

2/78

CMCRZ 7 (2), 43—98 (1978)

XHMIKA XPONIKA

NEA ΣΕΙΡΑ

CHIMIKA CHRONIKA

NEW SERIES

**AN INTERNATIONAL EDITION
OF THE GREEK CHEMISTS ASSOCIATION**

CHIMIKA CHRONIKA / NEW SERIES

Published by the Greek Chemists' Association
27, Kaningos Street, Athens (147), Greece

Βιβλιοθήκη
Αναστασίου Σ. Κόνερα
(1897-1992)

EDITORS - IN - CHIEF

V.M. KAPOULAS
Biochemistry, University of Athens
M.I. KARAYANNIS
Analytical Chemistry, Univ. Athens

ASSISTANT EDITORS

C.A. DEMOPOULOS
Biochemistry, University of Athens
C.E. FFASTATHIOU
Analytical Chemistry, Univ. Athens

CONTRIBUTING EDITORS

TH. HADJIIOANNOU
Analytical Chemistry, University of Athens
D. KATAKIS
Inorganic Chemistry, University of Athens
C.N. POLYDOROPOULOS
Physical / Quantum Chemistry, Univ. Ioannina
K. SANDRIS
Organic Chemistry, Tech. Univ. Athens
G.A. VARVOGLIS
Organic Chemistry, Athens

EDITORIAL ADVISORY BOARD

N. ALEXANDROU
Organic Chemistry, University of Salonica
P. CATSOULACOS
Organic/Medicinal Chem. C.N.R. "Democritos"
G.D. COUMOULOS
Physical Chemistry, Athens
I. DILARIS - PAPADIMITRIOU
Organic Chemistry, University of Athens
N.A. ECONOMOU
Physics, University of Salonica
A.E. EVANGELOPOULOS
Biochemistry, The National Hellenic Research Foundation, Athens
T. FOTAKIS
Organic Chemistry, CHROPI, Piraeus
S. FILIANOS
Pharmacognosy, University of Athens
D.S. GALANOS
Food Chemistry, University of Athens
A.G. GALINOS
Inorganic Chemistry, University of Patras
P. GEORGAÇOPOULOS
Pharmaceutical Technology, Univ. of Salonica
M.P. GEORGIADIS
Organic Medicinal and Agricultural Chemistry, Agricultural Univ. Athens
N. HADJICHRISTIDIS
Polymer Chemistry, University of Athens

E. HADJOUDIS
Photochemistry, C.N.R. "Democritos"
N.K. KALFOGLOU
Polymer Science/Applied Phys. Chem., Univ. Patras
E. KAMPOURIS
Polymer Chemistry, Tech. Univ. Athens
D. KIOUSSIS
Petroleum/Petrochem. Technology, Univ. Athens
P. KOUROUNAKIS
Pharmaceutical Chemistry, Univ. Salonica
TH. G. KOUYOYMZELIS
Nuclear Physics, Tech. Univ. Athens
G.P. KYRIAKAKOU
Physical Organic Chemistry, Tech. Univ. Athens
G. MANOUSSAKIS
Inorganic Chemistry, University of Salonica
I. MARANGOSIS
Chemical Mechanics, Tech. Univ. Athens
I. NIKOKAVOURAS
Photochemistry, C.N.R. "Democritos"
D.N. NICOLAIDES
Organic Chemistry, University of Salonica
G. PAPAGEORGIOU
Biophysics, C.N.R. "Democritos"
V.P. PAPAGEORGIOU
Natural products, Tech. Univ. Salonica
G.A. PNEUMATIKAKIS
Inorganic Chemistry, University of Athens
M.J. SCOULLOS
Environmental and Marine Chem. Univ. Athens
G. SKALOS
Microanalysis, Tech. Univ. Athens
G.A. STALIDIS
Physical Chemistry, Univ. of Salonica
A. STAVROPOULOS
Industrial Technology, G.S.I.S., Piraeus
I. M. TSANGARIS
Bioinorganic-Biophysical Chem. Univ. Ioannina
G. TSATSARONIS
Food Chemistry / Technology, Univ. Salonica
G. VALCANAS
Organic Chemistry, Tech. Univ. Athens.
G.S. VASILIKIOTIS
Analytical Chemistry, Univ. Salonica
E.K. VOUDOURIS
Food Technology, University of Athens
I. VOURVIDOU-FOTAKI
Organic Chemistry, University of Athens
I.V. YANNAS
Mechanical Engineering, M. I. T., USA

Correspondence, submission of papers, subscriptions, renewals and changes of address should be sent to *Chimika Chronika, New Series, 27 Kaningos street, Athens 147, Greece*. Subscriptions are taken by volume at 300 drachmas for members and 500 drachmas for Corporations in Greece and 15 U.S. dollars to all other countries except Cyprus, where subscriptions are made on request.

Printed in Greece by Boukouris' Grafics.

Υπεύθυνος συμφώνως τῷ νόμῳ: Βασίλ. Καπούλας, Παπαδιαμάντη 25, Παλ. Ψυχικό, Ἀθήναι. Ὑπεύθυνος Τυπογραφείου: Α. Μπούκουρης, Ποταμού καὶ Ἀδῆγης (17^ο χλμ. Ἐθν. Ὁδοῦ Ἀθηνῶν - Λαμίας), Νέα Κηφισιά.

CONTENTS

Study on the structure of the components of <i>Alkanna Tinctoria Tauch</i> (in English) by V. P. Papageorgiou	45
A mathematical model for the automation of a sequence of random processes in physical chemistry (in French) by Radu Badescu	55
Studies on the chemistry of humic acids. I. Complexes of Fe(II), Fe(III) and Cu(II) with toluoquinone and oligomeric derivatives (in English) by M. Scoullou, D. Katakis	65
Spectrophotometric behaviour of 1-nitro-2-naphthol and 2-nitro-1-naphthol in pure and mixed solvent (in German) by D. Jannakoudakis, I. Moutziz, E. Theodoridou	75
Synthesis and IR, ESR spectrometric studies of Cu(II) complexes with maleic acid analogous (in German) by Sp. Paraskewas, D. Konstantinidis	85
SHORT PAPERS	
On the <i>in vivo</i> biosynthesis of glyceryl ethers by <i>Tetrahymena pyriformis</i> (in English) by V. M. Kapoulas, Ch. Gabrielides	91

STUDY ON THE STRUCTURE OF THE COMPONENTS OF *ALKANNA TINCTORIA TAUSCH*

VASSILIOS P. PAPAGEORGIU

Laboratory of Organic Chemistry Polytechnical School, Aristotelian University Thessaloniki, Hellas

(Received February 11, 1977)

Summary

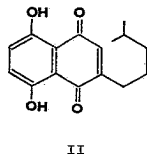
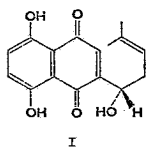
The method used to isolate some of the main constituent compounds of *Alkanna tinctoria Tausch* is described and it is aimed at the isolation and identification of the red pigments occurring in the roots of the plant.

Analysis indicated the presence, in addition to known waxes, of polymer pigments having relative molecular mass approaching 8,000, the existence of at least thirteen fluorescent compounds, and the occurrence of monomer pigments.

Separation and isolation of the pigments resulted in the identification of two, the naturally occurring β , β -dimethylacrylic ester of alkannin and alkannin, which is a product of the hydrolysis of its esters. The presence of naturally occurring alkannin reported in the past, has not been established.

Introduction

The information about the chemical constitution of *Alkanna tinctoria Tausch* are very limited and any available is thanks to the work of Brockmann,¹ who isolated and characterized one red pigment, the alkannin (I), and proposed the structure of alkannan (II) for another pigment.



Brand and Lohmann² reported the presence of a third pigment in the roots of the plant, for which they proposed the structure of the angelic ester of alkannin. The presence of alkannin and its esters in other plants (*Onosma echiodes* L.,³ *Arnebia nobilis*^{4,5}) has also been reported.

In this work, the chemical composition of the plant is studied. It is a part of a programme for the technological development of certain components of the plant. The composition on the waxes of the plant has been reported.⁶

Results and discussion

Extraction of the dry roots of the plant with benzene afforded a deep red solid. This preliminary extraction was carried out at room temperature in a nitrogen atmosphere. Analysis (Fig. 1a) of the solid by gel permeation chromatography (GPC) indicated that the solid is a mixture of several compounds having relative molecular mass M_r between 272 (traces) and 7,500. The preliminary benzene extract polymerized when was left for a month, as indicated by another (Fig. 1b) GPC analysis.

