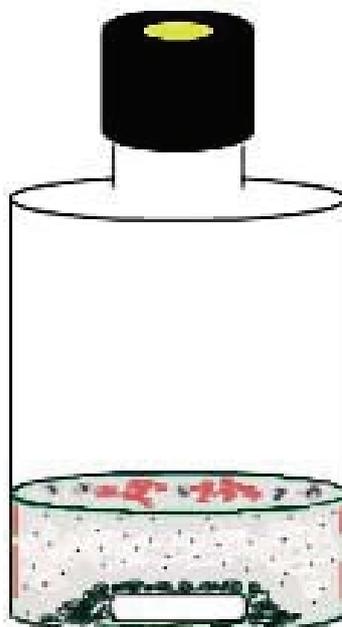


Figure II - 31 - Exemple de milieu réactionnel final observé

Une fois l'expérience terminée, le flacon est sorti du bain d'huile et laissé à refroidir environ 30 minutes. Puis, le réacteur est ouvert et nous laissons le récipient à l'air libre, sous la hotte, pendant environ 30 minutes, afin que les gaz toxiques s'échappent.

Le mélange réactionnel se présente en général comme une solution aqueuse avec un solide noir au fond, quelques feuillets brillants et quelques composés huileux et colorés flottant à la surface et éventuellement quelques matières en suspension (voir Figure II - 31).

Une simple filtration sur célite géo permettrait d'éliminer les composés solides de notre mélange puis une extraction liquide-liquide du filtrat aqueux avec un solvant organique permettrait de séparer les produits liposolubles synthétisés des composés hydrosolubles. Toutefois, il est possible que les composés organiques flottant ou éventuellement des composés organiques précipités au fond ou en suspension soient retenus par la célite et ainsi perdus lors du traitement. Il nous a donc semblé utile d'effectuer une extraction liquide-liquide du milieu réactionnel aqueux avant de filtrer.

Le milieu réactionnel contient des molécules polaires plutôt hydrosolubles et des molécules moins polaires liposolubles. Parmi les composés polaires, il est possible d'observer selon les cas, des acides carboxyliques de haut poids moléculaire ($>C_7$) et, ou d'autres types de molécules, portant une ou plusieurs fonctions acides, comme des diacides, des acides aminés, des acides mercaptans tels l'acide mercaptoacétique, ou d'autres acides tels que l'acide 2-thiophényl acétique. Les composés liposolubles sont notamment des thioesters, des thioacétals, des composés polysoufrés.

Le pH du milieu réactionnel final est mesuré et éventuellement ajusté selon les cas. Lorsque des acides ou des diacides sont attendus, étant donné que les acides carboxyliques éventuellement présents ont un pKa compris entre 3 et 6, si le milieu réactionnel est acide, nous neutralisons la solution à 7-7,5 avec une solution de NaOH à 2mol/L ou 5.10^{-3} mol/L afin de bien solubiliser les acides carboxyliques dans la phase aqueuse sous la forme d'ions carboxylates. Lorsque des acides aminés sont attendus, étant donné que le pH isoélectrique des petits acides aminés est proche de 6, nous basifions légèrement la solution afin de bien solubiliser les acides aminés en phase aqueuse sous leur forme anionique. Remarquons, qu'un pH trop basique favoriserait l'hydrolyse des thioesters en acides carboxyliques et modifierait la distribution des molécules synthétisées.

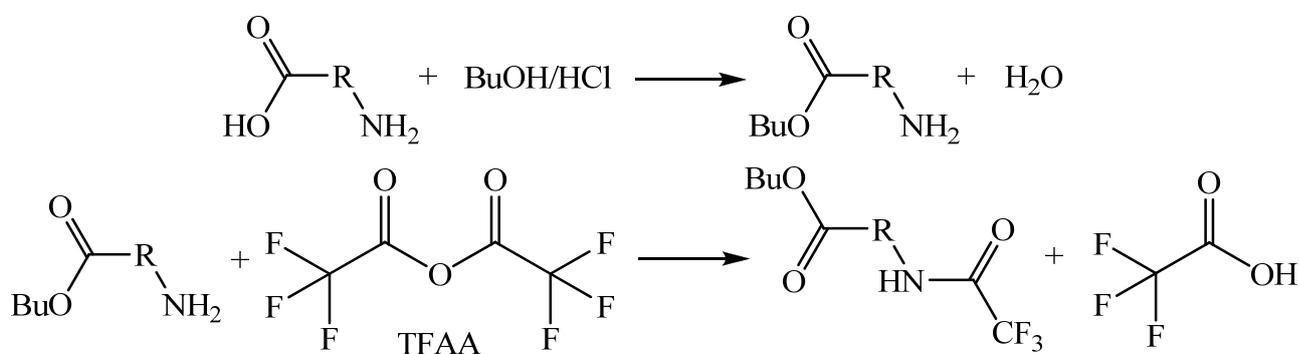
Pour l'extraction liquide-liquide du milieu réactionnel, 10mL de dichlorométhane géo sont ajoutés directement dans le réacteur, nous agitons quelques minutes puis nous laissons décanter. La phase organique se colore au contact du milieu réactionnel. Nous la prélevons et versons le liquide sur la célite géo pour le filtrer. Nous répétons cette opération 3 fois et réservons le filtrat.

La phase aqueuse restante est ensuite filtrée sur la même célite géo et le filtrat est récupéré dans une ampoule à décanter pour une extraction finale au dichlorométhane géo (2×25mL). La phase aqueuse extraite est réservée et les deux extraits organiques sont rassemblés.

La fraction organique est ensuite séchée avec $MgSO_4$ anhydre, puis filtrée sur célite géo et concentrée à l'évaporateur rotatif. Enfin, l'échantillon regroupant les composés liposolubles est analysé en CPG et CG/SM.

La fraction aqueuse est traitée de différentes façons, selon les substrats organiques engagés dans les expériences de simulation et la nature des composés attendus. Pour les acides et diacides, la fraction aqueuse est traitée selon le protocole d'estérification avec du butanol décrit précédemment (voir D.1.4 page 89).

Pour les acides aminés, la fonction amine est dérivée après l'élimination de l'excès de butanol/HCl à l'évaporateur rotatif (voir Mita H. & Shimoyama A. - 1998 et Réaction II - 4). Quelques millilitres d'anhydride trifluoroacétique (TFAA) sont versés sur le résidu sec et réagissent avec les esters butyliques aminés pendant environ deux heures à 30°C. Ensuite, le réactif est évaporé totalement. Du dichlorométhane géo est ajouté pour solubiliser les dérivés secs puis le liquide est filtré sur célite géo.



Réaction II - 4 - Réactions de dérivation des acides aminés

Enfin, la fraction organique contenant les dérivés des composés polaires est concentrée et analysée en CPG et CG/SM.

Lorsque nous ne nous intéressons qu'à des acides ou des diacides carboxyliques, une variante du traitement de base du milieu réactionnel consiste, après ouverture du réacteur, à acidifier, si nécessaire, la phase aqueuse à un $\text{pH} < \text{pK}_a$, à filtrer la solution aqueuse sur de la célite géo, puis à extraire les acides carboxyliques sous leur forme neutre avec de l'acétate d'éthyle. Dans ce cas, une analyse CPG et CG/SM sur une colonne capillaire polaire, de type HP-FFAP, est nécessaire.

D.2.2 Analyse quantitative des composés liposolubles et des composés hydrosolubles

Après analyse de la fraction contenant les composés hydrosolubles dérivés et de la fraction contenant les composés liposolubles, nous avons identifié un certain nombre de composés d'intérêt. Il nous a semblé nécessaire de les quantifier, afin de connaître la répartition des produits formés et le rendement de la synthèse correspondante.

Nous avons mis en place la quantification par étalonnage interne des molécules identifiées dans les deux fractions résultant du traitement du milieu réactionnel.

Étant donné que nous observons deux types de molécules se distribuant selon leur polarité entre deux phases lors du traitement du milieu réactionnel, il a été nécessaire de choisir deux étalons internes à ajouter dans le mélange réactionnel en fin d'expérience, l'un étant lipophile et destiné à la quantification des composés de la fraction organique et l'autre étant hydrophile et destiné à la quantification des composés présents dans la fraction aqueuse.

D.2.2.1 Choix de l'étalon de quantification lipophile et estimation de la quantité à ajouter

Nous avons testé trois alcanes linéaires, en injectant en CPG trois solutions diluées de n-heptadécane ($\text{C}_{17}\text{H}_{36}$), de n-tricosane ($\text{C}_{23}\text{H}_{48}$) et de triacontane ($\text{C}_{30}\text{H}_{62}$), puis en comparant les chromatogrammes correspondants au chromatogramme d'une fraction organique typique pour une expérience de simulation de base en réacteur en verre. Le triacontane possède un temps de rétention élevé, dans les conditions d'analyse de la fraction organique. Ainsi, le produit élué après les composés d'intérêt et l'ajout du triacontane en tant qu'étalon interne ne perturberait pas l'analyse des produits synthétisés en se superposant à des pics importants, car son pic se situerait à la fin du chromatogramme.

Le triacontane a donc été choisi comme étalon interne pour la fraction organique.

Une première estimation de la quantité de triacontane à ajouter a été effectuée en préparant quelques solutions diluées de l'alcane dans du dichlorométhane géo, puis analysant ces solutions en CPG et en comparant les intensités du pic du triacontane avec celles des produits liposolubles identifiés lors de simulations typiques en réacteur en verre. Le pic de l'étalon interne doit être du même ordre de grandeur que les pics des composés d'intérêt.

Une fois cette estimation faite, des co-injections de solutions diluées de triacontane ont été réalisées avec la fraction organique extraite d'une expérience de simulation typique en réacteur en verre (*cf.* le principe de la méthode de co-injection page 91 et *cf.* Figure II - 24 page 92).

La quantité de triacontane à ajouter en tant qu'étalon interne a été déterminée ($\approx 10^{-8}$ mol) selon le même principe utilisé pour la quantification des acides deutériés (voir D.1.5.1 page 90).

D.2.2.2 Choix de l'étalon de quantification hydrophile et estimation de la quantité à ajouter

Deux acides, l'acide myristique $C_{14}H_{28}O_2$ et l'acide phytanique $C_{20}H_{40}O_2$, ont été retenus comme étalons internes potentiels pour la fraction aqueuse d'une expérience de simulation typique en réacteur en verre. Remarquons que les deux acides sont peu solubles dans l'eau sous leur forme acide mais un peu plus hydrophiles sous leur forme anionique, carboxylate.

Dans un premier temps, les deux acides ont été estérifiés avec un excès de solution d'acide chlorhydrique dans du butanol à 1,5 mol/L, pendant 2 heures à 90°C. Puis, l'excès de butanol et d'acide chlorhydrique est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite et en chauffant. Le liquide obtenu est alors purifié sur colonne de chromatographie sur gel de silice. Les éventuelles traces d'acide sont retenues en début de colonne et l'ester est élué au front avec du dichlorométhane géo. Le liquide élué est ensuite concentré et sa pureté est vérifiée par analyses en CPG et CG/SM.

En CPG, dans les mêmes conditions d'analyse que pour les échantillons, les chromatogrammes obtenus pour les esters formés sont comparés à ceux de fractions aqueuses typiques dérivées. L'ester de l'acide myristique est choisi car il est élué dans un intervalle de temps où il n'y a pas de pics importants.

Une première estimation de la quantité d'acide myristique à ajouter a été effectuée en injectant des solutions diluées de l'ester synthétisé au préalable et en comparant l'intensité du pic de l'ester avec celle des pics des composés identifiés lors d'expériences de simulation typiques.

Des co-injections de solutions diluées avec la fraction aqueuse dérivée d'un essai en réacteur en verre ont permis de déterminer précisément le nombre de mol d'étalon interne, soit $8 \cdot 10^{-9}$ mol, selon le même principe que pour l'étalonnage interne à l'acide heptanoïque ou au triacontane (voir Équation II - 1, page 92).

D.2.2.3 Protocole expérimental de la quantification des composés liposolubles et hydrosolubles

A la fin d'une expérience de simulation, pendant que le réacteur refroidit puis est laissé ouvert à l'air libre, nous préparons les solutions de triacontane pour la quantification des composés liposolubles. Comme l'illustre la Figure II - 25 page 94 pour la quantification des acides deutériés, pour chaque étalon une première solution S1 est préparée puis la solution S2.

1 mL de la solution S2 ($1,02 \cdot 10^{-5}$ mol/L) de triacontane sont ajoutés dans le milieu réactionnel final dès le début du traitement. Le triacontane est bien entraîné dans la solution par plusieurs rinçages du col du ballon avec du dichlorométhane géo. La solution aqueuse est ensuite agitée quelques minutes. Puis, le pH est mesuré et ajusté à 6,5-7 pour l'extraction liquide-liquide au dichlorométhane géo (4×10 mL). Une fois l'extraction et la filtration sur célite géo de la phase

organique faites, la phase aqueuse est filtrée à son tour. Le filtrat aqueux obtenu est alors extrait une deuxième fois avec du dichlorométhane géo (2×25mL). Les extraits organiques sont ensuite rassemblés. Puis, la fraction organique est séchée sur MgSO₄ anhydre, filtrée, concentrée et enfin analysée en CPG et CG/SM.

Les solutions d'acide myristique sont préparées à la fin du traitement de la phase organique et 2mL de la solution S₂ sont ajoutés dans la phase aqueuse extraite. L'acide n'est pas ajouté plus tôt car, étant donné la faible solubilité dans l'eau de l'acide à 14 carbones, même à pH 7, l'acide gras serait en grande partie extrait avec les composés liposolubles par le dichlorométhane. Nous prenons le plus grand soin lors de la première partie du traitement du milieu réactionnel afin de ne pas perdre de matière lors des filtrations et des extractions, car sans la présence dès le début de l'étalon interne pour la phase aqueuse, nous risquons de sous-estimer les quantités de composés hydrosolubles. La phase aqueuse est ensuite traitée comme nous en avons l'habitude. La solution est basifiée, puis évaporée à sec. Ensuite, nous estérifions les éventuels acides avec un excès de solution de HCl dans du butanol à 1,5mol/L. L'excès d'alcool et de HCl est éliminé par évaporation. Les dérivés sont alors solubilisés dans du dichlorométhane. Le liquide est filtré puis concentré. Enfin, la fraction aqueuse dérivée est analysée en CPG et CG/SM.

D.2.2.4 Explication de la démarche suivie pour la quantification

En CPG-FID, les pics correspondant à chaque composé identifié et aux étalons internes sont intégrés. Nous reprenons pour cette quantification le même raisonnement mathématique utilisé pour la quantification des esters deutériés (voir Équation II - 4, page 102).

$$\boxed{\begin{array}{ccc} C_2 \times V_2' \times M_{Ref}^C & & A_{Ref} \\ m_{Analyte}^C & \begin{array}{c} \swarrow \searrow \\ \nwarrow \nearrow \end{array} & A_{Analyte} \end{array}}$$

Équation II - 6

$$n_{Analyte} = \frac{A_{Analyte} \times C_2 \times V_2' \times M_{Ref}^C}{A_{Ref} \times M_{Analyte}^C}$$

$$C_{Analyte}^{Milieu Réactionnel} = \frac{A_{Analyte} \times C_2 \times V_2' \times M_{Ref}^C}{A_{Ref} \times V_{Milieu Réactionnel Traité} \times M_{Analyte}^C}$$

Équation II - 7 - Calcul de la concentration des analytes

E. Caractérisation des produits formés lors d'essais en laboratoire

E.1 Première identification par l'interprétation des spectres de masse

Les composés synthétisés lors des différentes expériences de simulation ont été identifiés par l'interprétation de leurs spectres de masse, résultant d'analyses en spectrométrie de masse en mode d'ionisation par impact électronique et par ionisation chimique. Le spectre obtenu par impact électronique fournit des informations structurales sur le composé (observation de l'ion moléculaire M^+ occasionnellement, ainsi que de fragments souvent très informateurs sur la structure) alors que le spectre d'ionisation chimique fournit principalement des informations sur la masse moléculaire de l'analyte (observation des ions MH^+ , $[M+C_4H_9]^+$ et $[M+C_3H_3]^+$, le gaz réactant étant généralement l'isobutane dans le cas des analyses réalisées). Dans un premier temps, les spectres de masse obtenus par impact électronique sont comparés à la base de données NIST. L'algorithme de recherche du logiciel d'exploitation VARIAN MS Workstation extrait de la librairie les composés dont les spectres de masse ressemblent le plus au spectre étudié. Nous prenons ainsi en compte les propositions de produits et effectuons une première identification. Dans le cas de molécules non répertoriées dans la librairie de spectre, les données doivent être interprétées et nous proposons une structure à partir des fragments observés en impact électronique et de la masse moléculaire obtenue lors de l'analyse en ionisation chimique. L'interprétation des données est d'ailleurs également effectuée pour les composés identifiés auparavant par la librairie afin de choisir parmi plusieurs propositions possibles dans certains cas ou de confirmer simplement la première identification.

E.2 Caractérisation des molécules d'intérêt prébiotique à l'aide de composés de référence

Parmi les nombreux composés observés après le traitement du milieu réactionnel, nous avons caractérisé de façon méticuleuse les plus importants à l'aide de plusieurs méthodes nécessitant des composés de référence.

E.2.1 Composés de référence commerciaux utilisés pour la caractérisation

Nous disposons au laboratoire de nombreux composés de références commerciaux pour caractériser les produits d'intérêt prébiotique, notamment des thiols, des sulfures, des polysulfures, des acides carboxyliques, des diacides carboxyliques, des thioesters, des thioacides

etc. Les composés suivants ont été identifiés à l'aide de références commerciales : le méthane-thiol, l'éthane-thiol, le propane-2-thiol, le propane-1-thiol, le butane-1-thiol, l'acétone, le méthylthioacétate, l'acétophénone, le méthyl(phényl)sulfure, le biphényle, le diphénylsulfure, le diphényldisulfure, le benzaldéhyde, la benzophénone, l'acide benzoïque, le dioctylsulfure et le dioctyldisulfure.

E.2.2 Synthèse de composés de référence pour la caractérisation

Lorsque les produits de référence étaient indisponibles commercialement nous avons effectué leur synthèse au laboratoire.

Nous présentons dans ce qui suit les composés de référence synthétisés au laboratoire pour la caractérisation des molécules clés, ainsi que les protocoles de synthèse et les données analytiques correspondantes (spectrométrie de masse et déplacements chimiques RMN).

E.2.2.1 Esters octyliques et butyliques

Les esters octyliques (formiate octylique, acétate octylique, propionate octylique, isobutanoate octylique, n-butanoate octylique et heptanoate octylique) et les esters butyliques (nonanoate butylique, benzoate butylique, 2-phénylacétate butylique, 3-phénylpropionate butylique, pyruvate butylique, lactate butylique, oxalate butylique, malonate butylique, fumarate butylique et succinate butylique) ont été synthétisés par estérification des acides commerciaux correspondants avec un large excès d'une solution à 1,5mol/L d'HCl dans du butanol ou de l'octanol pendant environ deux heures à 60°C. Les esters ont été séparés de l'excès de butanol/HCl par évaporation à pression réduite et de l'excès d'octanol/HCl par séparation sur colonne de silice. L'identité et la pureté des produits ont été vérifiées par CPG et CG/SM.

E.2.2.2 Acides aminés

Des acides aminés commerciaux (glycine, β -alanine et glycylglycine) ont été dérivés selon le protocole d'estérification et d'acétylation halogénée présenté précédemment (voir page 104). La fonction acide est donc estérifiée par un mélange butanol/HCl. Puis, après évaporation de l'excès d'alcool et d'HCl, quelques millilitres d'anhydride trifluoroacétique (TFAA) sont ajoutés. La réaction est effectuée pendant plusieurs heures à 30°C (laissée la nuit). Ensuite, le TFAA et l'acide trifluoroacétique sont éliminés par évaporation sous pression réduite. L'identité et la pureté des produits dérivés sont vérifiées par CPG et CG/SM.

E.2.2.3 Thioesters

C₈H₁₇-CO-S-C₈H₁₇

On mélange dans un pilulier, 108mg de chlorure de nonanoyle (0,61mmol) et 86 mg d'octane-1-thiol (0,59mmol) dans 400 μ L de pyridine anhydre. On laisse réagir 4 heures à température ambiante. Puis, le mélange réactionnel est versé dans 10mL d'eau et extrait avec 2 \times 10mL de dichlorométhane. L'extrait organique est ensuite lavé successivement avec une solution d'acide chlorhydrique à 0,1mol/L et de l'eau distillée, puis séché avec du MgSO₄

anhydre. Après purification par chromatographie sur colonne de gel de silice, avec comme éluants successifs de l'hexane et un mélange hexane/CH₂Cl₂ (1/1, v/v), le nonanethioate S-octylique a été obtenu avec un rendement de 97% (164mg, 0,57mmol).

¹H-RMN (300 MHz, CD₂Cl₂) : 0,88 (6H, t, J=7,0Hz, 2CH₃) ; 1,27 (20H, s large, -CH₂-) ; 1,51-1,64 (4H, m) ; 2,52 (2H, t, J=7,0Hz) ; 2,84 (2H, t, J=7,5 Hz).

GC-MS, IE, 70eV, *m/z* (intensité relative en %) : 286 (M⁺, < 1 %), 173(24), 141(100), 81(21), 71(74), 57(75).

C₆H₅-CO-S-C₆H₅

On mélange dans un pilulier, 200mg de chlorure de benzoyle (1,43mmol) et 205μL de thiophénol (2,00mmol) dans 3mL de pyridine anhydre. On laisse réagir 2 heures à 60 °C. La pyridine est ensuite éliminée sous pression réduite et le mélange restant est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (cyclohexane/CH₂Cl₂ 3/2 v/v). On obtient 83mg de benzothioate S-phénylique (0,39mmol). Le rendement de synthèse est de 19%.

¹H-RMN (300 MHz, CD₂Cl₂) : 7,42-7,46 (7H, *m*) ; 7,63 (1H, dd, J=7,5Hz, J=7,5Hz) ; 8,01 (2H, *m*).

GC-MS, IE, 70eV, *m/z* (intensité relative en %) : 214 (M⁺, 4), 105(100), 77(42), 51(32).

C₆H₅-CO-S-CH₃

On fait réagir 200mg de chlorure de benzoyle (1,43mmol) avec 202mg de méthanethiolate de sodium (2,89mmol), dans 3mL de pyridine anhydre, pendant 2 heures à 60°C. A la fin de la réaction l'excès de pyridine est éliminé par évaporation sous pression réduite. Le brut réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice. Le thioester est élué au front avec CH₂Cl₂, puis récupéré après évaporation.

¹H RMN (300 MHz, CD₂Cl₂) δ (ppm) : 2,80 (3H, s, SCH₃) ; 7,66-7,55 (3H, *m*, ArH_{méta+para}) ; 7,97-7,92 (2H, *m*, ArH_{ortho}).

CG/SM, IE, 70eV, *m/z* (intensité relative en %) : 152(M⁺, 13), 105(100), 77(45), 51(68).

E.2.2.4 Acide 2-phénylthioacétique C₆H₅-S-CH₂-COOH et son ester butylique

On place dans un bicol de 20mL une solution de 500mg d'hydroxyde de sodium dans 10mL d'eau, 450μL de thiophénol (soit 482mg et 4,37mmol) et 690mg d'acide bromoacétique (4,96mmol soit 1,13 équivalent). On chauffe ensuite à reflux pendant 2 heures sous agitation et sous atmosphère d'azote. A la fin de la réaction, on laisse le mélange réactionnel refroidir à température ambiante. Le mélange est ensuite versé dans 30mL d'eau. On acidifie le tout jusqu'à pH=2 à l'aide d'une solution aqueuse d'HCl. Puis on extrait l'acide avec 2×50mL de dichlorométhane dans une ampoule à décanter. Les phases organiques extraites sont combinées et lavées avec 2×50mL d'eau. La phase organique en résultant est alors séchée sur MgSO₄ anhydre. Après filtration et évaporation à sec, on récupère 630mg de brut réactionnel. 275mg sont prélevés et traités avec 3mL d'un mélange butanol/HCl (1,5mol/L) pendant 18 heures. Après évaporation et chromatographie sur colonne de gel de silice, on obtient 334mg (1,49mmol) d'ester butylique. Le rendement calculé pour les 2 étapes est de 78%.

Les données analytiques de l'acide sont les suivantes.

^1H RMN (300 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm) : 3,69 (2H, s, SCH_2COOH) ; 7,35-7,25 (3H, m, $\text{ArH}_{\text{méta+para}}$) ; 7,43-7,39 (2H, m, $\text{ArH}_{\text{ortho}}$).

Les données analytiques de l'ester butylique sont les suivantes.

^1H RMN (300 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm) : 0,89 (3H, t, $J=7,0\text{Hz}$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) ; 1,38-1,26 (2H, m, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) ; 1,61-1,51 (2H, m, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) ; 3,65 (2H, s, SCH_2COO) ; 4,08 (2H, t, $J=6,5\text{Hz}$, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$) ; 7,33-7,22 (3H, m, $\text{ArH}_{\text{méta+para}}$) ; 7,41-7,37 (2H, m, $\text{ArH}_{\text{ortho}}$).

CG/SM, IE, 70eV, m/z (intensité relative en %) : 224(M^+ ,50), 168(55), 123(100), 109(13), 77(12).

E.2.2.5 Dithioacétals

$\text{C}_6\text{H}_5\text{-S-CH}_2\text{-S-C}_6\text{H}_5$

On place dans un pilulier 3mL de dichlorométhane, 50mg d'acide p-toluènesulfonique monohydraté, 138mg de paraformaldéhyde (soit 1,53mmol, équivalent à 4,59mmol de formol) et 750 μL de thiophénol (805mg, 7,30mmol). On laisse réagir pendant 18 heures à température ambiante. Le brut réactionnel obtenu après évaporation est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (cyclohexane/ CH_2Cl_2 75/25 v/v). On obtient 475mg de dithiocétal (2,05mmol). Le rendement est de 56% par rapport au thiophénol.

^1H RMN (300 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm) : 4,38 (2H, s, SCH_2S) ; 7,28-7,24 (4H, m, ArH_{para}) ; 7,35-7,30 (4H, m, $\text{ArH}_{\text{méta}}$) ; 7,45-7,40 (4H, m, $\text{ArH}_{\text{ortho}}$).

CG/SM, IE, 70eV, m/z (intensité relative en %) : 232(M^+ ,15), 123(100), 109(8), 77(15).

$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH-(S-C}_6\text{H}_5)_2$

On place dans un pilulier, 45mg d'acide p-toluènesulfonique monohydraté, 150 μL de benzaldéhyde (soit 156 mg, 1,47 mmol) et 280 μL de thiophénol (300 mg, 2,73 mmol). On laisse réagir pendant 18 heures à température ambiante. Le solide blanc formé dans le pilulier est ensuite purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/ CH_2Cl_2 8/2 v/v). On obtient 387mg de dithiocétal (1,26 mmol). Le rendement de synthèse est de 85 %.

^1H -RMN (300 MHz, CD_2Cl_2) : 5,49 (1H, s, CH) ; 7,23-7,30 (9H, m, H aromatique) ; 7,33-7,39 (6H, m, H aromatique).

GC-MS, IE, 70eV, m/z (intensité relative en %) : 308 (M^+ , < 1%), 199 (100), 165 (20).

$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{-CH-(S-C}_8\text{H}_{17})_2$

On dissout 71mg de nonanal (0,50 mmol) dans 2mL de CH_2Cl_2 anhydre. 147mg d'octane-1-thiol (1,0 mmol) et 20 μL d'acide sulfurique concentré sont ensuite ajoutés.

Après 45 minutes, le mélange réactionnel est versé dans de l'eau et extrait avec du CH_2Cl_2 . L'extrait organique est ensuite séché avec du MgSO_4 anhydre et le solvant évaporé sous un flux d'azote. On obtient ainsi quantitativement le 1,1-bis(octylthio)nonane.

^1H -RMN (300 MHz, CD_2Cl_2) : 0,88 (9H, m, 3 CH_3) ; 1,34 (30H, s large, $-\text{CH}_2-$) ; 1,38 (4H, m) ; 1,75 (2H, m) ; 2,53 (2H, m) ; 2,64 (2H, m) ; 3,73 (1H, t, $J=7,0\text{Hz}$).

GC-MS, IE, 70eV, m/z (intensité relative en %) : 416 (M^+ , 3), 271(100), 173(3), 159(9), 101(3), 83(12), 69(30), 55(18), 43(11), 125(54), 99(50), 55(35).

E.2.2.6 N,S-acétal $C_6H_5-S-CH_2-NC_5H_{10}$

On place dans un bicol de 20mL 3,6mL d'une solution de formol à 37% (soit 48,4mmol de HCHO). On met le tout sous atmosphère d'azote et un des cols est fermé à l'aide d'un bouchon à jupe rabattable. On contrôle la température du ballon avec un bain d'eau à 30°C. Tout en agitant, on ajoute ensuite, à la seringue et à travers le septum, 4,5mL de pipéridine (45,5mmol) progressivement sur une période de 30 minutes, puis 4,5mL de thiophénol (43,7mmol) sur une période de 15 minutes. Puis, on laisse réagir à 30°C pendant 90 minutes sous agitation. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est versé dans 50mL d'acétate d'éthyle. La phase organique est alors lavée 2 fois avec 50mL d'eau dans une ampoule à décanter, puis séchée sur $MgSO_4$ anhydre. Après filtration et évaporation à sec, on récupère environ 9,0g de produit (43,5mmol). Le rendement de synthèse est d'environ 90% par rapport au formaldéhyde.

1H RMN (300 MHz, CD_2Cl_2) δ (ppm) : 1,39 (2H, m, $SCH_2CH_2CH_2$) ; 1,53 (4H, m, $SCH_2NCH_2CH_2$) ; 2,54 (4H, t, $J = 7,0Hz$, SCH_2NCH_2) ; 4,46 (2H, s, SCH_2N) ; 7,29-7,15 (3H, m, $ArH_{méta+para}$) ; 7,47-7,43 (2H, m, ArH_{ortho}).

CG/SM, IE, 70eV, m/z (intensité relative en %) : 207(M^+ , < 1%), 109(3), 98(100).

E.2.3 Caractérisation des produits clés par comparaison de leur comportement chromatographique et de leur spectre de masse (IE) avec ceux des composés de référence

Parmi les nombreux composés observés et identifiés en CG/SM, les molécules d'intérêt sont caractérisées, en CPG et, ou CG/SM, par comparaison de leur temps de rétention, ainsi que de leur spectre de masse observé en impact électronique, avec ceux de produits de références commerciaux ou de synthèse.

Puis, nous confirmons cette identification chromatographique par des expériences de co-injection de composés de référence avec les échantillons.

La Figure II - 32 (page 113) illustre la démarche expérimentale suivie pour effectuer des co-injections. Une première solution diluée du produit de référence est préparée puis injectée en CPG. Nous comparons ensuite l'intensité du pic du composé de référence avec celle du pic à identifier dans l'échantillon et le plus souvent une ou plusieurs solutions de référence plus diluées sont préparées. Lorsque l'intensité du pic du produit de référence est proche de celle du pic de la molécule à caractériser, nous estimons la quantité de solution de référence (volume d'injection) que nous désirons co-injecter avec notre échantillon afin de provoquer un léger accroissement ($\approx +33\%$) du pic du composé à identifier sans entraîner l'élargissement net de ce pic. Ensuite, dans la même micro-seringue un volume de l'échantillon est prélevé puis un volume de la solution de référence est également prélevé. Le liquide est ensuite injecté en CPG et nous observons le comportement du pic correspondant au produit à identifier. Si seul ce pic augmente de façon raisonnable et si aucun épaulement du pic n'est observé, la co-injection est validée et l'identification est confirmée.

Une fois toutes les étapes de caractérisation des composés effectuées, il ne subsiste aucun doute sur la nature des molécules observées lors des expériences de simulation.

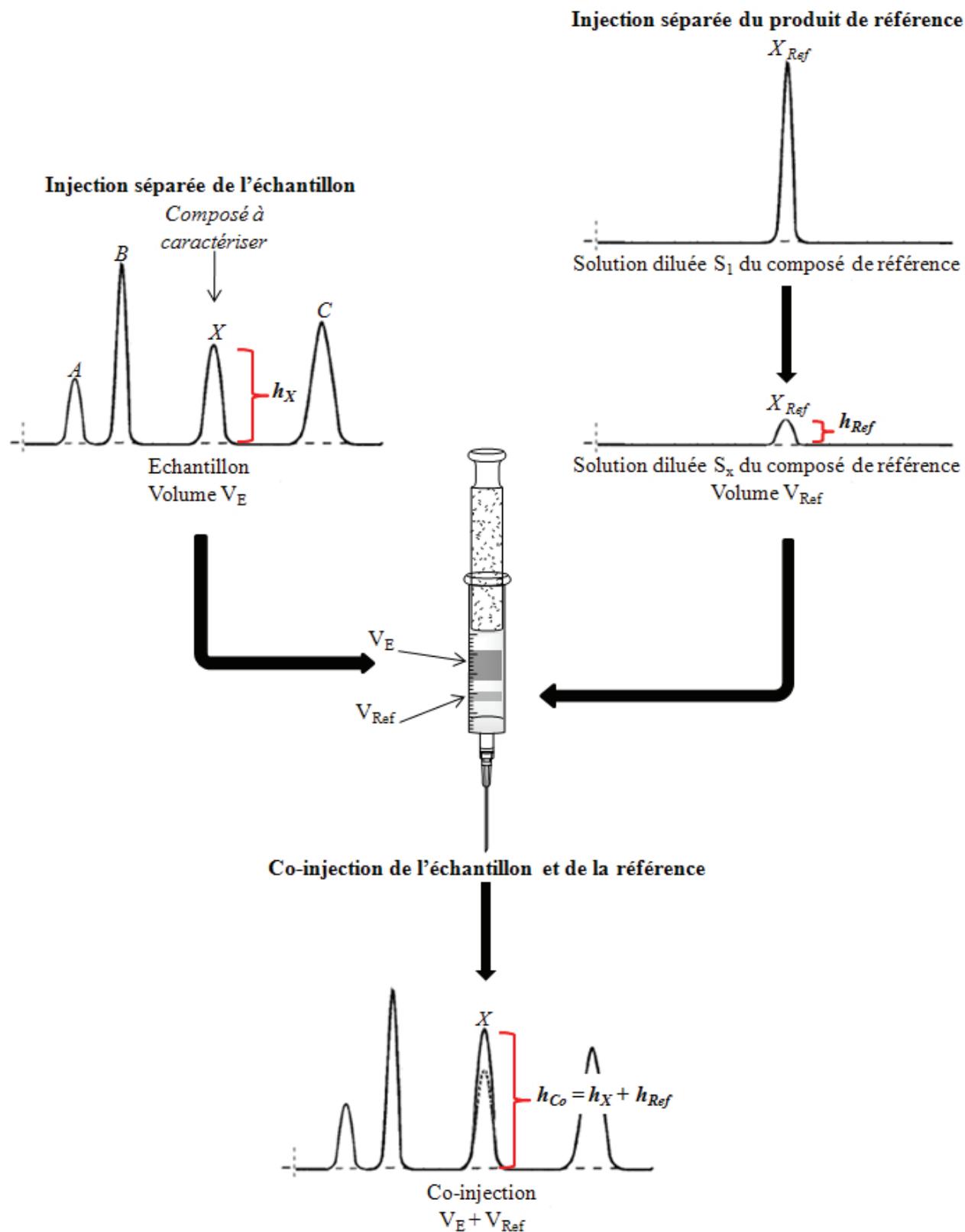
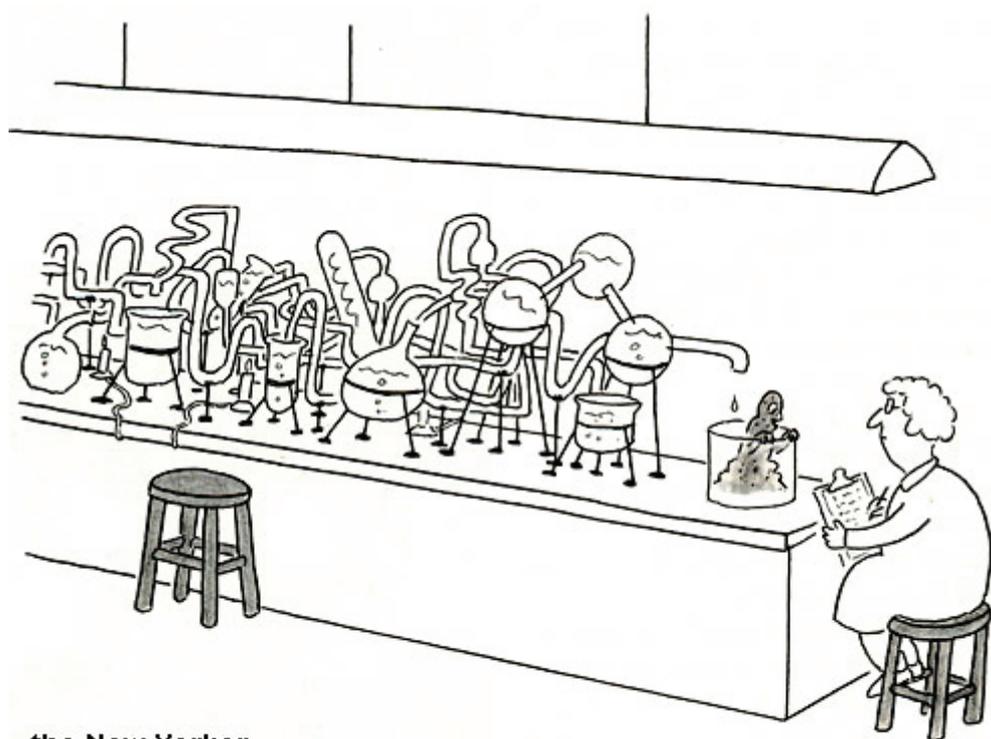


Figure II - 32 - Démarche suivie pour co-injecter un produit de référence X_{Ref} avec un échantillon dans le but de confirmer l'identification d'un composé X.

Chapitre III :

RÉSULTATS ET DISCUSSION

LA FORMATION DE LIAISONS CARBONE - CARBONE



the New Yorker
Sep 18, 2006
pg 77

"Are you my mommy?" S.GROSS

A. Introduction

Au cours de cette thèse, nous avons particulièrement suivi la théorie selon laquelle les sources hydrothermales de type fumeurs noirs auraient été le berceau de la vie.

L'objectif principal du travail de thèse présenté dans ce manuscrit est donc d'élucider et d'optimiser les processus impliqués dans la synthèse abiotique de composés organiques d'intérêt prébiotique à partir d'une source carbonée à un seul carbone, catalysés par des sulfures de métaux de transition et se déroulant dans les conditions compatibles avec celles qui existaient aux alentours des fumeurs noirs primitifs. Dans ce contexte, nous nous sommes plus spécialement intéressés dans ce chapitre à l'étude des processus de synthèse abiotique et, plus particulièrement, des réactions de formation de liaisons carbone-carbone susceptibles, à terme, de conduire à la formation de composés lipidiques amphiphiles. A cet égard, comme toute vie sur Terre est cellulaire et donc basée sur des compartiments fermés, la formation de micelles ou de vésicules, précurseurs potentiels des cellules, à partir de molécules amphiphiles d'origine prébiotique, est sans doute une étape clé de l'évolution chimique.

Notre démarche a tout d'abord été d'exploiter, de vérifier et de compléter les premiers résultats obtenus à ce sujet lors de la thèse précédente (Dubant S. - 2004). Dans le but d'investiguer la synthèse d'acides carboxyliques linéaires, précurseurs potentiels des constituants membranaires actuels, des expériences de simulation mettant en jeu CO_2/CO , H_2S et des sulfures métalliques (FeS , NiS , CoS , PbS *etc.*) dans l'eau avaient alors mis en évidence la formation de thiols de C_1 à C_3 et d'acides carboxyliques de C_1 à C_2 . Enfin, quelques mécanismes impliqués dans la formation de liaisons C-C avaient été ébauchés.

Dans ce chapitre, nous présenterons tout d'abord, dans la partie B, les expériences de simulation hydrothermale en autoclave qui ont permis de mettre en évidence la formation prébiotique de liaisons carbone-carbone, en commençant par le choix des conditions expérimentales destinées à simuler l'environnement des fumeurs noirs. Les différents composés observés seront ensuite présentés et leur réelle formation *in situ* sera discutée sur la base d'essais réalisés dans de l'eau deutériée.

Dans la partie C (page 144), nous tenterons d'élucider les processus impliqués dans la formation des différents produits d'intérêt prébiotique identifiés, à l'aide d'essais en autoclave et en réacteurs en verre mettant en jeu différents substrats organiques. Un processus itératif d'élongation de chaîne basé sur des complexes de nickel sera déduit de ces différentes expériences, et nous présenterons les composés clés de ce mécanisme. Nous détaillerons ensuite ce processus catalytique afin d'expliquer la formation des diverses molécules d'intérêt prébiotique observées lors des expériences de simulation hydrothermale. Enfin, nous proposerons quelques voies alternatives également envisageables pour former des liaisons carbone-carbone.

B. Formation prébiotique de liaisons carbone-carbone dans des conditions simulant celles des fumeurs noirs

B.1 Mise au point des expériences en autoclave simulant les conditions régnant aux alentours des sources hydrothermales sous-marines

Étant donné que nous souhaitons reproduire les conditions supposées avoir existé au niveau des sources hydrothermales sous-marines primitives de type fumeurs noirs (systèmes basaltiques, éventuellement associés à des roches mafiques et ultramafiques, voir Gamo T. - 1995 ; Gamo T. *et al.* - 2001 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002 ; Douville E. *et al.* - 2002 ; Petersen S. *et al.* - 2009), les réactifs utilisables pour des simulations en laboratoire sont déduits de la composition actuelle de ces systèmes, en ajoutant la condition d'anaérobiose essentielle à l'apparition de la vie.

Les expériences ont été réalisées dans l'eau, unique solvant de la vie, l'utilisation de solvants organiques étant dans notre cas de façon compréhensible totalement proscrite.

Notre axe de recherche étant focalisé sur la formation de composés organiques à partir des précurseurs les plus simples, il est nécessaire d'utiliser une source carbonée à un seul carbone.

Les gaz ayant une vraisemblance prébiotique et donc éventuellement adéquats seraient le dioxyde de carbone, le monoxyde de carbone et le méthane (voir Langmuir C. *et al.* - 1997). Ce dernier est présent dans des proportions plus faibles que le dioxyde de carbone aux abords des fumeurs noirs et ne présente pas à notre connaissance une forte réactivité pour former des liaisons C-C. Le méthane doit par conséquent être écarté des sources de carbone potentielles.

Depuis la découverte des fumeurs noirs, le monoxyde de carbone a été détecté à plusieurs reprises lors d'expéditions sous-marines et sa présence est longtemps restée controversée. Il a d'ailleurs d'abord été suspecté de provenir d'une réaction de réduction du dioxyde de carbone par la paroi métallique du récipient utilisé pour le prélèvement de l'échantillon des fluides (Merlivat L. *et al.* - 1987). Par conséquent, l'utilisation du monoxyde de carbone dans des expériences réalistes de simulations en laboratoire est longtemps demeurée controversée. Des découvertes récentes ont cependant montré que le monoxyde de carbone peut être considéré comme constituant régulier des fluides émis par les fumeurs noirs (voir Charlou J.L. *et al.* - 2002 ; Douville E. *et al.* - 2002 ; Petersen S. *et al.* - 2009). D'ailleurs, les concentrations en CO observées dans des fluides de fumeurs noirs associés à des roches ultramafiques atteignent 5 µmol/L (*cf.* Charlou J.L. *et al.* - 2002).

Le dioxyde de carbone étant beaucoup plus abondant et répandu que les deux premiers gaz évoqués, celui-ci fut alors dans un premier temps un meilleur candidat pour plusieurs équipes de chimistes prébioticiens. Ainsi, Wächtershäuser G. - 1990a proposa une théorie de l'origine de la vie basée sur la pyrite et la fixation du carbone, sous la forme de CO₂. En outre, Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 publièrent la synthèse de thiols de C₁ à C₅ à partir de FeS, H₂S et CO₂.

Il a été démontré pour la première fois par Dubant S. - 2004 qu'il est possible de former, lors d'une même simulation des conditions hydrothermales, de l'acide acétique et du monoxyde de carbone en faisant réagir du dioxyde de carbone, du sulfure d'hydrogène et du sulfure de fer ou de nickel, précipités *in situ*, dans un autoclave, dans l'eau et à 90°C. Notons que le monoxyde de carbone est le produit d'une réduction à deux électrons d'une molécule de dioxyde de carbone. L'incertitude sur la possible réduction du CO₂ par la paroi métallique du récipient de prélèvement des fluides hydrothermaux peut ainsi également être translatée à toute simulation en autoclave. Le doute a été levé par des expériences de simulation supplémentaires et complémentaires en récipient en verre, dans les mêmes conditions, mais à une pression atmosphérique, le seul catalyseur disponible étant le sulfure métallique. Du monoxyde de carbone a été détecté sans aucun doute. Une explication possible est la formation de ce composé par la réaction connue de « gaz à l'eau » ou « Water-gas shift reaction » (voir Réaction III - 1 et Andreev A.A. *et al.* - 1999). Elle permet la formation du monoxyde de carbone à partir de dioxyde de carbone, mais nécessite pour cela la présence d'hydrogène.



Réaction III - 1 - Water-gas shift reaction ou Réaction de gaz à l'eau catalysée par des sulfures métalliques

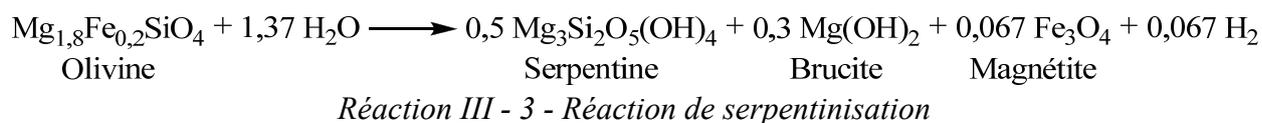
Dans le contexte des simulations citées et dans celui des événements hydrothermaux, Blöchl E. *et al.* - 1992 et Drobner E. *et al.* - 1990 ont suggéré que le dihydrogène puisse être synthétisé lors de la formation de la pyrite, par réduction du sulfure de fer en présence de sulfure d'hydrogène selon la réaction décrite ci-dessous (voir Réaction III - 2). Cette réaction, qui est maintenant bien établie, contribue sans doute à la formation de pyrite dans des environnements anoxiques (*cf.* Rickard D. & Luther III G.W. - 1997 ; Butler I.B. & Rickard D. - 2000).



Réaction III - 2 - Réaction de formation de H₂

Dubant S. - 2004 a pu mettre en évidence dans une expérience de simulation mettant en jeu uniquement du dioxyde de carbone, du sulfure d'hydrogène, du sulfure de fer (ou de nickel), dans l'eau, la formation de monoxyde de carbone mais également celle de dihydrogène. Dans le cas des expériences réalisées avec le sulfure de nickel, l'origine de l'hydrogène n'a pas pu tout à fait être clarifiée par Dubant S. - 2004. En effet, la formation de NiS₂ à partir de NiS avec formation, en parallèle, de dihydrogène demeure incertaine.

Les découvertes de Dubant S. - 2004 confirment donc que la détection de CO parmi les fluides de fumeurs noirs n'est pas provoquée par un mauvais échantillonnage, ou alors dans de très faibles proportions, la quasi-totalité de CO étant formée de façon certaine au sein des cheminées des événements hydrothermaux, constituées de sulfures de métaux (voir par exemple Charlou J.L. *et al.* - 2002). La réaction clé est ainsi la formation de dihydrogène selon le processus décrit par Blöchl E. *et al.* - 1992 et Drobner E. *et al.* - 1990, qui permet l'établissement de l'équilibre réactionnel de gaz à l'eau. De plus, dans le cas des fumeurs noirs associés à des roches mafiques et ultramafiques, le processus de serpentinisation enrichit les fluides émis en dihydrogène notamment (*cf.* Charlou J.L. *et al.* - 2000 ; Charlou J.L. *et al.* - 2002 ; Douville E. *et al.* - 2002 ; Petersen S. *et al.* - 2009).



Dubant S. - 2004 a démontré que le monoxyde de carbone est un intermédiaire réactionnel de la formation de liaisons C-C conduisant en milieu aqueux de CO₂ à des acides carboxyliques et à des thiols par réaction avec H₂S et des sulfures métalliques (Fe, Ni). D'ailleurs, les expériences de simulation réalisées en laboratoire en remplaçant CO₂ par CO ont pu confirmer la meilleure réactivité du monoxyde de carbone par rapport au dioxyde de carbone, puisque sur une période de temps identique et dans des conditions similaires, un composé carboné à chaîne plus longue (1 carbone en plus) a pu être détecté.

En outre, Schoonen M.A.A. *et al.* - 1999 et Tributsch H. *et al.* - 2003 ont mentionné le problème de la réduction de CO₂ par FeS, évoquant d'un point de vue théorique que la réduction de CO₂ par transfert d'électrons fournis par le sulfure métallique est handicapée par une barrière énergétique à franchir qui serait très haute, voire même trop importante pour permettre les réactions de formation de composés organiques. Selon ces mêmes chercheurs si CO₂ est remplacé par CO dans le système FeS/H₂S, les conditions deviennent bien plus favorables. Ces considérations théoriques sont en accord avec les résultats de Dubant S. - 2004, Huber C. & Wächtershäuser G. - 1998, Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2004a.

Par conséquent, prenant en compte toutes les informations fournies sur le dioxyde de carbone et le monoxyde de carbone, nous avons choisi d'utiliser CO comme unique source carbonée pour les expériences de simulation en laboratoire réalisées au cours de cette thèse.

L'utilisation du sulfure d'hydrogène nous a semblé incontournable, puisqu'il est l'un des deux gaz les plus abondants aux abords des fumeurs noirs (avec le dioxyde de carbone). De plus, les cheminées des fumeurs noirs étant constituées de sulfures métalliques avec une grande quantité de sulfure de fer, et le système FeS/H₂S ayant fait ses preuves en chimie prébiotique (*cf.* chapitre I, E.3.2.1, page 42) en tant que système réducteur et de formation de liaisons C-C, l'utilisation de H₂S nous est apparue évidente dans le contexte d'une chimie prébiotique dans les conditions hydrothermales.

Dans cette situation, l'utilisation de sulfures de métaux de transition nous a également semblé inévitable, étant données les nombreuses découvertes sur le système FeS/H₂S en particulier.

Le sulfure de fer est de loin le sulfure métallique le plus abondant au niveau des fumeurs noirs, toutefois il est possible que les autres sulfures métalliques présents en plus faibles quantités se révèlent plus efficaces. Dubant S. - 2004 a ainsi testé le potentiel des sulfures métalliques des cations Mn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ et Pb²⁺. Des mélanges de sulfures métalliques ont également été expérimentés dans le but de vérifier l'existence d'une possible synergie proposée par Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997. Il en résulte que le sulfure de nickel est le catalyseur le plus efficace lors des simulations des conditions hydrothermales. Même si ce dernier est présent en bien plus faible quantité que le fer dans les environnements naturels (Gamo T. - 1995 ; Gamo T. *et al.* - 2001 ; Douville E. *et al.* - 2002 ; Petersen S. *et al.* - 2009), il peut donc contribuer de manière significative à la formation des composés d'intérêt prébiotique.

Suite aux conclusions de Dubant S. - 2004 sur le sujet, du sulfure de nickel, précipité *in situ* à partir de NiCl₂ et Na₂S, a donc été utilisé comme catalyseur au cours des travaux de recherche résumés dans ce manuscrit.

Comme nous l'avons évoqué dans le premier chapitre (*cf.* D.2, page 29), les fumeurs noirs présentent une large de gamme de températures, de pH et de pressions autour de leurs cheminées. Dans ce contexte, Dubant S. - 2004 a cherché à optimiser la formation des thiols et des acides carboxyliques observés tout en restant dans des conditions vraisemblables pour simuler celles censées avoir existé au niveau des sources hydrothermales primitives. Il en résulte une température de 90°C, pendant au moins quatre jours de simulation en autoclave, à un pH acide d'environ 4, et une quantité de sulfure d'hydrogène inférieure ou égale à celle de monoxyde de carbone.

Les températures optimales pour l'évolution de la vie demeurent inconnues. Il est toutefois généralement admis que la chimie prébiotique s'est développée sur la terre primitive à des températures modérées. Il a d'ailleurs été démontré en laboratoire que d'importantes biomolécules ont des temps de demi-vie courts à des températures élevées (voir Bernhardt G. *et al.* - 1984 ; Miller S.L. & Bada J.L. - 1988 ; Bada J. & Wills C. - 2000) et que des réactions importantes pour l'apparition de la vie peuvent avoir lieu à des températures plus faibles, par exemple dans la glace (Schwartz A.W. *et al.* - 1982). La température optimale déduite des expérimentations de Dubant S. - 2004 est raisonnable, afin de favoriser la cinétique des éventuelles réactions prébiotiques et de préserver les composés formés. Elle correspondrait au refroidissement des fluides émis par les fumeurs noirs dans la périphérie des cheminées.

En accord avec les découvertes citées ci-dessus, en particulier celles de Dubant S. - 2004, au cours des travaux de recherche qui sont présentés dans ce manuscrit, des expériences de simulation en laboratoire ont été effectuées impliquant des molécules émises par les fumeurs noirs, H₂S (5bar, 13,2mmol au dessus de la solution, 55mmol/L en solution, voir annexe B page 313) et CO (5bar, 13,2mmol au dessus de la solution, 555µmol/L en solution, voir annexe B) ainsi que NiS (1mmol, 50mmol/L), un des constituants des cheminées, dans 20mL d'eau, à pH

acide, à 90°C, en autoclave. Nous sommes conscients que les concentrations de réactifs utilisés sont supérieures à celles observées au niveau des sources hydrothermales actuelles (jusqu'à 5µmol/L pour CO d'après Charlou J.L. *et al.* - 2002, de 1 à 11mmol/L pour H₂S et jusqu'à 3,6µmol/L pour les espèces contenant Ni selon Douville E. *et al.* - 2002). Ces quantités plus élevées ont principalement été choisies afin d'accélérer les cinétiques des processus chimiques thermodynamiquement favorables dans des conditions hydrothermales réelles. De plus, les synthèses prébiotiques ayant en général des rendements faibles (voir par exemple Miller S.L. - 1959 ; Schwartz A.W. - 2007), en faisant réagir des quantités initiales de CO, H₂S et NiS plus élevées, les concentrations des produits issus de ces réactions sont plus importantes et donc plus facilement détectables. Ainsi les temps de simulation en laboratoire sont raisonnables (4 jours) et le traitement et l'analyse du milieu réactionnel sont plus confortables (détection et identification des produits formés facilitées).

Étant donné que la composition des fluides émis par les fumeurs noirs n'est connue que pour quelques sites contemporains et sachant qu'elle varie selon la localisation des événements hydrothermaux, il est difficile d'estimer les concentrations pour les conditions qui régnaient au fond des océans primitifs. Il a été proposé que l'activité volcanique de la jeune terre ait été plus importante (voir Holland H.D. - 1984 ; Decker R. & Decker B. - 1997 ; Kasting J.F. & Howard M.T. - 2006), par conséquent il existait probablement plus de fumeurs noirs qu'actuellement (remontées magmatiques plus fréquentes). Par ailleurs, le manteau terrestre primitif est supposé avoir été plus réducteur qu'il ne l'est de nos jours. Il est alors proposé que les concentrations en CO aient été considérablement plus importantes lors de l'apparition de la vie (*cf.* Cody G.D. *et al.* - 2000).

B.2 Expériences de simulation en autoclave à partir de CO comme source de carbone

B.2.1 Introduction

Dans un premier temps, nous avons appliqué les conditions opératoires optimisées lors de la précédente thèse et avons particulièrement développé l'aspect analytique permettant d'étudier les phases gazeuses et liquides résultant des simulations.

Dans une expérience typique en autoclave, dans 20mL d'eau ultra-pure, 1mmol de NiS est précipité *in situ* à partir de NiCl₂, 6 H₂O et Na₂S, 9 H₂O. Le pH initial est ajusté entre 2 et 7 à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 0,6mol/L en prenant en compte l'éventuel excès de Na₂S et la libération de H₂S au moment de la précipitation du catalyseur. L'expérience se fait dans un manchon en verre de 100mL, placé dans le corps métallique de l'autoclave, sous pression de 5 bars de monoxyde de carbone et 5 bars de sulfure de dihydrogène, à 90°C et sous agitation magnétique pendant au moins 4 jours (voir chapitre II, B.4, page 64 et C.2, page 70).

A la fin de l'expérience de simulation, une aliquote de l'espace de tête du milieu réactionnel final est recueillie dans une ampoule à gaz, puis une partie du volume disponible dans l'ampoule est prélevée à l'aide d'une seringue ou concentrée sur une fibre SPME (*cf.* Mestres M. *et al.* - 1998 ; Mestres M. *et al.* - 1999a ; Mestres M. *et al.* - 1999b) pour être analysée en CG/SM (voir chapitre II Démarches expérimentales, D.1.1, page 80). Une alternative a également été développée permettant de traiter une partie du milieu réactionnel liquide refroidi par dérivation des thiols avec de la N-éthylmaleimide (NEM) pour former des dérivés NEM-S-R (voir Salgado-Petinal C. *et al.* - 2005). Ces derniers sont concentrés et prélevés par SPME et analysés par CG/SM (voir chapitre II, D.1.2, page 82). Enfin, nous avons mis en place un protocole analytique de concentration puis de dérivation des éventuels acides carboxyliques présents dans le milieu réactionnel final, sous la forme d'esters octyliques. Ainsi, à la fin de l'expérience, le milieu réactionnel est filtré et partagé pour les différents traitements du liquide (dérivation des thiols avec la NEM et dérivation des acides carboxyliques). La moitié du filtrat est alors basifiée, évaporée puis traitée avec de l'octanol/HCl (1,5mol/). Ensuite, les esters sont récupérés par séparation sur colonne de silice, concentrés et analysés en CPG et CG/SM.

Lors des travaux antérieurs effectués au laboratoire, la phase gazeuse était prélevée et analysée directement par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ou à un catharomètre ; alors que la phase aqueuse était analysée après simple filtration par chromatographie liquide haute performance. Aucun traitement n'était réalisé, ne permettant ainsi pas de concentrer les produits formés.

B.2.2 Molécules gazeuses ou volatiles observées lors d'expériences de simulation typiques

B.2.2.1 Résultats bruts

Les analyses des composés gazeux résultant de plusieurs répétitions d'une expérience de simulation typique ont révélé, en plus de CO, H₂S et H₂O, de petites molécules telles que CO₂, COS, CS₂ et SO₂. De plus, la présence du méthane-thiol, de l'éthane-thiol et du 2-propane-thiol a été observée de façon reproductible. En outre, des composés correspondant aux radicaux méthyle et éthyle ont également pu être observés sous la forme de sulfures et polysulfures, notamment CH₃SCH₃, CH₃S₂CH₃, CH₃S₃CH₃, CH₃SCH₂CH₃ *etc.* Selon le type de colonne chromatographique utilisé nous avons également pu voir les petits acides carboxyliques HCOOH et CH₃COOH.

Comme nous l'avons mentionné dans la partie Démarches expérimentales (voir chapitre II, E, page 108), les composés cités ont été identifiés grâce à l'interprétation de leur spectre de masse, mais également par comparaison de leur spectre de masse et de leur comportement chromatographique (temps de rétention et co-injection) avec ceux des produits de référence correspondants (commerciaux ou de synthèse).

B.2.2.2 Expériences de simulation tests : blanc sans sulfure métallique et blanc sans source de carbone

Il est important de mentionner que plusieurs manipulations tests, c'est-à-dire plusieurs blancs, ont été réalisés, avec tous les réactifs sauf le catalyseur d'une part (voir Dubant S. - 2004), et sans source carbonée d'autre part.

Dans le premier cas (*cf.* Dubant S. - 2004), seules quelques traces de méthane-thiol, de COS et de CS₂ ont été observées, prouvant ainsi que les produits réactionnels obtenus et cités ci-dessus ne peuvent pas être synthétisés par un processus catalysé par les constituants de l'autoclave utilisé. Les traces de méthane-thiol proviennent probablement de la bouteille de H₂S utilisée.

De plus, l'expérience de simulation typique en autoclave a été transposée à des essais de vérification en réacteurs en verre (flacon Sovirel de 50mL et réacteur en verre de 100mL) en présence de sulfure métallique, dans les mêmes conditions mais en adaptant les quantités de CO et H₂S à des expériences nécessitant l'utilisation de gaz à pression atmosphérique. Les principaux composés ont été observés, toutefois dans des proportions moins importantes dues à des quantités de réactifs gazeux plus faibles.

Lors de cette thèse nous avons étudié de façon détaillée les éventuelles pollutions, présentes dans le milieu réactionnel initial malgré tous nos efforts, leurs sources et leurs éventuelles implications dans les processus observés lors d'une manipulation typique. Ainsi, dans le deuxième cas de blanc, une simulation en autoclave a été réalisée dans 20mL d'eau deutériée, sans source de carbone, en présence de NiS (1mmol) et de H₂S (5bar), à pH acide ($n_{\text{HCl}} = 7,75 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$) et à 90°C pendant quatre jours. Le but de cet essai est de vérifier que d'éventuelles pollutions carbonées, présentes dans le milieu réactionnel de départ et pouvant provenir de la verrerie ou des réactifs utilisés, n'interviennent pas dans la synthèse des composés observés et cités précédemment. Ainsi, les molécules synthétisées, dans le cas où des réactions se dérouleraient dans les conditions de ce blanc à partir de D₂O et d'impuretés, seraient différenciées des pollutions elles-mêmes. Par conséquent, l'observation des composés de la phase gazeuse du blanc peut nous informer sur les pollutions existantes, dans des conditions de manipulations rigoureuses et soignées, ainsi que sur les conséquences de leur présence dans les conditions d'une simulation typique.

Les composés gazeux de l'espace de tête du blanc sont peu nombreux. Seuls H₂S, H₂S₂, une petite quantité de CH₃SH, et de CS₂ sont visibles sur le chromatogramme de la phase gazeuse (voir Figure III - 1).

La présence de CS₂ traduit celle d'une source carbonée, CO ou CO₂, réagissant avec H₂S. Quelques traces de CO restaient peut-être de l'expérience de simulation précédente. Il est également supposé qu'un des réactifs utilisés, par exemple Na₂S, 9H₂O, se soit un peu carbonaté au cours des utilisations dans le laboratoire.

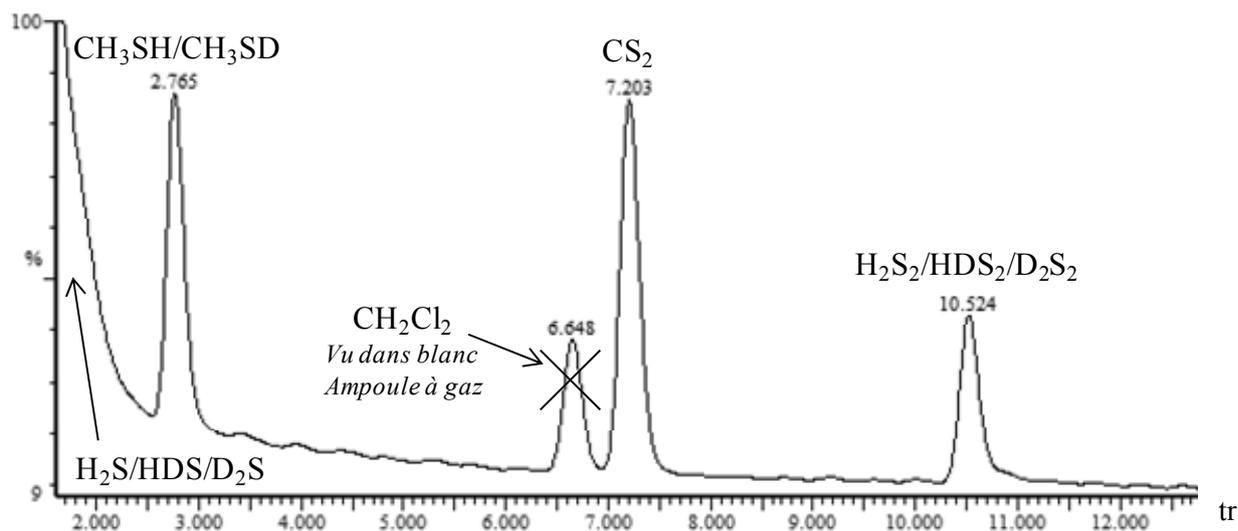


Figure III - 1 - Chromatogramme en phase gazeuse des gaz de tête issus du blanc réalisé sans source de carbone (20mL D_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , $7,8 \cdot 10^{-5}$ mol HCl, 90°C , 4 jours) (Colonne DB1-30m, 25°C (10min); 25 - 250°C ($8^\circ\text{C}/\text{min}$); 250°C (5min)) (Extrait du TIC, logiciel Masslab)

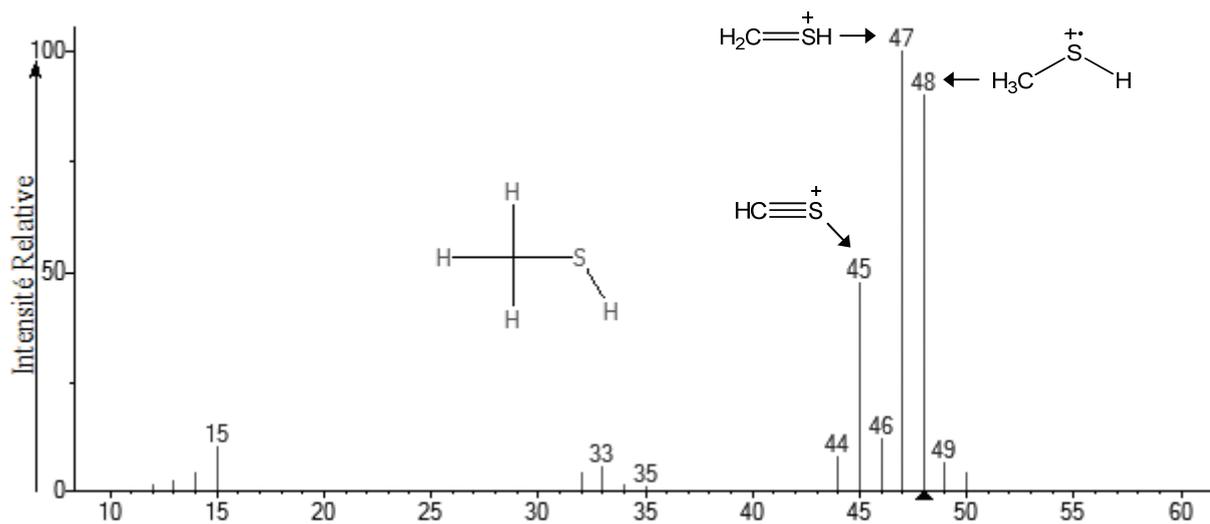


Figure III - 2 - Spectre de masse de référence de CH_3SH (bibliothèque NIST, IE, 70eV)

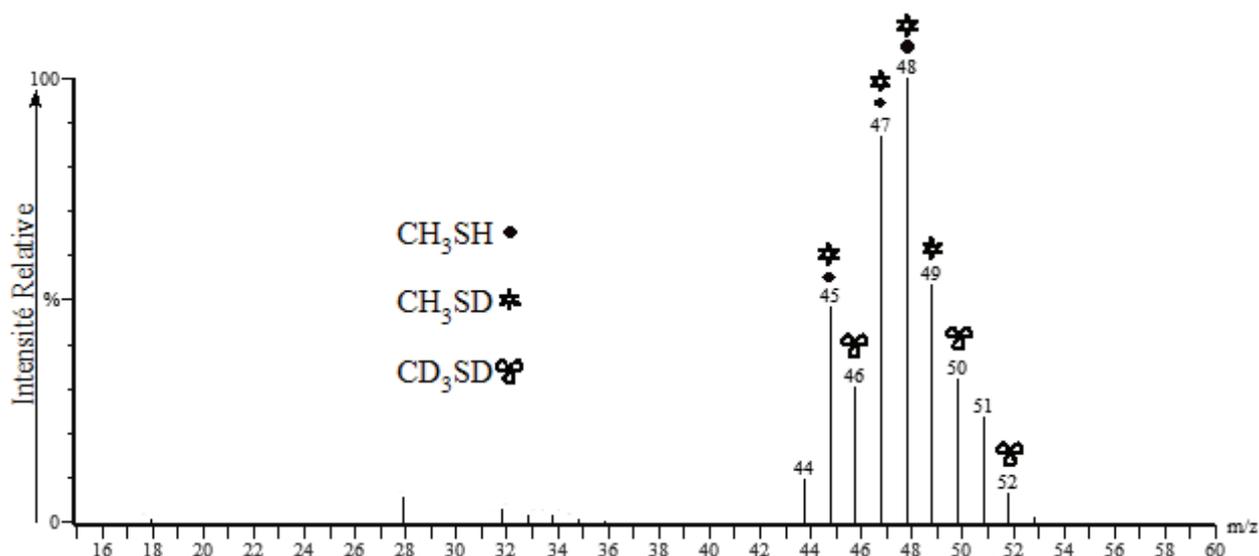


Figure III - 3 - Spectre de masse de CH_3SH et des composés deutériés correspondants observés dans la phase gazeuse du blanc réalisé sans source de carbone (20mL D_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , $7,8 \cdot 10^{-5}$ mol HCl, 90°C , 4 jours) (IE, 70eV, logiciel Masslab)

La Figure III - 3 représente le spectre de masse du méthanethiol observé lors du blanc. Pour ne pas le surcharger, nous n'avons annoté que les fragments caractéristiques de CH_3SH , CH_3SD et CD_3SD . D'après la Figure III - 2 et la Figure III - 3, le composé majeur apparaît être le méthanethiol mono-deutéié CH_3SD .

Comme nous l'avons mentionné précédemment, du CH_3SH , observable sur la Figure III - 3, provient fort probablement de la bouteille de H_2S utilisée.

L'échange $\text{H} \leftrightarrow \text{D}$ a été observé au niveau de la molécule H_2S . Le sulfure d'hydrogène étant un acide, ses hydrogènes s'échangent de façon logique facilement dans D_2O . L'échange $\text{H} \leftrightarrow \text{D}$ au niveau de l'hydrogène du thiol est envisageable (H échangeable). Nous avons prouvé lors d'une expérience dans D_2O en présence d'acides carboxyliques (voir annexe A page 310) qu'il n'y a pas ou très peu d'échange hydrogène-deutérium, dans les conditions d'une expérience de simulation typique, sur les groupements alkyles R des acides carboxyliques R-COOH . Ainsi, nous rejetons la possibilité d'échanges $\text{H} \leftrightarrow \text{D}$ sur le méthyle de CH_3SH . Cependant lors de l'essai test dans D_2O , bien qu'inévitable, l'échange $\text{H} \leftrightarrow \text{D}$ sur des hydrogènes acides n'avait pas pu être observé (ni exclu), étant donné que les acides carboxyliques étaient estérifiés et perdaient donc cet atome d'hydrogène ou de deutérium.

D'autre part, la présence d'une source d'hydrogène, H_2S , dans un milieu deutérié ainsi que les traces d'une ou plusieurs sources carbonées ont probablement entraîné la synthèse en faibles quantités d'une combinaison de composés plus ou moins deutériés, dont le méthanethiol mono-deutéié principalement. Nous considérons ainsi la présence majeure de CH_3SD , ainsi que l'existence minoritaire des autres composés deutériés jusqu'à CD_3SD observable sur la Figure III - 3. De plus, nous n'excluons pas l'éventualité qu'il reste des petites quantités de méthanethiol hydrogène et deutérié des essais précédents.

Par conséquent, le méthanethiol observé a donc pour origine une grande partie d'impureté hydrogénée, dont une proportion a pu échanger l'atome d'hydrogène de la fonction thiol contre un atome de deutérium. Quelques traces de méthanethiol ont également pu être synthétisées sous

la forme d'une combinaison deutériée, à partir d'une ou plusieurs pollutions sources de carbone. Enfin, on pourrait envisager que les composés deutériés observés proviennent peut-être de restes provenant d'expériences de simulation précédentes.

Enfin, l'observation de H_2S_2 , DHS_2 et D_2S_2 , simplement obtenus par oxydation de H_2S et de ses équivalents deutériés, serait expliquée par la réaction de réduction du NiS en Ni^0 (voir Réaction III - 4). La formation de Ni^0 , dans les conditions opératoires utilisées, avait été démontrée par Dubant S. - 2004 et nous discuterons sa formation dans la partie mécanistique de ce manuscrit (voir C.4.3.1, page 176). Il est également possible qu'une infime partie de H_2S_2 (et ses équivalents deutériés) soit la conséquence de l'éventuelle présence de traces de dioxygène rencontrées lors du prélèvement de la phase gazeuse (dans la tuyauterie et/ou l'ampoule et/ou la seringue). H_2S_2 n'a d'ailleurs été détecté parmi les gaz que lors de ce blanc, étant donné qu'il s'agit d'une espèce très réactive certainement impliquée dans un grand nombre de réactions d'oxydoréduction, comme par exemple l'oxydation des thiols RSH en RSSR ou l'oxydation de CO en COS (Kamyshny A. *et al.* - 2003).



Réaction III - 4 - Réduction du catalyseur et oxydation de H_2S

En conclusion, grâce aux efforts déployés afin de ne pas introduire d'impuretés lors des expériences de simulation en laboratoire, très peu de pollutions sont observées lors de l'analyse de la phase gazeuse du blanc effectué. Les quelques traces de composés présents, une probable source carbonée et CH_3SH , n'interviennent que très peu dans le processus de synthèse dans ces conditions. En effet, les composés gazeux caractéristiques formés lors d'une expérience de simulation typique (CH_3SH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHSH}$, CH_3SCH_3 , $\text{CH}_3\text{S}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_3\text{S}_3\text{CH}_3$, $\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_3$ *etc.*) se sont révélés inexistantes ou à l'état de traces lors du blanc réalisé.

B.2.2.3 Expériences de simulation réalisées en milieu deutérié

Comme nous l'avons évoqué dans le chapitre II (voir C.4.1 page 77), une série d'expériences en autoclave a été effectuée en milieu deutérié, dans les conditions d'une expérience typique, en remplaçant simplement les 20mL de H_2O par 20mL de D_2O , dans le but de vérifier que les composés observés sont bien formés *in situ*. Ainsi, les produits synthétisés lors de l'expérience sont marqués, car ils portent le plus souvent plusieurs deutériums, et sont alors distinguables des contaminations extérieures totalement hydrogénées. Rappelons que nous avons validé cette nouvelle approche en vérifiant auparavant qu'aucun échange hydrogène-deutérium significatif n'est possible dans les conditions d'une simulation typique (voir annexe A page 310).

Les thiols de C_1 à C_3 , ainsi que les sulfures et polysulfures en C_1 et C_2 ont été observés sous leurs formes polydeutériées dans le mélange réactionnel, ce qui confirme de façon indéniable leur formation *in situ* et qu'il ne s'agit pas de contaminations. Les données analytiques concernant les composés détectés lors des essais réalisés en milieu deutérié et en milieu non

deutérié sont présentées ci-après (voir Figure III - 4, Figure III - 5 et Figure III - 6, pages 127, 128 et 129).

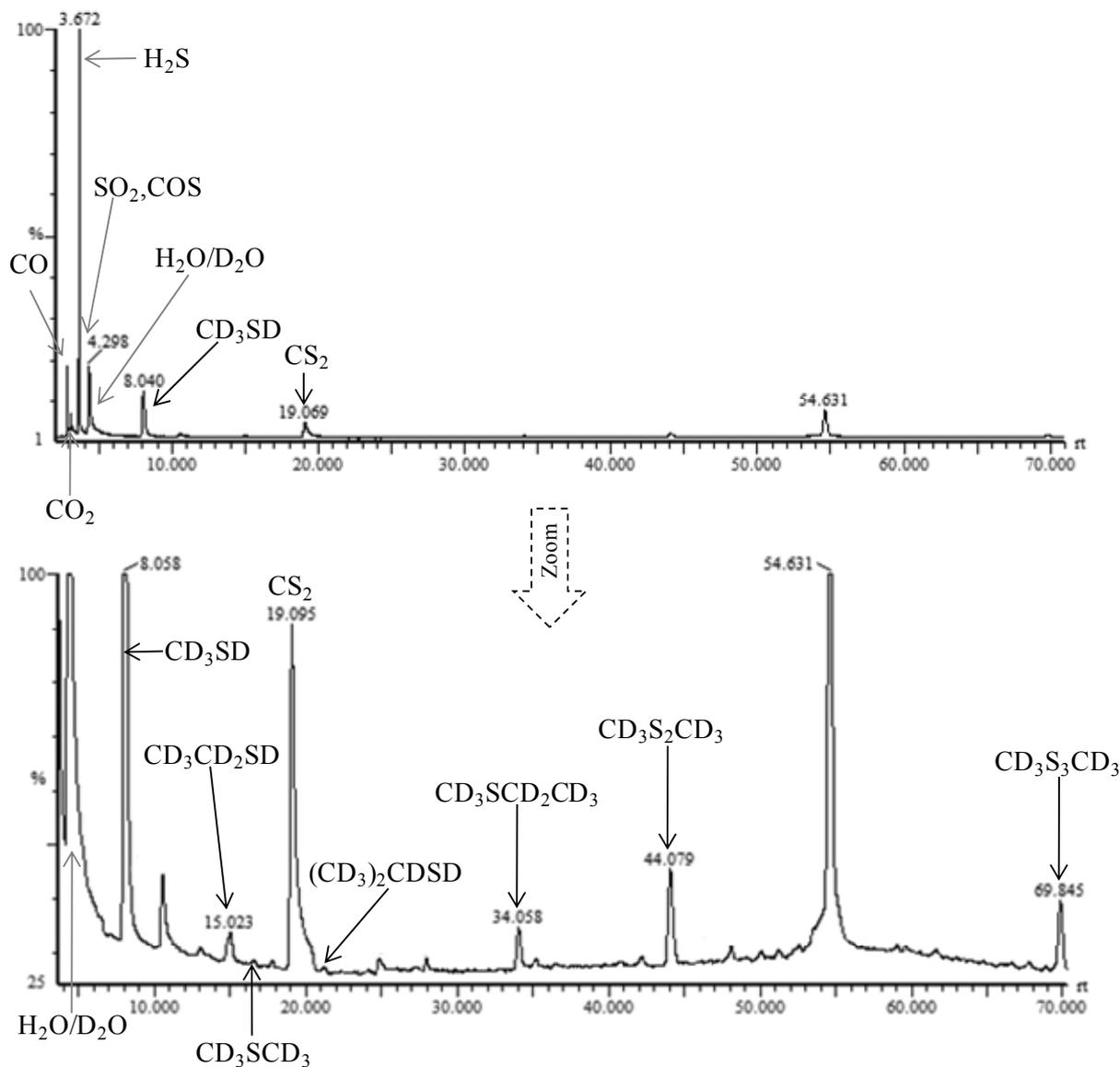


Figure III - 4 - Exemple de chromatogramme en phase gazeuse des gaz de tête issus d'une expérience de simulation réalisée en milieu deutérié (20mL D₂O, 1mmol NiS, 5bar H₂S, 5bar CO, 2.10⁻⁴ mol HCl, 90°C, 15 jours) (Fibre SPME CAR/PDMS, Colonne DB1-50m, 25°C (10min); 25-250°C (2°C/min); 250°C (10min)) (Extrait du TIC, logiciel Masslab)

Nous précisons que le grand pic à environ 55 minutes correspond à une pollution due à la phase de la fibre SPME utilisée. Malgré des cycles de chauffage de la fibre, puis des analyses à blanc, une série de produits est en effet retrouvée systématiquement dans les chromatogrammes.

Nous remarquons que les composés deutériés, thiols et sulfures, sont sous la forme d'une combinaison de composés mono-deutériés à totalement deutériés (voir Figure III - 5, page 128 et Figure III - 6, page 129). Étant donné qu'aucun échange hydrogène-deutérium significatif n'a été observé lors de la manipulation de validation de la méthode de marquage des molécules formées

in situ, tous les composés portant un ou plusieurs atomes de deutérium sont considérés comme des produits de synthèse dans les conditions de nos expériences. La présence de composés n'étant pas totalement deutériés est expliquée par l'existence de sources d'hydrogène, H_2S et HCl , dans le milieu réactionnel aux cotés de la source de deutérium D_2O . Les thiols et sulfures hydrogénés sont d'ailleurs fort probablement également formés lors du processus étudié, sachant que les blancs n'ont révélé que des petites quantités de CH_3SH .

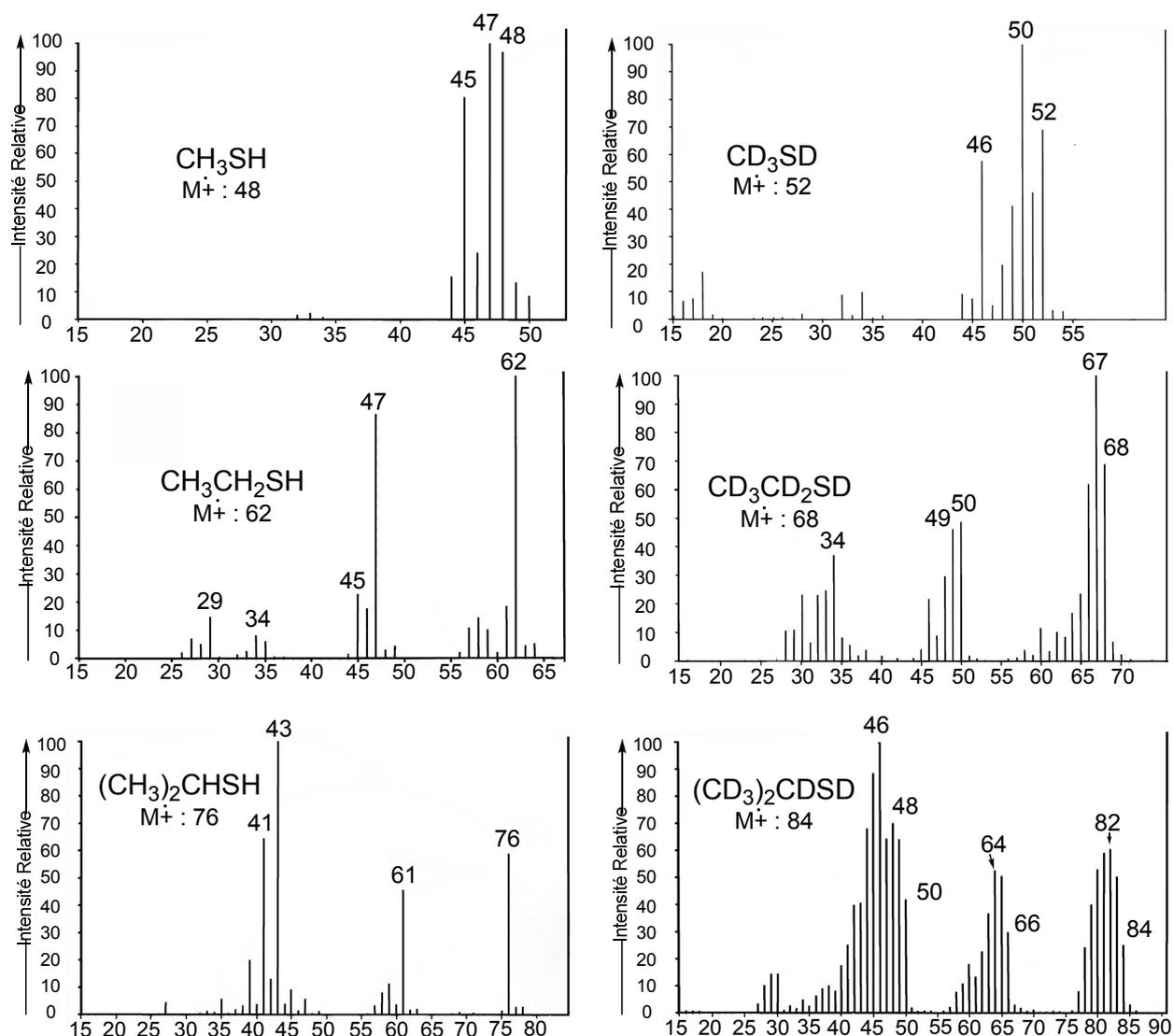


Figure III - 5 - Spectres de masse des thiols observés, sous leurs formes deutériées lors des expériences de simulation dans D_2O à droite, ainsi que sous leur forme hydrogénée lors des manipulations réalisées dans H_2O à gauche (IE, 70eV, logiciel Masslab)

Par ailleurs, nous pouvons voir que plus les molécules de thiols et de sulfures ont une masse moléculaire élevée, plus la possibilité de former un grand nombre d'isotopologues qui diffèrent par le nombre d'atomes de deutérium est grande (comme indiqué par les spectres de masses dans la Figure III - 5). Comme ces différents isotopologues ont des temps de rétention très légèrement différents en chromatographie gazeuse, leur mélange apparaît sur le chromatogramme en phase gazeuse sous la forme d'un pic large.

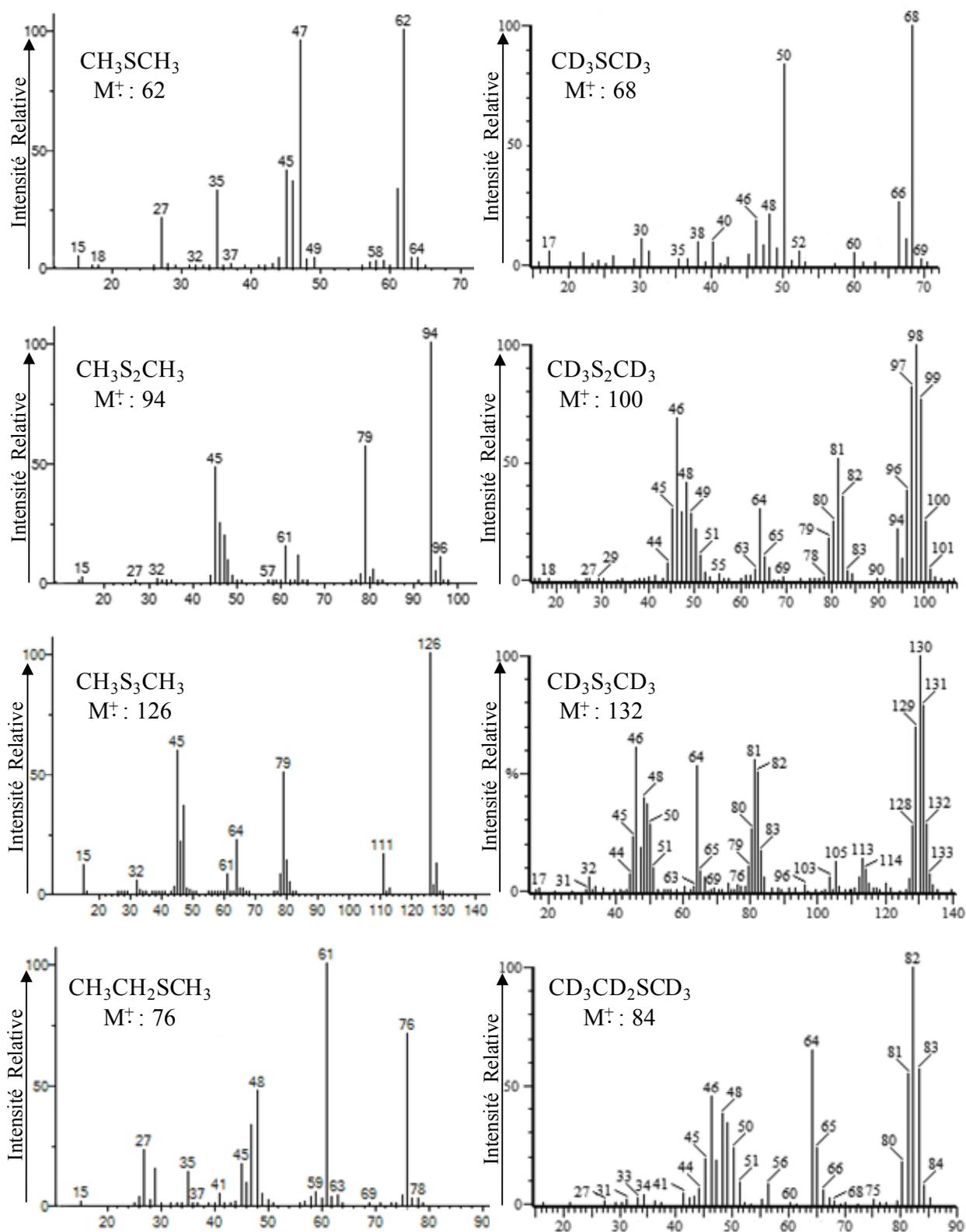


Figure III - 6 - Spectres de masse des principaux sulfures observés, sous leurs formes deutériées lors des essais dans D_2O à droite, ainsi que sous leur forme hydrogénée lors des manipulations effectuées dans H_2O à gauche (IE, 70eV, logiciel Masslab)

Les thiols formés lors des expériences dans D_2O ont également été analysés après dérivation sous les formes NEM-S-R et NEM-SS-R (voir Figure III - 7), par réaction du milieu réactionnel final liquide avec de la N-éthylmaleimide (NEM). Cette méthode analytique a permis de confirmer une nouvelle fois la formation des thiols cités précédemment (voir Figure III - 8), dans les conditions d'une expérience de simulation typique.

