

Synthesen von Adenin und Guanin aus Ammoniumcyanid und Cyansäure in Zeolith X

Synthesis of Adenine and Guanine from Ammonium Cyanide and Cyanic Acid in Zeolithe X

Fritz Seel*, Martin von Blon und Andreas Dessauer

Fachbereich für Anorganische und Physikalische Chemie der Universität des Saarlandes
in Saarbrücken

Z. Naturforsch. **37b**, 820–822 (1982); eingegangen am 25. Februar 1982

Adenine, Guanine Zeolithe X, Prebiotic Synthesis

Adenine (**1**) is formed in substantial amounts (about 1% yield) by heating ammonium cyanide absorbed in zeolithe X for several days at 120 °C. If both, ammonium cyanide and cyanic acid have been absorbed, **1** and guanine (**2**) are synthesized under the same conditions. These experiments provide the first demonstration of the possibility of a spontaneous synthesis of these essential constituents of nucleic acids and of important coenzymes in a silicate.

1. Einleitung

Eine besonders bedeutungsvolle Frage der präbiotischen Evolution ist die der Bildungsweise der Purin- und Pyrimidin-Basen, welche die wesentlichen Bestandteile der Nucleinsäuren sind. Vor nunmehr zwei Jahrzehnten berichteten Oro und Kimball in einer Serie „Synthesis of Purines under Possible Primitive Earth Conditions“ über die Entstehung von Adenin (**1**) aus Cyanwasserstoff [1]. Von vielen ist damit die gestellte Frage als gelöst betrachtet worden, und es wurde diese Arbeit oftmals – insbesondere auch in Monographien – zitiert [2]. Aus 1 Liter einer wäßrigen Lösung von 11 mol HCN und 16 mol NH₃ konnten nach fünftägigem Erwärmen auf 70 °C maximal 685 mg **1** (entsprechend einer Ausbeute von 0,3%) isoliert werden. In 1 molaren HCN-Lösungen gebildetes **1** konnte papierchromatographisch nachgewiesen werden.

Nun ist aber kaum anzunehmen, daß die Gashülle der Erde jemals soviel Cyanwasserstoff und Ammoniak enthielt, daß sich 1 molare Lösungen von Ammoniumcyanid bilden konnten. Insbesondere auch dagegen, daß die Erde über längere Zeit eine Ammoniakhülle besaß, lassen sich gewichtige Argumente anführen [3]. Wenn sich **1** auf der frühen Erde überhaupt aus Ammoniumcyanid bilden konnte, mußte dieses an oder in einem Träger absorbiert gewesen sein, in dem der Partialdruck dieser als reine Substanz äußerst flüchtigen Verbindung sehr stark erniedrigt ist. Es liegt nahe, an eine Matrix zu

denken, die aus einem gesteinsbildenden Silikat besteht, das eine weitmaschige Raumnetzstruktur besitzt. Derartige Silikate sind (unter anderen) die Zeolithe. So besitzt z.B. das Mineral Faujasit Hohlräume mit einem Durchmesser von 13 Å, die fast 50% seines Volumens einnehmen und Zugänge von 8 Å besitzen. Ein Molekül **1** hat in einem derartigen Hohlraum Platz.

Ebenso wie sich das Adenin-Molekül aus fünf Molekülen Cyanwasserstoff zusammensetzen läßt, so kann man auch das Guanin-Molekül aus vier Molekülen HCN und einem Molekül Cyansäure aufbauen. Es lag deshalb nahe, auch die Synthese von Guanin (**2**) in einem Zeolith zu versuchen. Da sich Cyansäure im Gegensatz zu ihrem Ammonium-Salz im Vakuum leicht transportieren läßt, zogen wir es vor, mit der freien Säure selbst zu arbeiten.