TLC analysis of the preliminary benzene extract (Fig. 2) indicated the presence of four pigments at R_f 0.57, 0.44, 0.41, and 0.19, respectively. A fifth fluorescent substance at R_f 0.29 was observed when the plate was exposed to UV light (254 nm).

The same results were obtained when the extract of the dry roots with n-hexane was analysed as in the case of benzene.

In order to separate pigments, fluorescent substances, polymers and waxes,⁶ the preliminary extract was subjected to a series of extractions (Fig. 3).

TLC analysis of fraction β_1 (Fig. 2) supported the evidence that it is a mixture of at least ten fluorescent substances, the structure of which is studied.

The pigments were isolated from the rest of the compounds and were collected in fraction β_2 (Fig. 3). This fraction, apart from three pigments (R_f 0.57, 0.41 and 0.19) existing in the preliminary benzene extract, contained another pigment having R_f 0.28. However, the pigment with R_f 0.44 present in the preliminary benzene extract was not found in fraction β_2 . Fraction β_2 was percolated through a column of florisil to isolate its compounds. The eluants used are given in Table I.

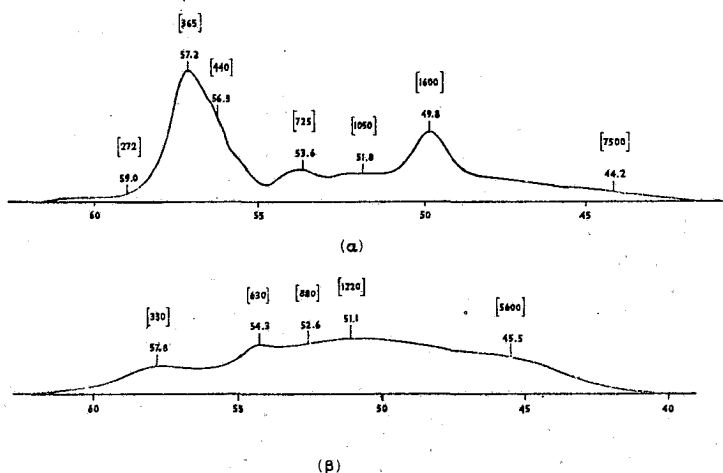


FIG 1: a. GPC analysis of the preliminary benzene extract. Concentration 101.21 mg/5 ml tetrahydrofuran.

b. GPC analysis of the preliminary benzene extract, a month after the extraction. Concentration 2 g/100 ml tetrahydrofuran.

Temperature 42°C. Reference: polystyrene.

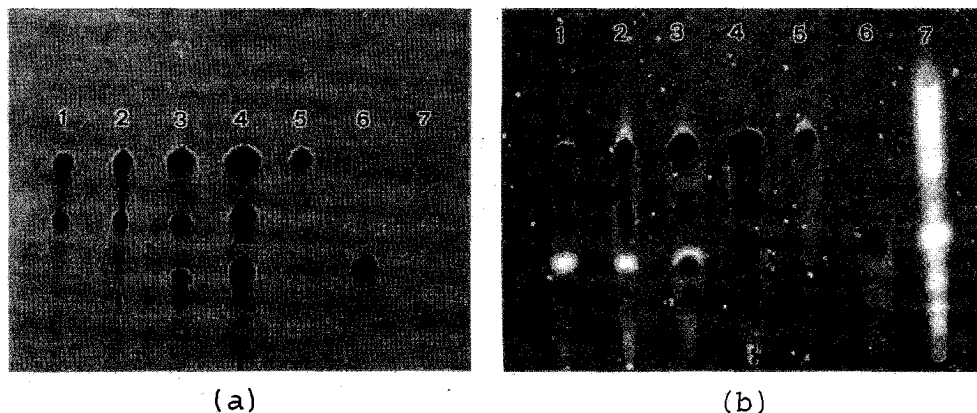


FIG 2: Pictures of TLC analysis of the preliminary benzene extract and fractions B1, β_1 , β_2 , β_3 .
a. Visible b. UV.

Kieselgel 60 F₂₅₄ plate (Merck).

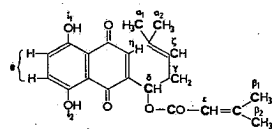
Eluant chloroform-benzene-methanol (90+10+0.5).

1. Preliminary benzene extract
2. Fraction B1
3. Fraction β_2
4. Fraction β_3
5. β , β -Dimethyl-acrylic ester of alkannin
6. Alkannin
7. Fraction β_1

TLC analysis indicated that sub-fractions 2-6 contained the same pigment (Rf 0.57). The red was recrystallized from n-hexane to produce fine red crystals melting at 106-108° C.

The UV-Vis absorption bands showed λ_{\max} (n-C₆H₁₄) at 277, 490, 524, 546 and 563 nm. The infrared spectra absorbed at 3460 cm⁻¹ (phenolic -OH), 1710 and 1140 cm⁻¹ (a, β -unsaturated esters) and 1610 cm⁻¹ (quinone >C=O). the NMR spectra are summarized in Table II.

These results indicated that the structure is that of 5,8-dihydroxy-2-(1'- β , β -dimethylacryloxy-4'-methylpent-3'-enyl)-1,4-naphthoquinone (β , β -dimethyl-acrylic ester of alkannin, III).



III

Further support for the proposed structure comes from the mass spectra.⁷ The mass spectra is given in Fig. 4.

This pigment was hydrolysed with 1 M solution of KOH in an inert atmosphere (nitrogen). TLC analysis indicated decomposition into two compounds,⁸ the alkannin and an acid, C₅H₈O₂ (M⁺ 100), having m.p. 65-66°C, which was identified as the β , β -dimethyl-acrylic acid.

FIG. 3: Flowsheet for the extraction of *Alkanna tinctoria* Tausch.

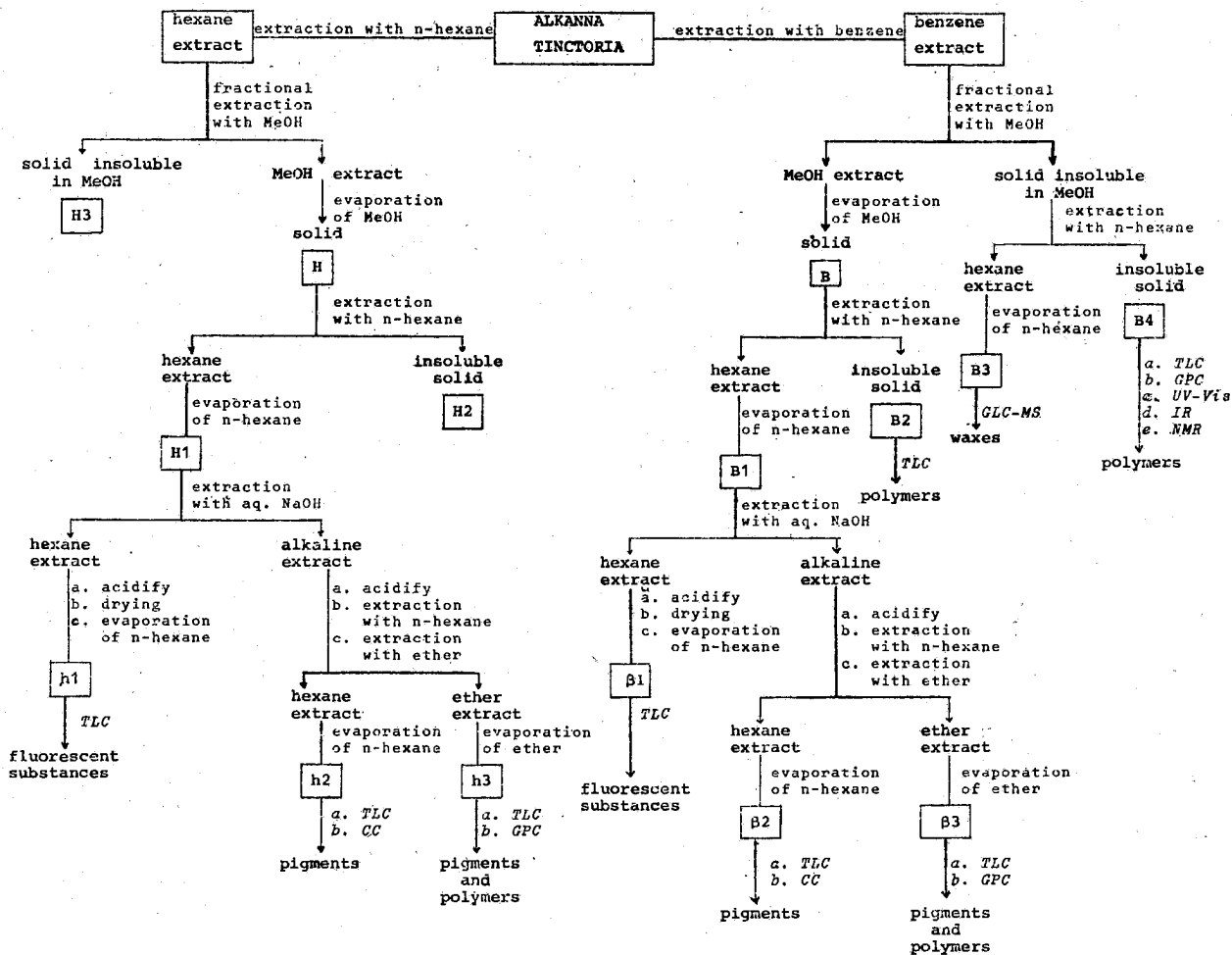
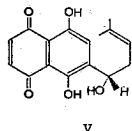
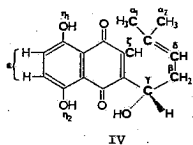