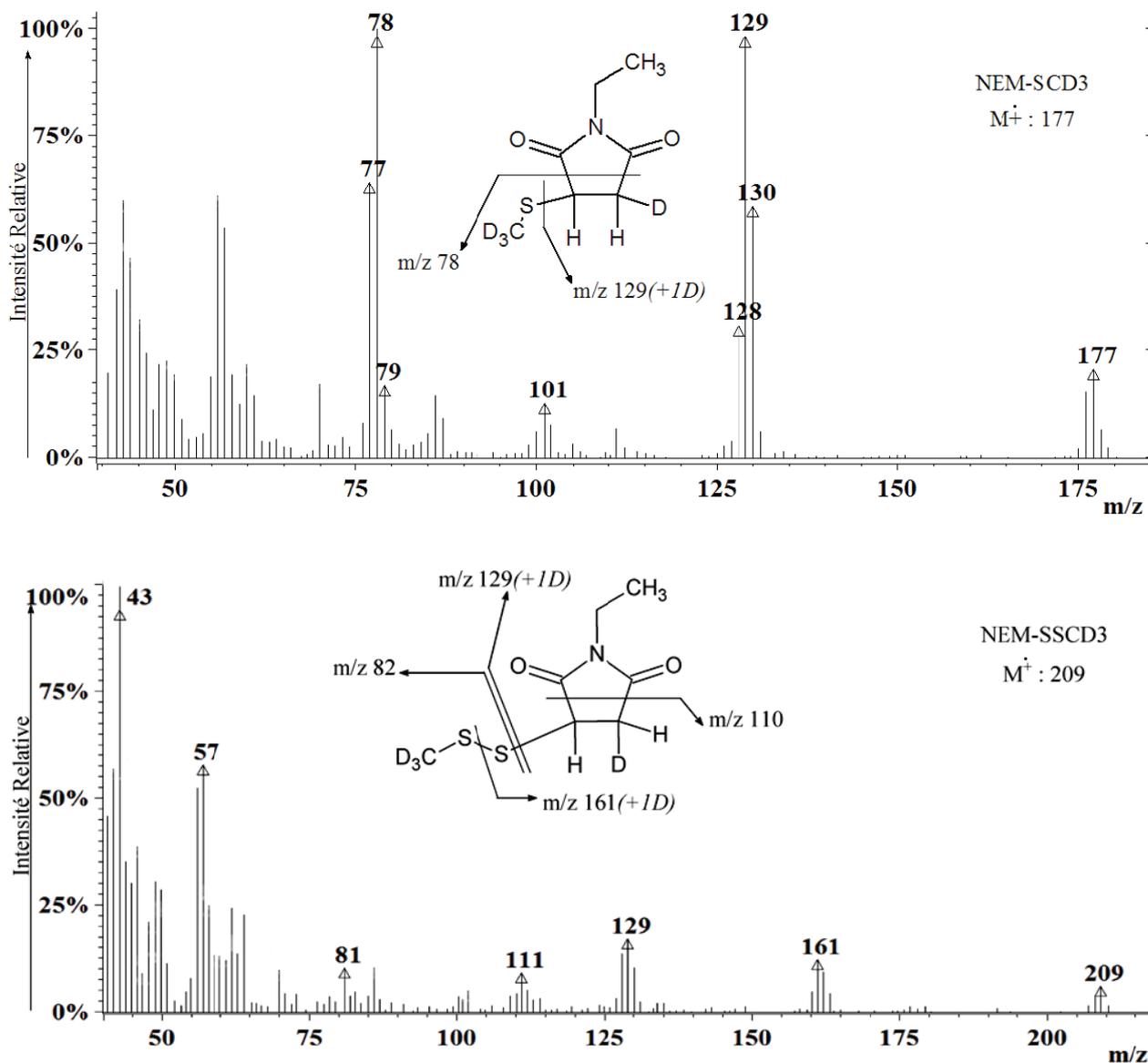


Figure III - 7 - Exemple de spectres de masse observés lors d'une expérience de simulation en milieu deutérié, après dérivation des thiols avec la NEM et extraction par la fibre SPME (PDMS/DVB) Cas de NEM-S-CD₃ et NEM-SS-CD₃ (20mL D₂O, 1mmol NiS, 5bar H₂S, 5bar CO, 2,2.10⁻⁴mol HCl, 90°C, 5 jours) (IE, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

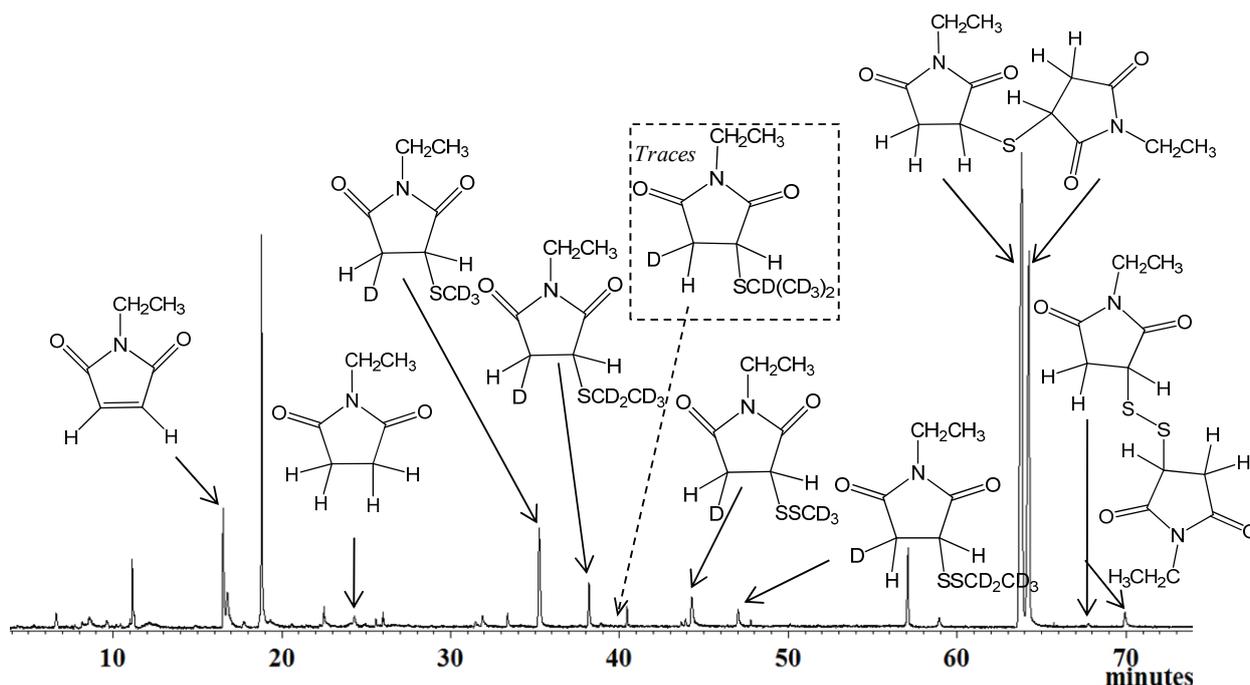


Figure III - 8 - Chromatogramme en phase gazeuse de la phase liquide d'une expérience de simulation en milieu deutérié, après dérivation des thiols avec la NEM (20mL D₂O, 1mmol NiS, 5bar H₂S, 5bar CO, 2,2.10⁻⁴mol HCl, 90°C, 5 jours) (Fibre SPME PDMS/DVB, Colonne HP5, 25°C (5min); 25-300°C (3°C/min); 300°C (15min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN)

La dérivation des thiols par réaction avec de la N-éthylmaleimide permet de stabiliser les thiols synthétisés, de les transformer en produits moins volatils que l'on peut donc concentrer et analyser sur une colonne chromatographique d'usage général. Cette méthode a donc un avantage pratique et nous pouvons effectivement observer les thiols vus lors de l'analyse de la phase gazeuse par la technique de l'analyse des gaz de tête. Cette technique aurait en principe également l'avantage de faciliter la mise en évidence de thiols plus longs que ceux détectés dans l'analyse des gaz de tête, ces-derniers étant enrichis en thiols plus volatils donc plus petits. L'analyse des gaz de tête donne ainsi une vision biaisée de la distribution réelle des thiols formés en défavorisant justement les thiols les plus longs qui nous intéressent plus particulièrement dans le contexte de la chimie prébiotique.

Toutefois, malgré une extraction et une concentration sur fibre SPME, cette nouvelle voie analytique n'a pas pu permettre de détecter de thiols possédant au moins un carbone de plus, se heurtant probablement à l'absence de thiols plus longs dans les conditions de simulation adoptées ou à la présence de composés dans des quantités inférieures aux limites de détection de l'appareil de spectrométrie de masse utilisé.

Il faut noter que la méthode d'analyse des produits gazeux est complémentaire de celle de dérivation des thiols, étant donné que les sulfures, polysulfures et autres petits composés ne sont pas significativement visibles dans les conditions du nouveau traitement analytique puisqu'ils ne peuvent conduire à la formation de dérivés par réaction avec le N-éthylmaleimide. Il est par conséquent intéressant d'analyser la phase gazeuse dans un premier temps, puis de refroidir le

milieu réactionnel avant d'ouvrir l'autoclave, afin de le traiter pour dériver les éventuels thiols plus longs et donc moins volatils, qui seront idéalement synthétisés dans des conditions d'expériences de simulation en laboratoire favorisant la formation de liaisons carbone-carbone.

Nous avons malheureusement rencontré des problèmes techniques lors de cette thèse. L'appareil consacré à l'analyse des composés gazeux, sur lequel était installée la colonne chromatographique spécifique aux produits de très faibles poids moléculaires, est tombé un grand nombre de fois en panne pour finir par trépasser en milieu de parcours de ce doctorat. L'analyse des composés gazeux nécessite désormais d'adapter l'appareil de CG/SM d'usage général et commun de façons ponctuelles, ce qui est assez handicapant pour des travaux de recherches au sein de l'équipe de chercheurs du Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire. La dérivation des thiols dans le milieu réactionnel apparaît ainsi une solution pratique mais restreinte aux thiols.

B.2.2.4 Discussion des résultats

Origine de CO₂, CS₂ et COS. Intérêt en chimie prébiotique

CO₂ est tout simplement formé grâce à l'équilibre de la Réaction de gaz à l'eau illustrée ci-dessous.



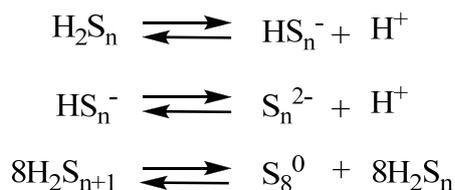
Réaction III - 5 - Water-gas shift reaction ou Réaction de gaz à l'eau catalysée par des sulfures métalliques

La présence des deux sulfures de carbone COS et CS₂ est probablement expliquée par plusieurs équilibres dans les conditions d'une expérience de simulation typique (voir ci-dessous). La formation de l'oxysulfure de carbone est notamment réalisée lors de processus industriels exploitant l'équivalent soufré de la Réaction de gaz à l'eau décrit dans la Réaction III - 6.

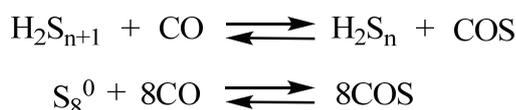


Réaction III - 6 - Équivalent soufré de la « Water- gas shift reaction » (cf. Faraji F. et al. - 1996)

COS pourrait également être issu de l'oxydation de CO par les polysulfures inorganiques ou S₈ (voir Réaction III - 8 et Kamyshny A. et al. - 2003) formés dans le mélange réactionnel au fur et à mesure de la transformation de CO en composés organiques. A cet égard, ces polysulfures pourraient être formés lors de la réduction du sulfure de nickel en Ni⁰ comme évoqué dans la Réaction III - 4 (page 126) ou selon les équilibres suivants.



Réaction III - 7 - Équilibres possibles de formation de polysulfures inorganiques
(cf. Kamyshny A. et al. - 2003)



Réaction III - 8 - Équilibres d'oxydoréduction formant COS à partir de CO



Réaction III - 9 - Équilibre proposé pour la formation de CS₂ par Faraji F. et al. - 1996

Ainsi, dans notre situation, COS et CS₂ sont considérés comme produits secondaires dans le processus de formation de liaisons carbone-carbone. Par conséquent, lors des travaux de recherche effectués au cours de ce doctorat, ces deux composés n'ont pas suscité un grand intérêt.

Toutefois, le potentiel de COS en chimie prébiotique est certain (cf. Leman L. et al. - 2004b ; Leman L.J. et al. - 2006a). En effet, COS est un agent de condensation non enzymatique des acides aminés en peptides en milieu aqueux dans des conditions relativement douces. Nous proposons donc par nos travaux de recherche une voie de formation du COS dans des conditions hydrothermales. Remarquons que COS est présent dans les émanations volcaniques actuelles (≈0,09 mol%) (voir Rauchfuss H. - 2008c). Étant supposé que l'activité volcanique sur la jeune Terre était plus importante, COS était alors plus disponible pour la synthèse de polypeptides notamment.

Origine de SO₂

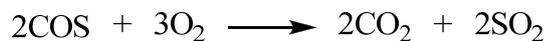
A plusieurs reprises, nous avons observé du dioxyde de soufre parmi les composés présents dans la phase gazeuse des expériences de simulation en milieu deutérié ou non.

Dans l'industrie, le dioxyde de soufre sert surtout pour la production d'acide sulfurique et est obtenu notamment par combustion de soufre ou de pyrite (voir Réaction III - 10).

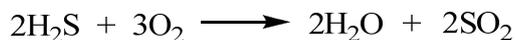


Réaction III - 10 - Principales réactions de production industrielle de SO₂

D'autres voies connues sont proposées, comme la dissociation de l'oxysulfure de carbone à haute température ou la combustion de H₂S.



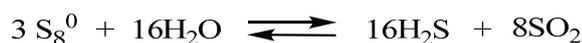
Réaction III - 11 - Oxydation de COS à haute température



Réaction III - 12 - Combustion de H₂S

Toutefois, ces réactions nécessitent des températures élevées et du dioxygène. Elles ne sont donc pas envisageables dans les conditions anaérobies que nous appliquons.

Nous proposons la formation de soufre S₈⁰ dans les conditions d'une simulation typique, suivie de la formation de dioxyde de soufre selon la Réaction III - 13.



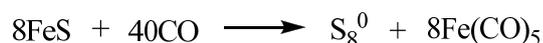
Réaction III - 13 - Équilibre de formation de SO₂ (Montegrossi G. et al. - 2008)

Dans nos conditions réactionnelles, l'existence de S₈⁰ ou de polysulfures (inorganiques ou organiques), dans lesquels une partie au moins des atomes de soufre est au degré d'oxydation 0, est mise en évidence, notamment, par la présence de trisulfures (par exemple CH₃S₃CH₃). Ces derniers sont tout simplement les produits d'une réaction d'oxydoréduction entre un thiol et le soufre S₈⁰ (voir Réaction III - 14) ou des polysulfures inorganiques. De plus S₈⁰ est systématiquement présent et identifié dans la phase liquide issue des expériences de simulation (en milieu deutérié ou non) que nous avons effectuées (voir Figure III - 23, page 156). On a d'ailleurs également pu mettre en évidence S₆⁰ et S₇⁰ par analyses en CG/SM.



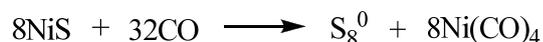
Réaction III - 14 - Exemple d'oxydation d'un thiol (cf. par exemple Cody G.D. - 2004)

La formation de S₈⁰ et de polysulfures inorganiques dans les conditions hydrothermales pourrait être expliquée entre autres, selon Cody G.D. et al. - 2000 et Cody G.D. - 2004, par la réaction d'oxydoréduction entre FeS et CO conduisant à la formation de complexes fer-carbonyle selon la Réaction III - 15.



Réaction III - 15 - Formation de S₈⁰ selon G. Cody (FeS, HCOOH, nonanethiol, 250°C)

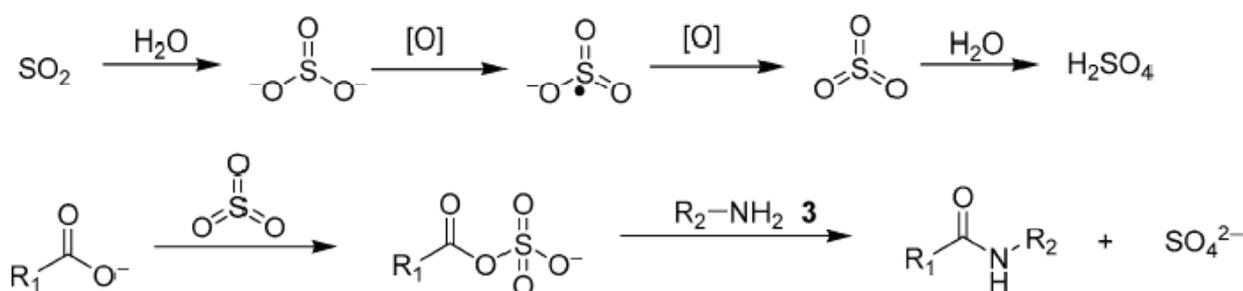
Cette voie de synthèse de S_8^0 est tout à fait transposable aux conditions que nous avons adoptées au cours de cette thèse, conduisant à l'équation ci-dessous.



Réaction III - 16 - Formation de S_8^0 dans nos conditions (NiS, CO, 90°C)

Par conséquent, la présence de soufre et de dioxyde de soufre est indéniable dans nos conditions et des modes possibles de formation ont été discutés.

L'observation de SO_2 peut sembler sans grand intérêt dans le contexte de nos travaux de recherche, mais il faut savoir que cette molécule est l'un des gaz dominants dans les émanations volcaniques actuelles ($\approx 47\%$) (voir Rauchfuss H. - 2008c). En outre, il a été démontré par Chen F. & Yang D. - 2007 que, tout comme COS, SO_2 peut se comporter comme un agent de condensation des acides aminés. En effet, dans des conditions légèrement basiques, SO_2 dissout dans l'eau se trouve sous la forme ionique SO_3^{2-} . L'oxydation de ces ions en sulfates SO_4^{2-} passe par la formation intermédiaire de SO_3 qui peut réagir avec la fonction carboxylate d'un acide aminé conduisant à un anhydride mixte permettant la condensation avec un autre acide aminé et la formation d'un peptide (voir Réaction III - 17). De la même façon des polypeptides peuvent être synthétisés successivement.



Réaction III - 17 - Schéma résumant l'implication de SO_2 dans la condensation des acides aminés en peptides (Chen F. & Yang D. - 2007)

Synthèse des thiols

La formation du méthanthiol a tout d'abord été fréquemment observée lors de processus industriels dont le but est de produire de l'oxysulfure de carbone et du dihydrogène à partir de sulfure d'hydrogène et de monoxyde de carbone selon l'équivalent soufré de la réaction de Gaz à l'eau (voir Réaction III - 6, page 132 et cf. Faraji F. *et al.* - 1996. La synthèse de CH_3SH ne constitue alors qu'une réaction secondaire que l'on cherche plutôt à éviter. Des chercheurs ont toutefois étudié la formation de CH_3SH dans ces conditions industrielles et donc non prébiotiquement vraisemblables et se sont intéressés à l'efficacité de divers catalyseurs, notamment à celle des sulfures métalliques (voir Barrault J. *et al.* - 1987).

Seuls quelques chercheurs ont évoqué la formation du méthanthiol dans des conditions prébiotiques (cf. notamment Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 ; Dubant S. - 2004).

Nos résultats sur la formation de thiols de C₁ à C₃ peuvent être comparés à ceux de Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996, qui démontrèrent, sans proposer de détails mécanistiques, que CO₂ pourrait être la source de carbone au sein d'un processus prébiotique, en reportant la formation de thiols de un à cinq carbones, de H₂, de CS₂ et de H₃C-SS-CH₃ à partir de CO₂ en présence de sulfure de fer et de sulfure d'hydrogène, dans des conditions anaérobies et à des températures inférieures à 100°C. Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 évoquent par ailleurs que la synthèse de thiols ne serait pas confinée à un seul scénario, puisqu'ils démontrèrent l'efficacité des systèmes FeS/HCl/CO₂ et Fe⁰/H₂S/CO₂. Nos découvertes, dans des conditions un peu différentes, confirment cette hypothèse, puisque nous proposons la formation de thiols en présence de NiS, H₂S, CO et HCl.

Le mode de formation des thiols de C₁ à C₃ sera discuté dans la suite de ce chapitre.

B.2.3 Acides carboxyliques observés dans la phase liquide d'expériences de simulation typiques

B.2.3.1 Résultats bruts

Les phases liquides issues des expériences de simulation typiques, après filtration pour éliminer le sulfure de nickel, basification pour transformer les acides carboxyliques en carboxylates non volatils et évaporation de la phase aqueuse, ont été traitées avec un mélange octanol/HCl (1,5mol/L) dans le but de dériver les éventuels acides carboxyliques présents. Comme nous l'avons mentionné dans la partie Démarches expérimentales (voir chapitre II, D.1.3, page 88), l'estérification des acides, à haute volatilité et en faibles quantités, en esters octyliques permet de les concentrer sans perte et de les analyser sur une colonne chromatographique d'usage général (DB-5) en CG et CG/SM.

Nous avons observé sans ambiguïté et à plusieurs reprises les acides formique, acétique, propionique, iso-butyrique et n-butyrique, sous leur forme estérifiée, par interprétation des spectres de masse correspondants et par comparaison des données analytiques obtenues (spectres de masse et comportement chromatographique) avec celles de composés de référence synthétisés à partir d'acides commerciaux.

B.2.3.2 Blancs du traitement d'estérification de la phase liquide

Il est possible qu'une partie des acides identifiés dans les mélanges réactionnels issus des expériences de simulation soit des pollutions provenant par exemple de la préparation du milieu réactionnel initial (réactifs et/ou verrerie) ou du traitement d'estérification réalisé (réactifs et/ou verrerie). C'est pourquoi, lors du développement du protocole de traitement de la phase liquide, donc avant l'application de cette méthodologie aux milieux réactionnels issus d'expériences de simulation, des tests ont été effectués, afin de vérifier que le traitement de dérivation n'apporte pas lui-même des acides carboxyliques. La procédure a simplement été appliquée à 20mL d'eau ultra-pure, en faisant intervenir les mêmes quantités de réactifs que celles utilisées dans le cas d'une expérience de simulation (NaOH, Octanol/HCl 1,5mol/L, HCl 37% *etc.*).

Malgré l'utilisation de composés commerciaux de grande pureté ou purifiés par nos soins, de verrerie soigneusement lavée et malgré les efforts déployés pour ne pas introduire d'impuretés lors du traitement de la phase liquide, de nombreux composés (notamment acide acétique et butyrique) sont observés en CPG et CG/SM, après toutefois une forte concentration de la fraction finale par évaporation. Il paraît tout à fait logique que lorsqu'on concentre très fortement, on finisse toujours par voir des impuretés, mais il ne faut pas oublier que les produits de synthèse lors des simulations hydrothermales peuvent s'avérer également présents à l'état de traces. Les pollutions pourraient alors se trouver dans des concentrations de même ordre de grandeur que les composés d'intérêt.

L'identification de toutes les impuretés n'est pas nécessaire dans notre cas et cela serait trop coûteux en temps. Notre attention s'est principalement portée sur les esters octyliques d'acides carboxyliques. Les autres composés détectés dans ce blanc ont été répertoriés. Il nous suffit ainsi de comparer les analyses effectuées en CG/SM, pour les phases liquides provenant des expériences de simulation, avec celles réalisées pour les expériences de contrôle (blancs), afin de détecter les pollutions éventuellement présentes dans le milieu réactionnel en fin d'expérience. Lorsqu'une similarité (temps de rétention et spectre de masse) est repérée entre des produits présents dans les mélanges réactionnels en fin d'expérience et des pollutions identifiées comme telles lors des expériences de contrôle, des doutes sont émis sur la réelle présence de ces composés parmi les produits formés au cours de l'expérience. Une vérification est alors envisagée s'il s'agit de molécules pouvant présenter un intérêt en chimie prébiotique. Dans le cas contraire les produits détectés et présentant une concordance avec des constituants du blanc ne sont tout simplement pas comptabilisés dans nos résultats.

Nous avons ainsi détecté, lors des expériences de contrôle, les esters octyliques des acides carboxyliques de C_1 à C_{10} comprenant des composés linéaires et quelques ramifiés, avec une nette prédominance des acides pairs, principalement C_2 , nC_4 , C_6 et C_8 . Cette prépondérance des acides pairs est caractéristique de la répartition de ces produits dans la matière organique d'origine biologique.

L'observation de pollutions lors du blanc du traitement destiné à nos expériences de simulation a conduit à la mise en place des essais en milieu deutérié, telles que les manipulations dans D_2O citées précédemment, ou encore à l'utilisation dans certains cas de substrats marqués. L'intérêt du marquage au deutérium ou au ^{13}C est de discriminer les produits formés au cours des expériences réalisées des molécules récupérées lors de l'étape de la dérivation de la phase aqueuse et/ou lors de la mise en place des simulations en autoclave.

Par ailleurs, un deuxième type d'expérience de contrôle (blanc) a été réalisé en appliquant le protocole de dérivation à 20mL de D_2O . Une grande partie des impuretés identifiées lors du premier blanc sont retrouvées dans le blanc du traitement dans D_2O , suggérant que les impuretés ne proviennent que très peu de l'eau utilisée, ultra-pure ou deutériée. Les quelques nouvelles impuretés rencontrées ne sont pas deutériées. Nous avons particulièrement recherché les esters octyliques d'acides carboxyliques deutériés ou hydrogénés. Aucun ester deutérié n'a été observé et peu d'esters hydrogénés ont été détectés (C_1 à C_4).

Dans ces conditions, la réalisation des expériences en milieu deutérié, qui doit conduire à la formation de composés deutériés, paraît adéquate et vraiment nécessaire.

B.2.3.3 Composés présents dans les phases liquides issues des expériences de simulation réalisées en milieu deutérié

Étant donné que des quantités inconnues et probablement non reproductibles d'acides carboxyliques sont apportées comme impuretés lors du traitement de la phase liquide et vraisemblablement également lors de la mise en place d'une simulation typique, nous avons effectué une série de manipulations dans D₂O (*cf.* Chapitre II, C.4.1, page 77). Le but est de confirmer qu'au moins une partie des acides carboxyliques C₁ à C₄ observés lors d'expériences de simulation réalisées dans H₂O est bien formée *in situ* et qu'il ne s'agit pas de contaminations extérieures.

Comme nous l'avons déjà mentionné, une expérience de simulation testant l'absence d'échange hydrogène-deutérium, dans des conditions hydrothermales, sur deux molécules d'acides carboxyliques hydrogénés (acide acétique et propionique) a validé le principe du marquage au deutérium des produits de synthèse et particulièrement celui des acides carboxyliques formés *in situ* (voir annexe A page 310).

A plusieurs reprises, nous avons confirmé la présence des acides formique, acétique, propionique, iso-butyrique et n-butyrique sous la forme de combinaisons plus ou moins deutériées (voir Figure III - 9, page 139 et Figure III - 10, page 140). Rappelons que seule la partie acyle des esters octyliques identifiés est deutériée, le radical octylique étant apporté après la simulation par un mélange octanol/HCl normal donc totalement hydrogéné. La présence d'esters totalement hydrogénés, donc avec une partie acyle hydrogénée, est expliquée par une contribution de contaminations extérieures, démontrée à l'aide d'expériences de contrôle. Sachant que des sources hydrogénées (H₂S et HCl) sont également présentes dans le milieu réactionnel deutérié, l'existence dans une certaine proportion de combinaisons de molécules mono-deutériées à totalement deutériées est tout à fait logique (voir Figure III - 10, page 140).

En outre, nous avons effectué une série d'essais dans D₂O dans le but de quantifier les acides synthétisés et avons obtenu les concentrations suivantes en fin d'expérience : 0,14mmol/L pour l'acide formique, 6,7μmol/L pour l'acide acétique, 0,15μmol/L pour l'acide propionique, 97nmol/L pour l'acide iso-butanoïque et 3,7nmol/L pour l'acide n-butanoïque.

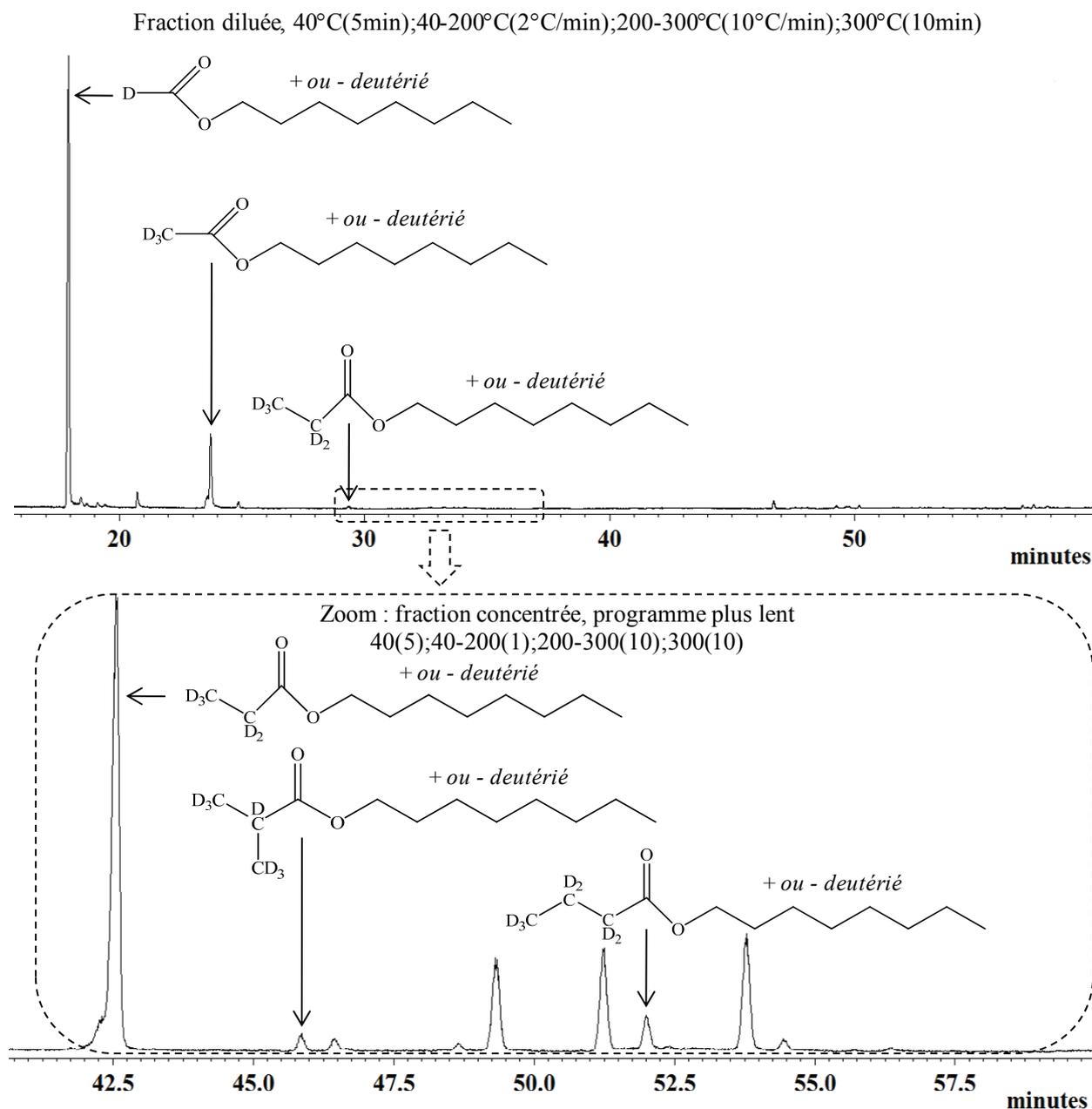


Figure III - 9 - Chromatogramme en phase gazeuse des esters octyliques présents dans la phase liquide d'une expérience typique dans D₂O (20mL D₂O, 1mmol NiS, 5bar H₂S, 5bar CO, 2,1.10⁻⁴mol HCl, 90°C, 5 jours) (Colonne HP5, extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN) (cf. Chapitre II, C.2, page 70 et C.4.1, page 77).

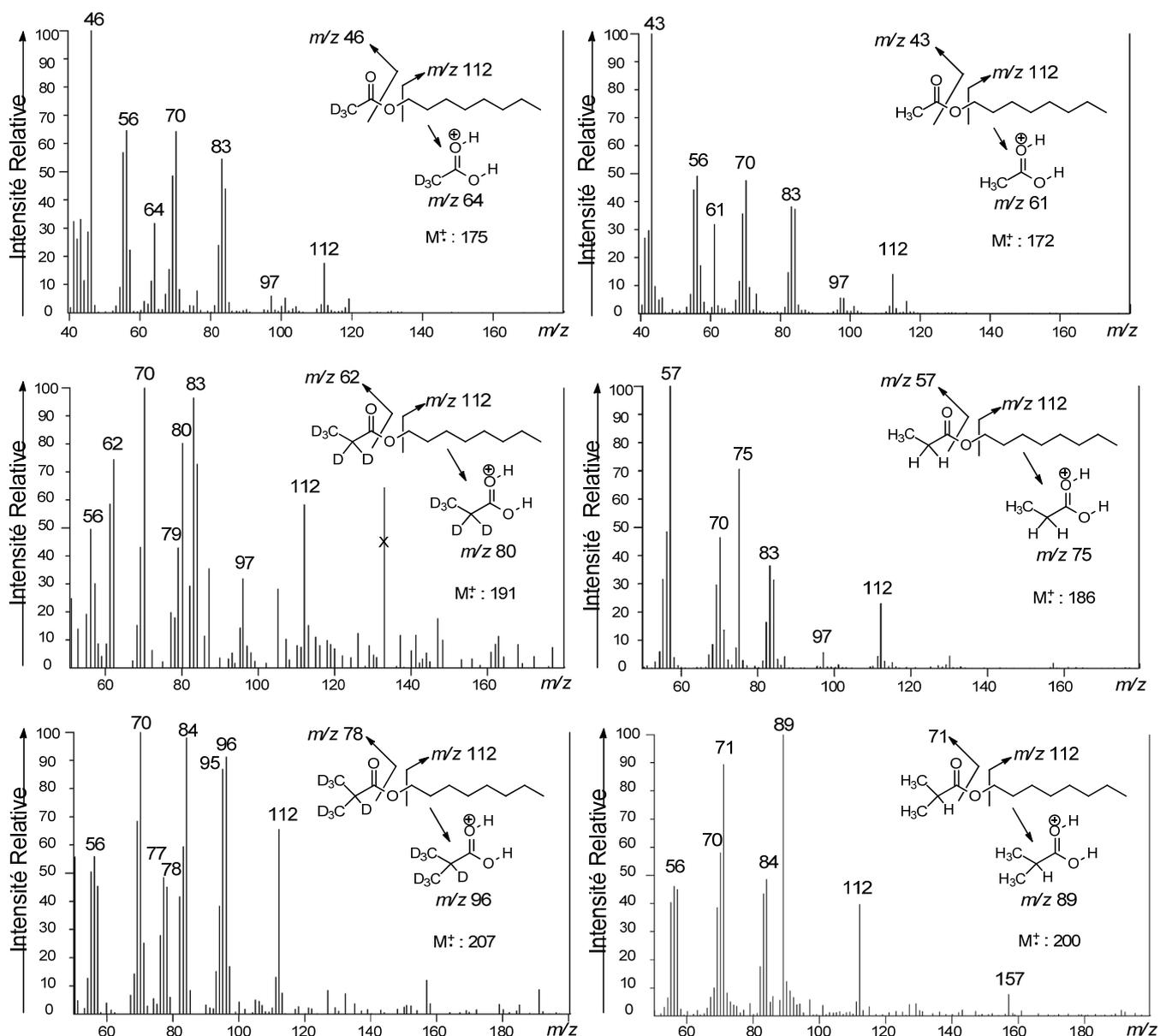


Figure III - 10 - Spectres de masse de trois des esters octyliques observés, sous leurs formes deutérées lors des essais réalisés dans D₂O à gauche, ainsi que sous leur forme hydrogénée lors des manipulations effectuées dans H₂O à droite (IE, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

Nous avons observé sans ambiguïté les spectres de masse des acides formique, acétique, propionique et iso-butyrique sous leur forme estérifiée, dont trois sont présentés ci-dessus. Les spectres de masse des esters octyliques sont caractérisés par plusieurs fragments, dont un correspondant à un réarrangement de type Mac Lafferty à $m/z = 112$.

La présence de l'acide n-butyrique deutérié estérifié n'a pu être détectée et quantifiée qu'en analysant les fractions concentrées d'expériences de simulation en milieu deutérié en CG/SM en mode SIM, en balayant les masses caractéristiques du fragment présenté dans la Figure III - 11 de totalement hydrogéné à totalement deutérié (m/z 89 à 96), et donc avec une sensibilité maximale dans nos conditions d'analyses (voir Figure III - 12).

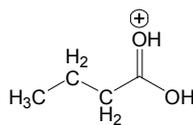


Figure III - 11 - Fragment caractéristique du butanoate octylique

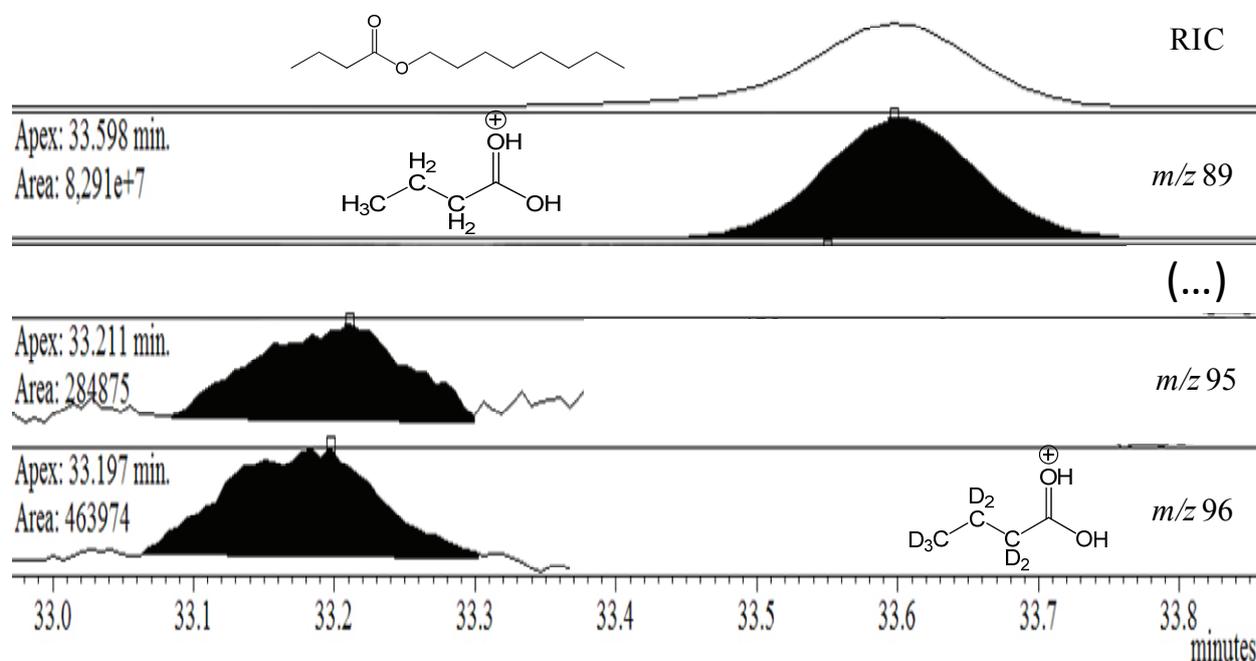


Figure III - 12 - Distribution des courants d'ions correspondant aux principaux isotopologues (0, 6 et 7 atomes de D) d'un des fragments caractéristiques du n-butanoate octylique, présent dans la phase liquide issue d'un essai réalisé dans D_2O (20mL D_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO , $2,1 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C, 5 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); 40-100°C (3°C/min); 100°C (15min); 100-300°C (3°C/min); 300°C (5min), extrait du RIC et courants d'ions, IE, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

Il faut tout d'abord remarquer que les isotopologues deutériés d'une même molécule possèdent en général un temps de rétention légèrement différent sur le type de colonne chromatographique que nous avons utilisé. Ainsi, plus le nombre de deutérium augmente, plus le temps de rétention diminue. Cet effet est accentué quand la chaîne hydrocarbonée s'allonge (effet le plus net pour l'acide C_4 estérifié).

D'après la Figure III - 12, l'acide n-butyrique est principalement présent sous sa forme hydrogénée et a donc en grande partie pour origine des contaminations extérieures.

Cependant, nous observons en particulier les isotopologues portant 6 et 7 atomes de deutérium, avec une aire légèrement supérieure pour le fragment totalement deutérié (7D, soit $m/z = 96$). Or, nous avons démontré auparavant qu'il n'y a pas ou très peu d'échange H-D sur les éventuelles pollutions présentes dans le milieu réactionnel d'une expérience de simulation typique, en particulier sur les acides carboxyliques.

Par conséquent, nous observons bien la présence du n-butanoate octylique deutérié en CG/SM en mode SIM. L'existence de l'acide n-butyrique de mono-deutérié ($m/z = 90$) à hexa-deutérié ($m/z = 95$) est expliquée par la présence de sources d'hydrogène dans le milieu réactionnel (H_2S et HCl).

B.2.3.4 Discussion des résultats

Nous avons formé des chaînes hydrocarbonées fonctionnalisées, de type acide carboxylique, portant jusqu'à quatre carbones. La synthèse de ces molécules est très satisfaisante car les acides carboxyliques font partie d'une catégorie de composés d'intérêt en chimie prébiotique. Il s'agit, en effet, de chaînes hydrocarbonées totalement réduites, portant une fonction hydrophile à une extrémité et qui à une longueur de chaîne suffisante peuvent s'assembler en micelles. Un nombre de carbones plus important (≥ 8) doit toutefois être atteint dans notre cas.

Étant supposé qu'un processus itératif est impliqué dans la formation de molécules hydrocarbonées de plus en plus longues (Dubant S. - 2004), nous nous heurtons à un rendement de synthèse de plus en plus faible, le processus de formation de liaisons carbone-carbone ne permettant pour l'instant pas d'aller plus loin que des chaînes hydrocarbonées de quatre carbones. En effet, la quantité d'acide n-butyrique marqué est si faible que nous ne pouvons détecter cet acide qu'avec un mode de détection SIM très sensible en CG/SM. Nous avons peut-être formé des molécules plus longues mais elles sont alors dans des quantités inférieures aux limites de détection de notre méthodologie analytique (concentration maximale et limites de l'appareillage de spectrométrie de masse). Une alternative pour le marquage au deutérium serait d'effectuer des manipulations dans un système $D_2O/DCI/D_2S$. Il reste à savoir s'il est possible de se procurer une source de D_2S permettant d'appliquer une pression de 5bar de D_2S , correspondant à une des conditions que nous avons adoptées.

B.3 Conclusions sur la formation de liaisons C-C observée dans des conditions simulant celles aux alentours des fumeurs noirs

Les composés éthanethiol et acide acétique en C_2 , les molécules 2-propanethiol et acide propionique en C_3 et les acides butyriques en C_4 , démontrent qu'il est possible de synthétiser de manière abiotique des composés possédant une chaîne carbonée réduite et de longueur variable, prouvant qu'un processus de formation de liaisons carbone-carbone a bien lieu à partir du CO, source à un carbone, en présence de H_2S et NiS, dans les conditions d'expériences de simulations hydrothermales relativement douces que nous avons adoptées.

Nos résultats confirment et complètent les découvertes de la thèse précédente (*cf.* Dubant S. - 2004) et sont en accords avec les recherches de plusieurs équipes de chercheurs prébioticiens.

D'une part, Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 avaient également montré la formation de thiols portant jusqu'à cinq carbones dans des conditions légèrement différentes des nôtres ($FeS/HCl/CO_2$ et $Fe^0/H_2S/CO_2$, conditions anaérobies, températures inférieures à $100^\circ C$). Toutefois, Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 n'avaient pas évoqué la synthèse d'acides carboxyliques lors des expériences réalisées.

Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 avaient, d'autre part, montré la formation d'acide acétique à partir de CH_3SH , en présence de CO et d'un mélange FeS/NiS .

Enfin, Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. - 2004 avaient mentionné la synthèse des acides C₁₀, C₁₁, C₁₂ et C₁₃ à partir du nonanethiol, ainsi que celle de sulfures CH₃SC₉H₁₉, C₉H₁₉SC₁₀H₂₁ sans toutefois mentionner la synthèse de thiols. Ainsi, ces chercheurs avaient démontré qu'un processus itératif de formation de liaisons carbone-carbone a lieu dans l'eau en présence d'une concentration élevée d'acide formique, formant CO *in situ*, de sulfure métallique, à haute température (250°C) et haute pression (2000bar). Notons que nous avons simulé des conditions beaucoup plus douces (90°C, 10bar) que celles mises en œuvre par Cody *et al.* que nous considérons comme extrêmes.

La formation de liaisons carbone-carbone sous la forme de thiols de C₁ à C₃ coexistant avec des acides carboxyliques de C₁ à C₄, en autoclave, dans des conditions assez douces et à partir d'une source carbonée CO, prébiotiquement vraisemblable et parmi les plus simples existant sur la jeune Terre, est un résultat tout à fait nouveau.

La présence de composés amphiphiles, telles que des acides carboxyliques, aux alentours des fumeurs noirs semble vraisemblable, impliquant la formation de micelles lorsque les longueurs de chaînes seront suffisantes. Ainsi, la théorie de l'apparition, au fond des océans, au niveau des sources hydrothermales, d'une phase lipophile, l'ancêtre probable des cellules, dans laquelle des molécules organiques auraient pu se concentrer et réagir, est tout à fait convaincante.

Après la mise en évidence de la formation abiotique de petits composés organiques d'intérêt prébiotique possédant jusqu'à quatre carbones, notre démarche a été d'élucider les processus impliqués dans la formation de liaisons carbone-carbone, et d'optimiser cette synthèse abiotique.

C. Élucidation des mécanismes mis en jeu dans la formation de liaisons carbone-carbone

C.1 Introduction

Dans cette partie, nous allons tenter d'élucider le processus intervenant dans la formation abiotique de liaisons carbone-carbone dans nos conditions et dont une ébauche a été proposée par Dubant S. - 2004. D'une part, nous allons présenter une clarification de la filiation entre les produits observés lors des expériences de simulation et nous allons mettre en évidence un processus de formation et d'élongation de chaînes hydrocarbonées. D'autre part, nous allons tenter d'identifier les intermédiaires réactionnels et d'élucider les mécanismes impliqués dans ce processus. Pour cela, nous avons réalisé une série de manipulations en réacteur en verre ou en autoclave, dans des conditions réactionnelles typiques, faisant intervenir des substrats organiques (thiols aliphatiques de différentes longueurs, thiols aromatiques, aldéhydes *etc.*). Les molécules organiques testées sont généralement non prébiotiquement vraisemblables mais portent diverses fonctions chimiques d'intérêt, éventuellement détectées lors des expériences de simulation réalisées en autoclave et probablement impliquées dans le processus itératif proposé et discuté par la suite. Une fois les réactions intervenant dans la formation de liaisons C-C étudiées, identifiées et comprises, les conditions des simulations en laboratoire pourront probablement être optimisées dans le but notamment de favoriser la formation de thiols et d'acides carboxyliques possédant des chaînes hydrocarbonées plus longues.

C.2 Travaux antérieurs effectués au laboratoire

Des expériences réalisées sur des substrats organiques spécifiques (notamment thiols, thioacides, thioesters, sulfures, alcools et acides carboxyliques) ont également été réalisées lors de la thèse précédente (voir Dubant S. - 2004), dans des conditions réactionnelles proches de celles choisies pour les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit.

D'une part, il a été démontré qu'il est possible d'insérer un groupement carbonyle au niveau d'une liaison carbone-soufre pour des composés R-S-R', conduisant à des composés R-CO-SR', où R et R' sont des groupements alkyle, aryle ou hydrogène, en étudiant la réactivité des thiols et des thioéthers (*cf.* Figure III - 13).

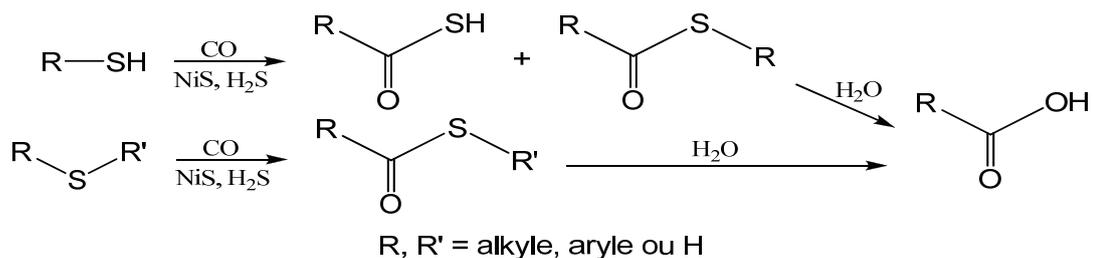


Figure III - 13 - Réactivité des thiols et thioéthers, en présence de CO, H₂S et NiS, démontrée par Dubant S. - 2004

D'autre part, les acides carboxyliques se sont révélés inertes dans les conditions des expériences de simulation hydrothermale et il a été montré qu'ils sont formés par hydrolyse de thioesters ou de thioacides (voir Figure III - 13 et Figure III - 14). La formation des acides carboxyliques pourrait être considérée comme une voie sans issue au sein du processus de formation de chaînes hydrocarbonées entraînant probablement leur accumulation dans le milieu réactionnel. Une fois formés à proximité des fumeurs noirs, les acides carboxyliques suffisamment longs auraient pu s'accumuler au fond des océans primitifs pour atteindre des concentrations permettant la formation de micelles.

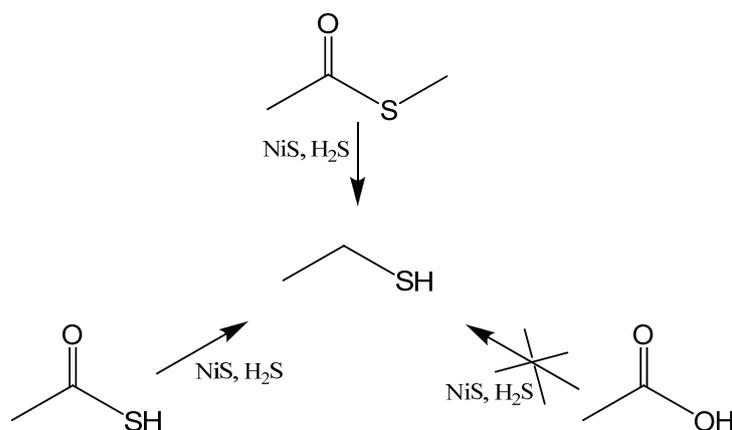


Figure III - 14 - Réactivité d'un thioester, d'un thioacide et d'un acide carboxylique, en présence de H₂S et NiS, proposée par Dubant S. - 2004

Par ailleurs, il a été prouvé que les thioacides et thioesters sont en partie réduits en thiols en présence de NiS et H₂S (voir Figure III - 14), et en partie hydrolysés en acides carboxyliques. En présence de CO, les thioacides et thioesters présentent une réactivité significative puisque des composés possédant un atome de carbone de plus ont été observés. Ils sont sans doute formés par insertion de CO sur le thiol, produit de la réduction.

En outre, il a été prouvé que les alcools, inertes dans les conditions mises en œuvre, n'interviennent pas dans la formation de liaisons C-C.

Enfin, la présence de petites quantités de métal (0) a été mise en évidence lors d'expériences mettant en jeu du nickel au degré d'oxydation +II, sous la forme de NiCl₂ ou de NiS, en présence de thiol et/ou de sulfure d'hydrogène. En effet, le nickel réduit a été détecté de façon indéniable

en analysant par diffraction des rayons X le catalyseur solide issu de plusieurs essais, ainsi que le dépôt d'aspect métallique apparu sur la paroi du flacon en verre, sous la forme d'un miroir brillant. L'aptitude de Ni(0) seul pour catalyser les réactions de formation de liaisons C-C relatées lors des travaux de recherche précédents a été vérifiée et validée. Par conséquent, les sulfures métalliques ne sembleraient pas être eux-mêmes les catalyseurs des réactions observées lors des travaux antérieurs, mais la faible part de métal réduit, composé intermédiaire, se révélerait jouer un rôle central dans le processus observé.

C.3 Expériences de simulation impliquant des substrats organiques

C.3.1 Conditions réactionnelles choisies

Comme indiqué dans la partie Démarches expérimentales (voir C.3, page 73), des expériences de simulation ont été réalisées dans deux types de flacons en verre, soit en réacteurs de 100mL soit en flacons Sovirel de 50mL. En général, on fait réagir 0,4 à quelques mmol de substrat organique avec 1,0mmol de NiCl₂·6H₂O et 1,25mmol ou 1,5mmol de Na₂S·9H₂O, dans 20mL d'eau ultrapure, à un pH initial ajusté entre 2 et 7 à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique à 0,6mol/L, à 50°C pendant environ 4 jours.

Dans une variante de ces conditions expérimentales typiques, NiCl₂ est remplacé par 1,0mmol de Ni(0) en poudre. Na₂S est alors introduit en plus faible quantité, soit 0,25mmol, le sulfure de sodium sert alors principalement à la formation de H₂S *in situ*. La réactivité du métal réduit a été prouvée auparavant par Dubant S. - 2004. Il a été montré, d'autre part, que Ni(0) est une espèce formée dans le milieu réactionnel par réduction de NiS et sans doute le catalyseur effectif de la formation de la liaison C-C. Ainsi, lors de l'utilisation directe de Ni(0), les réactions de formation de liaisons C-C sont favorisées car l'étape préalable et limitante de la réduction de Ni(+II) est évitée. Les manipulations présentées dans la partie ci-dessous n'ont pas pour but de simuler des conditions totalement prébiotiques, mais de tester la réactivité de fonctions chimiques diverses et choisies, dans le but de comprendre les mécanismes mis en jeu. L'ajout de Ni(0) en quantités significatives et probablement trop importantes pour simuler des conditions primitives possibles ne pose pas de problème car il accompagne l'utilisation de réactifs organiques également non prébiotiquement vraisemblables. Par conséquent, certaines expériences ont été réalisées avec du métal réduit afin d'atteindre un meilleur rendement de réaction et d'obtenir des quantités de produits réactionnels plus importantes que lors des expériences de simulation typiques. Le traitement du milieu réactionnel final est alors plus confortable et les produits formés sont détectables sans difficulté.

Une grande partie des expériences de simulation décrites ci-dessous a été réalisée dans des flacons Sovirel en verre de 50mL.

Le schéma des réacteurs en verre disponibles au laboratoire est rappelé ci-dessous (pour plus d'informations, voir chapitre II, page 73).

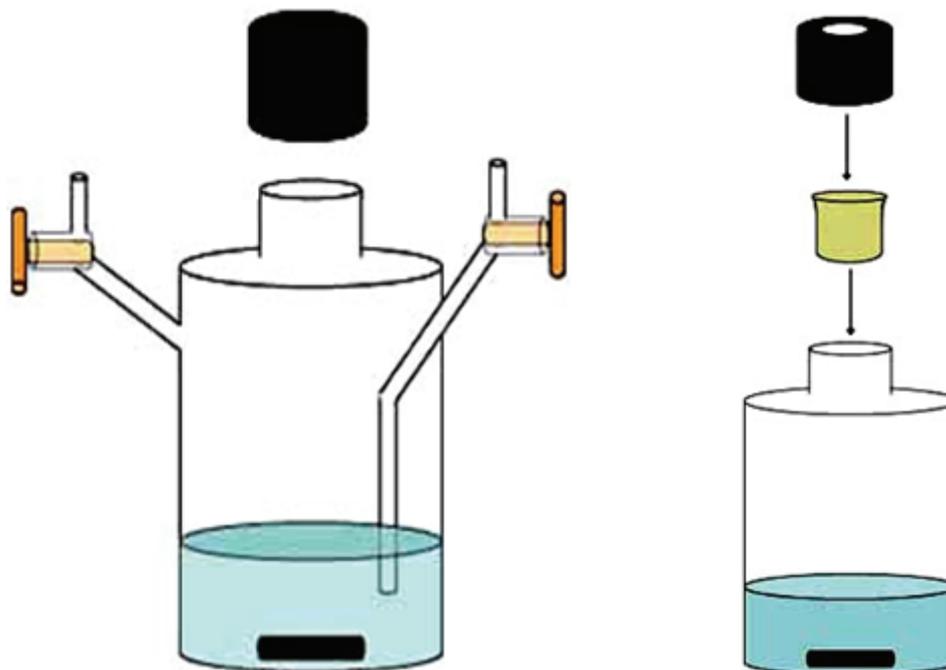


Figure III - 15 - Schéma des réacteurs en verre disponibles au laboratoire. A gauche le réacteur de 100mL, à droite le flacon Sovirel de 50mL

Il nous semble que le réacteur en verre de 100mL soit moins favorable aux réactions de formation de liaisons C-C que le flacon de 50mL. L'une des raisons est que la présence du tube plongeant dans la solution rend plus difficile l'agitation du milieu réactionnel (cf. Figure III - 15, à gauche). De plus, l'existence des tubes d'alimentation et d'évacuation des gaz entraîne probablement celle de recoins dans le réacteur et donc de zones possibles d'accumulation de réactifs ou de produits causant des inhomogénéités dans le réacteur. Il peut ainsi y avoir perte d'une quantité de réactifs et donc diminution du rendement des réactions de formation de liaisons C-C.

Par ailleurs, pour les expériences de simulation en réacteur de 100mL ou en flacon de 50mL nous avons choisi une température de simulation inférieure à celle utilisée lors des simulations en autoclave (90°C), notamment parce que les bouchons, robinets et septum ne supportent pas des températures trop élevées. Nous avons, de plus, à l'aide d'une référence interne inerte (dodécane), démontré que le septum utilisé pour le flacon de 50mL adsorbe une partie des composés (gazeux et liquides peu ou très volatils) lors d'essais à 80°C, entraînant une perte significative de réactifs et de produits, défavorisant le processus étudié. Nous avons par conséquent testé et choisi les températures de 50°C pour l'utilisation du flacon Sovirel (augmentation très conséquente du pic du dodécane à 50°C pour la même quantité initiale d'alcane qu'à 80°C) et de 80°C pour le réacteur en verre. Le réacteur en verre permettant

d'effectuer des essais à une température plus élevée, nous avons fait concevoir un réacteur de même type mais d'un volume de 50mL. Nous n'avons malheureusement pas eu le temps de le tester.

En outre, des expériences de simulations ont été réalisées en autoclave à partir de quelques substrats organiques, dans les conditions réactionnelles typiques (20mL H₂O, 1mmol NiS, 5bar CO, 5bar H₂S, 90°C). Il faut mentionner qu'en général, les essais en présence de substrats organiques ont été effectués en flacons en verre, afin d'éviter de contaminer le montage de l'autoclave avec des molécules qui auraient alors pu être observées lors des expériences typiques ne mettant en jeu que des composés inorganiques ou des gaz, ou pour éviter de polluer le milieu réactionnel avec des produits en grandes quantités pouvant masquer la présence de molécules d'intérêt présentes à l'état de traces lors des essais habituels. En effet, le corps de l'autoclave (corps en métal et manchon en verre) peut être nettoyé sans difficulté dans le but d'éliminer toutes pollutions, permettant d'obtenir une propreté communément appelée « géochimique » au sein du Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire. La partie supérieure du montage de l'autoclave (manomètre, tuyaux) est plus difficile d'accès. Les quelques composés organiques testés en autoclave (notamment CH₃SH et HCHO) étant très volatils, nous avons nettoyé la partie supérieure de l'autoclave à la vapeur d'eau pour les entraîner dans les tuyaux de sortie et les évacuer (eau ultra-pure dans l'autoclave chauffée au dessus de 100°C, évacuation de vapeur d'eau par les tuyaux de sortie, puis temps de séchage de la partie supérieure de l'autoclave). Dans ces conditions, nous n'avons rencontré aucun problème de contaminations au cours des expériences réalisées après les essais avec de petits substrats organiques.

C.3.2 Résultats

C.3.2.1 Étude de la réactivité des thiols

Nous avons étudié le plus souvent la réactivité de substrats organiques possédant des fonctions analogues à celles des composés détectés lors des essais en autoclave, afin d'apporter des informations sur la filiation des différentes molécules observées ou sur la réactivité d'une fonctionnalité donnée dans les conditions expérimentales mises en œuvre.

Étant donné que nous avons observé à plusieurs reprises la synthèse abiotique de thiols lors de simulations en autoclave (CH₃SH, CH₃CH₂SH et (CH₃)₂CHSH), nous avons choisi d'étudier la réactivité de thiols aliphatiques de plusieurs longueurs (C₈H₁₇SH, CH₃SH et CH₃CH₂SH) ainsi que celle d'un thiol aromatique (C₆H₅SH).

Mise en évidence d'un processus d'élongation

Nous avons montré par le biais de plusieurs manipulations en autoclave faisant intervenir CO seul ou accompagné de CH₃SH ou CH₃CH₂SH qu'il est possible à partir d'une source de carbone de former des thiols possédant plusieurs atomes de carbone supplémentaires.

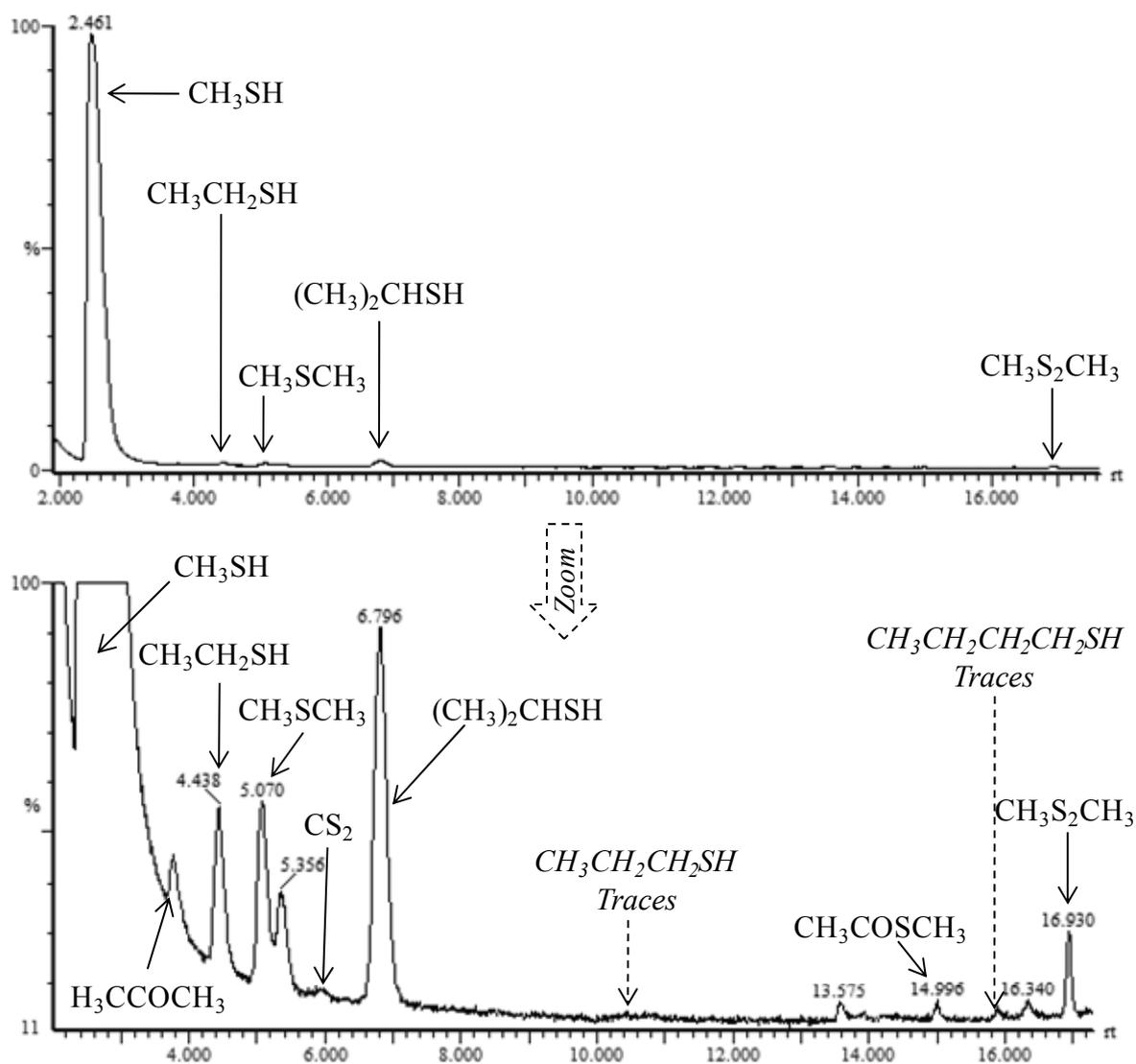


Figure III - 16 - Chromatogramme en phase gazeuse des gaz de tête issus d'une expérience en autoclave faisant intervenir CH_3SH (3,5mmol CH_3SNa , 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $3,1 \cdot 10^{-3}$ mol HCl, 90°C, 11 jours) (Colonne DB1-30m, 35°C (10min); 35-250°C (10°C/min); 250°C (4min)) (Extrait du TIC, logiciel Masslab)

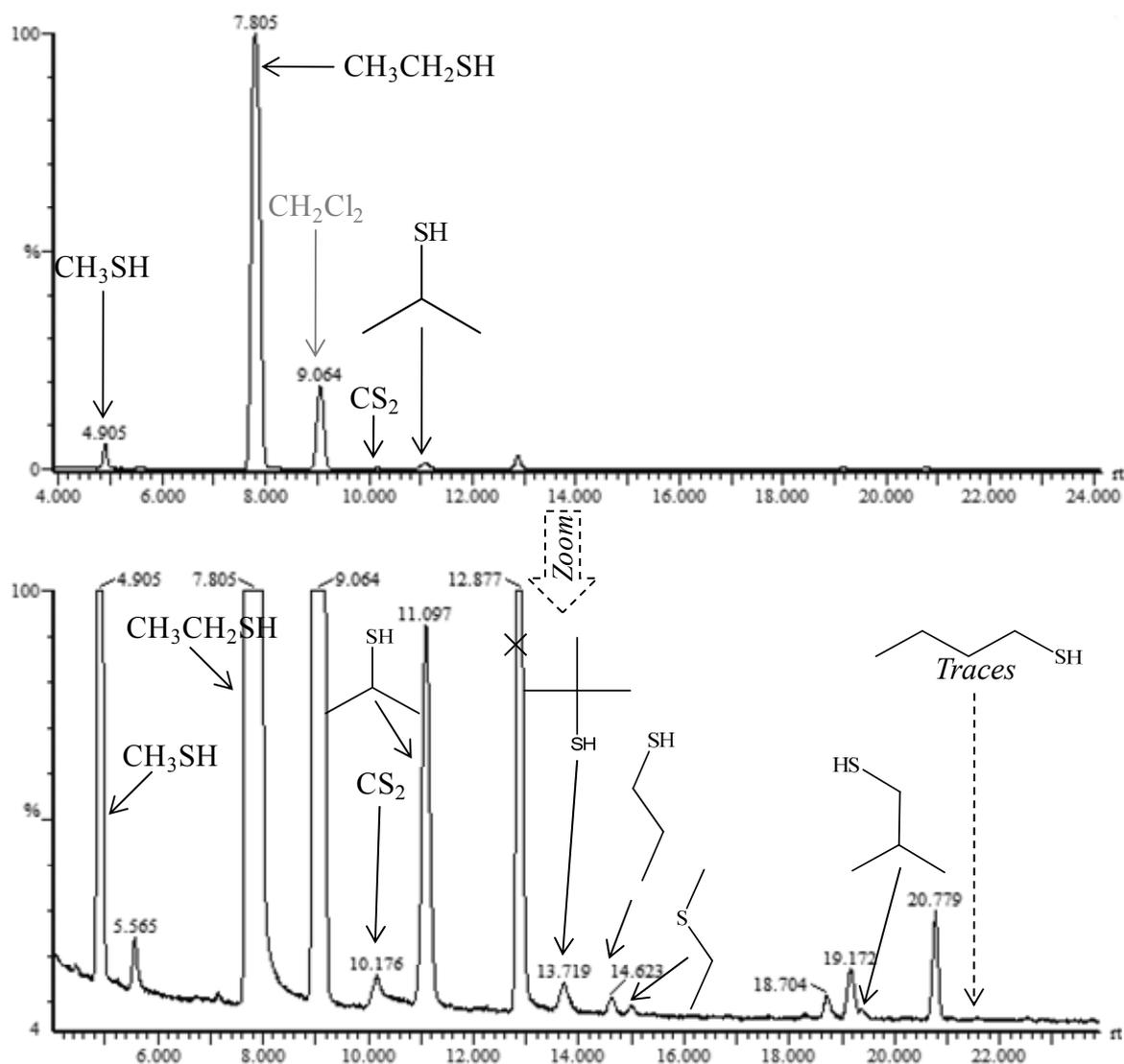


Figure III - 17 - Chromatogramme en phase gazeuse des gaz de tête issus d'un essai en autoclave faisant intervenir $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$ (1,5mmol $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$, 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $2,01 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C, 4 jours) (Colonne DB1-30m, 50°C (10min); 50-250°C (5°C/min); 250°C (10min)) (Extrait du TIC, logiciel Masslab)

En résumé, lors d'expériences de simulation typiques en autoclave nous avons mis en évidence la synthèse abiotique du méthane-thiol, de l'éthane-thiol et de petites quantités de 2-propane-thiol, à partir d'une source carbonée à un carbone. Lors d'expériences réalisées dans les mêmes conditions expérimentales mais où l'on a ajouté du méthane-thiol en tant que réactif, nous avons montré la formation de l'éthane-thiol, de quantités significatives de 2-propane-thiol, de traces de 1-propane-thiol ainsi que de traces de 1-butane-thiol (voir Figure III - 16). Enfin, en faisant intervenir l'éthane-thiol comme substrat de départ dans des simulations en autoclave effectuées dans les mêmes conditions, nous avons mis en évidence du méthane-thiol, du 2-propane-thiol, du 1-propane-thiol, de deux butane-thiols ramifiés, ainsi que des traces de n-butane-1-thiol (voir Figure III - 17).

Les trois séries de résultats sont résumées dans la Figure III - 18. Nous remarquons que l'ajout d'un thiol linéaire dans le milieu réactionnel favorise la formation des homologues supérieurs de ce thiol. Nous pouvons ainsi affirmer en nous appuyant sur les résultats présentés,

qu'un processus d'élongation a bien lieu permettant, dans les conditions réactionnelles que nous avons choisies, d'allonger le substrat de départ de deux atomes de carbones.

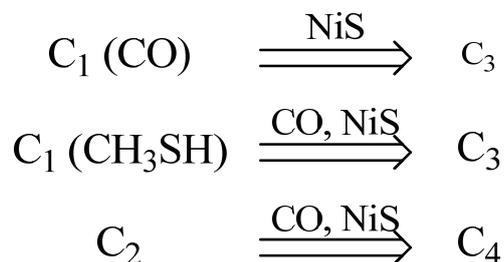


Figure III - 18 - Processus d'élongation observés

Par conséquent, en accord avec les conclusions de Dubant S. - 2004, nous avons prouvé qu'il existe bien un ensemble de réactions en cascades se déroulant à partir de la source carbonée choisie, en présence de CO, H₂S et NiS, permettant entre autres de synthétiser des composés sulfurés. De plus, la formation abiotique de CH₃SH à partir de CO apparaît comme une étape cruciale pour la synthèse abiotique de composés à plus longue chaîne.

Par ailleurs, nous présentons ci-dessous notamment la vérification que nos conclusions s'appliquent à des thiols aliphatiques de toutes longueurs mais aussi à des thiols aromatiques.

Produits et intermédiaires réactionnels d'un processus itératif flagrant

Nous avons également testé la réactivité de deux thiols plus longs, un thiol aliphatique C₈H₁₇SH et un thiol aromatique C₆H₅SH, lors d'expériences en flacons en verre. Les deux thiols possèdent une solubilité beaucoup plus faible en solution aqueuse que les petits thiols expérimentés auparavant. Nous avons ainsi pu identifier de nombreux produits et intermédiaires réactionnels. La faible solubilité des thiols testés ne semble ainsi pas poser de problème pour le déroulement du processus de formation de liaisons C-C. De plus, étant donné que les composés chimiques formés sont moins volatils dans le cas de ces expériences que dans celui des essais faisant intervenir de petits thiols, les molécules formées sont détectées et identifiées sans difficulté dans le milieu réactionnel liquide. Comme indiqué dans le chapitre Démarches expérimentales (voir E, page 108), les molécules citées dans ce qui suit ont été identifiées à l'aide de la librairie de spectres de masse, en CG/SM en impact électronique, dans les cas où elles y sont répertoriées, par analyse en CG/SM en ionisation chimique permettant de déterminer la masse moléculaire des produits, mais surtout par comparaison de leur spectre de masse et de leur comportement chromatographique à ceux de produits de référence commerciaux ou de synthèse.

Les figures présentées dans les pages suivantes montrent les transformations subies par les deux thiols, l'octanethiol et le thiophénol, observées à plusieurs reprises, lorsqu'on les fait réagir avec CO et H₂S en milieu aqueux en présence de NiS ou de Ni(0) (thiophénol et NiS voir Figure III - 19 et Figure III - 20 ; thiophénol et Ni(0) voir Figure III - 21 ; octanethiol et Ni(0) voir

Figure III - 22 et Figure III - 23). Nous rappelons que le mélange réactionnel d'une expérience de simulation typique en réacteur en verre est extrait au dichlorométhane et filtré sur célite ultrapure. L'extrait organique est ensuite séché, filtré, concentré puis analysé en CPG et CG/SM. La phase aqueuse restante est quant à elle dérivée avec un mélange butanol/HCl (1,5mol/L). Après élimination de l'excès d'alcool par évaporation, les résidus organiques sont solubilisés dans du dichlorométhane. La fraction obtenue est filtrée et analysée (voir chapitre II, D.2.1, page 103). Les produits observés dans le cas du thiophénol en présence de NiS ont d'ailleurs été quantifiés par ajout de deux étalons internes, le triacontane pour l'extrait organique et l'acide tétradécanoïque pour la fraction aqueuse dérivée. Les résultats sont présentés sous la forme d'un tableau regroupant les nombres de mol et les concentrations dans le milieu réactionnel (voir Figure III - 26).

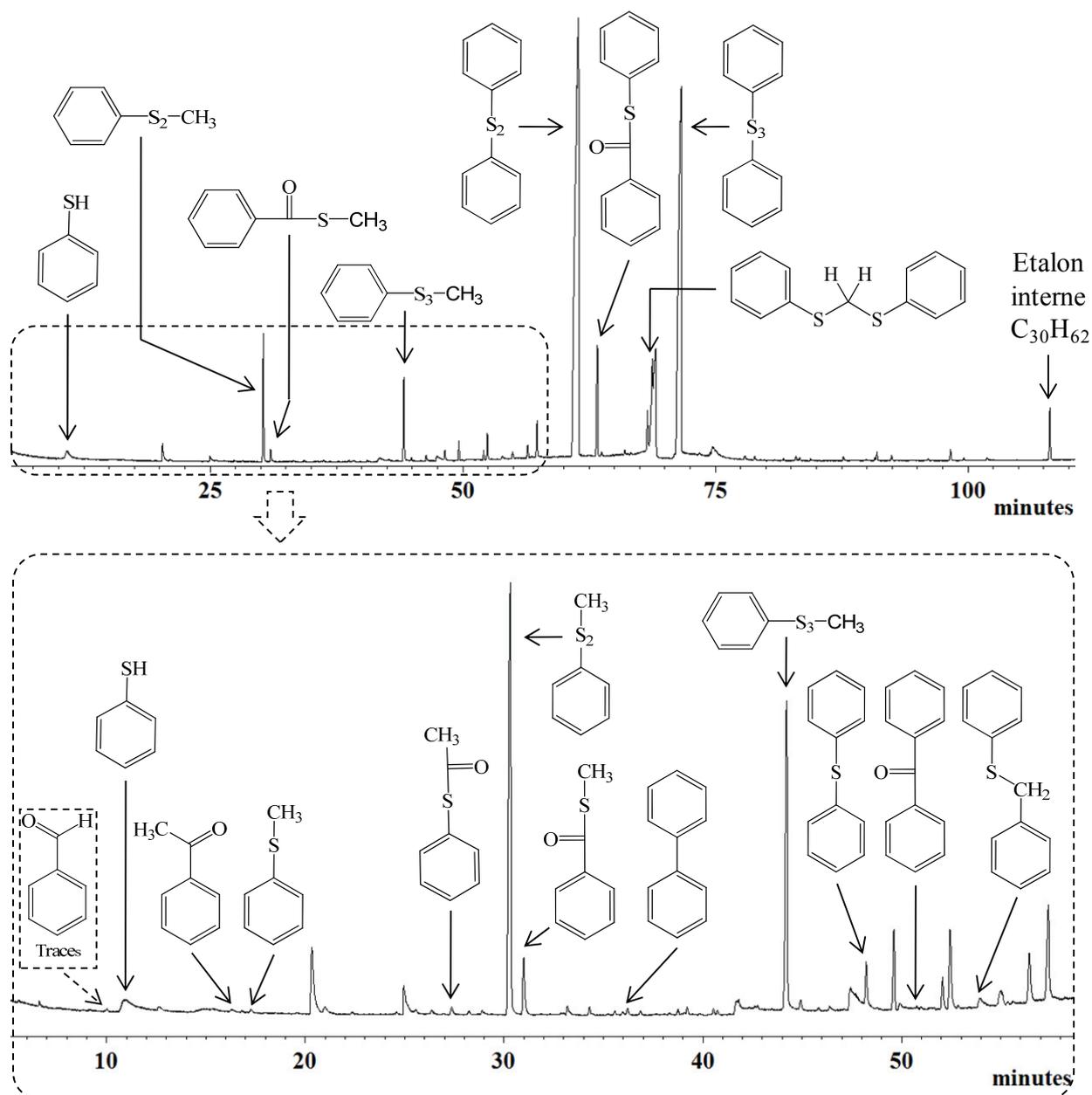


Figure III - 19 - Chromatogramme en phase gazeuse de l'extrait au dichlorométhane des produits issus d'une expérience en flacon Sovirel impliquant le thiophénol (1mmol C_6H_5SH , 20mL H_2O , 1mmol $NiCl_2$, 1,25mmol Na_2S , CO , $3,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl , $50^\circ C$, 4 jours) (Colonne HP5, $40^\circ C$ (5min); $40-300^\circ C$ ($2^\circ C/min$); $300^\circ C$ (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN)

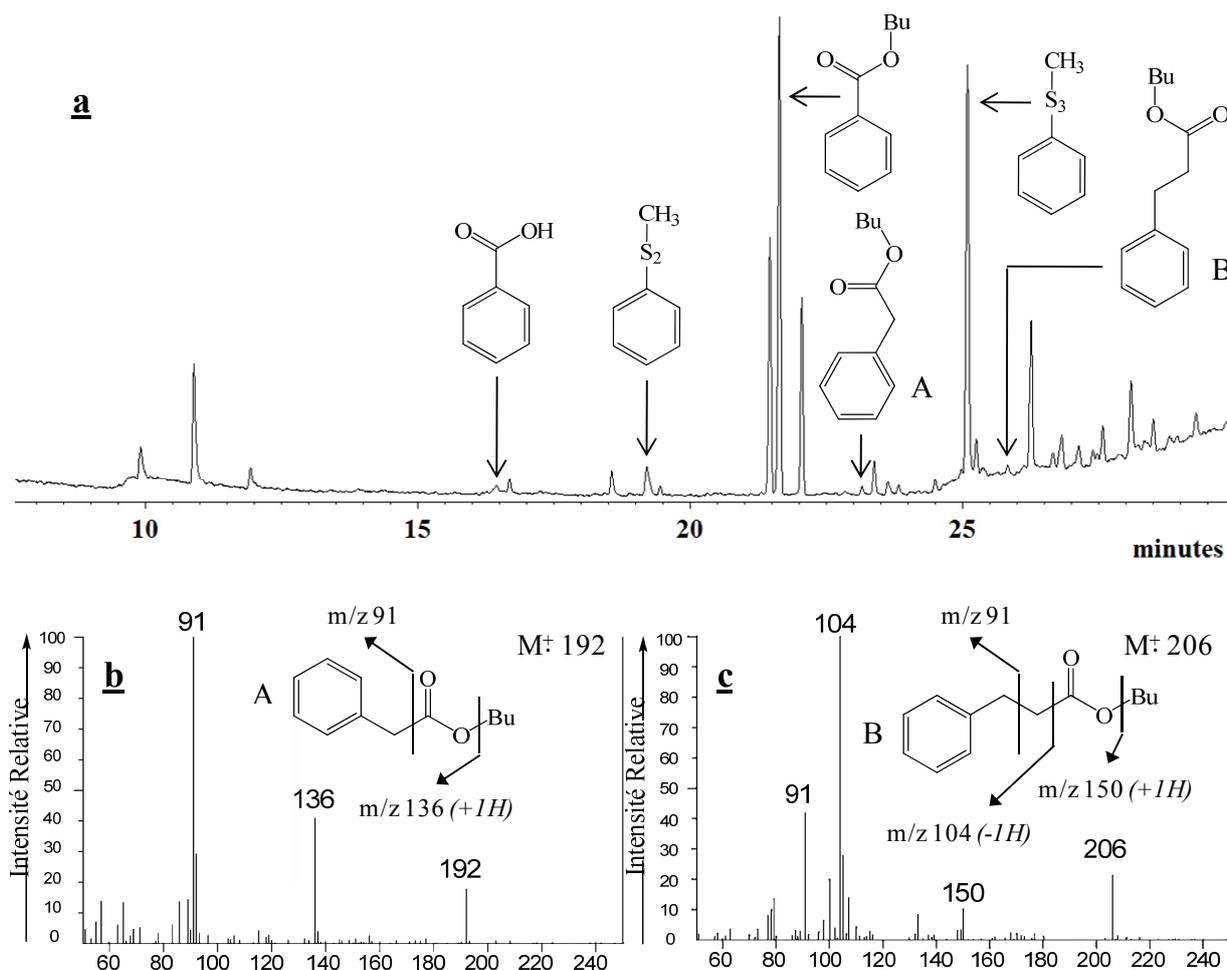


Figure III - 20 - a Chromatogramme en phase gazeuse des composés organiques (après dérivation par BuOH/HCl) présents dans la phase aqueuse d'un essai en flacon Sovirel impliquant le thiophénol (1mmol C₆H₅SH, 20mL H₂O, 1mmol NiCl₂, 1,25mmol Na₂S, CO, 3,0.10⁻⁴mol HCl, 50°C, 4 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); 40-300°C (5°C/min); 300°C (5min))
 (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN)

b et *c* Spectres de masse (IE, 70eV) de produits dérivés du thiophénol possédant, respectivement, 2 et 3 atomes de carbone supplémentaires

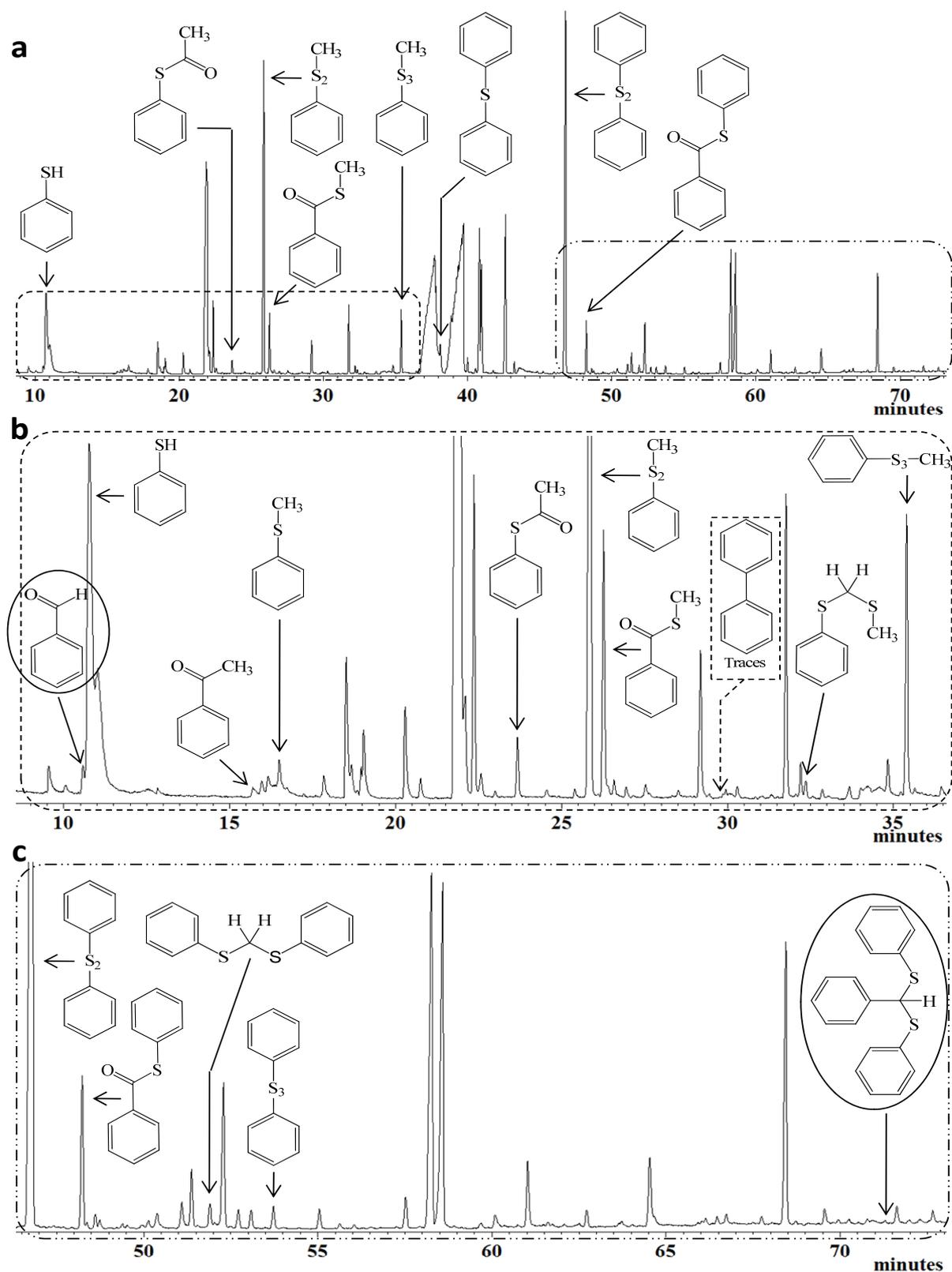


Figure III - 21 - Chromatogramme en phase gazeuse de l'extrait au dichlorométhane des produits formés lors d'un essai en flacon Sovirel impliquant le thiophénol et Ni(0) (1mmol C₆H₅SH, 20mL H₂O, 1mmol Ni(0), 3.10⁻⁴mol Na₂S, CO, 6.0.10⁻⁴mol HCl, 80°C, 4 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); 40-300°C (3°C/min); 300°C (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN)
 Les chromatogrammes b et c sont des agrandissements des parties gauche et droite du chromatogramme a.
 Les molécules entourées sont le benzaldéhyde sous une forme libre ou dérivée

