

## $\beta$ -羧乙基锗倍半氧化物的性质及在水溶液中与某些生物底物的作用

张树功\* 上官国强 倪嘉赞

(中国科学院长春应用化学研究所, 长春)

三种不同制备方法的  $\beta$ -羧乙基锗倍半氧化物(Ge-132), 其红外、拉曼光谱、光电子能谱以及热分析行为表现一定差异。这种差异主要因制备方法不同, 获得样品中羧基间氢键作用以及 Ge—O 环尺度和键角不同引起的。它们在水溶液中均水解为三羟锗基丙酸,  $^1\text{H}$  NMR 谱上观察到与果糖有较强作用, 与谷胱甘肽作用不明显, 为了解 Ge-132 的生物作用机理提供了重要信息。

锗是存在于许多植物中的微量元素。由于发现人参等名贵中药植物中含有相当多的锗, 因而推测有机锗化合物可能具有重要的生物活性。基于这一观点, 日本学者浅井等<sup>[1]</sup>首次合成了具有广泛药理活性的  $\beta$ -羧乙基锗倍半氧化物(简称 Ge-132)。它是  $(\text{GeCH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_2\text{O}_3$  的低聚物, 晶体结构分析<sup>[2]</sup>发现具有三维网状结构, 分子中每个锗原子与三个桥氧原子连结, 形成类似冠醚的 Ge—O—Ge 大环。羧基链交替分布在 Ge—O 环两侧, 羧基之间以氢键连结。Ge-132 是无嗅无味的白色粉末, 室温水中的溶解度约 1%, 不溶于有机溶剂。因出发原料及最后水解条件不同, 合成方法大致分为三种<sup>[3]</sup>。不管哪种方法均由锗氯仿与丙烯酸(或其衍生物)通过反 Markownikoff 加成反应, 生成端位的三氯锗丙酸。但对不同制备方法的 Ge-132 分子或晶体结构是否相同, 尚未详细研究。其次, 虽经广泛药理和临床研究证明, Ge-132 的生物活性与其诱发表内干扰素合成, 增强各类杀伤细胞的活性相关<sup>[4]</sup>, 但从分子水平上研究上述作用的机制尚未见报道。

本工作首先研究了三种不同制备方法获得的 Ge-132 的 IR, Raman, TG-DTA 以及 XPS 谱特点, 讨论了三者分子结构上的差异。然后用  $^1\text{H}$  NMR 研究了重水中 Ge-132 与果糖及谷胱甘肽两种生物底物的作用, 讨论了 Ge-132 生物作用的可能机制。

## 实 验

**试剂** 金属锗及  $\text{GeO}_2$  均为光谱纯, 丙烯酸为化学纯, 其余试剂为分析纯。

**仪器** DIGILAB-20E 红外光谱仪(KBr 压片)。DILOR-Z24 激光拉曼光谱仪,  $\text{Ar}^+$  激光光源, 4880 Å 线激发, 毛细管粉末装样、岛津 DT-30 热分析仪, Pt-PtRh 热电偶, Pt 坩埚, 9 mg 样品,  $\text{N}_2$  气流,  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  升温。ESCALAB-MKII X 光电子能谱仪,  $\text{MgK}\alpha$  靶光源, 粉末样压片, 以  $\text{C}_{1s}$ (248.6 eV) 为内标。EM-3900 型 90 MHz 核磁共振谱仪,  $\text{D}_2\text{O}$  为溶剂, DSS 为内标。

### Ge-132 合成

**方法 1** 将金属锗粉置于石英管炉内, 于  $650\text{--}670^\circ\text{C}$  连续通入干燥的  $\text{HCl}+\text{N}_2$  混合气体, 用干冰冷阱凝集排出气体中的  $\text{HGeCl}_3$ 。再按 1:1.5(摩尔比)与丙烯酰胺乙醇溶液于  $10\text{--}$

\* 1988 年 10 月 5 日收到。国家自然科学基金资助的项目。

15°C 混合搅拌反应 10 h, 加等体积 5% NaOH 溶液回流 5 h, 析出白色沉淀. 分离并用乙醇、盐酸(1:9)及水洗涤, 真空干燥, 收率约 66%, 编为 1 号.

