

## FORMIĜO DE L'AMINACIDOJ

### DUM INTERAGO DE DIOKSIDO DE KARBONO KUN AMONIAKATO DE KALCIO

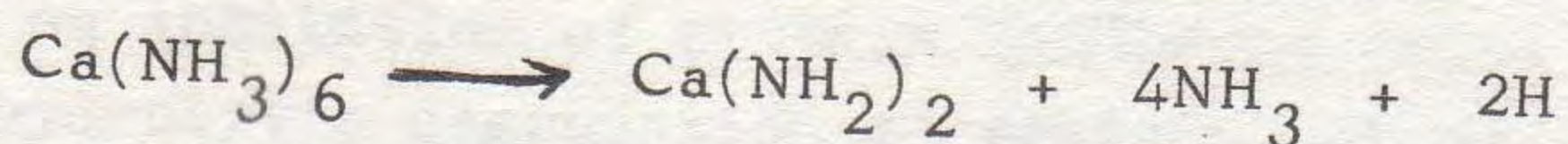
( TOKAREV B.V., MOSKVO, SOVETIO )<sup>+/</sup>

Dum la lasta tempo kolektiĝis multe da faktoj de formiĝo de aminacidoj dum interago de tre simplaj substancoj. La unua tiajn eksperimentojn faris Miller<sup>1,2)</sup>, kiu el metano, amoniako, hidrogeno kaj akvovaporo en kvieta elektra malŝargiĝo ricevis glicinon, alaninon, asparaginan kaj glutaminan acidojn kaj kelkajn nenaturajn aminacidojn, kune kun diversaj organaj acidoj kaj karbamido. Tiuj eksperimentoj estis ripetitaj de Pasynskij kaj Pavlovskaja<sup>3)</sup> kaj, en modifita aparato, de Grossenbacher kaj Night<sup>4)</sup>, la lastaj krom la menciitaj aminacidoj identigis ankaŭ treoninon, serinon, leŭcinon, izoleŭcinon kaj lizinon, kaj trovis proksimumajn rilatojn inter iliaj kvantoj. Krom la aminacidoj en iliaj eksperimentoj formiĝis ankaŭ peptidoj. En eksperimentoj de Bahadur<sup>5)</sup> aminacidoj formiĝis el paraformaldehido kaj kalia nitrato en ĉeesto de feroklorido dum 80 horoj en sunlumo, kaj en tiuj kondiĉoj estas ricevitaj aminacidoj kiel ciklaj — histidino kaj prolino, tiel same neciklaj — arginino, valino, ornitino kaj aliaj. Groth kaj von Weysenhoff<sup>6)</sup> kaj ankaŭ Deschreider<sup>7)</sup> sintezis aminacidojn kun uzo de la ultraviola lumo, Hasselstrom kaj la kunlaborantoj uzis por tiu celo alfa- kaj beta-radiadojn<sup>8)</sup>, Vermeil kaj Lefort<sup>9)</sup> kaj ankaŭ Dose kaj Rajewsky<sup>10)</sup> — rentgenajn kaj gamma-radiojn. Glicino kaj alanino estas formiĝantaj eĉ el CO<sub>2</sub>, nitrogeno kaj akvo dum daŭra tenado en lumo kaj en ĉeesto de oksido de molibdeno<sup>11)</sup>. Al la terma sintezo de aminacidoj kun dioksido de silicio je 900-1100° estas dediĉita la studo de Harada kaj Fox<sup>12)</sup>. Ili registris formiĝon de dekkvar

<sup>+/</sup> Adama Mickiewiczza 10/6, MOSKVA K-1, Sovetio

diversaj aminacidoj, en ties nombro de aromaj -- tirozino kaj fenilalanino, kaj determinis rilatojn inter iliaj kvantoj. En ĉiuj okazoj inter tiaj sintezoj la dominanta aminacido estas glicino (ĝis 70% en la eksperimentoj de Harada kaj Fox), en iom malpliaj kvantoj estas ricevata alanino; kvantoj de la aliaj aminacidoj povas esti tute nanaj. Oni supozas<sup>13)</sup>, ke similaj procedoj havis lokon dum senviva evoluado de karbonaj kombinaĵoj, kaj ludis gravan rolon en estiĝo de la vivo sur Tero (rig. ankaŭ artikolaron<sup>14)</sup>).