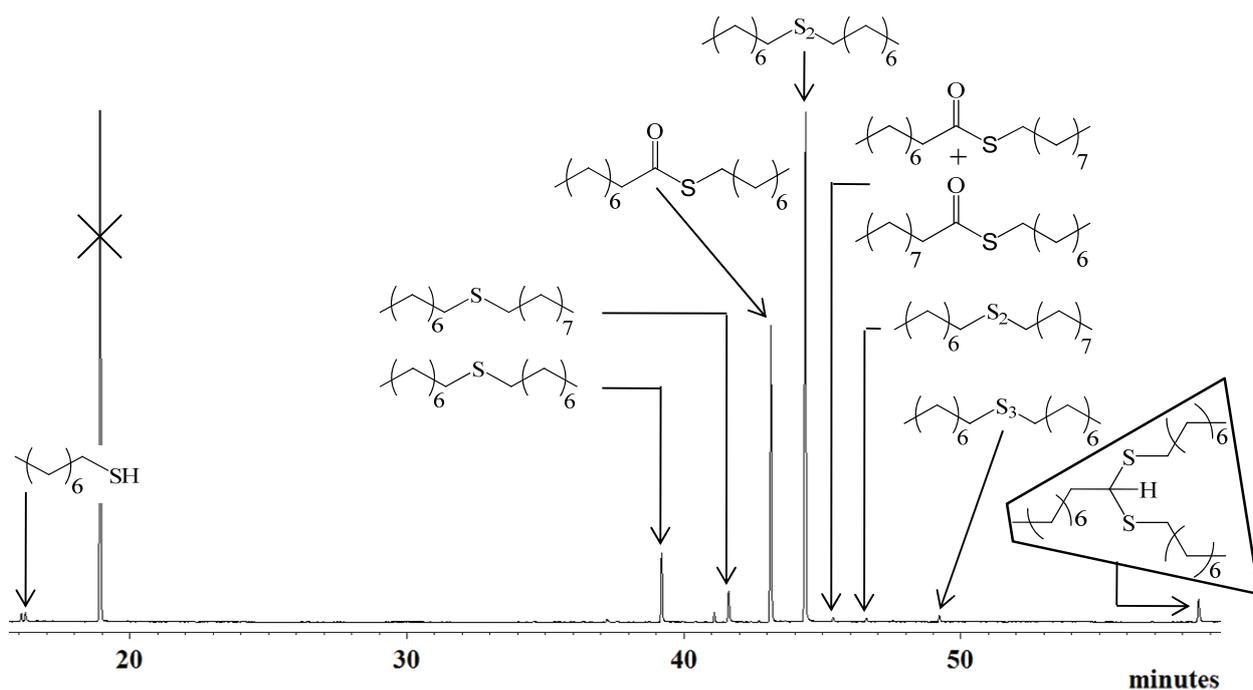


Figure III - 22 - Chromatogramme en phase gazeuse de l'extrait au dichlorométhane des produits formés lors d'une expérience en réacteur de 100mL impliquant l'octanethiol et Ni(0) ($3,7 \cdot 10^{-4}$ mol $C_8H_{17}SH$, 20mL H_2O , 1,3mmol Ni(0), $2,7 \cdot 10^{-4}$ mol Na_2S , CO, $6,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, $80^\circ C$, 7 jours) (Colonne HP5, $40^\circ C$ (5min); $40-300^\circ C$ ($4^\circ C/min$); $300^\circ C$ (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN). La molécule entourée est un dérivé du nonanal que nous mentionnons plus loin

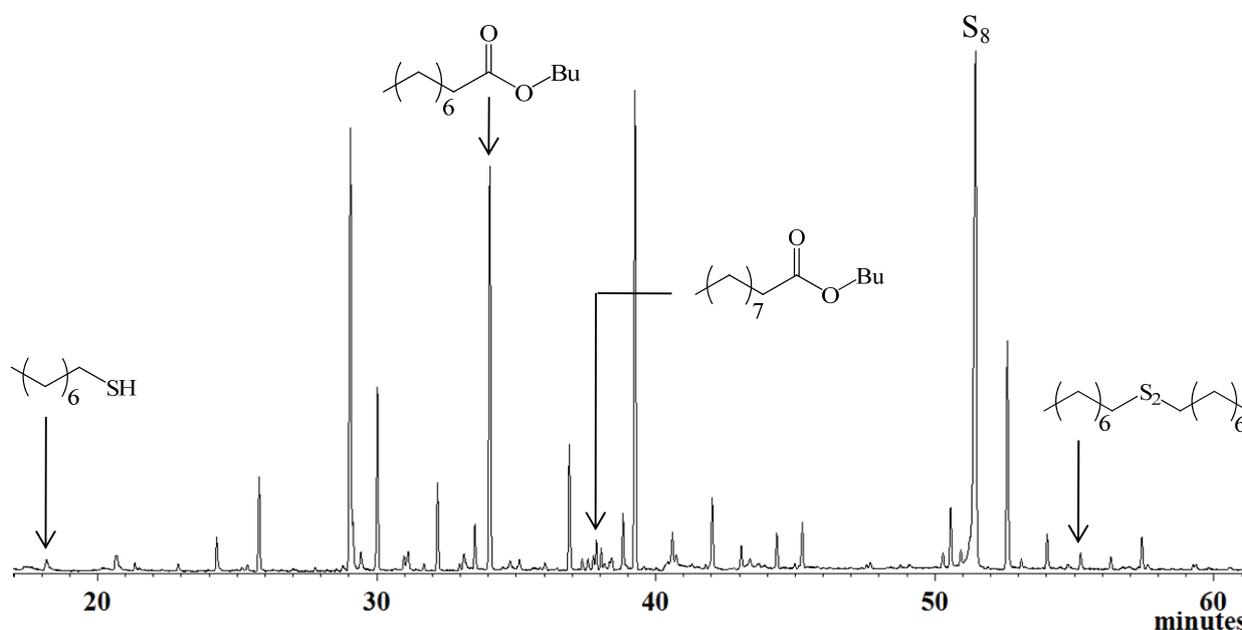


Figure III - 23 - Chromatogramme en phase gazeuse des composés organiques (après dérivatation par BuOH/HCl) présents dans la phase aqueuse d'une expérience en réacteur de 100mL impliquant l'octanethiol et Ni(0) ($3,7 \cdot 10^{-4}$ mol $C_8H_{17}SH$, 20mL H_2O , 1,3mmol Ni(0), $2,7 \cdot 10^{-4}$ mol Na_2S , CO, $6,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, $80^\circ C$, 7 jours) (Colonne HP5, $40^\circ C$ (5min); $40-300^\circ C$ ($3^\circ C/min$); $300^\circ C$ (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN). Les pics non annotés correspondent à des diacides carboxyliques, ainsi qu'à des pollutions provenant de la phase de la colonne ou du spectum

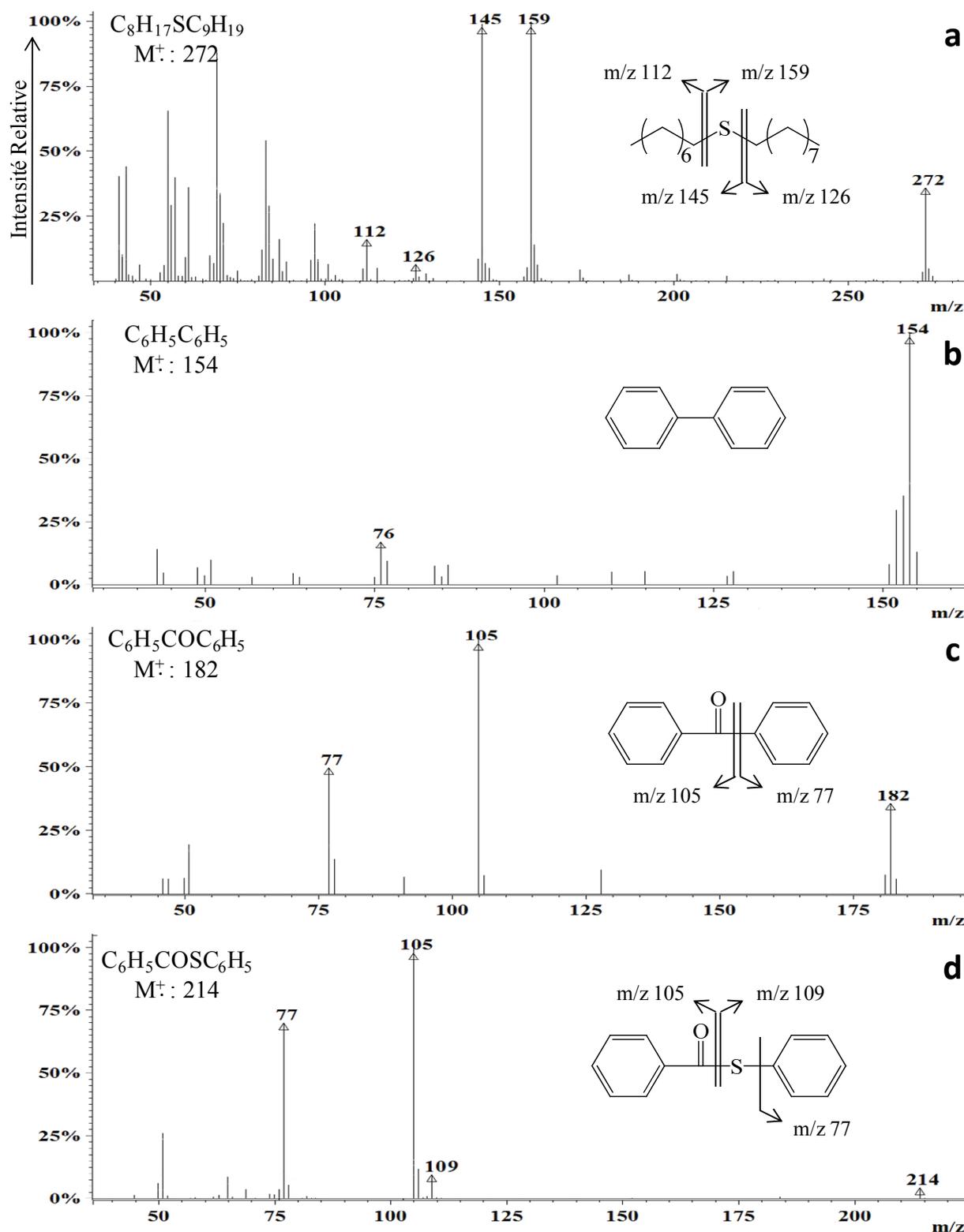


Figure III - 24 - Spectres de masse de quelques produits d'intérêt observés par CG/SM lors de l'essai impliquant de l'octanethiol et Ni(0) ($3,7 \cdot 10^{-4}$ mol $C_8H_{17}SH$, 20 mL H_2O , 1,3 mmol Ni(0), $2,7 \cdot 10^{-4}$ mol Na_2S , CO, $6,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 80°C, 7 jours) & lors de l'expérience avec le thiophénol et NiS (1 mmol C_6H_5SH , 20 mL H_2O , 1 mmol $NiCl_2$, 1,25 mmol Na_2S , CO, $3,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 50°C, 4 jours) (cf. les chromatogrammes précédents) (Colonne HP5, IE, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

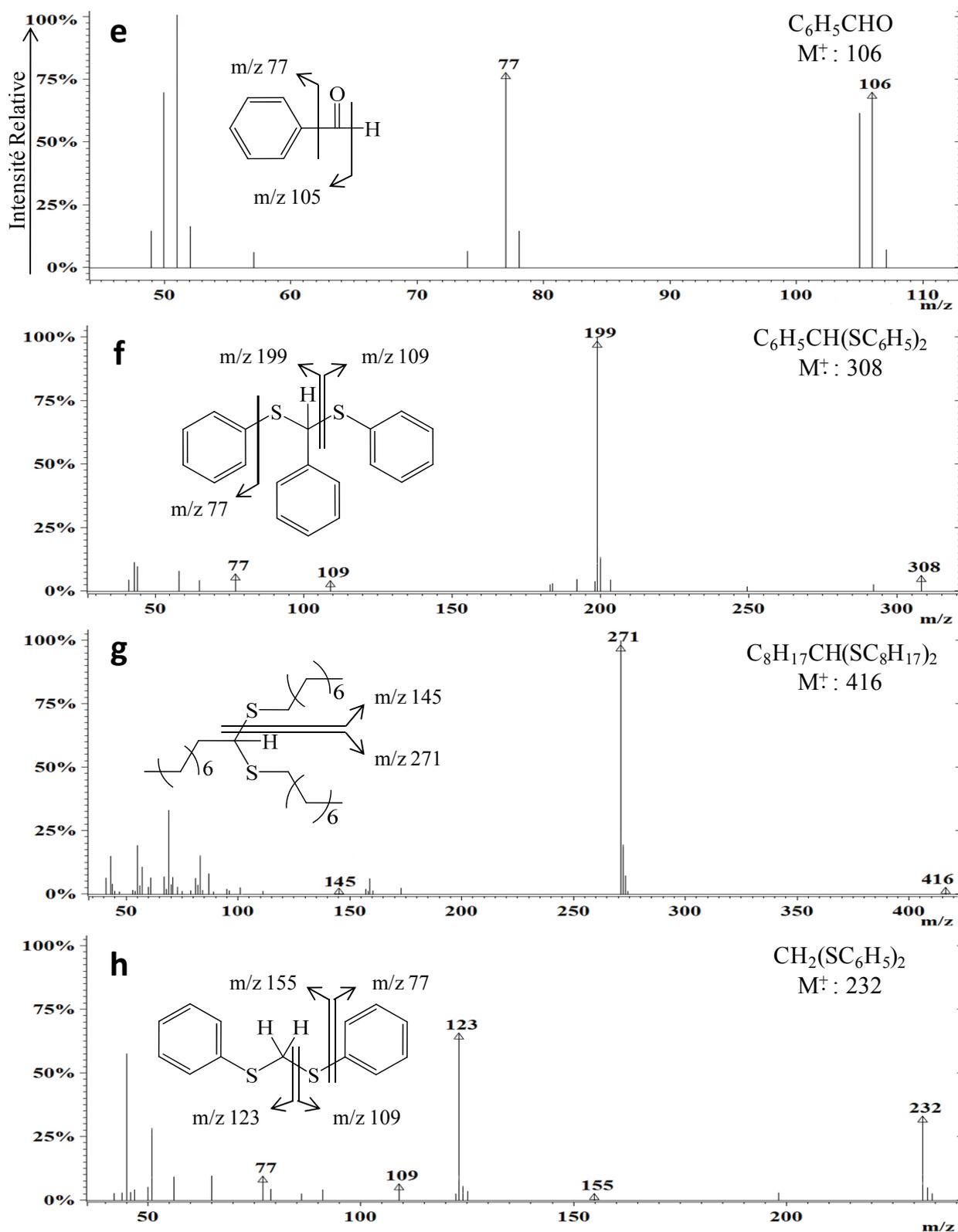


Figure III - 25 - Spectres de masse de quatre autres produits d'intérêt observés par CG/SM lors de l'essai impliquant de l'octanethiol et Ni(0) ($3,7 \cdot 10^{-4}$ mol $C_8H_{17}SH$, 20mL H_2O , 1,3mmol Ni(0), $2,7 \cdot 10^{-4}$ mol Na_2S , CO, $6,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 80°C, 7 jours) & lors de l'expérience avec le thiophénol et Ni(0) (1mmol C_6H_5SH , 20mL H_2O , 1mmol Ni(0), $3 \cdot 10^{-4}$ mol Na_2S , CO, $6,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 80°C, 4 jours) (cf. les chromatogrammes précédents) (Colonne HP5, IE, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

Nous observons les mêmes types de molécules dans les différents modèles d'expériences présentés précédemment, quel que soit le thiol utilisé comme substrat de départ (méthanethiol, éthanethiol, thiophénol, octanethiol) ou la nature du catalyseur de nickel mis en œuvre (NiS, Ni(0)).

Pour les trois dernières expériences présentées, nous remarquons d'une part, que les thiols réagissent dans les conditions hydrothermales pour donner de façon prédominante des mono-, di- et trisulfures ($C_6H_5SC_6H_5$, $C_6H_5S_2C_6H_5$, $C_6H_5S_3C_6H_5$, $C_8H_{17}SC_8H_{17}$, $C_8H_{17}S_2C_8H_{17}$ et $C_8H_{17}S_3C_8H_{17}$). A cet égard, des sulfures ont d'ailleurs été également mentionnés par Cody G.D. - 2004 lors d'expériences mettant en jeu le nonanethiol et l'acide formique, source de CO, en présence de sulfures métalliques, à 250°C et 250MPa. Par ailleurs, nous précisons que Dubant S. - 2004 a montré que les thiols et les sulfures (mono- ou polysulfures, symétriques ou mixtes) sont liés dans les conditions que nous avons mises en œuvre. En effet, lorsqu'on engage un thiol dans une expérience de simulation typique, des mono-, di- et trisulfures, symétriques ou mixtes (en présence d'autres thiols) sont formés. En outre, il faut remarquer que la présence, dans les milieux réactionnels, de soufre et de polysulfures inorganiques (évoqués précédemment), formés systématiquement lors de nos essais en laboratoire, entraîne l'oxydation des thiols en di- et trisulfures. Nous aborderons plus en détails les voies réactionnelles impliquant les thiols et les sulfures plus loin dans ce chapitre.

Alors que nous n'avons pas pu détecter la présence de thiols homologués d'un ou plusieurs carbones, à partir de l'octanethiol ou du thiophénol, contrairement aux cas où nous avons fait réagir de petits thiols (CH_3SH et CH_3CH_2SH), nous observons cependant des sulfures mixtes, dans des quantités moins importantes que les sulfures symétriques, mettant en évidence la présence de radicaux allongés d'un carbone, $C_8H_{17}SC_9H_{19}$ (voir spectre de masse a, Figure III - 24, page 157), $C_8H_{17}S_2C_9H_{19}$ et $C_6H_5SCH_2C_6H_5$. Nous avons également formé des sulfures mixtes comportant le radical CH_3 , $C_6H_5SCH_3$, $C_6H_5S_2CH_3$ et $C_6H_5S_3CH_3$, montrant que la synthèse du groupement alkyle CH_3 (via la formation de méthanethiol) à partir de CO a bien lieu dans les conditions réactionnelles choisies.

D'autre part, nous observons la synthèse de thioesters à partir du thiophénol, de l'octanethiol mais aussi du méthanethiol, respectivement, $C_6H_5COSC_6H_5$ (voir spectre de masse d, Figure III - 24, page 157), $C_8H_{17}COSC_8H_{17}$ et CH_3COSCH_3 (voir Figure III - 16, page 149), mettant en évidence l'insertion d'un groupement carbonyle sur des molécules de type RSR. Nous avons également détecté des thioesters mixtes tels que $CH_3COSC_6H_5$, $C_6H_5COSCH_3$, $C_8H_{17}COSC_9H_{19}$ et $C_9H_{19}COSC_8H_{17}$, montrant l'insertion de CO sur les composés RSR'. Nous remarquons, d'ailleurs, que les thioesters observés lors des expériences impliquant l'octanethiol, $C_8H_{17}COSC_9H_{19}$ et $C_9H_{19}COSC_8H_{17}$, apportent une preuve supplémentaire de l'allongement de chaîne, sous la forme d'un radical C_9H_{19} avec un carbone de plus, mais aussi par le fait qu'un CO est ajouté sur le radical C_9H_{19} , pouvant ainsi conduire *in fine* à un radical $C_{10}H_{21}$ avec donc deux atomes de carbone de plus. De plus, l'existence de $CH_3COSC_6H_5$ confirme que le processus de formation de liaisons C-C s'applique au radical CH_3 (de CH_3SH) formé à partir de la source carbonée CO, également lors des expériences réalisées en présence d'un substrat

organique. Il est intéressant de rappeler aussi que, d'après les études réalisées lors de la thèse précédente, il est établi que les thioesters sont en partie hydrolysés en acides carboxyliques et en partie impliqués dans des réactions permettant de former des thiols portant un carbone de plus que le thiol de départ. Nous avons par conséquent certainement détecté et identifié des intermédiaires réactionnels essentiels pour le processus de formation de liaisons carbone-carbone et donc d'élongation de chaîne.

D'ailleurs, nos découvertes sont en adéquation avec celles de plusieurs chimistes prébioticiens. En effet, des expériences effectuées par Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997, dans le cadre de la théorie de G. Wächtershäuser proposant une origine de la vie autotrophe centrée sur la pyrite, ont également montré la formation d'un thioester, le thioacétate de méthyle, à partir du méthanthiol, en présence de CO, H₂S et d'un mélange FeS/NiS, dans l'eau à 90°C, à basse pression. Cependant, bien que des acides carboxyliques possédant un ou plusieurs carbones supplémentaires aient été synthétisés lors d'expériences de simulations hydrothermales, réalisées par Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2004a et impliquant le nonanethiol ainsi que l'acide formique comme source de CO, les thioesters correspondants n'ont pas été détectés. Une explication de cette absence de thioesters est, à notre avis, que les conditions opératoires choisies, un chauffage du milieu aqueux à 250°C, ont certainement favorisé une hydrolyse rapide des éventuels thioesters formés comme intermédiaires à partir du nonanethiol. Enfin, De Duve C. - 1996b, 1998 présenta une théorie d'un monde basé sur les thioesters. Selon lui, les thioesters seraient impliqués dans la formation prébiotique de l'ARN, car ils seraient capables de transférer de l'énergie chimique notamment nécessaire pour la synthèse de l'ARN, en subissant un certain nombre de réactions successives. Nous discuterons plus loin, de la formation et de l'intérêt des thioesters en chimie prébiotique (voir C.4.4.4, page 191).

Nous n'avons pas mis en évidence de thioacides, dont la réactivité a été prouvée lors de la thèse précédente. De façon logique, la formation de thioacides RCOSH se fait certainement par insertion de CO sur un thiol RSH. Ces intermédiaires réactionnels sont probablement instables dans les conditions réactionnelles choisies, étant soit réduits rapidement en thiols, soit hydrolysés presque instantanément en acides carboxyliques correspondants, soit transformés en thioesters par attaques nucléophiles de thiols. Par ailleurs, étant donné que nous basifions légèrement le milieu réactionnel à la fin des expériences (pH=7 à 8), les thioacides, possédant des pKa relativement bas (pKa_{acide thioacétique} ≈ 3,3, *cf.* Sayle R. - 2010), sont fort probablement présents dans la phase aqueuse sous forme anionique. Comme les composés organiques présents dans la fraction aqueuse sont analysés après traitement par le mélange butanol/HCl, il est possible que tous les thioacides présents aient été transformés en esters butyliques correspondants.

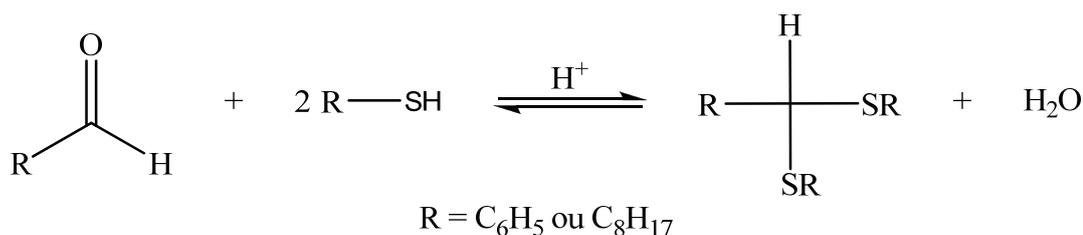
En outre, nous remarquons la synthèse d'acides carboxyliques dérivés en esters butyliques, portant un carbone de plus, C₆H₅COOC₄H₉ et C₈H₁₇COOC₄H₉, portant deux carbones supplémentaires, C₆H₅CH₂COOC₄H₉, C₉H₁₉COOC₄H₉, mais également, pour les essais impliquant le thiophénol, portant trois carbones en plus, C₆H₅CH₂CH₂COOC₄H₉.

La présence d'acides carboxyliques témoignant un allongement de chaîne allant jusqu'à trois carbones et l'existence de thioesters comportant jusqu'à deux carbones supplémentaires mettent en évidence un processus itératif de formation de liaisons carbone-carbone successives à partir

de thiols peu volatils utilisés comme substrats organiques, en présence de CO, H₂S, NiS ou Ni(0). Ces découvertes s'ajoutent à celles citées précédemment concernant le processus d'élongation de deux carbones appliqué à des petits thiols.

Par ailleurs, au cours des expériences présentées précédemment, nous avons mis en évidence la présence de composés carbonylés. Nous verrons un peu plus loin que ces composés détiennent une place cruciale dans les processus d'élongation de chaînes (*cf.* C.4.2, page 172). Nous pouvons déjà mentionner à cet égard que, dans les conditions expérimentales mises en œuvre, les aldéhydes peuvent subir très facilement une réaction de sulfuration réductrice conduisant aux thiols correspondants (*cf.* Schouten S. *et al.* - 1994 ; Schneckenburger P. *et al.* - 1998). Il s'agit là d'une réaction très efficace et bien établie qui affecte la matière organique sédimentaire déposée en milieux anoxiques où se déroule la sulfato-réduction et où de grandes quantités de H₂S sont produites. Il en résulte que les aldéhydes ont été envisagés comme étant les précurseurs des thiols possédant une chaîne homologuée, et donc également des mono- et disulfures apparentés à ces thiols. Il est donc important de mentionner que ces résultats constituent un des points les plus innovants des travaux de recherche de cette thèse, sur lequel nous reviendrons bien évidemment en détails plus tard dans ce chapitre.

Ainsi, dans le cas des expériences faisant intervenir le thiophénol, nous avons identifié des cétones, C₆H₅COC₆H₅ (voir spectre de masse c, Figure III - 24, page 157) et C₆H₅COCH₃ (non quantifiable à cause d'une co-élution avec un autre produit). Nous avons d'ailleurs pu voir CH₃COCH₃ lors d'expériences impliquant le méthanthiol (voir Figure III - 16, page 149). De plus, nous avons observé la présence d'aldéhydes sous la forme C₆H₅CHO (traces) (voir spectre de masse e, Figure III - 25, page 158) ou sous les formes dérivées C₆H₅CH(SC₆H₅)₂ et C₈H₁₇CH(SC₈H₁₇) (voir spectres de masse f et g, Figure III - 25, page 158). Sachant que les aldéhydes sont des composés très réactifs (*cf.* par exemple, la réaction de sulfuration réductrice mentionnée plus haut), il n'est pas étonnant qu'ils n'existent qu'en faibles proportions sous leur forme libre, lors des expériences de simulation que nous avons réalisées. En effet, nous n'avons pu détecter un aldéhyde que lors de l'essai impliquant du thiophénol et du Ni(0). Par chance, lors des essais présentés ci-dessus, les aldéhydes peuvent subir une attaque nucléophile par les thiols présents comme réactifs et éventuellement par les thiols formés *in situ*, pour conduire à des dithioacétals (*cf.* molécules entourées, Figure III-21, page 155 et Figure III - 22, page 156), comme le montre la Réaction III - 18. La détection de ces dithioacétals montre donc sans ambiguïté la formation d'aldéhydes dans les conditions réactionnelles mises en œuvre.



Réaction III - 18 - Formation des dithioacétals observée lors des expériences mettant en jeu le thiophénol et l'octanethiol

La réaction de thioacétalisation nous a permis au final de mettre en lumière la présence des aldéhydes, en quelques sortes en les protégeant un peu des autres réactions possibles dans les conditions de nos expériences de simulations, en particulier la sulfuration réductrice en thiols. Les thiols homologues ainsi formés existent cependant puisqu'ils réintègrent le processus itératif d'élongation de chaîne pour conduire aux différents composés allongés de 2 ou 3 atomes de carbone.

A cet égard, les cétones semblent moins sujettes aux attaques nucléophiles de thiols logiquement également possibles dans nos conditions opératoires. En effet, nous n'avons pas détecté les dithiocétals correspondants.

L'identification du dithioacétal $\text{CH}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2$ en CG/SM (*cf.* spectre de masse h, Figure III - 25, page 158) observé lors d'une expérience mettant en jeu le thiophénol en présence de CO, H_2S et Ni(0) révèle, par ailleurs, la présence de formol dans le milieu réactionnel. Or, il pourrait s'agir là d'un intermédiaire de formation du méthanthiol à partir du monoxyde de carbone. En effet, une fois formé, le formaldéhyde peut subir dans les conditions expérimentales mises en œuvre une réaction de sulfuration réductrice induite par H_2S (voir les essais impliquant H^{13}CHO , partie C.3.2.2, page 167, et Figure III - 30, page 168).

Les composés carbonylés cités, mis à part le méthanal, témoignent encore une fois de l'ajout d'un carbonyle au niveau du thiol de départ CH_3SH , $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$ et $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{SH}$. Ces molécules carbonylées sont des intermédiaires réactionnels dont nous discuterons plus loin la formation et l'intérêt en chimie prébiotique (*cf.* C.4.2, page 172).

Enfin, dans le cas du thiophénol, le biphényle résultant de la dimérisation réductrice du thiophénol a été observé (voir spectre de masse b, Figure III - 24, page 157). Cette réaction de couplage n'a pas été observée dans le cas des expériences avec l'octanethiol.

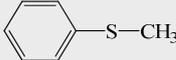
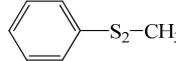
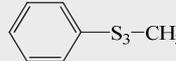
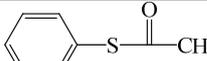
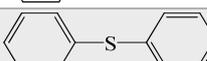
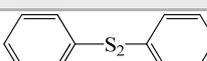
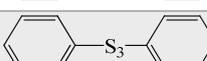
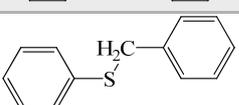
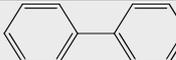
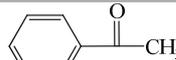
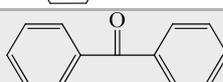
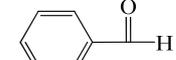
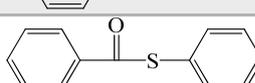
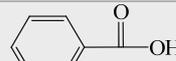
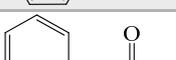
Produits (j)	Nombre de mol n_j (mol)	Concentration (mol/L)	Rendement de synthèse (%)
	$1,55 \cdot 10^{-9}$	$7,53 \cdot 10^{-8}$	$1,51 \cdot 10^{-4}$
	$1,29 \cdot 10^{-7}$	$6,27 \cdot 10^{-6}$	$1,26 \cdot 10^{-2}$
	$9,26 \cdot 10^{-8}$	$4,50 \cdot 10^{-6}$	$9,02 \cdot 10^{-3}$
	$1,94 \cdot 10^{-9}$	$9,42 \cdot 10^{-8}$	$1,89 \cdot 10^{-4}$
	$7,24 \cdot 10^{-9}$	$3,51 \cdot 10^{-7}$	$1,41 \cdot 10^{-3}$
	$2,52 \cdot 10^{-6}$	$1,22 \cdot 10^{-4}$	$4,91 \cdot 10^{-1}$
	$1,54 \cdot 10^{-6}$	$7,48 \cdot 10^{-5}$	$3,00 \cdot 10^{-1}$
	Non quantifiable Coélution		
	$1,14 \cdot 10^{-9}$	$5,51 \cdot 10^{-8}$	$2,21 \cdot 10^{-4}$
	Non quantifiable Co-élution		
	$7,54 \cdot 10^{-10}$	$3,66 \cdot 10^{-8}$	$1,47 \cdot 10^{-4}$
	Non quantifiable Traces		
	$1,50 \cdot 10^{-8}$	$7,27 \cdot 10^{-7}$	$1,46 \cdot 10^{-3}$
	$8,53 \cdot 10^{-8}$	$4,14 \cdot 10^{-6}$	$1,66 \cdot 10^{-2}$
	$1,46 \cdot 10^{-8}$	$7,11 \cdot 10^{-7}$	$1,43 \cdot 10^{-3}$
	$2,29 \cdot 10^{-10}$	$1,11 \cdot 10^{-8}$	$2,23 \cdot 10^{-5}$
	$2,54 \cdot 10^{-10}$ <i>Probable co-élution</i>	$1,23 \cdot 10^{-8}$	$2,47 \cdot 10^{-5}$
	$2,14 \cdot 10^{-8}$	$1,04 \cdot 10^{-6}$	$4,17 \cdot 10^{-3}$
	Σn_j (mol)		ΣR_j (%)
	$4,44 \cdot 10^{-6}$		0,84

Figure III - 26 - Résultats de la quantification des produits organiques issus d'une expérience en flacon Sovirel impliquant le thiophénol (1mmol C_6H_5SH , 20mL H_2O , 1mmol $NiCl_2$, 1,25mmol Na_2S , CO, $3,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 50°C, 4 jours) (cf. les chromatogrammes correspondants dans la Figure III - 19 et la Figure III - 20)

$$(R_j = N_j \cdot \frac{n_j}{n_{thiophénol,0}} \cdot 100 \text{ et } N_j = \text{nombre d'unités phényle dans le composé } j)$$

Dans la Figure III - 26 (page 163), nous avons résumé les produits d'intérêt prébiotique observés lors d'un essai en Sovirel impliquant du thiophénol et NiS et nous avons présenté les résultats de la quantification de la fraction organique extraite (étalon interne = triacontane) et de la fraction aqueuse traitée au butanol/HCl (étalon interne = acide myristique) (*cf.* chapitre II, D.2.2, page 105). D'autres composés ont été observés. Cependant, nous les avons jugés moins intéressants pour l'étude du processus de formation de liaisons C-C et nous les mentionnerons d'ailleurs dans le chapitre IV (voir page 214).

Nous remarquons que seule une partie des molécules observées dans la Figure III - 19 et la Figure III - 20 et listées dans la Figure III - 26 témoigne de l'allongement de chaîne à partir du thiophénol, en présence de CO, H₂S et NiS. Les autres composés sont considérés comme des produits secondaires dans le cas de nos recherches. Nous discuterons d'ailleurs plus loin dans ce chapitre du processus impliqué dans l'augmentation de la longueur de chaîne ainsi que des réactions entraînant la synthèse des produits secondaires.

Nous observons que les composés issus de la formation de liaisons C-C, la benzophénone, le thiobenzoate de méthyle, le thiobenzoate de phényle, l'acide benzoïque et ses deux homologues allongés de un et deux atomes de carbones, ont été formés avec un rendement de 1,35% par rapport au thiophénol, dont 99,58% correspondent à l'allongement de un atome de carbone.

Le rendement d'élongation a été calculé selon l'équation suivante :

$$R_{\text{élongation}} = \frac{\sum(n_{\text{composé allongé}})}{\sum(n_j \times N_j)} \times 100$$

n_j = nombre de moles de composé j, qu'il soit allongé ou non

N_j = nombre d'unités phényles dans le composé j

Ces résultats démontrent que les réactions abiotiques dans l'eau, le solvant de la vie, sont peu efficaces, du moins dans les conditions opératoires mises en œuvre. Les réactions secondaires, dont la formation de mono et poly-sulfures ou la dimérisation, sont malheureusement plus favorisées lors des expériences que nous avons réalisées.

Certains facteurs opératoires sont certainement limitants et/ou défavorables pour la formation de liaisons C-C et l'élongation de chaînes, et ne représentent pas les réelles conditions supposées avoir régné aux alentours des fumeurs noirs. A cet égard, un point très important est que nos expériences ont été effectuées en réacteurs fermés, alors que les fumeurs noirs sont des sites où existe une arrivée constante de matières premières. Dans de telles conditions, les réactions d'intérêt prébiotique seraient peut-être plus efficaces qu'elles ne sont en réacteur fermé.

Il est important de remarquer que le rendement d'élongation de chaîne que nous présentons dans ce manuscrit n'est pas une exception parmi les travaux de recherche en chimie prébiotique. Il est en effet courant d'observer de si faibles rendements (*cf.* Miller S.L. - 1959, Schwartz A.W. - 2007 ; Aubrey A.D. *et al.* - 2009 et références citées). La synthèse abiotique de composés organiques demeure difficile, dans l'état actuel des recherches dans ce domaine.

Par ailleurs, nos résultats de la quantification présentent cependant des quantités très faibles de produits réactionnels, qu'ils soient caractéristiques ou non d'un processus d'élongation. Nous avons en effet présenté, dans la Figure III - 26, les rendements de synthèse de chaque molécule par rapport à la quantité initiale de thiophénol. La somme des rendements de synthèse est légèrement inférieure à 1% lorsqu'on comptabilise toutes les espèces descendant du thiophénol. Alors que presque tout le thiophénol a réagi, il nous semble évident que nous avons perdu de la matière.

Comme nous l'avons mentionné au préalable (voir page 147), nous avons suspecté le bouchon utilisé lors des expériences en flacon Sovirel de piéger les molécules gazeuses ou volatiles. En fait, le flacon Sovirel étant chauffé par un bain d'huile, le bouchon constitue un point froid dans le montage et il est fort possible que des composés s'y condensent, voire même s'y adsorbent, lors des expériences. Le bouchon étant en matière plastique, nous devons éviter de le rincer à la fin de l'expérience afin d'éviter d'entraîner des pollutions. Il faut remarquer que cette perte de matière a également été remarquée lors d'essais quantitatifs en autoclave.

Enfin, il est également possible que les réactifs, tels que le thiophénol, soient consommés par la formation de composés secondaires insolubles dans l'eau et les solvants organiques (dichlorométhane), et que nous ne pouvions ainsi pas les extraire et les identifier (*cf.* Schwartz A.W. - 2007).

Nous avons pu remarquer qu'il n'y pas, du point de vue qualitatif, de grandes différences entre les expériences réalisées avec NiS et celles effectuées avec Ni(0). Les composés chimiques d'intérêt sont en effet observés dans les deux cas, témoignant principalement de l'insertion de CO et de l'allongement de chaîne. Quelques petites différences sont toutefois notées concernant les aldéhydes et les cétones. La présence des thioacétals dans le cas de l'utilisation de Ni(0) sera notamment expliquée lors de la discussion de la formation et du rôle des aldéhydes (voir C.4.2, page 172). De plus, la benzophénone est probablement présente dans le cas de Ni(0), comme lors des essais avec NiS, mais le pic correspondant est certainement masqué par le pic d'une contamination. En effet, deux gros pics correspondant à des pollutions ont été exceptionnellement observés lors de l'essai mettant en jeu le thiophénol et Ni(0) et un des pics a le même temps de rétention que la benzophénone (voir chromatogramme a, 40min, Figure III - 21, page 155).

Du point de vue quantitatif, nous ne possédons pas d'information, mais nous pouvons supposer que la répartition des produits et intermédiaires réactionnels est différente dans les deux cas et que les quantités obtenues sont meilleures lors de l'utilisation du métal réduit, étant donné que ce dernier est proposé comme intermédiaire réactionnel catalytique (*cf.* Dubant S. - 2004).

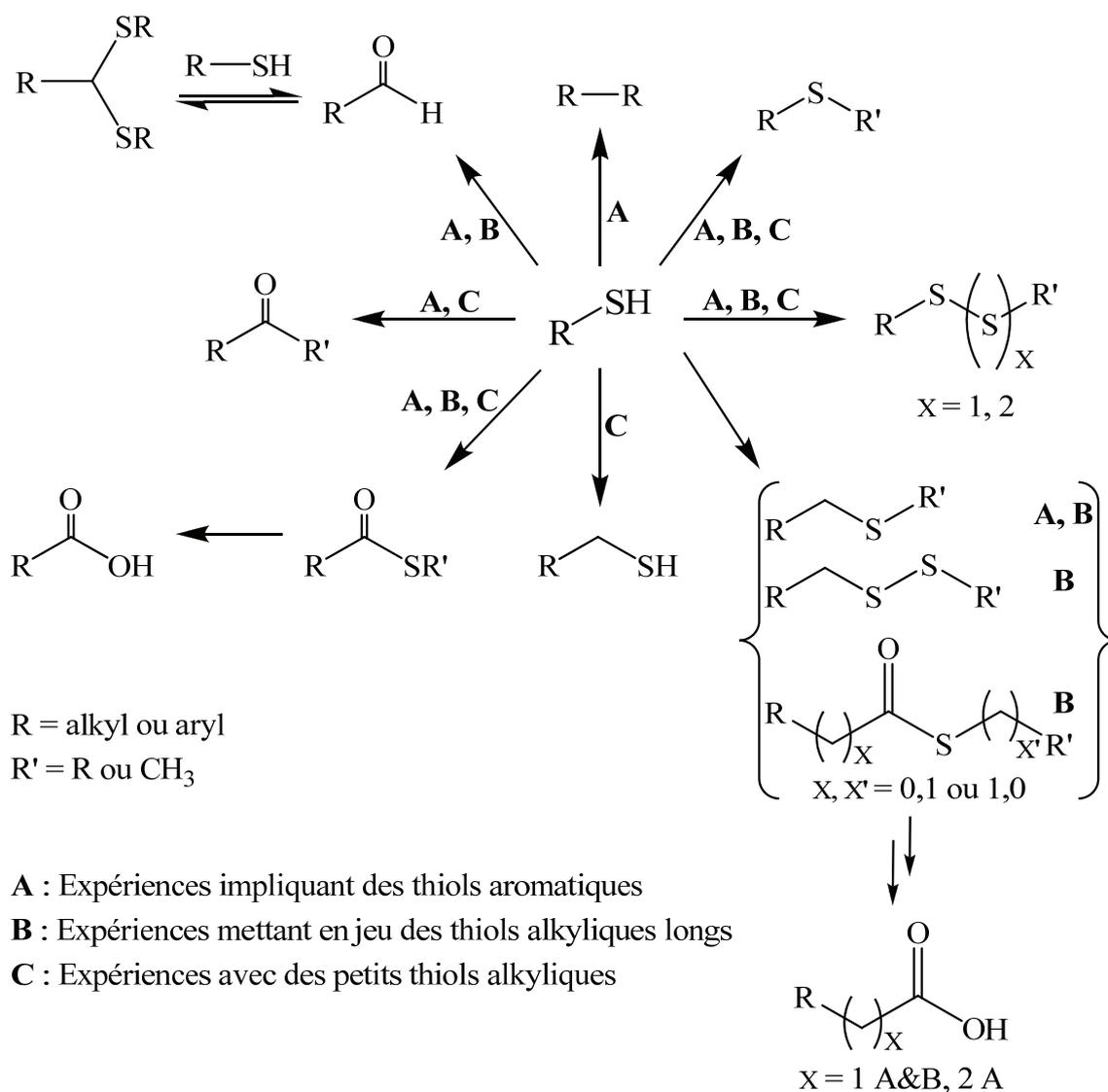


Figure III - 27 - Résumé des réactions subies par les thiols lors des expériences de simulation hydrothermales que nous avons réalisées

Les diverses transformations subies par les thiols, dans les conditions réactionnelles simulant les conditions hydrothermales, mettant en jeu CO, H₂S, en milieu aqueux, en présence de NiS précipité *in situ* ou de Ni(0), sont résumées dans la Figure III - 27. Les réactions mentionnées ont lieu de façon générale pour de petits thiols, dont le méthane-thiol, le plus petit, comme pour des thiols plus longs et lipophiles. Par conséquent, il semble qu'un processus d'élongation de chaîne implique les thiols quelle que soit leur longueur. Il est ainsi raisonnable d'envisager l'obtention de chaînes hydrocarbonées saturées de plus en plus longues par élongation successive de thiols, en partant du méthane-thiol, probablement synthétisé par réduction du monoxyde de carbone

C.3.2.2 Étude de la filiation entre différents produits observés dans les expériences de simulation. Utilisation de substrats marqués au carbone 13

Tout d'abord, il est évident que CH_3SH est formé à partir de CO . Le mécanisme réactionnel impliqué est encore incertain, mais il est logique d'envisager l'existence de plusieurs intermédiaires réactionnels. Il est utile à ce stade d'impliquer une source carbonée marquée au carbone 13, afin de mettre en évidence les différents intermédiaires et les produits réactionnels mis en jeu lors des expériences typiques, qui seront évidemment marqués au ^{13}C . Le ^{13}CO serait le candidat idéal, mais nous ne disposons pas de source de ^{13}CO au laboratoire. Nous précisons que nous envisageons l'implication du formaldéhyde, comme intermédiaire réactionnel, dans la synthèse du méthaneithiol. L'utilisation de H^{13}CHO permettrait de tester cette hypothèse. De plus, le formaldéhyde étant une molécule mono-carbonée, il est un précurseur chimique simple conforme à nos exigences et peut alors servir de deuxième source de carbone marquée au ^{13}C .

Une expérience de simulation en autoclave mettant en jeu 1,5mmol de formaldéhyde marqué au carbone 13 dans des conditions réactionnelles typiques des simulations hydrothermales (20mL H_2O , 1mmol NiCl_2 , 1mmol Na_2S , $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl , 5bar H_2S , 5bar CO) a permis de mettre en évidence la filiation entre le formaldéhyde, source carbonée marquée, et les composés observés, comme le montre la Figure III - 28.

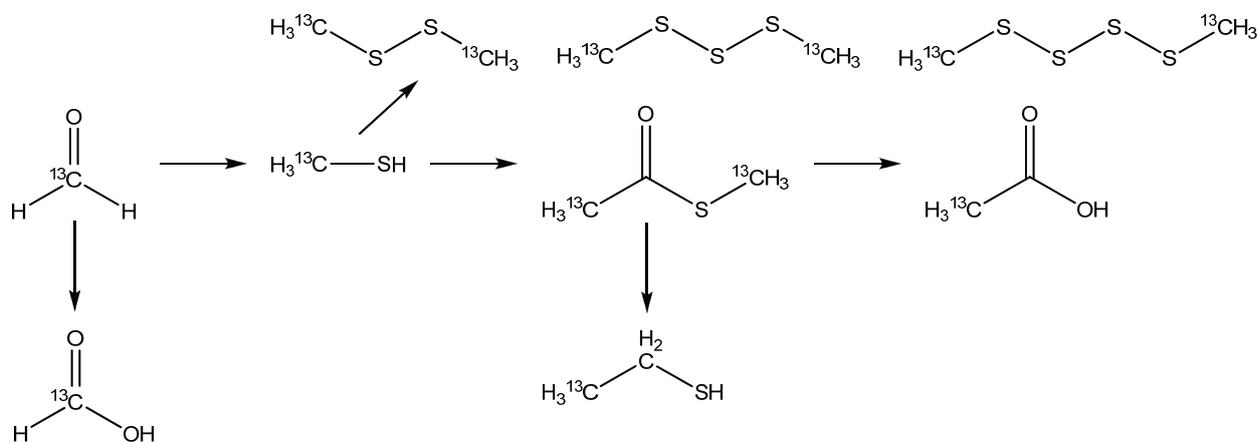


Figure III - 28 - Composés marqués observés lors d'un essai en autoclave mettant en jeu $^{13}\text{CH}_2\text{O}$. Relations entre les différents produits

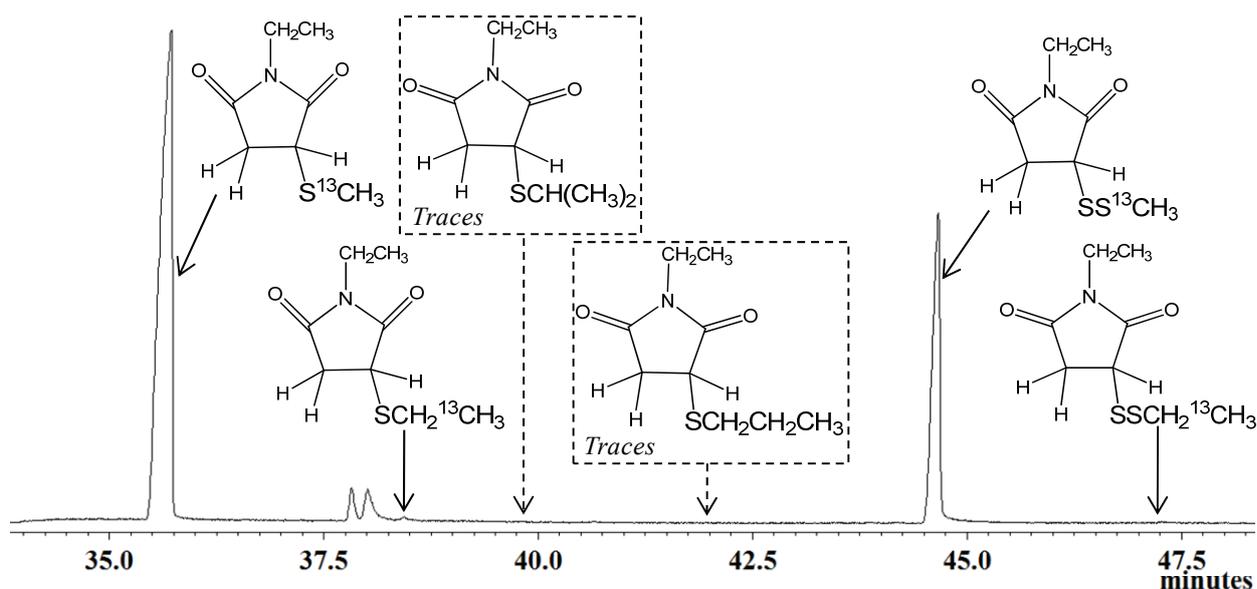


Figure III - 29 - Chromatogramme en phase gazeuse de la phase liquide d'une expérience de simulation en autoclave avec $^{13}\text{CH}_2\text{O}$, après dérivation des thiols avec la NEM (1,5mmol $^{13}\text{CH}_2\text{O}$, 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C , 4,5 jours) (Fibre SPME PDMS/DVB, Colonne HP5, 25°C (5min); $25\text{-}300^\circ\text{C}$ ($3^\circ\text{C}/\text{min}$); 300°C (15min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN)

La Figure III - 30 et la Figure III - 31 correspondent aux spectres de masse (IE) de NEM-S- $^{13}\text{CH}_3$ et $\text{H}_3^{13}\text{CCOS}^{13}\text{CH}_3$.

Enfin, la Figure III - 32 résume la distribution $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$, observée en CG/SM (IE et IC), pour les ions M^+ de l'éthanethiol dérivé, M+1 du formiate butylique et M+1 de l'acétate butylique. Ces composés n'étant pas très concentrés, les spectres de masse ne sont pas très nets dans ce cas et nous préférons la représentation plus visuelle sous la forme de fragmentogrammes.

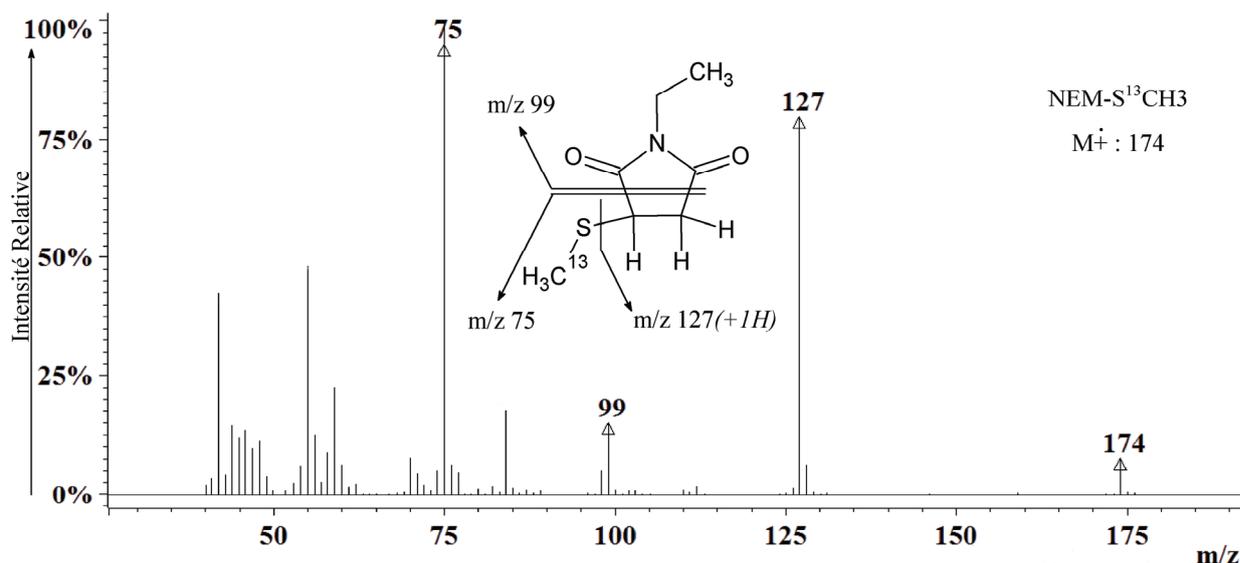


Figure III - 30 - Spectre de masse de NEM-S- $^{13}\text{CH}_3$ observé lors de l'expérience de simulation en autoclave avec $^{13}\text{CH}_2\text{O}$, après dérivation des thiols avec la NEM. (1,5mmol $^{13}\text{CH}_2\text{O}$, 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C , 4,5 jours) (IE, 70eV logiciel MS Data Review VARIAN)

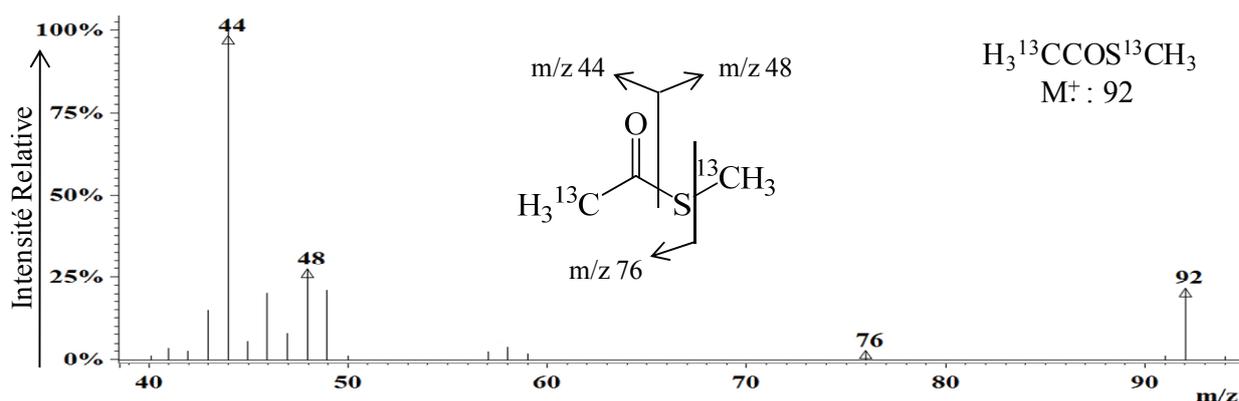


Figure III - 31 - Spectre de masse de $H_3^{13}CCOS^{13}CH_3$ observé dans les gaz de tête issus de l'expérience en autoclave avec $^{13}CH_2O$ (Fibre SPME CAR/PDMS, Colonne HP5, 25°C (10min); 25-300°C (3°C/min); 300°C (15min)) (1,5mmol $^{13}CH_2O$, 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C, 4,5 jours) (IE, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

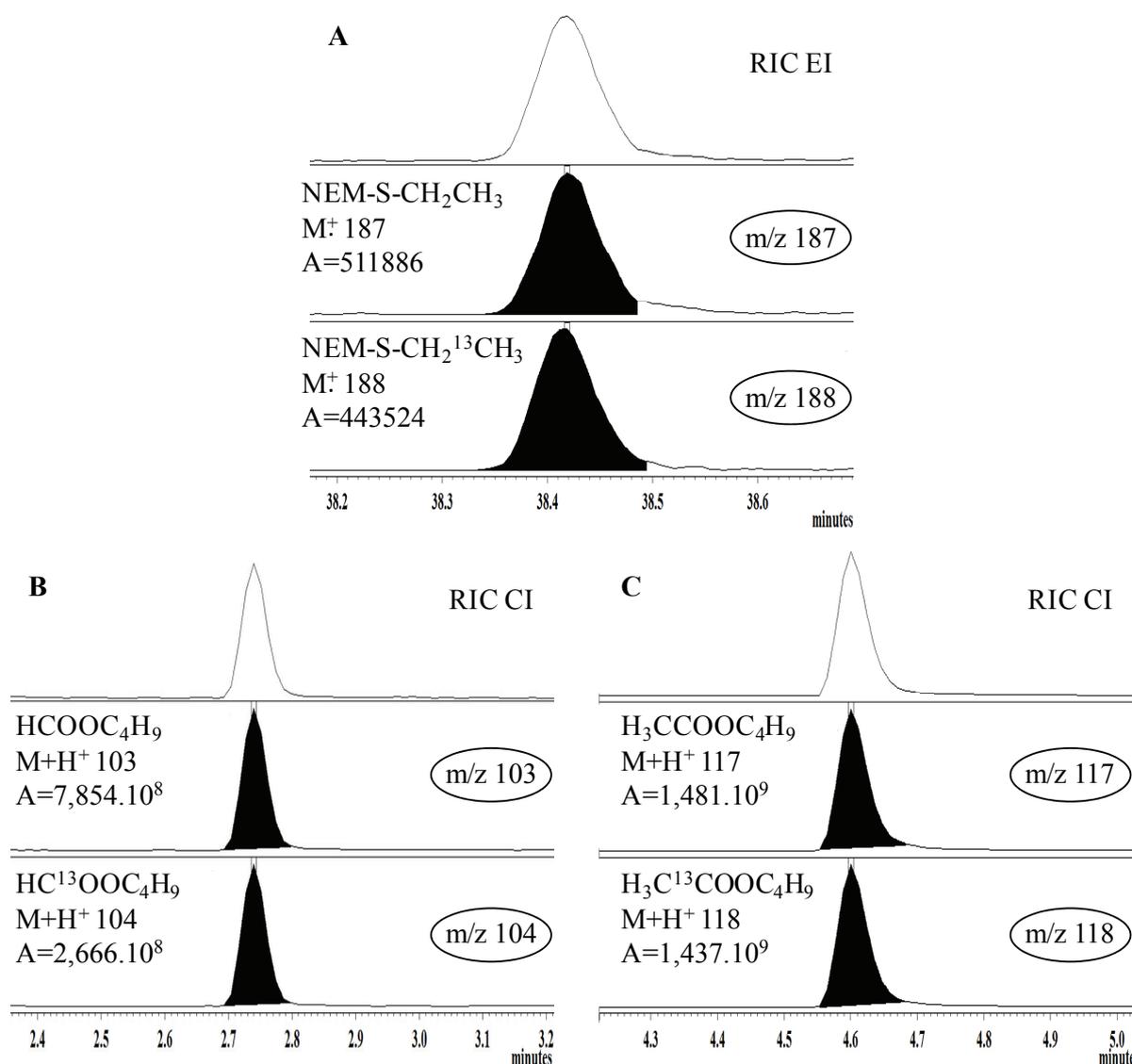


Figure III - 32 – Fragmentogrammes de masse correspondants aux ions M^+ ou $M+1$ de quelques composés observés lors de la simulation en autoclave avec $^{13}CH_2O$. A : éthanethiol dérivé avec la NEM. B et C : acides carboxyliques dérivés (1,5mmol $^{13}CH_2O$, 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C, 4,5 jours) (IE, 70eV et IC à l'isobutane, logiciel MS Data Review VARIAN)

Nous avons donc observé du méthanethiol marqué au ^{13}C sous la forme de NEM-S- $^{13}\text{CH}_3$ (voir le chromatogramme Figure III - 29 et le spectre de masse Figure III - 30). Le méthanethiol est probablement obtenu par sulfuration réductrice du formaldéhyde marqué (*cf.* Schouten S. *et al.* - 1994 ; Schneckenburger P. *et al.* - 1998).

A partir de $^{13}\text{CH}_3\text{SH}$, une insertion de CO entraîne la formation du thioester $\text{H}_3^{13}\text{CCOS}^{13}\text{CH}_3$ marqué deux fois au carbone 13. Le spectre de masse (IE) correspondant est illustré dans la Figure III - 31.

L'étape suivante est la synthèse de $^{13}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$ (observé sous la forme NEM-S- $\text{CH}_2^{13}\text{CH}_3$, voir le RIC Figure III - 29 et le fragmentogramme Figure III - 32 A), portant le carbone 13 du méthanethiol dont il est le descendant et un carbone 12 provenant de l'insertion de CO citée précédemment.

Par ailleurs, le thioester $\text{H}_3^{13}\text{CCOS}^{13}\text{CH}_3$ est en partie hydrolysé en acide acétique marqué, portant un carbone 13 (voir le fragmentogramme Figure III - 32 C).

De plus, le formaldéhyde est en partie oxydé en acide formique (voir le fragmentogramme Figure III - 32 B).

Enfin, des traces de propanethiol primaire et secondaire ont été détectées ne permettant toutefois pas de nous prononcer sur l'éventuelle présence d'un ou plusieurs carbones 13 (*cf.* RIC Figure III - 29).

Étant donné que le formaldéhyde n'est pas la seule source carbonée, puisque CO est également présent en grande quantité, des molécules non marquées ont également été synthétisées, CH_3SH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$, HCOOH , CH_3COOH , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$, ainsi que des traces de 2-propanethiol et de 1-propanethiol. La Figure III - 32 illustre d'ailleurs cette coexistence $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ pour trois de ces composés.

Notons que nos résultats rappellent ceux de Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 qui ont constaté que du thioacétate de méthyle et de l'acide acétique étaient formés en solution aqueuse, par réaction du méthanethiol et du monoxyde de carbone en présence de sulfure de fer et de nickel, lors d'expériences reproduisant les conditions supposées avoir régné au niveau des fumeurs noirs sur la terre primitive (100°C, conditions de pH et de pression variées, FeS et NiS précipités *in situ*). Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 proposent d'ailleurs également que l'acide acétique résulterait de l'hydrolyse partielle du thioester. De plus, nous confirmons les découvertes de Dubant S. - 2004 qui a également montré la synthèse de thioacétate de méthyle et d'acide acétique lors d'expériences de simulation mettant en jeu CO_2/CO (8bar), H_2S (4bar) et des sulfures métalliques (FeS, NiS, CoS, PbS *etc.*) dans l'eau, dans des conditions expérimentales très proches des nôtres (90°C, pH≈4).

C.4 Discussion des résultats

C.4.1 Processus itératif d'élongation de chaîne

Les expériences réalisées en autoclave à partir du monoxyde de carbone comme seule source carbonée, les essais effectués en autoclave en présence de CO et de petits thiols ou de méthanal, ainsi que les simulations en flacons en verre impliquant des thiols plus longs et le monoxyde de carbone ont permis de mettre en évidence la synthèse de thiols ou d'autres composés possédant une chaîne hydrocarbonée (détectés sous la forme de sulfures, de thioesters ou d'acides carboxyliques) homologués d'un ou plusieurs atomes de carbone et formés à partir d'un thiol aliphatique ou aromatique choisi comme substrat ou à partir du méthanethiol directement issu de la sulfuration réductrice du monoxyde de carbone. Cette découverte est en adéquation avec celles de la thèse précédente (voir Dubant S. - 2004) et confirme l'existence d'un processus itératif prébiotique entraînant, à partir de CO et en passant par CH_3SH , la synthèse de thiols et d'acides carboxyliques de toutes longueurs de chaînes.

Ce processus, résumé dans la Figure III - 33 est principalement basé sur deux types de réactions, l'insertion de CO au niveau de la liaison carbone-soufre de thiols ou au niveau de la liaison hydrogène-soufre de H_2S , ainsi que la réduction et la sulfuration suivantes pour former un thiol homologué d'un carbone.

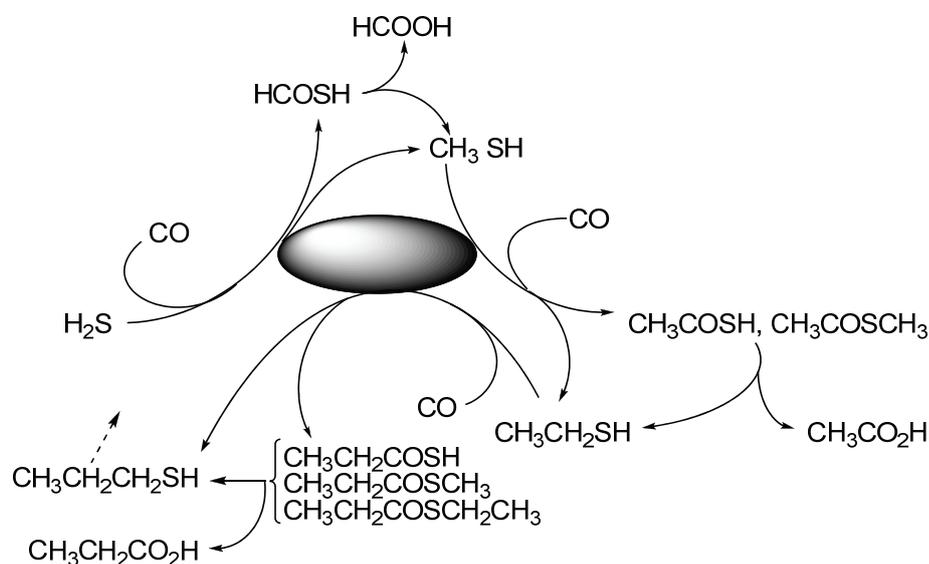


Figure III - 33 - Processus itératif d'élongation des thiols opérant en présence de CO, H_2S et NiS

Les thioesters et thioacides sont des intermédiaires réactionnels incontestables du processus itératif, puisqu'il a été montré, d'une part, qu'ils sont formés au cours du processus et, d'autre part, qu'ils peuvent être en partie réduits en thiols dans les conditions mises en œuvre (cf. Figure III - 14, page 145 et Dubant S. - 2004). Toutefois, nous n'excluons pas la possibilité que d'autres

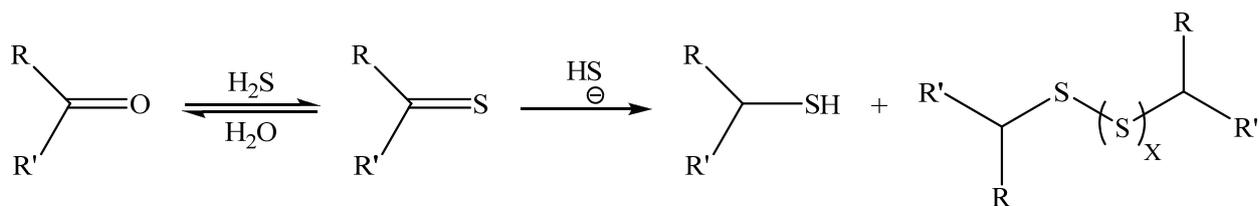
intermédiaires réactionnels puissent être également réduits en thiols. Cette éventualité sera éclaircie dans les discussions à suivre.

L'étape réductrice suivant l'insertion de CO semble essentielle au cycle de réactions de formation de liaisons carbone-carbone, puisqu'elle permet de former des thiols homologués pouvant intégrer de nouveau le processus de synthèse conduisant à l'élongation de chaîne.

C.4.2 Rôle intermédiaire clé des aldéhydes dans le processus itératif de synthèse de petits composés organiques

Les expériences de simulation en flacons en verre impliquant CO, H₂S, l'octanethiol ou le thiophénol, dans l'eau, en présence de Ni(0) comme catalyseur, ont conduit à la synthèse des mêmes produits et intermédiaires réactionnels que les essais réalisés en présence de NiS précipité *in situ*. Il s'agit, notamment, de sulfures symétriques et mixtes, de thioesters, d'acides carboxyliques, de cétones et d'aldéhydes, témoignant du processus itératif d'élongation de chaîne. Nous avons toutefois observé une plus grande quantité d'aldéhydes présents sous leur forme libre ou sous la forme dérivée de thioacétals dans le cas des expériences réalisées avec Ni(0). En effet, lors de l'essai impliquant le thiophénol en présence de NiS, nous avons pu observer des traces de benzaldéhyde, non quantifiables. Les expériences réalisées avec du métal réduit ont, par contre, permis de mettre en évidence la présence significative du benzaldéhyde et du dithioacétal correspondant, pour le cas du thiophénol, ainsi que l'existence certaine du dithioacétal dérivé du nonanal pour le cas de l'octanethiol (voir molécules entourées, Figure III - 21 et Figure III - 22, pages 155 et 156). Les aldéhydes et leurs dérivés ont été identifiés sans ambiguïté par comparaison de leur spectre de masse (voir spectres f et g, Figure III - 25, page 158) et de leur comportement chromatographique avec ceux de molécules de référence, synthétisées spécialement pour les comparaisons (C₆H₅-S-CH₂-S-C₆H₅, C₆H₅-CH-(S-C₆H₅)₂ et C₈H₁₇-CH-(S-C₈H₁₇)₂, voir Chapitre II :E.2.2.5, page 111). Les aldéhydes semblent être des intermédiaires réactionnels, puisqu'ils paraissent instables et difficilement détectables dans les conditions de simulations hydrothermales.

En fait, les aldéhydes peuvent être considérés comme les précurseurs directs des thiols allongés. En effet, la sulfuration réductrice des aldéhydes en thiols par le sulfure d'hydrogène en milieu aqueux, comme évoqué précédemment, est une réaction géochimique bien connue et efficace, qui ne nécessite pas de catalyse par un métal de transition (*cf.* Schouten S. *et al.* - 1994 ; Schneckenburger P. *et al.* - 1998). D'ailleurs, la grande réactivité des aldéhydes avec H₂S explique sans doute également que ces derniers soient difficiles à détecter dans les mélanges réactionnels issus des expériences que nous avons réalisées.



R, R' = alkyle, aryle, hydrogène

Réaction III - 19 - Formation de thiols et des dimères correspondants par réaction de cétones et d'aldéhydes avec H_2S en milieu aqueux (Schneckenburger P. et al. - 1998)

La Réaction III - 19 montre la formation de thiols à partir de cétones ou d'aldéhydes. Un premier équilibre conduit à des thiocarbonyles. Puis, la réduction de ces derniers entraîne la formation de thiols et des dimères correspondants. Il a été démontré par Schouten S. *et al.* - 1994, Adam P. *et al.* - 2000 et Hebling Y. *et al.* - 2006 que cette réaction participe à la sulfuration de la matière organique sédimentaire déposée dans des environnements anoxiques riches en soufre, lieux où se développe une intense activité de bactéries sulfato-réductrices.

Ainsi, les aldéhydes seraient des intermédiaires réactionnels clés du processus d'élongation, étant donné que leur sulfuration réductrice conduit à des thiols homologués pouvant intégrer à leur tour et donc alimenter le cycle de réactions de formation de liaisons carbone-carbone.

Par ailleurs, nous pouvons remarquer que les aldéhydes ont été détectés uniquement à l'état de traces, lors des expériences en présence de CO, H_2S formé *in situ* et NiS précipité *in situ*, alors que dans le cas des essais avec CO, Ni(0) et H_2S formé *in situ*, des quantités significatives d'aldéhydes sous leur forme libre ou sous la forme de dérivés, de dithioacétals, ont été observées. Le fait de ne détecter que des traces d'aldéhydes en présence de NiS et H_2S peut être expliqué par une sulfuration réductrice très efficace des aldéhydes par H_2S (voir Schneckenburger P. *et al.* - 1998). Lors des expériences réalisées avec Ni(0) et H_2S , H_2S est formé *in situ* par l'acidification d'une solution aqueuse contenant Na_2S . H_2S est alors un réactif limitant. Enfin, une consommation progressive de H_2S par la réaction d'oxydation de Ni(0) en NiS est envisageable et pourrait avoir réduit la concentration de H_2S dans de telles proportions que la quantité restante est suffisamment faible pour limiter le rendement de la sulfuration réductrice des aldéhydes par H_2S . Cette diminution de l'avancement de la transformation des aldéhydes en thiols entraîne une accumulation significative d'aldéhydes dans le milieu réactionnel ainsi que la formation des dithioacétals correspondants en présence des thiols de départ.

Les résultats cités précédemment, appuyés par des réactions parfaitement connues impliquant les aldéhydes, suggèrent un rôle clé des aldéhydes en tant qu'intermédiaires réactionnels labiles au sein d'un processus itératif catalysé par des sulfures de métaux de transition. Ce cycle catalytique conduit, à partir de CO, à des thiols, des acides carboxyliques, des thioacides et des thioesters, dans des conditions compatibles avec celles régnant au niveau des fumeurs noirs.

Nous pouvons désormais proposer un processus chimique d'élongation des thiols, basé sur nos découvertes attestant de la place centrale des aldéhydes. Ce cycle fondé sur l'existence des aldéhydes est résumé dans la Figure III - 34.

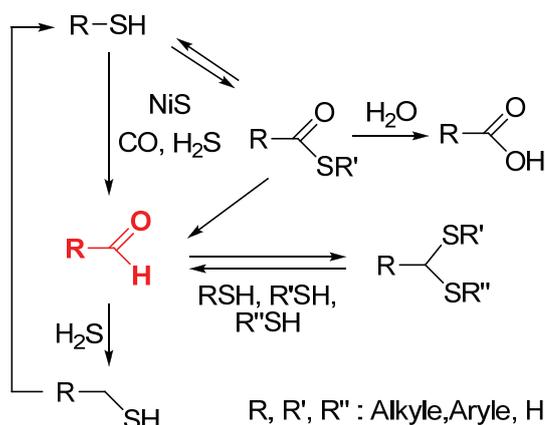


Figure III - 34 - Processus itératif d'élongation des thiols : rôle central des aldéhydes

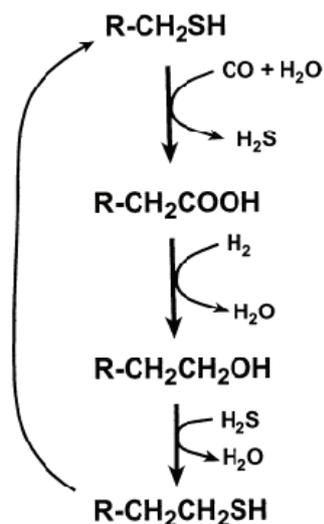
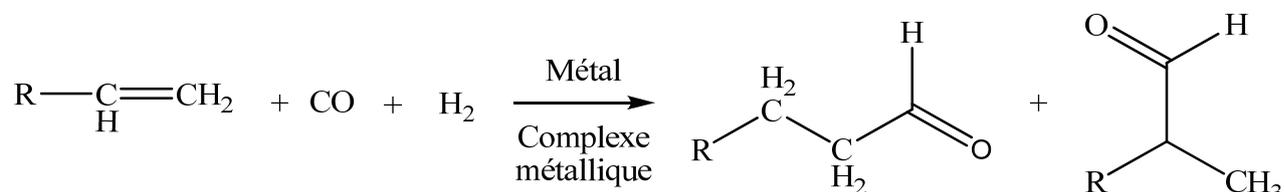


Figure III - 35 - Schéma réactionnel hypothétique proposé par McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007

Le cycle catalytique que nous proposons est une alternative à celui présenté par McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007 pour rendre compte des résultats observés par Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996 et Cody G.D. *et al.* - 2004a pour l'élongation des thiols. Le schéma réactionnel proposé par McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007 est résumé dans la Figure III - 35. McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007 proposent, en effet, un rôle d'intermédiaires réactionnels pour les acides carboxyliques obtenus par insertion de CO au niveau des thiols de départ et portant donc un carbone supplémentaire. Ils attribuent, de plus, aux alcools formés par réduction des acides un rôle de précurseurs directs des thiols homologués. Enfin, les thiols résultant de ce cycle d'élongation intègrent de nouveau le processus. De cette façon, McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007 tentent d'expliquer la formation de thiols alkyliques de C_1 à C_5 relatée par Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996, à partir de CO_2 , en présence de H_2S et FeS , et envisagent le rôle clé des acides carboxyliques C_{10} à C_{13} obtenus par Cody G.D. *et al.* - 2004a par réaction du nonanethiol avec de l'acide formique (CO_2/CO et H_2) et NiS dans l'eau, à hautes températures et pression. Ce mécanisme potentiel permettrait ainsi de convertir de simples composés organiques en une matière organique complexe, au sein d'environnements riches en soufre, tels que les fumeurs noirs.

Nos découvertes sont en fait en contradiction avec les hypothèses proposées par McCollom T.M. & Seewald J.S. - 2007. En effet, le manque de réactivité des acides carboxyliques observé par Dubant S. - 2004, lors d'expériences de simulations hydrothermales, disqualifie les acides en tant qu'intermédiaires réactionnels du cycle d'élongation catalysé par NiS dans des conditions comparables à celles régnant aux alentours des fumeurs noirs. Les acides carboxyliques proviennent certainement de l'hydrolyse des thioacides et thioesters. D'après leur inertie chimique dans les conditions mises en œuvre, il est évident de considérer leur synthèse comme une voie sans issue, alors que les thioesters et thioacides sont des intermédiaires réactionnels pouvant participer au processus itératif.

La formation des aldéhydes, observée lors des expériences impliquant des thiols, CO, H₂S, NiS ou Ni(0), dans l'eau, pourrait être expliquée par un processus qui s'apparente à l'hydroformylation d'alcènes, en présence de CO, H₂ et de métaux ou complexes métalliques adsorbés sur des oxydes inorganiques, des argiles, des zéolithes *etc.* Ce processus, bien connu et utilisé en industrie, est résumé dans la Réaction III - 20 (*cf.* Lenarda M. *et al.* - 1996).



Réaction III - 20 - Réaction d'hydroformylation : voie de synthèse pour produire des aldéhydes à partir d'alcènes

La synthèse d'aldéhydes a d'ailleurs été mentionnée par Vit Z. *et al.* - 1994 qui ont démontré la formation de propanal à partir d'éthylène, en présence de CO, H₂, H₂S (faible pression partielle), et de sulfures métalliques (NiS ou CoS). Bien qu'obtenus en milieu anhydre, les résultats de Vit Z. *et al.* - 1994 présentent des analogies avec les nôtres, puisque le propanal est accompagné de petites quantités de composés soufrés, notamment C₂H₅SC₂H₅ et C₃H₇SC₂H₅. Or, des sulfures ont également été détectés lors des expériences que nous avons effectuées.

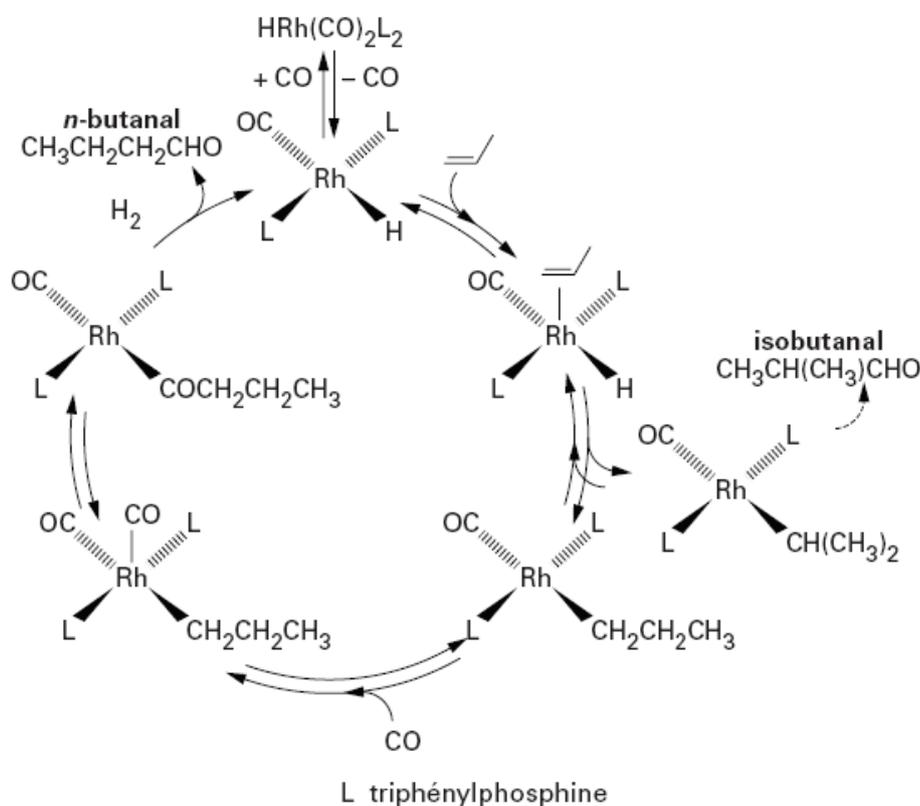


Figure III - 36 - Mécanisme de l'hydroformylation du propène en n-butanal et en iso-butanal catalysée par le système rhodiumtriphénylphosphine
<http://www.techniques-ingenieur.fr/res/pdf/encyclopedia/II-j5750.pdf>

La Figure III - 36 illustre le mécanisme de l'hydroformylation d'alcènes, en présence de CO et d'un catalyseur à base de rhodium.

Nous verrons un peu plus loin que nous envisageons en fait un processus apparenté à l'hydroformylation pour la synthèse des aldéhydes, par analogie avec les étapes de carbonylation des groupements alkyles liés au métal et de libération de l'acyle formé dans le milieu réactionnel.

C.4.3 Catalyse par Ni(0) sous la forme de complexes carbonylés de nickel

C.4.3.1 Mise en évidence de Ni(0) et probables voies de synthèse du métal réduit

Il a été démontré au cours de la thèse précédente qu'il est possible de synthétiser le thioester $\text{CH}_3\text{COSCH}_3$ lors d'expériences impliquant le méthane-thiol, CO et NiCl_2 , dans l'eau, en absence de H_2S et donc de NiS (*cf.* Dubant S. - 2004). Le sulfure de nickel utilisé habituellement n'est donc probablement pas lui-même le catalyseur du processus de formation de liaisons carbone-carbone. De même, le chlorure de nickel n'est pas non plus le catalyseur direct du cycle d'élongation de chaîne. Il est certain, néanmoins, que le réel catalyseur contient du nickel.

Il est important de rappeler que l'existence de nickel réduit (métal, Ni(0)) a été mise en évidence par diffraction des rayons X, au sein du solide NiS précipité *in situ* lors des expériences typiques, ainsi qu'au niveau du dépôt sur les parois de flacons en verre utilisés pour les expériences à pression atmosphérique de CO, en présence de H_2S et NiS (Dubant S. - 2004).

Ni(0) pourrait donc être formé lors de processus de réduction des espèces de Ni^{2+} (NiCl_2 ou NiS) impliquant des composés chimiques réduits, tels que CO, H_2 , ou des espèces soufrées réduites comme H_2S et RSH. D'une part, H_2 a été détecté parmi les gaz de tête d'expériences de simulation typiques (Dubant S. - 2004) et peut être formé dans les conditions opératoires choisies (CO, H_2S , NiS/ NiCl_2) par l'équilibre de gaz à l'eau ou son équivalent soufré (voir Réaction III - 1 page 118 et voir Réaction III - 6 page 132), tous deux catalysés par des sulfures de métaux de transition (*cf.* Andreev A.A. *et al.* - 1999). D'autre part, CO, H_2S et RSH interviennent en tant que réactifs lors des expériences de simulation en présence de substrats organiques.

On peut donc envisager les équilibres d'oxydoréduction impliquant le dihydrogène et les composés soufrés afin d'expliquer la présence de Ni(0) lors des expériences réalisées avec des thiols, CO, H_2S et NiS ou NiCl_2 . Les potentiels standards des couples d'oxydoréduction présents dans le milieu réactionnel sont indiqués dans la Figure III - 37 A. Les espèces présentes en solution sont représentées en bleu. Les potentiels standards des couples thiols/disulfures (R étant un alkyle, aryle ou un hydrogène), même s'ils varient selon la nature des thiols, restent aux alentours de -0,2 V, et sont légèrement supérieurs à ceux des couples $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^0$ (Eldjarn L. & Pihl A. - 1957 ; Rauchfuss H. - 1986 ; Licht S. - 1988).

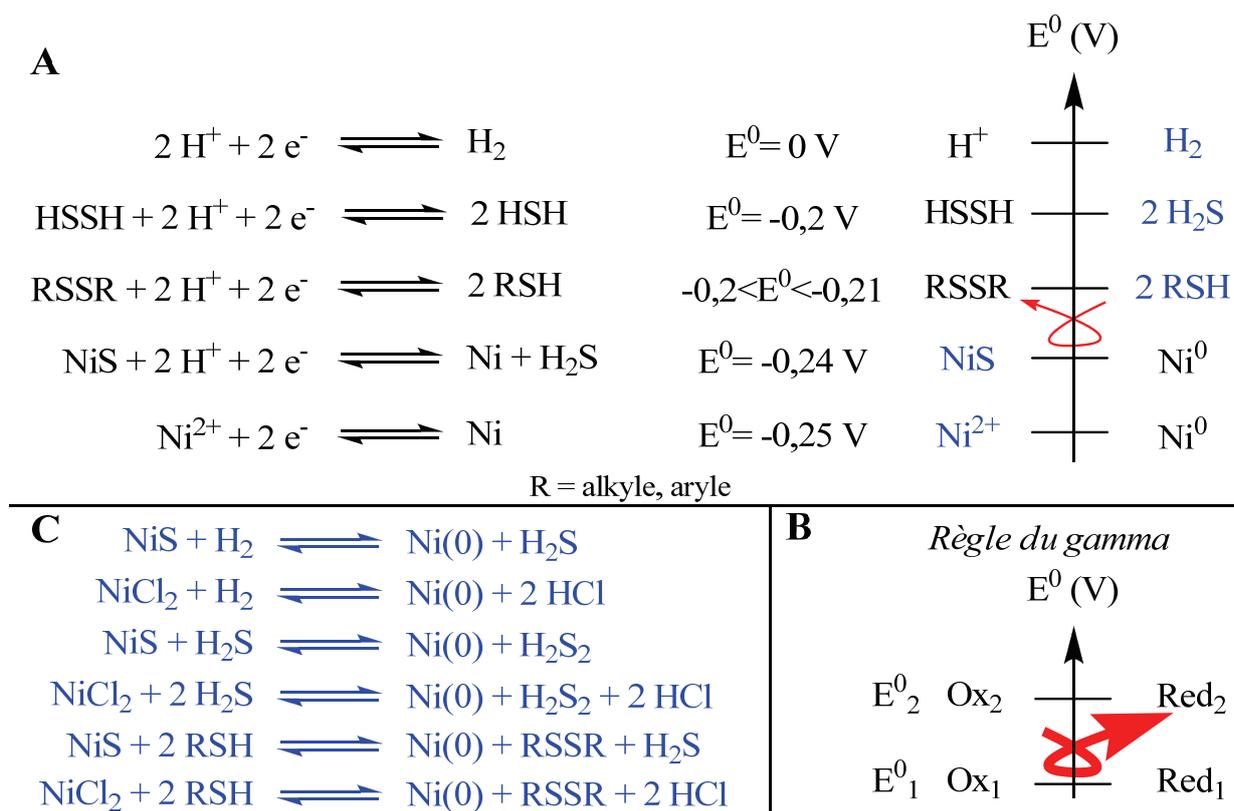


Figure III - 37 - Formation de Ni(0) par des réactions d'oxydo-réduction mettant en jeu des espèces sulfurées. **A** : Couples redox impliqués, potentiels redox en présence de H₂S en milieu acide et demi réactions correspondantes. **B** : Prédiction du sens d'une réaction d'oxydoréduction en utilisant la règle du gamma. **C** : Équations permettant la formation de Ni(0)

D'après la règle du gamma (B), permettant de prévoir les réactions d'oxydoréduction possibles, les équilibres mentionnés en bleu (C) ne sont pas thermodynamiquement favorables. En effet, dans nos conditions le cation Ni²⁺ reste le plus stable. Pourtant, on peut envisager que les couples redox soient suffisamment proches les uns des autres pour qu'une fois l'équilibre établi dans le milieu, une certaine quantité de métal au degré d'oxydation zéro soit formée.

L'efficacité de Ni(0) a été prouvée, puisque les produits et intermédiaires réactionnels observés sont les mêmes dans le cas des expériences réalisées avec le métal réduit que lors des essais en présence de NiS. Le rendement de synthèse étant meilleur, le nickel réduit est considéré comme un intermédiaire réactionnel clé du processus d'élongation de chaîne permettant la formation de l'espèce catalytique réelle ou on peut même l'envisager comme étant le catalyseur métallique du cycle de formation de liaisons carbone-carbone.

Par ailleurs, les sulfures métalliques, de fer ou de nickel, ne doivent pas être exclus totalement des catalyseurs potentiels de la chimie prébiotique car ils demeurent essentiels aux premières étapes de la vie en catalysant notamment la réaction de gaz à l'eau et son équivalent sulfuré.

C.4.3.2 Possible catalyse homogène par Ni(0) sous la forme de complexes carbonylés de nickel

La source carbonée, H₂S et les autres molécules impliquées dans le processus de l'apparition de la vie se trouvaient dans un milieu très dilué, au fond des océans primitifs. La catalyse qu'elle soit homogène ou hétérogène, apparaît alors logiquement essentielle pour favoriser des réactions chimiques abiotiques, puisqu'elle diminue leur énergie d'activation. On peut également considérer la catalyse dans le sens où des composés d'intérêt viennent se lier à la surface d'un solide, leur permettant ainsi de se rapprocher et de s'y concentrer, favorisant ainsi leur rencontre.

Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2004a ont proposé la formation de complexes de carbonyles de fer afin d'expliquer la synthèse d'acides carboxyliques à partir de nonanethiol, en présence de CO, H₂ et FeS, dans des conditions hydrothermales.