Table I: Analysis of fraction $\beta 2$ by column chromatography

fraction	ml	eluant	mass(g)	TLC
1	200	n-hexane	—	—
2	100	n-hexane/dichloromethane(8:2)	0.465	
3	100	n-hexane/dichloromethane(8:2)	(46.5%)	$R_f=0.57$
4	50	n-hexane/dichloromethane(4:6)		
5	50	n-hexane/dichloromethane(4:6)		
6	100	n-hexane/dichloromethane(4:6)		
7	100	n-hexane/dichloromethane(4:6)		
8	100	n-hexane/dichloromethane(4:6)	0.176	$R_f=0.57$
9	100	n-hexane/dichloromethane(4:6)	(17.6%)	$R_f=0.41$
10	100	n-hexane/dichloromethane(4:6)		$R_f=0.28$
11	100	dichloromethane	0.085(8.5%)	$R_f=0.28$
12	100	dichloromethane		
13	100	dichloromethane		
14	100	dichloromethane		
15	100	dichloromethane	245	$R_f=0.28$
16	100	chloroform	(24.5%)	$R_f=0.19$
17	100	chloroform		
18	100	chloroform		
19	100	chloroform		
20	100	chloroform/methanol(9.5:0.5)		
21	100	chloroform/methanol(8:2)	0.02	$R_f=0.28$
22	100	chloroform/methanol(1:1)	(2%)	$R_f=0.19$
23	200	methanol		

The fraction 11 in Table I contained only one pigment having R_f 0.28 as found by TLC. The pigment was recrystallized from n-hexane to red crystals melting at 148-149°C. The UV-Vis absorption bands show $\lambda_{\max}(\text{CH}_3\text{OH})$ at 225, 280, 480, 510 and 546 nm. In the infrared spectra the strong absorption bands were at 3420 cm^{-1} (phenolic -OH) and 1605 cm^{-1} (quinone $>\text{C}=\text{O}$). The compound was identified as the alkannin⁹ [5,8-dihydroxy-2-(1'-hydroxy-4'-methylpent-3'-enyl)-1,4-naphthoquinone], which exists in two tautomers (IV and V).



The interpretation of the NMR spectra (Table III) supports the identification as also does the mass spectrum^{4,5} (Figure 5).

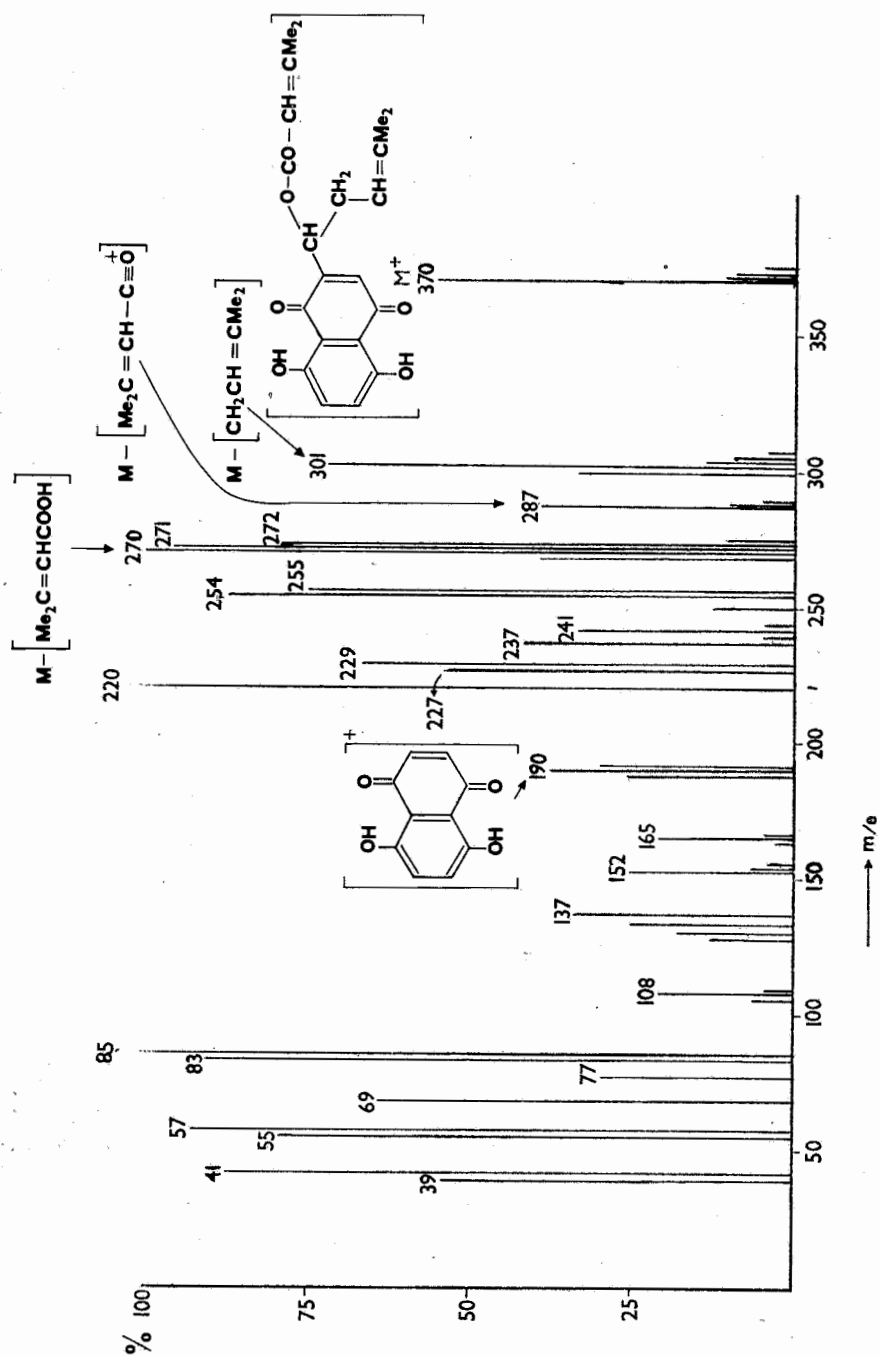


FIG 4: Mass spectrum of β, β -dimethyl-acrylic ester of alkannin.

