

# Die radiationschemische Synthese von Aminosäuren und verwandten Verbindungen\*

Von KLAUS DOSE und KITTY ETTRE

Aus dem Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt a. M.  
(Z. Naturforschg. **13 b**, 784—788 [1958]; eingegangen am 30. Juli 1958)

Einige radiationschemische Bildungsweisen von Aminosäuren und verwandten Verbindungen durch Vereinigung zweier einfacherer Molekülarten werden näher untersucht und das radiationschemische Gleichgewicht beschrieben.

Vor einigen Monaten konnten wir berichten, daß es möglich ist, nach Röntgen-Bestrahlung von Gasgemischen, welche sich aus einfachsten Molekülarten ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ) zusammensetzen, Aminosäuren und Amine von anderen Bestrahlungsprodukten abzutrennen und nachzuweisen<sup>1</sup>. Nicht nur, weil hierdurch gemäß den Theorien von OPARIN<sup>2</sup> und UREY<sup>3</sup> die ionisierende Strahlung neben der elektrischen Entladung<sup>4-6</sup> und der ultravioletten Strahlung<sup>7a, 7b</sup> zu einem wichtigen Faktor bei einer möglichen Entstehung des Lebens auf der Erde wird, sondern vor allem, weil uns allgemein eine nähere und grundsätzliche Untersuchung der synthetisierenden Eigenschaften der ionisierenden Strahlung von großem Interesse erschien, haben wir uns eingehender mit den prinzipiellen Möglichkeiten einer radiationschemischen Bildung komplizierter Verbindungen (namentlich Aminosäuren) aus einfacheren Molekülen beschäftigt. Da eine umfassende Zusammenstellung aller Bildungsweisen natürlich praktisch unmöglich ist, haben wir uns von vornherein nur auf solche Reaktionen beschränkt, die für die Betrachtung der Radiations-Chemie der Aminosäuren und verwandten Verbindungen von allgemeiner Bedeutung sind, d. h. nach den ersten erfolgreichen Versuchen, durch Bestrahlung der genannten primitiven Atmosphäre Amine und Aminosäuren zu erhalten,

standen bei unseren weiteren Untersuchungen die Bestrahlung von übersichtlicheren Zwei- und Dreikomponenten-Systemen im Vordergrund.

## Material und Arbeitsmethoden

Aminosäuren, Amine und sämtliche anderen Ausgangs- und Testsubstanzen nach Möglichkeit analysenrein (E. Merck, Darmstadt). Die Auftrennung der Aminoverbindungen erfolgte durch Hochspannungs-Papier-elektrophorese nach MICHL<sup>8</sup>, WEBER<sup>9</sup>, WIELAND u. Mitarb.<sup>10, 11</sup>. Die Aminoverbindungen wurden nach ihrer Auftrennung kolorimetrisch bestimmt<sup>12, 13</sup>.

Die Brenztraubensäure wurde mit Milchsäuredehydrogenase und hydriertem Diphosphorpyridin-Nucleotid (DPNH) in einem optischen Test nach KUBOWITZ und OTT<sup>14</sup> bestimmt. Ähnlich erfolgte auch die Bestimmung des Acetaldehyds mit Alkoholdehydrogenase und DPNH bei  $\text{pH}$  6,5.

Die Bestrahlungen erfolgten größtenteils mit der Dermopananlage von Siemens, je nach Bedarf in verschiedenen Abständen vom Be-Fenster und mit 100  $\mu$  oder 200  $\mu$  Aluminium zusätzlicher Filterung. Die Bestrahlungsgefäße (entweder Glas oder Aluminium) ruhten auf einem Kupferblock. Die Temperaturen der bestrahlten Lösungen lagen stets zwischen 20° und 25° C. Die Daten der Apparatur unter Versuchsbedingungen: 45 kV, 25 mA, Dosisleistung ca.  $10^6$  r pro min (gemessen in Luft) in 2 mm Abstand vom Be-Fenster. Vergleichsweise wurde auch mit einer in unserem Institut entwickelten Hochleistungsanlage (RAJEWSKY<sup>15</sup>, HEUSE<sup>16</sup>)

\* Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. BORIS RAJEWSKY zum 65. Geburtstag gewidmet.

<sup>1</sup> K. DOSE u. B. RAJEWSKY, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **25**, 224 [1957].

<sup>2</sup> A. I. OPARIN, *The Origin of Life*. Dover Publications, New York 1953.

<sup>3</sup> H. C. UREY, *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, **38**, 351 [1952].