La formation de carbonyles de nickel a été étudiée par plusieurs équipes de chercheurs, notamment Manchot W. & Gall H. - 1929, Windsor M.M. & Blanchard A.A. - 1933 et Blanchard A.A. *et al.* - 1934.

Tout d'abord, un peu avant que V. Grignard ne développe la chimie des composés organomagnésiens dans son laboratoire, Mond L. *et al.* - 1910 découvraient le nickel carbonyle. D'après ces chercheurs, la synthèse des complexes Ni(CO)₄ peut être réalisée par réaction directe du métal et du monoxyde de carbone. Toutefois, le rendement de formation de carbonyles à la surface du métal est extrêmement faible. La taille des particules métalliques peut influencer le rendement, un métal finement divisé pouvant améliorer la formation de carbonyles de nickel. De plus, une pression élevée de CO et une haute température sont nécessaires.

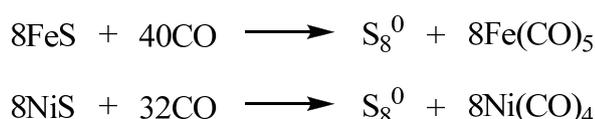
Windsor M.M. & Blanchard A.A. - 1933 ont mentionné quant à eux des conditions opératoires comparables à celles que nous avons appliquées. La réaction de sulfate de nickel, avec du sulfure de sodium, de l'hydroxyde de sodium et du monoxyde de carbone permettrait une dissociation infinitésimale du sulfure de nickel en nickel réduit et en soufre. Nous retrouvons ainsi la réduction de nickel (+II) en nickel (0) permettant ensuite la formation de complexes de carbonyles de nickel en présence de CO. La réaction de formation de complexes est effectuée à température ambiante pendant six heures et est résumée ci-dessous.



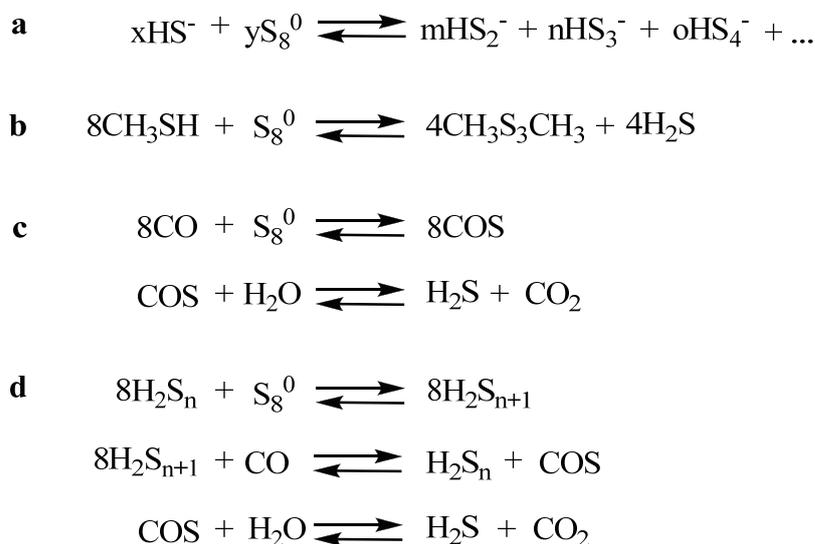
Réaction III - 21 - Formation de Ni(CO)₄ selon Windsor M.M. & Blanchard A.A. - 1933

Les découvertes de Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2004a concernant les complexes de carbonyles de fer sont également comparables aux nôtres. En effet, la présence de complexes Fe(CO)₅ a été détectée incontestablement au cours d'expériences de simulations hydrothermales, cependant à une température et une pression plus élevées que celles que nous avons choisies. La formation de Fe(CO)₅ est assurément transposable à la synthèse de Ni(CO)₄. La réduction du fer (+II) ou du nickel (+II) serait effectuée directement en présence de la source carbonée réduite CO, pour former les complexes organométalliques et du soufre réduit S₈⁰ (voir Réaction III - 22).

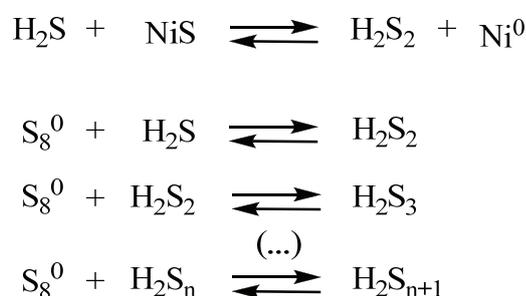
Dans notre cas, comme dans celui des travaux de Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2004a, les pièges à soufre seraient H₂S ou les ions hydrogénosulfures (conduisant à des polysulfures inorganiques) (par exemple voie a, Réaction III - 23), RSH pouvant s'oxyder en RS₃R (voie b), CO pouvant s'oxyder en COS, puis CO₂ (voie c), ou alors des polysulfures inorganiques (voie d) *etc.* Nous rappelons que les polysulfures peuvent être formés lors de la réduction de NiS en Ni(0), ou par réaction de H₂S avec S₈ (*cf.* Réaction III - 24). En fait, au cours des expériences de simulation que nous avons réalisées, de nombreux équilibres redox se produisent en parallèle ou successivement, probablement jusqu'au moment où l'une des espèces redox essentielle limitante disparaît.



Réaction III - 22 - Formation de complexes de carbonyles de fer et de nickel dans les conditions hydrothermales



Réaction III - 23 - Équilibres de piégeage de S₈ dans les conditions hydrothermales



Réaction III - 24 - Rappel des équilibres possibles pour la formation des polysulfures

Les travaux de recherche réalisés par plusieurs équipes de chercheurs convergent vers la formation de carbonyles de métaux, en particulier de nickel, à partir de nickel (+II) notamment sous la forme de NiS précipité *in situ*, en présence de CO, dans des conditions compatibles avec

celles que nous avons mises en œuvre. La formation de $\text{Ni}(\text{CO})_4$ apparaît ainsi favorisée dans les conditions régnant au alentours des sources hydrothermales. Alternativement, on pourrait également envisager la formation de complexes carbonylés de nickel possédant également d'autres ligands, des ligands soufrés notamment.

La formation du métal réduit a probablement lieu comme nous l'avons décrit auparavant (voir Figure III - 37, page 177), accompagnée d'une possible synthèse directe de carbonyles de nickel, en faibles proportions. Ainsi, l'existence de quantités détectables de $\text{Ni}(0)$ est expliquée. Nous pouvons remarquer que dans les conditions hydrothermales, un grand nombre de réactions intervient pour un effectif de réactifs pourtant assez limité. La formation de $\text{Ni}(\text{CO})_4$ impliquant directement NiS et CO en est d'ailleurs un exemple, puisque nous pouvons envisager dans ce cas pas moins de trois séries d'équilibres redox pour permettre la formation de $\text{Ni}(\text{CO})_4$. D'ailleurs, les équilibres de piégeage de S_8 impliquent d'autres équilibres redox.

Les résultats publiés sur la formation de carbonyles de nickel ainsi que les résultats cités auparavant sur la détection de $\text{Ni}(0)$ confirment bien que NiS n'est pas nécessairement lui-même le catalyseur du processus d'élongation mais que des espèces réduites du nickel telles que des complexes organométalliques peuvent éventuellement être considérées.

A des températures et des pressions élevées, telles que celles atteintes au sein des cheminées des fumeurs noirs, le monoxyde de carbone émis et/ou formé à partir de CO_2 également expulsé par les sources hydrothermales passe à travers les pores des cheminées et peut réagir avec les sulfures métalliques les constituant pour former des complexes carbonylés de nickel notamment. Cette réaction est particulièrement favorisée à hautes températures et pression, d'après Cody G.D. *et al.* - 2000. Les fumeurs noirs auraient ainsi pu constituer une source primitive significative de complexes organométalliques tels que les carbonyles de métaux de transition (Fe, Ni *etc.*) (Cody G.D. *et al.* - 2000). Les complexes formés au sein des cheminées auraient ensuite été transportés à l'extérieur des fumeurs noirs et à températures plus modérées, H_2S se serait associé aux complexes conduisant à des complexes organométalliques carbonylés de nickel soufrés. Les conditions auraient alors été favorables à des réactions basées sur les complexes de nickel disponibles, ainsi qu'à la survie des molécules synthétisées. Les thiols formés auraient ensuite également pu s'associer aux complexes de nickel.

Il est important de remarquer qu'étant donné que du $\text{Ni}(0)$ a été détecté par Dubant S. - 2004, sous forme solide, lors d'expériences de simulations hydrothermales, nous pouvons également envisager un processus de catalyse de surface sur le métal réduit $\text{Ni}(0)$.

C.4.3.3 Approche organométallique. Catalyse par des complexes de carbonyles de nickel

Introduction et quelques notions sur les complexes de nickel

Les carbonyles de nickel sont considérés comme le point de départ de la chimie organométallique des métaux de transition. Il fallut attendre les années trente pour que cette

chimie commence à prendre de l'extension. Puis, stoppée par la guerre, elle suscita à nouveau de l'intérêt dans les années cinquante pour atteindre un véritable développement explosif et trouver sa consécration par l'attribution du prix Nobel à E.O. Fischer et G. Wilkinson, ainsi que par la mise au point de grands procédés industriels de catalyse homogène, comme, par exemple, le procédé Wacker pour la synthèse de l'éthanal ou le procédé Monsanto pour la synthèse de l'acide acétique, pour ne citer que ces deux-là.

Les transformations observées lors des expériences de simulations hydrothermales peuvent être en grande partie expliquées, par une approche organométallique, plus précisément par des réactions impliquant des complexes de nickel avec des ligands tels que le monoxyde de carbone, des thiols ou d'autres espèces soufrées.

Les complexes nickel carbonyles sont formés d'un centre métallique, le nickel au degré d'oxydation 0, coordonné par quatre ligands donneurs de deux électrons chacun. Ainsi, le nickel possédant à lui seul 10 électrons de valence, le nombre total d'électrons de valence dans le complexe autour du centre métallique est 18 (voir Figure III - 38).

Les complexes tels que les nickel tétracarbyloxydes peuvent subir diverses réactions, dont l'addition oxydante (Halpern J. - 1970), l'élimination réductrice, la migration insertion *etc.* (voir la Figure III - 38). La réaction d'addition oxydante implique l'addition d'un substrat sur un complexe accompagnée d'une augmentation du degré d'oxydation du métal de deux unités, ainsi que de la libération d'un site de coordination par le départ d'un des ligands initialement liés au métal. L'élimination réductrice est l'inverse de l'addition oxydante combinant perte d'un substrat lié au métal (2 liaisons), réduction du centre métallique (gain de deux électrons) et association d'un ligand (Crabtree R.H. - 2009c). En outre, la migration insertion implique l'insertion d'un nucléophile coordonné au sein d'une liaison métal ligand. Le degré d'oxydation du métal ne change alors pas (Crabtree R.H. - 2009a ; Crabtree R.H. - 2009b).

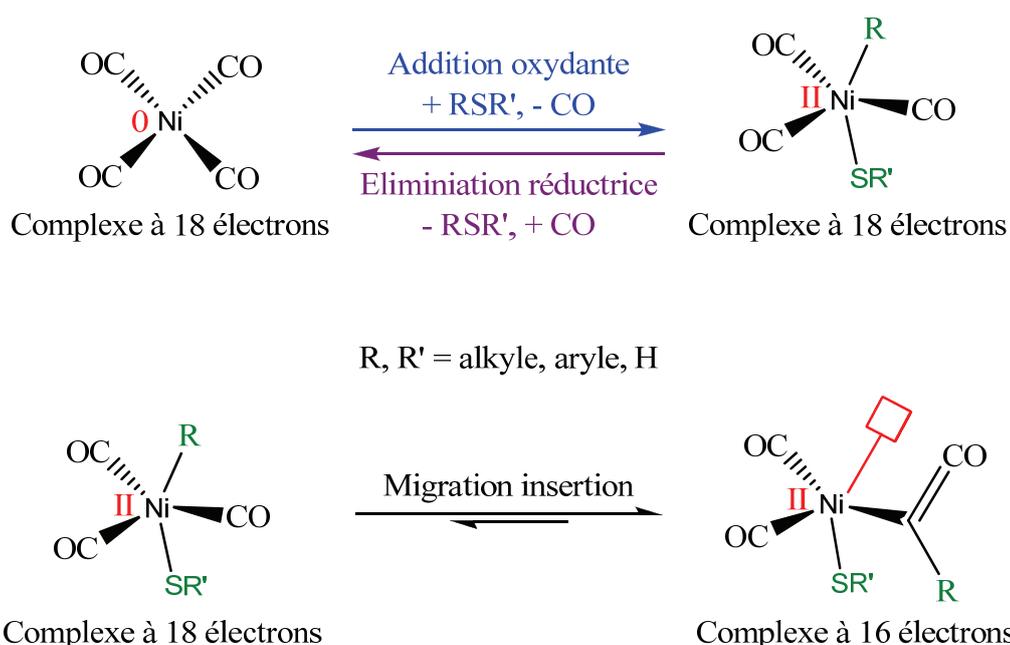


Figure III - 38 - Réactions mettant en jeu les complexes nickel carbonyles intégrant des thiols ou des sulfures organiques comme ligands

Description du mécanisme

Nous proposons un mécanisme pouvant expliquer les réactions observées lors des essais avec ou sans substrats organiques. La Figure III - 39 représente un cycle catalytique complet conduisant à la formation d'acides carboxyliques et de thiols dans les conditions hydrothermales et basé sur le rôle catalytique des complexes de nickel tels que le composé A.

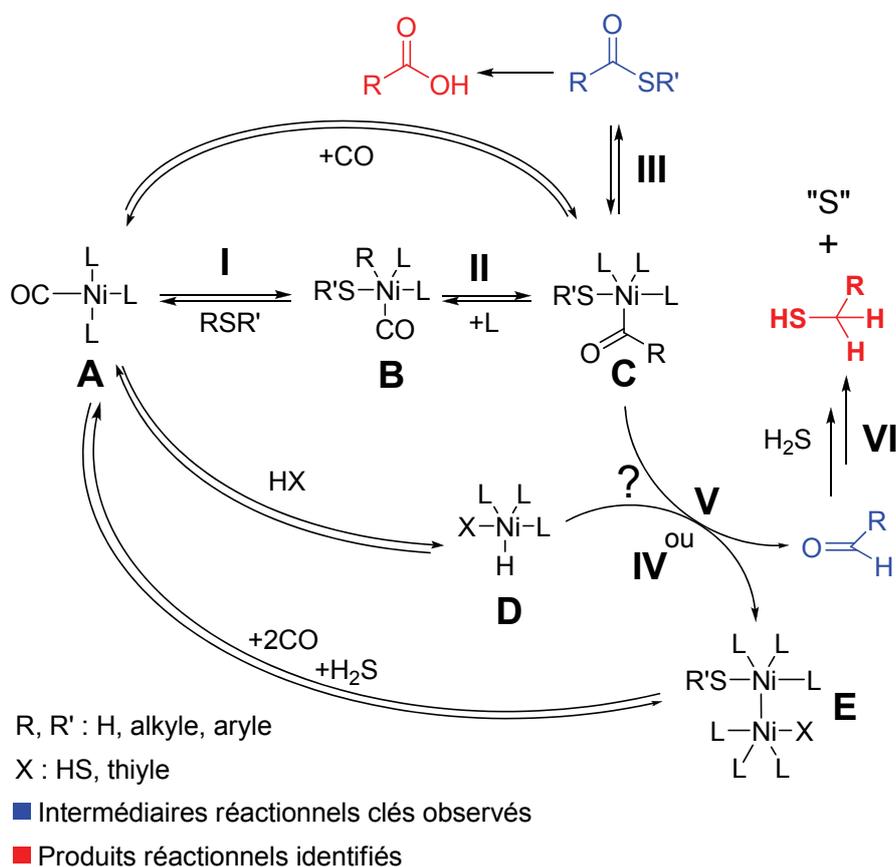


Figure III - 39 - Proposition d'un cycle catalytique permettant la formation de liaisons C-C

Le complexe A est formé par un atome de nickel au degré d'oxydation 0, coordonné par quatre ligands lui apportant deux électrons chacun, tels que le monoxyde de carbone ou des composés soufrés, et conduisant à un complexe stable à 18 électrons. Nous avons indiqué un ligand carbonyle et 3 autres ligands quelconques, car un seul CO suffit par cycle catalytique pour la formation d'une liaison carbone-carbone.

Ce complexe peut subir dans un premier temps l'addition oxydante (I) d'un thiol ou d'un monosulfure, après la libération d'un site de coordination, conduisant à la présence dans la sphère de coordination d'un radical alkyle ou aryle lié au métal (B). Au cours de cette addition, le métal est inséré dans la liaison carbone-soufre du thiol. Le processus de clivage de la liaison carbone-soufre par insertion oxydante a notamment été étudié par Furuya M. *et al.* - 2003 et Jones W.D. & Chin R.M. - 1994. Le complexe B est alors stable avec 18 électrons de valence autour du nickel au degré d'oxydation +II et dispose dans sa sphère de coordination de deux éléments essentiels pour la suite, un substrat alkyle ou aryle et un ligand carbonyle.

Ensuite, une migration insertion du groupement R (II) (alkyle ou aryle) au niveau de la liaison métal-carbonyle, ainsi que l'association d'un nouveau ligand, entraînent la formation du complexe C (complexe à 18 électrons et nickel +II) et la synthèse d'un groupement acyle au sein de la sphère de coordination du nickel.

A cet instant, une élimination réductrice des radicaux liés au nickel (III) est possible formant des thioacides ou des thioesters et régénérant le catalyseur du processus, le complexe A. Ainsi, une hydrolyse partielle des thioacides ou des thioesters synthétisés et libérés conduit de façon irréversible aux acides carboxyliques correspondants.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les aldéhydes sont les précurseurs directs des thiols. La formation des aldéhydes peut être expliquée par une élimination réductrice concernant les complexes C et D. Le produit D résulte de la formation en parallèle d'un deuxième complexe à partir du composé A, et contient un hydrogène activé sous la forme d'un groupement hydrure. Nous supposons la formation d'une espèce intermédiaire bimétallique E à partir de C et D, par la formation d'une liaison entre les atomes de nickel issus des deux complexes mis en jeu, permettant ainsi la libération des aldéhydes (IV) (Martin B.D. *et al.* - 1986).

Un mécanisme de synthèse d'aldéhydes impliquant des complexes de métaux de transition et la formation d'une espèce bimétallique a déjà été démontré par Nappa M.J. *et al.* - 1982 et Martin B.D. *et al.* - 1986. Leurs travaux ont en effet montré la synthèse d'acétaldéhyde impliquant deux complexes carbonyles de manganèse, l'un coordiné à un hydrure, l'autre lié à un méthyle. La formation d'une liaison métal-métal a été mise en évidence, permettant la libération et donc la synthèse de l'aldéhyde.

Au sein du complexe bimétallique, les deux métaux sont au degré d'oxydation +I. L'espèce bimétallique E peut ensuite subir une addition oxydante bi-nucléaire, de H₂S par exemple et selon un processus démontré par Chisholm M.H. & Rothwell I.P. - 1982 la liaison métal-métal est rompue pour former deux complexes de nickel à 18 électrons. Les deux atomes de nickel au degré d'oxydation +I dans le complexe E retournent au degré d'oxydation +II lors de cette insertion oxydante bimétallique. Enfin, une élimination réductrice des groupements coordonnés dans chacun des complexes formés, accompagnée de l'association d'un ligand tel que CO peut redonner le catalyseur A.

Remarquons que théoriquement une deuxième addition oxydante sur le complexe B, en particulier celle de H₂S, permettrait la disponibilité des groupements acyle et hydrure dans la même sphère de coordination et conduirait au même résultat, la formation d'un aldéhyde. En fait, nous avons proposé un mécanisme bimétallique pour la formation des aldéhydes car il n'est pas possible de réaliser une deuxième addition oxydante sur le complexe B. En effet, le nickel passerait de l'état d'oxydation +II à +IV et la configuration électronique de cet élément ne permet pas l'existence du degré d'oxydation +IV. A notre connaissance, le mécanisme d'élimination réductrice bi-nucléaire n'a pour l'instant pas été décrit pour des complexes de nickel.

Une alternative à la formation d'un complexe bimétallique (IV, E) serait une transmétallation (V) impliquant le composé D, coordonné par un hydrure, et le produit C, portant le radical acyle. Cette étape consisterait à un simple échange de ligands, au déplacement de deux groupements

coordinés, conduisant à l'existence des radicaux hydrure et acyle sur le même centre métallique. Ainsi, une élimination réductrice de ces deux groupes coordinés au même nickel permettrait la synthèse des aldéhydes.

A la fin du processus de formation de liaisons C-C, les aldéhydes sont réduits irréversiblement en thiols par sulfuration réductrice en présence de H₂S (VI). Comme nous l'avons déjà mentionné (voir C.4.2, page 172), ce procédé géochimique est bien connu et a lieu dans des environnements anoxiques riches en soufre, même en absence de catalyseur métallique (*cf.* Schouten S. *et al.* - 1994 ; Schneckenburger P. *et al.* - 1998 ; Adam P. *et al.* - 2000 ; Hebbing Y. *et al.* - 2006).

Ensuite, les thiols synthétisés à partir des aldéhydes lors de l'étape VI peuvent réintégrer le procédé d'élongation de chaîne, pour former théoriquement des thiols et des acides carboxyliques de toutes longueurs.

En outre, nous proposons que la plupart des étapes décrites dans la Figure III - 39 (page 182) soient réversibles. Cela expliquerait d'ailleurs la réduction observée des thioesters et thioacides en thiols, par les étapes III, IV ou V puis VI.

Finalement, les complexes formés lors des étapes III, IV, et V peuvent subir une série d'additions oxydantes (Halpern J. - 1970) et d'éliminations réductrices pour régénérer le catalyseur A, au sein duquel le nickel est au degré d'oxydation 0.

Nous remarquons que le monoxyde de carbone n'intervient de manière directe que lors de l'ajout d'un carbone. Toutes les étapes du cycle catalytique proposé nécessitent par contre la présence de complexes de nickel.

A chaque cycle de formation de liaisons C-C, une partie du thiol intégrant la boucle réactionnelle conduit à la formation d'un thioester ou thioacide dont une fraction sera irréversiblement convertie en l'acide carboxylique correspondant, inerte dans nos conditions opératoires. La portion non hydrolysée sera susceptible d'être réduite en thiol pouvant réintégrer le cycle catalytique. Par conséquent, la quantité de thiol homologué formée est plus faible que celle du thiol parent puisqu'une partie se transforme en acide carboxylique. Ainsi, à chaque cycle la quantité de thiol synthétisée décroît pour arriver à l'arrêt du processus d'élongation de chaîne, lorsqu'on atteint 4 carbones pour l'instant.

C.4.4 Quelques remarques sur la synthèse des produits observés lors des expériences en autoclave et en flacons en verre

C.4.4.1 Formation du méthanthiol et de l'acide formique

Nous avons observé la formation de méthanthiol et d'acide formique en quantités non négligeables lors des expériences de simulation hydrothermales typiques réalisées en autoclave.

L'hydratation du monoxyde de carbone dans l'eau afin de former de l'acide formique peut sembler être une réaction simple et facilement réalisable. Les méthodes commerciales utilisées pour produire de l'acide formique à partir du monoxyde de carbone sont associées à des

températures et pressions élevées de CO. La méthode la plus utilisée pour synthétiser de l'acide formique à partir de monoxyde de carbone est d'ailleurs la formation de formiate de méthyle par carbonylation de méthanol, suivie de l'hydrolyse de l'ester en acide formique (80°C, 45bar CO).

Des études récentes ont mentionné la formation d'acide formique à partir de CO dans des conditions opératoires beaucoup plus modérées qui seraient plus proches de celles que nous avons adoptées afin de simuler les conditions susceptibles d'avoir régné aux alentours des fumeurs noirs primitifs (Shukla R.S. *et al.* - 2005). La synthèse de l'acide formique est réalisée dans l'eau, à température ambiante, sous 5bar de CO, par la catalyse homogène d'un complexe de ruthenium (5.10^{-3} mol/L). Le mécanisme basé sur un complexe de métal de transition permet l'activation du CO et de l'eau, puis conduit à une hydratation directe de CO en HCOOH.

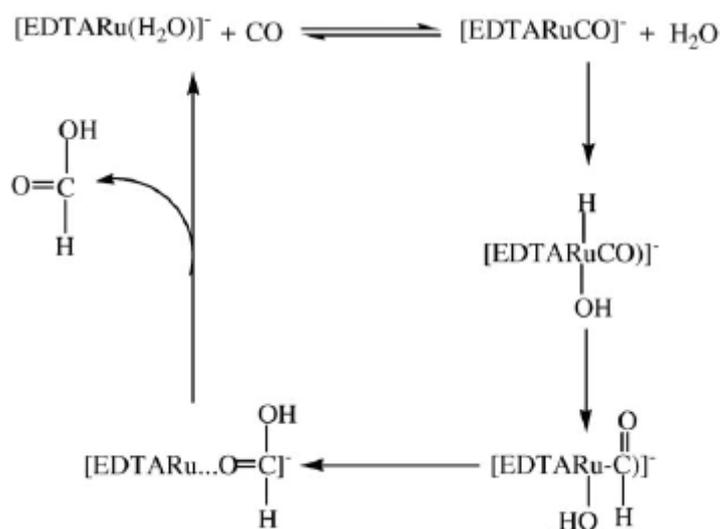


Figure III - 40 - Mécanisme proposé par Shukla R.S. *et al.* - 2005 pour l'hydratation du monoxyde de carbone en acide formique en présence d'un complexe de nickel

Par conséquent, nos découvertes sur le potentiel rôle des complexes de nickel apparaissent en adéquation avec des découvertes récentes, dans le domaine de la catalyse, cependant comparables à nos travaux de recherche. Ainsi, il semble tout à fait logique d'appréhender la synthèse de l'acide formique par l'approche organométallique basée sur les complexes $\text{Ni}(\text{CO})_4$. Le mécanisme présenté dans la Figure III - 39 (page 182) s'avère en fait applicable à la synthèse de la plupart des produits et intermédiaires réactionnels observés au cours de nos essais en laboratoire.

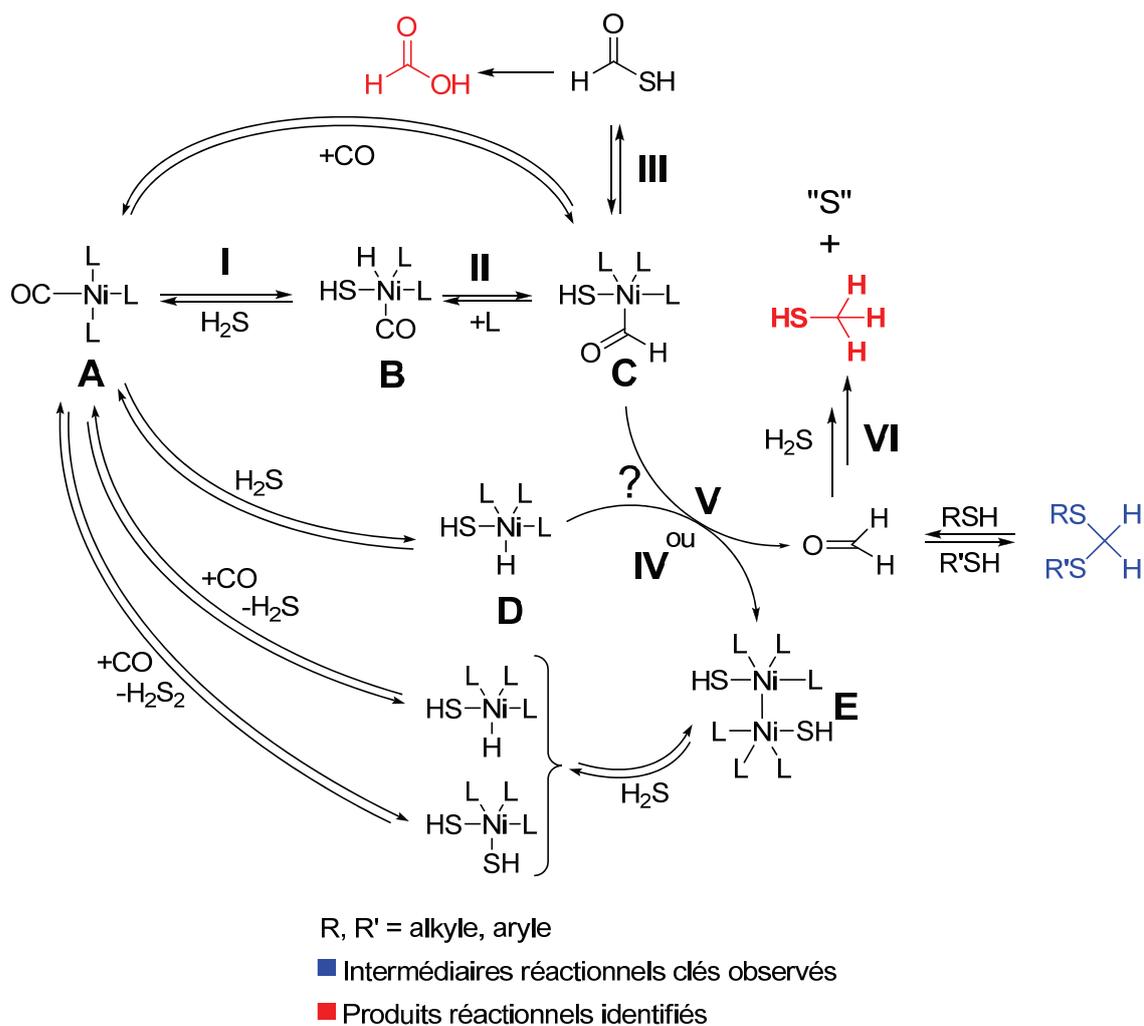


Figure III - 41 - Mécanisme détaillé proposé pour la synthèse de CH_3SH , HCOOH , et $\text{CH}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2$ catalysée par des complexes de nickel, dans les conditions mises en œuvre lors des expériences de simulation que nous avons réalisées

La Figure III - 41 représente une approche organométallique, par la catalyse homogène de complexes de nickel (A), de la synthèse des composés les plus simples du processus de formation de liaisons carbone-carbone.

La synthèse du méthane-thiol, réalisée en quantités non négligeables, est essentielle pour le processus d'élongation de chaîne puisque le thiol formé à partir de la source carbonée, lors de la première étape du cycle catalytique, réintègre ensuite le processus pour donner de l'éthane-thiol lors de l'étape suivante.

Le cycle catalytique présenté dans la Figure III - 41 est constitué de la succession des mêmes réactions que celles mentionnées dans la partie C.4.3.3 (page 182). Tout d'abord, des insertions oxydantes de sulfure d'hydrogène ont lieu sur deux atomes de nickel réduit conduisant aux complexes B et D (I). Sur l'un d'entre eux, le ligand CO va s'insérer dans la liaison métal-hydrure, formant le complexe C avec un ligand formyle (II). Ensuite, une élimination réductrice bimétallique va conduire à la formation d'une liaison métal-métal (E) et de formaldéhyde (IV). Alternativement, après une transmétallation entre les composés C et D, on obtient un complexe possédant à la fois un hydrure et un ligand formyle, qui par élimination réductrice va conduire au

méthanal (V). Ce dernier est en partie réduit en thiol par la simple action du sulfure d'hydrogène (VI). Le formaldéhyde restant peut demeurer sous sa forme libre ou réagir partiellement avec les thiols synthétisés conduisant à des dithioacétals (composé bleu).

Nous rappelons que nous avons détecté des dithioacétals, en particulier $\text{H}_5\text{C}_6\text{SCH}_2\text{SC}_6\text{H}_5$ apparenté au formaldéhyde (composé en bleu, $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$), lors des expériences de simulation en flacon Sovirel mettant en jeu du thiophénol et CO, en présence de Ni(0) ou NiS (voir page 162 ; Figure III - 19, page 153 ; Figure III - 21, page 155 ; et spectre de masse h, Figure III - 25, page 158).

Nous avons ainsi démontré que la réaction de thioacétalisation en présence de thiols, comme substrats organiques de départ, nous permet de mettre en lumière la présence des aldéhydes, composés très réactifs, en les protégeant en partie des autres réactions possibles dans les conditions de nos expériences de simulations, en particulier la sulfuration réductrice en thiols.

L'identification du dithioacétal $\text{CH}_2(\text{SC}_6\text{H}_5)_2$ révèle donc la présence de formaldéhyde dans le milieu réactionnel, en tant qu'intermédiaire réactionnel de la formation du méthanethiol à partir du monoxyde de carbone.

Il est évident que lors d'essais ne faisant pas intervenir de thiols comme réactifs, les thiols formés *in situ*, en particulier CH_3SH en quantités non négligeables, peuvent réagir avec une partie des aldéhydes synthétisés par le processus d'élongation de chaîne.

C.4.4.2 Formation des monosulfures symétriques et mixtes

Les formations des di- et trisulfures homogènes RS_2R et RS_3R sont de simples réactions d'oxydation impliquant le thiol RSH ainsi que des espèces soufrées (à des degrés d'oxydation supérieurs à -2), telles que les polysulfures inorganiques ou le soufre élémentaire nécessairement formés lors du processus abiotique de synthèse de composés organiques, ne serait-ce que dans l'étape de sulfuration réductrice des aldéhydes en thiols. Les di-et trisulfures organiques pourraient également, dans une certaine mesure, être issus des processus d'oxydoréduction intervenant dans la formation de Ni(0) à partir Ni^{2+} (NiS ou NiCl_2).

En ce qui concerne la formation de thioéthers à partir de thiols au cours de nos expériences de simulation, nous envisageons le mécanisme de la Figure III - 42 (page 188).

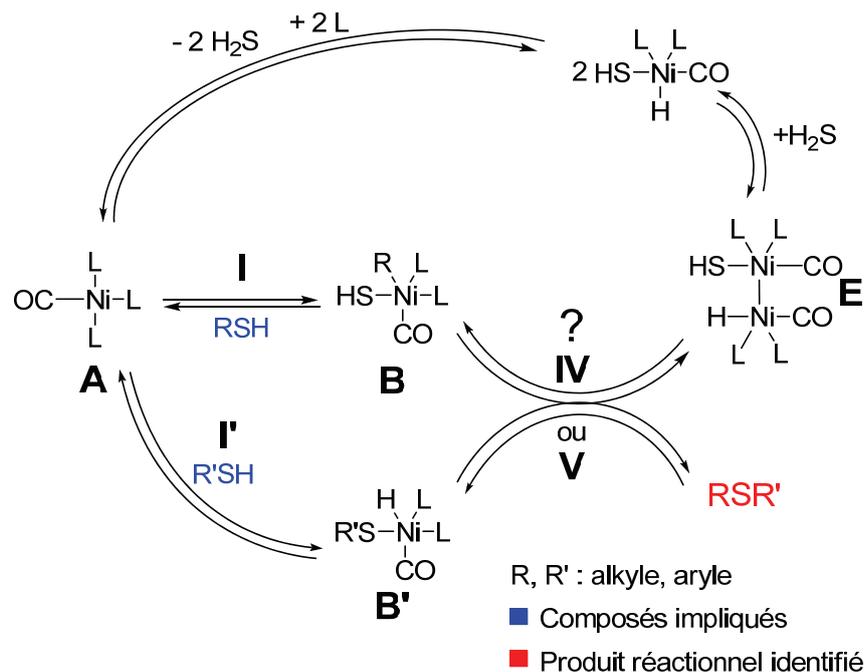


Figure III - 42 - Proposition d'un mécanisme pour la formation de monosulfures symétriques ($R'=R$) et mixtes à partir de thiols

Le catalyseur du cycle catalytique est représenté sous la même forme que dans les figures précédentes (complexe A). Toutefois, la présence de CO dans la sphère de coordination du métal réduit n'est pas essentielle. Les monosulfures sont en effet observables dans le cas d'essais en présence de CO comme dans le cas d'essais en absence de ce gaz (*cf.* Dubant S. - 2004). Par ailleurs, nous proposons un mécanisme dans lequel H_2S intervient pour la régénération du catalyseur, mais la présence de H_2S n'est également pas indispensable pour cette étape là (Dubant S. - 2004). En effet, le seul élément essentiel dans la formation de thioéthers homogènes ou mixtes est le nickel réduit. Si NiCl_2 est introduit en absence de Na_2S et de H_2S , des thiols sont aptes à réduire le nickel II en nickel 0. Ces thiols peuvent également intervenir dans la régénération du catalyseur.

Nous proposons, dans un premier temps, deux étapes en parallèle (I et I'). Il y a, d'une part, l'addition oxydante d'un thiol (RSH) sur le nickel réduit, après la libération d'un site de coordination (I). Le métal est alors inséré dans la liaison carbone-soufre pour former le complexe B (Jones W.D. & Chin R.M. - 1994). D'autre part, un autre complexe de type A subit l'insertion oxydante d'une autre molécule de thiol (I') ($\text{R}'\text{SH}$ avec $\text{R}'=R$ dans le cas de la synthèse de monosulfures symétriques). Le métal est alors inséré dans la liaison hydrogène-soufre pour former le complexe B' (Rasch G. & Tobisch S. - 1987). Comme nous l'avons décrit précédemment (*cf.* C.4.3.3 page 182), un processus d'élimination réductrice bimoléculaire (IV), conduisant à la formation du complexe bimétallique E pourrait permettre la libération du monosulfure RSR' (Halpern J. - 1982). Une transmétallation (V) est également envisagée, permettant un échange de radicaux entre les complexes B et B' et entraînant donc la présence des groupements R et $\text{R}'\text{S}$ dans la sphère de coordination de l'un des complexes. Une élimination réductrice formerait ensuite le thioéther RSR' . Le catalyseur (A) serait ensuite régénéré lors

d'une addition oxydante binucléaire (Chisholm M.H. & Rothwell I.P. - 1982, correspondant à l'insertion de H₂S par exemple et à la rupture de la liaison Ni-Ni, suivie d'éliminations réductrices.

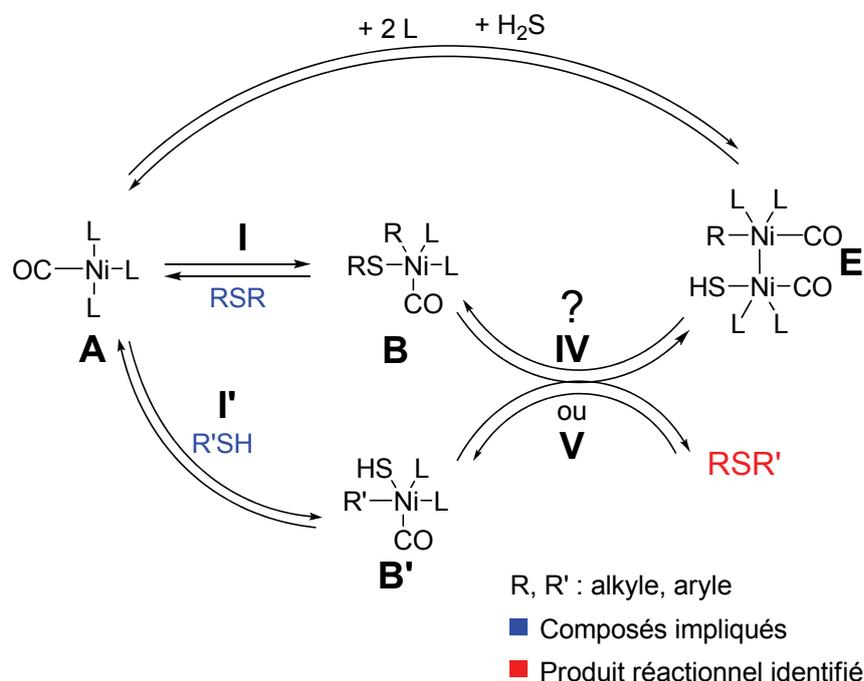


Figure III - 43 - Autre mécanisme possible pour la formation de sulfures mixtes par échange de radicaux

Sachant qu'une insertion oxydante sur un complexe de type A est possible au niveau d'une liaison carbone-soufre (cf. Jones W.D. & Chin R.M. - 1994), les monosulfures peuvent en principe intégrer de nouveau le cycle catalytique ou être impliqués dans des réactions inverses de celles qui ont conduit à leur synthèse. Par conséquent, selon notre proposition de mécanismes, la formation de monosulfures symétriques ou mixtes est réversible. De plus, dans la Figure III - 43, nous proposons ainsi la possibilité d'échanges de radicaux alkyle ou aryle au niveau de thioéthers par réaction de monosulfures formés antérieurement avec des thiols, au sein d'un cycle catalytique basé sur des complexes de nickel. La présence de monoxyde de carbone, ainsi que celle du sulfure d'hydrogène ne sont pas essentielles pour la synthèse de thioéthers mixtes.

Ces suppositions théoriques ont été confirmées par des résultats démontrant la synthèse de thiols à partir de monosulfures en présence de NiS, ainsi que par des essais mettant en évidence la formation de thioéthers mixtes lors d'expériences mettant en jeu un thiol et un monosulfure en présence de NiS (Dubant S. - 2004).

Dans la Figure III - 43, nous proposons donc deux additions oxydantes au niveau d'un complexe organométallique de nickel, tel que le complexe A (avec ou sans CO), celle d'un monosulfure et celle d'un thiol. Une élimination réductrice bimoléculaire ou une transmétallation permettraient la synthèse d'un thioéther mixte.

Enfin, nous pouvons remarquer que d'autres possibilités de mécanismes d'échanges sont envisageables, telles qu'un simple échange de radicaux R par exemple entre plusieurs monosulfures, symétriques ou mixtes, insérés sur deux complexes de nickel.

C.4.4.3 Formation de dimères aromatiques

Nous avons remarqué la synthèse de $C_6H_5C_6H_5$ lors des expériences réalisées avec le thiophénol. La Figure III - 44 illustre la possible synthèse de dimères aromatiques.

Le complexe A peut d'une part subir une addition oxydante au sein de la liaison carbone-soufre d'un thiol aromatique ou d'un monosulfure constitué d'un groupement aryle ($R = \text{aryle}$ et $R' = H, \text{ alkyle ou aryle}$). En parallèle, une deuxième insertion oxydante d'un thiol aromatique ou d'un monosulfure portant un radical aryle peut se produire sur un autre complexe A. Ensuite, à partir des complexes B et B', une élimination réductrice binucléaire ou une élimination réductrice après transmétallation permettent la synthèse d'un dimère aromatique, tel que le biphényle.

Lors des essais impliquant le thiophénol, nous avons uniquement mis en évidence la formation de $C_6H_5C_6H_5$; nous n'avons en effet pas détecté $C_6H_5CH_3$ par exemple. De plus, nous n'avons pas observé de dimères RC_8H_{17} ($R = C_8H_{17}$ ou CH_3), lors des expériences mettant en jeu l'octanethiol. Par conséquent, dans l'état actuel des recherches, nous ne pouvons pas généraliser le schéma réactionnel de la Figure III - 44 à la formation de dimères RR'' de toutes sortes ($R, R', R'' = H, \text{ alkyle ou aryle}$).

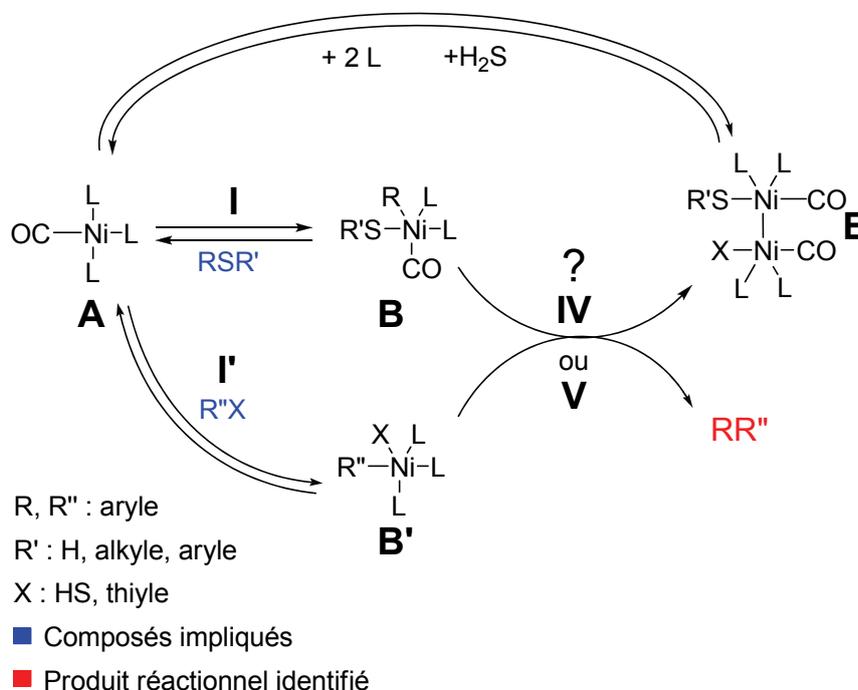


Figure III - 44 - Mécanisme possible pour le couplage des parties aryles des thiols aromatiques comme le thiophénol dans les conditions de nos expériences de simulation

C.4.4.4 Remarques sur la formation des thioesters et rôle clé de ces intermédiaires

La liaison thioester est considérée comme fortement énergétique par les biochimistes, car elle est équivalente aux liaisons phosphate au sein de l'adénosine triphosphate (ATP), molécule qui, dans tous les organismes vivants, fournit lors de son hydrolyse l'énergie nécessaire aux réactions chimiques des cellules.

De Duve C. - 1996a propose une théorie de l'apparition de la vie basée sur les thioesters, appelée « le monde des thioesters ». Selon De Duve C. - 1996a, les thioesters ont joué un rôle prépondérant dans l'évolution de la vie, car ils sont extrêmement importants dans le métabolisme d'aujourd'hui. En effet, les thioesters sont des intermédiaires obligatoires dans de nombreux processus dans lesquels l'ATP est utilisé ou régénéré.

Ainsi par exemple, des acides gras peuvent être activés sous la forme de thioesters, tels que l'acétyl-S-coenzyme A, par réaction de leur fonction acide carboxylique avec la fonction thiol du coenzyme A. Ce dernier est un coenzyme de transfert de groupements acyle intervenant dans de très nombreuses voies métaboliques, telles que le cycle de Krebs notamment.

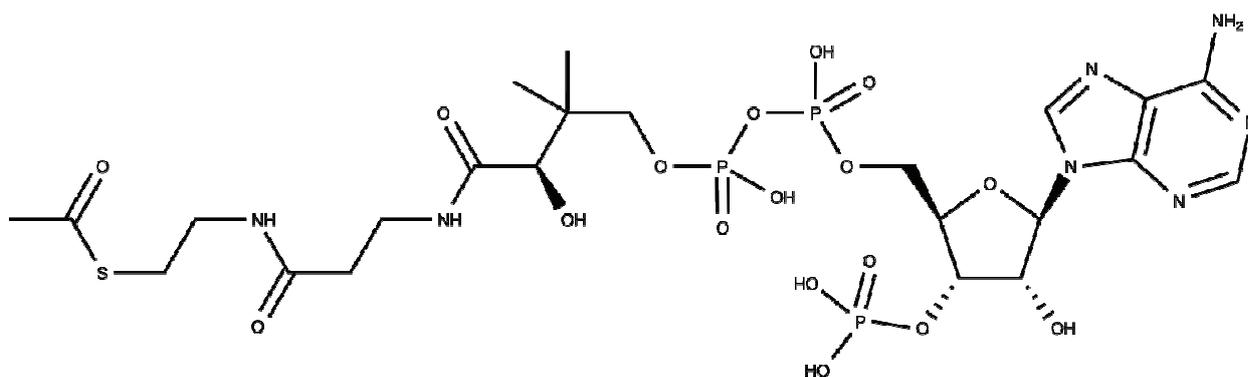
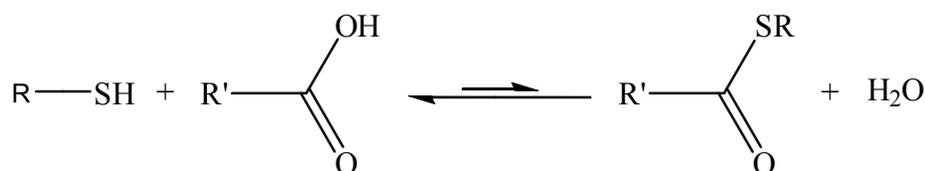


Figure III - 45 - Structure de l'acétyl-S-coenzyme A

D'autre part, le berceau de la vie présentait un cadre physicochimique riche en soufre. Selon De Duve C. - 1996a, la présence de H₂S, gaz vital duquel les thiols dériveraient, pourrait avoir permis la synthèse de thioesters.

La présence de thiols étant certaine d'après De Duve C. - 1996a, la réaction la plus simple pour la formation de thioesters serait la Réaction III - 25.

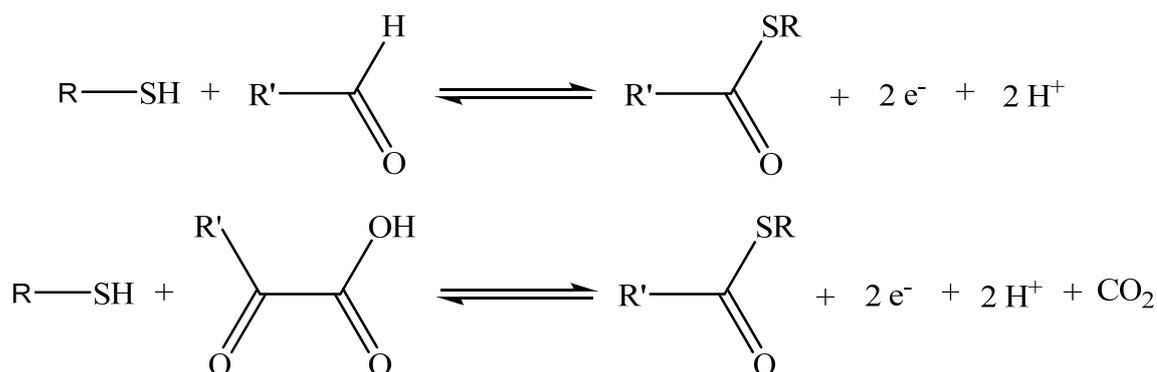


Réaction III - 25 - Formation des thioesters à partir de thiols et d'acides carboxyliques d'après De Duve C. - 1996a

Cette réaction est cependant limitée par une barrière énergétique à franchir très importante, et le fait de devoir libérer une molécule d'eau dans un milieu aqueux défavorise la formation de thioesters, déplaçant ainsi l'équilibre vers la gauche.

De Duve C. - 1996a propose toutefois que d'après les données de la thermodynamique, des petites quantités de thioesters pourraient se former spontanément à partir d'acides et de thiols libres en milieu liquide, à condition que ce milieu soit très chaud et très acide.

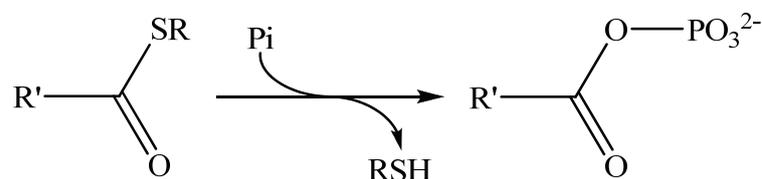
De Duve C. - 1996a envisage également d'autres alternatives pour la synthèse des thioesters, illustrées dans la Réaction III - 26 (*cf.* Rauchfuss H. - 2008b), à partir de thiols et d'aldéhydes ou de thiols et de cétoacides, s'appuyant sur les travaux de Weber A.L. - 1984. Ce dernier démontra la formation d'un thioester en faisant réagir le glycéraldéhyde et la N-acétylcystéine dans des conditions anaérobies, à température ambiante et en milieux aqueux neutre.



Réaction III - 26 - Autres réactions possibles pour la synthèse de thioesters d'après De Duve C. - 1996a

Les réactions présentées dans la Réaction III - 26 sont des oxydations nécessitant une réaction de réduction simultanée. Ainsi, De Duve C. - 1996a propose que les ions Fe^{2+} et les ions Fe^{3+} soient impliqués dans un cycle catalytique non enzymatique de synthèse des thioesters. Les ions ferreux irradiés par des ultra-violetts auraient d'abord libéré des ions ferriques. Les ions Fe^{3+} auraient alors pu servir d'accepteurs d'électrons pour la synthèse des thioesters.

Enfin, d'après De Duve C. - 1996a, les thioesters primitifs auraient pu être impliqués dans un large spectre de réactions, dont la phosphorylation conduisant à des phosphates d'acyles, comme le montre la figure suivante, la formation de polymères et de membranes et la synthèse de nucléosides triphosphates, pour conduire au final à la synthèse de l'ARN.



Réaction III - 27 - Phosphorylation des thioesters

En fait, ce monde des thioesters ou plus exactement des thioesters et du fer représente pour De Duve C. - 1996a « la reconstitution hypothétique de la voie d'évolution chimique qui mena des premiers produits de la chimie prébiotique jusqu'au monde de l'ARN et a continué à

alimenter le monde de l'ARN pendant tout le temps qu'il a fallu à la vie naissante pour passer du monde de l'ARN à celui de l'ARN et des protéines ».

Au cours des travaux de recherche de cette thèse, nous avons mis en évidence une source prébiotiquement pertinente de thioesters, susceptible « d'alimenter » le monde des thioesters envisagé par C. De Duve.

Comme les aldéhydes, les thioesters sont également des intermédiaires clés pour le cycle catalytique que nous proposons, puisqu'ils peuvent en partie réintégrer le processus catalytique, par addition oxydante sur un complexe de nickel au sein de la liaison carbone-soufre, pour conduire à des thiols (voir Figure III - 39, page 182, étapes III, IV/V et VI).

Par ailleurs, ils apparaissent comme des intermédiaires clés pour d'autres réactions importantes pour l'apparition de la vie impliquant des produits supplémentaires également d'intérêt prébiotique, tels que des composés azotés ou phosphorés.

A cet égard, comme nous l'avons déjà mentionné, les réactions de couplage d'acides aminés en polypeptides sont très défavorisées en milieu aqueux et présentent un challenge en chimie prébiotique. Il a ainsi été démontré que des dérivés thioesters d'acides aminés pouvaient se condenser et conduire à des liaisons peptidiques dans l'eau (*cf.* par exemple Wieland T. & Pfeleiderer G. - 1957 ; Liu R. & Orgel L.E. - 1997 ; Weber A.L. - 1998 ; Bertrand M. *et al.* - 2001).

C.4.5 Mise en évidence d'une voie de formation de composés branchés

C.4.5.1 Observation de molécules non linéaires lors de nos différents essais en laboratoire

Au cours des expériences typiques en autoclave, dans des conditions simulant celles régnant aux alentours des fumeurs noirs primitifs et impliquant comme seule source carbonée le monoxyde de carbone, nous avons notamment identifié à plusieurs reprises le propane-2-thiol, sous sa forme deutériée ou hydrogénée, (thiol libre ou dérivé NEMSCH(CH₃)₂, *cf.* Figure III - 4, page 127 et Figure III - 8, page 131) et l'acide isobutyrique deutérié ou non (sous la forme d'un ester octylique, voir Figure III - 9, page 139). L'observation de ces deux composés met indéniablement en évidence l'existence de voies alternatives conduisant à la formation, *via* des thiols secondaires, de produits branchés, tels que des acides carboxyliques ramifiés, et opérant en parallèle de la formation des composés hydrocarbonés linéaires décrite dans la Figure III - 33 (page 171) et la Figure III - 34 (page 174).

Par ailleurs, les expériences de simulation effectuées en présence de substrats organiques, en particulier de différents thiols, ont également conduit à des thiols secondaires et à des produits non linéaires. En effet, lorsque le méthanethiol a été ajouté en tant que réactif dans le mélange réactionnel d'une expérience réalisée dans des conditions classiques, le propane-2-thiol a été identifié en quantités significatives (voir Figure III - 16, page 149). L'acide isobutyrique a également été détecté. En outre, lorsque des expériences en autoclave ont été réalisées avec l'éthanethiol comme substrat, une quantité assez importante de propane-2-thiol a été observée,

ainsi que du butanethiol ramifié sous la forme du 2-méthylepropanethiol et du 2-méthylepropane-2-thiol (voir Figure III - 17, page 150).

C.4.5.2 Rôle des cétones comme intermédiaires dans la formation des composés ramifiés

En nous reportant au cycle catalytique proposé pour la formation de liaisons carbone-carbone, il semble logique de transposer la voie proposée pour la formation des aldéhydes, à une nouvelle voie ($R'' \neq H$ et $R'' = \text{alkyle ou aryle}$) permettant la synthèse des cétones (voir étapes I, II et IV/V, Figure III - 48, page 196). Celles-ci peuvent ensuite subir une sulfuration réductrice aboutissant à des thiols secondaires (étape VI) (Schneckenburger P. *et al.* - 1998) et ouvrant la voie vers des composés branchés par élongation à partir de la position secondaire. Nous avons d'ailleurs détecté des cétones à plusieurs reprises.

En effet, lors des expériences en autoclave mettant en jeu du méthane-thiol dans des conditions typiques, nous avons observé de l'acétone (voir Figure III - 16, page 149). Ainsi, nous proposons la synthèse du propane-2-thiol par la formation d'acétone, suivie d'une sulfuration réductrice en thiol branché (voir Figure III - 46). De plus, la Figure III - 46 présente le mode de formation supposé de l'acide acétique, observé lors des essais en autoclave. Enfin, le propane-2-thiol peut réintégrer le processus catalytique pour aboutir à la synthèse de l'acide isobutyrique et à celle du 2-méthylepropanethiol, comme l'illustre la Figure III - 47, page 195.

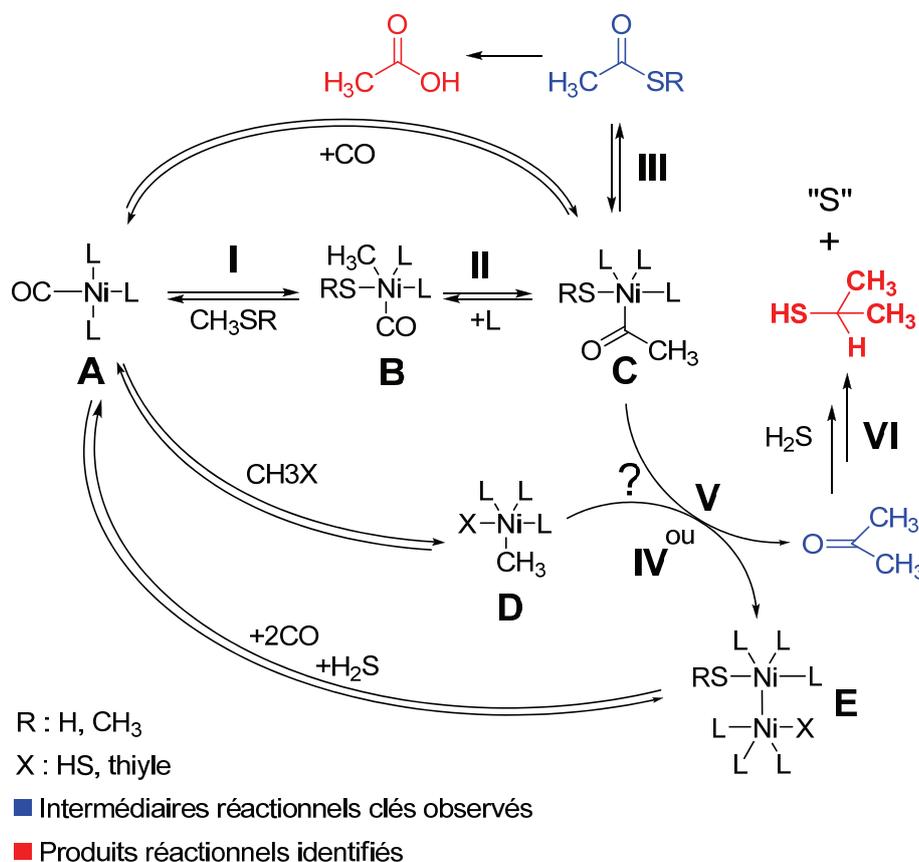


Figure III - 46 - Proposition de mécanisme pour la formation du propane-2-thiol

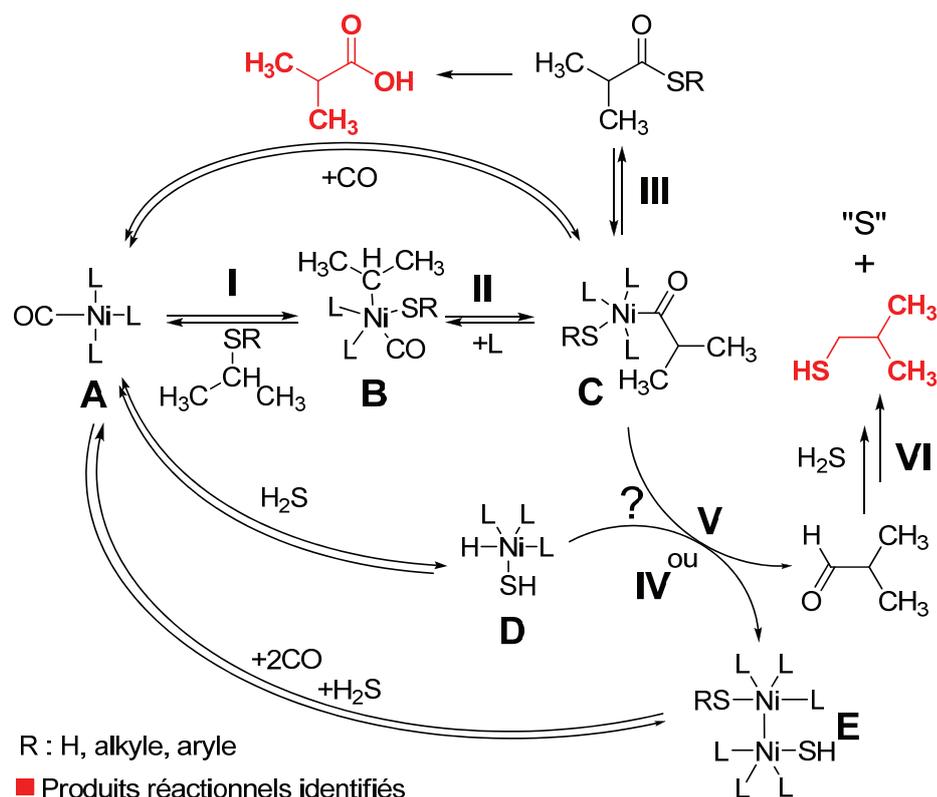


Figure III - 47 - Proposition de mécanisme pour la synthèse de l'acide isobutyrique et pour la formation du 2-méthylepropanethiol

Par ailleurs, nous avons mis en évidence la formation d'acétophénone et de benzophénone lors de plusieurs expériences impliquant le thiophénol, en présence de NiS ou Ni(0) (voir Figure III - 19, page 153 et Figure III - 24, page 157).

Il est important de préciser que nous avons pu détecter le diphenylméthane en petites quantités lors d'une expérience en flacon Sovirel mettant en jeu le thiophénol et Ni(0). Ce composé est probablement synthétisé par réduction de la benzophénone en présence de H₂S ou H₂. Le fait que nous ne l'ayons pas observé systématiquement dépend probablement des propriétés réductrices des conditions opératoires mises en œuvre, vraisemblablement liées à la quantité de H₂S formé *in situ* par réaction de Na₂S et HCl. Lors de cet essai particulier, des conditions expérimentales légèrement plus réductrices que celles des autres expériences (précisément 3,1.10⁻⁴ mol de Na₂S au lieu de 3.10⁻⁴ mol) ont vraisemblablement conduit à la consommation de la benzophénone, présente uniquement à l'état de traces dans le milieu réactionnel à la fin de l'expérience, pour donner de petites quantités de diphenylméthane, l'hydrocarbure correspondant.

Nous n'avons pas détecté les thiols correspondants à la sulfuration réductrice par H₂S de la benzophénone et de l'acétophénone au cours des expériences faisant intervenir le thiophénol comme réactif et NiS ou Ni(0). Nous envisageons cependant leur existence, ces thiols étant probablement soit en trop faibles quantités, soit masqués par des co-élutions avec des composés plus concentrés, soit trop facilement réductibles en hydrocarbures dans les conditions utilisées. En effet, la réduction de la benzophénone, notamment, en présence de H₂S passerait

théoriquement par le thiol correspondant (Schneckenburger P. *et al.* - 1998), pour aboutir ensuite à l'hydrocarbure diphenylméthane (Blöchl E. *et al.* - 1992).

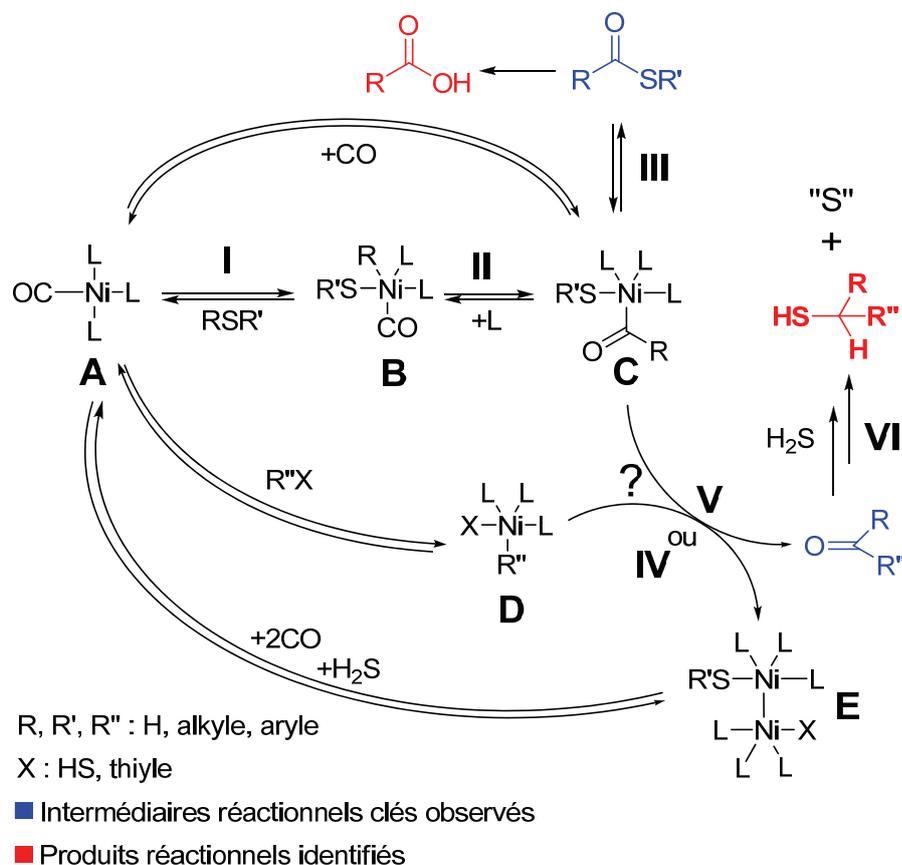


Figure III - 48 - Cycle catalytique général pour la formation de liaisons C-C, impliquant des carbonyles (aldéhydes et cétones)

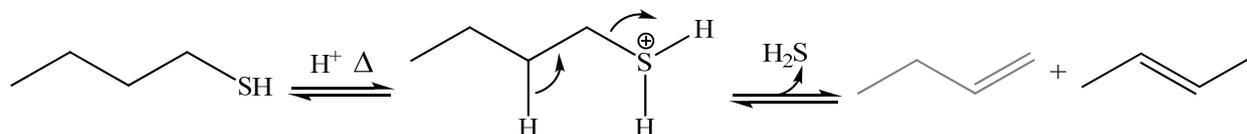
D'après le mécanisme catalytique itératif que nous proposons et illustré par la Figure III - 48, la synthèse de chaînes hydrocarbonées branchées à n'importe quelle position est théoriquement possible, puisque la formation de cétones est tout à fait envisageable par la réaction de n'importe quels thiols RSH et R''SH en présence du catalyseur, de CO et H₂S, dans l'eau.

C.4.5.3 Voie alternative pour la formation des composés branchés. Rôle des alcènes comme intermédiaires

Lors des travaux de recherche précédant cette thèse, la présence d'alcènes a été mise en évidence dans des conditions de simulation très proches (*cf.* Dubant S. - 2004). De plus, la réactivité de composés insaturés a été testée et il a été démontré que les doubles liaisons peuvent subir une sulfuration, une réduction et une carbonylation, dans des conditions similaires à celles mises en œuvre dans nos expériences. Sur cette base, une voie alternative pour la formation des composés branchés, où les alcènes joueraient le rôle d'intermédiaires, peut être proposée.

Formation des alcènes dans nos conditions

La synthèse des alcènes peut avoir lieu de deux façons. D'une part, la Réaction III - 28 de désulfuration acido-catalysée de thiols est envisageable. L'élimination de H_2S forme plusieurs alcènes dont le majoritaire est le plus stable, c'est-à-dire le plus substitué.



Réaction III - 28 - Désulfuration d'un thiol et formation des alcènes correspondants par catalyse acide

D'autre part, la formation d'alcènes à partir de thiols peut s'expliquer par un mécanisme de catalyse homogène basé sur les complexes de nickel, comme pour le processus de formation de liaisons carbone-carbone. En effet, les complexes de métaux de transitions possédant des groupements alkyles dans leur sphère de coordination peuvent parfois réagir spontanément pour former des complexes avec des alcènes. Ce processus est appelé β -élimination. Cette réaction n'a lieu que lorsqu'un complexe possède moins de 18 électrons, généralement 16, et permet à ce complexe de retrouver une configuration électronique optimale sans l'intervention d'un ligand extérieur. Le processus inverse est appelé insertion. Dans ce cas, le métal-alcène s'insère dans la liaison métal-hydrure (Astruc D. - 2000). Les mécanismes de β -élimination et d'insertion peuvent être généralisés à l'aide du schéma suivant.

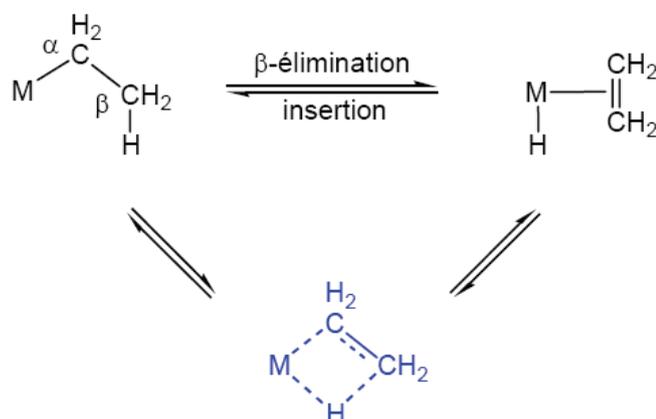


Figure III - 49 - Principe de la β -élimination en catalyse homogène : insertion d'alcènes au niveau de complexes organométalliques ($M = \text{métal}$)

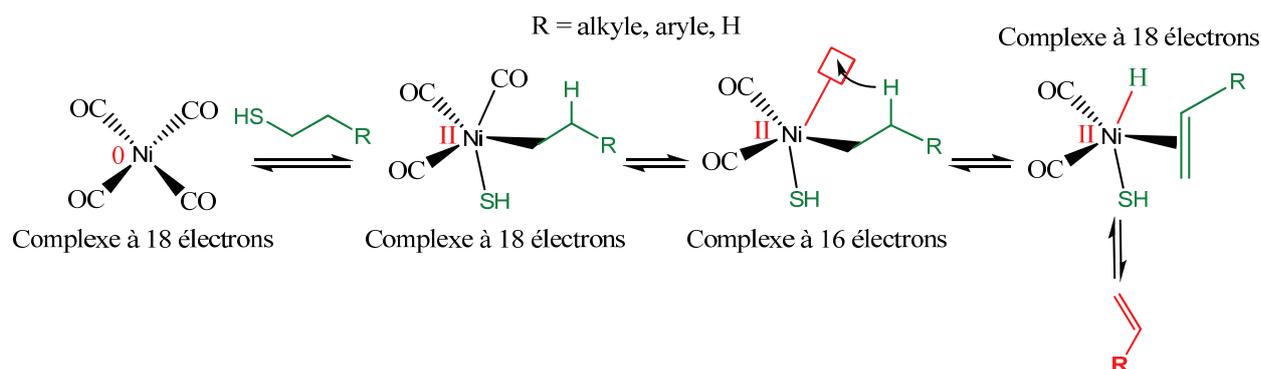


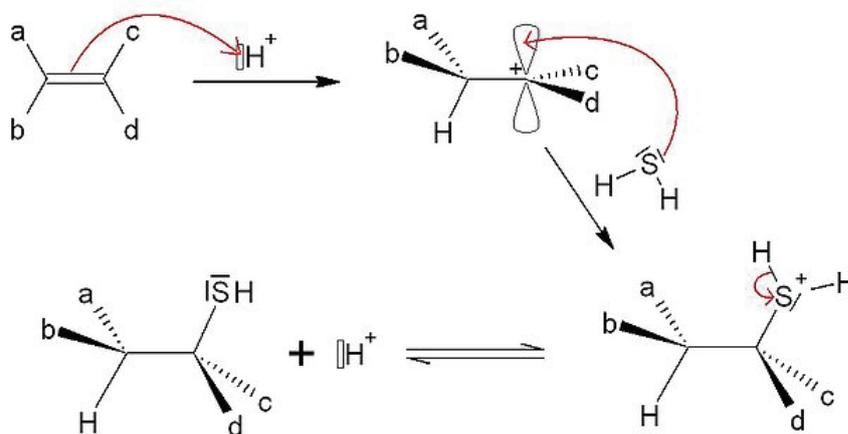
Figure III - 50 - Mécanisme possible pour la formation d'alcènes par insertion oxydante d'un thiol au sein d'un complexe de nickel carbonyles

Dans la Figure III - 50, nous proposons une voie de synthèse des alcènes basée sur les complexes nickel carbonyles, comme pour la majorité des produits observés. Ainsi, une fois le thiol additionné sur le catalyseur, si ce dernier possède un site de coordination libre, la β -élimination permet la formation d'une double liaison conduisant à la libération d'oléfines.

Synthèses de thiols secondaires impliquant les alcènes

Plusieurs voies semblent logiques pour la formation de thiols à partir d'alcènes.

D'une part, l'addition de sulfure d'hydrogène sur un alcène en milieu acide conduit à la synthèse d'un thiol. La catalyse homogène par H^+ permet la formation du carbocation le plus stable, d'après la loi de Markovnikov, comme illustré dans la Réaction III - 29.



Réaction III - 29 - Sulfuration d'un alcène en thiol

D'autre part, nous avons abordé précédemment le processus de β -élimination et nous avons mentionné le fait que la réaction inverse, l'insertion d'alcène sur un complexe, est possible. Plusieurs exemples du processus d'équilibre insertion d'oléfine / β -élimination ont d'ailleurs été mentionnés, notamment par Doherty N.M. & Bercaw J.E. - 1985. Par conséquent, il est logique d'étudier la possibilité de synthétiser des thiols à partir d'alcènes par l'insertion des oléfines sur un complexe de nickel.

La réaction d'insertion d'un alcène sur un complexe organométallique fait intervenir un complexe intermédiaire métal-hydrure-oléfine et nécessite que l'on dispose d'un site vacant,

c'est-à-dire d'un complexe à 16 électrons de valence. En majorité, l'insertion d'un alcène est régiospécifique de façon anti-Markovnikov, ce qui donne un complexe coordonné à un groupement alkyle primaire (Astruc D. - 2000), comme illustré dans la Figure III - 51.

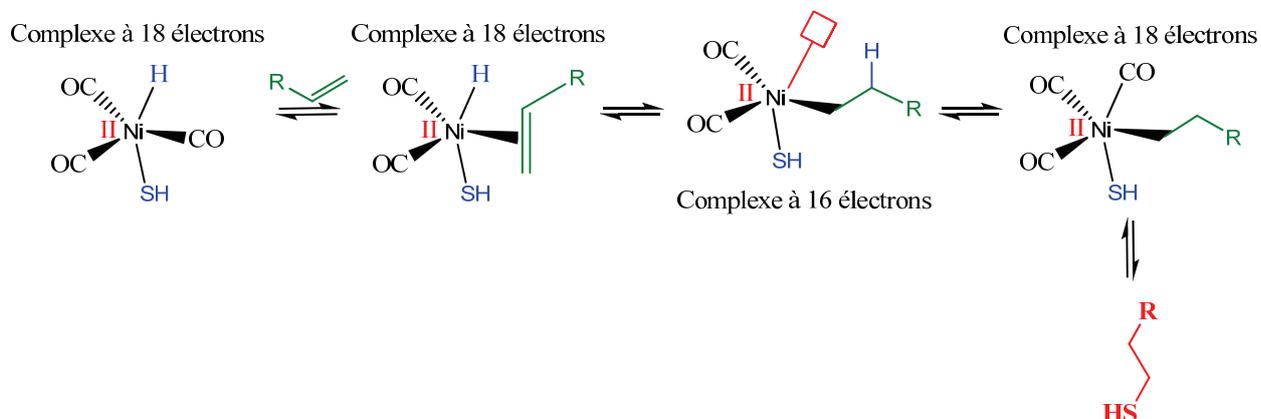


Figure III - 51 - Insertion d'alcènes dans un complexe de nickel

Le mécanisme d'insertion d'alcènes principalement anti-Markovnikov conduit à la formation d'un thiol primaire par élimination réductrice.

Nous avons à plusieurs reprises observé le thiol secondaire propane-2-thiol, lors des expériences de simulation en autoclave mettant en jeu CO comme unique source carbonée (thiol libre ou dérivé NEMSCH(CH₃)₂, cf. Figure III - 4, page 127 et Figure III - 8, page 131), et lorsque nous avons fait réagir le méthane-thiol (cf. Figure III - 52, page 200) ou l'éthane-thiol (voir Figure III - 17, page 150) comme substrats organiques.

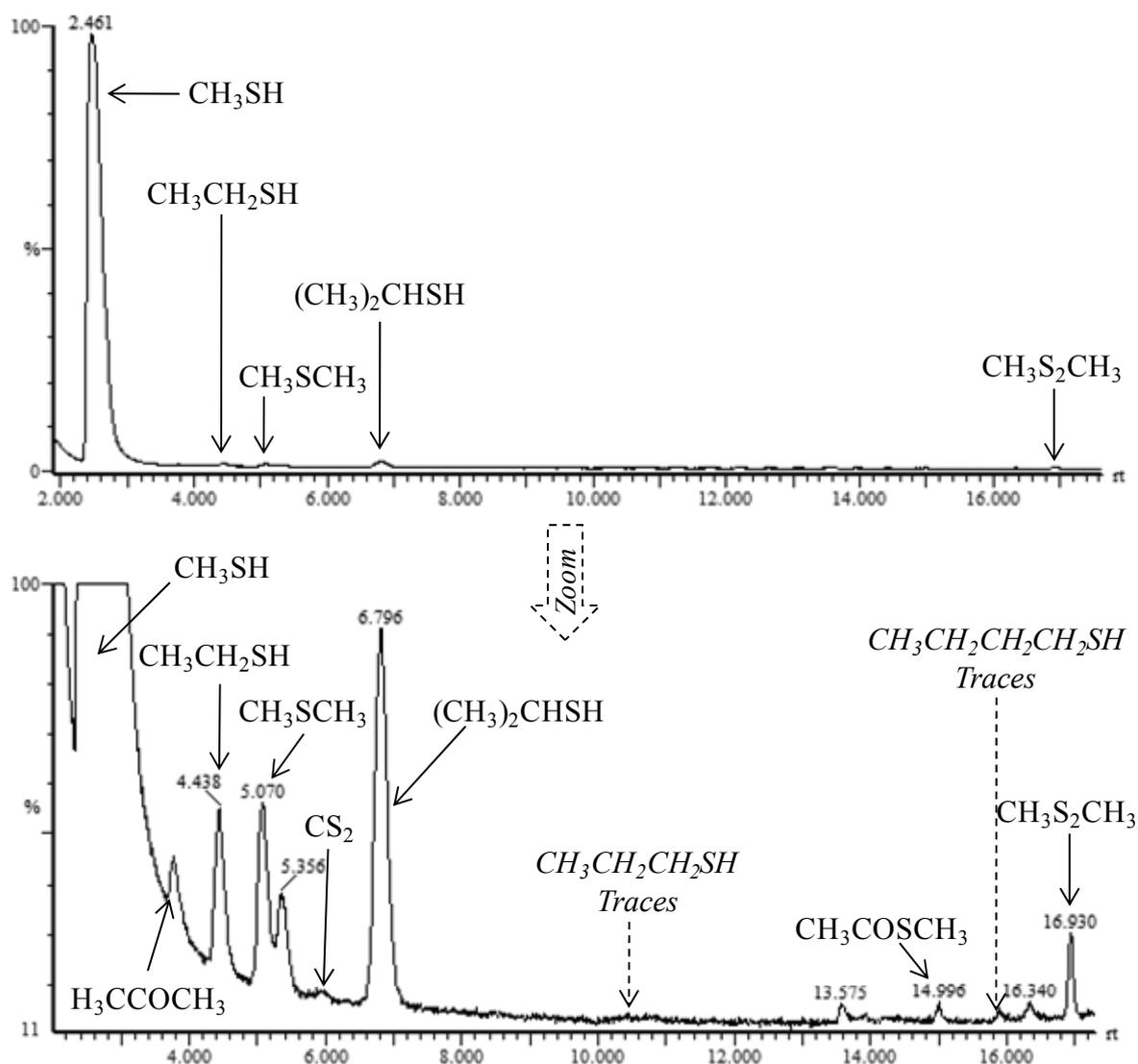
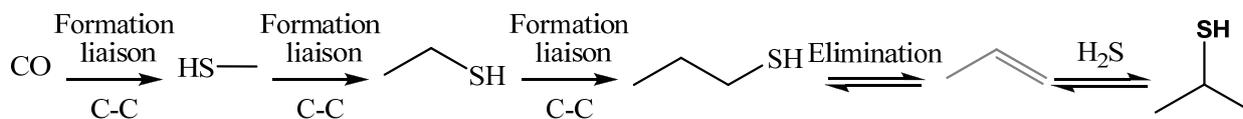


Figure III - 52 - Chromatogramme en phase gazeuse des gaz de tête issus d'une expérience en autoclave faisant intervenir CH_3SH ($3,5\text{mmol CH}_3\text{SNa}$, $20\text{mL H}_2\text{O}$, 1mmol NiS , $5\text{bar H}_2\text{S}$, 5bar CO , $3,1 \cdot 10^{-3}\text{mol HCl}$, 90°C , 11 jours) (Colonne DB1-30m, 35°C (10min); $35\text{-}250^\circ\text{C}$ ($10^\circ\text{C}/\text{min}$); 250°C (4min)) (Extrait du TIC, logiciel Masslab)

La voie de synthèse de thiols passant par la sulfuration d'alcènes après insertion au sein de complexes de nickel conduit préférentiellement à des thiols terminaux. Cette voie ne semble donc pas privilégiée pour expliquer la formation du propane-2-thiol dans les conditions mises en œuvre.

Il serait néanmoins possible d'envisager que, lors des expériences de simulation en autoclave mettant en jeu CO comme unique source carbonée, ou CO et un thiol (méthanethiol ou éthanethiol) comme substrat organique, du propane-1-thiol ait été synthétisé en quantités significatives par le processus de formation de liaisons C-C et d'élongation de chaîne que nous avons présenté. Ensuite, le propane-1-thiol pourrait subir une élimination de H_2S , par catalyse homogène basée sur les complexes de nickel ou par catalyse hétérogène avec H^+ , conduisant au propène. L'alcène pourrait alors subir, dans une certaine mesure, une addition acido-catalysée (et donc suivant la loi de Markovnikov) de H_2S pour contribuer à la formation d'une quantité

significative de propane-2-thiol coexistant avec une plus faible quantité de propanethiol linéaire, comme illustré dans la Réaction III - 29 (page 198) et la Réaction III - 30.



Réaction III - 30 - Voie possible de formation du propane-2-thiol en quantité significative, lors des essais en autoclave avec CO, CO/CH₃SH et CO/CH₃CH₂SH

Nous émettons cependant des réserves concernant cette voie de synthèse de thiols via la sulfuration d'alcènes par catalyse acide, car d'après quelques tests effectués auparavant au laboratoire, l'efficacité de la sulfuration de doubles liaisons n'est pas significative dans les conditions que nous avons mises en œuvre lors des expériences de simulation hydrothermale.

Ainsi, dans l'état actuel de nos recherches, la formation de thiols non linéaires, conduisant notamment à des acides carboxyliques branchés, nous semble de façon logique être réalisée par l'intermédiaire de cétones.

C.4.5.4 Conclusion

Les alcènes, dont on peut envisager la synthèse par deux voies plausibles (élimination par catalyse acide ou β -élimination au sein de complexes organométalliques), ne peuvent pas réellement être impliqués dans la synthèse de thiols non linéaires (ou non terminaux) et donc de composés branchés. En effet, leur insertion au sein de complexes organométalliques de nickel conduit théoriquement majoritairement à des thiols terminaux, ce qui ne correspond pas à la répartition des composés observés lors de nos expériences de simulation (propane-2-thiol majoritaire). De plus, la sulfuration des alcènes suivant la loi de Markovnikov a été écartée, car défavorisée dans les conditions mises en œuvre.

Par conséquent, la formation de composés branchés par l'intermédiaire de cétones semble la plus adaptée. Les cétones peuvent être synthétisées au sein du cycle catalytique de formation de liaisons C-C et d'élongation de chaînes, comme la plupart des molécules que nous avons observées.

Nous ne possédons au terme de cette thèse aucune information sur les proportions relatives des voies mises en évidence pour la synthèse de molécules linéaires et pour la formation des composés branchés. Leurs rendements et leurs cinétiques n'ont pas été comparés et sont fort probablement contrôlés par plusieurs paramètres, tels que les concentrations des divers réactifs impliqués, la quantité de catalyseur, le pH, la température, mais aussi des effets stériques. Ces variables régissent ainsi le ou les types de squelettes hydrocarbonés synthétisés préférentiellement au cours de la totalité du processus présenté dans la Figure III - 48 (page 196).

Le cycle catalytique proposé, permettant la formation de composés branchés, pourrait ouvrir une voie de synthèse des ancêtres des équivalents biologiques de l'isoprène, précurseurs communs de tous les isoprénoïdes. Les isoprénoïdes ou terpénoïdes (caroténoïdes,

chlorophylles *etc.*) forment une classe large et diverse de composés organiques que l'on rencontre dans la nature. Ces lipides peuvent être trouvés chez toutes les créatures vivantes, et constituent un large groupe de produits naturels.

C.4.6 Autres approches mécanistiques possibles pour la formation de liaisons carbone-carbone

C.4.6.1 Possible rôle des alcènes

En abordant la réactivité des alcènes dans les conditions de simulations hydrothermales, une autre éventualité pour la formation de liaisons C-C vient à l'esprit.

La synthèse d'aldéhydes et de cétones par hydroformylation a été mentionnée par Vit Z. *et al.* - 1994 et Vit Z. *et al.* - 1995 qui ont notamment démontré la formation de propanal à partir d'éthylène, en présence de 10 bars d'un mélange de CO, H₂, H₂S (faible pression partielle), et NiS ou CoS, en milieu anhydre. Ces résultats sont comparables aux nôtres, car le propanal est accompagné de petites quantités de composés soufrés, notamment C₂H₅SC₂H₅ et C₃H₇SC₂H₅. Bien qu'en absence d'eau, et impliquant essentiellement CO et H₂, les découvertes de Vit Z. *et al.* - 1994 et Vit Z. *et al.* - 1995 nous incitent à nous inspirer du mécanisme d'hydroformylation présenté dans la Figure III - 53 (page 203) pour construire un processus de formation de liaisons C-C, dans nos conditions de simulations hydrothermales, qui serait complémentaire à celui décrit précédemment (rappelé dans la Figure III - 54, page 203). Nous prenons ainsi en considération un mécanisme alternatif impliquant des alcènes, concordant avec nos conditions expérimentales et illustré dans la *Figure III - 55* (page 204).