Table II: NMR data of β , β -dimethyl-acrylic ester of alkannin

$\tau(\text{CCl}_4)$	multiplicity	Protons	
		assignment	number of protons
8,40	singlet	α_1	3
8,30	singlet	α_2	3
8,00	singlet	β_1	3
7,80	singlet	β_2	3
7,50	multiplet	γ	2
4,90	triplet	ζ	1
4,25	singlet	ϵ	1
4,10	triplet	δ	1
3,10	singlet	η	1
2,90	singlet	θ	2
-2,30	singlet	i_1	1
-2,40	singlet	i_2	1

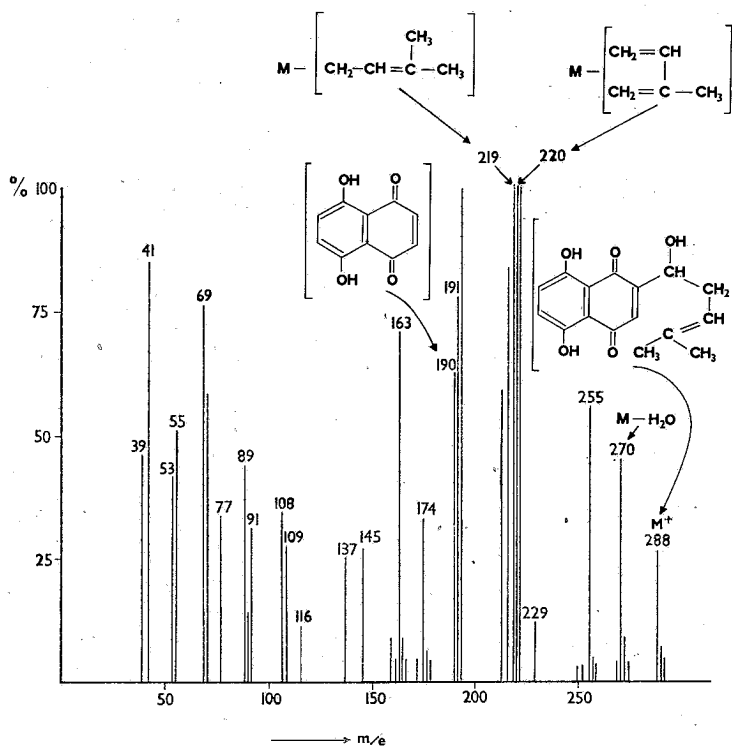


FIG 5: Mass spectrum of alkannin.

Table III: NMR data of alkannin

$\tau(\text{CCl}_4)$	multiplicity	assignment	Protons	
				number of protons
8,30	singlet	α_1		3
8,20	singlet	α_2		3
7,60	multiplet	β		2
5,10	triplet	δ		1
4,70	triplet	γ		1
2,90	singlet	ϵ		2
2,90	singlet	ζ		1
-2,30	singlet	η_1		1
-2,40	singlet	η_2		1

The presence of alkannin was established by TLC (Fig. 2) in the fractions β_2 and β_3 but not in fraction B1. Free alkannin was also absent in the preliminary benzene extract. Its presence in fractions β_2 and β_3 was attributed to partial alkaline hydrolysis of its esters during the treatment of fraction B1 with aqueous NaOH solution. On this evidence, the presence of alkannin reported by Brockmann¹ should be reconsidered. It is very likely that the alkannin found¹ was rather a secondary product of the alkaline hydrolysis of its esters and not a compound present in the roots of *Alkanna tinctoria*.

The pigment having Rf 0.44 that existed in the preliminary benzene extract was not found in fraction β_2 . Its absence was attributed to the fact that this pigment does not contain phenolic hydroxyls and, therefore, could not be extracted with aqueous NaOH solution to appear in fraction β_2 .

Attempts to isolate the pigment having Rf 0.41 (fractions 7-10, Table I) by column chromatography failed. Its isolation was achieved by means of a different technique. Details of the technique used and the characterization of the pigment as the 3-methyl-3-acetoxy-butyric ester of alkannin will be reported soon.

TLC analysis of fraction β_3 (Fig. 2) indicated that the fraction contained the four pigments mentioned previously and polymer compounds. The M_r of these polymers approaches 2,500 as found by GPC (Fig. 6).

Experimental

Preliminary extraction. 100g of powdered dry roots were extracted at room temperature with 4×400 ml benzene (p.a. Merck) for one hour under continuous stirring in a nitrogen atmosphere. The four extracts were combined and evaporation of benzene afforded 8.1 g (yield 8.1%) of a deep red solid residue. Repetition of the process with a new 100g sample yielded 8.3g of the deep red solid. Substitution of benzene by n-hexane reduced the extraction yield to about 5%.

Fractional extraction. 400 ml methanol (p.a. Merck) were added to 8.1g of the residue obtained from the preliminary extraction with benzene, and the mixture was stirred vigorously for 30 min with a magnetic stirrer. The mixture was filtered. To the filtrate was added the methanol (3×100ml) used to wash the residue (Fig. 3).

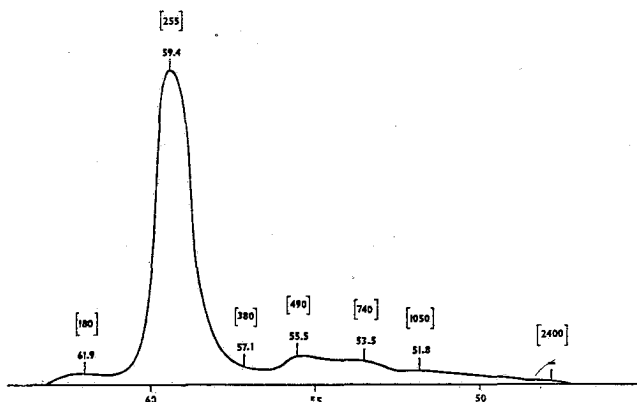


FIG 6: GPC analysis of fraction $\beta 3$. Concentration 85.16 mg/5 ml tetrahydrofuran. Temperature 45°C. Reference: polystyrene.

The methanol-insoluble residue was extracted with n-hexane (3×200 ml), and remaining solid (B4) weighed 0.61 g (7.5%). Evaporation of n-hexane yielded 1.9 g (23.4%) of a solid residue (B3). Distillation of the combined methanol extracts left 4.8 g of solid residue (B). B was, then, extracted with 400 ml n-hexane for 30 min under continuous stirring and filtered. The insoluble matter on the filter weighed 1.7 g, yield 20.9%. The filtrate was dried and the solvent distilled to yield 2.9 g of solid (B1). Yield 35.8%.

The above process was also followed in the case of the preliminary extracts with n-hexane. From the 4.1 g of the red solid resulted 1.3 g of fraction H3 (yield 31.7%), 0.14 g of H2 (yield 3.4%) and 2.5 g of fraction H1 (yield 60.9%).

A solution of 2.7 g of B1 in 100 ml of n-hexane was extracted with an aqueous solution of 2% NaOH (3×100 ml).

The hexane phase was acidified with dilute sulfuric acid, dried with anhydrous Na_2SO_4 and heated to distill the n-hexane. The solid residue ($\beta 1$) weighed 0.22 g. Yield 8.1%.

The combined alkaline extracts were left for 12 h at 20°C. Then, they were acidified with dilute H_2SO_4 and extracted first with n-hexane (4×150 ml) and subsequently with diethyl ether (2×200 ml). The n-hexane extracts were dried with anhydrous Na_2SO_4 and then the n-hexane was evaporated to leave 1.62 g of solid residue ($\beta 2$). Yield 60%. The ether extracts, after drying and distillation of the solvents afforded 0.53 g of solid residue ($\beta 3$). Yield 19.6%.

The residue H1 (1.73 g) from the preliminary hexane extract is submitted to the same process described for fraction B1. The fractions weighed 0.14 g (h1), 0.50 g (h2) and 1.03 g (h3). The yield was 8.1%, 28.8% and 57.7% respectively.

A solution containing 1 g of fraction $\beta 2$ in benzene was percolated through a column 2 cm i.d., 23 cm high, packed with 16 g of florisol, 60-100 mesh ASTM (Merck). The eluants used are given in Table I and the fractions were formed into groups according to TLC analysis.

The group of fractions 2-6 afforded 0.46 g of a dark red solid (Rf 0.57). The compound was dissolved in 10 ml n-hexane, the solution was evaporated to small volume, left to settle for 12 h at 5°C and filtered. The process was repeated and recrystallization afforded 0.16 g of red needle crystals melting at 106-108°C. The compound was identified as the β , β -dimethyl-acrylic ester of alkannin 0.02 g of the ester were saponified by heating it for one hour with 5 ml of 1M ethanolic solution of KOH.