2. Ergebnisse der Untersuchung

Wir fanden, daß ein synthetischer Zeolith des Typs X mit der Struktur des in der Natur vorkommenden Minerals Faujasit der Zusammensetzung Na_{9,6}H_{1,5}[Si_{12,9}Al_{11,1}O₄₈] · 7,9 H₂O nach vorheriger „Aktivierung“ (d.h., Ausheizen und Trocknen im Vakuum) bei 350 °C im Hochvakuum bis zu 15 Gew.-%, d.h., 5 Formeleinheiten Ammoniumcyanid pro α -Käfig, absorbiert, das im Vakuum einer Quecksilber-Diffusionspumpe bei Raumtemperatur nicht wieder abgegeben wird. Das Produkt ist infolge der Bildung von Azulminsäure an der Oberfläche des Zeoliths hellbraun, bei einer Beladung mit nur 1 mmol NH₄CN/g (d.h., etwa 0,3 Gew.-% HCN) rein weiß. Bei dieser Beladungs-

* Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. F. Seel.
0340-5087/82/0700-0820/\$ 01.00/0

kapazität zeigt eine laufende Bestimmung des Gehaltes an Cyanid, daß die unter eigenem Gasdruck sich sehr rasch zersetzende reine Verbindung NH_4CN in dem Zeolith bei Raumtemperatur im Vakuum und an der Luft monatelang beständig ist. Bei längerem Erhitzen des cyanidbeladenen Zeoliths auf 120°C im Vakuum, nimmt jedoch der Cyanidgehalt stark (d.h., um etwa 80–100%) ab, während der Gehalt des mittels einer siedenden Lösung von Natriumhydroxid als Ammoniak abspaltbaren Stickstoffs fast im gleichen Maße zunimmt.

Die Suche nach **1** und **2** wurde dadurch sehr erleichtert, daß sich deren Silberderivate auch aus schwach sauren Lösungen quantitativ abscheiden lassen. Der mit NH_4CN bzw. $\text{NH}_4\text{CN} + \text{HNCN}$ beladene, 10 bis 60 Tage lang im Vakuum, in Luft und reinem Stickstoff thermisch behandelte Zeolith wurde in der gerade ausreichenden Menge 2,5-proz. Flußsäure oder 2 molarer Salpetersäure gelöst und die Lösung mit einer Silbernitratlösung versetzt. Aus dem gefällten Niederschlag entstand, wenn der Zeolith mit HCN allein dotiert worden war, eine Lösung, die die charakteristische Absorptionsbande von **1** bei 263 nm zeigte. Schließlich ließ sich mittels HPLC beweisen, daß tatsächlich **1** entstanden war. Auch konnten **1** und **2** chromatographisch gut nebeneinander identifiziert werden (vgl. hierzu Tab. I). Aus der Intensität der UV-Absorption konnte ebenso wie mittels HPLC das Ausmaß der Umsetzungen abgeschätzt werden. Die Ergebnisse von 6 signifikanten Versuchen sind in der Tabelle zusammengestellt. Daß die Umwandlung von HCN und $\text{HCN} + \text{HNCN}$ bei etwas erhöhter Temperatur

gleich gut im Vakuum und unter dem Druck von Luft oder eines Inertgases selbst bei schwacher Dotierung des Silikats (1 Molekül HCN pro 10 Zeolith-Hohlräume) verläuft, ist besonders interessant im Hinblick auf eine damit auch möglich erscheinende Entstehung der Nucleinsäurebase in interstellaren Silikatstaubwolken. **1** und **2** sind in „kohligen“ Meteoriten nachgewiesen worden [4].

Ein Versuch, **1** aus dem Zeolith herauszusublimieren oder herauszulösen, schlug fehl. Jedoch ergab eine massenspektrometrische Untersuchung, daß bei höheren Temperaturen eine thermische Fragmentierung eintritt, die zu Spaltstücken des Triazins führt. Offensichtlich ist diese leicht hydrolysierende und deshalb nicht isolierbare Verbindung das Hauptprodukt der thermischen Umwandlung von Ammoniumcyanid in Zeolith X.