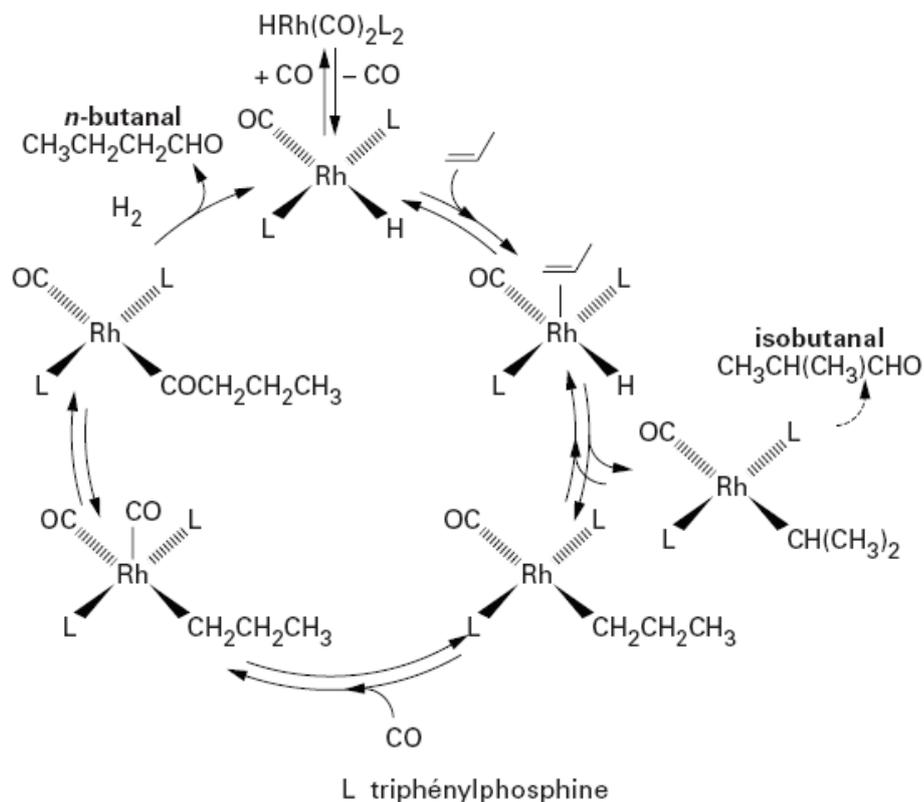


Figure III - 53 - Mécanisme de l'hydroformylation du propène en n-butanal et en iso-butanal catalysée par le système rhodiumtriphénylphosphine
<http://www.techniques-ingenieur.fr/res/pdf/encyclopedia/II-j5750.pdf>

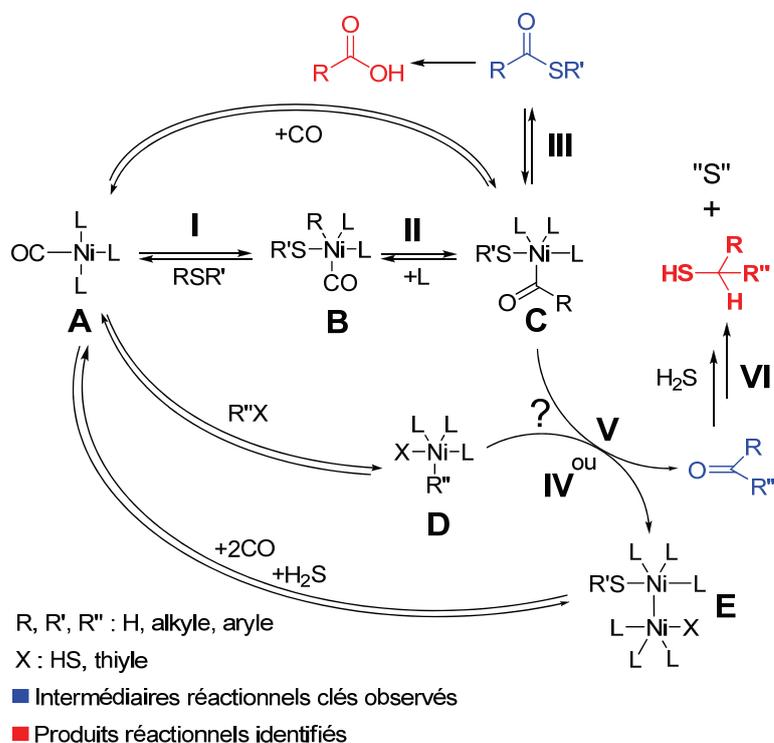


Figure III - 54 - Rappel du premier cycle catalytique proposé pour la formation de liaisons C-C

Le cycle catalytique présenté ci-après repose sur la formation préalable de thiols. Après insertion oxydante d'un thiol (I) au sein du complexe organométallique de nickel A et libération d'un site de coordination (II), un alcène peut s'associer au métal (III) pour donner le composé D. Une insertion du composé insaturé au sein de la liaison métal-hydrure (IV) conduit ensuite à la formation du composé E, possédant un groupement alkyle dans sa sphère de coordination. Les étapes suivantes sont similaires à celles présentées dans le cycle catalytique de base (voir Figure III - 54, page 203). L'étape V d'insertion migration du groupement alkyle permet la synthèse d'un groupement acyle, un composé carbonylé peut alors être libéré par formation d'un complexe bimétallique (VII, H) ou par transmétallation (VIII). La sulfuration réductrice (IX) des aldéhydes ou cétones formés aboutit à des thiols linéaires ($R''=H$) ou ramifiés ($R''\neq H$).

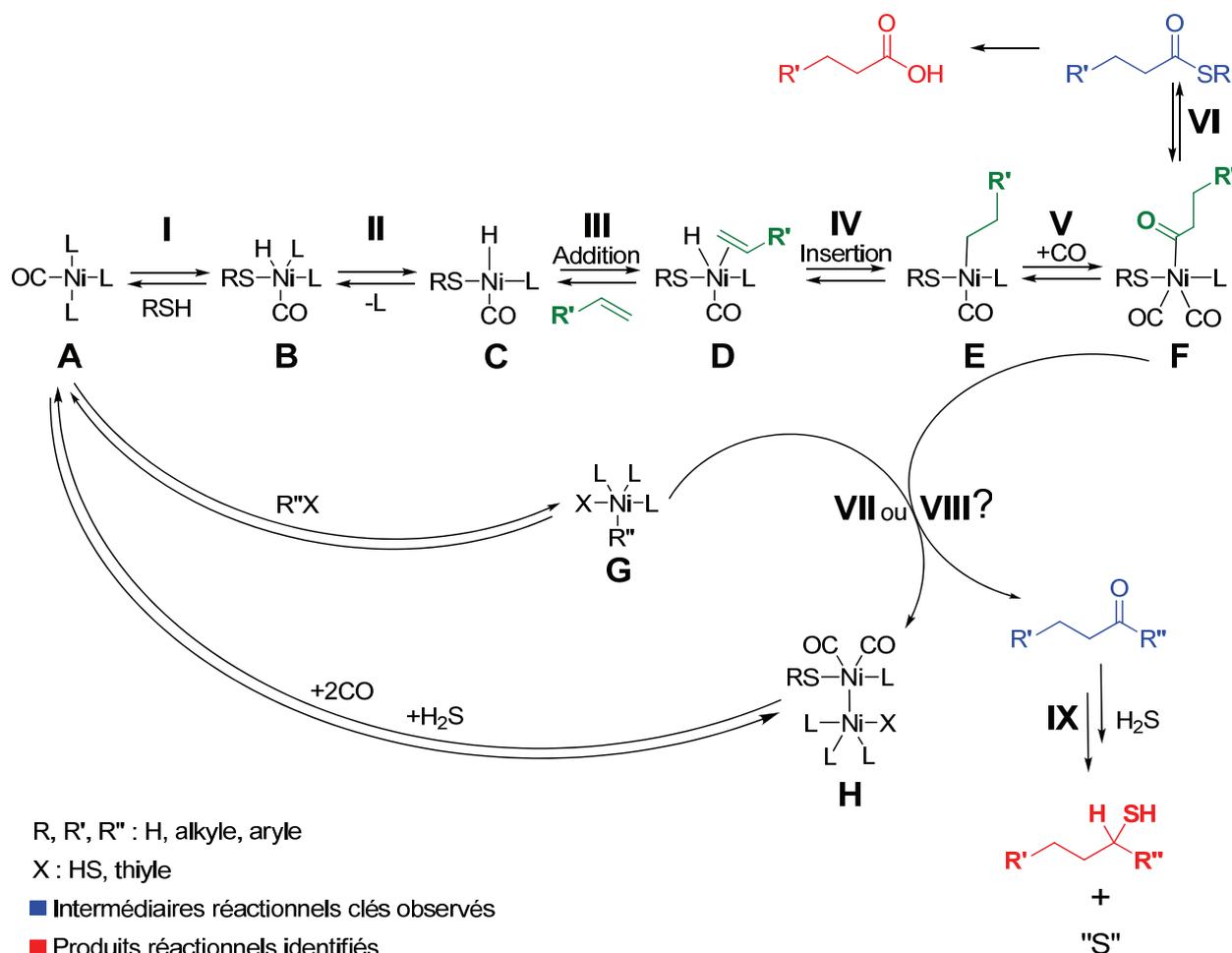


Figure III - 55 - Autre cycle catalytique possible basé sur les alcènes

Il faut toutefois remarquer que l'insertion d'oléfines au sein d'un complexe organométallique conduit en général à l'insertion de groupements alkyles liés au métal par la position terminale, comme le montre la Figure III - 55, cette insertion étant majoritairement régiospécifique. De plus, il a été démontré que si un alcène présente une insaturation autre qu'en position terminale, cet alcène va s'insérer, formant un complexe d'alkyle secondaire instable, probablement en raison de l'encombrement stérique dû à la position de la liaison métal-carbone. Par β -élimination, l'alcène primaire va être libéré puis réinséré pour donner un complexe d'alkyle

primaire. Ainsi, un réarrangement des alcènes secondaires en alcènes primaires a souvent été observé (*cf.* Astruc D. - 2000).

Cette règle établie pour l'insertion des oléfines au sein de complexes organométalliques a été notamment confirmée par Cody G.D. *et al.* - 2001 et Cody G.D. *et al.* - 2004b. Ces derniers ont en effet mentionné à plusieurs reprises la présence minoritaire d'isomères branchés de l'acide décanoïque estérifié, à partir de nonane-1-thiol, en présence d'acide formique (source de CO) et de NiS, dans l'eau. Cette isomérisation de l'acide carboxylique est attribuée à une désulfuration rapide du thiol précédant l'insertion de CO, conduisant à une combinaison minoritaire d'alcènes secondaires, engendrant la coexistence de petites quantités d'acides décanoïques non linéaires à côté de la grande quantité d'acide linéaire. De plus, Cody G.D. *et al.* - 2004b ont observé la même répartition des acides carboxyliques en C₁₀ lors d'expériences faisant réagir le non-1-ène avec CO et NiS dans l'eau. Enfin, Dubant S. - 2004 a également mentionné la synthèse de composés démontrant une carbonylation majoritairement régiospécifique de façon anti-Markovnikov. Il a en effet relaté une expérience avec de l'acide pent-4-énoïque, qui a essentiellement abouti au diacide linéaire, l'acide hexanedioïque.

Même si nous n'avons pas mis en évidence la présence d'alcènes au cours de nos expériences en laboratoire, leur présence semble possible et leur formation semble réalisable dans les conditions mises en œuvre, notamment par un processus organométallique de β -élimination concordant avec la chimie que nous avons mise en lumière au cours de nos travaux de recherche. De plus, des alcènes ont été observés lors la précédente thèse et leur réactivité a été étudiée dans des conditions opératoires très proches des nôtres. Nous ne pouvons par conséquent pas exclure la voie de synthèse de carbonyles impliquant des alcènes. Ce chemin réactionnel coexiste probablement avec celui de la formation directe de carbonyles, ces deux voies permettant la synthèse de thiols. Nous ne pouvons pas privilégier ce mécanisme, puisqu'il ne peut pas à lui seul expliquer l'existence de toutes les molécules observées, en particulier les thiols non terminaux. Il présente en effet une sélectivité pour la formation de groupements alkyles linéaires notamment. Le processus de synthèse des cétones reste par conséquent la seule voie à nos yeux permettant d'expliquer la formation des composés branchés, tels que l'acide iso-butyrique notamment.

C.4.6.2 Possibilité d'un mécanisme de catalyse hétérogène de surface

Nous avons envisagé une dernière éventualité pour la formation de liaisons carbone-carbone. Une catalyse de surface sur Ni(0) ou NiS pourrait également expliquer la synthèse de la plupart des composés observés au cours des essais en laboratoire et impliquerait les processus décrits dans la figure suivante. Les mécanismes illustrés dans la Figure III - 56 (page 206), inspirés des propositions de Cody G.D. *et al.* - 2004a, permettraient la synthèse d'aldéhydes, de thioesters, d'acides carboxyliques et de thiols (a), mais aussi de cétones et donc de composés ramifiés (b). Cody G.D. *et al.* - 2004a ont en effet proposé, comme nous, une voie de catalyse homogène basée sur des complexes de fer et une voie de catalyse hétérogène, afin d'expliquer la formation d'acides décanoïques à partir du nonanethiol, en présence de catalyseur métallique et d'acide formique (source de CO) dans l'eau.

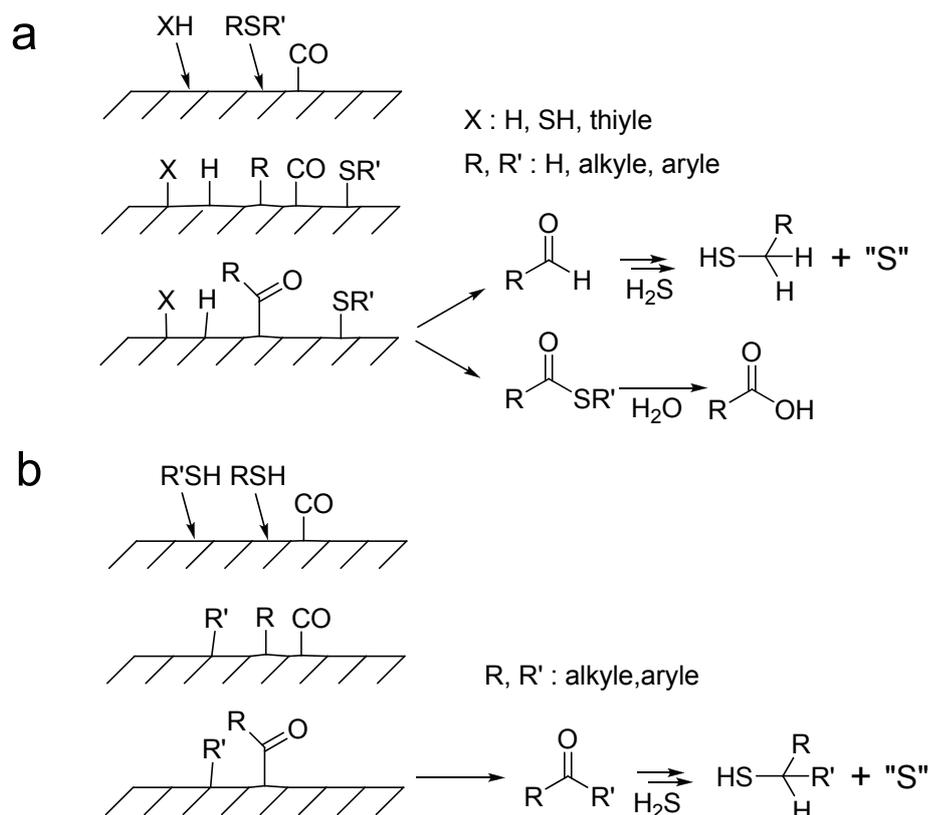


Figure III - 56 - Possible mécanisme de catalyse de surface

Ainsi, l'adsorption chimique d'un thiol ou d'un sulfure à la surface du catalyseur, peut conduire à la liaison d'un groupement alkyle au métal. La migration d'un CO également adsorbé et l'insertion du carbonyle au sein de la liaison métal-alkyle aboutit à la formation d'un groupement acyle lié au catalyseur. En parallèle un autre thiol, H_2S ou H_2 , provenant de la réaction de gaz à l'eau (voir Réaction III - 1, page 118), peuvent s'adsorber et entraîner la disponibilité d'un H, de SH ou de SR' à la surface du métal. Enfin, l'élimination conjuguée des groupements liés au métal aboutit à la synthèse d'aldéhydes subissant une sulfuration réductrice en thiols ou à la libération de thioesters et de thioacides (a). Une autre voie possible est la disponibilité d'un deuxième radical alkyle coexistant avec le groupement acyle. L'élimination conjuguée de ces derniers aboutit à la synthèse de cétones puis de thiols branchés (b).

Par ailleurs, il est intéressant d'ajouter que Huber C. & Wächtershäuser G. - 1997 ont également proposé un mécanisme de catalyse de surface au cœur de la théorie de G. Wächtershäuser de l'apparition de la vie basée sur le minerai pyrite. En effet, la surface de la pyrite chargée positivement favoriserait l'adsorption de groupements anioniques (COO^- , PO_3^{2-} , S^- etc.). En outre, des réactions seraient possibles au sein de la sphère de coordination des cations de métaux de transition en général, tels que FeS et NiS.

C.5 Conclusion

Nous avons mis en évidence et étudié au cours de cette thèse une voie itérative possible pour la formation de composés organiques d'intérêt prébiotique, tels que des thiols, des sulfures alkyliques, des aldéhydes, des cétones, des thioesters, des thioacides et des acides carboxyliques, en principe de toutes longueurs, à partir de sources carbonées en C₁, susceptible d'être impliquée dans l'apparition de la vie au fond des océans, aux alentours de fumeurs noirs, des environnements riches en H₂S et en sulfures métalliques.

Nous avons investigué la formation abiotique de liaisons carbone-carbone à l'aide d'expériences de simulation en laboratoire impliquant les constituants émis par les sources hydrothermales (H₂S, CO et NiS), ainsi qu'à l'aide d'essais incluant également des substrats organiques présentant des fonctions clés. Nous proposons un mécanisme homo-catalytique itératif basé sur des complexes de carbonyles de nickel afin d'expliquer la formation des produits d'intérêt prébiotique observés. Ni(0), le centre métallique des complexes organométalliques impliqués dans le processus de formation abiotique de liaisons C-C est probablement formé par réduction de sulfures de nickel par H₂S notamment. Nous avons, notamment, montré que les aldéhydes et les cétones sont des composés intermédiaires importants du cycle homo-catalytique aboutissant à des chaînes hydrocarbonées linéaires ou branchées. Comme nous le verrons dans le chapitre IV, la formation des aldéhydes ouvre également la voie vers des composés possédant plusieurs fonctionnalités d'intérêt prébiotique comme les acides aminés. Toutefois, nous n'excluons pas l'éventualité du rôle des alcènes, formés par catalyse homogène ou hétérogène, en tant qu'intermédiaires d'un cycle catalytique organométallique, de type hydroformylation, de formation de liaisons C-C conduisant également à des carbonyles puis à des thiols primaires et des composés linéaires. Enfin, nous avons considéré, comme alternative, l'éventualité d'un mécanisme hétéro-catalytique à la surface de Ni(0) pour la synthèse des produits observés et donc pour la formation de liaisons C-C.

Nous avons obtenu à partir de CO des chaînes hydrocarbonées linéaires et branchées pour l'instant limitées à quatre atomes de carbone au maximum. Ceci peut s'expliquer, notamment, par la possibilité de formation, à chaque cycle catalytique d'élongation de chaîne, d'acides carboxyliques, qui en raison de leur stabilité dans les conditions de nos expériences de simulation hydrothermale constituent une voie sans issue du processus de formation de liaisons carbone-carbone. Ainsi, le rendement de synthèse diminue considérablement à chaque cycle, car la proportion de produits réintégrant le cycle chute. D'autres paramètres sont probablement responsables de l'arrêt du processus itératif dans les conditions de nos expériences de simulation, tels qu'un manque de réactifs, probablement H₂S, ou la formation progressive de polysulfures susceptibles d'oxyder la surface du catalyseur. Ceci peut s'expliquer, notamment, par le fait que nos expériences de simulation sont réalisées en système fermé, et que nous nous éloignons par ce détail expérimental de l'apport continu de matières premières ayant lieu au niveau des cheminées des fumeurs noirs.

En conclusion, nous avons tenté d'étudier toutes les alternatives qui pourraient justifier les composés prébiotiques observés au cours des travaux de recherche de ce doctorat. Finalement, il est possible que toutes ces voies se produisent en parallèle ; possédant plausiblement des énergies d'activation et des vitesses de réaction plus ou moins proches. Seules des approches thermodynamiques et cinétiques des voies mentionnées permettraient de trancher sur leurs contributions relatives aux synthèses observées. Comme le cycle homo-catalytique centré sur la synthèse de complexes carbonylés permet d'expliquer la formation de la plupart des produits et intermédiaires réactionnels observés au cours de nos essais en laboratoire, dans l'état actuel des recherches, nous privilégions tout de même ce processus. Le mécanisme de type hydroformylation est en fait un cas particulier de ce cycle.

Les possibilités de réactions envisageables sont considérables sur la base du processus catalytique organométallique présenté. D'autres éventualités peuvent probablement être envisagées au sein de ce cycle pour justifier la synthèse des composés observés et des combinaisons de plusieurs réactions sont même probables. De plus, le processus catalytique a encore du potentiel afin d'expliquer, au cours des futurs travaux de recherche au sein du Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire, la présence de molécules non identifiées dans notre milieu réactionnel pour l'instant. Enfin, le mécanisme homo-catalytique détaillé dans ce chapitre est certainement également applicable aux produits formés par d'autres équipes de chercheurs, lors d'expériences réalisées dans le contexte des processus de chimie prébiotique susceptibles de se produire au niveau des sources hydrothermales.

Ainsi, le processus itératif mis en lumière ouvre la voie vers la formation prébiotique d'acides carboxyliques théoriquement de toutes longueurs, et donc de composés lipidiques amphiphiles, qui sont des précurseurs potentiels des constituants membranaires. De plus, la formation abiotique de composés ramifiés laisse entrevoir la possibilité de synthétiser des unités en C₅ de type isoprénique.

En outre, la synthèse de thioacides et de thioesters constitue un lien avec le monde des thioesters proposé par De Duve C. - 1996a. Les thioacides et thioesters sont également impliqués dans les théories de Wächtershäuser G. - 1990a. D'après Wächtershäuser G. - 1990a, ces composés interviendraient en effet dans la formation de cétoacides par un processus de double carbonylation. Les cétoacides permettraient ensuite, par amination réductrice de la fonction cétone, la synthèse d'acides aminés. De plus, Wächtershäuser G. - 1990a soutient la théorie d'un cycle primitif auto-catalytique, précurseur des premiers cycles métaboliques, qui impliquerait des polyacides carboxyliques obtenus lors d'étapes clés de double carbonylation. Nous aborderons dans le chapitre IV, la formation problématique des cétoacides et nous étudierons comment la chimie prébiotique organométallique se déroulant dans les conditions supposées avoir régné aux alentours des fumeurs noirs pourrait éventuellement conduire à des acides portant une fonction soufrée en α . Ces derniers pourraient, à bien des égards, avoir des rôles similaires à ceux attribués aux cétoacides, comme précurseurs d'acides aminés, notamment. Nous discuterons également des implications de nos résultats sur le cycle primitif inversé de Krebs proposé par Wächtershäuser G. - 1990a.

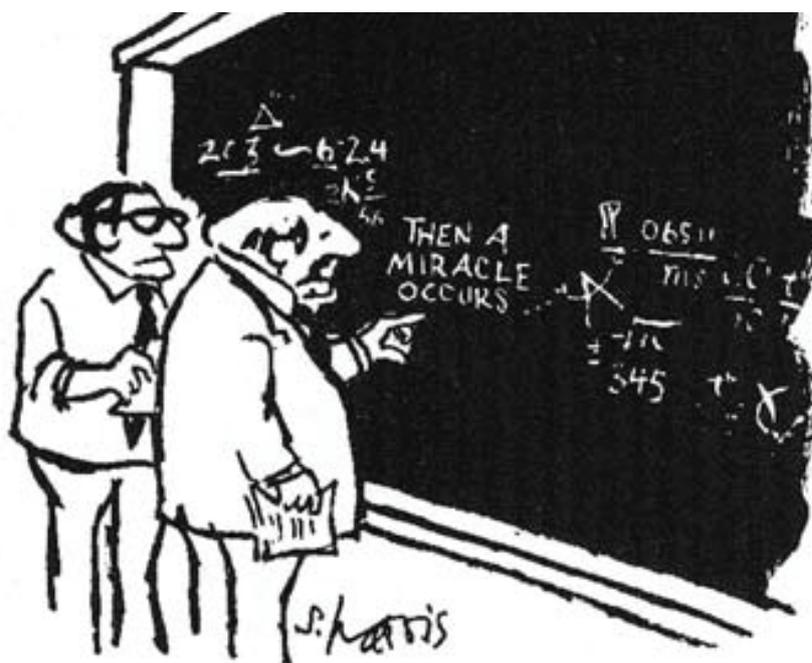
Par ailleurs, les aldéhydes qui, comme nous l'avons montré, sont des intermédiaires très importants du cycle catalytique organométallique de formation de chaînes hydrocarbonées mono-fonctionnalisées, pourraient, d'après nos découvertes, également être impliqués dans la synthèse abiotique d'acides aminés mentionnée par Huber C. & Wächtershäuser G. - 2006. Ces auteurs avaient montré la formation d'acides aminés et d' α -hydroxyacides lors d'expériences réalisées dans des conditions très similaires à celles que nous avons mises en œuvre et mettant en jeu, notamment, NiS, CO, H₂S en milieu aqueux, mais en ajoutant des cyanures comme réactifs. Nous expliquons, en effet, les résultats de Huber C. & Wächtershäuser G. - 2006 par la présence d'aldéhydes formés *in situ* via le processus catalytique organométallique que nous avons mis en évidence, puis par la réaction bien connue de Strecker impliquant ces aldéhydes et mettant en jeu les cyanures (voir Strecker A. - 1850 ; Strecker A. - 1854). Nous aborderons ce point dans le chapitre IV et nous proposerons d'ailleurs une voie innovante vers la synthèse d'acides aminés impliquant des composés carbonylés.

Par conséquent, nous proposons en quelque sorte un nouveau modèle de chimie prébiotique, situé entre ceux présentés par d'autres chimistes prébioticiens, notamment G. Wächtershäuser et C. De Duve, alliant le nickel, les thioesters ou les thioacides, les aldéhydes, les thiols, et le fer (ce dernier participe à la formation de H₂, *cf.* Réaction III - 2, page 118).

Chapitre IV :

RÉSULTATS ET DISCUSSION

LA FORMATION DE COMPOSÉS BI-FONCTIONNALISÉS



"I think you should be more explicit here in step two."

A. Introduction

Nous avons abordé dans le chapitre III la formation prébiotique de liaisons carbone-carbone susceptibles, notamment, de permettre la formation de composés lipidiques amphiphiles intervenant dans la constitution des cellules primitives. Dans ce qui suit, nous allons évaluer le potentiel des conditions régnant aux alentours des fumeurs noirs et de la catalyse par les sulfures de métaux pour l'apparition de molécules bi-fonctionnalisées telles que les cétoacides, les hydroxyacides, les polyacides carboxyliques et les acides aminés. De plus, nous allons considérer les réactions chimiques permettant leur formation, ainsi que les systèmes de synthèse abiotique dans lesquels de telles molécules auraient pu être impliquées sur la jeune Terre.

Dans la partie B de ce chapitre, nous présenterons l'observation de nouveaux composés bi-fonctionnalisés issus d'expériences de simulation. Il s'agit plus spécialement de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2. L'intérêt prébiotique et les voies possibles pour la formation de ces molécules seront discutés sur la base d'expériences complémentaires impliquant des molécules clés, notamment marquées au ^{13}C .

Nous consacrerons la partie C (voir page 249) au cas particulier de la synthèse abiotique des molécules di-fonctionnalisées que sont les acides aminés. Nous présenterons des résultats innovants sur la synthèse de la glycine, acide aminé le plus simple. Les mécanismes réactionnels impliqués, qui ouvrent, en principe, également la voie à la formation d'autres acides aminés que la glycine, seront discutés à la lumière d'expériences spécifiques faisant intervenir entre autres un réactif marqué au ^{13}C , mais également par comparaison avec les travaux publiés par d'autres chercheurs, notamment G. Wächtershäuser.

B. Formation prébiotique de composés bi-fonctionnalisés dans des conditions simulant celles des fumeurs noirs

Au cours de la première partie de nos recherches, nous avons montré (voir chapitre III) que les conditions expérimentales, que nous avons adoptées et supposées simuler celles régnant aux alentours des fumeurs noirs, permettent, notamment, la formation de thiols, de thioacides, de thioesters et d'acides carboxyliques. Dans un deuxième temps, nous avons cherché à tester dans les expériences de simulation mettant en jeu CO, H₂S, du sulfure de nickel ou du nickel en milieu aqueux, ainsi que dans celles réalisées dans les mêmes conditions mais impliquant également divers substrats organiques, si les conditions typiques mises en œuvre pouvaient également conduire à des composés poly-fonctionnalisés, tels que des cétoacides, des polyacides *etc.* Des composés poly-fonctionnalisés pourraient, en fait, être les précurseurs potentiels de constituants du vivant tels que les acides aminés, les bases nucléiques ou intervenir dans des cycles métaboliques importants tels que le cycle de Krebs.

Dans cette partie B, nous présentons plus particulièrement la formation de nouveaux composés bi-fonctionnalisés, tels que des dithioacétals et un dérivé de l'acide acétique portant une fonction soufrée en position 2, l'acide 2-phénylthioacétique. Ces produits ont été mis en évidence lors des travaux présentés dans le chapitre III destinés à l'élucidation du mode de formation de liaisons carbone-carbone et ayant conduit, à partir de CO comme source de carbone, à des thiols, des acides, des thioesters, *etc.* Nous avons alors réalisé des expériences de simulation en autoclave et en flacons en verre (Sovirel), impliquant facultativement divers composés organiques présentant des fonctions chimiques clés dans les processus étudiés. La formation de composés tels que des diacides carboxyliques (acide malonique, succinique, fumarique et lactique, notamment) a également été observée lors de ces expériences. Leur origine reste néanmoins incertaine et sera brièvement commentée.

Les implications de la formation des produits bi-fonctionnalisés que nous avons mis en évidence lors de la synthèse abiotique d'autres composés d'intérêt prébiotique (mono-fonctionnalisés) et les éventuels mécanismes réactionnels responsables de leur présence seront discutés sur la base d'expériences de simulation faisant intervenir successivement les composés organiques clés que sont le formaldéhyde marqué au ¹³C, le dithioacétal bis(phénylthio)méthane et l'acide mercaptoacétique.

B.1 Mise en évidence de composés bi-fonctionnalisés dans des expériences de laboratoire

B.1.1 Mise en évidence de dérivés de l'acide acétique portant une fonction soufrée en position 2

Lors de l'étude de la réactivité des thiols aliphatiques et aromatiques (voir chapitre III, C.3.2.1, page 148), nous avons effectué des expériences avec du thiophénol. Comme le substrat était relativement peu volatil, nous avons dérivé les constituants organiques de la fraction aqueuse avec le mélange butanol/HCl (1,5mol/L) afin de permettre l'analyse par CG/SM des acides carboxyliques présents sous la forme des esters butyliques correspondants.

Nous avons ainsi pu mettre en évidence des composés di-fonctionnalisés (*cf.* Figure IV - 1, page 215, produits en bleu et rouge) en même temps que les composés démontrant l'élongation de chaîne à partir du thiophénol (produits noirs) tels que l'acide benzoïque, l'acide 2-phénylacétique ou l'acide 3-phénylpropionique, qui avaient été identifiés sur la base d'une comparaison de leurs données de spectrométrie de masse et de chromatographie avec celles de composés de référence (*cf.* chapitre III). En plus des produits cités précédemment (*cf.* Figure IV - 1, produits bleus), nous avons pu mettre en évidence une nouvelle molécule bi-fonctionnée (en rouge) à laquelle, sur la base de la spectrométrie de masse (voir Figure IV - 2, page 215), nous avons attribué la structure $C_6H_5-S-CH_2-COO-C_4H_9$. Le fragment barré apparaissant dans la Figure IV - 2 provient probablement d'une co-élution.

L'identification formelle de $C_6H_5-S-CH_2-COO-C_4H_9$ repose sur la comparaison du spectre de masse et du comportement chromatographique (temps de rétention et expériences de co-injection) de ce composé avec ceux du standard correspondant, synthétisé par substitution du bromure de l'acide 2-bromoacétique par du thiophénolate, suivie d'une estérification de l'acide obtenu par le mélange butanol/HCl (*cf.* chapitre II, E.2.2.4, page 110).

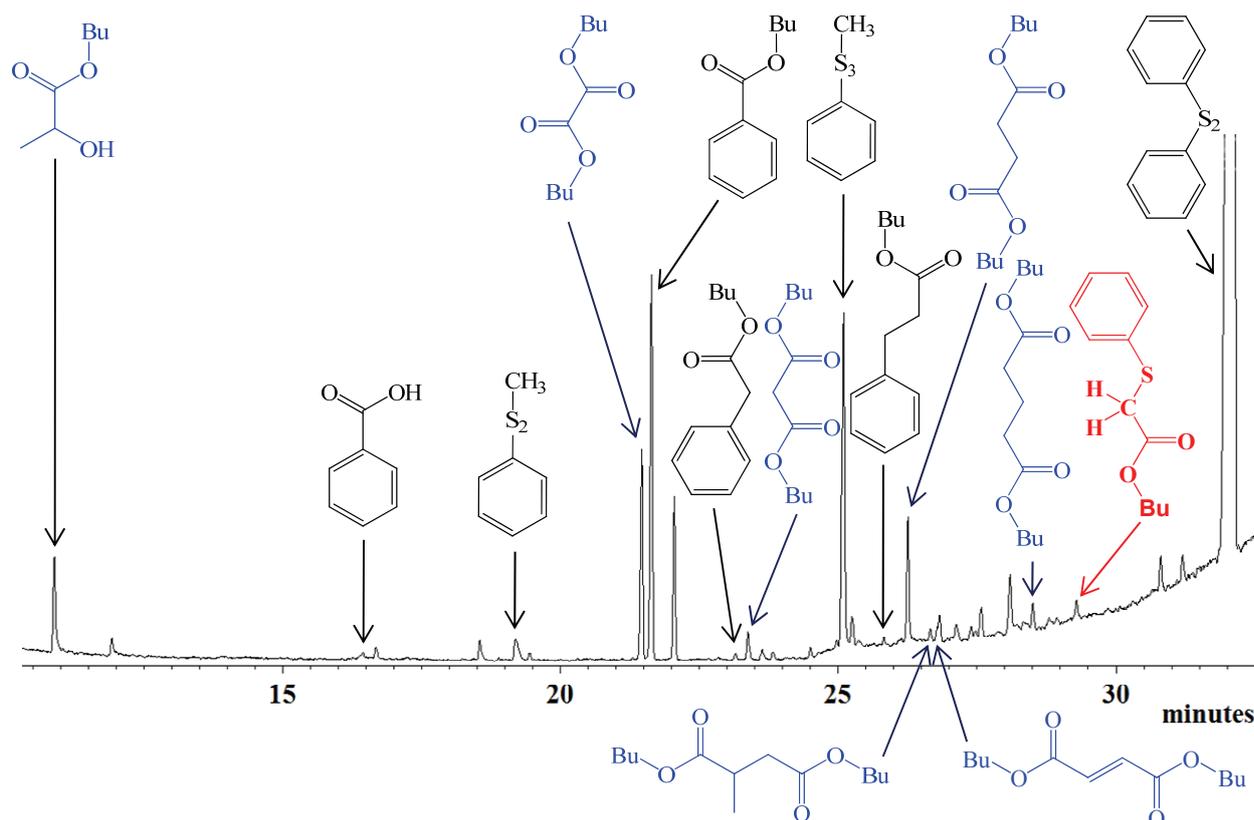


Figure IV - 1 - Chromatogramme en phase gazeuse de la phase aqueuse dérivée au butanol/HCl d'une expérience en flacon Sovirel impliquant le thiophénol (1mmol C_6H_5SH , 20mL H_2O , 1mmol $NiCl_2$, 1,25mmol Na_2S , CO, 3,0.10-4mol HCl, 50°C, 4 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); 40-300°C (5°C/min); 300°C (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN)

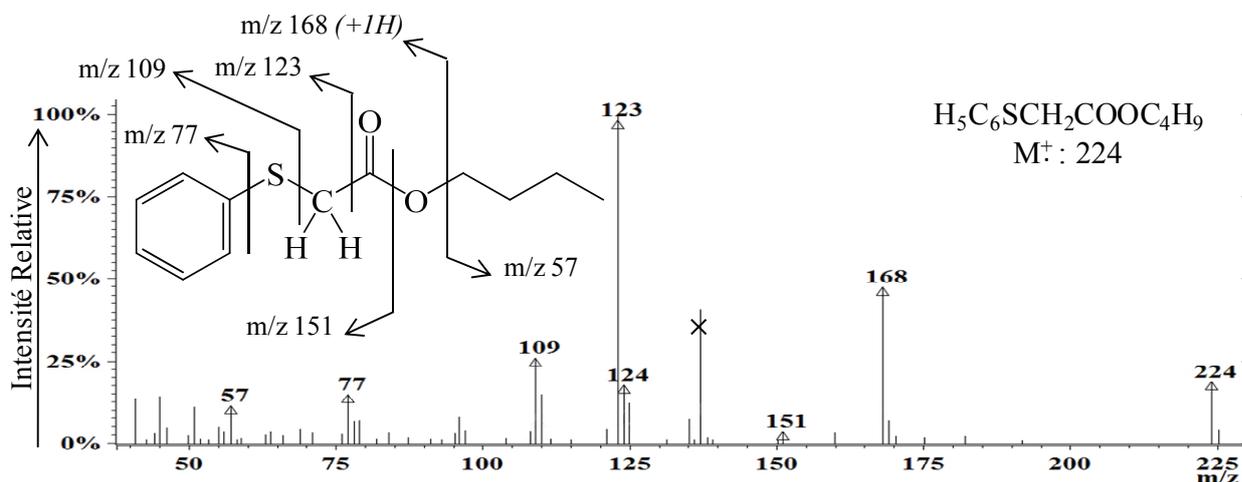


Figure IV - 2 - Spectre de masse du 2-phénylthioacétate butylique observé par CG/SM lors de la simulation en flacon Sovirel impliquant du thiophénol (1mmol C_6H_5SH , 20mL H_2O , 1mmol $NiCl_2$, 1,25mmol Na_2S , CO, 3,0.10-4mol HCl, 50°C, 4 jours) (Colonne HP5, Impact Électronique, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

Compte tenu de la réaction d'estérification que nous avons réalisée ce nouveau produit d'intérêt se trouve sous la forme de l'acide 2-phénylthioacétique ($C_6H_5-S-CH_2-COOH$) dans le mélange réactionnel. Ce composé, qui présente une fonction soufrée en α d'une fonction carboxylique, est très intéressant en tant que précurseur potentiel de molécules d'intérêt prébiotique telles que, par exemple, des acides aminés. La glycine pourrait ainsi être obtenue par substitution de la fonction soufrée de l'acide 2-phénylthioacétique par un groupement amine. Nous verrons un peu plus loin dans ce chapitre que la synthèse d'acides aminés est possible (voir C, page 249).

Dans les expériences réalisées avec le thiophénol, nous avons, par ailleurs, mis en évidence une série de composés de type diacides carboxyliques tels que l'acide lactique, l'acide oxalique, l'acide malonique, l'acide succinique, l'acide méthylsuccinique, l'acide fumarique et l'acide pentanedioïque (*cf.* Figure IV - 1, page 215, produits en bleu). Comme nous l'avons mentionné dans la partie Démarches Expérimentales (voir E.2.2.1, page 109), les composés cités ont été identifiés sous la forme d'esters butyliques grâce à l'interprétation de leurs spectres de masse en ionisation électronique (fragments caractéristiques) et chimique (ions pseudo-moléculaires $M+1$), mais également par comparaison de leurs spectres de masse et de leur comportement chromatographique (temps de rétention et co-injection) avec ceux des produits de référence correspondants (acides commerciaux estérifiés avec BuOH/HCl).

Ces composés ainsi que l'acide hexanedioïque avaient également pu être mis en évidence lors d'expériences de simulation réalisées en autoclave sans ajout de substrats organiques (*cf.* Figure IV - 3 et Figure IV - 1). Pour les mettre en évidence, dans le cas de ces expériences, nous avons utilisé une dérivation par le mélange butanol/HCl (1,5mol/L) permettant de former les esters butyliques à partir des acides carboxyliques alors que, de manière standard pour les expériences en autoclave, nous avons utilisé une estérification avec le mélange octanol/HCl (1,5mol/L) qui était adaptée à l'analyse des acides les plus volatils (formique, acétique *etc.*). Cette méthode d'estérification par l'octanol présente néanmoins un inconvénient notable. En effet, l'octanol utilisé en excès pour l'estérification ne peut pas être éliminé par évaporation mais par chromatographie sur gel de silice. Il en résulte que les diesters octyliques obtenus sont perdus avec l'excès d'octanol lors de cette étape de chromatographie. Dans le cas de l'estérification avec le butanol, l'excès d'alcool peut être éliminé par évaporation et les diesters obtenus peu volatils peuvent être analysés par CPG et CG/SM.

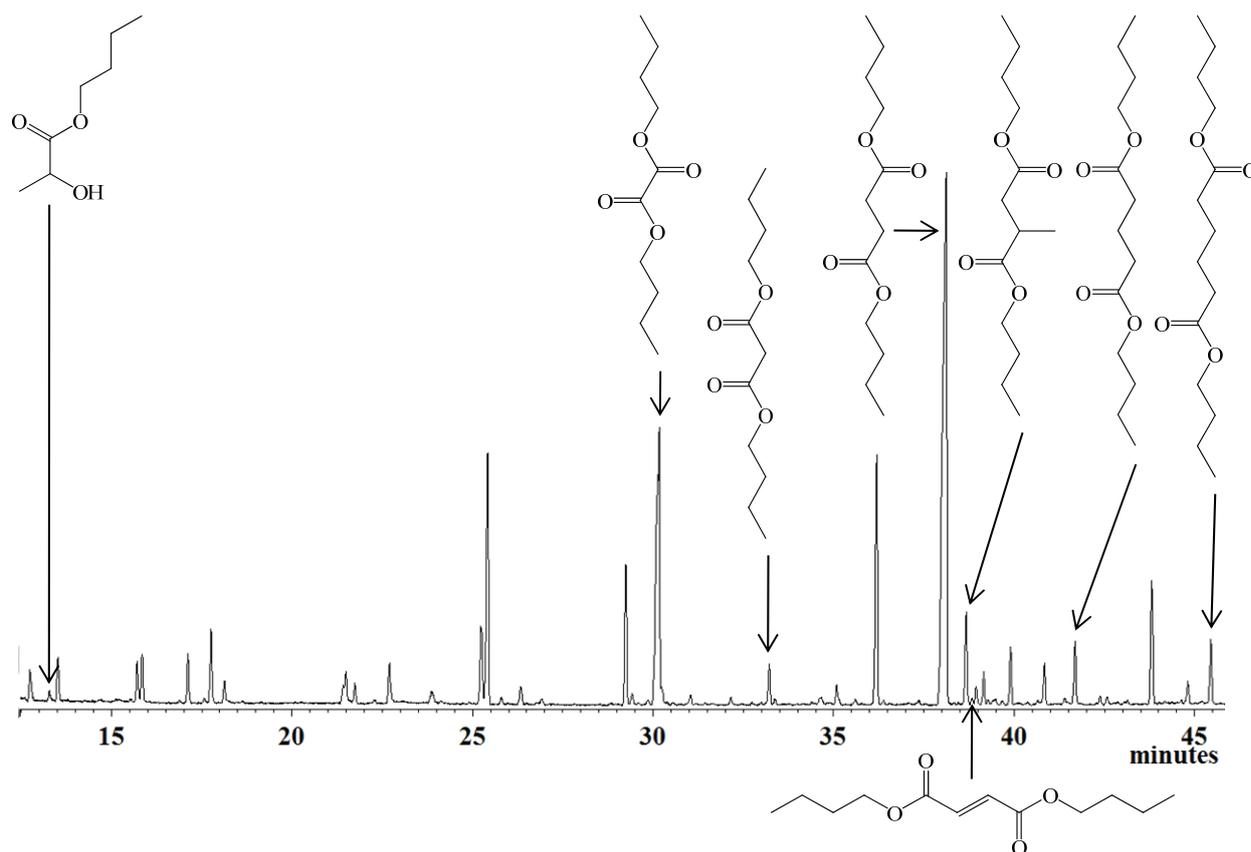


Figure IV - 3 - Chromatogramme en phase gazeuse de la phase liquide traitée (butanol/HCl) issue d'une expérience en autoclave impliquant de l'éthanethiol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$ 1,5mmol, 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $2,01 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C, 4 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); 40-300°C (3°C/min); 300°C (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN)

En ce qui concerne leur origine, il faut noter que ces produits ont également été mis en évidence dans divers blancs. D'autre part, nous remarquons dans la Figure IV - 3 que les proportions relatives entre les différents homologues de diacides ne sont pas logiques si on envisage que ces composés se soient formés par élongation, selon un processus analogue à celui décrit pour la formation des monoacides carboxyliques dans le chapitre III. On devrait, en effet, observer une décroissance relative de leur proportion avec la longueur de chaîne, ce qui n'est pas le cas ici. Ainsi, bien qu'on ne puisse exclure une formation *in situ* au moins partielle de ces produits (ce point sera discuté plus loin) ou un mode de synthèse de ces composés dans lequel ils ne seraient pas génétiquement liés (c.-à-d. C_{n+1} ne descendrait pas nécessairement de C_n), il semble que la présence des diacides carboxyliques soit liée en grande partie à une contamination dont nous n'avons pu déterminer l'origine et cela malgré les nombreuses précautions prises pour éviter les pollutions.

B.1.2 Recherche d'autres composés di-fonctionnalisés

Nous avons également cherché, dans les différentes expériences que nous avons réalisées et notamment dans celles mettant en jeu le thiophénol, si des composés tels que des cétoacides avaient été formés. De telles molécules pourraient résulter de l'insertion séquentielle de deux molécules de CO au niveau d'un thiol. Cependant, ces produits n'ont pas pu être détectés lors de nos essais en laboratoire.

Il faut noter, néanmoins à cet égard, que l'acide pyruvique avait été mis en évidence par Cody G.D. *et al.* - 2000, à côté de plusieurs isomères de l'acide décanoïque, dans des expériences apparentées à celles que nous avons réalisées et qui impliquaient le sulfure de nickel, le nonanethiol et l'acide formique, à haute température (250°C) et haute pression (2000bar). Lors de ces essais, l'acide formique conduisait à haute température à la formation de CO qui, d'après ces auteurs, est l'espèce réactive mise en jeu dans les processus de formation de liaisons C-C.

B.2 Élucidation des mécanismes de formation des composés bi-fonctionnalisés

B.2.1 Proposition de mécanismes de synthèse de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2

B.2.1.1 Formation de l'acide 2-phénylthioacétique par double carbonylation

Dans les expériences mettant en jeu le thiophénol, CO, H₂S, et un catalyseur de nickel en milieu aqueux, nous avons identifié l'acide 2-phénylthioacétique, sous la forme de son ester butylique.

Plusieurs modes de formation peuvent être envisagés compte tenu de ce que nous savons des processus de formation de liaisons C-C ayant lieu dans les conditions expérimentales que nous avons choisies.

Ainsi, par exemple, on peut envisager la séquence présentée dans la Figure IV - 4 qui passerait d'abord par la formation de l'acide glyoxylique (produit A). Ce dernier pourrait ensuite être transformé en thiol correspondant (molécule B) par sulfuration réductrice induite par H₂S, comme le proposent Schouten S. *et al.* - 1994 et Schneckenburger P. *et al.* - 1998 (*cf.* chapitre III, page 173). La fonction thiol pourrait ensuite réagir avec le thiophénol (étape II) pour conduire à l'acide 2-phénylthioacétique (composé C). Nous avons en effet montré au préalable que, lorsqu'on fait réagir deux thiols en présence de nickel (sulfure ou Ni(0)) dans nos conditions opératoires, le mono-sulfure mixte (C) correspondant peut être obtenu (voir chapitre III, expériences réalisées avec le thiophénol ou l'octanethiol comme substrat, pages 148, 155 et 156).

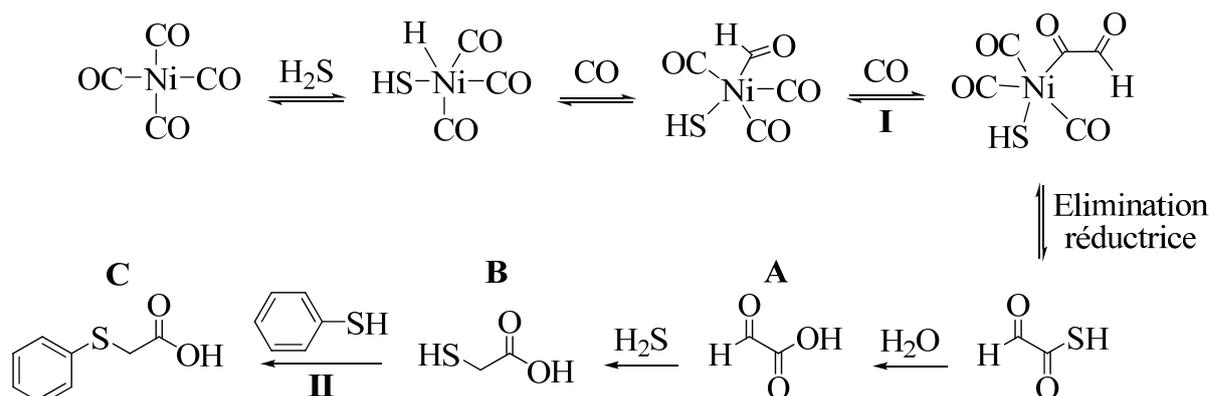
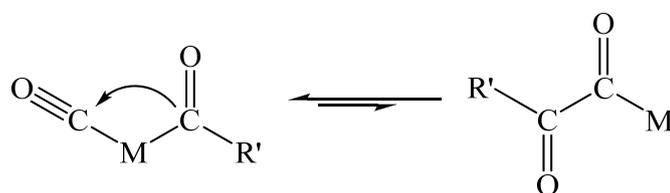


Figure IV - 4 - Proposition d'un mécanisme de formation de l'acide 2-phénylthioacétique

Ce mécanisme de formation présente néanmoins un problème important, compte tenu des processus chimiques organométalliques que nous avons mis en évidence dans des conditions opératoires supposées simuler celles régnant aux alentours des fumeurs noirs. En effet, nous proposons des mécanismes de synthèse organique abiotique basés sur des complexes de nickel (*cf.* chapitre précédent, page 180). Or, en chimie organométallique, l'étape I de la Figure IV - 4, qui correspond à une insertion de CO au niveau d'un ligand acyle et qui revient à faire une double carbonylation, est normalement très défavorisée comme le mentionnent Des Abbayes H. & Salauen J.Y. - 2003 et Chen J.T. & Sen A. - 1984.

Ainsi, en chimie des complexes organométalliques, la plupart des processus de carbonylation se déroulent par l'insertion migration de CO au sein d'une liaison Métal-R, conduisant à l'association Métal-CO-R. Cette étape essentielle est plus compliquée et délicate qu'elle ne paraît. En effet, la réaction consiste en réalité à la migration du groupement R sur un carbonyle terminal lié au métal. Cette réaction de carbonylation est réversible et est favorisée dans le cas où R est donneur d'électrons et donc défavorisée lorsque R est attracteur. Il résulte de ces exigences électroniques sur R que la migration d'un groupement acyle (pour $R = R'\text{-CO}$), au sein duquel l'atome de carbone lié au métal est pauvre en électrons (δ^+), sur un carbonyle lié au métal est peu probable. Ainsi, le processus de formation de $R'\text{-CO-CO-Métal}$ à partir de $R'\text{-CO-Métal}$, qu'on appelle double carbonylation est défavorisé (voir Réaction IV - 1), (Des Abbayes H. & Salauen J.Y. - 2003).



Réaction IV - 1 - Équilibre de double carbonylation

Cependant, on peut observer en chimie organométallique la formation de composés avec deux carbonyles adjacents, qui semblent être issus d'une double carbonylation. En fait, les mécanismes responsables de l'existence de molécules portant plusieurs fonctions carbonyles ne

correspondent pas à une simple itération de la migration insertion d'un CO et sont plus complexes, comme l'expliquent Des Abbayes H. & Salauen J.Y. - 2003.

Il en reste que le mécanisme tel qu'il est présenté dans la Figure IV - 4 (page 219) ne convient pas. Il faut également mentionner que nous n'avons pu mettre en évidence de α -oxoacides (aldéhydes ou cétones en position α de l'acide carboxylique), tels que l'acide glyoxylique (composé A), dans aucune des expériences que nous avons réalisées. En outre, l'acide mercaptoacétique (produit B) n'a pas non plus été identifié.

B.2.1.2 Voie alternative : rôle clé des aldéhydes et des dithioacétals

Mécanisme général envisagé

Comme nous excluons le mécanisme présenté dans la Figure IV - 4, nous envisageons un processus qui éviterait des réactions de double carbonylation. Cette voie alternative à celle présentée et rejetée précédemment (*cf.* B.2.1.1, page 218) ferait intervenir des aldéhydes et les thioacétals correspondants. Nous rappelons que nous avons pu mettre en évidence ces composés en tant qu'intermédiaires réactionnels des mécanismes d'élongation de chaînes présentés dans le chapitre III (voir pages 172). La synthèse clé des aldéhydes et des dithioacétals apparentés est résumée dans la Figure IV - 5.

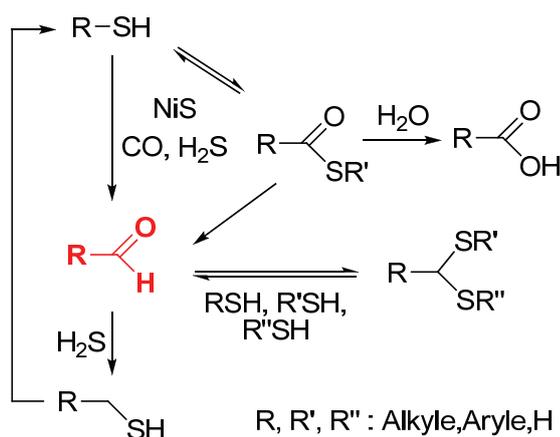


Figure IV - 5 - Rappel du rôle central des aldéhydes au sein du processus itératif d'élongation des thiols, présenté dans le chapitre III

Dans le cas d'expériences mettant en jeu CO comme seule source de carbone, en principe, la formation de tous les aldéhydes est possible, en commençant par le formaldéhyde qui est sans doute le précurseur du méthanthiol (voir chapitre III). Concernant les expériences faisant également intervenir des substrats organiques tels que des thiols, la formation des aldéhydes dérivant de ces thiols et possédant un voir deux atomes de carbone supplémentaires est logiquement également possible, en plus de celle des aldéhydes les plus petits (formaldéhyde, éthanal *etc.*). Pour le cas des expériences impliquant le thiophénol, nous rappelons d'ailleurs que nous avons indéniablement identifié le produit $C_6H_5-S-CH_2-S-C_6H_5$, un dithioacétal dérivé du formaldéhyde, et le composé $C_6H_5-CH-(S-C_6H_5)_2$ apparenté au benzaldéhyde (*cf.* chapitre III, Figure III - 25, page 158). L'identification de ces dithioacétals a été effectuée par comparaison

de leurs données de spectrométrie de masse et de leur comportement chromatographique avec ceux des produits de référence correspondants obtenus par synthèse (voir chapitre II, E.2.2.5, page 111).

Comme l'illustre la Figure IV - 6, nous avons ainsi envisagé que les dithioacétals (mixtes $R' \neq R''$ ou symétriques $R=R''$), quel que soit l'aldéhyde dont ils dérivent, pourraient subir une insertion de CO au niveau d'une liaison C-S, selon les mécanismes discutés dans le chapitre précédent (*cf.* Figure IV - 7), pour conduire à des acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position α . Même si pour l'instant nous n'avons pu mettre en évidence qu'un dérivé de l'acide acétique portant une fonction soufrée en α , des acides carboxyliques de toutes longueurs et portant une fonction soufrée en position 2 pourraient en principe être obtenus à partir de dithioacétals descendant des aldéhydes formés à chaque étape du processus d'élongation de chaînes que nous avons étudié au chapitre III (*cf.* Figure IV - 5, page 220 et Figure IV - 9, page 223).

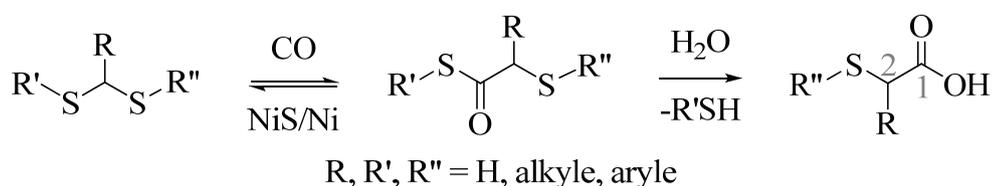


Figure IV - 6 - Formation de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 par carbonylation de dithioacétals

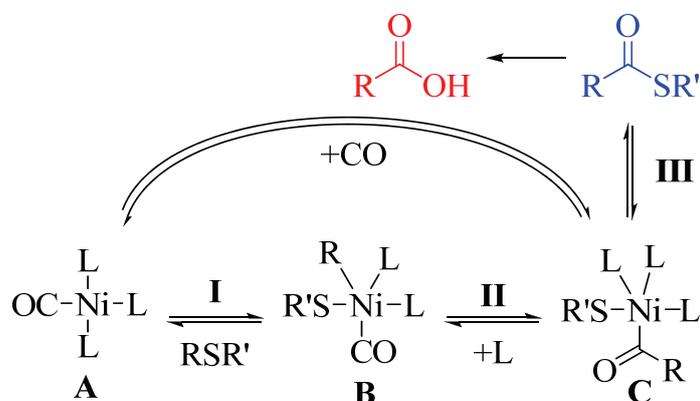


Figure IV - 7 - Extrait de la Figure III - 39 concernant l'insertion de CO au sein d'une liaison C-S d'une molécule RSR' (voir chapitre III, page 182)

Par conséquent, le mécanisme que nous proposons dans la Figure IV - 6 ouvrirait une voie générale pour la formation d'acides carboxyliques fonctionnalisés sur la position 2, sans passer par des processus de double carbonylation normalement interdits, compte tenu des mécanismes de chimie organométallique mis en évidence lors des expériences que nous avons réalisées.

Application à la synthèse de l'acide 2-phénylthioacétique

Ainsi, dans le cas précis des expériences réalisées avec le thiophénol comme substrat, nous pouvons envisager qu'un mécanisme analogue affecte le composé $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-CH}_2\text{-S-C}_6\text{H}_5$ mentionné ci-dessus et issu de la réaction entre le formaldéhyde et le thiophénol. La réaction conduirait effectivement, comme indiqué dans la Figure IV - 8, à l'acide 2-phénylthioacétique.

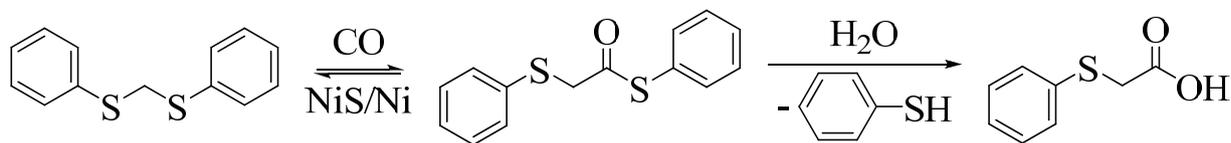


Figure IV - 8 - Formation de l'acide 2-phénylthioacétique par carbonylation du dithioacétal apparenté au formaldéhyde lors d'essais impliquant le thiophénol

L'insertion de CO dans la liaison entre le cycle aromatique et le soufre est évidemment également envisageable mais conduirait au thioester de l'acide benzoïque $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO-S-CH}_2\text{SC}_6\text{H}_5$ ($\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO-S-R}$), puis après hydrolyse, à l'acide benzoïque lui-même que nous avons d'ailleurs identifié à plusieurs reprises. En fait, le produit résultant de la carbonylation de cette liaison C-S ne se distinguerait pas de celui obtenu par insertion directe de CO au niveau du thiophénol.

B.2.1.3 Rôle potentiel en chimie prébiotique des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2

De manière générale, les acides carboxyliques possédant une fonction soufrée sur la position 2 pourraient constituer des précurseurs d'autres composés d'intérêt prébiotique tels que les acides aminés, par substitution de la fonction soufrée par une amine. Nous reviendrons sur ce point plus loin dans ce chapitre.

En outre, la fonction soufrée en position 2 pourrait également servir de point de démarrage pour une nouvelle séquence d'élongation de chaîne, telle que nous l'avons décrite dans le chapitre III et rappelée dans la Figure IV - 9.

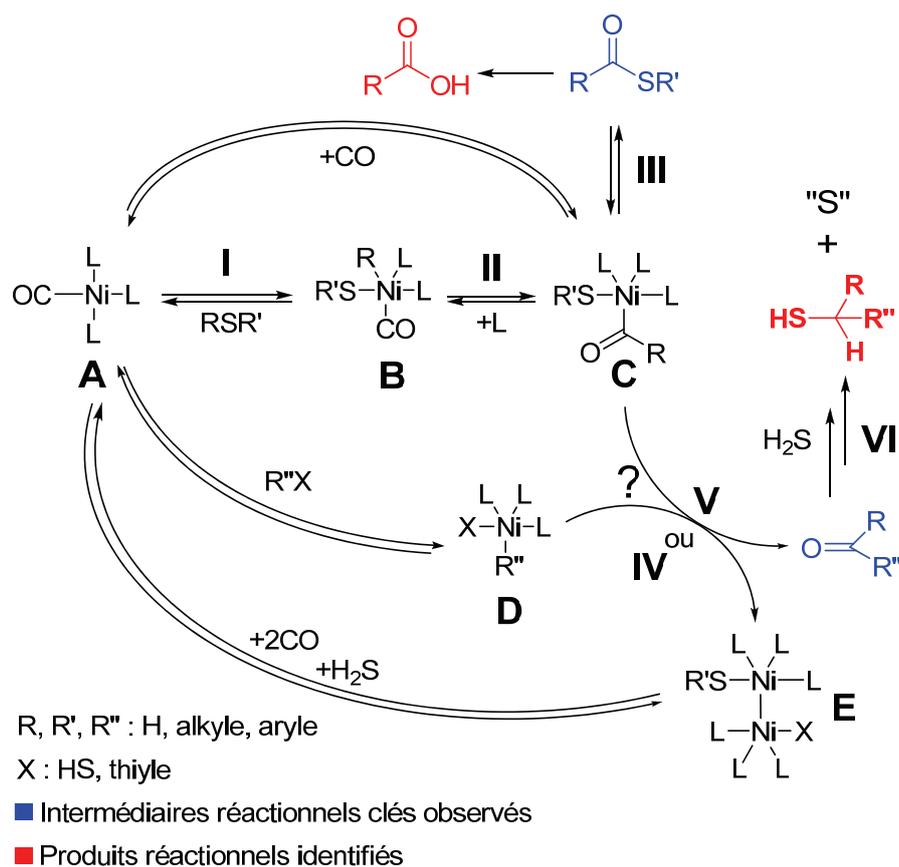


Figure IV - 9 - Rappel du cycle catalytique proposé dans le chapitre III pour la formation de liaisons C-C

Le processus d'élongation appliqué aux dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2, illustré dans la Figure IV - 10 (page 224), pourrait potentiellement conduire à d'autres composés bi-fonctionnalisés tels que des diacides carboxyliques (composés rouges), des β -oxoacides (aldéhydes ou cétones), des composés possédant à la fois une fonction acide et une fonction thiol en position terminale (produits bleus), des dérivés d'acides carboxyliques portant un sulfure en position terminale *etc.*

Par ailleurs, il est intéressant de remarquer que la formation de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 pourrait éventuellement rendre compte de la synthèse des diacides que nous avons détectés dans les mélanges réactionnels sous la forme d'esters butyliques (acides malonique, succinique, pentanedioïque *etc.* avec $R=H$ dans la Figure IV - 10). Cependant, compte tenu de leur présence dans des blancs et des proportions relatives des différents homologues, les diacides carboxyliques détectés lors des expériences que nous avons réalisées tirent fort vraisemblablement, pour la plus grande part, leur origine d'une pollution.

R, R'' = H, alkyle, aryle

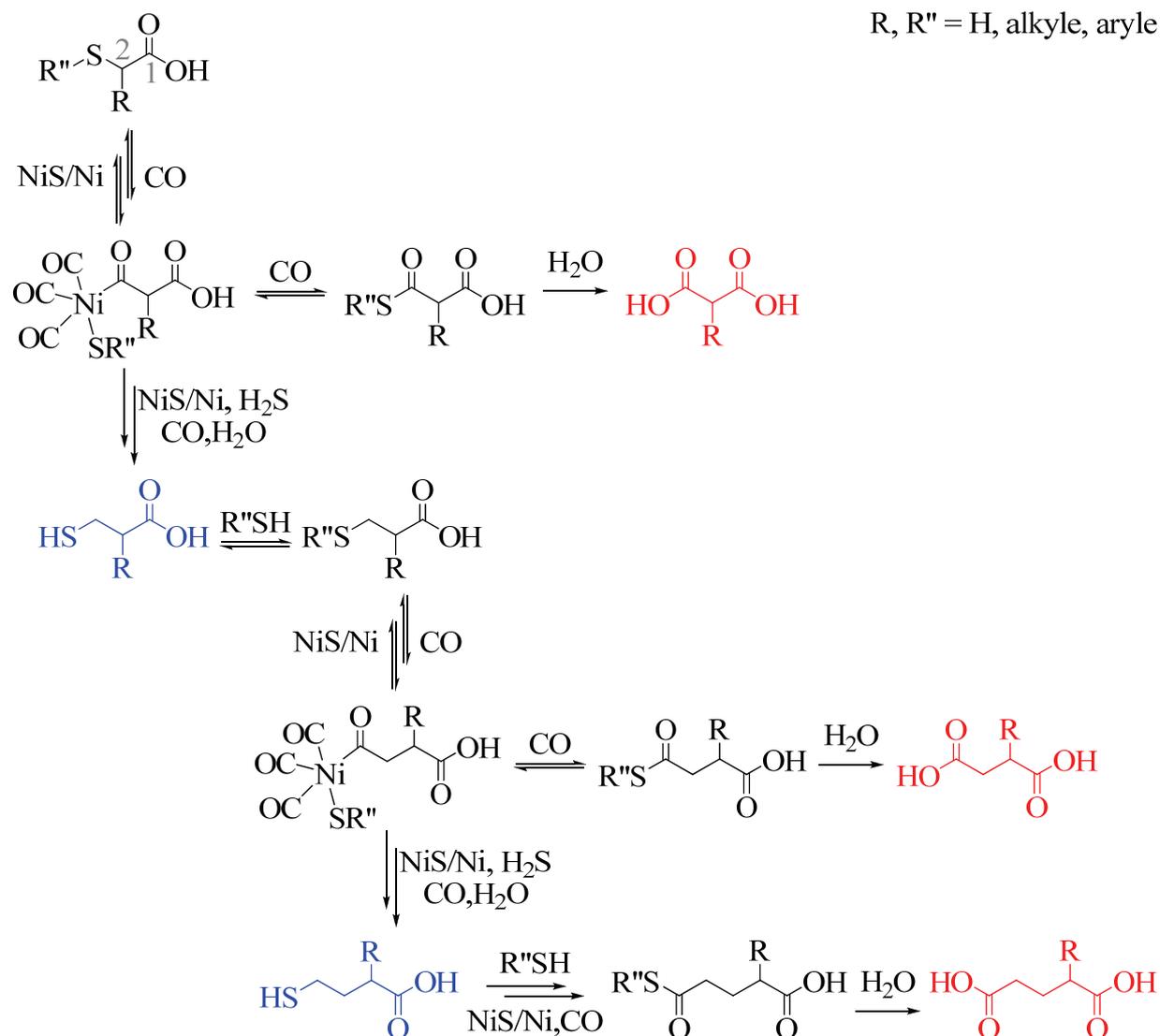


Figure IV - 10 - Processus d'élongation appliqué aux dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2

B.2.2 Discussion sur la nature des mécanismes proposés basée sur des expériences complémentaires impliquant des substrats organiques

B.2.2.1 Expériences de simulation impliquant du formaldéhyde marqué au ^{13}C

Comme nous l'avons mentionné précédemment, les aldéhydes apparaissent comme des intermédiaires clés pour la formation de chaînes hydrocarbonées mono-fonctionnalisées, comme pour celle des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2. Par conséquent, il nous a semblé nécessaire de réaliser des expériences impliquant un aldéhyde et un thiol, dans les conditions opératoires habituelles, en flacons Sovirel. Comme pour l'étude du processus de formation de liaisons C-C, l'utilisation du méthanal marqué au ^{13}C est apparue intéressante dans le but d'élucider la formation des molécules bi-fonctionnalisées, puisque le méthanal est le précurseur postulé de l'acide 2-thiophénylacétique (*via* le dithioacétal correspondant, *cf.* Figure IV - 8, page 222). Ainsi, tous les produits affiliés au méthanal seront évidemment marqués au ^{13}C .

Afin de tester notre hypothèse de formation de l'acide 2-thiophénylacétique, qui potentiellement ouvrirait une voie générale de formation des acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 (voir Figure IV - 6, page 221) et, éventuellement, d'autres produits tels que des diacides (*cf.* Figure IV - 10, page 224), nous avons ainsi réalisé plusieurs expériences de simulation avec du thiophénol et du méthanal marqué au ^{13}C , dans les conditions habituellement mises en jeu dans les expériences avec substrats organiques.

Résultats d'une expérience réalisée avec le formaldéhyde marqué au ^{13}C

Les différents produits observés lors de cette expérience sont présentés dans le chromatogramme de la fraction aqueuse traitée avec le mélange butanol/HCl (voir Figure IV - 11, page 226) et dans le chromatogramme de la fraction obtenue par extraction du milieu réactionnel avec un solvant organique (*cf.* Figure IV - 12, page 227). Plusieurs produits marqués au ^{13}C ont ainsi été mis en évidence. Il s'agit, notamment, des dithioacétals $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_3$ et $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-C}_6\text{H}_5$, de l'hémithioacétal $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-SH}$ (voir spectres de masse, Figure IV - 14, page 229), de l'acide 2-phénylthioacétique marqué au ^{13}C sous la forme de l'ester butylique $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-COOC}_4\text{H}_9$, comme nous l'attendions, (*cf.* spectre de masse, Figure IV - 13, page 228), ainsi que d'autres composés soufrés.

Les produits présentés dans les figures suivantes ont été identifiés grâce à l'interprétation de leurs spectres de masse en ionisation électronique (fragments caractéristiques) et chimique (ions pseudo-moléculaires M+1). De plus, l'ester 2-phénylthioacétate butylique a également été caractérisé par comparaison de ses données de spectrométrie de masse et de son comportement chromatographique (temps de rétention et co-injection) avec ceux du produit de référence de synthèse correspondant. Nous rappelons que l'acide 2-phénylthioacétique non marqué au ^{13}C a été préalablement synthétisé puis estérifié avec le mélange butanol/HCl (voir chapitre II, E.2.2.4, page 110).

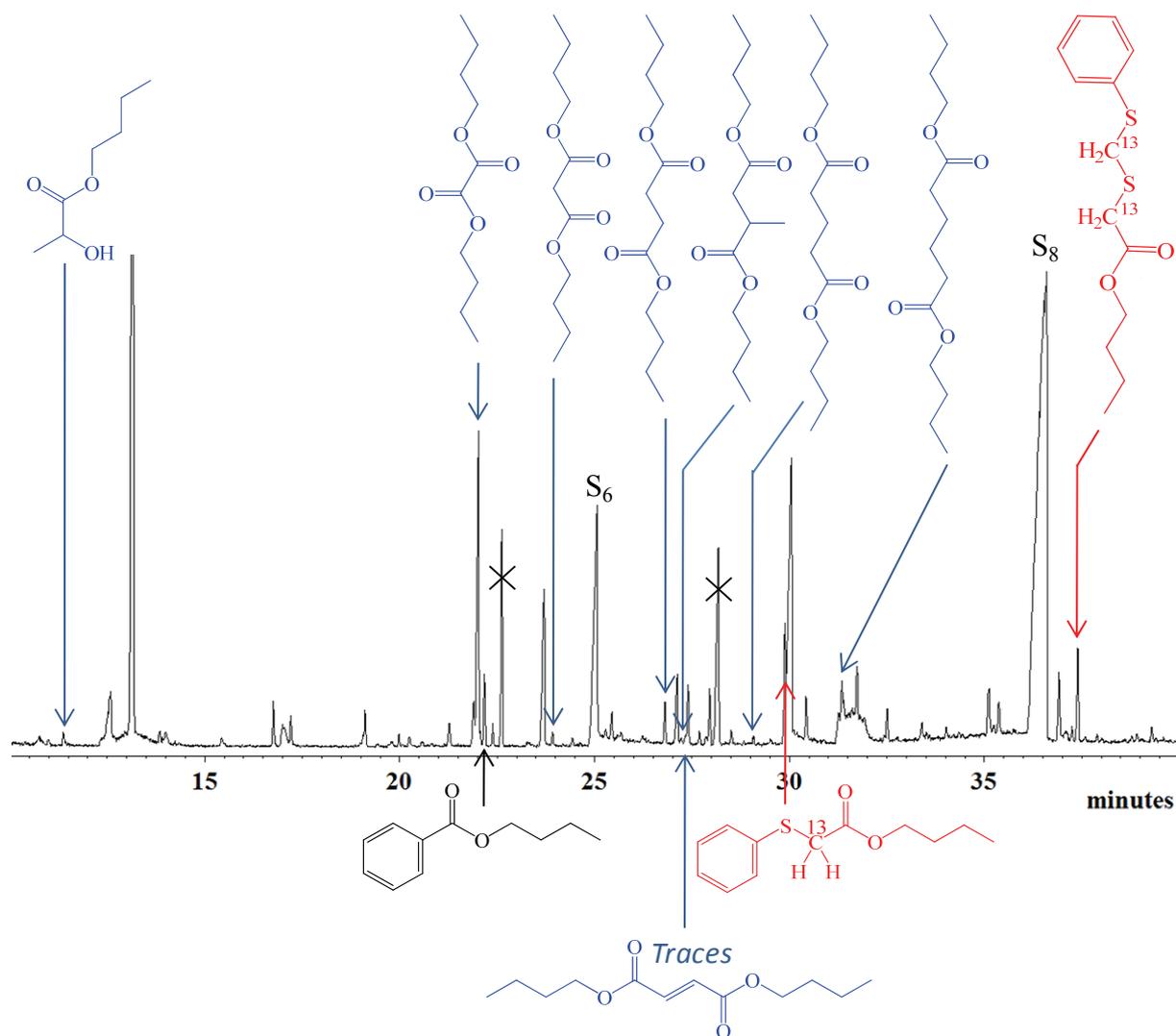


Figure IV - 11 - Chromatogramme en phase gazeuse des composés présents dans la phase aqueuse dérivée au butanol/HCl et issue d'une expérience en flacon Sovirel impliquant du thiophénol et du formaldéhyde marqué au ^{13}C (1mmol $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, 1,5mmol H^{13}CHO , 20mL H_2O , 1mmol $\text{Ni}(0)$, 1mmol Na_2S , CO , 1,9mmol HCl , 50°C , 4 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); $40\text{-}300^\circ\text{C}$ ($5^\circ\text{C}/\text{min}$); 300°C (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN). Composés marqués au ^{13}C en rouge, produit issu de l'insertion de CO sur le thiophénol en noir, diacides et hydroxyacide en bleu.

Dans les chromatogrammes annotés de la Figure IV - 11 et de la Figure IV - 12, quelques pics n'ont pas pu être identifiés. Certains semblent cependant présenter des fragments caractéristiques du marquage au ^{13}C (notamment pic moléculaire impair et fragments pairs). En outre, malgré l'application d'un protocole rigoureux de lavage et de mise en œuvre des expériences, quelques pollutions ont été observées, principalement des esters butyliques de diacides (au moins partiellement, comme déjà évoqué) et des esters butyliques d'acides carboxyliques pairs à longues chaînes. Enfin, des produits présentant du silicium, provenant probablement du matériel chromatographique (septum et colonne) ont également été remarqués.

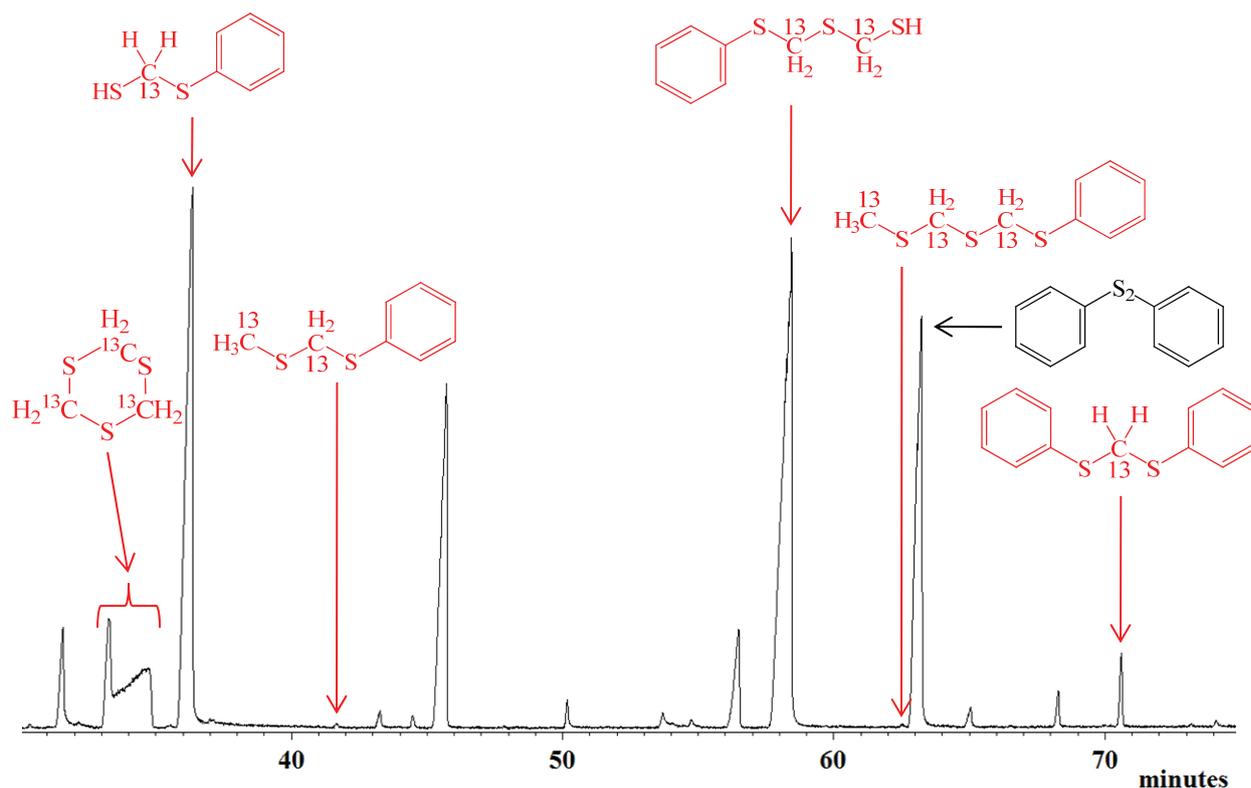


Figure IV - 12 - Chromatogramme en phase gazeuse des composés présents dans l'extrait au solvant organique du mélange réactionnel issu de la même expérience de simulation que pour la Figure IV - 11 (1mmol C_6H_5SH , 1,5mmol $H^{13}CHO$, 20mL H_2O , 1mmol $Ni(0)$, 1mmol Na_2S , CO , 1,9mmol HCl , $50^\circ C$, 4 jours) (Colonne HP5, $40^\circ C$ (5min); $40-300^\circ C$ ($2^\circ C/min$); $300^\circ C$ (5min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN). Composés marqués au ^{13}C en rouge.

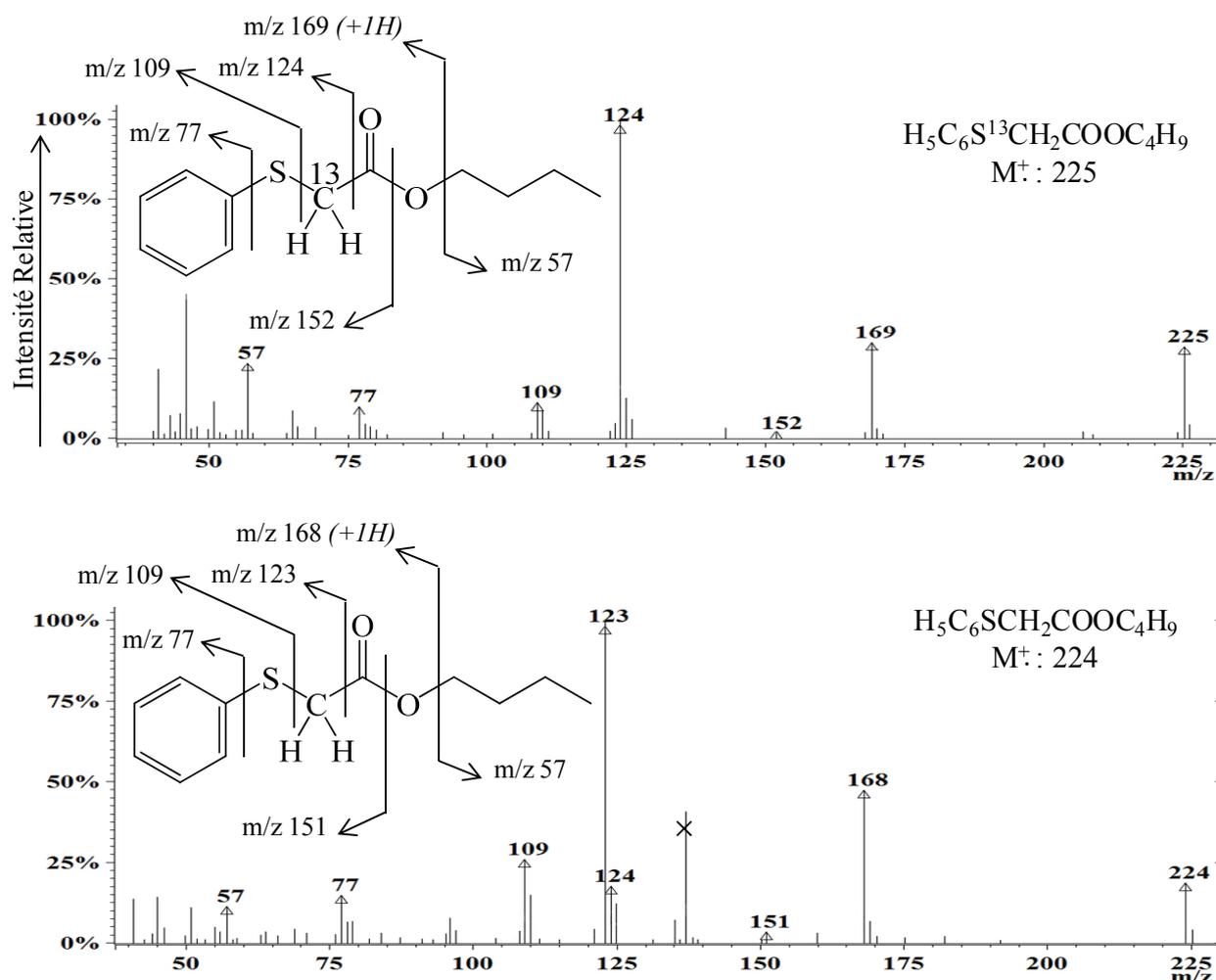


Figure IV - 13 - Spectre de masse de l'acide 2-phénylthioacétique (ester butylique) marqué au ^{13}C (en haut) observé par CG/SM et formé lors d'une expérience de simulation en flacon Sovirel impliquant du thiophénol et du formaldéhyde marqué au ^{13}C (1mmol $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, 1,5mmol H^{13}CHO , 20mL H_2O , 1mmol $\text{Ni}(0)$, 1mmol Na_2S , CO , 1,9mmol HCl , 50°C , 4 jours) et pour comparaison spectre de masse de l'ester 2-phénylthioacétate butylique non marqué (en bas) observé lors de l'essai avec du thiophénol (1mmol $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, 20mL H_2O , 1mmol NiCl_2 , 1,25mmol Na_2S , CO , 3,0.10-4mol HCl , 50°C , 4 jours) (Colonne HP5, Impact Électronique, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

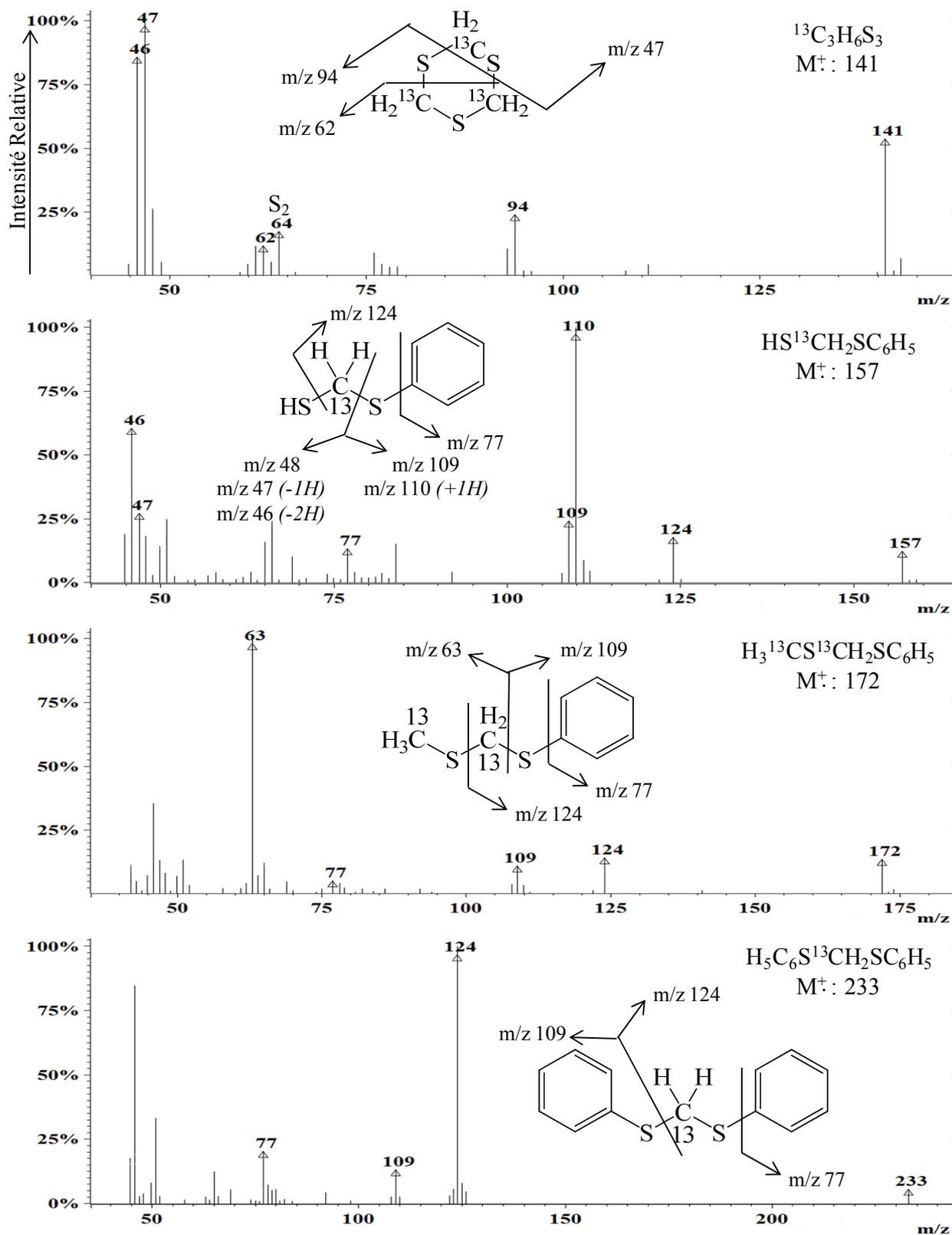


Figure IV - 14 - Spectres de masse de différents composés soufrés marqués au ^{13}C observés par CG/SM et formés lors d'une expérience de simulation en flacon Sovirel impliquant du thiophénol et du formaldéhyde marqué au ^{13}C (1mmol $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, 1,5mmol H^{13}CHO , 20mL H_2O , 1mmol $\text{Ni}(0)$, 1mmol Na_2S , CO , 1,9mmol HCl , 50°C, 4 jours) (Colonne HP5, IE, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

Discussion des résultats obtenus lors de l'expérience réalisée avec le formaldéhyde marqué au ^{13}C

Tout d'abord, nous remarquons que le processus d'élongation de chaîne a bien lieu dans les conditions de cette expérience, puisque nous avons identifié l'acide benzoïque parmi les composés organiques (dérivés avec le mélange butanol/HCl) issus de la phase aqueuse.