The eluted substance on fraction 11 (Rf 0.28), Table I, was 0.085 g of a red solid. This was recrystallized from 4 ml of n-hexane and filtered after 24 h at 5°C. The crystals (m.p. 146-148°C), were identified as alkannin. Second recrystallization gave alkannin crystals, m.p. 148-149°C.

Acknowledgements

The author is greatly indebted to Prof. A. Sagredos for his help and encouragement in this work. Thanks are due to Dr. R. Moser for the mass spectra.

Περίληψη

Μελέτη τής Χημικής δομής τών Συστατικών τής Alkanna tinctoria Tausch

Στήν εργασία αὐτή περιγράφεται ἡ μέθοδος ἀπομονώσεως μερικῶν ἀπὸ τὰ σπουδαιότερα χημικὰ συστατικά τοῦ φυτοῦ *Alkanna tinctoria Tausch*, μὲ ἀντικειμενικὸ σκοπὸ τὴν ἀπομόνωση καὶ ταυτοποίηση τῶν ἐρυθρῶν χρωστικῶν τῆς ρίζας, γιὰ τὶς ὁποῖες τὸ τεχνολογικὸ ἐνδιαφέρον μας εἶναι πολὺ μεγάλο.

Ἀπὸ τὴν ἀνάλυση διαπιστώθηκε ἡ παρουσία, ἐκτὸς ἀπὸ κηρώδη συστατικά, πολυμερῶν χρωστικῶν ποὺ τὸ μοριακὸ βάρους τους προσεγγίζει τὶς 8.000, δεκατριῶν τουλάχιστον οὐσιῶν ποὺ φθορίζουν ἰσχυρὰ καθὼς καὶ χρωστικῶν οὐσιῶν.

Ἀπὸ τὸ μίγμα τῶν χρωστικῶν οὐσιῶν ἀπομονώθηκαν καὶ ταυτοποιήθηκαν πρωτογενῶς ὁ β , β -διμεθυλο-ακρυλικὸς ἐστέρας τῆς ἀλκαννίνης καὶ δευτερογενῶς ἡ ἀλκαννίνη. Δὲν ἀνευρέθη πρωτογενῶς ἐλεύθερη ἀλκαννίνη, ὅπως ὑποστηρίχθηκε παλαιότερα.

References and Notes

1. Brockmann, H: *Annalen*, **521**, 1 (1936).
2. Brand, K., and Lohmann, A.: *Ber.* **68**, 1487 (1935).
3. Boldyrev, N.: *Farmatsiya*, No 10, **24** (1039); *Khim. ref. Zh.*, No 5, **108** (1940).
4. Shukla, Y., Tandon, J., Bhakuni, D., and Dhar, M.: *Experimentia*, **25**, 357 (1969).
5. Shukla, Y.: *Ph. D. Thesis*, University of Lucknow (1970).
6. Papageorgiou, V.P.: *Chimika Chronika, New Series*, **6**, 365 (1977)
7. Ballantine, J.: *Phytochemistry*, **8**, 1587 (1969).
8. Shukla, Y., Tandon, J., Bhakuni, D., and Dhar, M.: *Phytochemistry*, **10**, 1909 (1971).
9. Thomson, R.H.: "*Naturally Occuring Quinones*", 2nd Ed., pp. 248, 251, Academic Press, London (1971).

UN MODÈLE MATHÉMATIQUE POUR L'AUTOMATISATION D'UNE SÉRIE DE PROCESSUS ALÉATOIRES EN CHIMIE — PHYSIQUE

Dédié à l'Académicien Prof. Octav. Onicesco pour son 85 anniversaire.

RADU BADESCU:

C. Dorobanti 232. Bucarest 71.282 R.S. Românie

(Reçu le 12 Mars, 1977)

Résumé

L'article propose l'application d'un modèle mathématique pour le fonctionnement et la programmation des installations industrielles, constituées d'une série de vases et utilisées pour la réalisation des divers processus chimiques ou physiques. Le cas de la cyanuration des minerais d'or se présente comme un exemple pour la sélection des paramètres du modèle proposé.

Introduction

Les industries extractives utilisent certaines installations constituées par exemple de p vases, de capacités égales V et disposés en série ou en plusieurs cycles. De pareilles installations possèdent des propriétés communes qui permettent de construire leurs modèles mathématiques, donc de déterminer d'une manière plus ou moins approchée leurs rendements en vue de l'automatisation des divers processus chimiques ou physiques existant dans ces vases. La Chimie-Physique traite aussi des problèmes analogues dans de telles installations, mais parfois la complexité des processus demande une analyse plus fine et, partant plus rigoureuse, du modèle mathématique respectif. L'apparition de l'Analyse fonctionnelle, avec ses divers chapitres concernant les équations fonctionnelles, est aujourd'hui capable de mettre à la disposition des chercheurs ces outils - les modèles mathématiques — qui, avec leur programmation aux calculateurs, pourront résoudre les plus ardues et difficiles problèmes de cette branche des Sciences.

Avec la collaboration du Prof. G. Vanci,^{1,2} nous avons étudié les installations de cyanuration des minerais d'or et dressé les modèles mathématiques correspondants, modèles qui peuvent servir aussi en Chimie-Physique dans de plus complexes conditions. Rappelons les caractéristiques essentielles des installations qui utilisent p tanks ou vases disposés en série:

1) les capacités V_j ($j = 1, 2, \dots, p$) de tous les vases sont égales $V_j = V$ ($\forall j$) les vases étant numérotés de 1 à p suivant l'ordre dans lequel un fluide A , introduit dans V_1 avec le débit constant q , parcourt dans le même sens les V_j . Le fluide A peut être seulement un "transporteur" ou bien un dissolvant, ou encore un mélange de fluides dans des proportions constantes.

2) au moment initial $T_0 = 0$, il existe dans chaque vase V_j un certain fluide désigné par la même lettre V_j qui remplit tout le vase. Par un procédé d'intense agitation du mélange (AUV_h) — au moyen d'un certain nombre de palettes fixées sur un axe vertical ou au moyen de l'air comprimé, — on obtient dans chaque vase un *mélange homogène* en supposant *une répartition proportionnelle* des particules A et V_h mises en présence à chaque moment T_i ($h = 1, 2, \dots, J$), dans chaque vase V_j . Dans ces hypothèses, le mélange du dernier vase V_p ($V_1U V_2U \dots UV_p UA$) commencera, à partir du moment $T_0 = 0$, de quitter V_p (débit q).

Pour effectuer le bilan des $p+1$ fluides mis en présence instantanément (hypothèse qui devra être améliorée), le temps total T de l'exploitation pourra être divisé en m parties égales

$$\frac{T}{m} = T_i - T_{i-1} = t_i \quad (m \in \mathbb{N}^* C, i=1, 2, \dots, m)$$

ce qui conduira à un système triangulaire donnant aux premiers membres les quantités A et V_j correspondantes et aux seconds membres les quantités de mélange total sortant aux moments t_1, t_2, \dots, t_m

$$\text{au moment } T_1 \rightarrow a_1 \cdot t_1 + \sum_{j=1}^p A_{1,j} \cdot t_1 = q \cdot t_1$$

$$\text{au moment } T_2 \rightarrow a_1 \cdot t_2 + a_2 \cdot t_2 + \sum_{j=1}^p A_{2,j} \cdot t_2 = q \cdot t_2 \quad (1)$$

$$\text{au moment } T_m \rightarrow a_1 \cdot t_m + a_2 \cdot t_m + \dots + a_m \cdot t_m + \sum_{j=1}^p A_{m,j} \cdot t_m = q \cdot t_m$$

Dans les premiers membres de ces relations quantitatives, les valeurs $a_h \cdot t_i$ représentent les quantités de fluide A qui sont restées dans l'installation le temps

$$h \cdot t_i = h \cdot \frac{T}{m} \quad \text{et qui sortent au moment } T_i \quad (h \leq i) \text{ indiqué par le produit } a_h \cdot t_i, \text{ et les}$$

valeurs $A_{i,j} \cdot t_i$ représentent les quantités des fluides V_j qui sortent de V_p au même moment T_i . Les expressions de ces nombres a_h et $A_{i,j}$ ont été données dans les travaux [1] et [2].