La samspecan fakton ni neatendite renkontis dum la studado de reduktivo de amoniakato de kalcio. La lasta estas uzata precipe por redukto de konjugitaj dienoj, kiujn ĝi turnas en alkenojn<sup>15)</sup>, kaj de aromaj hidrokarbidoj, transirantaj en cikloalkenojn<sup>16)</sup>, mem malkombiniĝante laŭ la ekvacio:



Al izolita duobla ligilo ĝi efikas tre malrapide<sup>17)</sup>, tute ne efikas al ligilo C-O en eteroj<sup>18)</sup>, sed facile splitigas ligilon C-S en tioeteroj<sup>19)</sup>. Redukta efiko de la amoniakato estas relative specifa kaj siaspeca, al kio pli ol unufoje indikis diversaj esplorantoj (rig. ekzemple<sup>20)</sup>).

Dum interago de amoniakato de kalcio kun dioksido de karbono, procedanta kun evoluo de varmo, estas observata formiĝo de miksaĵo de rezineskaj kaj fluidaj produktoj, en kiu estas ankaŭ aminacidoj - glicino, alanino, serino kaj tirozino, identigitaj pere de la papera kromatografio. La plej simplaj produktoj de la redukto - saloj de formiata kaj oksalata acidoj, volatilaj aminoj - ne estis trovitaj. La eksperimentoj de la redukto de CO<sub>2</sub> estis farataj je diversaj temperaturoj, en malrapida fluo de CO<sub>2</sub> - 1/horo kaj en la rapida, ĝis 2 l/sek. Dum la reakcio eblas lokaj trovarmiĝoj, ne permesantaj juĝi pri efektiva temperaturo de la reakcio, kaj iufoje rezultigantaj eĉ eksplodekflamon (dum mezaj rapidecoj de la fluo de CO<sub>2</sub>), foje kun disrompo de la flakono. Formiĝo de alanino kaj tirozino estis observata nur dum la eksplodetoj; post unu el tiaj eksperimentoj aminacidoj ĝenerale ne estis trovitaj. Por antaŭeviti lokajn trovarmiĝojn ni kondukis la reakcion en heptano aŭ uzis por varmoportanto sufiĉe fortan fluon de CO<sub>2</sub>; dum tio estis observata formiĝo de glicino, je pli alta temperaturo ankaŭ de serino. Sur la kromatografiaĵoj post la eksperimentoj, faritaj je temperaturo ne pli ol 50°, estas relative intensa, disetendita makulo, kiu laŭ sia R<sub>f</sub> (0,34) situas inter makuloj de alanino (R<sub>f</sub>=0,26) kaj tirozino (R<sub>f</sub>=0,42). Dum la kromatografio el miksaĵo butanolo - acetata acido - akvo, kiun ni uzis, tiun pozicion

el ĉefaj naturaj aminacidoj povas havi nur prolino, kiu tamen ne donas dum rivelado per ninhidrino la observitan violan koloron. Sur elektroforezaĵo tiu makulo dividiĝis al kelkaj strioj, ne malpli ol kvar. La karaktero de elektroforezaĵo indikas al la peptida naturo de tiuj substancoj; la ĉeeston de peptidoj konfirmas ankaŭ reakcio de kolorigo per la naftola nigra 12B<sup>21,22</sup>). Sur kelkaj kromatografiaĵoj estas ankaŭ tre malintensa flava makulo kun malgranda  $R_f$ , kiu egalas al 0,05; tiu produkto ne estis identigita.