Comme l'illustre la Figure IV - 15, la formation des composés poly-soufrés possédant des fonctions de type dithioacétal peut s'expliquer par la réaction du thiophénol avec du formaldéhyde marqué au ^{13}C , aboutissant au composé $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-C}_6\text{H}_5$, ainsi qu'avec H_2S pour le produit $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-SH}$ ou avec du méthane-thiol marqué au ^{13}C pour la molécule $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_3$. Nous rappelons que le méthane-thiol marqué est synthétisé à partir du méthanal portant un ^{13}C , par sulfuration réductrice induite par H_2S , une réaction proposée par Schouten S. *et al.* - 1994 et Schneckenburger P. *et al.* - 1998, qui est très efficace dans nos conditions opératoires, comme nous l'avons déjà mentionné dans le chapitre III.

Nous avons également mis en évidence la formation de composés portant trois atomes de soufre, le 1,3,5-trithiane et les composés non cycliques $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-SH}$ et $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_3$. Le trithiane marqué au ^{13}C résulte de la réaction de cyclisation entre le méthanal marqué et H_2S , comme l'ont déjà mentionnée Cole W.J. *et al.* - 1994, Simoneit B.R.T. - 1995 et Rushdi A.I. & Simoneit B.R.T. - 2005. Les composés non cycliques portant trois sulfures sont quant à eux formés par réaction du méthanal marqué avec H_2S et R-SH (voir Figure IV - 15).

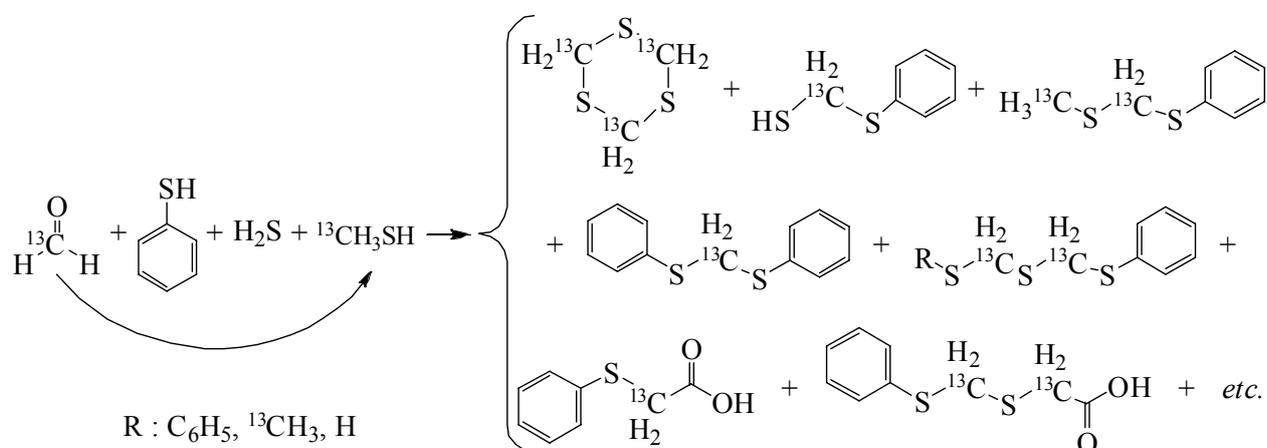


Figure IV - 15 - Filiation entre le méthanal et les molécules soufrées mises en évidence lors d'une expérience de simulation en flacon Sovirel impliquant du thiophénol et du formaldéhyde marqué au ^{13}C

La détection de l'ester 2-phénylthioacétate butylique marqué au ^{13}C confirme notre hypothèse concernant le mécanisme de formation de l'acide 2-phénylthioacétique et suggère donc la voie générale de formation d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 présentée dans la Figure IV - 6 (page 221). Ce mécanisme fait ainsi intervenir les différents aldéhydes formés dans les conditions opératoires que nous avons choisies pour simuler celles des fumeurs noirs. Comme nous l'avons décrit dans le chapitre III, les aldéhydes font partie intégrante du processus d'élongation de chaîne que nous avons élucidé.

De plus, l'acide carboxylique di-soufré $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-COOH}$ est fort probablement formé par carbonylation d'une liaison C-S des composés tri-soufrés $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-SR}$. Cet acide carboxylique di-soufré, que nous n'avons cependant identifié que sur la base de ses spectres de masse (IE et IC), est particulièrement intéressant. En effet, par simple hydrolyse, il est susceptible de conduire à l'acide mercaptoacétique $\text{HS-}^{13}\text{CH}_2\text{-COOH}$ qui pourrait être, comme nous le verrons plus loin dans ce chapitre (partie C, page 249), un précurseur potentiel de la glycine.

En conclusion, la formation de dérivés d'acides carboxyliques soufrés en position α ouvre potentiellement la voie à la synthèse d'autres composés d'intérêt prébiotique tels que les acides aminés, les diacides carboxyliques, les β -oxoacides (cétones ou aldéhydes) ou les composés possédant à la fois une fonction acide et une fonction thiol ou sulfure en position terminale (*cf.* Figure IV - 10, page 224).

Discussion sur la formation de diacides carboxyliques

Nous constatons que les diacides et l'hydroxyacide, détectés lors des expériences impliquant le formaldéhyde marqué au ^{13}C , ne sont pas du tout marqués au carbone 13, contrairement aux dithioacétals (*cf.* spectres de masse, Figure IV - 14, page 229), à l'acide 2-phénylthioacétique butylé (voir spectre de masse, Figure IV - 13, page 228) et aux autres composés soufrés. De ce fait, les acides malonique, succinique, pentanoïque et hexanoïque détectés dans le mélange réactionnel ne peuvent pas avoir été formés selon le mécanisme proposé dans la Figure IV - 10 (page 224). Par ailleurs, nous pouvons noter que ces diacides ont également été détectés sous formes non marquées au carbone 13 dans le mélange réactionnel issu d'une expérience de simulation en autoclave impliquant du formaldéhyde marqué dans les conditions typiques hydrothermales (1,5mmol $^{13}\text{CH}_2\text{O}$, 20mL H_2O , 1mmol NiS, 5bar H_2S , 5bar CO, $2,0 \cdot 10^{-4}$ mol HCl, 90°C, 4,5 jours) et en absence de thiophénol.

Ce résultat conforte donc l'hypothèse selon laquelle les diacides carboxyliques que nous détectons dans nos expériences sont sans doute issus d'une contamination, comme nous le suspicions, à moins que, et bien que cela soit peu probable, ces diacides dérivent d'une source de carbone autre que le formaldéhyde (par exemple CO non marqué) par une voie qui reste à être déterminée. A cet égard, la voie présentée dans la Figure IV - 10 (page 224) n'explique pas la formation de l'acide oxalique. Nous reviendrons plus loin sur un mode possible de formation de ce composé.

Néanmoins, on ne peut pas totalement exclure, sur la base de nos résultats, que le processus de synthèse que nous avons proposé dans la Figure IV - 10 (page 224) puisse effectivement conduire à des diacides carboxyliques. En effet, dans le cas des expériences réalisées avec le formaldéhyde marqué au ^{13}C et bien que nous ne disposons pas de données quantitatives sur la synthèse des dithioacétals et de l'acide 2-phénylthioacétique, il semble que l'acide 2-phénylthioacétique marqué au ^{13}C soit formé en faibles quantités et soit présent dans des concentrations du même ordre de grandeur que celles des diacides carboxyliques sans doute issus de contaminations (*cf.* chromatogramme Figure IV - 11, page 226). Il est donc probable que les diacides marqués, qui dériveraient de l'acide 2-phénylthioacétique selon le mécanisme proposé

dans la Figure IV - 10 (page 224), soient présents en quantités bien plus faibles, en tout cas difficiles à détecter dans le cas de l'expérience réalisée (s'ils sont effectivement formés). Il est possible qu'une synthèse plus efficace de l'acide 2-phénylthioacétique conduise effectivement à la formation de diacides carboxyliques, une hypothèse que nous avons testée à l'aide d'une expérience mettant en jeu l'acide mercaptoacétique et qui sera présentée plus loin.

B.2.2.2 Essais mettant en jeu le dithioacétal bis(phénylthio)méthane

Comme nous avons identifié à plusieurs reprises des dithioacétals mixtes ou symétriques, de thiophényle principalement, car résultant de la réaction du thiophénol avec le méthanal, nous conférons à ces dithioacétals un rôle d'intermédiaires réactionnels clés pour la formation d'acides carboxyliques soufrés. En effet, nous avons en particulier envisagé les réactions présentées dans la Figure IV - 16.

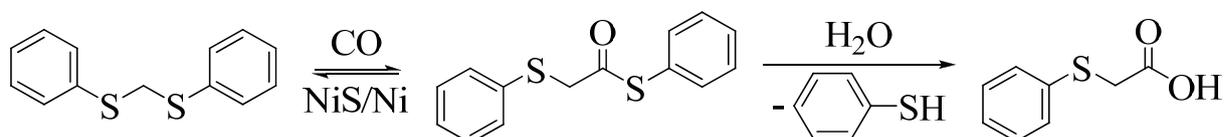


Figure IV - 16 - Formation de l'acide 2-phénylthioacétique par carbonylation du dithioacétal apparenté au formaldéhyde lors d'essais impliquant le thiophénol

Nous avons par conséquent réalisé une série d'expériences avec comme substrat le composé $\text{H}_5\text{C}_6\text{S}-\text{CH}_2-\text{SC}_6\text{H}_5$, qui avait été préalablement synthétisé comme référence (voir chapitre II, E.2.2.5, page 111) pour l'identification de ce composé dans les mélanges réactionnels provenant d'expériences en flacon Sovirel impliquant le thiophénol. Il s'agit en fait de tester si, dans nos conditions réactionnelles, CO est bien capable de s'insérer au niveau d'une liaison C-S de composés de type dithioacétal.

Dans un premier temps, nous avons ainsi testé la réactivité du bis(phénylthio)méthane ($4,31 \cdot 10^{-4}$ mol), dans l'eau, en présence de Ni(0) (1mmol) et CO (1bar), en flacon Sovirel. Il est important de préciser que nous n'avons, dans ce cas, pas fait intervenir H_2S (absence de Na_2S et donc absence de H_2S formé *in situ*). La figure suivante résume les résultats de cet essai.

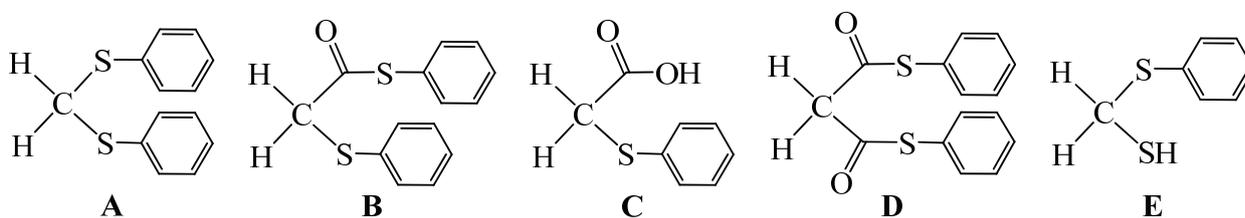


Figure IV - 17 - Bilan des composés recherchés dans le milieu réactionnel (phase aqueuse traitée et phase organique extraite) d'une expérience en flacon Sovirel impliquant le bis(phénylthio)méthane ($4,31 \cdot 10^{-4}$ mol $\text{H}_5\text{C}_6\text{S}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{C}_6\text{H}_5$, 20mL H_2O , 1mmol Ni(0), CO, 50°C, 4 jours)

Nous avons principalement observé le produit de départ A, l'acide benzoïque et l'acide oxalique. La présence de l'acide benzoïque peut être expliquée par une carbonylation de la

liaison S-Phényle sur le composé A suivie d'une hydrolyse ou alors par une carbonylation d'un peu de thiophénol issu de l'hydrolyse partielle du composé A. Par contre, nous n'avons détecté aucun des composés démontrant une carbonylation des liaisons C-SC₆H₅ au niveau du dithioacétal (voir Figure IV - 17, page 232), c'est-à-dire ni le composé B, ni l'acide correspondant après hydrolyse du thioester (C), ni le produit de double carbonylation (D).

En outre, comme nous étions en absence de H₂S, aucun échange SR↔SH n'est logiquement faisable et le fait que nous n'ayons pas observé le composé E est tout à fait normal. De plus, s'il est possible que nous ayons formé du méthanal à partir de CO, en présence de Ni(0) et de petites quantités de thiophénol (source de H en absence de H₂S), le manque de H₂S implique que nous n'ayons pas formé CH₃SH. De ce fait, il n'est pas surprenant de ne pas détecter H₅C₆-S-CH₂-S-CH₃, puisqu'aucun échange SR↔SCH₃ n'est également réalisable.

Par ailleurs, lorsque cette expérience a été réalisée en solvant organique (20mL de cyclohexane) afin de faciliter la rencontre de tous les réactifs et donc de favoriser des réactions entre eux, aucune carbonylation n'a été constatée.

Par conséquent, l'insertion de CO n'étant observée sur le substrat A (Figure IV - 17) ni en solvant organique, ni en solution aqueuse, nous sommes tentés de conclure que la carbonylation de la liaison C-SC₆H₅ au sein d'un dithioacétal symétrique tel que le produit A, en présence de nickel et en absence de H₂S, est impossible ou non détectable avec le protocole analytique que nous avons mis en place.

Au final, pour expliquer la formation de l'acide 2-thiophénylacétique dans les expériences de simulation impliquant le thiophénol, CO, H₂S et NiS/Ni(0), et considérant que la réaction d'insertion de carbonyle au niveau du bis(phénylthio)méthane semble défavorisée (peut être en raison de la nature aromatique du groupement thiophényle), nous avons envisagé que la synthèse de l'acide 2-phénylthioacétique passe par la carbonylation de l'hémithioacétal H₅C₆-S-CH₂-SH (voie I) ou du dithioacétal H₅C₆-S-CH₂-S-CH₃ (voie II) qui sont nécessairement formés dans les conditions opératoires mises en œuvre, comme présenté sur la Figure IV - 18.

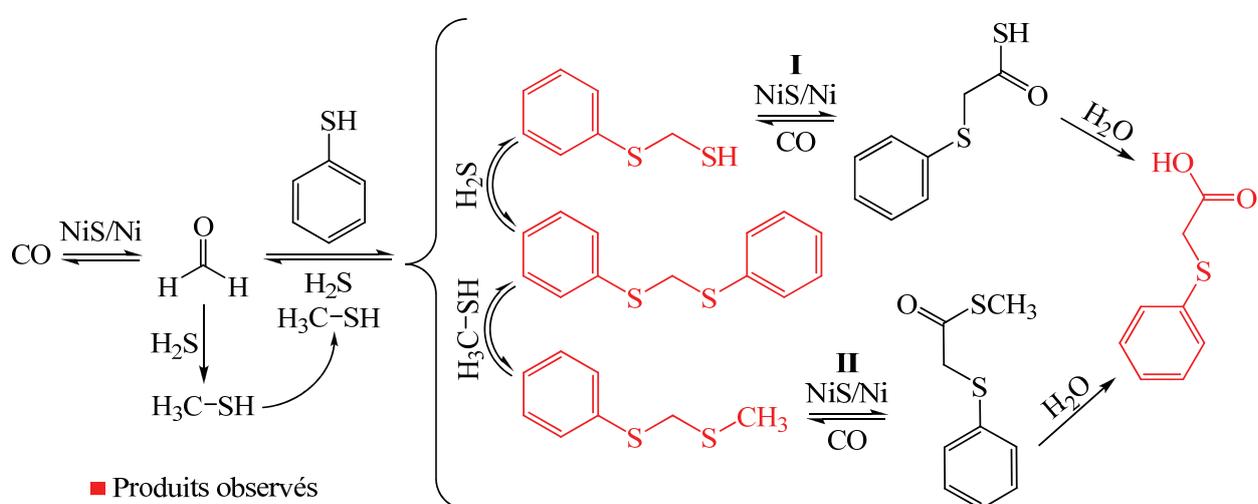


Figure IV - 18 - Formation de l'acide 2-phénylthioacétique par carbonylation de dithioacétals apparentés au formaldéhyde lors d'essais impliquant le thiophénol, CO, H₂S et NiS/Ni(0)

Des expériences supplémentaires sont donc à ce jour encore nécessaires pour totalement élucider les mécanismes de formation des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2.

Par conséquent, le mécanisme général de la Figure IV - 6 (page 221) devra à l'avenir être rectifié en fonction de cette nouvelle exigence pour la carbonylation des liaisons C-S au sein des dithioacétals et peut-être en fonction des probables futures vérifications expérimentales.

B.2.2.3 Expériences de simulation complémentaires impliquant de l'acide mercaptoacétique : étude d'une voie potentielle de formation des diacides carboxyliques

Afin d'évaluer les implications en chimie prébiotique de la formation de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2, dont la synthèse a été mise en évidence au cours des expériences présentées au début de ce chapitre, nous avons ensuite effectué une série d'expériences utilisant l'acide mercaptoacétique comme substrat. Nous désirions ainsi tester si les mécanismes d'élongation de chaîne, que nous avons étudiés dans le chapitre III et qui opèrent au niveau de thiols, sont également susceptibles d'être actifs au niveau d'une fonction soufrée localisée en α d'un acide carboxylique. Dans ce cas, ces mécanismes conduiraient potentiellement à des diacides carboxyliques selon le processus présenté dans la Figure IV - 10 (page 224).

Nous avons donc réalisé une série d'expériences en réacteurs en verre de 50mL (Sovirel) avec de l'acide mercaptoacétique (1mmol HS-CH₂-COOH, 20mL H₂O, 1mmol NiCl₂, 1,25mmol Na₂S, CO, 3.10⁻⁴mol HCl, 50°C, 4 jours ou 1mmol HS-CH₂-COOH, 20mL H₂O, 1mmol Ni(0), 2,5.10⁻⁴mol Na₂S, CO, 3.10⁻⁴mol HCl, 50°C, 4 jours).

Résultats

Les résultats des manipulations avec l'acide mercaptoacétique, réalisées en utilisant soit NiS ou Ni(0) comme catalyseurs, sont semblables et sont présentés dans la Figure IV - 19. Cette dernière montre à la fois les produits effectivement observés et ceux qui n'ont pas pu être mis en évidence mais que l'on aurait pu attendre, compte tenu des transformations supposées avoir lieu à partir d'un thiol dans les conditions opératoires (voir Figure IV - 9, page 223).

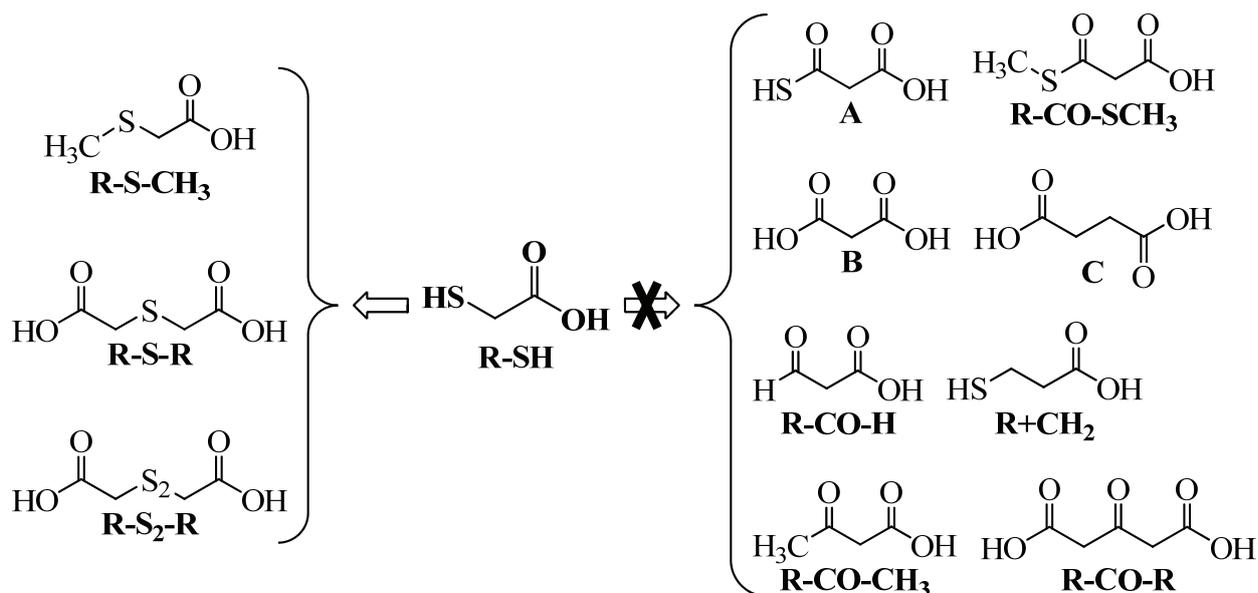


Figure IV - 19 - Bilan des expériences de simulation en Sovirel impliquant l'acide mercaptoacétique et NiS ou Ni(0) (1mmol HS-CH₂-COOH, 20mL H₂O, 1mmol NiCl₂, 1,25mmol Na₂S, CO, 3.10⁻⁴mol HCl, 50°C, 4 jours ou 1mmol HS-CH₂-COOH, 20mL H₂O, 1mmol Ni(0), 2,5.10⁻⁴mol Na₂S, CO, 3.10⁻⁴mol HCl, 50°C, 4 jours)

Pour cette série d'expériences, deux types de colonnes ont été utilisés, en CPG et CG/SM. En effet, le mélange réactionnel issu des expériences de simulation a été filtré puis la moitié du filtrat a été traitée avec le mélange butanol/HCl (1,5mol/L), après évaporation de l'eau, et l'autre moitié a été acidifiée, extraite avec de l'acétate d'éthyle, concentrée et analysée sans dérivation sur une colonne très polaire particulièrement adaptée à l'analyse d'acides carboxyliques volatils (HP-FFAP, avec une phase de polyéthylène glycol modifié). En fait, la dérivation au butanol/HCl entraînant la présence de produits secondaires et rendant le chromatogramme plus complexe, nous avons voulu tester un traitement par extraction et concentration uniquement, permettant de simplifier l'exploitation des analyses CPG et CG/SM. L'analyse directe des diacides carboxyliques et autres composés bi-fonctionnalisés dérivant de l'acide mercaptoacétique se fait sans perte car ces produits sont peu volatils. Les analyses en CPG et CG/SM de la fraction estérifiée sur colonne apolaire de type HP-5 et de la fraction non estérifiée sur colonne polaire de type HP-FFAP ont donné des résultats très semblables, résumés dans la Figure IV - 19. De plus, les composés observés ont été identifiés grâce à l'interprétation de leurs spectres de masse obtenus en ionisation électronique (fragments caractéristiques) et chimique (ion pseudo moléculaire M+1).

Nous remarquons que, dans cette expérience, seul l'acide oxalique est détecté parmi les diacides carboxyliques d'intérêt prébiotique, et il ne provient assurément pas de l'acide 2-mercaptoacétique comme mentionné plus haut.

Discussion du processus d'élongation appliqué à l'acide mercaptoacétique

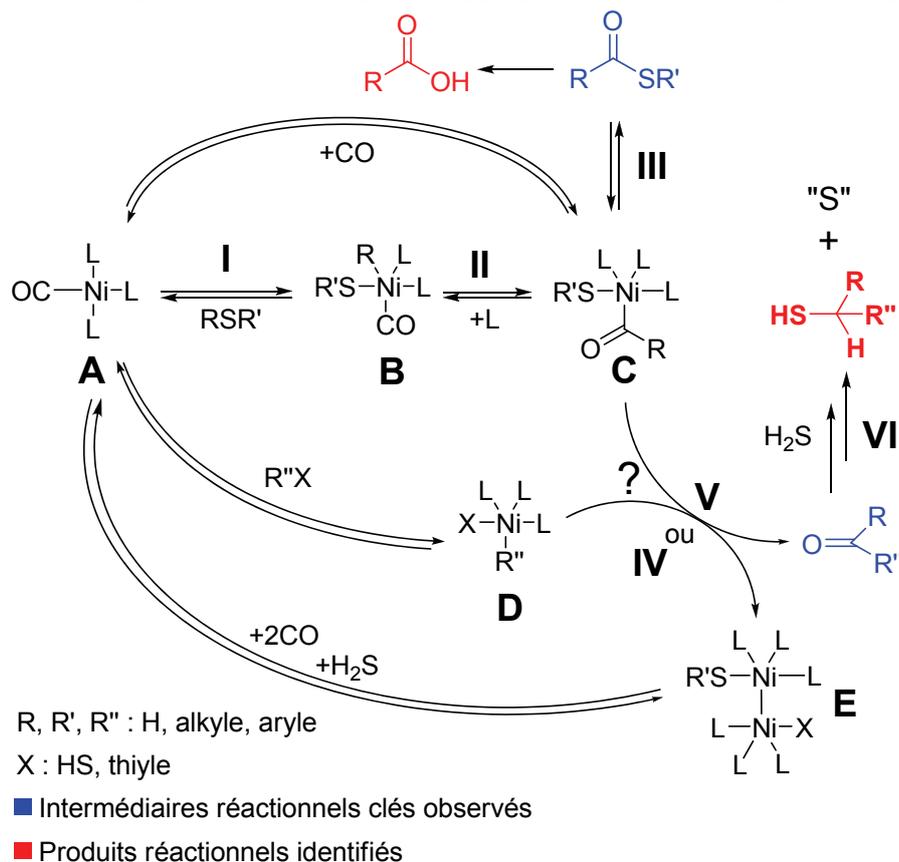


Figure IV - 20 - Rappel du cycle catalytique proposé dans le chapitre III pour la formation de liaisons C-C

Nous pouvons envisager, de façon logique et d'après les découvertes relatées dans le chapitre III, que la fonction thiol présente sur la molécule d'acide mercaptoacétique pourrait intégrer le cycle catalytique d'élongation de chaîne rappelé dans la Figure IV - 20 et donc que CO pourrait s'insérer dans la liaison C-SH, conduisant entre autres à des aldéhydes (R-CO-H, Figure IV - 19, page 235), à des thioles homologués (*cf.* Figure IV - 19, R+CH₂, et Figure IV - 10, page 224, composés bleus), à des cétones (R-CO-CH₃ et R-CO-R), mais également à un thioacide (A) et des thioesters (par exemple R-CO-S-CH₃), puis à l'acide malonique (B) par hydrolyse des thioesters et du thioacide. De façon logique, une élongation du thioacide A ou du thioester R-CO-S-CH₃, mais aussi une nouvelle insertion de CO au niveau du thiol homologué R+CH₂ auraient pu se produire pour conduire à l'acide succinique (C). Cependant, les produits qui auraient pu être issus de l'incorporation de CO au niveau de l'acide 2-mercaptoacétique, selon les voies que nous avons étudiées dans le chapitre III, n'ont pas pu être mis en évidence. Les processus d'élongation de chaîne qui se produisent au niveau de thioles aliphatiques ou aromatiques semblent ainsi ne pas fonctionner dans le cas de ce substrat. Toutefois, il s'avère que la molécule d'acide mercaptoacétique intègre bien la sphère de coordination du nickel, comme l'atteste la mise en évidence de R-S-R et R-S-CH₃, dont la formation nécessite sans doute l'intervention de nickel (*cf.* chapitre III). Par ailleurs, le disulfure R-S₂-R se forme dans le milieu réactionnel par oxydation de l'acide mercaptoacétique.

Les résultats obtenus semblent donc montrer que, contrairement aux thiols aliphatiques et aromatiques que nous avons étudiés, la fonction thiol de l'acide mercaptoacétique ne paraît pas intégrer le processus d'homologation et d'allongement de chaîne que nous avons décrit dans le chapitre III et dans la Figure IV - 20 (page 236). Ceci pourrait être lié à la présence du groupement carboxyle à proximité de la fonction thiol. En effet, le carboxyle est attracteur d'électrons et rend peut-être le groupement $\text{CH}_2\text{-COOH}$, lié au nickel au sein du complexe organométallique, pas assez donneur pour migrer et s'insérer sur un des ligands carbonyles coordonnés au nickel. Il serait intéressant de tester cette hypothèse avec d'autres réactifs de type $\text{HOOC-CH}_2\text{-S-R}$, R étant un alkyle ou un aryle.

Conclusions

Par conséquent, nous émettons quelques réserves concernant le mécanisme d'élongation de chaîne appliqué aux dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 (voir Figure IV - 10, page 224). Il est possible que le processus d'insertion de carbonyle au niveau de la liaison C-S sur un substrat portant une fonction acide carboxylique en α ne soit pas favorisé, par exemple pour des raisons électroniques. Ces résultats pourraient sembler limiter, quelque peu, l'intérêt des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 dans le contexte de la chimie prébiotique.

Cependant, il n'est pas exclu que les conditions mises en œuvre dans le cas des expériences mettant en jeu l'acide mercaptoacétique (1mmol $\text{HS-CH}_2\text{-COOH}$, 1mmol NiCl_2 , 1,25mmol Na_2S , CO , $3 \cdot 10^{-4}$ mol HCl ou 1mmol $\text{HS-CH}_2\text{-COOH}$, 1mmol Ni(0) , $2,5 \cdot 10^{-4}$ mol Na_2S , CO , $3 \cdot 10^{-4}$ mol HCl) n'étaient pas optimales et que des expériences ultérieures, où les conditions expérimentales auront été modifiées, permettront d'observer des diacides carboxyliques et autres produits d'élongation présentés sur la partie droite de la Figure IV - 19 (page 235).

Par ailleurs, nous verrons plus loin que les dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 demeurent intéressants pour la synthèse d'acides aminés.

B.2.3 Proposition de mécanismes de formation de l'acide oxalique

Comme mentionné plus haut, il nous semble que la formation de l'acide oxalique ne passe pas par le formaldéhyde. Il n'est donc pas étonnant que ce diacide ne soit pas marqué lors des expériences impliquant comme substrat le méthanal marqué au ^{13}C . De ce fait, l'absence de marquage ne peut pas être considérée comme un argument indiquant que l'acide oxalique, observé sous la forme de son ester butylique, est une pollution. Nous nous avançons, avec la réserve indispensable, à proposer un mécanisme de synthèse de ce composé basé sur la chimie organométallique du nickel, en nous référant aux processus découverts pour la formation de liaisons C-C et dont les résultats sont présentés dans le chapitre III.

B.2.3.1 Hypothétique formation de l'acide oxalique par double carbonylation

Dans un premier temps, il est logique que le processus de double carbonylation illustré dans la Figure IV - 21 vienne à l'esprit pour expliquer l'observation de l'acide oxalique.

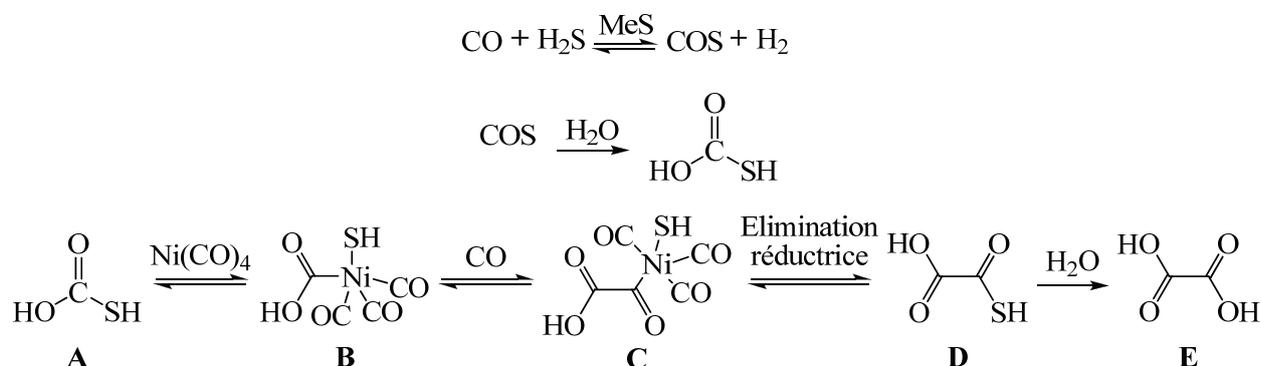


Figure IV - 21 - Formation de l'acide oxalique par double carbonylation

L'insertion oxydante de HO-CO-SH (cf. Figure IV - 21, composé A), composé engendré par la réaction de COS, formé *in situ*, avec H₂O, permettrait d'obtenir un complexe de nickel où le métal serait coordonné à un groupement carboxyle (produit B). Une migration insertion conduirait ensuite à un complexe avec un ligand possédant deux groupements carbonyles adjacents (C). Puis, une élimination réductrice libérerait la molécule D. Enfin l'hydrolyse de cette dernière aboutirait à l'acide oxalique (E).

Cependant, d'après nos connaissances en chimie organométallique, l'étape de migration du groupement carboxyle (B) sur un carbonyle lié au métal correspondrait en fait à une double carbonylation. Cette réaction est défavorisée par le fait que le carbone lié au métal est très pauvre en électrons. Nous excluons donc ce processus et proposons un processus plus compliqué mais possible, en accord avec les mécanismes présentés dans le chapitre III.

B.2.3.2 Mécanismes alternatifs en accord avec nos découvertes

Nous désirons proposer un mécanisme qui ne fasse pas intervenir de double carbonylation au sens propre du terme. Ainsi, nous envisageons un processus qui présente des analogies avec ceux mentionnés par Des Abbayes H. & Salauen J.Y. - 2003 dans leur article de revue. Ces derniers expliquent, en effet, dans le cadre de la chimie organométallique, la formation de composés qui pourraient sembler à première vue être issus de réactions de double carbonylation. Une étude détaillée des mécanismes mis en jeu a clairement montré que ces composés ne sont généralement pas issus de processus de double carbonylation proprement dits, mais de voies réactionnelles différentes conduisant aux mêmes produits.

Ainsi, dans la Figure IV - 22, nous proposons que le composé HO-CO-SH (produit A), issu de l'hydrolyse de COS, formé dans les conditions opératoires mises en œuvre, soit capable de s'insérer au niveau de complexes carbonylés de nickel. Cela conduirait à des complexes possédant un groupement carboxyle au sein de la sphère de coordination du nickel (B). Ensuite, nous envisageons deux voies possibles pour la synthèse de l'acide oxalique (I et II), par analogie avec les processus étudiés dans le chapitre III, pour la formation de liaisons C-C à partir de

thiols, conduisant à des aldéhydes et des cétones (voir page 196), mais également à des mono-sulfures (*cf.* page 188) ou bien à des dimères R-R (voir page 190).

Une première possibilité serait que l'acide oxalique (C) soit délivré par élimination réductrice bi-nucléaire (I), formant un complexe avec deux centres métalliques (D), qui peut ensuite régénérer le complexe $\text{Ni}(\text{CO})_4$.

La deuxième éventualité serait une transmétallation (II) entre les deux complexes portant les groupements carboxyles (B), libérant un complexe avec deux groupements carboxyles (E) et un complexe avec deux SH (F). Enfin, une élimination réductrice aboutirait à l'acide oxalique (C).

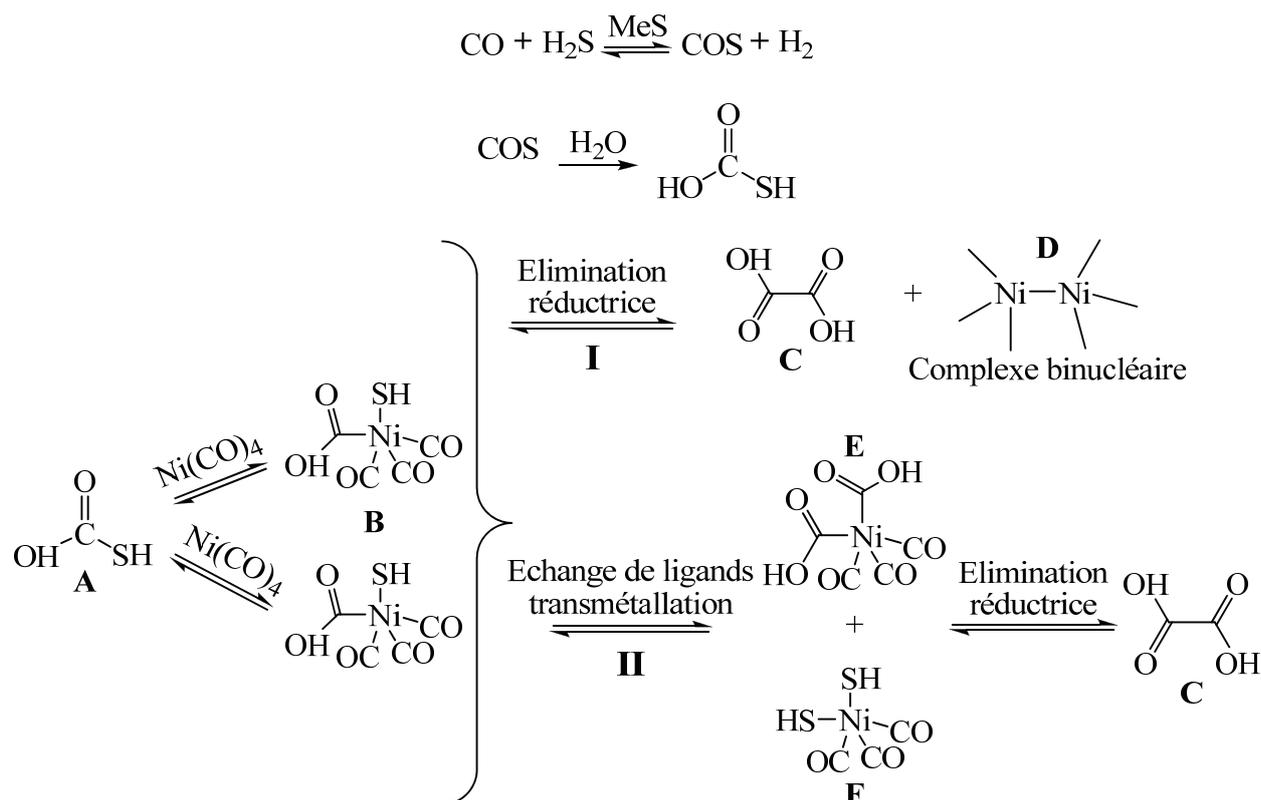


Figure IV - 22 - Proposition de mécanismes de formation de l'acide oxalique à partir de COS et catalysée par le nickel

A ce stade des recherches, il apparaît nécessaire de réaliser des essais en laboratoire avec des substrats marqués tels que ^{13}CO ou ^{13}COS par exemple, dans le but de confirmer les mécanismes proposés pour la synthèse de l'acide oxalique.

B.2.4 Discussion sur le mode de formation de composés bi-fonctionnalisés dans les conditions régnant au niveau des sources hydrothermales suggéré par G. Wächtershäuser et G. Cody

B.2.4.1 Aspects mécanistiques de la théorie proposée par G. Wächtershäuser concernant le cycle réducteur primitif de l'acide citrique

Wächtershäuser G. - 1990a avait dans un premier temps proposé une série de mécanismes théoriques pour la formation de composés bi-fonctionnalisés, tels que des cétoacides et des diacides, qui interviendrait au niveau d'un cycle auto-catalytique primitif. Le cycle réducteur de l'acide citrique lui apparaissait comme le plus logique. La construction de ce dernier est rappelée dans la Figure IV - 23.

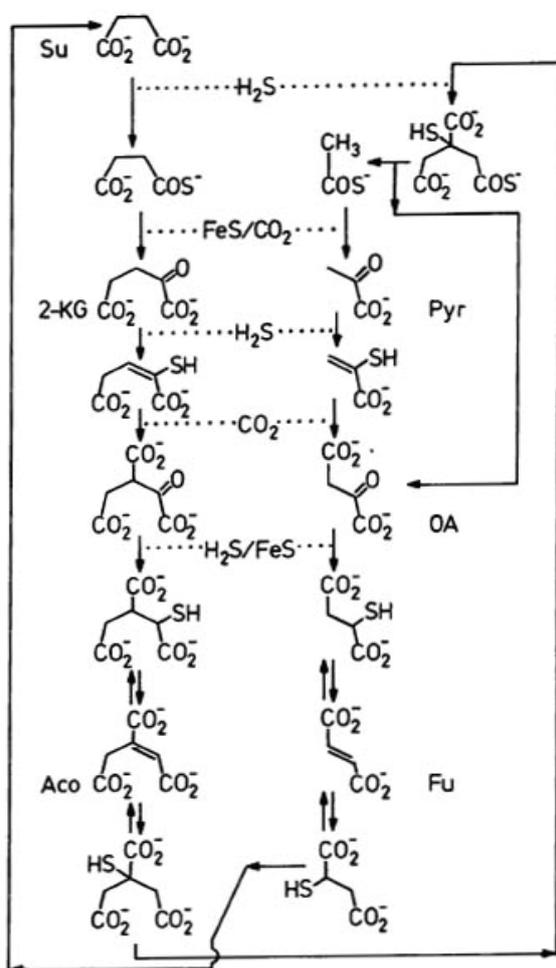


Figure IV - 23 - Représentation du cycle primitif réducteur de l'acide citrique extraite de l'article de Wächtershäuser G. - 1990a

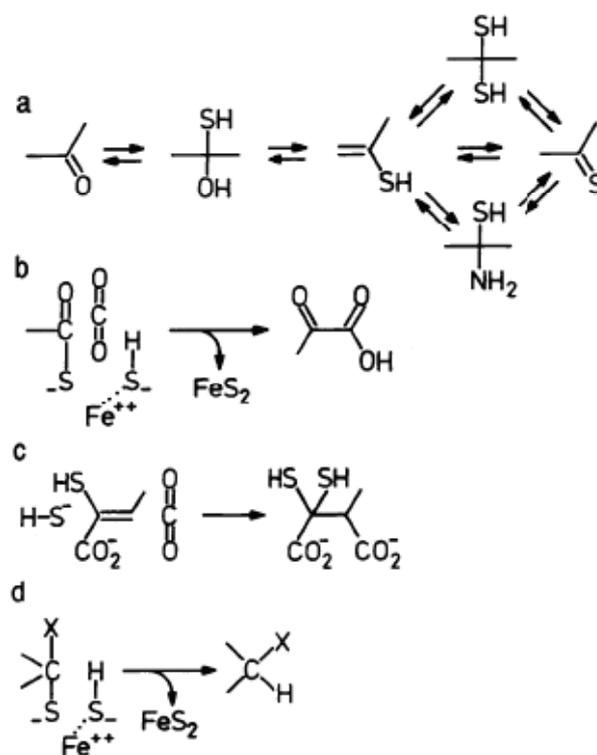


Figure IV - 24 - Réactions nécessaires pour le fonctionnement du cycle primitif, extraites de la publication de Wächtershäuser G. - 1990a

D'après l'article de Wächtershäuser G. - 1990a, au sein de ce cycle primitif réducteur, les fonctions OH coexistent avec les fonctions SH. De même, les acides cohabitent avec les

thioacides. En outre, les fonctions carbonyles coexistent avec les dérivés soufrés, tels que les hémithioacétals, les dithioacétals et les thiones.

Selon la publication de Wächtershäuser G. - 1990a, le fonctionnement d'un tel cycle primitif, en dehors de tout système enzymatique, nécessite qu'un certain nombre de réactions clés de réduction et de formation de liaisons C-C puissent effectivement se produire dans des conditions prébiotiques. Ces réactions, susceptibles, notamment, de conduire à la formation de diacides carboxyliques et de cétoacides, reposeraient, d'après Wächtershäuser G. - 1990a, sur le pouvoir réducteur du système FeS/H₂S (voir Figure IV - 24).

La carboxylation réductrice de thioacides couplée à l'oxydation de FeS en pyrite par H₂S et conduisant à des α-cétoacides, comme le montrent la Figure IV - 24 (b) et la Réaction IV - 2, serait une réaction centrale de ce cycle primitif réducteur. Cette étape clé permettrait alors la fixation de CO₂. D'ailleurs, De Duve C. & Miller S.L. - 1991 proposent presque la même réaction, puisqu'ils suggèrent la réaction de thioesters avec CO₂.



Réaction IV - 2 - Théorie de la formation de cétoacides d'après Wächtershäuser G. - 1992

Ainsi, Wächtershäuser G. - 1990a propose la formation de cétoacides basée sur le minerai pyrite, mais n'a pas détaillé le mécanisme de catalyse de surface correspondant qu'il suggère. A notre connaissance, les chercheurs ayant par la suite suivi et exploité la théorie de G. Wächtershäuser n'ont pas proposé de mécanismes réactionnels plausibles pour cette réaction de carboxylation réductrice, se contentant d'annoter les réactions dans les publications avec des indications telles que « +CO₂ », « +H₂ », « +e⁻ » *etc.* (De Duve C. & Miller S.L. - 1991 ; Cody G.D. *et al.* - 2004a ; Orgel L.E. - 2008 ; Rauchfuss H. - 2008a). Une étude expérimentale de la carboxylation réductrice d'acides carboxyliques, dans le contexte de la chimie prébiotique, a néanmoins été réalisée très récemment par Guzman M.I. & Martin S.T. - 2009. Ces derniers ont montré qu'un tel processus pouvait effectivement se produire par réaction photochimique catalysée par des sulfures métalliques. Ces auteurs ainsi que d'autres membres de cette équipe se sont, en effet, intéressés au cours des dernières années au rôle potentiel du cycle de Krebs inversé en chimie prébiotique (Zhang X.V. & Martin S.T. - 2006 ; Zhang X.V. *et al.* - 2007 ; Guzman M.I. & Martin S.T. - 2008 ; Guzman M.I. & Martin S.T. - 2009).

En outre, Wächtershäuser G. - 1990a propose que le cycle primitif de Krebs inversé ne puisse en fait pas exister en tant que simple boucle isolée mais que des corrections soient nécessaires étant donné que chaque constituant du cycle archaïque présenté dans la Figure IV - 23 subit en réalité plusieurs réactions compétitrices (gains de COOH ou pertes de COOH). Il en résulte par conséquent une chaîne de boucles homologues conduisant idéalement à des diacides carboxyliques de toutes longueurs, comme l'illustre la Figure IV - 25 (page 242).

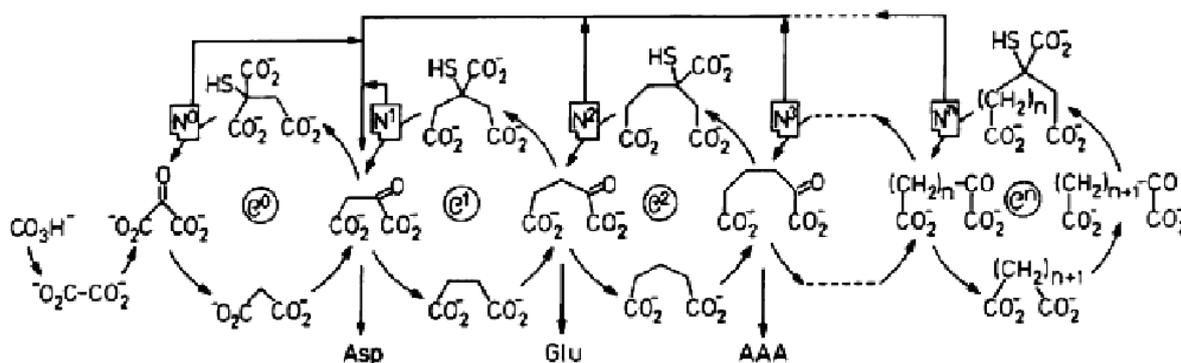


Figure IV - 25 - Série de cycles archaïques C^0 à C^n permettant la synthèse de diacides carboxyliques selon Wächtershäuser G. - 1990a (N^n correspondent à des rétro-aldolisations, Asp : aspartate, Glu : glutamate et AAA : acide aminoadipique)

Dans la Figure IV - 26, nous apportons quelques détails réactionnels à la Figure IV - 25 (boucle C^1 et réactions en amont) en nous basant sur le principe de la formation de cétoacides, soutenu par Wächtershäuser G. - 1992 (Réaction IV - 2, page 241).

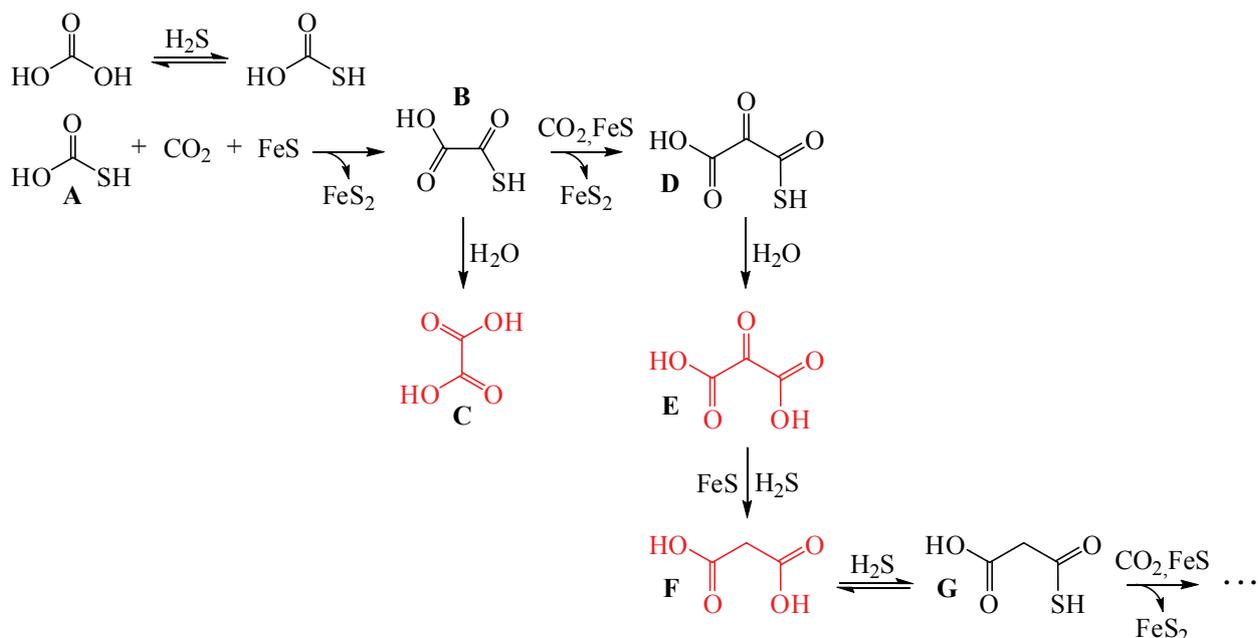


Figure IV - 26 - Principe de la théorie de Wächtershäuser G. - 1990a pour la synthèse de diacides de toutes longueurs

Comme le montrent la Figure IV - 25 et la Figure IV - 26, le processus mentionné par Wächtershäuser G. - 1990a débiterait par une carboxylation réductrice du dioxyde de carbone, catalysée par la formation de la pyrite, via le thiocarbonate, puis le 2-oxo-2-sulfidoacétate, et conduisant à l'oxalate. Ce dernier serait à son tour converti en oxalacétate par une suite de carboxylations réductrices et de réductions en passant par le cétomalonate et le malonate (cycle C^0) etc.

La théorie de la formation de cétoacides élaborée par Wächtershäuser G. - 1990a semblerait avoir été confirmée par les découvertes de Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2004a

relatant la synthèse d'acide pyruvique lors d'expériences impliquant FeS et CO/H₂ (formés par décomposition thermique de l'acide formique), toutefois à hautes température et pression (2000bar). Un tel processus de formation de cétoacides serait idéal car ces derniers permettraient la synthèse d'acides aminés par amination réductrice, comme l'exposent Huber C. & Wächtershäuser G. - 2003 et Lehninger A.L. *et al.* - 2004.

B.2.4.2 Interprétation de la théorie de G. Wächtershäuser pour la formation de cétoacides, à la lumière de nos résultats expérimentaux

Nous avons essayé de transposer les réactions proposées par Wächtershäuser G. - 1990a (Figure IV - 23, Figure IV - 24, page 240 et Figure IV - 25) aux processus basés sur la catalyse par le nickel, que nous avons découverts pour l'élongation de chaînes (*cf.* chapitre III). Pour commencer, une réaction équivalente à la réaction de formation de cétoacides (Réaction IV - 2, page 241), qui est au centre des processus présentés dans les figures précédentes (Figure IV - 23, Figure IV - 24 et Figure IV - 25), pourrait être envisagée de la manière suivante.

Ainsi, nous proposons tout d'abord que le réactif CO₂ intervenant dans la théorie de G. Wächtershäuser, soit remplacé par CO. Ce dernier est présent dans les gaz des fumeurs noirs et pourrait également être formé à partir de CO₂ par la réaction de gaz à l'eau, catalysée par le système sulfure métallique/H₂S (voir ci-dessous).



Réaction IV - 3 - Formation de CO dans les conditions hydrothermales (Me : métal)

La Figure IV - 27 décrit la réaction de formation des cétoacides qui pourrait alors être envisagée à partir de thioesters ou de thioacides et qui serait équivalente à celle proposée par Wächtershäuser G. - 1992.

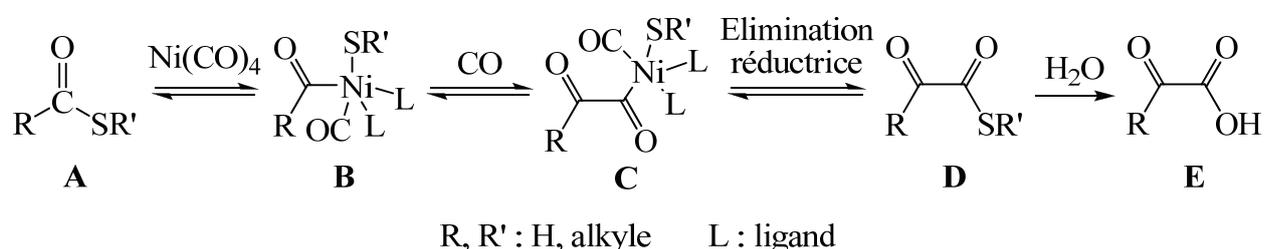


Figure IV - 27 - Mode de formation de cétoacides, par réaction de thioacides ou de thioesters avec CO catalysée par le nickel, équivalent à un processus de double carbonylation

L'insertion oxydante de R-CO-SR' (*cf.* Figure IV - 27, composé A) permettrait d'obtenir un complexe de nickel B. Une migration insertion conduirait ensuite à un complexe avec un ligand possédant deux groupements carbonyles adjacents (C). Puis, une élimination réductrice libérerait la molécule D. Enfin, après hydrolyse, le cétoacide E serait formé. Cependant, et comme nous

l'avions déjà évoqué précédemment, l'étape de migration du groupement acyle sur un carbonyle lié au métal (2^{ème} étape) correspond, en fait, à une double carbonylation qui est très défavorisée en chimie organométallique (voir page 219). Nous excluons donc ce processus pour la formation des cétoacides. Par conséquent, d'après ce que nous savons de la nature des processus chimiques mis en jeu lors de la synthèse de composés organiques à partir de CO catalysée par les sulfures de métaux de transition, il semble que la réaction que nous venons de présenter ne peut sans doute pas se produire.

Sur la base des expériences reportées par Heinen W. & Lauwers A.M. - 1996, Cody G.D. *et al.* - 2004a et Dubant S. - 2004, nous pouvons envisager que les processus de formation de liaisons C-C susceptibles d'être mis en jeu lorsque FeS est utilisé comme catalyseur sont de même nature que ceux mis en jeu en présence de sulfure de nickel. Nous pourrions ainsi conclure que la réaction de formation de cétoacides proposée par Wächtershäuser G. - 1992 (Réaction IV - 2, page 241) est très peu probable, ni sous sa forme originelle (FeS/H₂S/CO₂), ni sous une forme adaptée mettant en jeu CO à la place de CO₂. A cet égard, nous n'avons pas observé, pour l'instant, de cétoacides dans les expériences que nous avons réalisées, ni même d'acides carboxyliques possédant une fonction thiol en α de la fonction acide qui dériveraient des cétoacides *via* la réaction de sulfuration réductrice de la fonction carbonyle par H₂S (*cf.* chapitre III page 173). Il faut mentionner, néanmoins, que Cody G.D. *et al.* - 2000 et Cody G.D. *et al.* - 2004a ont démontré la présence d'acide pyruvique, dans des proportions très faibles, lors d'expériences en laboratoire, avec du nonane-1-thiol et de l'acide formique (source de CO et H₂). Cependant, les conditions réactionnelles choisies par ces chercheurs diffèrent de celles que nous appliquons. En effet, la pression de CO utilisée est très importante (2000bar, soit 200 fois la pression appliquée lors de nos essais en autoclave et 2000 fois la pression utilisée en réacteurs en verre) et a vraisemblablement favorisé la synthèse de quantités d'acide pyruvique détectables lors des analyses, éventuellement selon le processus décrit dans la Figure IV - 27 (page 243, R= CH₃), bien qu'il soit a priori peu favorable. Cody G.D. *et al.* - 2000 affirment, d'ailleurs, dans leur article que le rendement de synthèse de l'acide pyruvique dépend de la pression de CO.

Néanmoins, afin d'expliquer les résultats de Cody G.D. *et al.* - 2000, nous pouvons, sous réserve de vérifications ultérieures, proposer un mécanisme plus probable qui ne fasse pas intervenir de double carbonylation au sens propre du terme, par analogie avec ceux mentionnés par Des Abbayes H. & Salauen J.Y. - 2003 et comme nous l'avons fait pour l'acide oxalique (voir partie B.2.3.2, page 238). Ainsi, comme l'illustre la Figure IV - 28, nous pouvons tout à fait concevoir qu'un thioacide (C, R'=H) ou même un thioester (C, R'=alkyle ou aryle) intègre la sphère de coordination d'un complexe de nickel et qu'un deuxième complexe soit formé à partir de HO-CO-SH (A) provenant de COS. Nous rappelons que COS fait partie des gaz émis par les fumeurs noirs (*cf.* chapitre I) et est formé dans nos conditions expérimentales par réaction avec H₂S, comme indiqué dans la Figure IV - 28. Les complexes B et D pourraient ensuite libérer un cétoacide, soit par élimination réductrice bimétallique (étape I), soit par transmétallation (II) et élimination réductrice. La formation de l'acide pyruvique serait ainsi le cas où R est un méthyle.

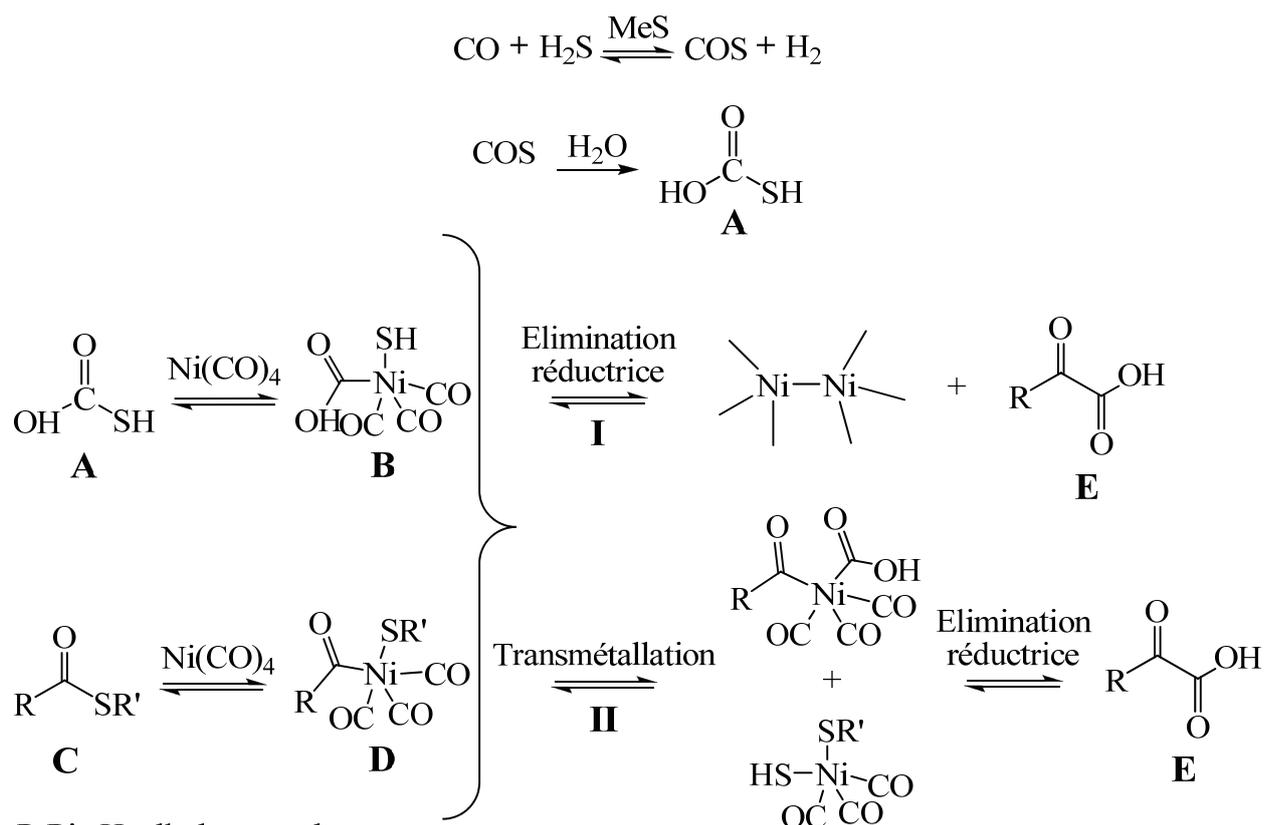


Figure IV - 28 - Processus possible de formation de cétoacides ne faisant pas intervenir de réaction de double carbonylation

Par conséquent, il semble théoriquement possible de synthétiser des cétoacides, en particulier l'acide pyruvique, comme le proposent Wächtershäuser G. - 1992 et Cody G.D. *et al.* - 2000. Nous ne pouvons, en effet, pas totalement exclure l'éventualité de cette synthèse, d'après le schéma de la Figure IV - 28 qui est compatible avec ce que nous connaissons des processus chimiques susceptibles de se produire dans les conditions expérimentales mises en œuvre.

Dans ce cas, la formation de cétoacides demeure probablement peu efficace dans les conditions que nous avons choisies pour simuler l'environnement des sources hydrothermales. Il est, de plus, concevable que l'acide pyruvique existe dans des proportions non détectables dans nos conditions de simulations et d'analyses.

Cette hypothèse pourrait être testée à l'aide d'expériences mettant en jeu directement des thioesters ou des thioacides et COS. Il est, bien entendu, possible que notre hypothèse de formation des cétoacides ne fonctionne tout simplement pas ou soit très défavorisée dans nos conditions, en raison de la grande proportion de thioacides et de thioesters à être hydrolysés en acides carboxyliques. Sur la base des résultats publiés par Cody G.D. *et al.* - 2000, des quantités importantes de réactifs pourraient peut-être alors permettre la synthèse des cétoacides.

B.2.4.3 Discussion sur l'hypothèse de G. Wächtershäuser portant sur la formation de diacides carboxyliques catalysée par les sulfures métalliques

Tout d'abord, il est important de préciser que nous ne cautionnons pas la formation de thioacides ou de thioesters par réaction d'acides carboxyliques avec des thiols ou H₂S, comme le mentionne Wächtershäuser G. - 1990a. En effet, en milieu aqueux, l'équilibre entre acides carboxyliques et thioacides ou thioesters est fortement orienté vers les acides. Nous avons abordé ce sujet dans le chapitre III (voir C.4.4.4, page 191) et proposons l'obtention des composés R-CO-SR' (R,R'=H, alkyle ou aryle) *via* un processus organométallique.

G. Wächtershäuser propose que le cycle primitif réducteur de l'acide citrique soit en fait constitué d'une série de boucles homologues imbriquées entre elles (*cf.* Figure IV - 23, page 240, et Figure IV - 25, page 242). Ces dernières permettraient, d'après l'article de Wächtershäuser G. - 1990a, d'obtenir théoriquement des diacides et des cétodiacides de toutes longueurs. Cette hypothèse semble intéressante puisqu'elle pourrait, éventuellement, expliquer la présence des diacides non marqués au ¹³C, de l'acide oxalique à hexanoïque, que nous avons observés lors des essais en présence de méthanal portant un ¹³C (voir Figure IV - 11, page 226, et la discussion à ce propos, page 231).

Cependant il apparaît clairement que cette voie, telle qu'elle est présentée dans la Figure IV - 26 (page 242), devrait nécessairement faire intervenir des réactions de double carbonylation, comme nous l'avons déjà discuté dans la section ci-dessus consacrée aux cétoacides et d'après ce que nous savons de la nature des réactions se produisant lors de nos expériences (*cf.* chapitre III). Or ces réactions de double carbonylation sont très défavorisées (voir page 219). Il en résulte que le processus présenté dans la Figure IV - 25 (page 242) et la Figure IV - 26 nous semble peu plausible en l'état. Ainsi, d'autres voies doivent être considérées pour la synthèse des diacides carboxyliques et nous en avons évoquées précédemment (*cf.* Figure IV - 10, page 224, et Figure IV - 22, page 239).

B.3 Conclusions

Au cours de nos recherches sur la synthèse de composés poly-fonctionnalisés et lors d'une expérience mettant en jeu du thiophénol dans les conditions de simulation hydrothermale habituelles (CO, H₂S, NiS, en milieu aqueux), nous avons pu mettre en évidence la formation de l'acide 2-phénylthioacétique. La formation de ce composé ouvre la voie à un processus de formation d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en α .

Nous avons également mis en évidence la présence de l'acide 2-phénylthioacétique portant un atome de ¹³C lors d'une expérience impliquant le méthanal marqué au ¹³C. Sur la base des résultats obtenus lors de cet essai, nous envisageons une voie réactionnelle expliquant la formation de l'acide 2-phénylthioacétique à partir du formaldéhyde et impliquant l'insertion de CO au niveau de liaisons C-S de dithioacétals comme étape clé de formation de liaisons carbone-carbone. Les dithioacétals sont en fait formés comme intermédiaires réactionnels de la synthèse de l'acide 2-phénylthioacétique par réaction entre le formaldéhyde et des thiols présents dans le milieu réactionnel.

Le mécanisme de formation de l'acide 2-phénylthioacétique à partir du méthanal pourrait, en partant de n'importe quel aldéhyde, conduire à des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2. Or, nous savons que les processus d'homologation que nous avons mis en évidence dans le chapitre III permettent, en principe, la formation d'aldéhydes de toutes longueurs dans les conditions mises en œuvre lors de nos expériences. De manière générale, ces composés bi-fonctionnalisés pourraient constituer des précurseurs de produits d'intérêt prébiotique tels que les acides aminés, par substitution de la fonction soufrée par une amine. Ils pourraient également conduire à des diacides carboxyliques de différentes longueurs par des réactions de formation de liaisons C-C et d'élongation de chaîne démarrant au niveau de la fonction soufrée située en α de l'acide carboxylique, comme nous l'avons présenté dans le chapitre III. A cet égard, nous avons envisagé que les diacides carboxyliques que nous avons observés lors des expériences présentées dans la partie B de ce chapitre auraient effectivement pu être formés par de tels processus. Cependant l'absence de marquage au ¹³C des diacides, lors des essais impliquant le formaldéhyde marqué au ¹³C, nous conduit à considérer les diacides détectés mais non marqués comme d'éventuelles pollutions, à moins qu'un processus différent, mais sans doute peu probable, puisse expliquer leur formation sans passer par des aldéhydes comme intermédiaires. Cette hypothèse pourrait être testée à l'aide d'expériences mettant en jeu, par exemple, ¹³CO₂, ¹³CO ou ¹³COS.

Par ailleurs, des expériences ont été réalisées en utilisant l'acide mercaptoacétique comme substrat dans le but de tester cette hypothèse. Cependant, la formation de diacides carboxyliques ou de composés homologues de l'acide mercaptoacétique n'a pas été observée. Ainsi, à ce stade, nous émettons encore quelques réserves concernant le mécanisme d'élongation de chaînes appliqué aux dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2.

D'autre part, sur la base de nos connaissances en chimie organométallique et en nous référant au processus de formation de liaisons C-C présenté dans le chapitre III, nous proposons un

mécanisme de formation de l'acide oxalique qui ne fait pas intervenir d'aldéhyde et qui ne nécessite pas de double carbonylation au sens propre du terme.

Enfin, dans la dernière partie de cette section B (B.2.4), nous avons évalué le mode de formation de composés bi-fonctionnalisés dans les conditions régnant au niveau des sources hydrothermales suggéré par G. Wächtershäuser, notamment. Wächtershäuser G. - 1990a avait, en effet, proposé une série de mécanismes théoriques pour la formation de composés bi-fonctionnalisés, tels que des cétoacides et des diacides, qui interviendraient au niveau d'un cycle auto-catalytique primitif, le cycle réducteur de l'acide citrique. A la lumière des processus de formation de liaisons C-C que nous avons pu mettre en évidence, il semble, néanmoins, que les réactions proposées par cet auteur et susceptibles de conduire à des composés bi-fonctionnalisés devraient nécessairement faire intervenir des réactions de double carbonylation. Or, ces réactions sont en principe très défavorisées.

Cependant, nous proposons un mode de formation de cétoacides, qui serait compatible avec la nature des réactions de formation de liaisons C-C mises en évidence dans le chapitre III, et qui ne ferait pas intervenir de réactions de double carbonylation. Ce processus doit toutefois être testé.

Ainsi, des variantes du cycle catalytique de formation de liaisons C-C, présenté dans le chapitre III, sont envisageables et soulignent le fort potentiel de la chimie organométallique des sulfures de métaux pour la chimie prébiotique.

C. Formation prébiotique d'acides aminés dans des conditions simulant celles des fumeurs noirs

La découverte de la synthèse de dithioacétals, de la possibilité de réaliser des réactions d'insertion de CO au niveau des liaisons C-S de ces composés, mais surtout de la formation de l'acide 2-phénylthioacétique présentée dans la partie B (voir B.1.1, page 214), ouvre la voie à la formation de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2, mais également à celle des acides aminés.

Nous présenterons dans cette partie les résultats d'un essai très concluant qui a permis de synthétiser la glycine, acide aminé le plus simple, dans un flacon en verre, dans les conditions réactionnelles standards de nos expériences de simulation, en présence de formaldéhyde marqué au ^{13}C et d'une source azotée. Plusieurs voies réactionnelles seront proposées pour la formation de la glycine à partir du formaldéhyde. Ces mécanismes seront discutés sur la base d'expériences faisant intervenir successivement le méthanal marqué au ^{13}C , le dithioacétal $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-CH}_2\text{-S-C}_6\text{H}_5$ et le N,S-acétal $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-CH}_2\text{-NC}_5\text{H}_{10}$.

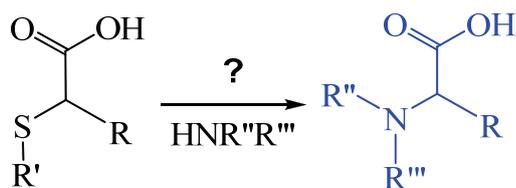
Nous présenterons également, sur la base de nos résultats, un processus prébiotique potentiel innovant, permettant de synthétiser des acides aminés de toutes tailles et de toutes formes, à partir de CO et d'une source azotée, en présence de sulfures de nickel, dans des conditions hydrothermales.

C.1 Observation d'un acide aminé lors d'une expérience de simulation impliquant une source azotée

C.1.1 Voies possibles de formation d'acides aminés dans des conditions simulant celles régnant au niveau des fumeurs noirs

Les conditions opératoires appliquées jusqu'à présent pour des expériences en flacon Sovirel, c'est à dire 20mL d'eau, environ 1mmol de thiol, le thiophénol essentiellement, 1mmol de NiS ou Ni(0), 1bar de CO, 0,25mmol de H_2S formé *in situ* et un pH légèrement acide, à 50°C, pendant 4jours, permettent indéniablement d'obtenir des composés d'intérêt prébiotique et ouvrent la voie à des processus qui pourraient s'avérer cruciaux pour la synthèse d'acides aminés.

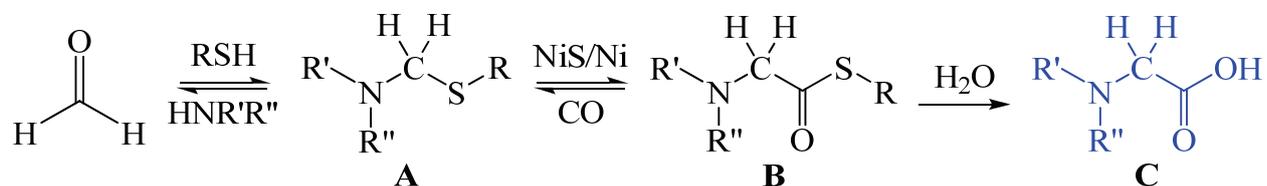
Nous considérons, en effet, que les dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 (tels que l'acide 2-phénylthioacétique) peuvent être des précurseurs potentiels d'acides aminés, car à première vue, il suffirait de remplacer la fonction thiol ou sulfure par une fonction amine (Figure IV - 29, page 250).



$\text{R}, \text{R}', \text{R}'', \text{R}''' = \text{H}, \text{alkyle}, \text{aryle}$

Figure IV - 29 - Voie possible de synthèse d'acides aminés dans les conditions régnant au niveau des fumeurs noirs par réaction de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 avec des composés azotés (substitution).

D'autre part, la possibilité de réaliser, dans les conditions de nos expériences de simulation, une insertion de carbonyle au niveau des liaisons C-S de composés de type dithioacétals, comme le suggèrent les résultats présentés dans la première partie de ce chapitre, laisse envisager qu'une telle réaction soit également possible au niveau de composés de type N,S-acétals. Ces composés sont formés par réaction entre un aldéhyde, une amine (ou NH_3) et un thiol (composés A, Figure IV - 30). La carbonylation de la liaison C-S de N,S-acétals ouvrirait également une voie vers la synthèse des acides aminés, comme le propose la Figure IV - 30, qui présente l'exemple d'une réaction de formation d'acides aminés mettant en jeu un N,S-acétal dérivé du formaldéhyde. Ainsi, une insertion de CO dans la liaison C-S du composé A pourrait conduire tout d'abord à un thioester (B) puis, après hydrolyse, à un acide aminé (C).



$\text{R} = \text{H}, \text{alkyle}, \text{aryle}$

Figure IV - 30 - Voie possible de synthèse d'acides aminés à partir d'aldéhydes faisant intervenir des N,S-acétals.

Sur la base de ces considérations et des résultats présentés dans la première moitié de ce chapitre, on peut envisager un ensemble de processus conduisant aux acides aminés, illustré dans la Figure IV - 31 et qui commencerait évidemment par la synthèse de la glycine. Dans cette figure, les voies I, a, II, III et VII sont connues pour fonctionner dans nos conditions expérimentales et ont été étudiées dans le chapitre III et dans la partie B.1.1. Par ailleurs, la formation des N,S-acétals (V) par réaction d'aldéhydes avec un thiol et une amine est bien connue. Nous avons d'ailleurs mis en œuvre cette réaction pour la synthèse de la 1-(phénylthiométhyl)pipéridine que nous avons utilisée comme substrat pour une expérience de simulation (voir Chapitre II :E.2.2.6, page 112 et Chapitre IV :C.2.2.2, page 268). Dans la mesure où nous avons montré qu'en principe des aldéhydes de toutes longueurs peuvent être formés par homologation (*cf.* chapitre III) dans les conditions de nos expériences de simulation,

les processus présentés dans la Figure IV - 31 pourraient conduire, en plus de la glycine qui dériverait du formaldéhyde, à des acides aminés possédant des chaînes alkyles diverses.

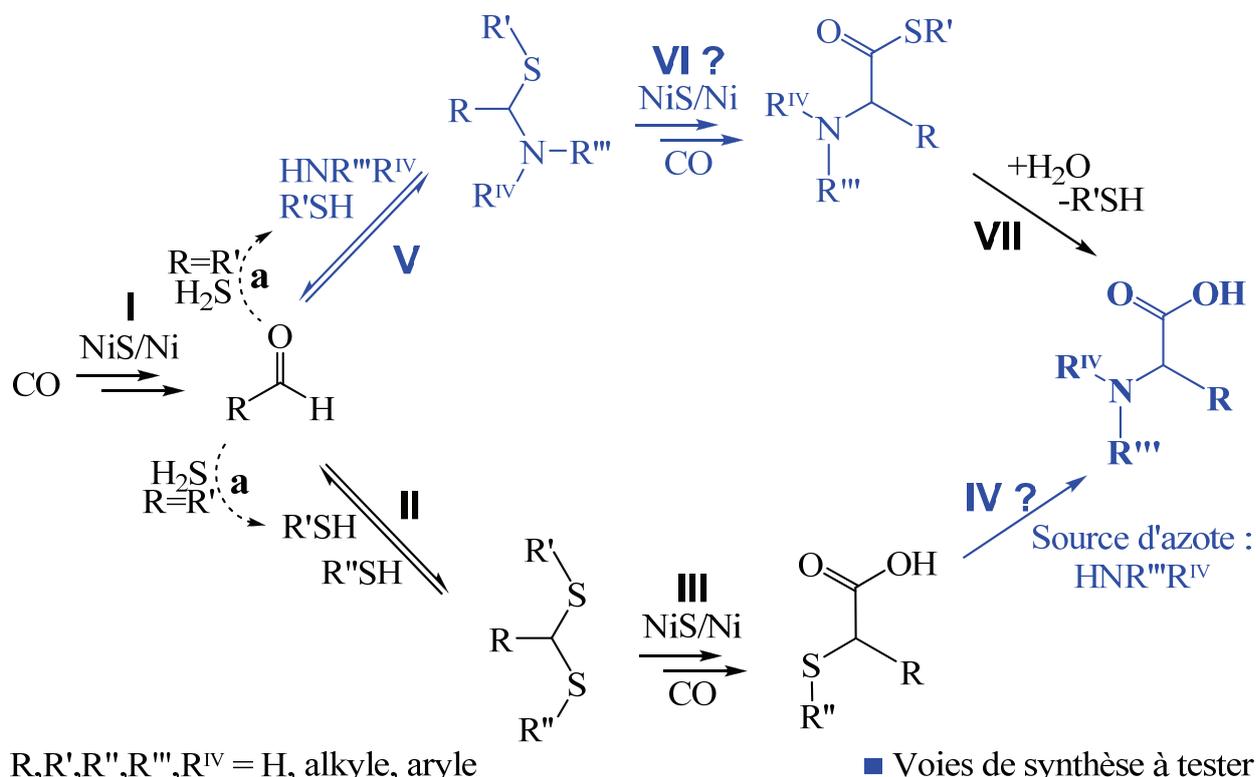


Figure IV - 31 - Voie possible de synthèse d'acides aminés faisant intervenir des dithioacétals ou des N,S-acétals dans les conditions réactionnelles choisies pour simuler celles des fumeurs noirs

C.1.2 Mise au point des conditions opératoires pour la réalisation d'expériences de simulation visant à tester notre hypothèse de formation d'acides aminés dans le contexte des sources hydrothermales

Comme nous l'avons vu dans le chapitre I (E.4, page 46), à notre connaissance, aucune des conditions mises en œuvre au cours d'expériences de simulation réalisées dans le contexte de la chimie prébiotique, dans le but de former des acides aminés, n'est en réelle adéquation avec les conditions supposées avoir régné aux alentours des fumeurs noirs. En effet, les réactifs utilisés sont assez souvent peu prébiotiquement vraisemblables. De plus, les conditions de pression et de températures ainsi que les concentrations en réactifs sont parfois trop élevées.

Parmi les recherches qui ont été effectuées dans le domaine de la synthèse prébiotique d'acides aminés dans l'eau, les réactifs utilisés lors des expériences de simulations sont ceux de la liste suivante : formaldéhyde, hydroxylamine, cyanure d'hydrogène, méthane, dioxyde de carbone, monoxyde de carbone, carbonate d'ammonium, hydrogénocarbonate d'ammonium, acide formique, formiate d'ammonium, chlorure d'ammonium et hydroxyde d'ammonium.

Il est certain qu'il est nécessaire d'impliquer à la fois une source carbonée et une source d'azote au cours d'expériences destinées à former des acides aminés. Comme nous l'avons

évoqué dans le premier chapitre, les fluides émis par les actuels fumeurs noirs sont principalement constitués de CO₂ et H₂S, éventuellement de quantités plus faibles de CO, COS, CH₄ et H₂, enfin parfois de très petites quantités de NH₃ (*cf.* page 24 et Merlivat L. *et al.* - 1987).

C.1.2.1 Choix de la source carbonée et d'éventuels substrats organiques

Étant donné que les conditions que nous avons choisies pour simuler celles autour des cheminées de fumeurs noirs apparaissent prébiotiquement acceptables et efficaces pour la synthèse de chaînes hydrocarbonées mono- ou poly-fonctionnalisées, nous les conservons pour la suite des expériences destinées à synthétiser des acides aminés (20mL d'eau, 1mmol de NiS ou Ni(0), 1bar de CO, 0,25mmol de H₂S formé *in situ* et un pH légèrement acide, à 50°C, pendant 4jours).

Choix de CO comme source carbonée

Ainsi, nous maintenons l'utilisation de CO, car il demeure la source carbonée constante de nos expériences en autoclave comme en réacteur en verre, et puisqu'il s'agit d'une des molécules mono-carbonées les plus simples et les plus vraisemblables sur la Terre (avec CO₂). En outre, il a été prouvé que CO est obtenu à partir de CO₂, élément constituant indéniablement les fluides hydrothermaux, par la réaction de gaz à l'eau (voir Réaction IV - 4 et chapitre I). Enfin, Dubant S. - 2004 a démontré que CO est plus efficace que CO₂ dans la synthèse de chaînes hydrocarbonées fonctionnalisées.



Réaction IV - 4 - Formation de CO par la réaction de gaz à l'eau

Implication du thiophénol

De plus, comme le mécanisme de formation des acides aminés que nous postulons (Figure IV - 31, page 251) fait intervenir des composés de type dithioacétals ou N,S-acétals, la présence d'un thiol dans le mélange réactionnel est nécessaire. Bien que dans nos expériences de simulation mettant en jeu CO, divers thiols soient synthétisés (*cf.* chapitre III et voir a Figure IV - 31), il nous a néanmoins semblé judicieux d'en rajouter spécifiquement un lors de nos essais visant à la formation d'acides aminés.

Nous avons choisi pour des raisons de commodité (voir ci-dessous) d'utiliser C₆H₅SH dans nos essais de synthèse d'acides aminés, similairement aux expériences de simulations en réacteurs en verre présentées précédemment, cela bien que le méthanthiol ou tout autre alkylthiol pouvant être synthétisés dans des conditions hydrothermales prébiotiques pourraient convenir.

Nous rappelons que l'utilisation d'un tel thiol à six carbones n'est pas totalement vraisemblable mais qu'elle présente un intérêt pour la réalisation d'expériences en réacteur en verre. En effet, le thiophénol étant moins volatil que CH₃SH, C₂H₅SH ou C₃H₇SH, les pertes en produits réactionnels par évaporation, lors des manipulations des réactifs puis du milieu

réactionnel final, sont minimisées et les analyses en CG/SM classique (aliquotes liquides extraits, dérivés) sont également facilitées.

Utilité du formaldéhyde marqué au carbone 13

Sachant que nous avons observé l'acide 2-phénylthioacétique au cours d'expériences en flacons Sovirel faisant intervenir CO, H₂S, NiS, C₆H₅SH et du formaldéhyde, mais également sans avoir ajouté de formaldéhyde (en principe formé *in situ* comme nous l'avons montré dans le chapitre III), l'ajout de ce dernier parmi les réactifs d'une expérience destinée à former des acides aminés (la glycine en particulier) n'est en principe pas nécessaire. Cependant, dans le cadre d'expériences destinées à tester l'hypothèse de la formation d'acides aminés présentée dans la Figure IV - 31 (page 251), il peut être avantageux d'ajouter une certaine proportion de formaldéhyde sous forme marquée au ¹³C.

En effet, l'ajout de formaldéhyde marqué au ¹³C nous a permis auparavant de démontrer que l'acide 2-phénylthioacétique, dont la formation a été mentionnée dans la première partie de ce chapitre, est affilié au méthanal (voir B.1.1, page 214, et B.2.2, page 225). Nous rappelons que dans ce cas, les dithioacétals et l'acide portant une fonction soufrée en α étaient tous marqués au carbone 13. Par conséquent, de façon logique, l'utilisation de méthanal portant un ¹³C nous apparaît intéressante, de façon à obtenir un acide aminé (en l'occurrence, la glycine) marqué lui aussi, si le mécanisme que nous prévoyons dans la Figure IV - 31 (page 251) est bien impliqué. De plus, l'utilisation de méthanal marqué offre également l'atout de différencier les molécules réellement produites *in situ* des éventuelles pollutions.

Nous allons par conséquent investiguer la nouvelle voie réactionnelle présentée dans la Figure IV - 31 (page 251), impliquant le formaldéhyde et semblant prometteuse pour la formation d'acides aminés d'après nos premiers résultats sur les composés bi-fonctionnalisés. Dans la mesure où nous ajoutons du formaldéhyde marqué comme substrat, il est probable que, si des acides aminés sont formés, nous obtenions essentiellement de la glycine. La formation d'acides aminés tels que l'alanine ou même des homologues supérieurs est évidemment possible. Elle impliquerait en fait des aldéhydes homologués, synthétisés selon le processus d'élongation de chaînes que nous avons étudié dans le chapitre III, en passant par le méthanthiol formé par sulfuration réductrice du formaldéhyde. Au final, la synthèse des acides aminés autres que la glycine dépend de l'efficacité du processus d'élongation.

C.1.2.2 Choix de la source azotée

Dans le cadre d'expériences ayant pour objectif la formation d'acides aminés, il est évident qu'un produit portant un azote doit être ajouté parmi les réactifs. Nous en venons alors aux choix de la source azotée.

Possibilité d'utiliser HCN

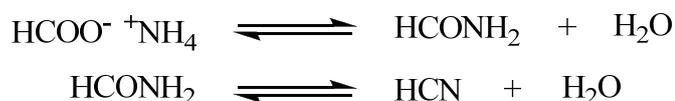
Nous avons envisagé la possibilité d'utiliser HCN en tant que source de carbone et d'azote. En effet, cela ferait deux fonctions chimiques en une seule molécule, et plusieurs chercheurs ont succombé à la tentation du choix de HCN, NaCN ou KCN (Oro J. - 1961, Oro J. & Kamat S.S. -

1961, Oro J. & Kimball A.P. - 1962, Lowe C.U. *et al.* - 1963, Ferris J.P. *et al.* - 1973b, Ferris J.P. *et al.* - 1973a, Ferris J.P. *et al.* - 1974, Hennet R.J.C. *et al.* - 1992, Marshall W.L. - 1994 et Huber C. & Wächtershäuser G. - 2006).

Il a d'une part été proposé que HCN se serait formé dans l'atmosphère lors de décharges électriques appliquées à un mélange gazeux contenant N₂ et CH₄ et que des pluies en auraient entraîné et dissout une partie dans les océans (Rauchfuss H. - 2008a). Cependant, l'origine de HCN suggérée nécessite une atmosphère réductrice. De plus, Kasting J.F. & Brown L.L. - 1998 ont mentionné le fait que HCN n'est pas observé lors d'expériences impliquant N₂ et CO₂, et est notamment remplacé par NO. Ainsi, l'idée d'une source atmosphérique de HCN est d'après nous à évincer, dans les conditions d'une atmosphère primitive neutre ou légèrement oxydante.

En outre, Chyba C. & Sagan C. - 1992 ont suggéré que du HCN aurait été produit dans l'espace et importé sur la jeune Terre lors des bombardements de celle-ci par des objets extraterrestres. Toutefois, à notre connaissance aucun mécanisme n'a été proposé pour la formation extraterrestre du cyanure d'hydrogène et comme nous l'avons déclaré dans le chapitre I, nous n'adhérons pas à la théorie de l'importation sur la Terre primitive de molécules organiques prébiotiques extraterrestres.

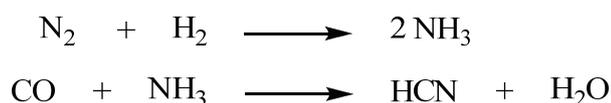
D'autre part, A. Aubrey a proposé la formation de HCN à partir du formiate d'ammonium par libération de deux molécules d'eau, comme l'illustrent les réactions suivantes Aubrey A.D. *et al.* - 2009.



Réaction IV - 5 - Proposition pour la formation de HCN

NH₄HCO₂ proviendrait de la réaction de NH₃ avec HCOOH. L'acide formique est d'ailleurs présent dans les fluides issus de la serpentinisation (*cf.* chapitre I, page 28), et sa formation a également été prouvée lors de nos essais en laboratoire (voir chapitre III, page 136). Enfin, il est surtout évident que les équilibres ci-dessus sont très déplacés vers la gauche dans l'eau et que très peu de HCN peut être généré de cette façon.