<sup>4</sup> S. L. MILLER, *Science* [Washington] **117**, 528 [1953].

<sup>5</sup> S. L. MILLER, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 2351 [1955].

<sup>6</sup> S. L. MILLER, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **23**, 480 [1957].

<sup>7a</sup> A. N. TEREININ, *Photosynthesis in the shortest ultraviolet*;

<sup>7b</sup> T. E. PAVLOVSKAYA u. A. G. PASSYNSKY, *The primary formation of amino acids in ultra-violet rays and in electric discharge*: — beide in „*The Origin of Life on the Earth*“,

Reports on the International Symposium, August 1957, Moscow. The Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR.

<sup>8</sup> H. MICHL, *Angew. Chem., Ausg. A* **82**, 489 [1951]; **83**, 737 [1952].

<sup>9</sup> R. WEBER, *Helv. chim. Acta* **34**, 2031 [1951].

<sup>10</sup> TH. WIELAND u. G. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* **67**, 257 [1955].

<sup>11</sup> TH. WIELAND u. K. DOSE, in: *Physical Methods in Chemical Analysis*, Vol. III. Academic Press Inc., New York 1956.

<sup>12</sup> K. DOSE u. A. CAPUTO, *Biochem. Z.* **328**, 376 [1956].

<sup>13</sup> K. DOSE, *Biochem. Z.* **329**, 416 [1957].

<sup>14</sup> F. KUBOWITZ u. B. OTT, *Biochem. Z.* **314**, 94 [1943].

<sup>15</sup> B. RAJEWSKY, *Jahrbuch der Max-Planck-Gesellschaft*, 1952.

<sup>16</sup> O. HEUSE, *Z. angew. Physik* **5**, 361 [1953].

bestrahlt. Leistungen unter Versuchsbedingungen: 80 kV, 1000 mA, Dosisleistung ca.  $2 \cdot 10^6$  r pro min (gemessen in Luft) in 10 mm Abstand vom Al-Fenster (Filterung: 500  $\mu$  Al).

## Ergebnisse

### I. Die Bildung von Aminoverbindungen aus Ammoniak und Kohlenwasserstoffen

#### a) Bildung von Methylamin aus Methan und Ammoniak

Bei Bestrahlung eines Gasgemisches von Methan und Ammoniak (Zimmertemperatur) mit einer Dosis von  $50 \cdot 10^6$  r werden pro l bestrahltes Gas etwa 1  $\mu$ Mol Methylamin gebildet. Unter den Aminoverbindungen ist Methylamin das hauptsächlichste, jedoch nicht das einzige Bestrahlungsprodukt, es können außerdem Äthylamin und weitere höhere Homologe beobachtet werden. Bruttogleichung der Reaktion:



#### b) Bildung von Aminosäuren aus den Ammonsalzen der homologen aliphatischen Carbonsäuren

##### 1. Bildung von Glycin aus Ammonacetat

Erwartungsgemäß erhält man durch Bestrahlung konzentrierter wäßriger Lösungen von Ammonacetat vor allem Glycin als Reaktionsprodukt. Als Bruttogleichung ist analog zu Gl. (1) zu setzen:

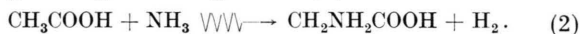


Abb. 1 zeigt die gebildete Glycinmenge als Funktion der Dosis bei Bestrahlung einer 70-proz. wäßrigen

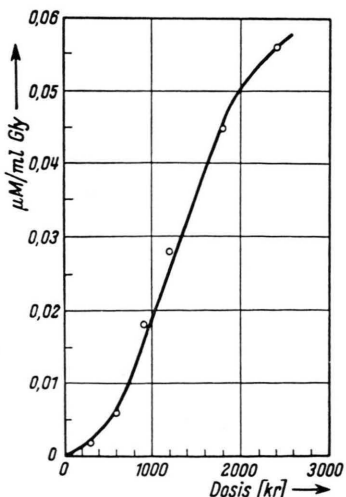


Abb. 1. Abhängigkeit der Glycinbildung von der Dosis bei Bestrahlung einer 70-proz. wäßrigen Lösung von Ammonacetat (20°C).

Lösung von Ammonacetat bei 20°C. Charakteristisch ist, daß die Bildungsrate des Glycins mit wachsender Gesamtdosis stetig abfällt.