La formiĝintaj aminacidoj estis determinataj kolorimetre post transformo de viola kolorigilo, formiĝinta dum la rivelado per ninhidrino, en kompleksan kombinaĵon kun kupro<sup>23</sup>). La rezultoj de la determinado estas prezentitaj en la tabelo N<sup>o</sup> 1. La kvanto da mikromoloj de aminacido, formanta makulon, estis trovata laŭ formulo  $n=K.E$ , kie E estas diferenco inter la optikaj densecoj de specimeno kaj de kontrola specimeno, kaj K estas koeficiento, trovita por la aminacido laŭ kalibriga grafikaĵo. Atentigas proksimuma malproportcieco inter la ampleksoj  $R_f$  kaj K por la kvar studitaj aminacidoj (serinon ni ne havis en nia dispono), kio estas videbla el la tabelo N<sup>o</sup> 2.

TABELO N<sup>o</sup> 1.

Interago de dioksido de karbono kun amoniakato de kalcio.

| No | Kondiĉoj de la reakcio  | Kvanto de la produktoj en $\mu\text{M}$     |
|----|---|---|
| 1. | Malvarmigo per fluo de $\text{CO}_2$<br>1,2-1,7 l/sek.; 12 minutoj. | glicino 5,0; peptidoj 0,65                  |
| 2. | 2 l/horo $\text{CO}_2$ ; 2,3 horoj en<br>heptano.                   | glicino 17,2; peptidoj 2,2                  |
| 3. | 1-1,5 l/horo $\text{CO}_2$ ; 2 horoj (eblas<br>lokaj trovarmiĝoj).  | glicino 2,8; serino 7,7;<br>peptidoj 1,33.  |
| 4. | 2 l/horo $\text{CO}_2$ ; 2,5 horoj en<br>heptano je 50°.            | glicino 4,85; serino 4,75;<br>peptidoj 4,0. |
| 5. | 0,30 l/sek. $\text{CO}_2$ , varmigita ĝis<br>75°; 30 minutoj.       | glicino 30; serino 96.                      |
| 6. | 0,1-0,5 l/sek. $\text{CO}_2$ ; post 10<br>minutoj - eksplodeto.     | glicino 1,64; alanino 1,0<br>tirozino 1,0.  |

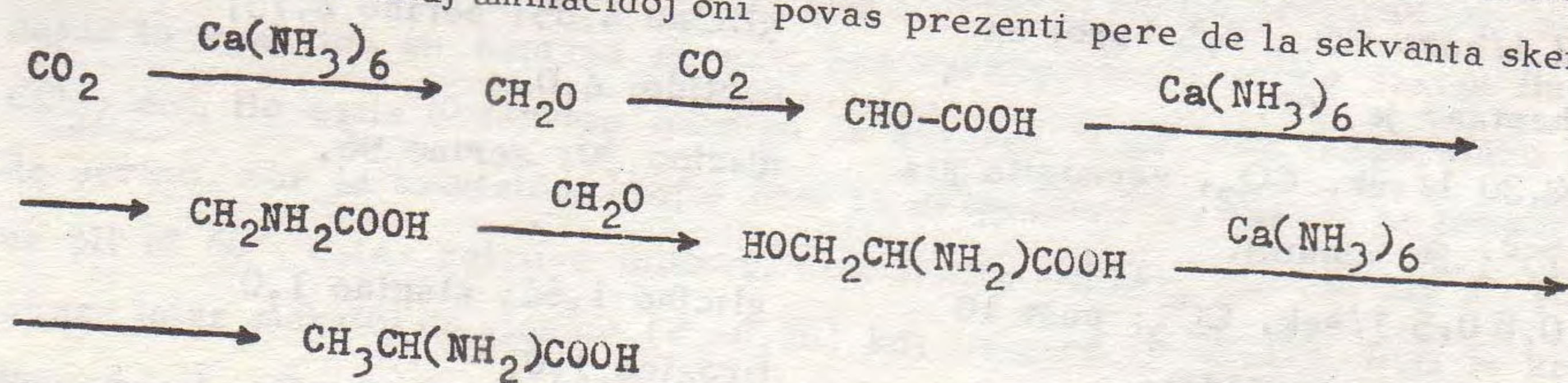
TABELO N<sup>o</sup> 2.