Par ailleurs, Mukhin L.M. - 1974 et Wächtershäuser G. - 2007 ont proposé la formation de HCN au sein des systèmes hydrothermaux par réaction de CO et NH₃, ce dernier étant produit préalablement par réaction de N₂ avec H₂, de la façon suivante.



Réaction IV - 6 - Autre proposition pour la synthèse de HCN

D'après l'article de Wächtershäuser G. - 2007, ces réactions seraient peut-être favorisées par séquestration de CN au sein de complexes de métaux de transition tels que Ni(CN)₂. Nous pouvons concevoir que de petites quantités de dihydrogène et de diazote soient présentes dans les flux hydrothermaux. L'atmosphère primitive étant composée de N₂ et CO₂, une faible

proportion de N₂ était logiquement dissoute dans les océans. De plus, Merlivat L. *et al.* - 1987 ont relaté que NH₃ a parfois été observé en très faibles proportions dans les fluides de fumeurs noirs contemporains et il est, d'après nous, envisageable que les quantités de NH₃ aient été plus importantes au niveau des sources hydrothermales primitives. La production de HCN dépendrait donc de l'existence de NH₃. Mais fondamentalement, il s'agirait d'une réaction peu favorisée, car la libération d'une molécule d'eau est nécessaire alors que l'on est en milieu aqueux, même dans le cas de la formation de complexes organométalliques.

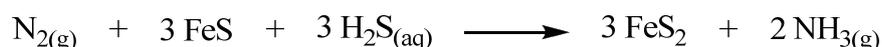
En conséquence, HCN ne nous semble pas incontestablement prébiotiquement vraisemblable, que ce soit dans l'espace, dans l'air ou dans l'eau, et plus particulièrement dans le contexte des sources hydrothermales. Ainsi, nous avons préféré considérer d'autres sources d'azote pour des expériences de simulations hydrothermales.

L'hydroxylamine ne possède pas non plus de caractère prébiotique et a été très peu utilisée par les chimistes prébioticiens. En effet, seuls Oro J. *et al.* - 1959 et Kamaluddin Y.H. & Egami F. - 1979 ont mentionné cette source azotée, d'après nos recherches bibliographiques.

Choix de NH₄⁺

Le couple NH₄⁺/NH₃ nous paraît convenir le mieux à des expériences de simulation prébiotiques. Ne perdant pas de vue que les mesures effectuées sur les fluides émis par des fumeurs noirs contemporains ont montré que NH₃ n'y est pas systématiquement observé et dans les cas positifs dans de petites quantités, mais que nous n'excluons pas que NH₃ ait été présent en proportions plus importantes au fond des océans primitifs, nous nous sommes intéressés à la fixation de l'azote atmosphérique N₂ dans les océans primitifs, c'est-à-dire à comment le diazote passe en solution et sous quelle forme.

Wächtershäuser G. - 1988 a proposé théoriquement la réduction du diazote en ammoniacque par le système FeS/H₂S et Dorr M. *et al.* - 2003 ont confirmé expérimentalement sa théorie. La formation de NH₃ suggérée par Wächtershäuser G. - 1988 et Dorr M. *et al.* - 2003 est illustrée par la Réaction IV - 7.

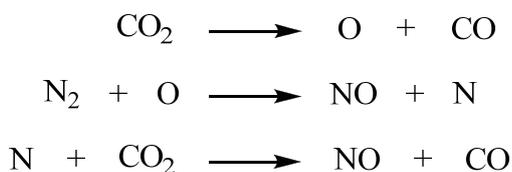


Réaction IV - 7 - Transformation du diazote en ammoniacque induite par le système FeS/H₂S

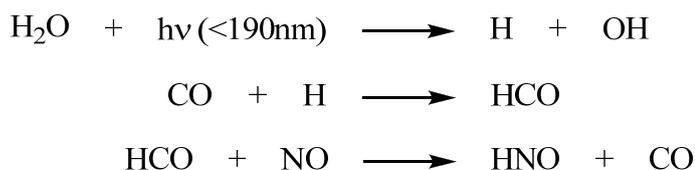
N₂ atmosphérique dissous dans certaines proportions dans les océans primitifs aurait pu, au niveau des sources hydrothermales, à l'état liquide ou gazeux selon la température locale, entrer en contact avec des particules de FeS, et y aurait été réduit en présence de H₂S. Le facteur limitant de cette théorie est toutefois la solubilité du diazote atmosphérique dans les océans de la jeune Terre. Étant donné que les conditions atmosphériques, océaniques et volcaniques étaient différentes de celles d'aujourd'hui, il est envisageable que des quantités de NH₃ plus importantes que celles mesurées récemment existaient dans les fluides hydrothermaux.

D'autre part, Mancinelli R.L. & McKay C.P. - 1988 et Ducluzeau A.L. *et al.* - 2009 proposent que le diazote atmosphérique aurait d'abord été converti en NO (voir Réaction IV - 8, page 256) puis HNO, (*cf.* Réaction IV - 9, page 256) notamment par des réactions provoquées par des impacts de météorites ou des décharges électriques, dans l'atmosphère primitive non

réductrice, par des réactions thermiques au sein de gaz volcaniques à haute température et par des réactions photochimiques (rayons ultraviolets).

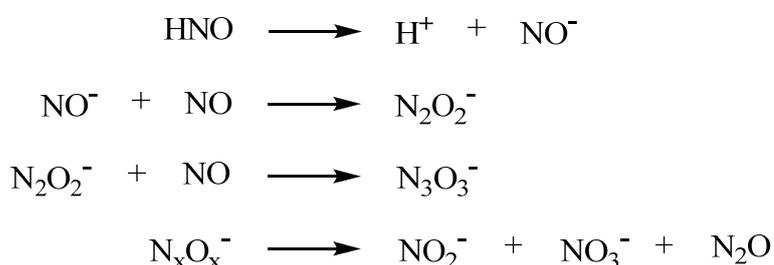


Réaction IV - 8 - Formation de NO dans l'atmosphère primitive constituée de CO₂ et N₂, d'après Ducluzeau A.L. et al. - 2009



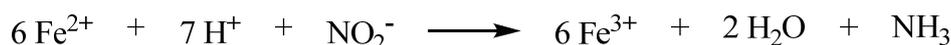
Réaction IV - 9 - Synthèse photochimique de HNO selon Ducluzeau A.L. et al. - 2009

Ensuite, comme l'illustre la Réaction IV - 10, les radicaux HNO auraient été convertis en ions nitrates NO₃⁻, en nitrites NO₂⁻ et en oxyde nitreux N₂O. L'élément azote aurait alors pu intégrer les océans primitifs sous la forme de pluies acides, constituées d'acide nitrique et d'acide nitreux. N₂O serait quant à lui retourné dans l'atmosphère.



Réaction IV - 10 - Formation de nitrates et nitrites dans l'eau mentionnée par Ducluzeau A.L. et al. - 2009

Enfin, Blöchl E. *et al.* - 1992, Summers D.P. & Chang S. - 1993, Brandes J.A. *et al.* - 1998 et Summers D.P. - 2005 ont proposé que les nitrates et nitrites puissent être réduits en ammoniac, par les ions Fe²⁺ (voir Réaction IV - 11) ou par des sulfures de métaux de transition, comme la pyrrhotite, la pyrite *etc.*, la présence de H₂S étant facultative.



Réaction IV - 11 - Exemple de réduction des nitrates en ammoniac par les ions ferreux publiée par Summers D.P. & Chang S. - 1993

Nous concluons de ces diverses découvertes sur la formation prébiotique de NH₃ dans les océans primitifs, qu'il y avait probablement de l'ammoniac dans l'hydrosphère de la jeune Terre, sous la forme NH₃ ou NH₄⁺ selon le pH. Certes, il a sûrement fallu beaucoup de temps pour atteindre des concentrations raisonnables et suffisantes pour des réactions permettant la

genèse des acides aminés. Mais il est indéniable qu'à un moment au cours de l'évolution chimique l'azote ait pu entrer dans des processus de chimie prébiotique.

Par conséquent, nous avons choisi d'introduire NH_4Cl comme source azotée dans nos essais destinés à synthétiser des acides aminés, dans l'eau et en présence de CO , NiS ou $\text{Ni}(0)$ et H_2S .

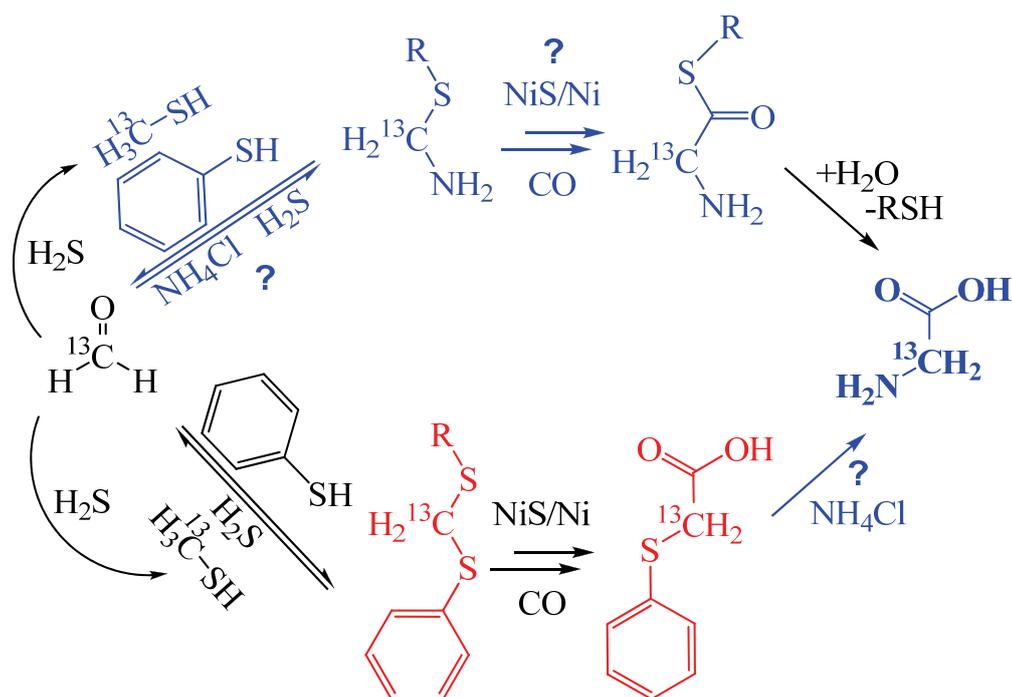
C.1.2.3 Conditions réactionnelles choisies pour la synthèse d'acides aminés dans les conditions supposées avoir régné au niveau des fumeurs noirs primitifs

Un essai en laboratoire destiné à synthétiser des acides aminés, impliquant CO , $\text{Ni}(0)$, H_2S formé *in situ*, H^{13}CHO , NH_4Cl et $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, a ainsi été réalisé en réacteur en verre de 50mL. Pour le reste des conditions expérimentales, comme pour les essais présentés dans le chapitre précédent, nous avons conservé un pH initial légèrement acide, proche de la neutralité, une température de 50°C et une pression atmosphérique. En fait, nous devons choisir une température inférieure à 100°C , car Bernhardt G. *et al.* - 1984, Miller S.L. & Bada J.L. - 1988, Bada J.L. *et al.* - 1995 et Levy M. & Miller S.L. - 1998 ont démontré que les acides aminés sont instables à hautes températures et pressions. De plus, pour des raisons matérielles, nous préférons une température de 50°C pour l'utilisation de réacteurs Sovirel (voir chapitre III, page 146).

C.1.3 Résultats obtenus lors d'une expérience de simulation visant à tester notre hypothèse de formation d'acides aminés dans le contexte des sources hydrothermales : synthèse de la glycine

C.1.3.1 Voies de synthèse attendues pour la glycine

Pour l'expérience réalisée dans les conditions présentées ci-dessus, nous attendons la formation de dithioacétals, de N,S-acétals (et produits azotés apparentés), de l'acide 2-phénylthioacétique et de la glycine, comme illustré dans la Figure IV - 32 (page 258). Tous les produits et intermédiaires réactionnels devraient d'après ce mécanisme prévisionnel être marqués au carbone 13. Il n'est pas exclu que d'autres composés puissent intervenir comme précurseurs directs de l'acide aminé plutôt que l'acide 2-thiophénylacétique. C'est le cas, par exemple, de l'acide mercaptoacétique qui pourrait tirer son origine de l'hydrolyse de $\text{H}_3\text{C}_6\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-S-}^{13}\text{CH}_2\text{-COOH}$, un produit que nous avons également mis en évidence (voir B.2.2.1, Figure IV - 11, page 226, et Figure IV - 15, page 230), ou bien résulter de la substitution du groupement thiophényle par un groupement SH au niveau de l'acide 2-thiophénylacétique. Ce point sera discuté plus loin.



R = H, alkyle, aryle ■ Produits observés ■ Voies de synthèse à tester

Figure IV - 32 - Voies de synthèse attendues pour la glycine dans les conditions réactionnelles choisies (Ni(0), CO, H₂S, ¹³CH₂O, C₆H₅SH et NH₄Cl)

C.1.3.2 Mise en évidence de composés marqués au ¹³C

Nous rappelons que le milieu réactionnel issu de l'expérience réalisée en flacon Sovirel en verre (50mL) avec les sources carbonées CO et H¹³CHO, la source azotée NH₄Cl, et en présence de C₆H₅SH et de Ni(0) a été filtré et extrait avec du dichlorométhane. L'extrait organique en résultant a été concentré et analysé en CPG et CG/SM. La phase aqueuse restante a été quant à elle traitée (après élimination de l'eau) avec un mélange de butanol/HCl (1,5mol/), puis avec de l'anhydride trifluoroacétique, dans le but d'estérifier les éventuelles fonctions acides et de dériver les potentielles amines, donc particulièrement de dériver les acides aminés attendus.

Nous avons mis en évidence la formation de la glycine de façon indéniable dans la fraction aqueuse, puisque l'acide aminé porte un atome de ¹³C (voir le composé entouré Figure IV - 33, page 259, et le spectre de masse Figure IV - 34, page 260). L'éventuelle présence de ce nouveau composé d'intérêt en tant que pollution extérieure est en effet rejetée. En outre, nous avons observé, dans la même fraction, l'acide 2-phénylthioacétique marqué au ¹³C sous la forme de l'ester butylique correspondant (voir Figure IV - 33).

Dans la fraction obtenue par extraction au solvant organique, nous avons identifié les dithioacétals marqués, ainsi que des produits non marqués dérivant du thiophénol, notamment le diphénylsulfure et le diphényldisulfure (voir Figure IV - 35, page 260).

Nous avons procédé de la façon habituelle pour l'identification des produits d'intérêt. Ainsi, les composés indiqués dans les figures suivantes ont été identifiés à l'aide de leurs spectres de masse en impact électronique (fragments caractéristiques) et en ionisation chimique (ions pseudomoléculaires M+1). Le dérivé de la glycine portant un atome de ¹³C, tout nouveau produit observé, a été quant à lui caractérisé par comparaison de ses données de spectrométrie de masse

et de son comportement chromatographique (temps de rétention et co-injection en CPG) avec ceux du dérivé de la glycine non marquée, synthétisé par réaction de glycine commerciale avec le mélange butanol/HCl, puis avec de l'anhydride trifluoroacétique (voir Chapitre II :E.2.2.2, page 109).

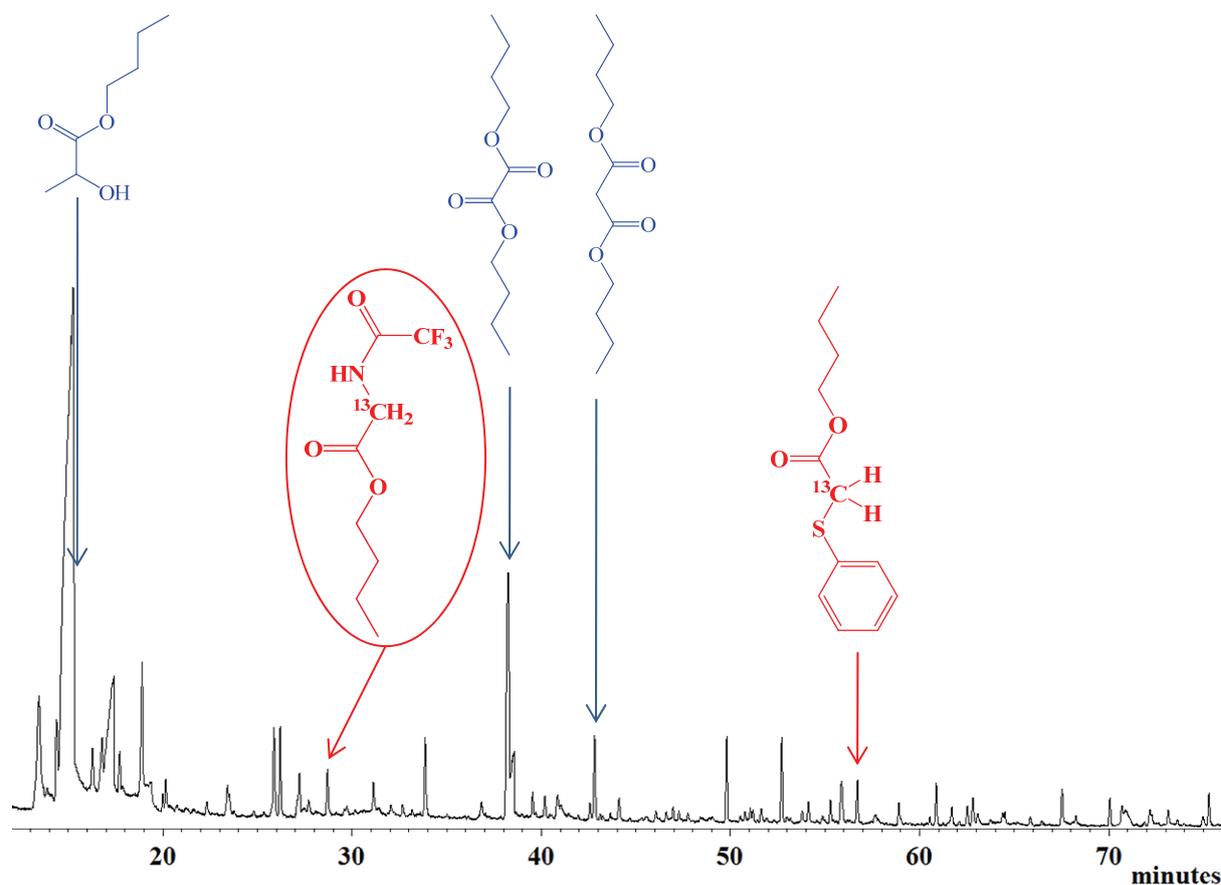


Figure IV - 33 - Chromatogramme en phase gazeuse des constituants de la fraction aqueuse dérivée (butanol/HCl et anhydride trifluoroacétique) issue d'une expérience en flacon Sovirel impliquant du thiophénol, du chlorure d'ammonium et du formaldéhyde marqué au ^{13}C (1mmol $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, $3 \cdot 10^{-4}$ mol NH_4Cl , 1,5mmol H^{13}CHO , 20mL H_2O , 1mmol $\text{Ni}(0)$, 2mmol Na_2S , CO , 3mmol HCl , 50°C , 4 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); $40\text{-}300^\circ\text{C}$ ($2^\circ\text{C}/\text{min}$); 300°C (25min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN). Composés marqués au ^{13}C en rouge, diacides et hydroxyacide en bleu.

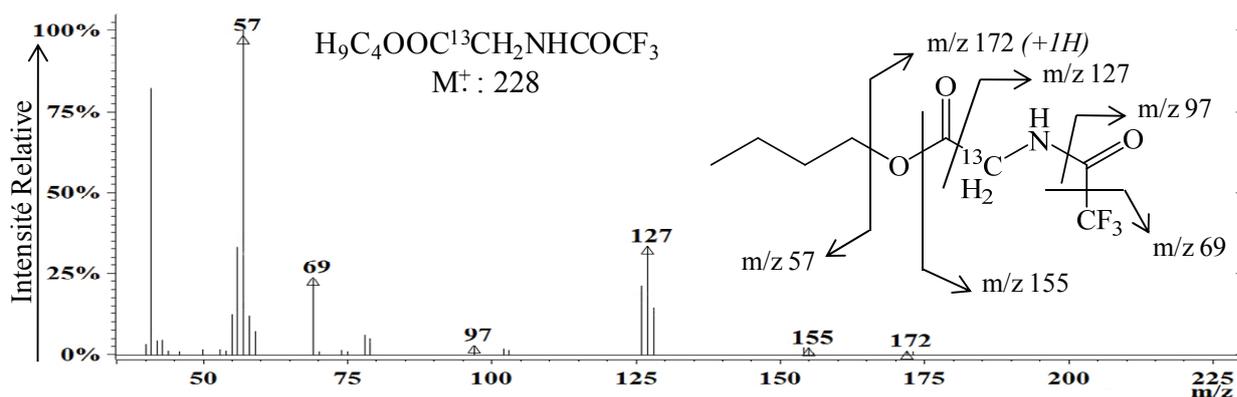


Figure IV - 34 - Spectre de masse du dérivé de la glycine (butanol/HCl et TFAA) marqué au ^{13}C observé par CG/SM et issu d'une expérience en flacon Sovirel impliquant du thiophénol, du chlorure d'ammonium et du formaldéhyde marqué au ^{13}C (1mmol $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, $3 \cdot 10^{-4}$ mol NH_4Cl , 1,5mmol H^{13}CHO , 20mL H_2O , 1mmol $\text{Ni}(0)$, 2mmol Na_2S , CO, 3mmol HCl, 50°C, 4 jours) (Colonne HP5, Impact Électronique, 70eV, logiciel MS Data Review VARIAN)

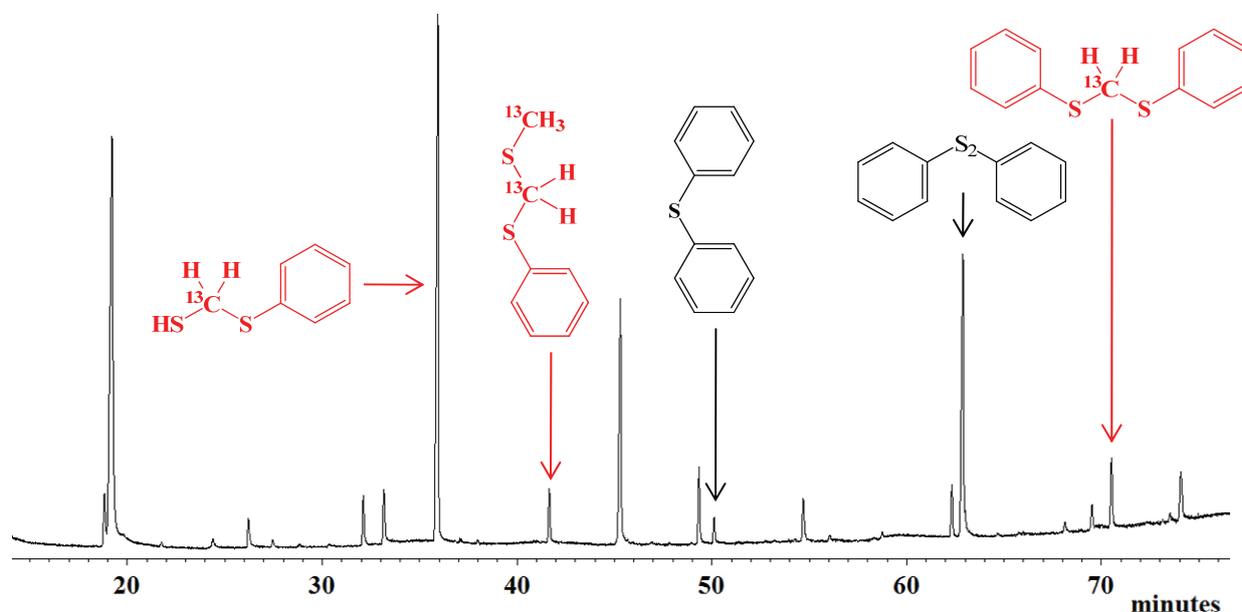


Figure IV - 35 - Chromatogramme en phase gazeuse des composés obtenus par extraction au solvant organique du mélange réactionnel provenant d'une expérience impliquant du thiophénol, du chlorure d'ammonium et du formaldéhyde marqué au ^{13}C (1mmol $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, $3 \cdot 10^{-4}$ mol NH_4Cl , 1,5mmol H^{13}CHO , 20mL H_2O , 1mmol $\text{Ni}(0)$, 2mmol Na_2S , CO, 3mmol HCl, 50°C, 4 jours) (Colonne HP5, 40°C (5min); 40-300°C (2°C/min); 300°C (25min)) (Extrait du RIC, logiciel MS Data Review VARIAN). Composés marqués au ^{13}C en rouge.

Dans les chromatogrammes de la Figure IV - 33 et de la Figure IV - 35, nous n'avons présenté que les composés d'intérêt dans le cadre de la synthèse de la glycine. Certains des pics non annotés n'ont d'ailleurs pas été parfaitement identifiés, mais semblent présenter des fragments caractéristiques du marquage au ^{13}C ou de la présence d'un atome d'azote (notamment pic moléculaire impair et fragments pairs). De plus, comme lors des autres essais en laboratoire, malgré tous nos efforts, des pollutions ont été constatées, notamment des esters d'acides

carboxyliques pairs à longues chaînes et des produits présentant du silicium, provenant probablement du matériel chromatographique (septum et colonne).

C.1.3.3 Discussion des résultats obtenus lors de l'expérience destinée à former des acides aminés et ayant conduit à la synthèse de la glycine

Difficultés à observer des composés aminés autres que la glycine

Nous n'avons pas pu identifier de composés portant une ou plusieurs fonctions azotées, à part la molécule de glycine. Il nous semblait pourtant logique d'un point de vue chimique que des molécules azotées, telles que des N,S-acétals ou les produits qui en dérivent présentés dans la Figure IV - 32 (page 258), soient synthétisées dans nos conditions opératoires. D'ailleurs, Wächtershäuser G. - 1990a avait également mentionné la possibilité de former des N,S-acétals (amines primaires) par réaction de carbonyles avec des thiols et de l'ammoniaque (voir Figure IV - 24, page 240).

Ces produits aminés ont été recherchés dans la fraction organique sous leur forme native et dans la phase aqueuse traitée sous la forme dérivée de trifluoroacétates. La recherche a été infructueuse dans les deux cas. Nous avons, cependant, quelques réserves au sujet des traitements et analyses effectués, qui pourraient expliquer pourquoi nous n'avons pu les mettre en évidence.

Alors que la phase organique extraite n'a pas été dérivée, si des produits de type $\text{H}_2\text{N}-^{13}\text{CH}_2\text{-SR}$ et $\text{H}_2\text{N}-^{13}\text{CH}_2\text{-CO-SR}$ sont solubles dans le dichlorométhane, il est possible que nous n'ayons pas pu les observer. En effet, les fonctions amines sont difficilement chromatographiables sur des colonnes capillaires apolaires (pics larges), lorsqu'elles ne sont pas dérivées, tout comme les acides carboxyliques.

En outre, en ce qui concerne les composés que l'on pouvait attendre dans la fraction aqueuse dérivée, tels que $\text{F}_3\text{C-CO-HN}-^{13}\text{CH}_2\text{-SR}$ ou $\text{F}_3\text{C-CO-HN}-^{13}\text{CH}_2\text{-CO-SR}$, il est possible que le traitement par le mélange butanol/HCl pour l'estérification des éventuels acides, précédant la dérivation des amines par l'acide trifluoroacétique, ait conduit à la dégradation des produits $\text{H}_2\text{N}-^{13}\text{CH}_2\text{-SR}$ ou $\text{H}_2\text{N}-^{13}\text{CH}_2\text{-CO-SR}$. En effet, il est probable qu'une trans-acétalisation de $\text{H}_2\text{N}-^{13}\text{CH}_2\text{-SR}$ aboutisse à l'acétal $\text{H}_9\text{C}_4\text{-O}-^{13}\text{CH}_2\text{-O-C}_4\text{H}_9$ et que le thioester $\text{H}_2\text{N}-^{13}\text{CH}_2\text{-CO-SR}$ soit transformé en ester butylique, pour aboutir au composé $\text{F}_3\text{C-CO-HN}-^{13}\text{CH}_2\text{-CO-OC}_4\text{H}_9$, qui correspond au dérivé de la glycine.

D'autre part, il est possible qu'un produit intermédiaire tel que $\text{H}_2\text{N}-^{13}\text{CH}_2\text{-CO-SR}$ soit trop rapidement hydrolysé en glycine pour être détecté.

Discussion des composés observés et des voies de synthèse de la glycine

Les conditions réactionnelles des expériences de simulation décrites pour la synthèse de la glycine sont les mêmes que pour la formation de chaînes hydrocarbonées, mono ou di-fonctionnalisées, avec simplement l'ajout d'une molécule azotée simple. Nous démontrons ainsi la polyvalence de nos conditions de simulations hydrothermales pour former des composés d'intérêt portant diverses fonctions chimiques.

L'utilisation du formaldéhyde marqué au ^{13}C nous fournit des informations essentielles. Le fait de voir que la glycine est marquée au carbone 13 certifie que la glycine formée est affiliée au méthanal. Les aldéhydes semblent donc impliqués dans la formation des acides aminés. Par ailleurs, les autres composés (dithioacétals et acide 2-phénylthioacétique) portant un ou plusieurs atomes de ^{13}C , que nous avons indiqués dans les figures précédentes, interviennent probablement également dans la synthèse des acides aminés et nous leur conférons un rôle probable d'intermédiaires réactionnels.

La Figure IV - 36 illustre les différents composés observés lors de la synthèse de la glycine, à partir du formaldéhyde marqué au ^{13}C , de NH_4Cl et de CO , en présence de $\text{Ni}(0)$ ou NiS , et présente les liens génétiques présumés entre ces produits. La synthèse de la glycine a été observée lors d'expériences où $\text{Ni}(0)$ était utilisé comme catalyseur, mais nous avons démontré que l'utilisation de NiS conduit généralement aux mêmes types de produits, avec toutefois une moins bonne efficacité. Nous généralisons donc dans la figure suivante à $\text{Ni}(0)$ et NiS .

Dans les conditions employées, nous formons donc des dithioacétals symétriques ou mixtes à partir du méthanal marqué, du thiophénol, de $^{13}\text{CH}_3\text{SH}$ (formé *in situ* par sulfuration réductrice du formaldéhyde marqué) et de H_2S . L'acide 2-phénylthioacétique est probablement engendré par la carbonylation de la liaison C-SH ou C-S $^{13}\text{CH}_3$ au niveau des dithioacétals mixtes, plutôt que par celle de la liaison C-SPhényle, d'après nos précédentes découvertes (voir B.2.2.2, page 232). En effet, nous suggérons que la réaction d'insertion de carbonyle sur un composé de type $\text{RSCH}_2\text{SR}'$ marche mieux lorsque le groupement R est un H ou un alkyle. Des expériences complémentaires restent nécessaires pour tester ce point.

D'autre part, nous avons obtenu la glycine portant un atome de ^{13}C et notre seule certitude à ce sujet est que cet acide aminé est un descendant du méthanal marqué au ^{13}C . Nous suggérons que l'acide 2-phénylthioacétique puisse être un intermédiaire réactionnel de la synthèse de la glycine, mais le passage du dérivé d'acide soufré en α à l'acide aminé (Figure IV - 36, étape indiquée par une flèche bleue) reste un point à élucider, sachant que la substitution directe d'un sulfure par NH_3 n'est généralement pas favorisée. Ainsi, nous envisageons que plusieurs étapes et intermédiaires réactionnels interviennent dans la transformation de l'acide 2-phénylthioacétique en glycine, un échange $\text{S-C}_6\text{H}_5 \leftrightarrow \text{NH}_2$ n'étant plausiblement pas si simple. Cette réaction de substitution sera discutée plus en détail dans la section suivante.

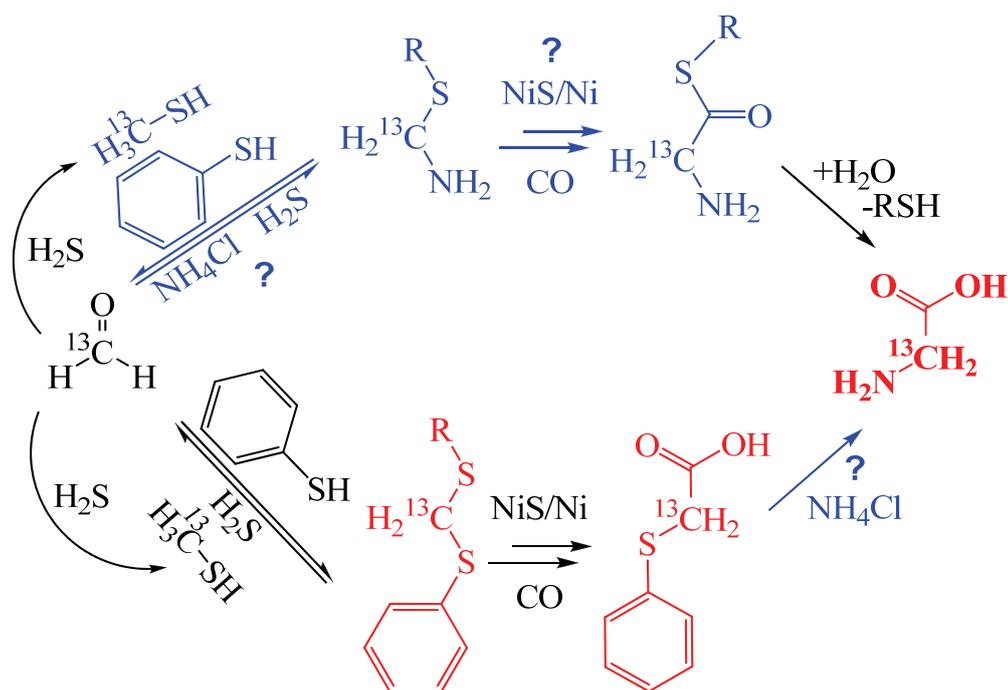


Figure IV - 36 - Résumé des composés observés lors de la synthèse de la glycine et des voies réactionnelles impliquées dans les conditions réactionnelles choisies ($\text{Ni}(0)$, CO , H_2S , $^{13}\text{CH}_2\text{O}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$ et NH_4Cl)

Aussi, il n'est pas exclu, par ailleurs, que d'autres composés puissent être envisagés comme précurseurs de l'acide aminé à la place de l'acide 2-phénylthioacétique. C'est le cas, par exemple, de l'acide mercaptoacétique, comme évoqué au début de cette section.

De plus, nous rappelons qu'il existe une autre possibilité pour expliquer la formation de la glycine à partir du formaldéhyde, à savoir la formation d'intermédiaires de type N,S-acétals. Bien que nous n'ayons pu mettre en évidence d'autres composés azotés dans le mélange réactionnel en dehors de la glycine, la voie de formation de la glycine via les N,S-acétals ne peut être totalement exclue. En effet, les intermédiaires réactionnels mis en jeu sont, comme discuté plus haut, soit très réactifs ($\text{H}_2\text{N-}^{13}\text{CH}_2\text{-CO-SR}$), soit difficiles à détecter ($\text{H}_2\text{N-}^{13}\text{CH}_2\text{-SR}$ et $\text{H}_2\text{N-}^{13}\text{CH}_2\text{-CO-SR}$), compte tenu de notre protocole analytique. Nous n'avons cependant, pour l'instant, pas d'évidence que, dans nos conditions, un N,S-acétal puisse subir une insertion de CO au niveau de la liaison C-S. Il s'agit d'un point que nous examinerons plus en détail dans la section suivante.

C.2 Proposition et discussion de mécanismes

Dans cette partie C.2, nous nous intéresserons plus en détails, comme nous l'avons évoqué précédemment, à certaines étapes clés non élucidées du schéma de formation des acides aminés mettant en jeu les aldéhydes comme intermédiaires réactionnels, dans les conditions supposées simuler celles des fumeurs noirs (voir Figure IV - 31, page 251, et Figure IV - 36, page 263).

Ainsi, nous discuterons la transformation en acides aminés des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2, tels que l'acide 2-phénylthioacétique (C.2.2).

Puis, nous nous intéresserons au rôle possible de composés de type N,S-acétals comme intermédiaires réactionnels entre les aldéhydes et les acides aminés (C.2.2, page 267). En particulier, nous chercherons à tester la possibilité d'induire une insertion de CO au niveau de la liaison C-S des N,S-acétals, dans les conditions hydrothermales.

Pour finir (C.2.3, page 269), nous présenterons et discuterons un schéma général de formation des acides aminés mettant en jeu la catalyse par les sulfures de métaux de transition, dans le cadre des conditions susceptibles d'avoir régné au niveau des sources hydrothermales primitives.

C.2.1 Processus de transformation en acides aminés des dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en α

Nous avons proposé dans le schéma présenté dans la Figure IV - 31 (page 251) que les dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 pourraient être des précurseurs potentiels d'acides aminés, car à première vue, il suffirait de remplacer la fonction thiol ou sulfure par une fonction amine (*cf.* Figure IV - 37). En particulier, nous nous sommes posés la question si, dans l'expérience que nous avons réalisée avec CO, H₂S, ¹³CH₂O, C₆H₅SH, NH₄Cl et Ni(0), ayant abouti à la formation de la glycine, l'acide 2-phénylthioacétique pouvait, dans les conditions expérimentales mises en œuvre, être facilement transformé en glycine par substitution du groupement thiophényle par l'ammoniaque (voir Figure IV - 37).

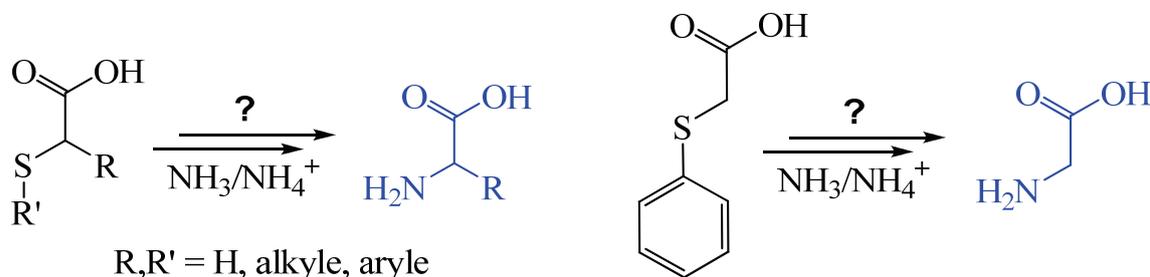


Figure IV - 37 - Voie possible de synthèse d'acides aminés dans les conditions régnant au niveau des fumeurs noirs, par réaction de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 avec NH₃.

Toutefois, la substitution directe d'un sulfure par NH_3 n'est à notre connaissance pas connue et ne semble pas réalisable en tant que telle. Nous avons alors envisagé que la substitution suive le processus présenté dans la Figure IV - 38, qui fait intervenir la formation d'un thiol et du disulfure apparenté comme intermédiaires. C'est en fait sur ce disulfure que la substitution proprement dite du soufre par l'azote aurait lieu.

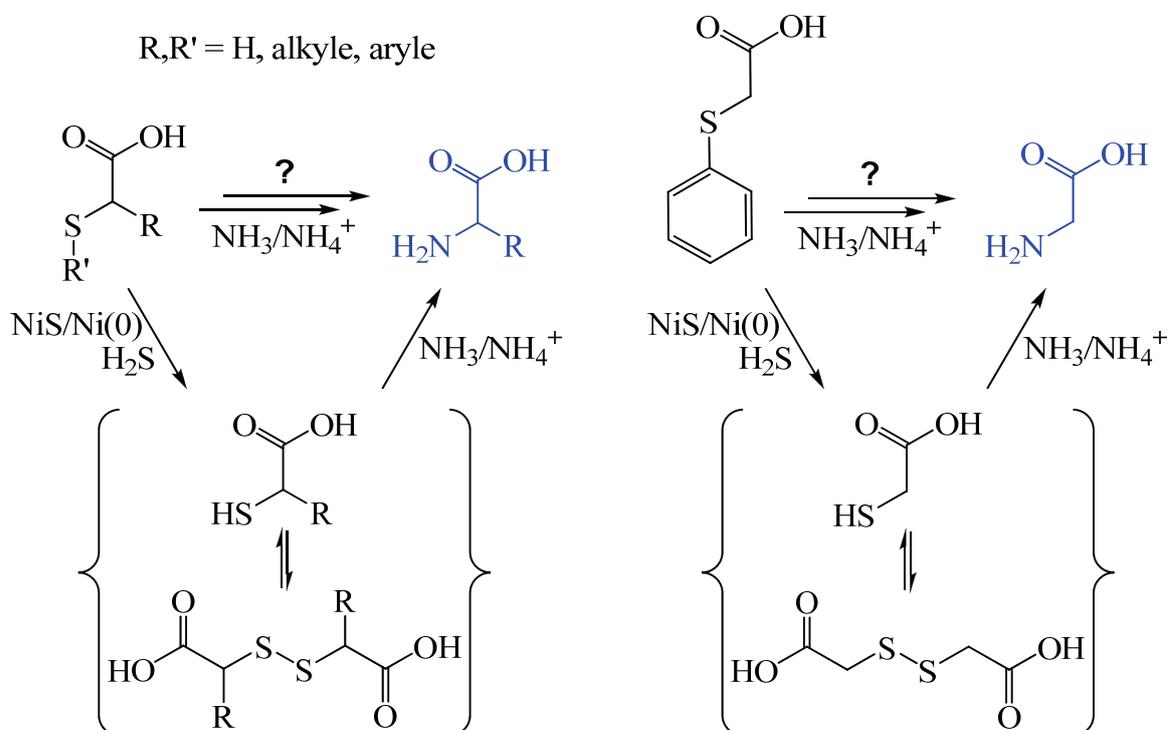


Figure IV - 38 - Voie possible de synthèse d'acides aminés dans les conditions régnant au niveau des fumeurs noirs, par réaction de dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en position 2 avec NH_3 , et faisant intervenir des thiols comme intermédiaires.

Cette séquence réactionnelle repose sur deux résultats établis précédemment. Tout d'abord, la transformation de sulfures en thiols, dans des conditions hydrothermales similaires à celles que nous avons mises en œuvre, a été clairement établie par Cody G.D. *et al.* - 2004a et Dubant S. - 2004. Puis, ce processus a été confirmé par les résultats présentés dans le chapitre précédent (voir page 196).

D'autre part, il a été précédemment montré au laboratoire que lorsque l'on fait réagir un acide carboxylique portant une fonction thiol en position 2 (A, Figure IV - 39, page 266) avec de l'ammoniaque en milieu aqueux et en présence de polysulfures, l'acide aminé correspondant peut être obtenu (B, Figure IV - 39). Parmi les différents mécanismes envisageables pour expliquer cette substitution, on peut proposer qu'un disulfure symétrique (RSSR, Figure IV - 39) soit d'abord formé, par réaction du thiol avec les polysulfures (molécules oxydantes organiques ou non) (voie I). Ensuite, une substitution par NH_3 pourrait avoir lieu sur le disulfure ainsi formé (voie II), libérant un acide aminé (B), sachant que RSS^- est un bon groupe partant. Il faut remarquer que cette voie mécanistique pourrait également faire intervenir un disulfure mixte (RSSR') issu de l'oxydation du thiol de départ en présence d'un autre thiol dans le mélange

réactionnel. Dans le cas d'un disulfure symétrique (RSSR, Figure IV - 39), une seconde substitution par NH_3 (voie III) pourrait conduire à une deuxième molécule d'acide aminé (B).

Il est important de mentionner que des polysulfures (organiques ou non) sont toujours présents dans les mélanges réactionnels des expériences de simulation que nous avons réalisées (voir chapitre III). Ceci s'explique simplement par le fait que la synthèse de composés organiques à partir de CO, qui implique nécessairement des réactions de réduction de CO et des intermédiaires organiques formés, s'accompagne nécessairement de l'oxydation de H_2S (voir chapitre III). Par exemple, la réaction de sulfuration réductrice des carbonyles (voir Figure IV - 5, page 220 ou chapitre III, page 173) conduit à des polysulfures, en plus des thiols.

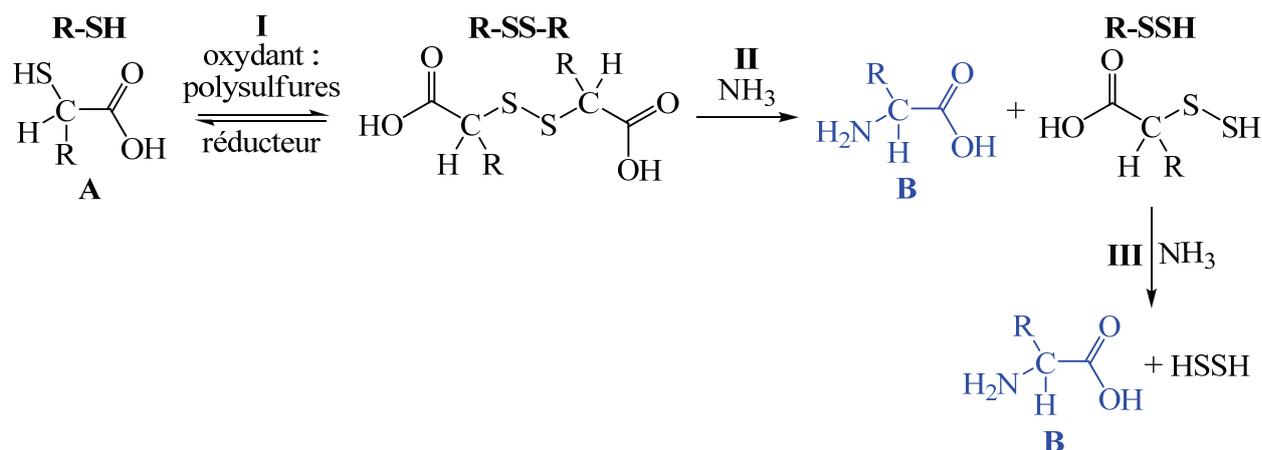


Figure IV - 39 - Mécanisme possible de transformation de thiols en amines conduisant des acides possédant une fonction thiol en position 2 aux acides aminés

Nous précisons que, dans le cas des expériences que nous avons réalisées et mettant en jeu CO, H_2S , $^{13}\text{CH}_2\text{O}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{SH}$, NH_4Cl et $\text{Ni}(0)$, nous n'avons mis en évidence l'acide mercaptoacétique (voir Figure IV - 38, page 265), ni sous sa forme libre, ni sous forme de polysulfure (RSSH, RSSR, RSSR'). Toutefois, nous pouvons concevoir que cet intermédiaire soit trop réactif pour s'accumuler dans le milieu réactionnel, et donc qu'il soit rapidement consommé et transformé en acide aminé.

Nous pourrions confirmer l'hypothèse que nous présentons dans la Figure IV - 38 en faisant réagir chacun des composés clés de notre mécanisme hypothétique, l'acide 2-phénylthioacétique et l'acide mercaptoacétique, en présence de NH_3 dans les conditions hydrothermales (CO, H_2S , NiS/Ni). Il serait d'ailleurs intéressant d'étudier la cinétique des réactions impliquant l'acide 2-phénylthioacétique, NiS/Ni(0), H_2S et NH_3 , afin de peut-être mettre en évidence, à des temps de réactions courts, la présence de l'acide mercaptoacétique.

C.2.2 Essai impliquant un substrat organique, un N,S-acétal, pour élucider le mécanisme

C.2.2.1 Possible implication des N,S-acétals et des diaminoacétals dans la synthèse des acides aminés

Lors des essais réalisés avec CO, H₂S, ¹³CH₂O, C₆H₅SH, NH₄Cl et Ni(0), ayant abouti à la formation de la glycine, le méthanal se trouve en présence de composés soufrés (C₆H₅SH, ³CH₃SH et H₂S), mais aussi de NH₄Cl. Comme nous l'avons évoqué précédemment, il est alors logiquement possible de former des N,S-acétals, R-S-CH₂-NH₂ ou même des diaminoacétals H₂N-CH₂-NH₂. De plus, les N,S-acétals pourraient permettre d'obtenir des acides aminés lors des essais impliquant le thiophénol, le chlorure d'ammonium, le formaldéhyde, NiS/Ni et CO. La Figure IV - 40 illustre notamment le fait qu'une insertion de CO dans la liaison C-SR, suivie d'une hydrolyse du thioester formé en acide carboxylique, pourrait conduire à un acide aminé. La carbonylation de la liaison C-NR'R'', une possibilité qui n'avait pas été mentionnée jusque-là, permettrait quant à elle d'obtenir un dérivé d'acide carboxylique portant une fonction soufrée en position 2.

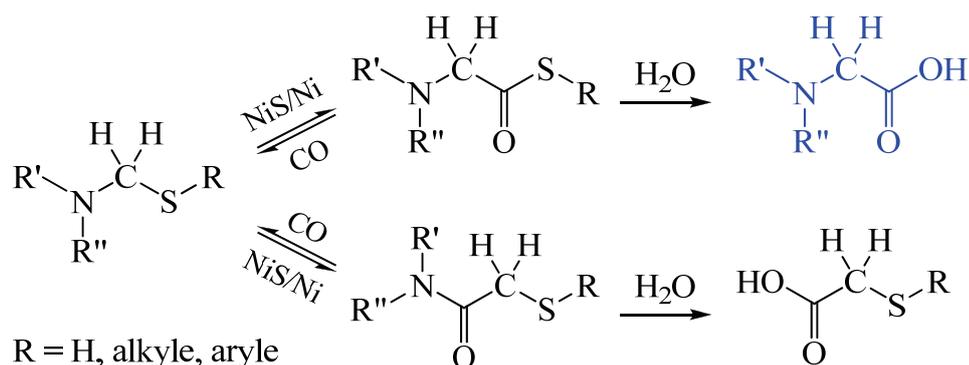


Figure IV - 40 - Possible implication des N,S-acétals dans la formation des acides aminés

Lors de l'expérience mettant en jeu CO, H₂S, ¹³CH₂O, C₆H₅SH, NH₄Cl et Ni(0) que nous avons présentée dans la section précédente, nous avons effectivement mis en évidence la formation de dithioacétals ainsi que de la glycine marquée au ¹³C (voir C.1.3.2, page 258). Cependant, nous n'avons pas pu détecter les autres composés azotés que nous supposons intervenir dans la formation de la glycine (cf. page 261). En particulier, nous n'avons pu mettre en évidence ni les N,S-acétals, ni les thioesters qui auraient pu en dériver par insertion de CO au niveau de la liaison C-S. Nous n'avons cependant pas voulu totalement exclure cette voie de formation de la glycine dans la mesure où les intermédiaires réactionnels mis en jeu sont, comme discuté plus haut, soit très réactifs (H₂N-¹³CH₂-CO-SR est facilement hydrolysé) soit difficiles à mettre en évidence (H₂N-¹³CH₂-SR et H₂N-¹³CH₂-CO-SR) compte tenu du protocole analytique utilisé. C'est pourquoi, nous avons voulu tester la réactivité de telles molécules et leur possible implication dans la formation des acides aminés, notamment la glycine, à l'aide d'essais en laboratoire faisant intervenir des N,S-acétals.

Nous disposons d'un N,S-acétal de synthèse, la molécule $H_{10}C_5N-CH_2-SC_6H_5$. Nous avons ainsi effectué une expérience de simulation avec de la 1-(phénylthiométhyl)pipéridine ($3,62 \cdot 10^{-4}$ mol), afin de tester la possibilité de carbonyler cette molécule, au sein de la liaison C- SC_6H_5 et/ou au niveau de la liaison C- NC_5H_{10} , dans les conditions expérimentales habituelles, en flacon Sovirel en verre de 50mL, dans 20mL d'eau, en présence de Ni(0) (1mmol) et CO (1bar), à 50°C, pendant 4 jours. Nous précisons que dans ce cas H_2S est absent (ni introduit comme substrat, ni formé *in situ*). Nous pouvons par la même occasion vérifier si la carbonylation de la liaison C- SC_6H_5 est réalisable dans le cas d'un autre type de molécule que le bis(phénylthio)méthane, expérimenté précédemment et ayant montré l'impossibilité d'insérer CO dans la liaison C- SC_6H_5 en absence de H_2S ou CH_3SH .

C.2.2.2 Résultats de l'expérience mettant en jeu de la 1-(phénylthiométhyl)pipéridine avec Ni(0) et CO

Nous avons ainsi effectué une expérience de simulation impliquant de la 1-(phénylthiométhyl)pipéridine $H_{10}C_5N-CH_2-S-C_6H_5$ ($3,62 \cdot 10^{-4}$ mol), dans 20mL d'eau, en présence de Ni(0) (1mmol) et CO (1bar), à 50°C, pendant 4 jours.

A la fin de l'expérience de simulation, le milieu réactionnel légèrement basique a été filtré et extrait au dichlorométhane. La phase organique a ensuite été concentrée et analysée en CPG et CG/SM. Les constituants organiques de la phase aqueuse ont quant à eux été traités comme d'habitude avec le mélange butanol/HCl (1,5mol/L), puis analysés.

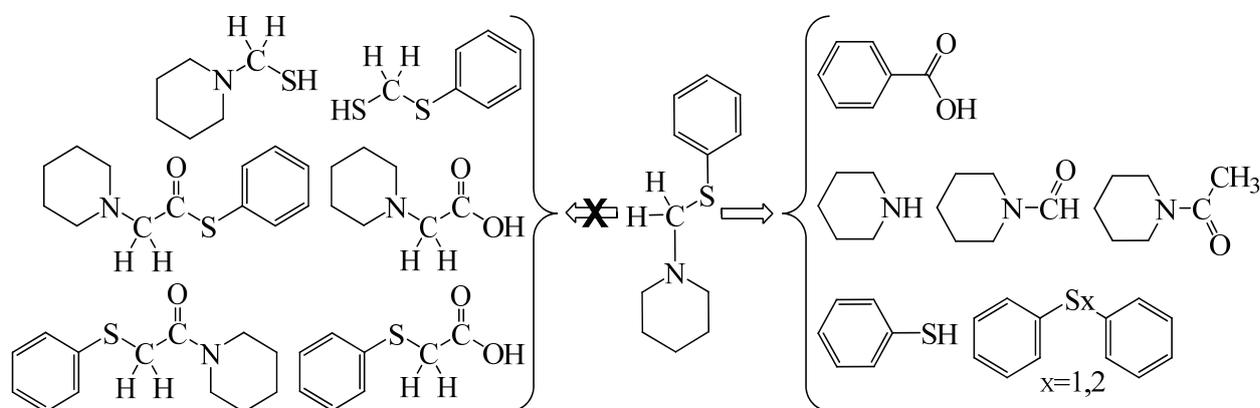


Figure IV - 41 - Bilan d'une expérience de simulation en Sovirel impliquant la 1-(thiophénylméthyl)pipéridine ($3,62 \cdot 10^{-4}$ mol $H_{10}C_5N-CH_2-S-C_6H_5$, 20mL H_2O , 1mmol Ni(0), CO, 50°C, 4 jours)

La Figure IV - 41 présente les produits détectés et apparentés au substrat, ainsi que quelques unes des molécules que nous pensions pouvoir former sur la base du schéma présenté dans la Figure IV - 40 (page 267) et qui n'ont pas pu être détectées dans la fraction organique extraite et la phase aqueuse.

Nous remarquons d'une part, que le réactif s'est un peu dissocié en pipéridine et en thiophénol par hydrolyse. Le thiophénol a alors pu intégrer la voie classique de transformation, qu'il subit dans les conditions de nos expériences de simulation (voir chapitre III), pour conduire

à des sulfures ainsi qu'à l'acide benzoïque. Le formamide et l'acétamide mettant en jeu la pipéridine ont vraisemblablement été formés par réaction de la pipéridine avec les thioacides ou thioesters dérivés de l'acide formique et de l'acide acétique (HCOSR , H_3CCOSR , $\text{R}=\text{H}$, alkyle ou aryle). Ces produits sont généralement formés dans nos expériences de simulation hydrothermale (voir chapitre III). Ainsi, la détection de l'acide benzoïque, du formamide et de l'acétamide permet de certifier que le processus organométallique basé sur les complexes carbonylés de nickel a bien lieu dans les conditions de cet essai. Par ailleurs, une des premières conclusions à propos de cette expérience est que nous n'avons pas synthétisé d'acide aminé.

Cet essai nous fournit cependant plusieurs indications. En effet, nous pouvons conclure que la carbonylation de la liaison C-NRR' d'un N,S-acétal, dans le cas d'une amine tertiaire où R et R' forment un cycle, n'est pas favorable dans les conditions de cette expérience, en présence de CO et Ni(0) et en absence de H_2S , même si la formation de complexes de nickel apparaît possible. De plus, la carbonylation de la liaison C-SR, où R un groupement phényle, n'a également pas lieu dans les conditions de cet essai.

Par conséquent, cette deuxième série d'essais corrobore les expériences réalisées précédemment avec le bis(phénylthio)méthane. En effet, nous avons montré l'impossibilité de carbonyler une liaison C- SC_6H_5 , en absence de H_2S et CH_3SH , au sein du dithiocétal symétrique $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-CH}_2\text{-S-C}_6\text{H}_5$ et du N,S-acétal $\text{H}_5\text{C}_6\text{-S-CH}_2\text{-NC}_5\text{H}_{10}$ portant une amine tertiaire cyclique.

Nous ne pouvons pas tirer des conclusions plus générales concernant les carbonylations potentielles des N,S-acétals et des dithioacétals sur la base de nos expériences. En effet, nous n'avons à ce jour testé que le cas particulier de molécules constituées de cycles (saturés ou insaturés). De plus, par manque de temps, nous n'avons pas pu réaliser des essais en laboratoire impliquant des N,S-acétals avec des substituants acycliques (amines primaires, secondaires ou tertiaires et alkyle/H) ou des dithioacétals mixtes (cycle aromatique et alkyle/H). Par ailleurs, il serait éventuellement utile de reproduire la synthèse de la glycine marquée au ^{13}C et de rechercher les conditions de traitement et d'analyses optimales pour la détection des composés aminés.

C.2.3 Proposition d'un nouveau mécanisme général pour la synthèse des acides aminés dans les conditions régnant au niveau des sources hydrothermales

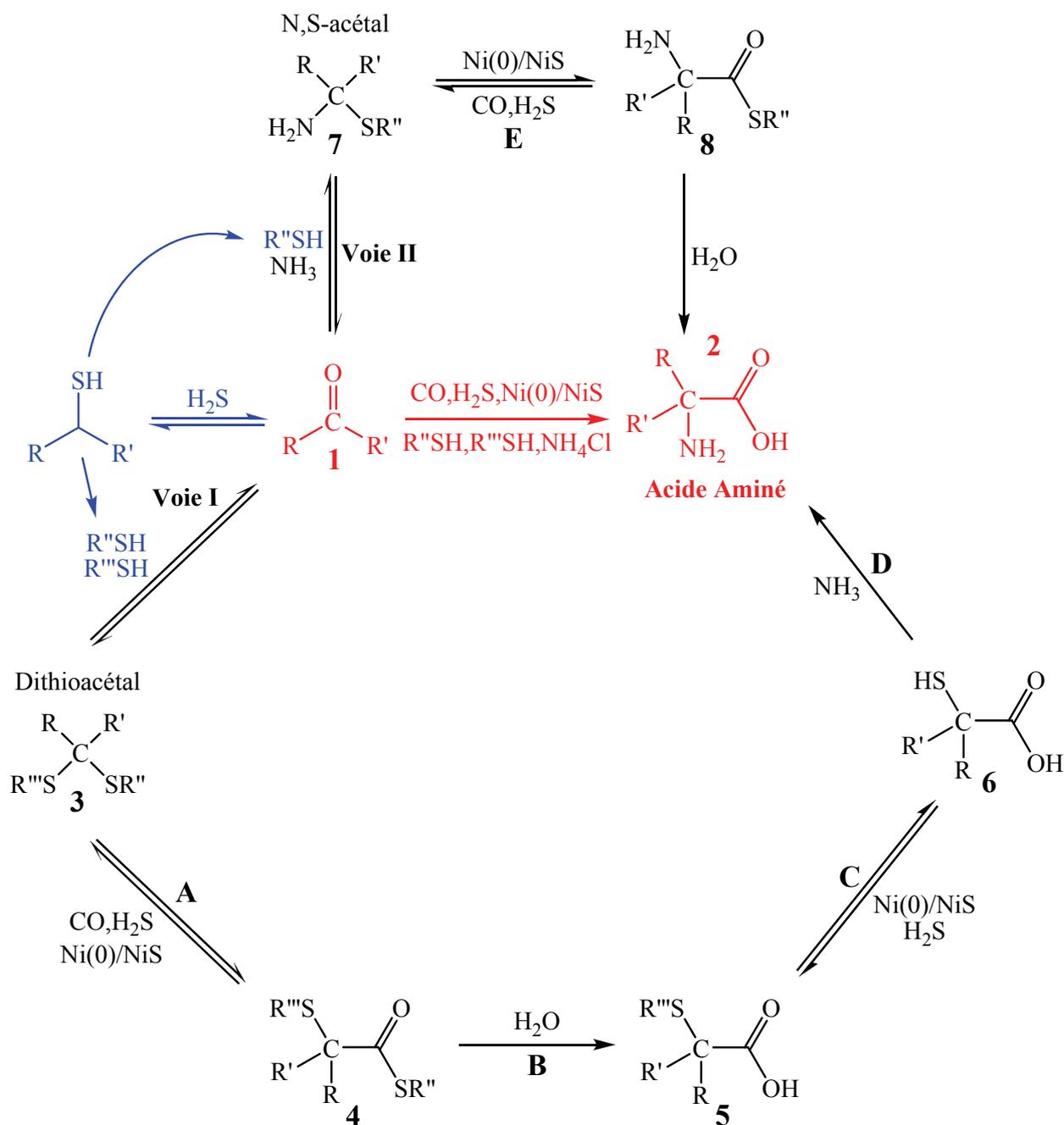
Sur la base des résultats exposés dans la première partie de la section C, consacrée à la formation des acides aminés dans les conditions de nos expériences de simulation, notamment ceux portant sur la synthèse de la glycine, nous pouvons proposer un schéma général de formation d'acides aminés qui pourrait, en principe, conduire à des acides aminés possédant des chaînes alkyles de tous types (voir Figure IV - 42, page 271). En effet, dans ce schéma, les aldéhydes apparaissent comme des intermédiaires clés. Or, au cours du processus itératif d'élongation de chaînes que nous avons présenté dans le chapitre III, des aldéhydes sont, en principe, formés avec des chaînes linéaires de toutes longueurs ou même avec des chaînes branchées. Au cours des expériences présentées dans le chapitre III, nous avons, d'ailleurs, pu

montrer la formation d'aldéhydes comme intermédiaires réactionnels par l'identification des dithioacétals qui leur sont génétiquement liés et qui résultent de la réaction des aldéhydes avec des thiols.

Ainsi, dans la Figure IV - 42, nous proposons, d'une part, deux voies de synthèse prébiotique des acides aminés (composé 2), avec potentiellement n'importe quel radical R ($R'=H$), à partir d'aldéhydes (1) formés *in situ*, portant ce groupement R ($R'=H$), de thiols synthétisés *in situ* et de NH_3 (NH_4Cl).

La voie I débute par la formation d'un dithioacétal (3) à partir de l'aldéhyde (1) ($R'=H$). Cette réaction est bien connue en chimie organique et a été mentionnée en chimie prébiotique par Wächtershäuser G. - 1990a.

Nous suggérons ensuite la carbonylation de la liaison C-SR'' du dithioacétal 3 (A), où R'' est un groupement résultant du cycle catalytique de formation de liaisons carbone-carbone, proposé dans le chapitre III. D'après les résultats présentés précédemment (*cf.* B.2.2.2, page 232), nous privilégions l'insertion de CO au niveau de dithioacétals où R'' serait un radical alkylique de petite taille pour conduire au thioester 4. Une fois le thioester 4 formé, une hydrolyse permettrait d'obtenir l'acide 5 portant un sulfure en position α . La substitution du sulfure sur le composé 5 par NH_3 pour conduire à l'acide aminé 2 pourrait se produire *via* le thiol 6, selon le schéma discuté en détails dans la partie C.2.1 (voir Figure IV - 39, page 266).



R,R',R'',R''' : H, alkyle, aryle (en fait, partie hydrocarbonée de n'importe quel thiol formé *in situ*)

Figure IV - 42 - Mécanisme général pour la synthèse des acides aminés impliquant des carbonyles (aldéhydes R=H ou cétones R≠H)

La voie II commence par la formation d'un N,S-acétal (voir produit 7, Figure IV - 42), par simple réaction de thiols et de NH₃ avec l'aldéhyde 1 (R'=H). Cette réaction a d'ailleurs également été proposée par Wächtershäuser G. - 1990a. Aucun N,S-acétal n'a été identifié lors de la synthèse de la glycine, mais nous avons conclu que le traitement et l'analyse du milieu réactionnel final n'étaient pas adaptés, des informations ayant certainement été ainsi perdues.

Ensuite, nous suggérons la carbonylation de la liaison C-SR'' (voie E), conduisant au thioester aminé (8), puis à l'acide aminé (2) après hydrolyse. Certes, nous avons démontré que l'insertion de CO au sein de la liaison C-SC₆H₅ est impossible pour le N,S-acétal H₁₀C₅N-CH₂-SC₆H₅, en absence de H₂S, mais cela est peut-être dû à la présence d'une amine tertiaire cyclique au lieu de NH₂ et/ou à celle d'un cycle aromatique. Il est en effet possible que la carbonylation de la liaison C-SR'', en présence de CO et NiS/Ni(0), fonctionne mieux dans le cas de substrats plus vraisemblables d'un point de vue prébiotique, tels que, par exemple, H₂N-CHR-S-R'', où R'' serait un radical alkylique de petite taille. Cependant, cette hypothèse doit être testée pour élucider les détails réactionnels de la voie II.

D'autre part, comme nous l'avons évoqué dans le chapitre III, les cétones tiennent une place importante au sein du processus de formation de liaisons C-C, pour la synthèse de chaînes hydrocarbonées ramifiées (thiols ramifiés, voir page 194). Nous pensons donc que le mécanisme de synthèse d'acides aminés peut être généralisé aux carbonyles, aldéhydes (R'≠H) et cétones (R'≠H). La Figure IV - 42 présente ainsi également la synthèse d'acides aminés ramifiés à partir de cétones (R'≠H) formées *in situ* par le processus d'élongation présenté dans le chapitre III. Cette voie réactionnelle impliquant des cétones n'a cependant pas été testée expérimentalement et il est possible que la carbonylation de la liaison C-SR'' du dithiocétal 3 (R'≠H) soit défavorisée, notamment en raison de probables gênes stériques au sein des complexes organométalliques de nickel. Par ailleurs, dans le cas où la synthèse d'acides aminés serait possible à partir de cétones, les molécules formées ne correspondraient pas à des acides aminés naturels. En effet, les acides aminés caractéristiques des espèces vivantes ont tous la structure R-CH(NH₂)-COOH.

C.3 Conclusions sur la synthèse des acides aminés

Nos essais en laboratoire ont mis en évidence la synthèse prébiotique de la glycine dans les conditions régnant aux alentours des fumeurs noirs (H_2O , CO , H_2S , $\text{Ni}(0)/\text{NiS}$, NH_4Cl). Nous avons ainsi découvert la possibilité de former des acides aminés et avons en partie élucidé le mécanisme de leur synthèse, à l'aide de différents essais impliquant des substrats organiques.

Nous avons proposé dans la Figure IV - 42 (page 271) et sur la base de nos résultats, un mécanisme général permettant d'obtenir des acides aminés alkylés de toutes longueurs.

D'après ce mécanisme, deux voies réactionnelles sont donc possibles, avec tout de même des preuves expérimentales plus solides pour la voie I (*cf.* Figure IV - 42) passant par les intermédiaires réactionnels dithioacétals. Il reste encore quelques zones d'ombres au mécanisme que nous avons élaboré. Ainsi, pour la voie I, il serait utile de réaliser quelques essais avec des dithioacétals mixtes, afin de tester la carbonylation des liaisons $\text{C-SR}''$, R'' étant une petite chaîne alkylique ou un hydrogène. D'autre part, il serait intéressant d'étudier plus en détails les processus impliqués dans la substitution de la fonction sulfure (SR'') par NH_3 , au niveau d'un dérivé d'acide carboxylique soufré en α , tel que le composé 5, pour conduire à des acides aminés.

L'étude de la voie II doit également être approfondie par des expériences impliquant des N,S-acétals $\text{H}_2\text{N-CHR}''\text{-SR}'$ (R' : H ou petit alkyle) et/ou en optimisant le traitement et l'analyse du milieu réactionnel pour mettre en évidence les composés aminés autres que les acides aminés.

En outre, nous avons jusque-là réalisé la synthèse de la glycine en présence de formaldéhyde marqué au ^{13}C , de NH_4Cl , de CO , de H_2S et de $\text{Ni}(0)$, en rajoutant un thiol, le thiophénol. Or, selon les mécanismes proposés dans la Figure IV - 42 (page 271), l'ajout d'un thiol est facultatif, puisque n'importe quel thiol synthétisé *in situ*, tel que le méthane-thiol, pourrait jouer le même rôle. De ce fait, il serait utile de tester les conditions opératoires de nos expériences de simulation sans l'ajout d'un thiol comme substrat.

Par ailleurs, il faut mentionner que des expériences sont en cours d'étude au Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire au sujet de la synthèse d'acides aminés alkylés linéaires et ramifiés. Ainsi, des expériences ont été réalisées avec d'autres aldéhydes que le formaldéhyde comme substrats par M. Kajjout (stagiaire post-doctoral). L'éthanal, l'isovaléraldéhyde $(\text{H}_3\text{C})_2\text{-CH-CH}_2\text{-CHO}$ et le phényléthanal $\text{H}_5\text{C}_6\text{-CH}_2\text{-CHO}$ conduisent, dans les conditions de nos expériences de simulation, respectivement à l'alanine, la leucine et la phénylalanine.

D. Conclusions sur la formation de composés bi-fonctionnalisés

Dans le cadre de nos recherches sur la synthèse de composés poly-fonctionnalisés, nous avons pu mettre en évidence la formation de l'acide 2-phénylthioacétique au cours d'une expérience mettant en jeu CO, H₂S, NiS et du thiophénol, en milieu aqueux. Le mécanisme de formation proposé pour ce composé est basé, notamment, sur des expériences réalisées avec du méthanal marqué au ¹³C. Ainsi, nous envisageons une voie réactionnelle à partir du formaldéhyde et dont l'étape clé de formation de liaisons carbone-carbone serait l'insertion de CO au niveau de liaisons C-S de dithioacétals issus de la réaction du méthanal avec des thiols.

L'élucidation des processus mis en jeu dans la formation de l'acide 2-phénylthioacétique ouvre, en principe, la voie à la synthèse, dans les conditions régnant au niveau des fumeurs noirs, d'acides carboxyliques basés sur des squelettes alkyles de tous types et portant une fonction soufrée en α de l'acide carboxylique. En effet, ces acides carboxyliques pourraient être formés à partir de n'importe quel aldéhyde selon le mécanisme que nous avons décrit dans ce chapitre. Or, nous avons montré dans le chapitre III que des aldéhydes basés sur des chaînes alkyles de tous types peuvent être synthétisés à partir de CO et H₂S, lors du processus itératif d'élongation que nous avons mis en évidence.

Ces dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en α de l'acide sont potentiellement les précurseurs de plusieurs familles de composés d'intérêt prébiotique tels que des acides aminés (voir ci-dessous) ou des diacides carboxyliques. Ces derniers pourraient être synthétisés *via* le processus d'élongation de chaîne que nous avons étudié au chapitre III, cependant des études expérimentales supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ce point.

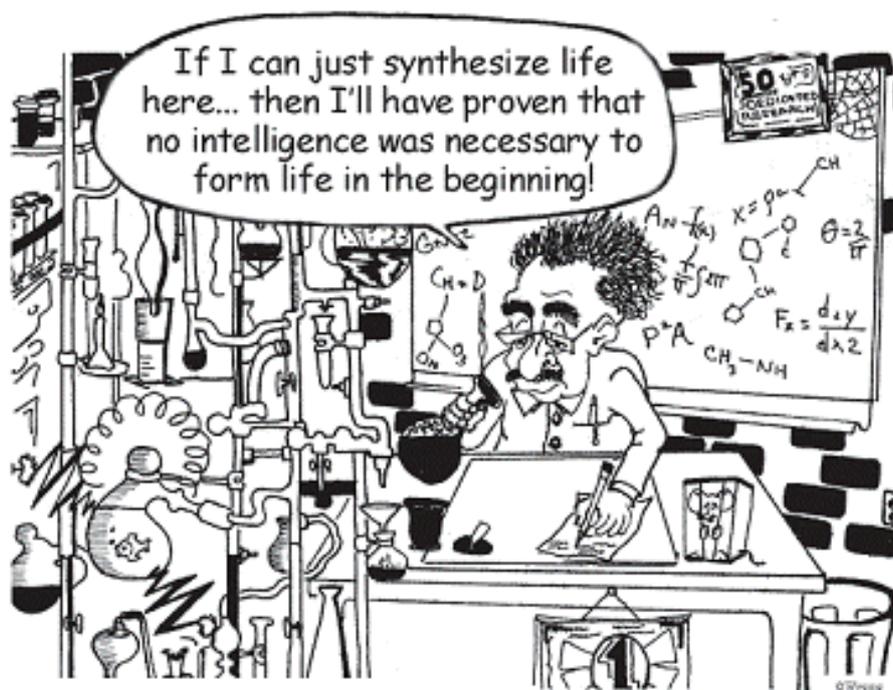
En outre, nous avons évalué le mode de formation de cétoacides et de diacides carboxyliques, dans les conditions régnant au niveau des sources hydrothermales, proposé par Wächtershäuser G. - 1990a. Ces composés interviendraient au niveau d'un cycle auto-catalytique primitif, le cycle réducteur de l'acide citrique. Il semble que les réactions proposées par cet auteur soient peu plausibles, si on les examine à la lumière des processus de formation de liaisons C-C que nous avons pu mettre en évidence dans le chapitre III. En effet, elles devraient faire intervenir des réactions de double carbonylation qui sont très défavorisées. Nous proposons un mode de formation de cétoacides qui ne ferait pas intervenir de réactions de double carbonylation et qui est compatible avec les réactions que nous avons étudiées dans le chapitre III. Cette voie réactionnelle doit toutefois être testée.

D'autre part, nous avons mis en évidence la synthèse prébiotique de la glycine au cours d'une expérience simulant les conditions régnant aux alentours des fumeurs noirs (H₂O, CO, H₂S, Ni(0)/NiS) et impliquant une source d'azote sous la forme NH₄Cl. Nous avons ainsi découvert la possibilité de former des acides aminés et avons en partie élucidé le mécanisme de leur synthèse, à l'aide de différents essais impliquant des substrats organiques. Les processus impliqués dans la formation de ces acides aminés font intervenir des aldéhydes comme intermédiaires, ainsi que les

dithioacétals et les N,S-acétals apparentés. Dans la mesure où nous avons montré que les conditions supposées avoir régné aux alentours des fumeurs noirs primitifs peuvent permettre la synthèse des aldéhydes de toutes sortes, linéaires ou ramifiés, nous proposons un mécanisme général permettant d'obtenir des acides aminés possédant des chaînes alkyles diverses. Ce processus serait en fait une réaction secondaire du cycle catalytique de production de thiols et d'élongation de chaîne.

Les découvertes présentées dans ce chapitre IV soulignent, comme celles mentionnées dans le chapitre précédent, le fort potentiel de la chimie des sulfures métalliques, et donc des sites hydrothermaux sous-marins, pour la chimie prébiotique. Nous ouvrons ainsi une voie vers la synthèse de composés bi-fonctionnalisés tels que des dithioacétals, des dérivés d'acides carboxyliques soufrés en α et des acides aminés. D'autre part, les travaux de recherche effectués au cours de cette thèse ont permis de démontrer le rôle clé des carbonyles en tant qu'intermédiaires réactionnels de l'élongation de chaînes (chapitre III) et nous y ajoutons la place centrale qu'auraient ces aldéhydes dans la synthèse de composés bi-fonctionnalisés d'intérêt prébiotique.

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES



From: Wysong, (1976). *The Creation-Evolution Controversy*. Midland, MI: Inquiry Press.

Nous avons mis en évidence et étudié au cours de cette thèse un processus complexe (voir Figure V - 1, page 279) pour la formation, à partir de CO, H₂S, NiS et NH₄Cl, de composés organiques d'intérêt prébiotique, mono- ou bi-fonctionnalisés, en principe de toutes longueurs, tels que des thiols, des sulfures alkyliques, des aldéhydes, des cétones, des thioesters, des thioacides, des acides carboxyliques, des dithioacétals, des dérivés d'acides carboxyliques soufrés en α et des acides aminés. Ce processus est susceptible d'être impliqué dans les premières étapes de l'apparition de la vie au fond des océans, aux alentours de fumeurs noirs, des environnements riches en H₂S et en sulfures métalliques.

Nous avons investigué la synthèse de molécules mono- et di-fonctionnalisées, à l'aide d'expériences de simulation en laboratoire impliquant les constituants émis par les sources hydrothermales (H₂S, CO et NiS), ainsi qu'à l'aide d'essais incluant également des substrats organiques présentant des fonctions clés. Les expériences de simulation ont été réalisées sous pression en autoclave ou à pression atmosphérique en réacteurs en verre.

D'une part, nous proposons un mécanisme itératif de catalyse homogène basé sur des complexes de carbonyles de nickel, bien que des processus de catalyse de surface puissent également intervenir, afin d'expliquer la formation des thiols, des sulfures alkyliques, des aldéhydes, des cétones, des thioesters, des thioacides et des acides carboxyliques (*cf.* Boucle des thiols Figure V - 1). Ni(0), le centre métallique des complexes organométalliques impliqués dans le processus de formation abiotique de liaisons C-C est probablement formé par réduction de sulfures de nickel par H₂S notamment. L'étape clé de la formation de liaisons C-C est l'insertion de CO au sein de liaisons C-S, au sein de thiols et sulfures, mais aussi de thioesters et thioacides.

Le processus homo-catalytique itératif mis en lumière par nos travaux de recherche ouvre la voie vers la formation prébiotique d'acides carboxyliques théoriquement de toutes longueurs. Nous contribuons ainsi aux recherches sur l'origine des composés lipidiques linéaires amphiphiles, précurseurs potentiels de constituants membranaires, ceci à partir de matières premières simples et prébiotiquement vraisemblables. Nous avons ainsi obtenu à partir de CO des chaînes hydrocarbonées linéaires et branchées pour l'instant limitées à quatre atomes de carbone au maximum. Étant donné que les acides carboxyliques sont stables dans les conditions de nos expériences, ils s'accumulent dans le milieu réactionnel, contrairement aux thiols, thioesters et thioacides qui peuvent réalimenter le cycle. Ainsi, le rendement de synthèse diminue considérablement à chaque cycle, car la proportion de produits réintégrant le processus d'élongation chute. Par ailleurs, d'autres paramètres sont probablement responsables de l'arrêt du processus itératif dans les conditions de nos expériences de simulation, tels qu'un manque de réactifs ou la formation progressive de polysulfures susceptibles d'oxyder le catalyseur. Ceci peut s'expliquer, notamment, par le fait que nos expériences de simulation sont réalisées en système fermé, et que nous nous éloignons par ce détail expérimental de l'apport continu de matières premières ayant lieu au niveau des cheminées des fumeurs noirs.

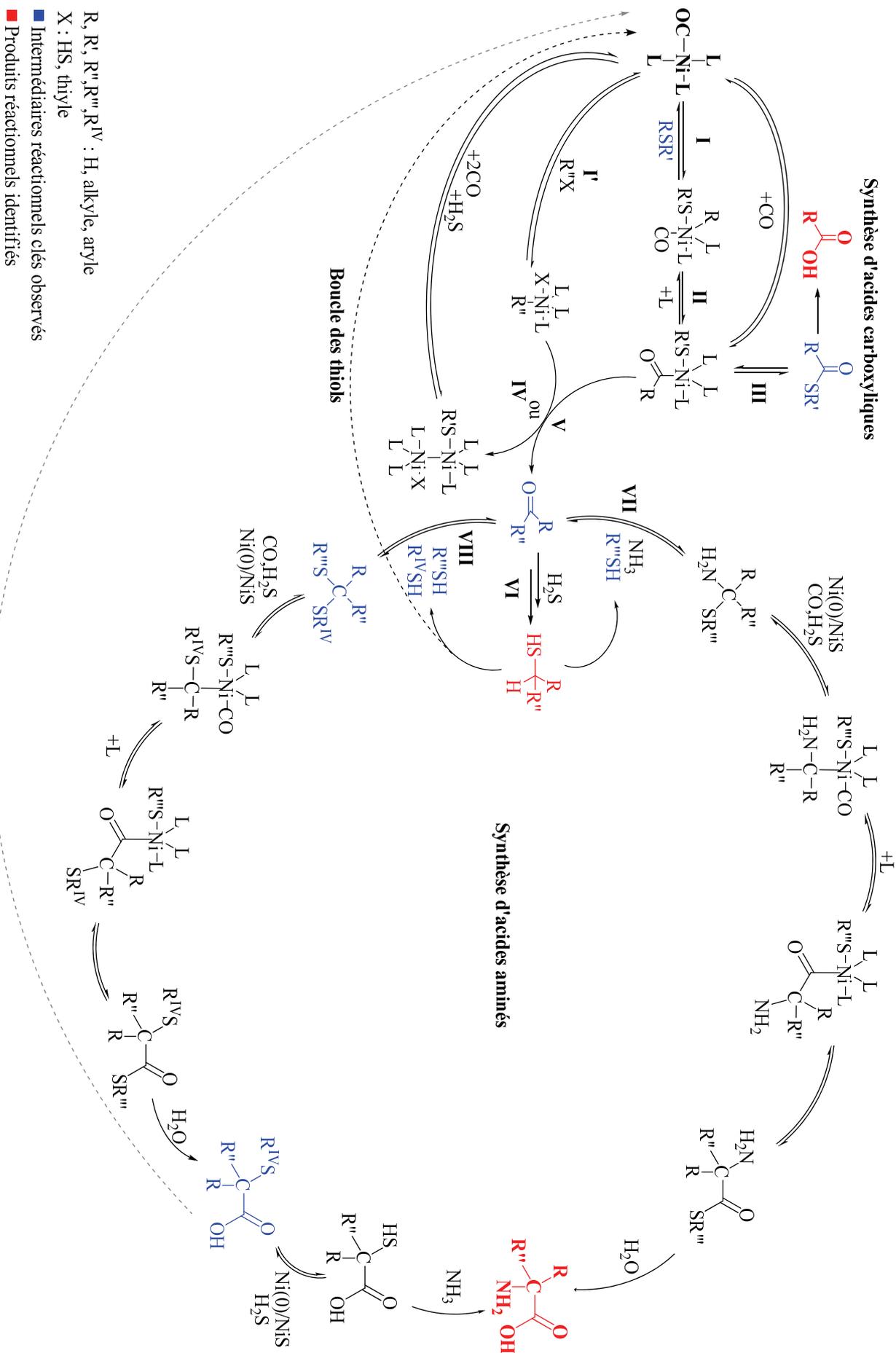


Figure V - 1 - Schéma bilan des voies réactionnelles mises en évidence lors des travaux de recherche de cette thèse

D'autre part, au cours de cette thèse, nous avons mis en évidence une voie de formation de composés poly-fonctionnalisés, dans les conditions régnant au niveau des fumeurs noirs, qui en présence d'une source azotée conduit à la synthèse d'acides aminés possédant des chaînes alkyles diverses (voir Figure V - 1, page 279). Ainsi, nous envisageons deux voies réactionnelles à partir de carbonyles (aldéhydes ou cétones), une qui implique des dithioacétals (ou dithiocétals) et des acides carboxyliques portant une fonction soufrée en α (VIII), et une qui met en jeu des N,S-acétals (VII). Le processus organométallique de formation de liaisons C-C, par l'insertion de CO au sein de liaisons C-S demeure une étape clé de la synthèse des acides aminés. De plus, la voie de formation des acides aminés est en fait une réaction secondaire du cycle catalytique de production de thiols et d'élongation de chaîne.

En outre, nous envisageons, avec quelques réserves, la possibilité pour les dérivés d'acides carboxyliques portant une fonction soufrée en α d'intégrer le processus d'élongation de chaîne (flèche grise en pointillés), notamment pour conduire à des diacides carboxyliques.

Il est important de mentionner que les travaux de recherche effectués au cours de cette thèse ont permis de démontrer le rôle clé des aldéhydes et cétones en tant qu'intermédiaires réactionnels d'un processus d'élongation de chaînes aboutissant à des acides carboxyliques linéaires et ramifiés, ainsi qu'en tant qu'intermédiaires de la synthèse de composés bi-fonctionnalisés d'intérêt prébiotique, tels que des acides aminés.

Comme nous l'avons déjà évoqué, il reste encore des zones d'ombres au mécanisme élaboré pour la formation des acides aminés. La carbonylation des dithioacétals et des N,S-acétals doit être étudiée plus en détails. De plus, le protocole d'analyse des composés aminés reste à optimiser afin de mettre en évidence les potentiels intermédiaires azotés impliqués dans le mécanisme que nous proposons. En outre, la possible intégration du cycle catalytique d'homologation par les acides carboxyliques soufrés en α doit être vérifiée expérimentalement. Enfin, étant donné que les aldéhydes formés lors du processus d'élongation de chaînes sont les intermédiaires clés de la synthèse des acides aminés, le rendement du processus organométallique de formation de liaisons C-C est un facteur déterminant pour la synthèse de la glycine et des ses homologues. Il est par conséquent important d'optimiser le processus d'élongation, avant de s'intéresser à des réactions qui pourraient faire intervenir des acides aminés, telles que leur condensation en polypeptides par exemple (*cf.* par exemple Brack A. - 2007).

A cet égard, plusieurs approches peuvent être envisagées pour améliorer le rendement du processus homo-catalytique itératif, cela permettrait d'ailleurs de former des composés lipidiques fonctionnalisés possédant des chaînes suffisamment longues pour assurer les fonctions principales de constituants membranaires.

D'une part, nous avons mentionné précédemment quelques possibilités expérimentales, notamment l'utilisation d'un réacteur ouvert pour les expériences de simulation. Il faudrait, par ailleurs, tenter de résoudre le problème de perte de matière (réactifs ou produits) rencontré au cours des expériences en réacteurs en verre ou en autoclave et probablement causé par la présence de points froids (pertes de composés par condensation ou adsorption sur le bouchon ou le couvercle). A cet égard, il serait intéressant de mettre au point de nouveaux dispositifs qui permettraient, idéalement, de réaliser des expériences avec des mélanges de gaz divers sous (haute) pression et dans une enceinte inerte à laquelle on puisse appliquer un chauffage homogène (pas de points froids). S'il existe actuellement des dispositifs mettant en jeu, par exemple, des tubes en or scellés placés dans des autoclaves sous pression (Cody G.D. *et al.* - 2004a), qui permettent d'éviter les points froids, et par la même occasion l'apport de

contaminations par des bouchons, ces réacteurs scellés ne permettent cependant pas une alimentation adéquate en réactifs gazeux (H_2S , CO , H_2 ,...) et nécessitent de recourir à des artifices, tels que l'utilisation de réactifs liquides (acide formique, *cf.* Cody G.D. *et al.* - 2004a) qui se décomposent en gaz à haute température. Ceci, bien entendu, limite les possibilités dans la diversité des expériences qui peuvent être réalisées. Il semble donc que le dispositif expérimental idéal pour ce type d'expériences soit difficile à mettre au point et que des compromis seront toujours nécessaires selon l'importance que l'on accorde à tel ou tel paramètre expérimental.

De plus, en ce qui concerne la préparation des sulfures métalliques catalyseurs utilisés dans nos expériences, jusque là préparés par réaction à température ambiante entre des chlorures métalliques et du sulfure de sodium, il serait utile de les disperser sur d'autres phases minérales comme, par exemple, des argiles ou des silices. Ceci permettrait certainement d'avoir une plus grande surface spécifique disponible et aurait également une pertinence géochimique. Les propriétés catalytiques des argiles ont été démontrées à plusieurs reprises lors de synthèses prébiotiques (voir par exemple Ferris J.P. *et al.* - 2004 ; Hanczyc M.M. *et al.* - 2007 ; Saladino R. *et al.* - 2010). Une autre approche consisterait à préparer les sulfures métalliques par trempage de solution acides et chaudes saturées en sulfures métalliques par des solutions aqueuses froides proche de la neutralité, reproduisant ainsi le phénomène observé au niveau des sources hydrothermales sous-marine où des minéraux initialement dissous sont précipités lorsque des fluides hydrothermaux saturés à haute température arrivent au contact de l'eau de mer.