方法 2 用  $\text{GeCl}_4$  代替  $\text{GeO}_2$ , 按文献[3]例 1—B 合成  $\text{Cl}_3\text{Ge}(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$ , 以每克上述产物加 20 mL 乙醇溶液, 充分搅拌下滴加半体积水, 析出白色沉淀. 放置过夜, 分离洗涤并真空干燥, 收率约 63%, 编为 2 号.

方法 3 用  $\text{GeO}_2$  为原料, 按文献[3]例 1—A 生成  $\text{Cl}_3\text{GeCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  后, 不分离, 放置过夜, 分离析出的无机盐. 母液加水稀释一倍, 室温搅拌 5 h, 分离析出的白色沉淀, 水洗真空干燥, 收率约 67%, 编为 3 号. 三种样品的元素分析结果列于表 1, 结果符合  $(\text{GeCH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2\text{O}_3$  简式.

表 1 三种 Ge-132 样品的元素分析结果(%)

编 号	C	H	Ge
1	20.97(21.23)	2.94(2.95)	42.65(42.81)
2	21.06	2.96	42.63
3	21.98	2.92	42.55

注: 括号内为计算值.

## 结果及讨论

### Ge-132 的光谱、热分析特点与结构

IR 和 Raman 光谱 三个样品的 IR 和 Raman 光谱见图 1 和图 2. 红外光谱中, 1 号和 2 号样品都有  $3300\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$  弱氢键作用羧基 OH 振动宽带, 2 号样品同时存在  $3100\text{--}2600\text{ cm}^{-1}$  强氢键作用羧基 OH 谱带, 3 号样品只出现强氢键 OH 宽带. 从 1 号到 3 号, 羧基  $\text{C}=\text{O}$  强谱带的位置, IR 从  $1720\text{ cm}^{-1}$  移至  $1680\text{ cm}^{-1}$ , Raman 从  $1680\text{ cm}^{-1}$  移到  $1650\text{ cm}^{-1}$ . 表明三者中氢键作用依次加强. 1 号样品内, 丙酸  $\text{CH}_3$  变角振动谱带( $1400\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ )出现多重劈裂. 表明它的分子内, 丙酸侧链取向更加不规则. 羧基  $\text{C}-\text{OH}$  拉伸和  $\text{C}-\text{O}-\text{H}$  弯曲耦合振动谱带(IR  $1220\text{--}1270\text{ cm}^{-1}$ )波数从 1 号到 3 号增加, 也说明氢键作用依次加强. 三种样品的 IR  $900\text{ cm}^{-1}$  和  $800\text{ cm}^{-1}$   $\text{Ge}-\text{O}$  键振动谱带强度也有明显区别: 1 号样品的两者均为强谱带, 2 号的  $800\text{ cm}^{-1}$  比  $900\text{ cm}^{-1}$  强, 3 号的  $800\text{ cm}^{-1}$  变为特强谱带, 而  $900\text{ cm}^{-1}$  明显减弱. 这