Kalibrigaj konstantoj por kalorimetrado.

|                          | Asparagin-<br>acido | Serino | Glicino | Alanino | Peptidoj | Tirozino |
|--------------------------|---------------------|--------|---------|---------|----------|----------|
| R <sub>f</sub>           | 0,112               | 0,16   | 0,20    | 0,26    | 0,34     | 0,42     |
| K                        | 5,30                | (4,07) | 3,23    | 2,63    | (1,76)   | 1,30     |
| K.R <sub>f</sub> trovita | 0,60                |        | 0,65    | 0,69    |          | 0,55     |
| kalkulita                | 0,66                | 0,65   | 0,64    | 0,62    | 0,60     | 0,57     |

Kalkulado laŭ la metodo de la plej malgrandaj kvadrataj diversecoj donas la ekvacion  $K.R_f = 0,70 - 0,306.R_f$ , kio permesas taksii la kvantojn de serino kaj neidentigitaj substancoj (peptidoj) kun  $R_f = 0,34$ . Trovitaj por ili ampleksoj de K en la tabelo N<sup>o</sup> 2 estas donitaj en krampoj.

Evidente, la baza faktoro, influanta al la rikolto de la produktoj, estas temperaturo de la reakcio, kiu, pro la lokaj trovarmiĝoj, povas okazi tute nedifinita, kiel en la eksperimento N<sup>o</sup> 3, en kiu la kvantoj de la produktoj prezentigas kiel tute hazardaj. Male, uzo de varmoportanto (heptano aŭ CO<sub>2</sub>) en plimulto da aliaj eksperimentoj, permesas prezenti tiun dependecon. Kiel estas videble el la tabelo N<sup>o</sup> 1, glicino estas formiĝanta ĉiam, plej multe je 75° (0,22%, kalkulante je amoniakato de kalcio). Estas probable, ke glicino estas la elira substanco por formiĝo de la aliaj aminacidoj, transformiĝante per altigo de la temperaturo en serinon, kies rikolto je 75° atingas 1,2%, kalkulante je la amoniakato. La eksperimento N<sup>o</sup> 6 finiĝis per flameksplodeto kun karbiĝo de organaj substancoj; evidente la altetemperaturaj kondiĉoj akcelas transformon de serino en alaninon kaj tirozinon, dume la formiĝo de peptidoj okazas ĉe la temperaturo ne pli alta, ol 50°. La formiĝo de tirozino povas procedi dum reakcio de serino kun fenolo, se la lasta ankaŭ formiĝas en la altetemperaturaj kondiĉoj; la formiĝon de la aliaj aminacidoj oni povas prezenti pere de la sekvanta skemo:



La ĉefa trajto de niaj eksperimentoj - la ĉeesto de tia energia reduktilo, kia estas amoniakato de kalcio. En la praunua atmosfero de Tero la simila reduktilo povis esti - tio estas la atoma hidrogeno, formiĝinta sub influo de tiaj faktoroj, kiel mallongonda elektromagneta radiado (ankaŭ gamma-radioj) aŭ elektraj malŝargiĝoj. Tiurilate niaj eksperimentoj ĝis certa grado modeligas procesojn de la senviva evoluo en la atmosfero. Duaflanke, amoniakato de kalcio kaj ankaŭ produktoj de ĝia malkombiniĝo kaj de interago kun organaj substancoj aktive akcelas reakciojn de kondensado<sup>24,25)</sup>, kiuj povis procedi sur diversaj elementoj de la praunua litosfero, kio ankaŭ estas grava por la konstruado de molekuloj de aminacidoj, des pli tiaj, kiel tirozino. De tiu vidpunkto niaj eksperimentoj modeligas procesojn, kiuj povis procedi sur diversaj elementoj de la praunua litosfero. Do, amoniakato de kalcio kunligas en si la ecojn de aktiva reduktilo kaj aktiva kondensilo, kio favoras sintezon de organaj substancoj kun komplika strukturo.