Verfolgt man die Bildungsrate des Glycins nach obiger Reaktion in Abhängigkeit von der Ammonacetat-Konzentration, jedoch bei konstanter Strahlendosis (1800 kr), so erhält man einen Kurvenverlauf (Abb. 2), der in erster Näherung durch die Gl. (3)

$$[\text{Gly}] = k_1(1 - e^{-k_2 c}) \quad (3)$$

erfaßt wird, wenn  $k_1$  und  $k_2$  charakteristische Konstanten und  $c$  die veränderliche Konzentration der Ammonacetate darstellen.

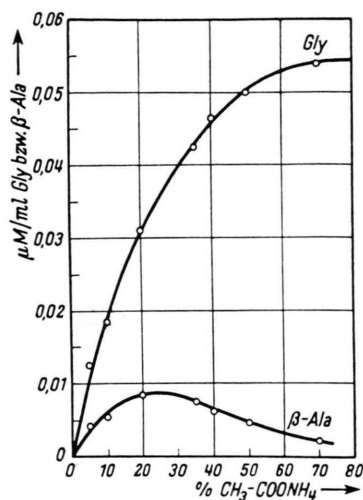


Abb. 2. Abhängigkeit der Bildung von Glycin und  $\beta$ -Alanin von den Konzentrationen der bestrahlten Ammonacetatlösung (1800 kr).

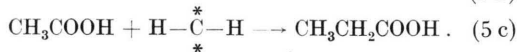
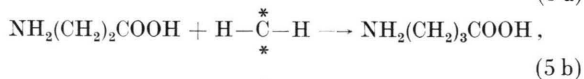
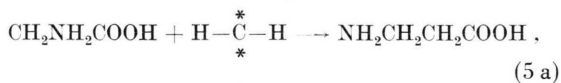
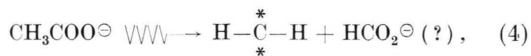
Im Gegensatz zu den Ergebnissen von HASSELSTROM, HENRY und MURR<sup>17</sup>, nach denen bei Bestrahlung der 1- bzw. 2,5-proz. Lösung mit  $\beta$ -Strahlen außer Glycin vor allem Asparaginsäure unter den Bestrahlungsprodukten zu finden ist, fanden wir merkwürdigerweise vor allem  $\beta$ -Alanin. Die Bildungsrate des  $\beta$ -Alanins in Abhängigkeit von den Ammonacetat-Konzentrationen bei konstanter Strahlendosis (1800 kr) (s. auch Abb. 2) weist ein Maximum auf.

#### Die Verlängerung der Kohlenwasserstoffkette

Wir sind dem zunächst etwas merkwürdigen Auftreten von  $\beta$ -Alanin nachgegangen und haben gefunden, daß um so mehr auftritt, je mehr Glycin von vornherein in der Lösung ist. Jedoch tritt kein

<sup>17</sup> T. HASSELSTROM, M. C. HENRY u. B. MURR, Science [Washington] **125**, 350 [1957].

$\beta$ -Alanin auf, wenn man nur Glycin mit einem großen Überschuß von Essigsäure bestrahlt. Offenbar muß das Acetat ionisiert vorliegen. Dagegen wird erwartungsgemäß bei Bestrahlung von 20-proz. Ammonacetat-Lösung in Gegenwart von 40  $\mu\text{g/ml}$   $\beta$ -Alanin mit 1800 kr ein kleiner Teil des  $\beta$ -Alanins in  $\gamma$ -Aminobuttersäure verwandelt. Unsere Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß wir es hier mit einer Reaktion zu tun haben, die zwar an die Arndt-Eistertische Reaktion erinnert, jedoch nicht wie diese über Ionen als Zwischenstufen ablaufen dürfte. Wahrscheinlich entsteht durch Bestrahlung des Acetats zunächst ein äußerst reaktionsfähiges Methylenradikal (Gl. 4), das z. B. mit Glycin sofort  $\beta$ -Alanin (Gl. 5 a), mit  $\beta$ -Alanin dann  $\gamma$ -Aminobuttersäure (Gl. 5 b) und mit Acetat wahrscheinlich Propionat liefert (Gl. 5 c):



Die zuletzt genannte Reaktion könnte dann auch die Erklärung dafür liefern, daß bei steigender Ammonacetat-Konzentration die Bildungsrate des  $\beta$ -Alanins bei immer geringer ansteigender Glycin-Bildung wieder abnimmt (Abb. 2).