Si l'on divise le volume V en n volumes égaux à $q \cdot \frac{T}{m} = q \cdot t_i$ et si l'on fait le

bilan total en additionnant toutes les relations (1), on obtient *l'équation de répartition valable à la sortie de V_p pour l'entière durée T de l'exploitation*

$$\sum_{i=1}^m (m - i + 1) \cdot a_i \cdot t_i + \sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^m A_{i,j} \cdot t_i = q \cdot T. \quad (2)$$

Cette formule a été calculée aussi directement dans le cas des extractions

répétées un nombre fini m de fois et apporte une correction aux diverses formules utilisées souvent dans les traités usuels sur les installations de l'industrie extractive et dans les mêmes hypothèses. Le travail [2] donne d'amples détails sur ce problème qui constitue un point de départ important en Chimie-Physique.

On peut introduire dans (2) une fonction inconnue de répartition $a(t): [0, T] \rightarrow \mathbb{R}_+$ définie par les relations

$$a(T_i) = a\left(i \cdot \frac{T}{m}\right) = a_i, \quad i = 1, 2, \dots, m \quad (3)$$

dont les valeurs sur l'ensemble discret (T_i) peuvent être déterminées à partir du système récurrent (1) si l'on connaît les valeurs $A_{i,j}$ que l'on calcule directement.

Dans le cas d'une simple dissolution ou d'une réaction monomoléculaire entre les fluides A et V_j , si l'on introduit les concentrations constantes c , $c_{i,j}$ et C_i des fluides respectifs A, V_j et du fluide qui quitte le dernier tank V_p à chaque moment T_j , on trouve à partir de (2)

$$\sum_{i=1}^m (m - i + 1) a_i c_i t_i + \sum_{j=1}^p \sum_{i=1}^m A_{i,j} c_{i,j} t_i = \sum_{i=1}^m q_i c_i t_i \quad (4)$$

relation qui est une identité en t_i entre toutes ces concentrations. Le système correspondant (1), écrit avec ces concentrations, permet de déterminer les C_i en fonction de c et des $c_{i,j}$.

Dans les travaux [1] et [2] mentionnés nous avons effectué un passage à la limite en supposant que la fonction limite $a(t): [0, T] \rightarrow \mathbb{R}_+$ n'est pas connue. Ce passage est rendu plus facile en observant que la norme des t_i est constante et égale à T/m ou à V/nq d'après la division de V en n volumes égaux à $q \cdot T/m = q \cdot t_i$. De cette relation, on déduit que si $\|t_i\| \rightarrow 0$, m et n doivent tendre vers l'infini, ce qui conduit à l'équation intégrale en $a(t)$

$$\int_0^T (T - t) a(t) dt + \sum_{j=1}^p \frac{V_j}{(p-j)!} \int_0^{qT/V} e^{-t} t^{p-j} dt = qT \quad (5)$$

dont l'unique solution de la classe $C^\infty [0, T]$ est la fonction

$$a(t) = \frac{q^2}{(p-1)! V} \left[\frac{qt}{V} \right]^{p-1} \cdot \exp\left(-\frac{qt}{V}\right); \quad [0, T] \rightarrow \mathbb{R}_+ \quad (6)$$

qui représente la *loi des distributions de Poisson* du Calcul des probabilités.

Les relations (1), (2) et (5) constituent le modèle mathématique de la répartition des fluides A et V_j dans toute installation avec p tanks mis en série et dans les hypothèses d'homogénéisation instantanée des mélanges, processus ayant à la base la répartition proportionnelle des fluides mis en présence. Les deux premières se réfèrent au cas des extractions répétées, discrètes, et la dernière (5) aux processus continus. Ces modèles constituent une base théorique utile dans l'étude des installations de ce type en vue de leur automatisation et de la détermination de leur rendement, spécialement dans le cas de la continuité.

Pour effectuer cette investigation, il suffit de reprendre le système (1) et de déterminer les quantités AUV_j qui sont restées dans toute l'installation au plus le temps $T_o - T$. Il suffit de supprimer dans le système (1) toutes les quantités $A_{i,j}$ et a_i dès que l'indice i dépasse la valeur pour laquelle $T_o = t_1 + t_2 + \dots + t_i$, et de passer ensuite à la limite dans (2) en faisant la norme des t_i tendre vers zéro. On obtient ainsi les quantités cherchées de fluides AUV_j sous la forme

$$\int_0^{T_o} (T - t) \cdot a(t) \cdot dt + \sum_{j=1}^p V_j \int_0^{qT_o/V_j} \frac{e^{-t} \cdot t^{p-j}}{(p-j)!} dt \quad (7)$$

Le temps T_o étant maintenant le temps minimum nécessaire pour récupérer un certain pourcentage P d'une certaine substance contenue dans le fluide A , — l'or dans le cas des minerais traités par la méthode de la cyanuration — on peut déterminer dans le cas du *processus continu* le pourcentage des quantités totales $A + V_j$ qui sont restées au plus le temps T_o dans toute l'installation

$$\frac{P_o}{100} = \frac{1}{qT} \left[\int_0^{T_o} (T - t) \cdot a(t) \cdot dt + \sum_{j=1}^p V_j \int_0^{qT_o/V_j} \frac{e^{-t} \cdot t^{p-j}}{(p-j)!} dt \right] \quad (8)$$

De cette formule, on peut déduire le rendement de l'installation dans le cas envisagé et, par les procédés bien connus d'approximation des intégrales, on peut revenir au système (1), obtenant le pourcentage cherché dans le cas d'un nombre fini d'extractions.

Pour la détermination théorique des quantités d'or récupérées par la cyanuration on peut utiliser les diagrammes statistiques établis au laboratoire pour les valeurs moyennes y_h de l'or extrait en effectuant un nombre suffisamment grand d'extractions répétées en des temps égaux. Les points ainsi obtenus sont inscrits sur certaines courbes ayant l'allure des courbes exponentielles qui apparaissent dans les cas des simples dissolutions ou des réactions monomoléculaires. Ces courbes sont définies par des équations dépendant de deux paramètres A_∞ et K

$$y(t) = A_\infty (1 - e^{-Kt}) \in C^\infty[0, T] \rightarrow R_+ \quad (9)$$

où A_∞ est la quantité totale moyenne d'or contenue dans le minerai; par extrapolation et appliquant la méthode des moindres carrés on pourra déterminer les paramètres A_∞ et K qui dépendent de toutes les caractéristiques de la méthode d'exploitation: du rapport r = solution de cyanure/minerai, du degré de morcellement effectué par les concasseurs, du rapport or/minerai, etc. Il est évident que toutes ces caractéristiques contribuent à la détermination au laboratoire des valeurs moyennes de A_∞ et de K .

Le but de cette étude consiste d'abord à écrire l'équation de répartition (5) — ou (2) dans le cas discret — tenant compte des constantes q , le débit, T , la durée totale de l'exploitation, V la capacité des tanks V_j , et de déterminer le pourcentage P_o correspondant aux quantités A et V_j qui ont traversé toute

l'installation en un temps $T_0 \leq T$, pour pouvoir ensuite introduire plusieurs paramètres, comme ceux mentionnés plus haut, permettant d'ajuster les formules obtenues le plus fidèlement possible aux résultats de l'exploitation. Enfin, pour pouvoir utiliser toutes ces formules dans la pratique courante, il va falloir déterminer le débit q et le temps T de l'exploitation afin d'obtenir le meilleur rendement de l'installation, c'est-à-dire le minimum de pertes en or.

Pour cela, désignons par $y_i = y(T_i)$ les valeurs de la fonction (9) aux moments T_i ($i = 1, 2, \dots, m$) et observons que les produits $a_i t_i$ donnent par définition les quantités A qui sont restées les temps T_i dans l'installation au moment de leur sortie de V_p . Alors la somme

$$\frac{100.r}{A_T} a_i y_i t_i + \sum_{j=1}^p \frac{100.r}{A_T} A_{i,j} y_j t_i \quad \left\{ \begin{array}{l} A_T \text{ quantité totale d'or} \\ \text{contenue dans le minerai} \\ \text{traité dans le temps } T \end{array} \right.$$

montre que les pourcentages d'or récupérés jusqu'au moment $T_m = T$ sont donnés par

$$\frac{100.r}{qT.A_T} \left[\sum_{i=1}^m (m - i + 1) a_i y_i t_i + \sum_{j=1}^p A_{i,j} y_j t_i \right]$$

et un passage à la limite, pour m infini, conduit à l'expression

$$\frac{100.r}{qT.A_T} \left[\int_0^T (T - t) a(t) y(t) dt + \int_0^{\frac{qT}{V}} \sum_{j=1}^p \frac{V_j}{(p-j)!} e^{-t^{p-j}} y(t) dt \right] \quad (10)$$

qui donne le pourcentage d'or récupéré pendant tout le temps T de l'exploitation.