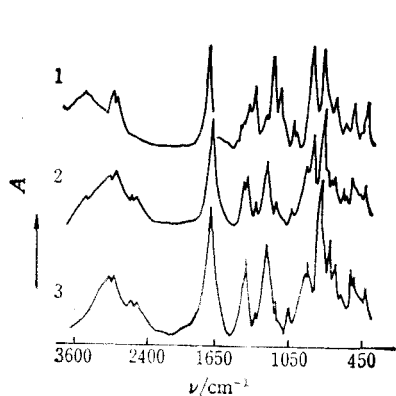


图 1 三种 Ge-132 的中红外光谱

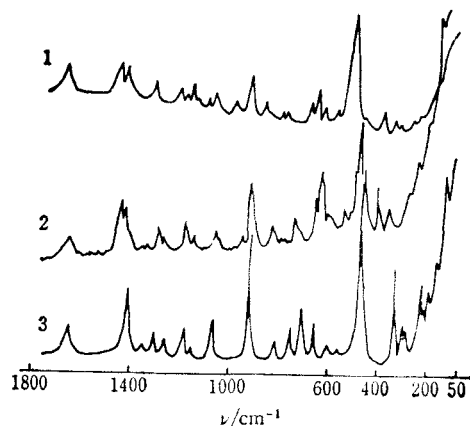


图 2 三种 Ge-132 的拉曼光谱

可能因为 1 号和 2 号样品分子中 Ge 原子同时处在两个不同尺寸的环中, 并且 1 号样品分子中两个 Ge—O 环差别比 2 号大, 对称性低, 而 3 号的分子中, Ge 原子处在基本相同的两个 Ge—O 环内, 对称性高, 因而主要出  $800\text{ cm}^{-1}$  一条强带. 三者的 Raman 光谱均存在  $900\text{ cm}^{-1}$  强谱带. 1 号和 2 号同时存在  $800\text{ cm}^{-1}$  弱谱带. 因通常对称振动模式是 Raman 强谱带, 故可将  $900\text{ cm}^{-1}$  归于 O—Ge—O 键对称振动,  $800\text{ cm}^{-1}$  归为反对称振动. 三者 Raman 光谱的重要区别还表现在  $460\text{—}450\text{ cm}^{-1}$  O—Ge—O 键角变形振动谱带中心位置不同. 1 号为  $456\text{ cm}^{-1}$ , 2 号为  $454\text{ cm}^{-1}$ , 比较接近. 而 3 号则为  $449\text{ cm}^{-1}$ , 这反映了三者的 O—Ge—O 键角性质的差异.

**热分析** 差热分析的吸热温度列于表 2. 在第一个吸热过程中样品不发生失重, 可能属于样品熔化<sup>[5]</sup>或晶体相变过程. 三者的温度依次升高, 说明分子间作用力增强, 与红外光谱上显示的氢键作用加强一致. 第二个吸热过程伴随有 30—40% 失重, 样品受热分解. 残渣为黑褐色, 系 GeO、GeO<sub>2</sub> 及残碳的混合物. 三者的吸热温度从 1 号到 3 号依次升高. 1 号样品相变吸热峰面积大, 分解吸热峰面积小, 2 号和 3 号样品则相反.

表 2 三种 Ge-132 的热分析数据

编 号	吸热相变温度(°C)	吸热分解温度(°C)	失 重 (%)
1	175—180—190	213—287—312	34
2	170—186—201	258—287—312	32
3	198—205—213	265—293—320	30

**光电子能谱** 各样品的 Ge3d、Ge3p 及 O1s 结合能列于表 3. 各能谱峰都是对称单峰, 表明各样品中 Ge 及 O 原子价态相同. 不同样品的结合能差别较小, 但仍能看出 Ge3d、Ge3p 结合能从 1 号到 3 号逐渐增加, O1s 逐渐减小, 反映了 Ge 原子电子密度有所降低, O 电子密度略增加. 因 Ge—O 键有很强共价性, 最有利于 Ge→O 电荷转移的 Ge—O—Ge 键角应为  $180^\circ$ , 如果分子内 Ge—O 环足够大, 则 Ge—O—Ge 键角越趋于  $180^\circ$ . 因此, Ge 和 O 原子电子结合能的上述变化说明从 1 号到 3 号, Ge-132 分子中 Ge—O 环逐渐增大.

表 3 三种 Ge-132 中 Ge, O 原子电子结合能(eV)

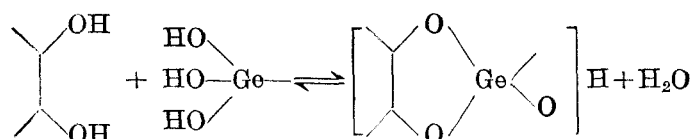
编 号	Ge3d	Ge3p	O1s
1	31.7	124.1	531.5
2	31.8	124.2	531.4
3	32.0	124.4	531.2

综合上述结果, 我们认为不同制备方法的 Ge-132 的光谱及热分解行为的差异, 主要可能是由于聚合度不同引起的. 因聚合度问题比较复杂, 而迄今又无适当方法测其平均分子量来直接判断聚合度. 为此, 我们曾研究了 Ge-132 及其衍生物的快速原子轰击质谱(FAB-MS)<sup>[6]</sup>, 均未观测到分子离子峰. 质谱的基峰是 Ge—O 环断裂后的准分子离子( $\text{GeC}_2\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}^+ + \text{H}^+$ )与底物硫甘油的复合物(即  $\text{C}_3\text{H}_5\text{SO}_2\text{GeC}_2\text{H}_4\text{COH} + \text{H}^+$ )离子峰, 它的精细谱包括 5 条谱线, 相对强度与 Ge 同位素丰度比一致. 在质谱扫描范围内( $m/z$  由 0—1000), 高质荷比峰都很弱, 1 号到 3 号的最高质荷比峰分别为 634、678 和 794, 分别属于含 4 或 5 个 Ge 原子的碎片离子, 在一定程度上反映了三者聚合度依次升高的趋势.