## 2. Bildung von Aminosäuren aus Ammonpropionat

Nach Bestrahlung einer etwa 70-proz. wäßrigen Lösung von Ammonpropionat mit 1800 kr fanden wir erwartungsgemäß vor allem  $\alpha$ -Alanin und  $\beta$ -Alanin unter den Bestrahlungsprodukten, aber seltenerweise im Verhältnis 1 : 10 (ca.  $4 \cdot 10^{-2}$   $\mu\text{g/ml}$   $\alpha$ -Alanin und  $4 \cdot 10^{-1}$   $\mu\text{g/ml}$   $\beta$ -Alanin).

## II. Die Bildung von Carbonsäuren aus Kohlendioxyd und Kohlenwasserstoff-Verbindungen

Alle Reaktionen lassen sich als Umkehrung der bekannten radiationschemischen Decarboxylierung (z. B. l. c. <sup>18</sup>) durch die Grund-Gleichung (Gl. 6)



beschreiben.

### a) Aminosäuren aus Aminen

#### 1. Glycin aus Methylammoniumbicarbonat

Eine 3-proz. wäßrige Methylamin-Lösung wurde mit  $\text{CO}_2$  annähernd gesättigt ( $p_{\text{H}}$  6,8) und dann mit einer Gesamtdosis von 24 000 kr bestrahlt; erwartungsgemäß war Glycin das hauptsächliche Bestrahlungsprodukt (ca. 50  $\mu\text{g/ml}$ ).

#### 2. $\alpha$ - und $\beta$ -Alanin aus Äthylammoniumbicarbonat

Bestrahlt man eine 3-proz. mit Kohlendioxyd gesättigte Lösung von Äthylamin ( $p_{\text{H}}$  6,8) mit einer Gesamtdosis von 1800 kr, so erhält man zu etwa 30%  $\alpha$ -Alanin und zu etwa 70%  $\beta$ -Alanin (insgesamt etwa 2,5  $\mu\text{g/ml}$ ). Mit zunehmender Dosis wird jedoch relativ mehr  $\alpha$ -Alanin gebildet.

#### 3. Lysin aus Cadaverinbicarbonat

Eine 0,3-n. Lösung von Cadaverinbicarbonat lieferte nach Bestrahlung mit 15 000 kr neben vielen anderen Aminoverbindungen 15  $\mu\text{g/ml}$  Lysin.

### b) Diaminosäuren aus Monoaminosäuren

#### Asparaginsäure aus Alaninbicarbonat

Bestrahlt man eine 1-molare, mit Kohlendioxyd gesättigte wäßrige Alaninlösung mit 25 000 kr, so kann man neben vielen anderen Komponenten, welche von anderen auf- und abbauenden Prozessen herrühren, auch die erwartete Asparaginsäure bestimmen. Wegen der vielen anderen „Nebenreaktionen“ ist dieses Ergebnis jedoch weniger eindrucksvoll.

### c) Ketosäuren aus Aldehyden und Kohlendioxyd

#### Brenztraubensäure aus Acetaldehyd und $\text{NaHCO}_3$

Wir haben die Bildung der Brenztraubensäure (BTS) bei Bestrahlung einer je 0,5-m. Lösung von Acetaldehyd und Natriumbicarbonat in einem weiteren Dosisbereich näher untersucht. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 zusammengefaßt. Bei noch größeren Dosen als 20 000 kr wird der Anstieg immer geringer, um offenbar schließlich einen Sättigungswert zu erreichen (s. unter „radiationschemisches Gleichgewicht“). Der verzögerte Anstieg bei kleineren Dosen (bis 5000 kr) ist ein „Schmutzeffekt“. Anwesende Fremdstoffe, wie Sauerstoff und Crotonaldehyd, können die Ausbeute an BTS beträchtlich reduzieren.

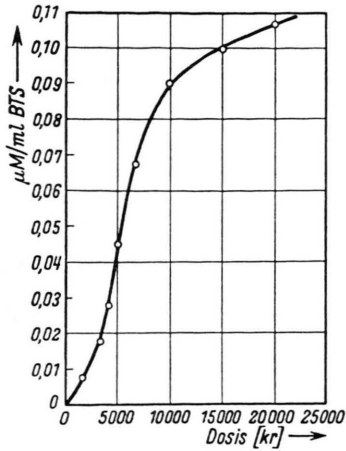
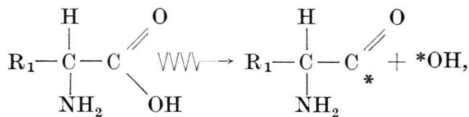


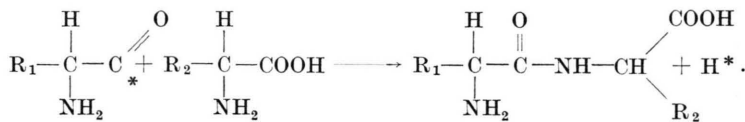
Abb. 3. Bildung von Brenztraubensäure (BTS) bei Bestrahlung einer je 0,5-m. Lösung von Acetaldehyd und Natriumbicarbonat.