## EKSPERIMENTA PARTO

Amoniakato de kalcio estis ricevita per trapasigo de gasa  $\text{NH}_3$  super 2 g de metala kalcio en flakono je 50-100 ml dum ses horoj, post kio estis atingata alpezo ĉirkaŭ 4 g. Tra la ricevita amoniakato estis trapasigita dioksido de karbono kun dezirata rapideco de la fluo, kiu estis mezurata pere de obstaklo kun diferenca manometro (reometro) aŭ pere de veziketkalkulilo. En kelkaj eksperimentoj al la amoniakato estis aldonita 30-40 ml da heptano; en tiuj okazoj la flakono estis skuata. La produkto de la reakcio estis prilaborita per akvo, la akva suspensio estis saturita per  $\text{CO}_2$  ĝis la negativa reakcio al fenolftaleino; la formiĝinta  $\text{CaCO}_3$  estis forfiltrita kun depumpado, kaj la akva solvaĵo vaporigita ĝisseke. La restaĵo estis solvita en akvo, kaj la solvaĵo estis kromatografiita. Por tio en la komenca punkton pere de mikropipeto je 2,7 mikrolitro estis metitaj 10 gutoj. La kromatografio estis farata pere de miksaĵo butanolo - acetata acido - akvo en la rilatoj 4:1:5 (la supra tavolo); la identeco de glicino estis konfirmita per trifoja kromatografio el tiu miksaĵo kun posta dufoja kromatografio el miksaĵo de la samaj solvigiloj, sed en la rilato 40:15:5; ĉiuj kromatografioj estis farataj en ĉeesto de aminacidoj - "atestantoj". Post aspergo el

ŝprucigilo per 0,5%-a solvaĵo de ninhidrino en miksaĵo de acetono - akvo - acetata acido en la rilatoj 95:4:1 kaj rivelado en varmoŝranko je 60-70°, el la kromatografiaĵo estis eltranĉitaj makulhavaj pecoj kun areo 16 cm<sup>2</sup> kaj la kontrolo, pura peco, kun la sama areo. Tiuj pecoj estis distranĉitaj per tondilo kaj superverŝigitaj per 5 ml da 0,005%-a solvaĵo de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O en 75%-a alkoholo. La miksaĵo estis tenata dum horo en mallumo, kaj poste la solvaĵo estis kolorimetrita en elektrofotokolorimetro kun verda lumfiltrilo.