#### 水溶液中 Ge-132 与果糖及谷胱甘肽的作用

中和滴定、<sup>13</sup>C NMR 及冷冻熔化 ESR 分析均证明, 在水溶液中, Ge-132 水解为

$(\text{HO})_3\text{Ge}(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}^{[4]}$ . 我们亦发现三种样品的重水溶液  $^1\text{H}$  NMR 谱相同. 图 3 示出 pH7—7.2 不同浓度果糖溶液中, Ge-132  $^1\text{H}$  NMR 谱的变化. 纯 Ge-132 溶液  $^1\text{H}$  NMR 是典型一级偶合谱, 符合  $n+1$  规则. 分子中  $\beta\text{-CH}_2$  和  $\alpha\text{-CH}_2$  质子化学位移, 分别为 1.53 和 2.44 ppm 处的两组三重峰,  $J=7\text{ Hz}$ . 在 1.0—2.0% 果糖溶液中,  $\beta\text{-CH}_2$  质子化学位移向低场移 0.04—0.05 ppm,  $\alpha\text{-CH}_2$  基本不变. 随果糖浓度增加,  $\beta\text{-CH}_2$  峰进一步劈裂, 谱峰明显展宽.  $\alpha\text{-CH}_2$  质子峰谱略展宽, 但其三峰仍清晰可辨.  $\beta\text{-CH}_2$  质子谱低场位移及不规则劈裂, 说明与其连结的  $-\text{Ge}(\text{OH})_3$  基团与果糖分子有较强作用. 考虑到  $\text{GeO}_2$  在溶液中能与糖生成配合酸<sup>[7]</sup>, 以及与多糖构成的植物细胞壁也存在类似作用<sup>[8]</sup>. 我们推测 Ge-132 与果糖可能也发生相似作用:



因反应是可逆的, 在核磁扫描周期内属于快交换过程, 致使  $\beta\text{-CH}_2$  峰成为不规则劈裂的宽峰. 由于机体组织和细胞膜中都有含糖生物大分子. 因此, Ge-132 与果糖的作用, 对了解 Ge-132 的生物作用机制可能有重要意义. 我们的细胞培养和动物试验也证明, Ge-132 没有细胞毒性, 在相当宽的剂量范围内, 均能促进细胞对 DNA 和 RNA 前体物质 TdR 和 UdR 的摄取<sup>[9]</sup> 以及动物腺体激素的分泌<sup>[10]</sup>.

图 4 是 pH7—7.2 不同浓度还原谷胱甘肽(GSH)溶液中, 1.0% Ge-132 的  $^1\text{H}$  NMR 谱的变化. 在 2.83—3.30 ppm 之间, Cys- $\beta\text{-CH}_2$  出现两组不规则三重峰, 表现氧化谷胱甘肽(GSSG)特征<sup>[11]</sup>. 可能系制样过程中 GSH 有部分被氧化. 其余质子位移和谱峰形状基本不