Si l'on veut tenir compte aussi du temps t_0 dans lequel les divers tanks V_j ont été remplis par les mélanges de cyanure et de minerai avant le commencement de l'exploitation, il suffit de remplacer $y(t)$ dans la seconde intégrale par $y(t+t_0)$. Ce temps t_0 étant très petit par rapport à T , il peut être négligé dans la pratique courante.

La fonction y définie par (9), dépend seulement des deux paramètres A_∞ et K que l'on peut déterminer par la méthode des moindres carrés à partir des chiffres obtenus au laboratoire en prélevant un grand nombre d'échantillons appartenant au filon traité. Ce processus d'extraction, étant très complexe à cause des nombreux paramètres qui y interviennent, doit être analysé d'une manière plus approfondie. Dans les pages précédentes, les pourcentages d'or récupéré ont été exprimés par la formule (10) en tenant compte du temps T_i que chaque particule de minerai devra passer à l'intérieur de l'installation. Mais si l'on étudie aussi l'aspect aléatoire correspondant à la non-homogénéité du mélange cyanure + minerai ainsi qu'aux procédés techniques tendant à grandir les surfaces de contact entre le cyanure et le minerai, on est obligé d'introduire aussi d'autres paramètres permettant d'obtenir un plus fidèle modèle mathématique dans la description du processus considéré. En outre, l'utilisation des calculateurs conduira plus rapidement à des chiffres correspondant aux valeurs théoriques de l'or extrait à de divers moments T , pour pouvoir ensuite les comparer aux

quantités d'or récupérées aux mêmes moments T. Il est d'ailleurs bien connu que l'agitation des mélanges dans les tanks V_j obtenue au moyen de l'air comprimé, par des agitateurs à palettes ou d'autres procédés mécaniques, a pour but l'agrandissement de la surface de contact entre le minerai et le cyanure, ainsi que pour écarter les couches colloïdales isolant les granules de minerai, couches qui empêchent la dissolution de l'or par le cyanure. Si l'on désigne par S la surface maximum entre le minerai et le cyanure (qui ne peut pas être expérimentalement déterminée), on peut écrire une équation différentielle valable dans le processus cynétique d'agrandissement de la surface de séparation

$Y = Y(t): R_+ \rightarrow R_+$, qui existe au moment t

$$\frac{dY}{dt} \times H(S-Y) = Y(t) = S(1 - e^{-Ht}), \text{ avec } Y(+\infty) = S. \quad (11)$$

Ceci exprime que la vitesse de croissance de Y est proportionnelle à la surface $S - Y(t)$ qui n'est pas en contact au moment t avec le cyanure. La loi ainsi obtenue dépend des paramètres S et H, dont H seulement peut contribuer à une meilleure représentation du processus de la cyanuration.

L'introduction de la probabilité pour que un certain nombre de granules de minerai appartiennent à une portion de surface en contact avec le cyanure à un moment donné t, permettra de disposer d'un nouveau paramètre ayant une signification physique précise. En effet, si l'on considère le cas d'un seul tank $V_1 = V$ et l'on fait une partition de son volume en n volumes V_i de norme $\|d_n\|$ de leurs diamètres, à cette partition correspondra une partition de la surface totale $Y(t)$ en surfaces Y_h . La probabilité P_h pour que sur Y_h il y ait une particule d'or est proportionnelle à Y_h , $P_h = K \cdot Y_h$ ($h = 1, 2, \dots, n$) $K \in R_+^*$, relation indépendante de l'indice h si l'on prend la norme de la partition de la surface totale $Y(t)$ suffisamment petite. Il résulte que l'on peut utiliser la "distribution Poisson" des événements rares qui s'écrit

$$P_{n,m} = \frac{(np)^m}{m!} \exp(-np)$$

où p est une très petite probabilité relative à l'apparition d'un événement indépendant pour un seul essai, et $P_{n,m}$ est la probabilité pour que cet événement se réalise m fois après n essais, avec n très grand. Pour que l'une au moins des surfaces Y_h se trouve au moment t dans le volume V_i arbitrairement choisi, l'exponentielle

$$(12) \quad P_{1,1} = K \cdot Y_1, \quad P_{2,1} = K \cdot Y_2 - \frac{K^2 Y_2^2}{2!}, \quad \dots, \quad P_{n,1} = K \cdot Y_n - \frac{K^2 Y_n^2}{2!} + \dots + \frac{(-1)^{n-1}}{n!} K^n Y_n^n$$

et pour n très grand, au même moment t et pour $\|d_n\| \rightarrow 0$,

$$(13) \quad P = 1 - \exp[-K \cdot Y(t)] = 1 - \exp[-KS(1 - e^{-Ht})].$$

Dans cette formule, pour laquelle la fonction $Y_h = Y(t): \{t \in [0, T]\} \rightarrow R_+$ dépend seulement de deux paramètres (K.S.) et H, les deux variant dans R_+ (conséquence de la formule de Poisson), on a tous les éléments qui permettent le calcul de P à chaque moment $t \in [0, T]$. Il suffit pour cela de déterminer (KS) et H à partir d'un grand nombre d'expériences de laboratoire et en appliquant la méthode des moindres carrés aux chiffres ainsi obtenus.

Passant ensuite à la définition de la probabilité P statistiquement corrélée avec celle de la fréquence, on peut remplacer dans la formule (10) le produit

$a(t), y(t)$ par le *produit mixte de composition* $a(t) \cdot [y(t)_0 \cdot P(t)]$, où $P(t)$ est défini par l'expression (13). Le rendement de l'installation défini ainsi à partir de (10) donnera les pourcentages de l'or extrait pendant le temps T . Ce rendement dépend au fond de quatre paramètres dont le choix peut permettre l'approximation la meilleure du processus de la cyanuration analysé. Il faut observer que tous ces paramètres peuvent être plus facilement déterminés par la méthode des moindres carrés si on l'applique aux pourcentages d'or non-récupérés, exactement comme dans le cas de la loi lognormale quand la linéarisation par rapport aux paramètres est effectuée appliquant les logarithmes aux exponentielles respectives.

Le modèle mathématique exposé peut être étendu à tout processus extractif qui utilise des vases à capacités égales disposés en série et qui sont parcourus avec le débit constant q par un dissolvant dont le rôle est d'extraire certaines substances qui se trouvent dans les vases V_i au moment $t=0$. Ce procédé peut être appliqué à tout processus extractif ayant un caractère aléatoire de la Chimie-Physique ou l'homogénéisation des fluides A et V_i est assez vite obtenue. Dans les expériences plus fines qui utilisent un plus grand nombre de vases V_i mis en série où l'homogénéisation est plus lente ou dans celles correspondant à un matériel hétérogène — p. ex. filons d'or qui apparaissent brusquement dans une masse stérile d'or — l'introduction des paramètres H et (KS) ne suffit plus. Dans un ample travail [6] cité, nous avons abandonné l'hypothèse de la répartition proportionnelle en introduisant une fonction compensatrice Q dépendant d'un paramètre $K \in \mathbb{R}_+$ et, après une analyse approfondie, nous avons considéré dans le cas d'un seul vase V l'équation intégrale de Volterra de I-ère espèce qui établit l'équilibre des deux membres

$$\int_0^T [T-t] \cdot q(t) \cdot dt + \int_0^T Q(t) \cdot dt + V \left[1 - \exp\left(-\frac{qKT}{V}\right) \right] = qT \quad (14)$$

si l'on prend pour la fonction Q de la classe $C^1[0, T] \subset \mathbb{R}$ la solution de l'équation (14)

$$Q(t) = q \left[\exp(-T) - K \cdot \exp(-KT) \right], \text{ avec } T = \frac{qt}{V}$$