III. Entstehung neuer Carboxylgruppen durch den oxydativen Abbau der aliphatischen Kohlenwasserstoffkette

War es bei den bisher abgehandelten reinen Synthesevorgängen durch eine Vergrößerung der Konzentrationen der beiden Ausgangsprodukte möglich,



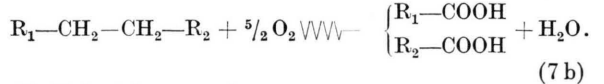
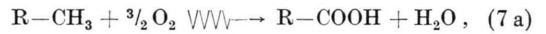
(8 a)



(8 b)

haben gegenüber der ungeheuer großen Zahl von anderen theoretisch möglichen und zu einem großen Teil auch tatsächlich ablaufenden Reaktionen nur eine sehr geringe Wahrscheinlichkeit für sich. Hinzu kommt, daß das eventuell gebildete Peptid durch gleichzeitig ablaufende abbauende Prozesse, von denen hier nur eine bereits an anderer Stelle<sup>18</sup>

mit um so größerer Wahrscheinlichkeit diese beiden Stoffe zu vereinigen, so sind beispielsweise beim oxydativen Abbau umgekehrt eine möglichst große Verdünnung und die Anwesenheit von Sauerstoff notwendig, um einen Reaktionsablauf nach den beiden Grundgleichungen (7 a) und (7 b) wahrscheinlicher zu machen:



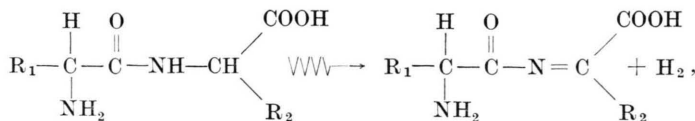
Als Beispiele seien hier nur genannt:

1. die Bildung von Asparaginsäure bei der Bestrahlung von  $\beta$ -Aminobuttersäure (Gl. 7 a) und
2. die Bildung von Glycin,  $\beta$ -Alanin,  $\gamma$ -Aminobuttersäure und einigen anderen Monoamino-carbonsäuren bei Bestrahlung von Cadaverin.

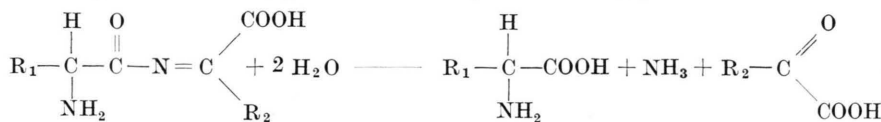
IV. Die Peptidkette

Die an sich theoretisch denkbaren Wege der radiationschemischen Bildung einer Peptidbindung bei Bestrahlung eines Aminosäure-Gemisches, von denen beispielsweise einer der einfachsten im Sinne der Gleichungen (8 a) und (8 b) formuliert werden könnte:

eingehend beschriebene Abbaureaktion genannt sei (Gln. 9 a und 9 b), rasch wieder zerstört wird. Diese Abbaureaktion läuft hier bei der Bestrahlung von Peptidlösungen außerdem im allgemeinen mit größerer Wahrscheinlichkeit ab, als bei Bestrahlung der kristallisierten Peptide und Proteine:



(9 a)



(9 b)

<sup>18</sup> B. RAJEWSKY u. K. DOSE, Z. Naturforschg. 12b, 384 [1957].

So erklärt es sich, daß wir bisher noch keine sicheren Ergebnisse über die Bildung einer echten Peptidbindung erhalten haben.

#### V. Das radiationschemische Gleichgewicht

In vielen Fällen erreicht die Bildungsrate eines Stoffes C, der aus den Stoffen A und B gebildet wird, schon nach einer für diese Verhältnisse relativ kleinen Dosis von wenigen zehn Millionen r einen Sättigungswert, obwohl in der Regel die Konzentrationen der Ausgangsprodukte noch praktisch unverändert sind. Daraus folgt, daß von einer bestimmten Dosis ab, wahrscheinlich ähnlich wie beim radioaktiven Gleichgewicht Bildungs- und Zerfallsrate des Stoffes C sich die Waage halten. In erster Näherung lassen sich diese Verhältnisse gut durch die Gl. (9) darstellen:

$$[C] = \frac{k_1}{k_2} (1 - e^{-k_2 D}) \quad (9)$$

$k_1$  und  $k_2$ : charakteristische Konstanten,  $D$ : Strahlendosis.