#### LITERATURO

1. S.L. Miller, Science 117, 528 (1953).
2. S.L. Miller, J. Amer. Chem. Soc., 77, 2351 (1955).
3. А. Пасынский, Т. Павловская, Труды I-го симпозиума по происхождению жизни, М. 1957.
4. K. Grossenbacher, K. Night, The origins of prebiological systems and of their molekular matrices; N.Y.-London, 1965.
5. K. Bahadur, Nature, 173, 1141 (1954).
6. H. Groth, von Weysenhoff, Naturwissenschaften, 44, 510 (1957).
7. A.R. Deschreider, Nature, 182, 528 (1958).
8. T. Hasselstrom, M.C. Henry, B. Murr, Science, 125, 350 (1957).
9. C. Vermeil, M. Lefort, Compt. Rend., 244, 889 (1957).
10. K. Dose, B. Rajewsky, Biochim. Biophys. Acta, 25, 225 (1957).
11. К. Магадур, С. Ранганаяки, Изв. АН СССР, ОХН 1958, 1361.
12. K. Harada, S.W. Fox, The origins of prebiological systems and of their molekular matrices, N.Y.-London, 1965.
13. А.И. Опарин, Возникновение жизни на Земле, М. 1957.
14. The origins of prebiological systems and of their molekular matrices, N.Y. - London, 1965.
15. Б.А. Казанский, И.В. Гостунская, Доклады АН, 76, 407 /1951/.
16. Б.А. Казанский, И.В. Смирнова, Известия АН СССР, серия математических и естественных наук, 1937, 547.
17. Б.А. Казанский, И.В. Гостунская, Журнал общей химии, 25, 1704 /1955/.
18. A. Birch, J. Chem. Soc., 1946, 593.
19. J. von Schooten, J. Knoterus, H. Boer, Ph.M. Duinker, Rec., 77, 935 (1958).
20. H. Boer, Ph.M. Duinker, Rec., 77, 346 (1958).
21. W. Grassmann, K. Hannig, Naturwissenschaften, 31, 496 (1950).
22. W. Grassmann, K. Hannig, Z. Physiol. Chem., 290, 1, (1952).
23. Т.С. Пасхина, Современные методы в биохимии, М. 1964, 162.
24. G. Soder, Germ. pat. 1,143,026; Chem. Abstr., 58, 9255c (1963).
25. F.N. Hill, F.E. Bailey, J.T. Fitzpatrick, US pat. 2,971,988; Chem. Abstr., 55, 221662i (1964, II).

## ОБРАЗОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА С АММИАКАТОМ КАЛЬЦИЯ

/ Токарев Б.В., Москва, СССР /

1. При взаимодействии углекислого газа с аммиакатом кальция образуются аминокислоты - глицин /максимальный выход 0,22%, считая на аммиакат/, серин /максимальный выход 1,2%/, аланин и тирозин, идентифицированные с помощью хроматографии на бумаге, а также вещества пептидного характера. Опыты проводились при различной температуре и скорости пропускания  $\text{CO}_2$  в присутствии гептана и без него. Количества образующихся аминокислот определялись колориметрически.

2. Найдено, что основным фактором, влияющим на количества образующихся аминокислот, является температура реакции. Предложена схема образования аминокислот.

3. Обнаружена приблизительная обратно пропорциональная зависимость между величинами  $R_f$  и градуировочным коэффициентом, при использовании для хроматографии смеси бутанол - уксусная кислота - вода в соотношении 4:1:5 /верхний слой/.

**FORMIĜO DE L' AMINACIDOJ DUM INTERAGO DE DIOKSIDO DE KARBONO  
KUN AMONIAKATO DE KALCIO.**

**(B.V.Tokarev, Moskva arbarteknika instituto, USSR)**

1. Dum interago de dioksido de karbono kun amoniakato de kalcio formiĝas aminacidoj - glicino (maksimuma rikolto 0,22%, je la amoniakato), serino (maksimuma rikolto - 1,2%), alanino kaj tirozino, identigitaj per papera kromatografio, kaj krome substancoj de peptida karaktero. La eksperimentoj estis farataj je diversaj temperaturoj kaj rapidecoj de la fluo de CO<sub>2</sub>, en ĉeesto de heptano aŭ sen ĝi. La kvantoj de formiĝantaj aminacidoj estis determinitaj kolorimetre.
2. Estis trovita, ke la ĉefa faktoro, influanta al la rikolto de la aminacidoj, estas temperaturo de la reakcio. Estas proponita skemo de la formiĝo de la aminacidoj.
3. Estis trovita proksimuma malproportcia dependeco inter la ampleksoj R<sub>f</sub> kaj kalibriga koeficiento, dum uzado por la kromatografio de miksaĵo butanolo - acetata acido - akvo en la rilatoj 4:1:5 (la supra tavolo).