Experimenteller Teil

Ammoniumcyanid wurde durch thermische Zersetzung von Ammoniumhexacyanoferrat(II)-dihydrat im Vakuum nach Mittasch [5] in einer geschlossenen Glasapparatur hergestellt, nachdem zunächst die Temperatur- und Zeitabhängigkeit der Reaktion thermogravimetrisch ermittelt worden war. Die Apparatur bestand aus drei U-Rohren nach Stock [6], U_1 , U_2 , U_3 , und einem „Ampullenrechen“ A nach Hieber und Reindel [7], die in der Reihenfolge $\text{U}_1\text{--U}_2\text{--A--U}_3$ eine „Vakuuminlinie“ mit Abschmelzkapillaren zwischen den einzelnen Teilen bildeten. Zunächst wurde das fein gepulverte Komplexsalz in U_1 im Vakuum einer Quecksilber-Diffusionspumpe 2 h lang auf 80°C erhitzt und das hierdurch abgegebene Kristallwasser in U_3 ausgefroren. Danach wurde U_2 mit einer Ethanol-Trockeneis-Mischung auf -80°C gekühlt und die Temperatur zur Zersetzung des Salzes auf 200°C erhöht. Die Spaltung von 6,5 g $(\text{NH}_4)_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ in NH_4CN und $\text{Fe}(\text{CN})_2$ benötigte insgesamt 20 h. NH_4CN kondensierte in U_2 in farblosen 1–2 mm großen Kristallen. Nach dem Abschmelzen zwischen U_1 und U_2 sowie A und U_3 konnten 2,91 g NH_4CN (entsprechend einer Ausbeute von 72,2%) durch Umkondensieren auf 6 Ampullen verteilt werden. Das Präparat zersetzte sich bei Raumtemperatur unter Braunfärbung sehr rasch, konnte jedoch im Tiefkühlschrank bei -60°C mehrere Wochen lang unzersetzt aufbewahrt werden. Bei Bedarf wurden die Ampullen in einem vorher evakuierten „Zerschlagrohr“ [8] geöffnet und durch Abkondensieren des sehr flüchtigen Produktes entleert.

Cyansäure wurde durch Einwirkung von 95-proz. Phosphorsäure auf eine gesättigte Lösung von Kaliumcyanat im Vakuum hergestellt und in einer mit flüssigem Stickstoff gekühlten Ampulle mit Vakuummhahn aufbewahrt [8].

Tab. I. Zur Entstehung von Adenin und Guanin in Zeolith X. b_1 , b_1^* Anfangsgehalte an HCN und HNCN, b_2 Endgehalt an HCN, b_3 , b_3^* Gehalte an Adenin und Guanin nach dem Tempern bei 120°C , t Dauer des Temperns in Tagen. $a = 500 b_3/(b_1 - b_2)$, $a^* = 400 b_3^*/b_1$ Ausbeuten an **1** und **2** in Prozent bezogen auf HCN bzw. HNCN.

Vers.-Nr.	1	2	3	4	5	6
$b_1/\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$	1,00	1,00	1,00	1,00	0,94	0,94
$b_1^*/\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$					1,36	1,36
t/d	10	20	20	20	60	160
Probe in	Vak.	Vak.	Vak.	N_2	Luft	Luft
$b_2/\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$	0,10	0,28	0,27	0,16	0,0	0,0
$b_3/\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$	2,05	2,20	2,37	1,48	1,04	3,34
$b_3^*/\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$					0,28	0,54
a %	1,14	1,53	1,62	0,88	0,55	1,78
a^* %					0,12	0,23

Dotierung des Zeoliths. Die verwendete Apparatur bestand aus zwei röhrenförmigen Glasgefäßen (Außendurchmesser 14 bzw. 25 mm, Länge 150 mm) mit Schliffkappen, die im oberen Teil durch ein engeres Rohr (Durchmesser 7 mm) mit Abschmelzkapillare miteinander H-förmig verbunden waren. Mittels eines an das weitere Gefäß angeschmolzenen engen Rohres mit Abschmelzkapillare, konnte die Verbindung vom „Zerschlagrohr“ zur Vakuumlinie hergestellt werden. In dem engeren, starkwandigen Rohr konnte eine der NH_4CN enthaltenden Ampullen mittels eines magnetisch zu hebenden Hammers zerschlagen werden, der aus einem mit Eisenpulver gefüllten Glasrohr bestand. Die Menge des in das weite Rohr eingefüllten Zeolithpulvers (etwa 20 g) wurde stets so bemessen, daß es mit jeweils 1 mmol $\text{NH}_4\text{CN/g}$ dotiert wurde. Vor der Dotierung wurde der Zeolith durch 10- bis 12-stdg. Ausheizen bei 230 °C „aktiviert“, d.h., von Wasser und Luft befreit. Um eine Zersetzung des Ammoniumcyanids während des Absorptionsvorganges zu vermeiden, wurde das es enthaltende Rohr auf -30 °C ($p(\text{NH}_3) + p(\text{HCN}) = 10 \text{ Torr}$) und das Zeolithpulver auf 0 °C abgekühlt. Die Proben dotierten Zeoliths wurden in evakuierten Glasampullen bei 120 °C in einem Trockenschrank aufbewahrt. Bei Raumtemperatur veränderte sich ihr Inhalt im Verlaufe von 10 Tagen nicht.