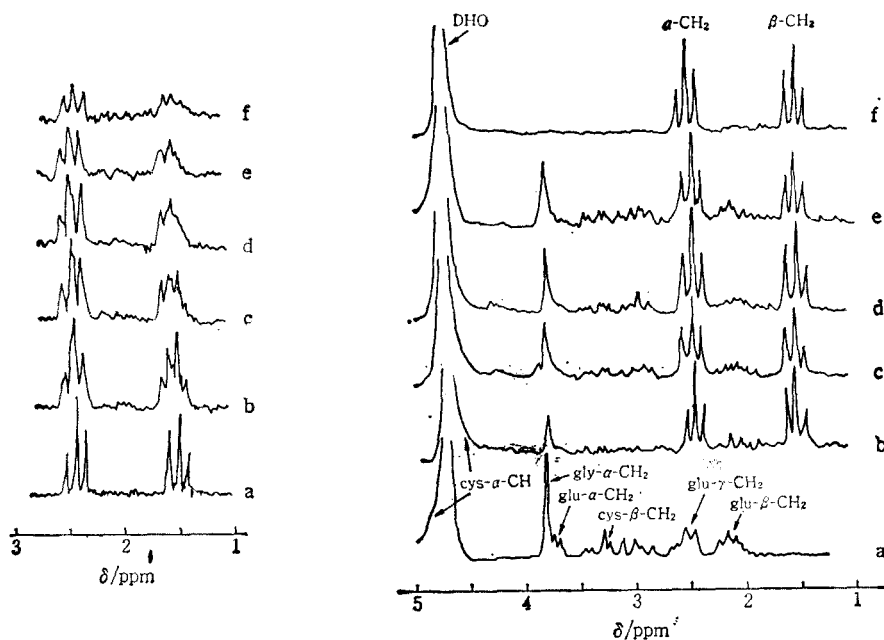


图 3 Ge-132  $^1\text{H}$  NMR 谱随果糖浓度的变化  
pH7—7.2, Ge-132 和果糖浓度 (wt%): a—1.0,  
0; b—0.9, 1.0; c—0.8, 2.0; d—0.7, 3.0; e—0.6,  
4.0; f—0.4, 6.0

图 4 不同浓度 GSH 溶液中 Ge-132  $^1\text{H}$  NMR 谱的变化.  
pH7—7.2, Ge-132 和 GSH 浓度 (wt%): a—0,  
1.0; b—1.0, 0.25; c—1.0, 0.50; d—1.0, 0.75;  
e—1.0, 1.0; f—1.0, 0

受 Ge-132 影响。同样, Ge-132 的  $\beta$ -CH<sub>2</sub> 峰仍然为 1.51—1.53 ppm 处的三重峰,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub> 的 2.44 ppm 三重峰与 GSH 和 GSSG 的 glu- $\gamma$ -OH 峰重叠, 说明 Ge-132 与 GSH 或 GSSG 没有明显作用, 用 GSSG 测定的 <sup>1</sup>H NMR 显示同样结果。

### 参 考 文 献

- [1] Asai, K.; Kakimoto, N., *US 3793455*, 1974 [*Chem. Abstr.* 1974, 80, 112665d].
- [2] Tsutsui, M.; Kakimoto, N.; Axtell, D. D., *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, 98, 8287.
- [3] Chang, Ching-Te; Lee, Lian-Tze; Su, Hsueh-Ling, *EPAP86569A1*, 1983 [*Chem. Abstr.*, 1983, 99, 158634p].
- [4] 佐藤 博, 官尾兴平, 医学と薬学(日), 1983, 9(3), 814.
- [5] 傅树人, 王海琳, 化学通讯, 1987, 4, 35.
- [6] 田志华, 刘淑莹, 上官国强, 张树功, 分析化学, 待发表.
- [7] 日本锗研究委员会, “ゲルムニウム”(日), 日本朝倉書店, 1955 年, 第 131 页.
- [8] 高桥英一, 化学と生物(日), 1985, 23(5), 330.
- [9] 聂毓秀, 张树功, 倪嘉缙, “第三次全国生物无机化学学术讨论会论文集”(上册), 广州 1989 年 1 月.
- [10] 尹 昕, 张树功, 倪嘉缙, “第三次全国生物无机化学学术讨论会论文集”(上册), 广州, 1989 年 1 月.
- [11] Dill, K.; Oconnor, R. J.; Mogomn, E. L., *Inorg. Chem. Acta*, 1987, 138, 95.

## Properties of $\beta$ -Carboxyethyl-Germanium Sesquioxide and Interactions of It with Some Substrates

Zhang, Shu-Gong\* Shangguan, Guo-Qiong Ni, Jia-Zuan

(Changchun Institute of Applied Chemistry, Academia Sinica, Changchun)

### Abstract

Three samples of  $\beta$ -carboxyethyl-germanium sesquioxide (Ge-132) have been prepared with different methods. Their IR, Raman, XPS, TG-DTA and FAB-MS spectra are quite different and indicate that they have different degree of polymerization and molecule structures.

In the aqueous solution, all of them interact strongly with fructose, but not with polypeptides such as GSH and GSSG. This fact may be important in understanding the bioactivity of Ge-132.