D'autre part, si les acides carboxyliques sont des produits cibles dans le cas des chaînes longues, leur formation lors de premières étapes itératives va contribuer à limiter les longueurs de chaîne atteintes, puisqu'il s'agit de composés inertes dans les conditions expérimentales mises en œuvre qui vont sortir du cycle itératif d'élongation. Il est important de remarquer que les thioacides et les thioesters, que nous avons pu établir comme précurseurs directs des acides carboxyliques, peuvent réintégrer le cycle catalytique d'élongation de chaîne. L'ajout de polyphosphates comme substrats organiques pourrait permettre la phosphorylation des acides carboxyliques en phosphates d'acyles. Ces derniers conduiraient, par réaction avec H_2S ou des thiols formés lors du processus, à des thioacides ou thioesters susceptibles d'entrer à nouveau dans le cycle catalytique d'élongation de chaîne. De ce fait, des acides carboxyliques amphiphiles suffisamment longs pour permettre la formation de micelles et de vésicules pourraient être obtenus. Il a d'ailleurs été montré que des polyphosphates possèdent une vraisemblance prébiotique, car ils peuvent être formés à partir de phosphate dans l'eau en utilisant le sulfure de carbone comme agent de condensation (Leman L.J. *et al.* - 2006b).

Enfin, bien que les chercheurs prébioticiens se rapprochent de plus en plus des conditions supposées avoir régné aux alentours des fumeurs noirs primitifs, le facteur temps ne sera jamais vraiment représentatif de celui qui a été réellement nécessaire à l'apparition des premiers processus vivants. Nos expériences de laboratoire ont lieu donc sur une échelle de temps infime en comparaison des temps géologiques. De plus, les études expérimentales utilisent des temps de réaction de quelques heures à quelques jours, alors que les temps de résidence de molécules dans les environnements des sources hydrothermales sous-marines sont compris entre quelques années et des milliers d'années (*cf.* Johnson H.P. & Pruis M.J. - 2003 ; Coumou D. *et al.* - 2008). Ainsi, le facteur temps limite peut-être tout simplement la longueur des chaînes hydrocarbonées, mono-ou bi-fonctionnalisées, formées lors du processus d'élongation de chaînes. Il faudrait peut-être une période de temps considérable pour atteindre les longueurs et les concentrations d'acides carboxyliques nécessaires à l'assemblage spontané de micelles ou vésicules. Par conséquent, les résultats obtenus lors de cette thèse doivent être extrapolés à des temps de simulations plus longs.

Nos expériences constituent donc des modèles permettant de rendre compte de phénomènes pouvant avoir lieu en milieu naturel à une plus grande échelle de temps.

En conclusion, les découvertes présentées dans ce manuscrit soulignent le fort potentiel de la chimie organométallique des sulfures métalliques, et donc des sites hydrothermaux sous-marins, pour la chimie prébiotique. Nous proposons en quelque sorte un nouveau modèle de synthèses prébiotiques, situé entre ceux présentés par G. Wächtershäuser et C. De Duve. Les processus mis en lumière lors de cette thèse ont en effet, d'après nous, encore du potentiel pour de futurs travaux de recherche au sein du Laboratoire de Biogéochimie Moléculaire. De plus, les mécanismes décrits dans ce manuscrit permettent également d'expliquer la formation de produits synthétisés par d'autres équipes de chercheurs, lors d'expériences réalisées dans le contexte des processus de chimie prébiotique susceptibles de se produire au niveau des sources hydrothermales (Wächtershäuser G. - 1990a ; Huber C. & Wächtershäuser G. - 2006). De nombreuses perspectives sont envisageables, d'une part pour élucider les quelques zones floues du processus que nous proposons, d'autre part pour aller plus loin dans la synthèse abiotique des briques du vivant (formation de micelles à partir d'acides carboxyliques linéaires suffisamment longs, condensation des acides aminés pour former des polypeptides *etc.*).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abelson P.H. 1966. Chemical events on the primitive earth. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 55: 1365-1372.
- Abramov O. & Mojzsis S.J. 2009. Microbial habitability of the Hadean Earth during the late heavy bombardment. *Nature*. 459: 419-422.
- Adam P., Schneckenburger P., Schaeffer P. & Albrecht P. 2000. Clues to early diagenetic sulfurization processes from mild chemical cleavage of labile sulfur-rich geoMacromol.. *Geochim.Cosmochim.Acta*. 64: 3485-3503.
- Anastasi C., Crowe M.A., Powner M.W. & Sutherland J.D. 2006a. Direct assembly of nucleoside precursors from two- and three-carbon units. *Angew.Chem., Int.Ed.* 45: 6176-6179.
- Anastasi C., Crowe M.A. & Sutherland J.D. 2006b. Two-Step Potentially Prebiotic Synthesis of α -D-Cytidine-5'-phosphate from D-Glyceraldehyde-3-phosphate. *J.Am.Chem.Soc.* 129: 24-25.
- Andreev A.A., Kafedjiysky V.J. & Edreva-Kardjieva R.M. 1999. Active forms for water-gas shift reaction on NiMo-sulfide catalysts. *Appl.Catal.A-Gen.* 179: 223-228.
- Armstrong F.A. 2004. Hydrogenases: active site puzzles and progress. *Curr.Opin.Chem.Biol.* 8: 133-140.
- Asensi M., Sastre J., Pallardo F., V, Garcia d.l.A., Estrela J.M. & Vina J. 1994. A high-performance liquid chromatography method for measurement of oxidized glutathione in biological samples. *Anal.Biochem.* 217: 323-328.
- Astruc D. 2000. *Chimie organométallique*. EDP Siences.
- Aubrey A.D., Cleaves H.J. & Bada J.L. 2009. The role of submarine hydrothermal systems in the synthesis of amino acids. *Origins Life Evol.Biospheres*. 39: 91-108.
- Bada J. & Wills C. 2000. *The spark of life: Darwin and the primeval soup*. Perseus Publishing.
- Bada J.L., Bigham C. & Miller S.L. 1994. Impact melting of frozen oceans on the early Earth: implications for the origin of life. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 91: 1248-1250.
- Bada J.L., Miller S.L. & Zhao M. 1995. The stability of amino acids at submarine hydrothermal vent temperatures. *Origins Life Evol.Biosphere*. 25: 111-118.
- Bar-Nun A. & Chang S. 1983. Photochemical reactions of water and carbon monoxide in earth's primitive atmosphere. *J.Geophys.Res.* 88: 6662-6672.
- Baross J.A. & Hoffman S.E. 1985. Submarine hydrothermal vents and associated gradient environments as sites for the origin and evolution of life. *Origins of Life*. 15: 327-345.
- Barrault J., Boulinguez M., Forquy C. & Maurel R. 1987. Synthesis of methyl mercaptan from carbon oxides and hydrogen sulfide with tungsten-alumina catalysts. *Appl.Catal.* 33: 309-330.

- Beinert H. 2000. Iron-sulfur proteins: ancient structures, still full of surprises. *J.Biol.Inorg.Chem.* 5: 2-15.
- Berndt M.E., Allen D.E. & Seyfried W.E. 1996. Reduction of CO₂ during serpentinisation of olivine at 300°C and 500bar. *Geol.* 24: 351-354.
- Bernhardt G., Lüdemann H.D., Jaenicke R., König H. & Stetter K.O. 1984. Biomolecules are unstable under "black smoker" conditions. *Naturwissenschaften.* 71: 583-586.
- Bernstein M.P., Sandford S.A. & Allamandola L.J. 1999. Life's far-flung raw materials. *Sci.Am.* 281: 42-49.
- Bertrand M., Bure C., Fleury F. & Brack A. 2001. Prebiotic polymerization of amino acid thioesters on mineral surfaces. *Precursors Challenging Invest.Ser.* 2: 51-60.
- Blanchard A.A., Rafter J.R. & Adams W. 1934. Formation of carbonyls and related compounds. *J.Am.Chem.Soc.* 56: 16-17.
- Blocher M., Liu D. & Luisi P.L. 2000. Liposome-Assisted Selective Polycondensation of α -Amino Acids and Peptides: the Case of Charged Liposomes. *Macromol.* 33: 5787-5796.
- Blocher M., Liu D., Walde P. & Luisi P.L. 1999. Liposome-assisted selective polycondensation of α -amino acids and peptides. *Macromol.* 32: 7332-7334.
- Blöchl E., Keller M., Wächtershäuser G. & Stetter K.O. 1992. Reactions depending on iron sulfide and linking geochemistry with biochemistry. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 89: 8117-8120.
- Bolli M., Micura R. & Eschenmoser A. 1997a. Pyranosyl-RNA: chiroselective self-assembly of base sequences by ligative oligomerization of tetranucleotide-2',3'-cyclophosphates (with a commentary concerning the origin of biomolecular homochirality). *Chem.Biol.* 4: 309-320.
- Bolli M., Micura R., Pitsch S. & Eschenmoser A. 1997b. Pyranosyl-RNA. Further observations on replication. Part 5. *Helv.Chim.Acta.* 80: 1901-1951.
- Brack A. 2007. From interstellar amino acids to prebiotic catalytic peptides: a review. *Chem.Biodiversity.* 4: 665-679.
- Brandes J.A., Boctor N.Z., Cody G.D., Cooper B.A., Hazen R.M. & Yoder H.S. 1998. Abiotic nitrogen reduction on the early Earth. *Nature.* 395: 365-367.
- Briggs R., Ertem G., Ferris J.P., Greenberg J.M., McCain P.J., Mendoza-Gomez C.X. & Schutte W. 1992. Comet Halley as an aggregate of interstellar dust and further evidence for the photochemical formation of organics in the interstellar medium. *Origins Life Evol.Biospheres.* 22: 287-307.
- Brinton K.L.F., Engrand C., Glavin D.P., Bada J.L. & Maurette M. 1998. A search for extraterrestrial amino acids in carbonaceous Antarctic micrometeorites. *Origins Life Evol.Biospheres.* 28: 413-424.
- Buchanan B.B. & Evans M.C.W. 1966. The synthesis of phosphoenolpyruvate from pyruvate and ATP by extracts of photosynthetic bacteria. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 22: 484-487.

- Budzikiewicz H., Djerassi C. & Williams D.H. 1967. *Mass Spectrometry of Organic Compounds*. Holden-Day. 186
- Butler I.B. & Rickard D. 2000. Framboidal pyrite formation via the oxidation of iron (II) monosulfide by hydrogen sulphide. *Geochim.Cosmochim.Acta*. 64: 2665-2672.
- Cairns-Smith A.G. 1977. Takeover mechanisms and early biochemical evolution. *BioSystems*. 9: 105-109.
- Cairns-Smith A.G. 1978. Precambrian solution photochemistry, inverse segregation, and banded iron formations. *Nature*. 276: 807-808.
- Cairns-Smith A.G. 1990. *Seven clues to the origin of Life : A scientific detective story*. Cambridge University Press.
- Cairns-Smith A.G. & Walker G.L. 1974. Primitive metabolism. *Current.Mod.Biol*. 5: 173-186.
- Cairns-Smith A.G., Hall A.J. & Russell M.J. 1992. Mineral theories of the origin of life and an iron sulfide example. *Origins Life Evol.Biospheres*. 22: 161-180.
- Cairns-Smith A.G. 1982. *Genetic takeover and the mineral origins of Life*. Cambridge University Press.
- Caro G.M.M., Ruitkamp R., Schutte W.A., Greenberg J.M. & Mennella V. 2001. UV photodestruction of CH bonds and the evolution of the 3.4 mm feature carrier. Part 1. The case of aliphatic and aromatic molecular species. *Astron.Astrophys*. 367: 347-354.
- Charlou J.L., Donval J.P., Douville E., Jean-Baptiste P., Radford-Knoery J., Fouquet Y., Dapoigny A. & Stievenard M. 2000. Compared geochemical signatures and the evolution of Menez Gwen (37°50'N) and Lucky Strike (37°17'N) hydrothermal fluids, south of the Azores Triple Junction on the Mid-Atlantic Ridge. *Chem.Geol*. 171: 49-75.
- Charlou J.L., Donval J.P., Fouquet Y., Jean-Baptiste P. & Holm N. 2002. Geochemistry of high H₂ and CH₄ vent fluids issuing from ultramafic rocks at the Rainbow hydrothermal field (36°14'N, MAR). *Chem.Geol*. 191: 345-359.
- Charlou J.L., Fouquet Y., Bougault H., Donval J.P., Etoubleau J., Jean-Baptiste P., Dapoigny A., Appriou P. & Rona P.A. 1998. Intense CH₄ plumes generated by serpentinization of ultramafic rocks at the intersection of the 15°20'N fracture zone and the Mid-Atlantic Ridge . *Geochim.Cosmochim.Acta*. 62: 2323-2333.
- Charlou J.L., Fouquet Y., Donval J.P., Auzende J.M., Jean-Baptiste P., Stievenard M. & Michel S. 1996. Mineral and gas chemistry of hydrothermal fluids on an ultrafast spreading ridge: East Pacific Rise, 17° to 19°S (Naudur cruise, 1993) phase separation processes controlled by volcanic and tectonic activity. *J.Geophys.Res*. 101: 15899-15919.
- Chen F. & Yang D. 2007. Condensation of amino acids to form peptides in aqueous solution induced by the oxidation of sulfur(IV): an oxidative model for prebiotic peptide formation. *Origins Life Evol.Biosphere*. 37: 47-54.

- Chen I.A., Salehi-Ashtiani K. & Szostak J.W. 2005. RNA catalysis in model protocell vesicles. *J.Am.Chem.Soc.* 127: 13213-13219.
- Chen J.T. & Sen A. 1984. Mechanism of transition-metal-catalyzed double carbonylation reactions. Synthesis and reactivity of benzoylformyl complexes of palladium(II) and platinum(II). *J.Am.Chem.Soc.* 106: 1506-1507.
- Chisholm M.H. & Rothwell I.P. 1982. Chemical reactions of metal-metal bonded compounds of the transition elements. *Prog.Inorg.Chem.* 29: 1-72.
- Chyba C. & Sagan C. 1992. Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life. *Nature.* 355: 125-132.
- Chyba C.F. 2005. Atmospheric science. Rethinking Earth's early atmosphere. *Science.* 308: 962-963.
- Chyba C.F. & Sagan C. 1997. Comets as a source of prebiotic organic molecules for the early Earth. Dans : Thomas P.J., Mc Kay C.P. & Chyba C.F., eds. *Comets and the Origin and Evolution of Life.* Springer, 147.
- Cleaves H., Chalmers J., Lazcano A., Miller S. & Bada J. 2008. A reassessment of prebiotic organic synthesis in neutral planetary atmospheres. *Origins Life Evol.Biospheres.* 38: 105-115.
- Cody G.D., Boctor N.Z., Brandes J.A., Filley T.R., Hazen R.M. & Yoder H.S. 2004a. Assaying the catalytic potential of transition metal sulfides for abiotic carbon fixation. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 68: 2185-2196.
- Cody G.D., Boctor N.Z., Hazen R.M., Brandes J.A., Morowitz H.J. & Yoder Jr H.S. 2001. Geochemical roots of autotrophic carbon fixation: Hydrothermal experiments in the system citric acid, H₂O-(±FeS)-(±NiS). *Geochim.Cosmochim.Acta.* 65: 3557-3576.
- Cody G.D. 2004. Transition metal sulfides and the origins of metabolism. *Annu.Rev.Earth Planet.Sci.* . 32: 569-599.
- Cody G.D., Boctor N.Z., Brandes J., Hazen R.M. & Filley T. Assaying the catalytic activity of transition metal sulfides for the promotion of abiotic carbon fixation. 2004b. Abstracts of Papers, 228th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, United States, August 22-26, 2004.
- Cody G.D., Boctor N.Z., Filley T.R., Hazen R.M., Scott J.H., Sharma A. & Yoder H.S., Jr. 2000. Primordial carbonylated iron-sulfur compounds and the synthesis of pyruvate. *Science.* 289: 1337-1340.
- Cole W.J., Kaschke M., Sherringham J.A., Curry G.B., Turner D. & Russell M.J. 1994. Can amino acids be synthesized by H₂S in anoxic lakes? *Mar.Chem.* 45: 243-256.
- Corliss J.B., Baross J.A. & Hoffman S.E. 1981. An hypothesis concerning the relationship between submarine hot springs and the origin of life on Earth. *Oceanol.Acta.* 4: 59-69.
- Coumou D., Driesner T. & Heinrich C.A. 2008. The Structure and Dynamics of Mid-Ocean Ridge Hydrothermal Systems. *Science.* 321: 1825-1828.

- Crabtree R.H. 1997. Where Smokers Rule. *Science*. 276: 222.
- Crabtree R.H. 2009a. Insertion and elimination. Reactions involving CO. Dans : *The Organometallic Chemistry of the Transition Metals*. Wiley, 179-184.
- Crabtree R.H. 2009b. Nucleophilic and electrophilic addition and abstraction. Nucleophilic addition to CO. Dans : *The Organometallic Chemistry of the Transition Metals*. Wiley, 202-203.
- Crabtree R.H. 2009c. Oxidative addition and reductive elimination. Dans : *The Organometallic Chemistry of the Transition Metals*. Wiley, 153-176.
- Crick F.H.C. 1968. Origin of the genetic code. *J.Mol.Biol.* 38: 367-379.
- Cronin J. 1998. Clues from the origin of the Solar System: meteorites. Dans : Brack A., ed. *The Molecular Origins of Life*. Cambridge University Press, 119-146.
- Cronin J.R. & Pizzarello S. 1999. Amino acid enantiomer excesses in meteorites: origin and significance. *Adv.Space Res.* 23: 293-299.
- Cronin J.R. & Pizzarello S. 1997. Enantiomeric excesses in meteoritic amino acids. *Science*. 275: 951-955.
- Cruse A.M. & Seewald J.S. 2006. Geochemistry of low-molecular weight hydrocarbons in hydrothermal fluids from Middle Valley, northern Juan de Fuca Ridge. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 70: 2073-2092.
- De Duve C. 1996a. *Poussière de vie. Une histoire du vivant*. Fayard.
- De Duve C. 1996b. *Vital dust: Life as a cosmic imperative*. Basic Books.
- De Duve C. Clues from present-day biology: the thioester world. 1998. Conference Proceeding. *Molecular Origins of Life*.
- De Duve C. & Miller S.L. 1991. Two-dimensional life? *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 88: 10014-10017.
- Deamer D.W. 1998. Membrane compartments in prebiotic evolution. Dans : Brack A., ed. *The molecular origins of life: assembling pieces of the puzzle*. Cambridge University Press, 189-205.
- Decker R. & Decker B. 1997. *Volcanoes* .
- Delsemme A.H. 1992. Cometary origin of carbon, nitrogen and water on the Earth. *Origins Life Evol.Biospheres.* 21: 279-298.
- Des Abbayes H. & Salauen J.Y. 2003. Double carbonylation and beyond: systems at work and their organometallic models. *Dalton Trans.* 1041-1052.
- Doherty N.M. & Bercaw J.E. 1985. Kinetics and mechanism of the insertion of olefins into transition metal-hydride bonds. *J.Am.Chem.Soc.* 107: 2670-2682.

Dorr M., Kassbohrer J., Grunert R., Kreisel G., Brand W.A., Werner R.A., Geilmann H., Apfel C., Robl C. & Weigand W. 2003. A possible prebiotic formation of ammonia from dinitrogen on iron sulfide surfaces. *Angew.Chem., Int.Ed.* 42: 1540-1543.

Douville E., Charlou J.L., Oelkers E.H., Bienvu P., Jove Colon C.F., Donval J.P., Fouquet Y., Prieur D. & Appriou P. 2002. The Rainbow vent fluids (36°14'N, MAR): the influence of ultramafic rocks and phase separation on trace metal content in Mid-Atlantic Ridge hydrothermal fluids. *Chem.Geol.* 184: 37-48.

Drennan C.L. & Peters J.W. 2003. Surprising cofactors in metalloenzymes. *Curr.Opin.Struct.Biol.* 13: 220-226.

Drobner E., Huber H., Wächtershäuser G., Rose D. & Stetter K.O. 1990. Pyrite formation linked with hydrogen evolution under anaerobic conditions. *Nature.* 346: 742-744.

Dubant S. 2004. Thèse en chimie : Molécules d'intérêt prébiotique dans des simulations d'événements hydrothermaux : vers la synthèse d'acides *n*-carboxyliques. Université Louis Pasteur de Strasbourg, France.

Ducluzeau A.L., van Lis R., Duval S., Schoepp-Cothenet B., Russell M.J. & Nitschke W. 2009. Was nitric oxide the first deep electron sink? *Trends Biochem.Sci.* 34: 9-15.

Dyson F.J. 1982. A model for the origin of life. *J.Mol.Evol.* 18: 344-350.

Dyson F.J. 1985. *Origins of Life*. Cambridge University Press.

Edmond J.M. & Von Damm K. 1983. Hot springs on the ocean floor. *Sci.Am.* 248: 78-84, 86, 88.

Ehrenfreund P., Glavin D.P., Botta O., Cooper G. & Bada J.L. 2001. Extraterrestrial amino acids in Orgueil and Ivuna: Tracing the parent body of CI type carbonaceous chondrites. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 98: 2138-2141.

Eigen M. 1971. Self-organization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften.* 58: 465-523.

Eiler J.M. 2007. The oldest fossil or just another rock? *Science.* 317: 1046-1047.

Einsle O., Tezcan F.A., Andrade S.L.A., Schmid B., Yoshida M., Howard J.B. & Rees D.C. 2002. Nitrogenase MoFe-protein at 1.16 Å. Resolution: A central ligand in the FeMo-cofactor. *Science.* 297: 1696-1700.

Eldjarn L. & Pihl A. 1957. Equilibrium constants and oxidation-reduction potentials of some thiol-disulfide systems. *J.Am.Chem.Soc.* 79: 4589-4593.

Elsila J.E., Dworkin J.P., Bernstein M.P., Martin M.P. & Sandford S.A. 2007. Mechanisms of amino acid formation in interstellar ice analogs. *Astrophys.J.* 660: 911-918.

Engel M.H. & Macko S.A. 2001. The stereochemistry of amino acids in the Murchison meteorite. *Precambrian Res.* 106: 35-45.

Evans M.C.W., Buchanan B.B. & Arnon D.I. 1966. A new ferredoxin-dependent carbon reduction cycle in a photosynthetic bacterium. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 55: 928-934.

Faraji F., Safarik I., Strausz O.P., Torres M.E. & Yildirim E. 1996. CO-Catalyzed Conversion of H₂S to H₂ + S. 1. Reaction between CO and H₂S. *Ind.Eng.Chem.Res.* 35: 3854-3860.

Ferris J.P., Donner D.B. & Lobo A.P. 1973a. Chemical evolution. XI. Possible role of hydrogen cyanide in chemical evolution. Proposed direct synthesis of peptides from hydrogen cyanide. *J.Mol.Biol.* 74: 499-510.

Ferris J.P., Donner D.B. & Lobo A.P. 1973b. Chemical evolution. XII. Possible role of hydrogen cyanide in chemical evolution. Oligomerization and condensation of hydrogen cyanide. *J.Mol.Biol.* 74: 511-518.

Ferris J.P., Joshi P.C., Wang K.J., Miyakawa S. & Huang W. 2004. Catalysis in prebiotic chemistry: application to the synthesis of RNA oligomers. *Adv.Space Res.* 33: 100-105.

Ferris J.P., Wos J.D., Nooner D.W. & Oro J. 1974. Chemical evolution. XXI. Amino acids released on hydrolysis of hydrogen cyanide oligomers. *J.Mol.Evol.* 3: 225-231.

Ferris J.P. & Delano J.W. 2007. The RNA World scenario for the origins of life. *ACS Symp.Ser.* 981: 293-308.

Ferris J.P., Gluszak G.J., Delano J.W., Joshi P.C., Aldersley M.F. & Price J.D. Prebiotic synthesis: Organic chemistry and catalysis. 2007. Abstracts of Papers, 233rd ACS National Meeting, Chicago, IL, United States, March 25-29, 2007.

Ferris J.P., Joshi P.C., Aldersley M.F. & Delano J.W. An RNA world scenario for the origin of life: Montmorillonite clay-catalyzed formation of RNA oligomers and their binding to nucleotides and amino acids. 2008. Abstracts of Papers, 235th ACS National Meeting, New Orleans, LA, United States, April 6-10, 2008.

Foustoukos D.I. & Seyfried W.E., Jr. 2004. Hydrocarbons in hydrothermal vent fluids: The role of chromium-bearing catalysts. *Science.* 304: 1002-1005.

Frost R.B. 1985. On the Stability of Sulfides, Oxides, and Native Metals in Serpentine. *J.Petrology.* 26: 31-63.

Früh-Green G.L., Kelley D.S., Bernasconi S.M., Karson J.A., Ludwig K.A., Butterfield D.A., Boschi C. & Proskurowski G. 2003. 30,000 years of hydrothermal activity at the lost city vent field. *Science.* 301: 495-498.

Fu Q., Sherwood Lollar B., Horita J., Lacrampe-Couloume G. & Seyfried J. 2007. Abiotic formation of hydrocarbons under hydrothermal conditions: Constraints from chemical and isotope data. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 71: 1982-1998.

Furuya M., Tsutsuminai S., Nagasawa H., Komine N., Hirano M. & Komiya S. 2003. Catalytic synthesis of thiobutyrolactones via CO insertion into the C-S bond of thietanes in the presence of a heterodinuclear organoplatinum-cobalt complex. *Chem.Commun.* 2046-2047.

- Gamo T. 1995. Wide variation of chemical characteristics of submarine hydrothermal fluids due to secondary modification processes after high temperature water-rock interaction : a review. Dans : Sakai H. & Nozaki Y., eds. *Biogeochemical Processes and Ocean Flux in the Western Pacific*. Terra Scientific Publishing Company (TERRAPUB), 425-451.
- Gamo T., Chiba H., Yamanaka T., Okudaira T., Hashimoto J., Tsuchida S., Ishibashi J.i., Kataoka S., Tsunogai U., Okamura K., Sano Y. & Shinjo R. 2001. Chemical characteristics of newly discovered black smoker fluids and associated hydrothermal plumes at the Rodriguez Triple Junction, Central Indian Ridge. *Earth Planet.Sci.Lett.* 193: 371-379.
- Gardinier A., Derenne S., Robert F., Behar F., Largeau C. & Maquet J. 2000. Solid state CP/MAS ^{13}C NMR of the insoluble organic matter of the Orgueil and Murchison meteorites: quantitative study. *Earth Planet.Sci.Lett.* 184: 9-21.
- Gibb E.L., Whittet D.C.B., Boogert A.C.A. & Tielens A.G.G.M. 2004. Interstellar ice. The Infrared space observatory legacy. *Astrophys.J. Suppl.Ser.* 151: 35-73.
- Gibb E.L., Whittet D.C.B. & Chiar J.E. 2001. Searching for ammonia in grain mantles toward massive young stellar objects. *Astrophys.J.* 558: 702-716.
- Gilbert W. 1986. Origin of life: The RNA world. *Nature.* 319: 618.
- Gough D.O. 1981. Solar interior structure and luminosity variations. *Solar Physics.* 74: 21-34.
- Graaf-Hess A., Trijbels F. & Blom H. 1999. New method for determining cystine in leukocytes and fibroblasts. *Clin.Chem.* 45: 2224-2228.
- Graupner T., Bray C.J., Spooner E.T.C. & Herzig P.M. 2001. Analysis of fluid inclusions in seafloor hydrothermal precipitates: testing and application of an integrated GC/IC technique. *Chem.Geol.* 177: 443-470.
- Greenberg J.M. 1993. Physical and chemical composition of comets-from interstellar space to the earth. *NATO ASI Ser., Ser.C.* 416: 195-207.
- Greenberg J.M., Kouchi A., Niessen W., Irth H., Paradijs J., Groot M. & Hermsen W. 1995. Interstellar dust, chirality, comets and the origins of life: Life from dead stars? *J.Biol.Phys.* 20: 61-70.
- Guerrier-Takada C., Gardiner K., Marsh T., Pace N. & Altman S. 1983. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme. *Cell.* 35: 849-857.
- Guzman M.I. & Martin S.T. 2008. Oxaloacetate-to-malate conversion by mineral photoelectrochemistry: implications for the viability of the reductive tricarboxylic acid cycle in prebiotic chemistry. *Int.J.Astrobiol.* 7: 271-278.
- Guzman M.I. & Martin S.T. 2009. Prebiotic metabolism: production by mineral photoelectrochemistry of alpha-ketocarboxylic acids in the reductive tricarboxylic acid cycle. *Astrobiol.* 9: 833-842.
- Hafenbradl D., Keller M., Wächtershäuser G. & Stetter K.O. 1995. Primordial amino acids by reductive amination of alpha-oxo acids in conjunction with the oxidative formation of pyrite. *Tetrahedron Lett.* 36: 5179-5182.

- Halpern J. 1970. Oxidative-addition reactions of transition metal complexes. *Acc.Chem.Res.* 3: 386-392.
- Halpern J. 1982. Binuclear oxidative addition-reductive elimination reactions. *Inorg.Chim.Acta.* 62: 31-37.
- Hanczyc M.M., Fujikawa S.M. & Szostak J.W. 2003. Experimental models of primitive cellular compartments: Encapsulation, growth, and division. *Science.* 302: 618-622.
- Hanczyc M.M., Mansy S.S. & Szostak J.W. 2007. Mineral Surface Directed Membrane Assembly. *Origins Life Evol.Biospheres.* 37: 67-82.
- Hartman H. 1975. Speculations on the origin and evolution of metabolism. *J.Mol.Evol.* 4: 359-370.
- Hebting Y., Schaeffer P., Behrens A., Adam P., Schmitt G., Schneckenburger P., Bernasconi S.M. & Albrecht P. 2006. Biomarker evidence for a major preservation pathway of sedimentary organic carbon. *Science.* 312: 1627-1631.
- Heinen W. & Lauwers A.M. 1996. Organic sulfur compounds resulting from the interaction of iron sulfide, hydrogen sulfide and carbon dioxide in an anaerobic aqueous environment. *Origins Life Evol.Biosphere.* 26: 131-150.
- Hekinian R. Undersea volcanoes. *Sci.Am.* **251**[1], 34-43. 1984.
- Hekinian R., Fevrier M., Bischoff J.L., Picot P. & Shanks W.C. 1980. Sulfide deposits from the East Pacific Rise near 20°N. *Science.* 207: 1433-1444.
- Hennet R.J.C., Holm N.G. & Engel M.H. 1992. Abiotic synthesis of amino acids under hydrothermal conditions and the origin of life: a perpetual phenomenon? *Naturwissenschaften.* 79: 361-365.
- Hill H.G.M. & Nuth J.A. 2003. The catalytic potential of cosmic dust: Implications for prebiotic chemistry in the solar nebula and other protoplanetary systems. *Astrobiol.* 3: 291-304.
- Hitz T. & Luisi P.L. 2001. Liposome-assisted selective polycondensation of α -amino acids and peptides. *Biopolymers.* 55: 381-390.
- Holland H.D. 1984. *The chemical evolution of the atmosphere and oceans.* Princeton University Press.
- Holm N.G. 1992. Chapter 1 Why are hydrothermal systems proposed as plausible environments for the origin of life? *Origins Life Evol.Biosphere.* 22: 5-14.
- Holm N.G. & Andersson E.M. 1995. Abiotic synthesis of organic compounds under the conditions of submarine hydrothermal systems: a perspective. *Planet.Space Sci.* 43: 153-159.
- Holm N.G. & Charlou J.L. 2001. Initial indications of abiotic formation of hydrocarbons in the Rainbow ultramafic hydrothermal system, Mid-Atlantic Ridge. *Earth Planet.Sci.Lett.* 191: 1-8.

- Huber C. & Wächtershäuser G. 1997. Activated acetic acid by carbon fixation on (Fe,Ni)S under primordial conditions. *Science*. 276: 245-247.
- Huber C. & Wächtershäuser G. 1998. Peptides by activation of amino acids with CO on (Ni,Fe)S surfaces: implications for the origin of life. *Science*. 281: 670-674.
- Huber C. & Wächtershäuser G. 2003. Primordial reductive amination revisited. *Tetrahedron Lett.* 44: 1695-1697.
- Huber C. & Wächtershäuser G. 2006. alpha-Hydroxy and alpha-amino acids under possible Hadean, volcanic origin-of-life conditions. *Science*. 314: 630-632.
- Imai E.I., Honda H., Hatori K., Brack A. & Matsuno K. 1999. Elongation of oligopeptides in a simulated submarine hydrothermal system. *Science*. 283: 831-833.
- Ishikawa K., Sato K., Shima Y., Urabe I. & Yomo T. 2004. Expression of a cascading genetic network within liposomes. *FEBS Lett.* 576: 387-390.
- Johnson D.C., Dean D.R., Smith A.D. & Johnson M.K. 2005. Structure, function, and formation of biological Iron-sulfur clusters. *Annu.Rev.Biochem.* 74: 247-281.
- Johnson H.P. & Pruis M.J. 2003. Fluxes of fluid and heat from the oceanic crustal reservoir. *Earth Planet.Sci.Lett.* 216: 565-574.
- Jones W.D. & Chin R.M. 1994. Carbon-sulfur bond cleavage by cobalt. Reaction of CpCo(C₂H₄)₂ with dibenzothiophene. *J.Organomet.Chem.* 472: 311-316.
- Joshi P., Pitsch S. & Ferris J. 2007. Selectivity of montmorillonite catalyzed prebiotic reactions of D, L-nucleotides. *Origins Life Evol.Biospheres.* 37: 3-26.
- Joshi P.C., Aldersley M.F., Delano J.W. & Ferris J.P. 2009. Mechanism of Montmorillonite catalysis in the formation of RNA oligomers. *J.Am.Chem.Soc.* 131: 13369-13374.
- Joyce G.F. & Orgel L.E. 1999. Prospects for understanding the origin of the RNA world. Dans : Gesteland R.F., Cech T.R. & Atkins J.F., eds. *The RNA World*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 49-77.
- Joyce G.F. 1989. RNA evolution and the origins of life. *Nature*. 338: 217-224.
- Kamaluddin Y.H. & Egami F. 1979. Formation of molecules of biological interest from formaldehyde and hydroxylamine in a modified sea medium. *J.Biochem.* 85: 1503-1507.
- Kamyshny A., Goifman A., Rizkov D. & Lev O. 2003. Formation of Carbonyl Sulfide by the Reaction of Carbon Monoxide and Inorganic Polysulfides. *Environ.Sci.Technol.* 37: 1865-1872.
- Kandler O. & Stetter K.O. 1981. Evidence for autotrophic carbon dioxide assimilation in *Sulfolobus brierleyi* via a reductive carboxylic acid pathway. *Zentralbl.Bakteriol., Mikrobiol.Hyg., Abt.1, Orig.C.* 2: 111-121.
- Kaschke M., Russell M.J. & Cole W.J. 1994. [FeS/FeS₂]. A redox system for the origin of life (some experiments on the pyrite-hypothesis). *Origins Life Evol.Biosphere.* 24: 43-56.

- Kasting J.F. & Brown L.L. 1998. The early atmosphere as a source of biogenic compounds. Dans : Brack A., ed. *The molecular origins of life Assembling pieces of the puzzle*. Cambridge University Press, 35-56.
- Kasting J.F. & Howard M.T. 2006. Atmospheric composition and climate on the early Earth. *Phil.Trans.R.Soc.Lond. B: Biol.Sci.* 361: 1733-1742.
- Kauffman S.A. 1986. Autocatalytic sets of proteins. *J.Theor.Biol.* 119: 1-24.
- Kauffman S.A. 1993. *The origins of order: Self-organization and selection in evolution*. Oxford University Press.
- Keefe A.D., Miller S.L., McDonald G. & Bada J. 1995. Investigation of the prebiotic synthesis of amino acids and RNA bases from CO₂ using FeS/H₂S as a reducing agent. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 92: 11904-11906.
- Kelley D.S., Karson J.A., Blackman D.K., Fruh-Green G.L., Butterfield D.A., Lilley M.D., Olson E.J., Schrenk M.O., Roe K.K., Lebon G.T., Rivizzigno P. & the A.T. 2001. An off-axis hydrothermal vent field near the Mid-Atlantic Ridge at 30°N. *Nature.* 412: 145-149.
- Kelley D.S., Karson J.A., Fruh-Green G.L., Yoerger D.R., Shank T.M., Butterfield D.A., Hayes J.M., Schrenk M.O., Olson E.J., Proskurowski G., Jakuba M., Bradley A., Larson B., Ludwig K., Glickson D., Buckman K., Bradley A.S., Brazelton W.J., Roe K., Elend M.J., Delacour A., Bernasconi S.M., Lilley M.D., Baross J.A., Summons R.E. & Sylva S.P. 2005. A serpentinite-hosted ecosystem: the Lost City hydrothermal field. *Science.* 307: 1428-1434.
- Khare B.N. & Sagan C. 1971. Synthesis of cystine in simulated primitive conditions. *Nature.* 232: 577-579.
- Klemperer W. 2006. Interstellar chemistry. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 103: 12232-12234.
- Kobayashi K., Kaneko T., Kouchi A., Hashimoto H., Saito T. & Yamashita M. 1999. Synthesis of amino acids in Earth orbit: Proposal. *Adv.Space Res.* 23: 401-404.
- Kobayashi K., Kaneko T., Saito T. & Oshima T. 1998. Amino acid formation in gas mixtures by high energy particle irradiation. *Origins Life Evol.Biospheres.* 28: 155-165.
- Konn C., Charlou J.L., Donval J.P., Holm N.G., Dehairs F. & Bouillon S. 2009. Hydrocarbons and oxidized organic compounds in hydrothermal fluids from Rainbow and Lost City ultramafic-hosted vents. *Chem.Geol.* 258: 299-314.
- Kuan Y.J., Charnley S.B., Huang H.C., Tseng W.L. & Kisiel Z. 2003. Interstellar glycine. *Astrophys.J.* 593: 848-867.
- Kuhn H. 1972. Self-organization of molecular systems and evolution of the genetic apparatus. *Angew.Chem., Int.Ed.* 11: 798-820.
- Kvenvolden K.A., Lawless J., Pering K., Peterson E., Flores J., Ponnampereuma C., Kaplan I.R. & Moore C. 1970. Evidence for extraterrestrial amino-acids and hydrocarbons in the Murchison meteorite. *Nature.* 228: 923-926.

- Lang S.Q., Butterfield D.A., Schulte M., Kelley D.S. & Lilley M.D. 2010. Elevated concentrations of formate, acetate and dissolved organic carbon found at the Lost City hydrothermal field. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 74: 941-952.
- Langmuir C., Humphris S., Fornari D., Van Dover C., Von Damm K., Tivey M.K., Colodner D., Charlou J.L., Desonie D., Wilson C., Fouquet Y., Klinkhammer G. & Bougault H. 1997. Hydrothermal vents near a mantle hot spot: the Lucky Strike vent field at 37°N on the Mid-Atlantic Ridge. *Earth Planet.Sci.Lett.* 148: 69-91.
- Lehninger A.L., Nelson D.L. & Cox M.M. 2004. *Principles of Biochemistry*. W. H. Freeman.
- Leman L., Orgel L. & Ghadiri M.R. Amino acid condensation mediated by carbonyl sulfide. 2004a. Abstracts of Papers, 228th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, United States, August 22-26, 2004.
- Leman L., Orgel L. & Ghadiri M.R. 2004b. Carbonyl sulfide-mediated prebiotic formation of peptides. *Science.* 306: 283-286.
- Leman L.J., Orgel L.E. & Ghadiri M.R. 2006a. Amino acid dependent formation of phosphate anhydrides in water mediated by carbonyl sulfide. *J.Am.Chem.Soc.* 128: 20-21.
- Leman L.J., Orgel L.E. & Ghadiri M.R. Carbonyl sulfide-mediated synthesis of phosphate anhydrides and amino acid derivatives in water. 2006b. Abstracts of Papers, 232nd ACS National Meeting, San Francisco, CA, United States, Sept. 10-14, 2006.
- Lenarda M., Storaro L. & Ganzerla R. 1996. Hydroformylation of simple olefins catalyzed by metals and clusters supported on unfunctionalized inorganic carriers. *J.Mol.Catal.A: Chem.* 111: 203-237.
- Levy M. & Miller S.L. 1998. The stability of the RNA bases: implications for the origin of life. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 95: 7933-7938.
- Licht S. 1988. Aqueous solubilities, solubility products and standard oxidation-reduction potentials of the metal sulfides. *J.Electrochem.Soc.* 135: 2971-2975.
- Lincoln T.A. & Joyce G.F. 2009. Self-sustained replication of an RNA enzyme. *Science.* 323: 1229-1232.
- Liu R. & Orgel L.E. 1997. Oxidative acylation using thioacids. *Nature.* 389: 52-54.
- Lowe C.U., Rees M.W. & Markham R. 1963. Synthesis of complex organic compounds from simple precursors: formation of amino acids, amino acid polymers, fatty acids, and purines from ammonium cyanide. *Nature.* 199: 219-222.
- Luche S., Diemer H., Tastet C., Chevallet M., Van Dorsselaer A., Leize-Wagner E. & Rabilloud T. 2004. About thiol derivatization and resolution of basic proteins in two-dimensional electrophoresis. *Proteomics.* 4: 551-561.
- Luisi P.L. & Oberholzer T. 2001. Origin of life on Earth: Molecular biology in liposomes as an approach to the minimal cell. Dans : Giovanelli F., ed. *The Bridge between the Big Bang and Biology*. CNR Press, 345-355.

- Luisi P.L. 2002. Toward the engineering of minimal living cells. *Anat.Rec.* 268: 208-214.
- Luisi P.L., Walde P., Blocher M. & Liu D. 2000. Research on the origin of life: Membrane-assisted polycondensations of amino acids and peptides. *Chimia.* 54: 52-53.
- Macdonald K.C. & Luyendyk B.P. The crest of the East Pacific Rise. *Sci.Am.* 244[5], 86-99. 1981.
- Maher K.A. & Stevenson D.J. 1988. Impact frustration of the origin of life. *Nature.* 331: 612-614.
- Manchot W. & Gall H. 1929. Univalent iron, cobalt and nickel. V. The formation of nickel carbonyl. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft [Abteilung] B: Abhandlungen.* 62B: 678-681.
- Mancinelli R.L. & McKay C.P. 1988. The evolution of nitrogen cycling. *Origins Life Evol.Biosphere.* 18: 311-325.
- Marshall W.L. 1994. Hydrothermal synthesis of amino acids. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 58: 2099-2106.
- Martin B.D., Warner K.E. & Norton J.R. 1986. Mechanism of the reaction of a solvated rhenium acyl complex with neutral transition-metal hydrides. Relative nucleophilicity of such hydrides. *J.Am.Chem.Soc.* 108: 33-39.
- Matsuno K. 2004. Prebiotic interplay between fatty acids and amino acids in hydrothermal environments. *Cell.Origin Life Extreme Habitats Astrobiol.* 6: 169-179.
- Maurette M. 1998. Micrometeorites on the early Earth. Dans : Brack A, ed. *The Molecular Origins of Life.* Cambridge University Press, 147.
- Maurette M. 2006. *Micrometeorites and the mysteries of our origins.* Springer Berlin / Heidelberg.
- McCollom T.M. & Seewald J.S. 2001. A reassessment of the potential for reduction of dissolved CO₂ to hydrocarbons during serpentinization of olivine. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 65: 3769-3778.
- McCollom T.M. & Seewald J.S. 2006. Carbon isotope composition of organic compounds produced by abiotic synthesis under hydrothermal conditions. *Earth Planet.Sci.Lett.* 243: 74-84.
- McCollom T.M. & Seewald J.S. 2007. Abiotic synthesis of organic compounds in deep-sea hydrothermal environments. *Chem.Rev.* 107: 382-401.
- Meierhenrich U.J. 2008. *Amino acids and the asymmetry of life caught in the act of formation.* Springer.
- Meierhenrich U.J., Caro G.M., Schutte W.A., Thiemann W.H.P., Barbier B. & Brack A. 2005a. Precursors of biological cofactors from ultraviolet irradiation of circumstellar/interstellar ice analogues. *Chem.Eur.J.* 11: 4895-4900.

- Meierhenrich U.J., Caro G.M.M., Bredehoeft J.H., Jessberger E.K. & Thiemann W.H.P. 2004. Identification of diamino acids in the Murchison meteorite. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 101: 9182-9186.
- Meierhenrich U.J., Nahon L., Alcaraz C., Bredehoft J.H., Hoffmann S.V., Barbier B. & Brack A. 2005b. Asymmetric vacuum UV photolysis of the amino acid leucine in the solid state. *Angew.Chem., Int.Ed.* 44: 5630-5634.
- Mennella V., Caro G.M.M., Ruiterkamp R., Schutte W.A., Greenberg J.M., Brucato J.R. & Colangeli L. 2001. UV photodestruction of CH bonds and the evolution of the 3.4 μm feature carrier. Part 2. The case of hydrogenated carbon grains. *Astron.Astrophys.* 367: 355-361.
- Merlivat L., Pineau F. & Javoy M. 1987. Hydrothermal vent waters at 13° N on the East Pacific Rise: Isotopic composition and gas concentration. *Earth Planet.Sci.Lett.* 84: 100-108.
- Mestres M., Busto O. & Guasch J. 1998. Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile sulphides and disulphides in wine aroma. *J.Chromatogr.A.* 808: 211-218.
- Mestres M., Martí M.P., Busto O. & Guasch J. 1999a. Simultaneous analysis of thiols, sulphides and disulphides in wine aroma by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography. *J.Chromatogr.A.* 849: 293-297.
- Mestres M., Sala C., Martí M.P., Busto O. & Guasch J. 1999b. Headspace solid-phase microextraction of sulphides and disulphides using Carboxen-polydimethylsiloxane fibers in the analysis of wine aroma. *J.Chromatogr.A.* 835: 137-144.
- Miller S.L. 1998. The endogenous synthesis of organic compounds. Dans : Brack A., ed. *The molecular origins of life Assembling pieces of the puzzle*. Cambridge University Press, 59-85.
- Miller S.L. & Bada J.L. 1988. Submarine hot springs and the origin of life. *Nature.* 334: 609-611.
- Miller S.L. & Lazcano A. 1995. The origin of life-did it occur at high temperatures? *J.Mol.Evol.* 41: 689-692.
- Miller S.L. & Schlesinger G. 1984. Carbon and energy yields in prebiotic syntheses using atmospheres containing methane, carbon monoxide and carbon dioxide. *Origins of Life.* 14: 83-90.
- Miller S.L. & Urey H.C. 1959. Organic compound synthesis on the primitive earth. Several questions about the origin of life have been answered, but much remains to be studied. *Science.* 130: 245-251.
- Miller S.L. 1953. A production of amino acids under possible primitive earth conditions. *Science.* 117: 528-529.
- Miller S.L. Proceedings of the first international symposium on the origin of life on the Earth. Clark, F. & Sygne, R.L.M. 123. 1959. Pergamon Press, London.
- Mita H. & Shimoyama A. 1998. a-Aminoisobutyric acid and isovaline in Tokyo Bay sediments. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 62: 47-50.

- Miyakawa S., Yamanashi H., Kobayashi K., Cleaves H.J. & Miller S.L. 2002. Prebiotic synthesis from CO atmospheres: Implications for the origins of life. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 99: 14628-14631.
- Mojzsis S.J., Arrhenius G., McKeegan K.D., Harrison T.M., Nutman A.P. & Friend C.R.L. 1996. Evidence for life on Earth before 3,800 million years ago. *Nature.* 384: 55-59.
- Mojzsis S.J., Harrison T.M. & Pidgeon R.T. 2001. Oxygen-isotope evidence from ancient zircons for liquid water at the Earth's surface 4,300 Myr ago. *Nature.* 409: 178-181.
- Mond L., Hirtz H. & Cowap M.D. 1910. Some new metallic carbonyls. *J.Chem.Soc. Trans.* 97: 798-809.
- Montegrossi G., Tassi F., Minissale A.A., Vaselli O. & Bucciati A. 2008. Natural fluctuation of sulfur species in volcanic fumaroles. *J.Non-Equilib.Thermodyn.* 33: 75-102.
- Morowitz H.J. 1992. *Beginnings of cellular life: Metabolism recapitulates biogenesis.* Yale University Press.
- Morowitz H.J., Kostelnik J.D., Yang J. & Cody G.D. 2000. The origin of intermediary metabolism. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 97: 7704-7708.
- Morowitz H.J., Peterson E. & Chang S. 1995. The synthesis of glutamic acid in the absence of enzymes: implications for biogenesis. *Origins Life Evol.Biosphere.* 25: 395-399.
- Mukhin L.M. 1974. Evolution of organic compounds in volcanic regions. *Nature.* 251: 50-51.
- Munoz Caro G.M., Meierhenrich U., Schutte W.A., Thiemann W.H.P. & Greenberg J.M. 2004. UV-photoprocessing of interstellar ice analogs: Detection of hexamethylenetetramine-based species. *Astron.Astrophys.* 413: 209-216.
- Munoz Caro G.M., Meierhenrich U.J., Schutte W.A., Barbier B., Arcones Segovia A., Rosenbauer H., Thiemann W.H.P., Brack A. & Greenberg J.M. 2002. Amino acids from ultraviolet irradiation of interstellar ice analogues. *Nature.* 416: 403-406.
- Nakatani Y., Plobeck N., Eifler S., Brisson A. & Ourisson G. 1993. Polyprenyl phosphates: do they form vesicles, like natural phospholipids? *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat.Elem.* 77: 125-128.
- Nappa M.J., Santi R., Diefenbach S.P. & Halpern J. 1982. Diverse mechanisms of carbon-hydrogen bond formation through binuclear reductive elimination reactions. *J.Am.Chem.Soc.* 104: 619-621.
- Nelson K.E., Robertson M.P., Levy M. & Miller S.L. 2001. Concentration by evaporation and the prebiotic synthesis of cytosine. *Origins Life Evol.Biosphere.* 31: 221-229.
- Neukum G. 1987. Zur Bildung und frühen Entwicklung der Planeten. Dans : Wilhelm F., ed. *Der Gang der Evolution : die Geschichte des Kosmos, der Erde und des Menschen.* Beck C. H., 28.
- Nicolet Y., Cavazza C. & Fontecilla-Camps J.C. 2002. Fe-only hydrogenases: structure, function and evolution. *J.Inorg.Biochem.* 91: 1-8.

- Noireaux V. & Libchaber A. 2004. A vesicle bioreactor as a step toward an artificial cell assembly. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 101: 17669-17674.
- Nomura Shin-Ichirou M., Tsumoto K., Yoshikawa K., Ourisson G. & Nakatani Y. 2002. Towards proto-cells: "primitive" lipid vesicles encapsulating giant DNA and its histone complex. *Cell.Mol.Biol.Lett.* 7: 245-246.
- Nuevo M., Meierhenrich U.J., Muñoz Caro G.M., Dartois E., d'Hendecourt L., Deboffle D., Auger G., Blanot D., Bredehøft H. & Nahon L. 2006. The effects of circularly polarized light on amino acid enantiomers produced by the UV irradiation of interstellar ice analogs. *Astron.Astrophys.* 457: 741-751.
- Nutman A.P. 2006. Antiquity of the oceans and continents. *Elements.* 2: 223-227.
- Oberholzer T., Albrizio M. & Luisi P.L. 1995a. Polymerase chain reaction in liposomes. *Chem.Biol.* 2: 677-682.
- Oberholzer T., Nierhaus K.H. & Luisi P.L. 1999. Protein expression in liposomes. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 261: 238-241.
- Oberholzer T., Wick R., Luisi P.L. & Biebricher C.K. 1995b. Enzymic RNA replication in self-reproducing vesicles: an approach to a minimal cell. *Biochem.Biophys.* 207: 250-257.
- Ogata Y., Imai E., Honda H., Hatori K. & Matsuno K. 2000. Hydrothermal circulation of seawater through hot vents and contribution of interface chemistry to prebiotic synthesis. *Origins Life Evol.Biosphere.* 30: 527-537.
- Oparin A.I. 1953. *The origin of life.* Dover Publications.
- Orgel L.E. 1968. Evolution of the genetic apparatus. *J.Mol.Biol.* 38: 381-393.
- Orgel L.E. 2003. Some consequences of the RNA World hypothesis. *Origins Life Evol.Biospheres.* 33: 211-218.
- Orgel L.E. 2008. The implausibility of metabolic cycles on the prebiotic Earth. *PLoS Biol.* 6: e18.
- Oro J. 1961. Mechanism of synthesis of adenine from HCN under possible primitive earth conditions. *Nature.* 191: 1193-1194.
- Oro J. & Kamat S.S. 1961. Amino acid synthesis from hydrocyanic acid under possible primitive earth conditions. *Nature.* 190: 442-443.
- Oro J., Kimball A., Fritz R. & Master F. 1959. Amino acid synthesis from formaldehyde and hydroxylamine. *Arch.Biochem.Biophys.* 85: 115-130.
- Oro J. & Kimball A.P. 1962. Synthesis of purines under possible primitive earth conditions. II. Purine intermediates from hydrogen cyanide. *Arch.Biochem.Biophys.* 96: 293-313.
- Oro J., Mills T. & Lazcano A. 1991. Comets and the formation of biochemical compounds on the primitive Earth - A review. *Origins Life Evol.Biospheres.* 21: 267-277.

- Österberg R. 1974. Origins of metal ions in biology. *Nature*. 249: 382-383.
- Owen T., Cess R.D. & Ramanathan V. 1979. Enhanced carbon dioxide greenhouse to compensate for reduced solar luminosity on early Earth. *Nature*. 277: 640-642.
- Peters J.W. 1999. Structure and mechanism of iron-only hydrogenases. *Curr.Opin.Struct.Biol.* 9: 670-676.
- Petersen S., Kuhn K., Kuhn T., Augustin N., Hekinian R., Franz L. & Borowski C. 2009. The geological setting of the ultramafic-hosted Logatchev hydrothermal field (14°45'N, Mid-Atlantic Ridge) and its influence on massive sulfide formation. *Lithos*. 112: 40-56.
- Pizzarello S. & Cronin J.R. 2000. Non-racemic amino acids in the Murray and Murchison meteorites. *Geochim.Cosmochim.Acta*. 64: 329-338.
- Pizzarello S. 2006. The Chemistry of Life's Origin: A Carbonaceous Meteorite Perspective. *Acc.Chem.Res.* 39: 231-237.
- Pizzarello S., Zolensky M. & Turk K.A. 2003. Nonracemic isovaline in the Murchison meteorite: chiral distribution and mineral association. *Geochim.Cosmochim.Acta*. 67: 1589-1595.
- Plankensteiner K., Reiner H., Schranz B. & Rode B.M. 2004. Prebiotic formation of amino acids in a neutral atmosphere by electric discharge. *Angew.Chem., Int.Ed.* 43: 1886-1888.
- Poreda R.J., Nieman R.A., Pizzarello S., Huang Y., Becker L., Poreda R.J., Nieman R.A., Cooper G. & Williams M. 2001. The organic content of the Tagish Lake meteorite. *Science*. 293: 2236-2239.
- Powner M.W., Gerland B. & Sutherland J.D. 2009. Synthesis of activated pyrimidine ribonucleotides in prebiotically plausible conditions. *Nature*. 459: 239-242.
- Proskurowski G., Lilley M.D., Seewald J.S., Fruh-Green G.L., Olson E.J., Lupton J.E., Sylva S.P. & Kelley D.S. 2008. Abiogenic Hydrocarbon Production at Lost City Hydrothermal Field. *Science*. 319: 604-607.
- Ragsdale S.W. 1998. Nickel biochemistry. *Curr.Opin.Chem.Biol.* 2: 208-215.
- Ragsdale S.W. 2008. Enzymology of the Wood-Ljungdahl pathway of acetogenesis. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1125: 129-136.
- Ragsdale S.W. & Kumar M. 1996. Nickel-containing carbon monoxide dehydrogenase/acetyl-CoA synthase. *Chem.Rev.* 96: 2515-2539.
- Ragsdale S.W. & Pierce E. 2008. Acetogenesis and the Wood-Ljungdahl pathway of CO₂ fixation. *Biochim.Biophys.Acta, Proteins Proteomics*. 1784: 1873-1898.
- Rajamani S., Vlassov A., Benner S., Coombs A., Olasagasti F. & Deamer D. 2008. Lipid-assisted synthesis of RNA-like polymers from mononucleotides. *Origins Life Evol.Biospheres*. 38: 57-74.

Rasch G. & Tobisch S. 1987. The insertion reaction of nickel (Ni and Ni₂) into oxygen-hydrogen, sulfur-hydrogen, oxygen-oxygen, and sulfur-sulfur bonds. A CNDO treatment. *Revue Roumaine de Chimie*. 32: 1085-1095.

Rauchfuss H. 1986. Electrochemical series. Dans : CRC press, ed. *Handbook of Chemistry and Physics*. 151-155.

Rauchfuss H. 2008a. Chemical Evolution. Dans : *Chemical Evolution and the Origin of Life*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 87-121.

Rauchfuss H. 2008b. Other Theories and Hypotheses. Dans : *Chemical Evolution and the Origin of Life*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 181-211.

Rauchfuss H. 2008c. Peptides and Proteins: the "Protein World". Dans : *Chemical Evolution and the Origin of Life*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 125-144.

Rauchfuss H. 2008d. The Cosmos, the Solar System and the Primeval Earth. Dans : *Chemical Evolution and the Origin of Life*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 17-39.

Rees D.C. & Howard J.B. 2003. The interface between the biological and inorganic Worlds: Iron-sulfur metalloclusters. *Science*. 300: 929-931.

Remusat L., Derenne S. & Robert F. 2005a. New insight on aliphatic linkages in the macromolecular organic fraction of Orgueil and Murchison meteorites through ruthenium tetroxide oxidation. *Geochim.Cosmochim.Acta*. 69: 4377-4386.

Remusat L., Derenne S., Robert F. & Knicker H. 2005b. New pyrolytic and spectroscopic data on Orgueil and Murchison insoluble organic matter: A different origin than soluble? *Geochim.Cosmochim.Acta*. 69: 3919-3932.

Remusat L., Robert F. & Derenne S. 2007. The insoluble organic matter in carbonaceous chondrites: chemical structure, isotopic composition and origin. *C.R.Geosci*. 339: 895-906.

Rickard D. & Luther III G.W. 1997. Kinetics of pyrite formation by the H₂S oxidation of iron (II) monosulfide in aqueous solutions between 25 and 125°C: The mechanism. *Geochim.Cosmochim.Acta*. 61: 135-147.

Robert F. 2001. Perspectives: Isotope geochemistry-The origin of water on Earth. *Science*. 293: 1056-1058.

Robertson M.P., Levy M. & Miller S.L. 1996. Prebiotic synthesis of diaminopyrimidine and thiocytosine. *J.Mol.Evol*. 43: 543-550.

Rosing M.T. 1999. ¹³C-depleted carbon microparticles in >3700-Ma sea-floor sedimentary rocks from West Greenland. *Science*. 283: 674-676.

Rubey W.W. 1951. Geologic history of sea water. An attempt to state the problem. *Geol.Soc.Am.Bull*. 62: 1111-1148.

Rubey W.W. 1964. Dans : Brancazio P.J.a.C.A.G.W., ed. *The Origin and Evolution of Atmospheres and Oceans*. John Wiley and Sons, 1.

Ruiz-Bermejo M., Menor-Salván C., Osuna-Esteban S. & Veintemillas-Verdaguer S. 2007. Prebiotic microreactors: A synthesis of purines and dihydroxy compounds in aqueous aerosol. *Origins Life Evol.Biospheres*. 37: 123-142.

Rushdi A.I. & Simoneit B.R.T. 2001. Lipid formation by aqueous Fischer-Tropsch-type synthesis over a temperature range of 100 to 400°C. *Origins Life Evol.Biospheres*. 31: 103-118.

Rushdi A.I. & Simoneit B.R.T. 2005. Abiotic synthesis of organic compounds from carbon disulfide under hydrothermal conditions. *Astrobiol.* 5: 749-769.

Russell M.J. & Hall A.J. 1997. The emergence of life from iron monosulfide bubbles at a submarine hydrothermal redox and pH front. *J.Geol.Soc.* 154: 377-402.

Russell M.J., Hall A.J. & Turner D. 1989. In vitro growth of iron sulphide chimneys: possible culture chambers for origin-of-life experiments. *Terra Nova*. 1: 238-241.

Russell M.J., Daniel R.M., Hall A.J. & Sherringham J.A. 1994. A hydrothermally precipitated catalytic iron sulphide membrane as a first step toward life. *J.Mol.Evol.* 39: 231-243.

Sacerdote M.G. & Szostak J.W. 2005. Semipermeable lipid bilayers exhibit diastereoselectivity favoring ribose. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 102: 6004-6008.

Sagan C. & Khare B.N. 1971. Long-wavelength ultraviolet photoproduction of amino acids on the primitive Earth. *Science*. 173: 417-420.

Sagan C. & Mullen G. 1972. Earth and Mars. Evolution of atmospheres and surface temperatures. *Science*. 177: 52-56.

Sahaf B., Heydari K., Herzenberg L.A. & Herzenberg L.A. 2003. Lymphocyte surface thiol levels. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 100: 4001-4005.

Saladino R. Origins of RNA: prebiotic syntheses from formamide. 2006. Abstracts, 58th Southeast Regional Meeting of the American Chemical Society, Augusta, GA, United States, November 1-4.

Saladino R., Crestini C., Costanzo G. & DiMauro E. 2005. On the prebiotic synthesis of nucleobases, nucleotides, oligonucleotides, pre-RNA and pre-DNA molecules. *Top.Curr.Chem.* 259: 29-68.

Saladino R., Neri V. & Crestini C. 2010. Role of clays in the prebiotic synthesis of sugar derivatives from formamide. *Philos.Mag.* 90: 2329-2337.

Saladino R., Neri V., Crestini C., Costanzo G., Graciotti M. & Di Mauro E. 2008. Synthesis and degradation of nucleic acid components by formamide and iron sulfur minerals. *J.Am.Chem.Soc.* 130: 15512-15518.

Salgado-Petinal C., Alzaga R., Garcia-Jares C., Llompart M. & Bayona J.M. 2005. Low part per trillion determination of reactive alkanethiols in wastewater by in situ derivatization-solid-phase microextraction followed by GC/MS. *Analytica.* 77: 6012-6018.

- Sayle R. 2010. So you think you understand tautomerism? *J.Comput.-Aided Mol.Des.* 24: 485-496.
- Schaefer S., Barkowski C. & Fuchs G. 1986. Carbon assimilation by the autotrophic thermophilic archaebacterium *Thermoproteus neutrophilus*. *Arch.Microbiol.* 146: 301-308.
- Schauder R., Widdel F. & Fuchs G. 1987. Carbon assimilation pathways in sulfate-reducing bacteria. II. Enzymes of a reductive citric acid cycle in the autotrophic *Desulfobacter hydrogenophilus*. *Arch.Microbiol.* 148: 218-225.
- Schidlowski M. 1988. A 3,800-million-year isotopic record of life from carbon in sedimentary rocks. *Nature.* 333: 313-318.
- Schlesinger G. & Miller S.L. 1983. Prebiotic synthesis in atmospheres containing methane, carbon monoxide, and carbon dioxide. II. Hydrogen cyanide, formaldehyde and ammonia. *J.Mol.Evol.* 19: 383-390.
- Schneckenburger P., Adam P. & Albrecht P. 1998. Thioketones as key intermediates in the reduction of ketones to thiols by HS in natural environments. *Tetrahedron Lett.* 39: 447-450.
- Schoonen M.A.A., Xu Y. & Bebie J. 1999. Energetics and kinetics of the prebiotic synthesis of simple organic acids and amino acids with the FeS-H₂S/FeS₂ redox couple as reductant. *Origins Life Evol.Biospheres.* 29: 5-32.
- Schopf J.W. 1999. *Cradle of Life*. Princeton University Press.
- Schouten S., De Graaf W., Damste J.S.S., Van Driel G.B. & De Leeuw J.W. 1994. Laboratory simulation of natural sulphurization: II. Reaction of multi-functionalized lipids with inorganic polysulfides at low temperatures. *Org.Geochem.* 22: 825-834.
- Schwartz A.W. 2007. Intractable mixtures and the origin of life. *Chem.Biodiversity.* 4: 656-664.
- Schwartz A.W., Joosten H. & Voet A.B. 1982. Prebiotic adenine synthesis via hydrogen cyanide oligomerization in ice. *BioSystems.* 15: 191-193.
- Segre D., Ben Eli D., Deamer D.W. & Lancet D. 2001. The lipid world. *Origins Life Evol.Biosphere.* 31: 119-145.
- Shapiro R. 2000. A replicator was not involved in the origin of life. *IUBMB Life.* 49: 173-176.
- Shapiro R. 2002. Présentation orale ISSOL 2002 : Monomerworld . *Origins Life Evol.Biospheres.* 33: 270.
- Shapiro R. Monomer world: Small molecules in the origin of life. 2004. Abstracts of Papers, 228th ACS National Meeting, Philadelphia, PA, United States, August 22-26, 2004.
- Shapiro R. 2006. Small molecule interactions were central to the origin of life. *Q.Rev.Biol.* 81: 105-125.
- Shapiro R. 2007. A simpler origin for life. *Sci.Am.* 296: 46-53.

Sherwood Lollar B., Westgate T.D., Ward J.A., Slater G.F. & Lacrampe-Couloume G. 2002. Abiogenic formation of alkanes in the Earth's crust as a minor source for global hydrocarbon reservoirs. *Nature*. 416: 522-524.

Shiba H., Kawasumi T., Igarashi Y., Kodama T. & Minoda Y. 1985. The CO₂ assimilation via the reductive tricarboxylic acid cycle in an obligately autotrophic, aerobic hydrogen-oxidizing bacterium, *Hydrogenobacter thermophilus*. *Arch.Microbiol.* 141: 198-203.

Shimoyama A., Hagishita S. & Harada K. 1990. Search for nucleic acid bases in carbonaceous chondrites from Antarctica. *Geochem.J.* 24: 343-348.

Shinoda K. 1954. Influence of the addition of alcohol on critical micelle concentration. *Nippon Kagaku Kaishi (1921-47)*. Pure Chem. Sect. 75: 1311-1314.

Shinoda K. & Kinoshita K. 1954. Critical concentration for micelle formation and its aggregation number in aqueous solutions of paraffin-chain salts. *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 27: 73-76.

Shukla R.S., Bhatt S.D., Thorat R.B. & Jasra R.V. 2005. A novel effective hydration of carbon monoxide in liquid phase by a water-soluble ruthenium complex catalyst at moderate pressures in aqueous medium. *Appl.Catal. A: General*. 294: 111-118.

Simoneit B.R.T., Goodfellow W.D. & Franklin J.M. 1992. Hydrothermal petroleum at the seafloor and organic matter alteration in sediments of Middle Valley, Northern Juan de Fuca Ridge. *Appl.Geochem.* 7: 257-264.

Simoneit B.R.T. 1995. Evidence for organic synthesis in high temperature aqueous media - Facts and prognosis. *Origins Life Evol.Biospheres*. 25: 119-140.

Sleep N.H., Zahnle K. & Neuhoff P.S. 2001. Initiation of clement surface conditions on the earliest Earth. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 98: 3666-3672.

Smith E. & Morowitz H.J. 2004. Universality in intermediary metabolism. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 101: 13168-13173.

Springsteen G. & Joyce G.F. 2004. Selective derivatization and sequestration of ribose from a prebiotic mix. *J.Am.Chem.Soc.* 126: 9578-9583.

Stano P., Wehrli E. & Luisi P.L. 2006. Insights into the self-reproduction of oleate vesicles. *J.Phys.: Condens.Matter*. 18: S2231-S2238.

Stano P., Kuruma Y., Pereira d.S. & Luisi P.L. 2010. Biosynthesis of proteins inside liposomes. *Methods Mol.Biol.* 606: 127-145.

Strecker A. 1850. Ueber die künstliche Bildung der Milchsäure und einen neuen, dem Glycocoll homologen Körper. *Annalen der Chemie und Pharmacie*. 75: 27-45.

Strecker A. 1854. Ueber einen neuen aus Aldehyd - Ammoniak und Blausäure entstehenden Körper. *Annalen der Chemie und Pharmacie*. 91: 349-351.

- Studier M.H., Hayatsu R. & Anders E. 1972. Origin of organic matter in early solar system. V. Further studies of meteoritic hydrocarbons and a discussion of their origin. *Geochim.Cosmochim.Acta.* 36: 189-215.
- Summers D.P. 2005. Ammonia formation by the reduction of nitrite/nitrate by FeS: ammonia formation under acidic conditions. *Origins Life Evol.Biospheres.* 35: 299-312.
- Summers D.P. & Chang S. 1993. Prebiotic ammonia from reduction of nitrite by iron (II) on the early Earth. *Nature.* 365: 630-633.
- Szathmary E. 2000. The evolution of replicators. *Philos.Trans.R.Soc.Lond. B Biol.Sci.* 355: 1669-1676.
- Szostak J.W., Bartel D.P. & Luisi P.L. 2001. Synthesizing life. *Nature.* 409: 387-390.
- Takakura K., Toyota T. & Sugawara T. 2003. A Novel system of self-reproducing giant vesicles. *J.Am.Chem.Soc.* 125: 8134-8140.
- Teerikorpi P., Valtonen M., Lehto H., Lehto K., Chernin A. & Byrd G. 2009. Emergence and Evolution of Life. Dans : *The Evolving Universe and the Origin of Life. The Search for Our Cosmic Roots.* Springer Science+Business Media, 411-432.
- Tian F., Toon O.B., Pavlov A.A. & De Sterck H. 2005. A hydrogen-rich early Earth Atmosphere. *Science.* 308: 1014-1017.
- Tributsch H., Fiechter S., Jokisch D., Rojas-Chapana J. & Ellmer K. 2003. Photoelectrochemical power, chemical energy and catalytic activity for organic evolution on natural pyrite interfaces. *Origins Life Evol.Biospheres.* 33: 129-162.
- Trinks H., Schroder W. & Biebricher C.K. 2005. Ice and the origin of life. *Origins Life Evol.Biosphere.* 35: 429-445.
- van Berkel W.J., Weijer W.J., Muller F., Jekel P.A. & Beintema J.J. 1984. Geochemical Journal. *Eur.J.Biochem.* 145: 245-256.
- Vit Z., Portefaix J.L. & Breysse M. 1994. Hydroformylation of ethylene over cobalt, nickel, molybdenum, CoMo and NiMo alumina supported sulfide catalysts. *Appl.Catal., A: General.* 116: 259-268.
- Vit Z., Portefaix J.L., Zdražil M. & Breysse M. 1995. Ketones formation during ethylene hydroformylation over sulfided Rh, Ir and NiMo carbon supported catalysts. *Catal.Lett.* 32: 55-59.
- Volbeda A. & Fontecilla-Camps J.C. 2006. Catalytic nickel-iron-sulfur clusters: from minerals to enzymes. Dans : Simonneaux G., ed. *Topics in organometallic chemistry.* Springer, 57-82.
- Wächtershäuser G. 1988. Before enzymes and templates: theory of surface metabolism. *Microbiol.Rev.* 52: 452-484.
- Wächtershäuser G. 1990a. Evolution of the first metabolic cycles. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 87: 200-204.

Wächtershäuser G. 1990b. The case for the chemoautotrophic origin of life in an iron-sulfur world. *Origins Life Evol.Biospheres*. 20: 173-176.

Wächtershäuser G. 1992. Groundworks for an evolutionary biochemistry: the iron-sulphur world. *Prog.Biophys.Mol.Biol.* 58: 85-201.

Wächtershäuser G. 2006. From volcanic origins of chemoautotrophic life to Bacteria, Archaea and Eukarya. *Philos.Trans.R.Soc.Lond. B Biol.Sci.* 361: 1787-1806.

Wächtershäuser G. 2007. On the chemistry and evolution of the pioneer organism. *Chem.Biodiversity*. 4: 584-602.

Walker J.C.G., Klein C., Schidlowski M., Schopf J.W., Stevenson D.J. & Walter M.R. 1983. Environmental Evolution of the Archean-Early Proterozoic Earth. Dans : Schopf J.W., ed. *Earth's Earliest Biosphere : Its Origin and Evolution*. Princeton University Press, 260-290.

Weber A.L. 1984. Prebiotic formation of "energy-rich" thioesters from glyceraldehyde and N-acetylcysteine. *Origins Life Evol.Biospheres*. 15: 17-27.

Weber A.L. 1998. Prebiotic amino acid thioester synthesis: thiol-dependent amino acid synthesis from formose substrates (formaldehyde and glycolaldehyde) and ammonia. *Origins Life Evol.Biosphere*. 28: 259-270.

Wieland T. & Pfeleiderer G. 1957. Activation of amino acids. *Adv.Enzymol.Relat.Subj.Biochem.* 19: 235-266.

Windsor M.M. & Blanchard A.A. 1933. Nickel carbonyl-mechanism of its formation from nickel sulfide and carbon monoxide. *J.Am.Chem.Soc.* 55: 1877-1883.

Woese C.R. 1979. A proposal concerning the origin of life on the planet earth. *J.Mol.Evol.* 13: 95-101.

Woese C.R. 1967. *The genetic code, the molecular basis for genetic expression*. Harper and Row, New York.

Wolman Y., Miller S.L., Ibanez J. & Oro J. 1971. Synthesis of amino acids by the heating of formaldehyde and ammonia. Formaldehyde and ammonia as precursors to prebiotic amino acids. *Comments. Science*. 174: 1039-1040.

Yanagawa H. & Kobayashi K. 1992. An experimental approach to chemical evolution in submarine hydrothermal systems. *Origins Life Evol.Biosphere*. 22: 147-159.

Ycas M. 1955. A note on the origin of life. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 41: 714-716.

Zhang X.V., Ellery S.P., Friend C.M., Holland H.D., Michel F.M., Schoonen M.A.A. & Martin S.T. 2007. Photodriven reduction and oxidation reactions on colloidal semiconductor particles: Implications for prebiotic synthesis. *J.Photochem.Photobiol., A*. 185: 301-311.

Zhang X.V. & Martin S.T. 2006. Driving parts of Krebs cycle in reverse through mineral photochemistry. *J.Am.Chem.Soc.* 128: 16032-16033.

Zhu T.F. & Szostak J.W. 2009. Coupled growth and division of model protocell membranes. *J.Am.Chem.Soc.* 131: 5705-5713.

ANNEXES

A. Vérification de l'improbabilité de l'échange hydrogène – deutérium

Avant de mettre en place et d'appliquer le protocole des expériences de simulation deutériées en autoclave, nous devons vérifier qu'il n'y a pas d'échange entre les atomes d'hydrogène des éventuelles pollutions et les atomes de deutérium du milieu réactionnel. En effet, nous souhaitons être certains de bien discriminer les produits synthétisés des contaminations extérieures. Si un échange était possible entre les pollutions et l'eau lourde utilisée, les simulations deutériées n'auraient aucun intérêt. Pour cela, nous avons ajouté deux produits inertes dans le milieu réactionnel de départ, en tant que pollutions extérieures, et les avons soumis aux conditions de simulations habituelles.

Nous avons ainsi réalisé une simulation en autoclave lors de laquelle nous avons remplacé les 20mL d'eau ultrapure par 20mL d'eau deutériée et nous avons ajouté parmi les réactifs des quantités non négligeables d'acide acétique et propionique purs. Il a été démontré que les acides carboxyliques sont inertes dans les conditions des simulations en autoclave ou en réacteur en verre (voir Dubant S. - 2004). Ainsi, nous ne pouvons observer qu'un éventuel échange au niveau des atomes d'hydrogène des deux acides ou bien une synthèse prébiotique typique et marquée à partir de CO, H₂S, NiS et D₂O. Ainsi selon la présence de deutérium sur les deux molécules ajoutées, nous pourrions tirer une conclusion.

Une estimation préalable, du même type que celle de la quantité d'acide heptanoïque à ajouter pour la quantification des acides deutériés (*cf.* Chapitre II :D.1.5, page 90), a permis de déterminer les nombres de mol d'acides acétique et propionique nécessaires à notre étude, soit 1µmol. Après traitement du milieu réactionnel, puis analyse en CPG, les pics des acides acétique et propionique estérifiés doivent être légèrement plus grands que ceux des esters observés habituellement. Dans le cas contraire, nous n'observerions que deux grands pics, nous ne verrions aucun autre pic et nous ne pourrions pas vérifier qu'une synthèse prébiotique marquée a bien eu lieu dans ces conditions.

D'une part, après traitement du milieu réactionnel par dérivation à l'octanol et analyse en CG/SM, une synthèse marquée a été mise en évidence par l'observation de thiols deutériés CD₃SD, CD₃CD₂SD (voir Figure Annexe - 2, page 311) et (CD₃)₂CDS, sous la forme d'une combinaison de molécules totalement ou partiellement deutériées pour chaque thiol. La présence d'atomes d'hydrogène dans les molécules synthétisées est due à l'existence de plusieurs sources d'hydrogène dans le milieu réactionnel, H₂S, HCl...

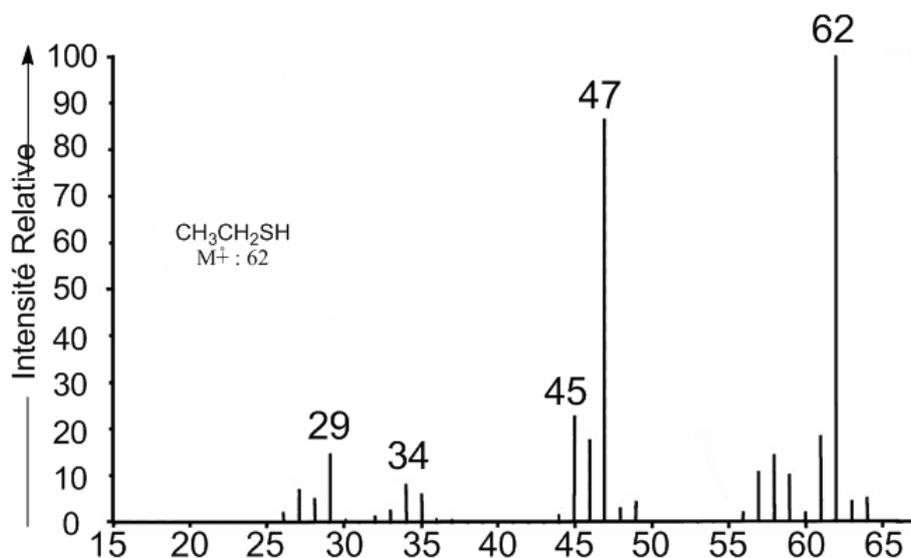


Figure Annexe - 1 - Spectre de masse de référence de l'éthanethiol (bibliothèque NIST, IE, 70eV)

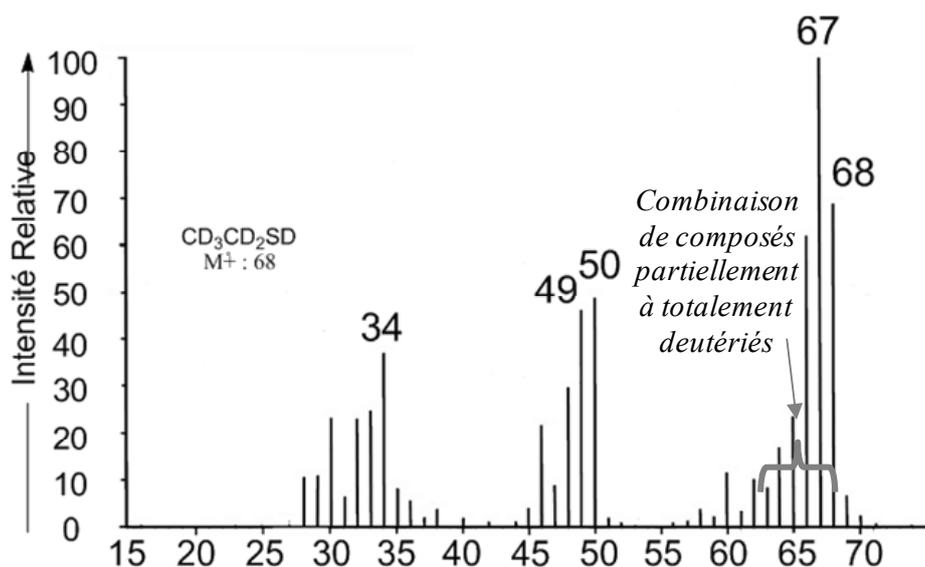


Figure Annexe - 2 - Spectre de masse de l'éthanethiol deutérié observé dans la phase gazeuse de l'expérience de vérification de l'absence d'échange deutérium-hydrogène sur d'éventuelles pollutions ($1,3\mu\text{mol CH}_3\text{COOH}$, $1,3\mu\text{mol CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$, $20\text{mL D}_2\text{O}$, 1mmol NiCl_2 , $1\text{mmol Na}_2\text{S}$, $5\text{bar H}_2\text{S}$, 5bar CO , $2 \cdot 10^{-4}\text{mol HCl}$, 90°C , 5 jours)
(Colonne DB1-30m, IE, 70eV, extrait du TIC, logiciel Masslab)

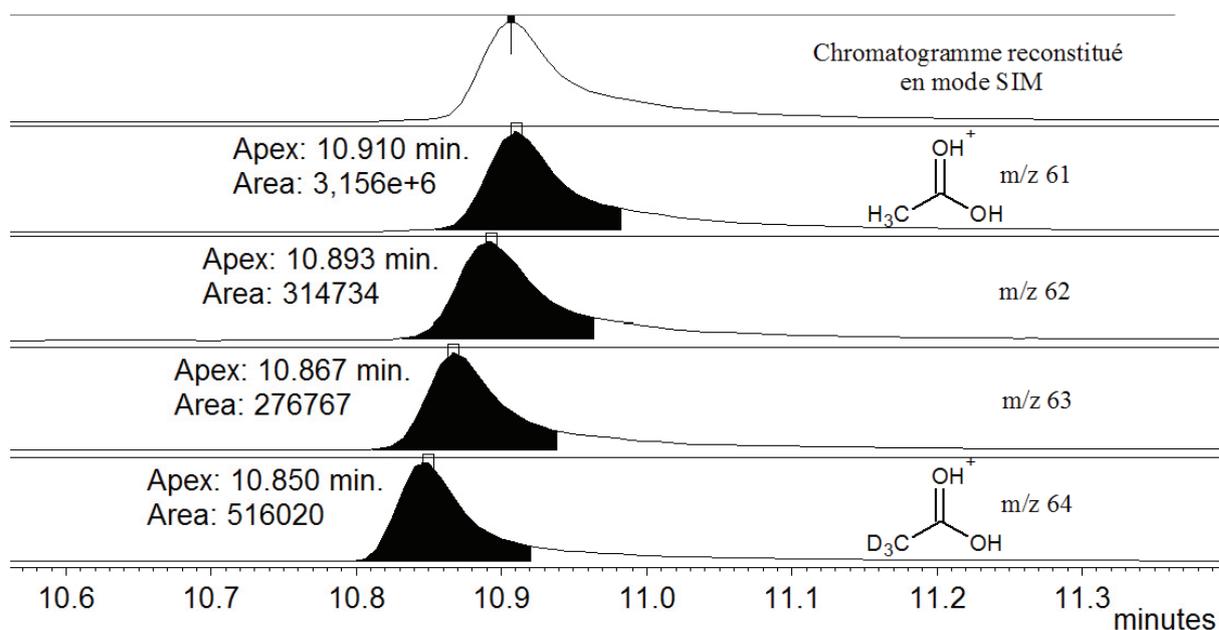


Figure Annexe - 3 - Distribution des fragments partiellement à totalement deutériés pour l'ion caractéristique de l'acétate octylique

D'autre part, comme nous l'avions prévu, les esters octyliques de l'acide acétique et propionique ont des pics d'intensités non négligeables sur le chromatogramme obtenu en CPG. En CG/SM en mode RIC, nous remarquons que les fragments hydrogénés (61 pour l'acétate octylique et 75 pour le propionate octylique) sont bien les plus intenses, conformément au fait que les acides ont été introduits en tant que réactifs inertes.

Nous observons, de plus, une combinaison de molécules partiellement à totalement deutériées. Lorsque nous intégrons chaque courant d'ion séparément en CG/SM en mode SIM (voir Figure Annexe - 3), la présence du fragment totalement deutérié (fragment 64, légèrement plus grand que les autres fragments deutériés) confirme l'existence de la synthèse marquée des acides carboxyliques à partir de CO, NiS et D₂O. Les fragments partiellement deutériés (fragments 62 et 63) correspondent, en fait, à une synthèse en partie marquée en présence de D₂O et en partie hydrogénée en présence de H₂S et HCl notamment.

S'il y avait eu un échange hydrogène - deutérium sur les acides acétique et propionique, la distribution des deutériums dans ces molécules serait différente. En effet, dans ce cas, la distribution des fragments hydrogénés et deutériés montrerait une décroissance nette des intensités et des aires lorsque le nombre d'atomes de deutérium présents augmente. Or, les aires observées en intégrant les pics des courants d'ions deutérés en CG/SM en mode SIM sont du même ordre de grandeur (voir Figure Annexe - 3, aires $\approx 10^5$).

Par conséquent, nous pouvons affirmer qu'aucun échange n'a lieu dans les conditions opératoires d'une simulation en autoclave, en milieu deutérié.

B. Solubilité de CO et H₂S dans l'eau

Les nombres de moles de CO et H₂S en solutions aqueuses, mentionnés dans le manuscrit, ont été calculés à partir des graphiques suivants, représentant la solubilité des gaz dans l'eau à pression atmosphérique et en fonction de la température.

Les flèches rouges indiquent les valeurs lues sur les graphiques et utilisées pour nos calculs ($P_{\text{atmosphérique}}$, 50°C).

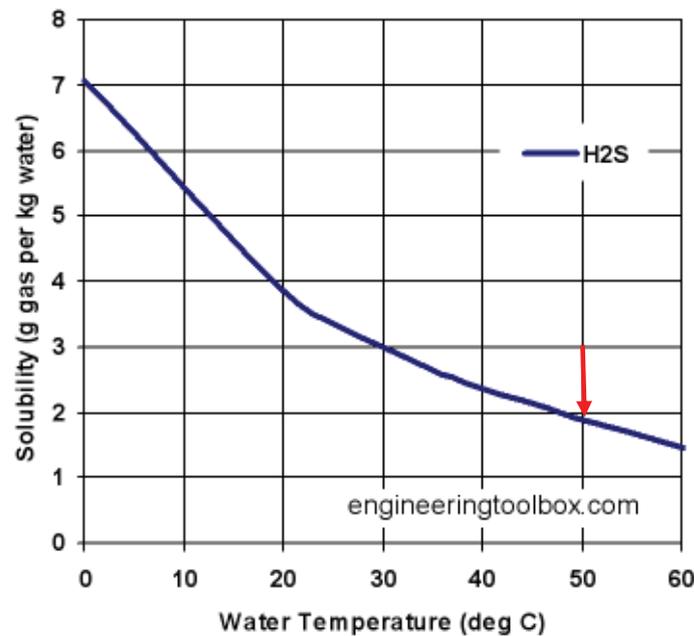


Figure Annexe - 4 - Solubilité de H₂S dans l'eau à pression atmosphérique en fonction de la température

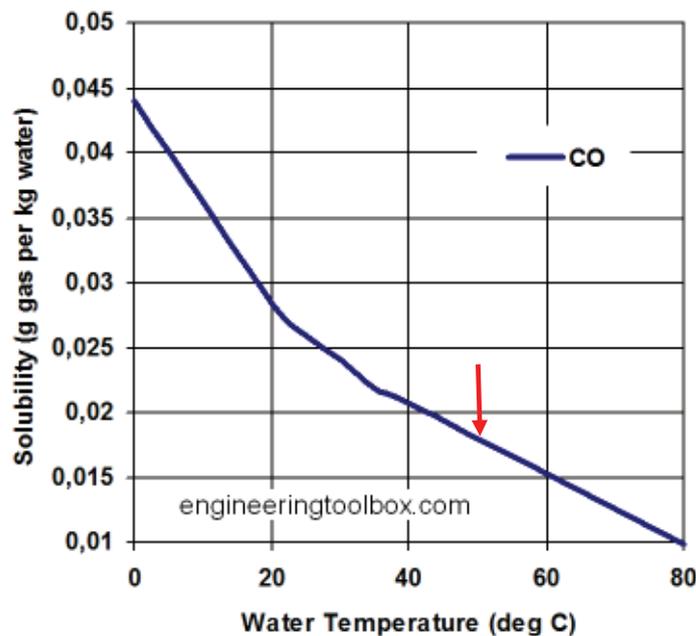


Figure Annexe - 5 - Solubilité de CO dans l'eau à pression atmosphérique en fonction de la température