Aufarbeitung der durch thermische Behandlung erhaltenen Produkte. Substanzproben von 1,0 bzw. 2,5 g wurden in 20 bzw. 50 ml 2,5-proz. Flußsäure oder 2-molarer Salpetersäure gelöst und die erhaltenen rotbraunen Lösungen nach dem Abzentrifugieren eines kleinen Anteils an Ungelöstem (vermutlich SiO_2) mit 10 ml einer 0,1 molaren Silbernitrat-Lösung versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abzentrifugiert, dreimal mit wenig Wasser gewaschen, mit 15 ml 0,1 molarer Salzsäure umgesetzt

und erneut abzentrifugiert. Schließlich wurde die überstehende Lösung mit Wasser auf 100 ml verdünnt, um die notwendige optische Transparenz zu erhalten. Die Reproduzierbarkeit des Verfahrens wurde sowohl UV-spektrometrisch als auch mittels HPLC überprüft. 0,4 bis 0,6% Adenin, die Zeolith beigemischt worden waren, wurden innerhalb einer Fehlerbreite von $\pm 2 \text{ Gew.-%}$ wiedergefunden.

UV-spektrometrische Analyse. Da der Vergleich der Spektren reiner Lösungen von **1** mit den erhaltenen Probelösungen zeigte, daß die letzteren infolge eines offensichtlich nicht zu vermeidenden Gehaltes an Azulminsäure einen optischen Untergrund hatten, wurde die Konzentration der Probelösungen durch Vergleich der Differenzen der Extinktionswerte des Maximums bei 263 nm und des Minimums bei 228 nm bestimmt. Es wurde auf diese Weise gefunden, daß in der Probe **1** (vgl. Tab.) mindestens 0,84% HCN zu **1** umgesetzt worden waren.

Analyse durch HPLC. Hierfür konnten die gleichen Lösungen verwendet werden wie für die Spektralanalyse. Die Versuchsbedingungen entsprachen im wesentlichen den bereits von Anderson und Murphy [10] für die Trennung von Nucleinsäurebasen gewählten. Pumpe: M-6000, Einlaßsystem: U6K (Fa. Waters Associated Inc.), Säulenabmessungen: 4 mm/300 mm, Säulenfüllung: μ -Bondapak C_{18} Reverse Phase, Druck in der Säule: 2000 Psi, Eluent: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $c = 0,05 \text{ mol/l H}_2\text{O}$, Fließgeschwindigkeit: 2 ml/min, Detektor: UV-Durchflußzelle, Wellenlänge 254 nm, Schreiber-Geschwindigkeit: 1 cm/min, Vollausschlag 10 mV.

Unter diesen Bedingungen wurden für **1** und **2** mittlere Retentionszeiten von 11,4 bzw. 5,9 min und Peakhöhen von 16,9 bzw. 72,7 mm pro 1 nmol Substanz gefunden.

-
- [1] J. Oro und A. P. Kimball, *Arch. Biochem. Biophys.* **94**, 217 (1961).
 - [2] K. Dose und H. Rauchfuss, *Chemische Evolution und der Ursprung lebender Systeme*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1975, S. 105.
 - [3] P. H. Abelson, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* **53**, 1365 (1965).
 - [4] M. Calvin, *Chem. Eng. News* **39** (21), 96 (1961); M. H. Briggs, *Nature* **191**, 1137 (1961); R. Hayatsu, *Science* **194**, 1291.
 - [5] A. Mittasch, E. Kuss und O. Emert, *Z. Anorg. Chem.* **170**, 193 (1928).
 - [6] A. Stock, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **50**, 156 (1917).
 - [7] W. Hieber und E. Reindel, *Z. Elektrochem. Angew. Physik. Chem.* **46**, 564 (1940); vgl. auch F. Seel, *Z. Anorg. Chem.* **252**, 24 (1943).
 - [8] F. Seel, J. Nogradi und R. Posse, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **269**, 197 (1952).
 - [9] R. A. Ashby und R. L. Werner, *Spectrochim. Acta* **22**, 1345 (1966).
 - [10] F. S. Anderson und R. C. Murphy, *J. Chromatogr.* **121**, 251 (1976).