Differenziert man diese Gleichung, erhält man nach einfacher Umformung folgende Differentialgleichung (Gl. 10):

$$\frac{d[C]}{dD} = k_1 - k_2[C], \quad (10)$$

bei der  $k_1$  offensichtlich gleich  $k_1'[A][B]$  gesetzt werden kann, da dieser Ausdruck in dem angenommenen relativ kleinen Dosis-Bereich bei hinreichend großen Ausgangs-Konzentrationen von A und B als konstant angesehen werden darf. Für größere Werte von  $D$  folgt ferner (Gl. 11):

$$\frac{d[C]}{dD} \rightarrow 0 \quad (11 a)$$

$$\text{und} \quad \frac{k_1}{k_2} = K = [C]. \quad (11 b)$$

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Gewährung einer Sachbeihilfe und Herrn Dr. WILHELM, Universitätskinderklinik, Frankfurt a. M., für viele anregende Diskussionen.

## Vergleichende Untersuchungen an hochmolekularer Ribosenucleinsäure

VON ALFRED GIERER

Aus dem Max-Planck-Institut für Virusforschung, Tübingen  
(Z. Naturforschg. **13 b**, 788—792 [1958]; eingegangen am 16. August 1958)

High molecular ribonucleic acid isolated with phenol from the microsomes of animal tissues and from unfractionated plant tissues show two main components in the sedimentation diagram. Their molecular weight is calculated on the basis of sedimentation and viscosity measurements to be around  $1.8 \cdot 10^6$  and  $0.6 \cdot 10^6$ , respectively. The kinetics of degradation by ribonuclease suggests that the RNA molecule is made up by a single strand of nucleotides. Its structural features are similar to those of the viral RNA from tobacco mosaic virus. The molecular weight of the larger component corresponds approximately to the RNA content of cytoplasmatic ribonucleoprotein particles, as well as to that of small viruses. This suggests a functional relation of that component of cellular RNA to the viral RNA.

Die Extraktion des Proteins mit Phenol führt bei einigen pflanzen- und tierpathogenen Viren zur Isolation der biologisch aktiven Ribosenucleinsäure<sup>1,2,3</sup>. Die gesamte Nucleinsäure eines Viruspartikels wird als Einzelmolekül isoliert und stellt die biologisch aktive Einheit dar<sup>4,5,6</sup>. Der Nucleinsäure-Gehalt einer Reihe von einfachen Viren entspricht einem Mol.-Gew. von etwa  $2 \cdot 10^6$ , oder 6 000 Nucleo-

tiden<sup>7,8</sup>; sie bilden, wie das Beispiel des Tabakmosaikvirus nahelegt<sup>4</sup>, wahrscheinlich einen einzelnen Strang. Es ist von Interesse, die Grundstruktur und Größe gewöhnlicher cellulärer RNS zu untersuchen, die nach dem gleichen Verfahren wie aktive Virusnucleinsäure isoliert wird. Eine Anwendung des Verfahrens<sup>1</sup> auf tierische Zellen wurde zuerst von COLTER und BROWN<sup>8</sup>, auf pflanzliche Zellen von

<sup>1</sup> A. GIERER u. G. SCHRAMM, Nature [London] **177**, 702 [1956]; Z. Naturforschg. **11 b**, 138 [1956].

<sup>2</sup> J. S. COLTER, H. H. BIRD u. R. A. BROWN, Nature [London] **179**, 859 [1957].

<sup>3</sup> E. WECKER u. W. SCHÄFER, Z. Naturforschg. **12 b**, 415 [1957].

<sup>4</sup> A. GIERER, Z. Naturforschg. **13 b**, 477 [1958].

<sup>5</sup> A. GIERER, Z. Naturforschg. **13 b**, 485 [1958].

<sup>6</sup> E. WECKER, Z. Naturforschg., im Druck.

<sup>7</sup> Vgl. W. FRISCH-NIGGEMEYER, Nature [London] **178**, 307 [1956].

<sup>8</sup> J. S. COLTER u. R. A. BROWN, Science [Washington] **124**, 1077 [1956].