L'extension de cette analyse au cas de p vases — dont tous les détails se trouvent dans [6] — peut être faite au moyen des polynômes de Laguerre $L_p^\alpha(X)$, qui sont d'ailleurs hypergéométriques,

$$L_p^\alpha(X) = \sum_{q=1}^{p+1} \frac{p(p-1)\dots(p-q+2)}{[(q-1)!]^2} X^{q-1} = \lim_{b \rightarrow +\infty} F(-p, b, 1; -\frac{X}{b}) \quad (15)$$

et qui sont limites, pour $b \rightarrow +\infty$, de la fonction hypergéométrique de Gauss F . Les échanges élémentaires qui existent entre les particules des vases V_i et les particules du fluide dissolvant A (introduit dans le premier vase V_1 avec le débit constant q) se font maintenant d'après la relation élémentaire de départ

$$q_1 dt_1 - q_1^1 dt_1 + \frac{KV}{n+1} = q \cdot dt_1;$$

le paramètre K , supérieur à l'unité, montre qu'au début de l'opération les particules appartenant aux vases V_i sont plus nombreuses que celles du fluide A

dissolvant et que les $q_1^1 \cdot dt_1$ assurant l'égalité dans le bilan effectué dans l'intervalle dt_1 . Après le bilan total et le passage à la limite, on pourra déterminer la fonction Q définie par les valeurs q_i^j en résolvant l'équation intégrale analogue dans le cas de p tanks, équation qui s'écrit sous la forme

$$\int_0^T [T-u] \cdot Q_p(u) \cdot du + \int_0^T Q(u) \cdot du + \sum_{q=1}^1 U_{p,q}(r) = T \quad \left(T = \frac{qT}{V} \right). \quad (16)$$

Les fonctions Q_p , Q , et $U_{p,q}$ sont définies sur $[0, T]$, à valeurs dans \mathbb{R} , par les relations suivantes qui assurent l'identité (16) $\forall T \in \mathbb{R}^*_{+}$,

$$Q_p(r) = \frac{e^{-r} r^{p-1}}{(p-1)!}, \quad Q(r) = \sum_{q=1}^p Q_q(r) - K \int_0^{+\infty} \frac{dv}{(p-1)!} \int_0^{+\infty} e^{-w} [(1-K)v+w]^{p-1} f(Kr, v) dw$$

$$f(u, v) = \exp\left[\frac{2K-1}{1-K} u \right] e^{-v} \cdot J_0\left(2\sqrt{\frac{Kuv}{1-K}}\right);$$

$$U_{p,q}(r) = \frac{(1-K)^{p-q}}{(p-q)!} \int_0^{Kr} du \int_0^{+\infty} f(u, v) v^{p-q} dv.$$

J_0 étant la fonction connue de Bessel d'ordre zéro et de I-ère espèce.

Une application pratique de tous ces résultats a été donnée dans l'article [6] où ont été présentés et justifiés toutes les formules et tous les calculs, ainsi qu'une autre suggestion concernant le paramètre K pouvant être remplacé par une fonction $K=K(r): \mathbb{R}_+ \rightarrow \mathbb{R}_+$. Ce dernier procédé aurait l'avantage d'être plus facilement programmé à l'aide des calculateurs, le point de départ étant constitué par la formule approximative (2), ou par l'équation intégrale (5) où il est possible d'introduire la mesure de Dirac concernant l'utilisation des jets et de traiter le problème dans les espaces des distributions de Schwartz-Sobolev. Ces jets correspondraient aux injections d'air comprimé qui doivent être utilisés pour débloquer les vases. Nous reviendrons dans un autre article sur tous ces points de vue nouveaux.

Abstract

A mathematical model for the automation of a sequence of random processes in physical chemistry.

A mathematical model is proposed for the automatic operation of industrial plants comprising several physical and chemical processes in a series of vessels or tanks. Extraction of gold by the cyaniding process is applied as an example for the adoption of appropriate parameters of the respective mathematical model.

Περίληψις

Ένα μαθηματικό πρότυπο για την αυτοματοποίηση μιᾶς σειρᾶς τυχαίων φυσικοχημικῶν διεργασιῶν.

Περιγράφεται ἡ δυνατότης ἐφαρμογῆς ἑνὸς μαθηματικοῦ προτύπου γιὰ τὸν προγραμματισμὸ τῆς λειτουργίας βιομηχανικῶν ἐγκαταστάσεων, ὅπου σὲ σειρὰ δοχείων πραγματοποιοῦνται φυσικὲς καὶ χημικὲς διεργασίες. Σὰν παράδειγμα παρουσιάζεται ἡ ἐκλογή τῶν καταλλήλων παραμέτρων γιὰ τὴν διαμόρφωση τοῦ μαθηματικοῦ προτύπου μιᾶς ἐγκαταστάσεως ἐξαγωγῆς χρυσοῦ μετὴν μέθοδο τῶν κυανιούχων.

Bibliographie

1. Badesco Radu, Vanci Gh.: *Bulletin Soc. Polytechnique Bucarest* "sur la cyanuration des minerals d'or" T.LI. 53 533-563 (1939)
2. Badesco Radu: "sur la methode de la cyanuration dans l' exploitation de l' or". *Académie des Sciences, Paris. Comptes rendus.* T. 204 1307-1309 (1937)
3. Badesco Radu: "L' extraction de l' or par la methode de la cyamuration". *Archives d. Sciences Physiques et Naturelles.* Geneve. T. 21 38-45 (1939)
4. Badesco Radu: *Mining Magazine, London* (Traduction anglaise de l' article 3) T. 61 278-282 (1939)
5. Badesco Radu, Vanci Gh.: "Contributions au problème de la cyanuration des minerais aurifères". *Académie R.P. Roumanie. Bucarest. Bull sc. métallurgie.* T. 1. 173-195 (1956)
6. Badesco Radu: "Un problème fréquemment rencontré dans l' industrie extractive". *Académie R.P. Roumanie.* Bucarest T. 9. 491-519 (1957)
7. Badesco Radu: "Un problème de l' industrie extractive." *Acad. dei Lincei, Roma. (Mémoire)* T. 8 31-50 (1966)
8. Badesco Radu: "L' aspect probabiliste dans la methode de l' extraction de l' or." *Acad. Roumanie. Studli si cercetâri matematic* T. 27. 123-129 (1975)

STUDIES ON THE CHEMISTRY OF HUMIC ACIDS. I. COMPLEXES OF Fe(II), Fe(III) AND Cu(II) WITH TOLUOQUINONE AND OLIGOMERIC DERIVATIVES.

M. SCULLOS and D. KATAKIS

University of Athens, Inorganic Chemistry Laboratory, Navarinou 13A, Athens, GREECE

(Received July 5, 1977)

Summary

Toluquinone and the products in the first stages of its oxidative condensation to an artificial "humic acid" interact with Fe (II), Fe (III) and Cu (II) in a variety of ways, ranging from weak physical to complex formation. The complexes we were able to isolate from the complicated reaction mixtures correspond to the reproducible stoichiometries $\text{Fe}(\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2)_2$, $\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_4)(\text{H}_2\text{O})(\text{HO})$, $\text{Cu}(\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_4)_2$, and $\text{Cu}(\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_6)_3(\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{O}_6)_2$, where $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_4$ is the dimer and $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_6$ the trimer obtained from the condensation of toluoquinone. These complexes and more generally the interaction between the metal ions mentioned and the organic moiety were studied using spectroscopic techniques.

This paper gives background information needed in the investigation of even more complicated systems simulating the humic component of the soil.

Key words: Humic acid models, complexes, spectroscopic techniques

Introduction

The general purpose of this study was to obtain information about the role of the so called humic acids in chemical reactions of metal ions in the soil. The more specific objectives were:

(1) Study of the interaction between humic acids and some metal ions, including the effect of pH, of the nature of the metal ion and of the degree of polymerization of humic acid.

(2) Study of the effect of humic acids on the redox properties of metal ions. We were particularly interested in investigating the possibility of nonenzymatic, non-biological nitrogen fixation.

Of the two general approaches to a problem of this nature - the analytic and the synthetic - we chose the latter. At this stage we did not try to separate and analyze natural products. It is noted nevertheless that both approaches suffer from the same inherent limitation: by essentially focusing on the study of a subsystem of a natural system, either artificially synthesized or artificially separated, they more or less ignore interaction between several such subsystems as they coexist in nature. Yet, this interaction, which is generally complicated, may indeed be one of the main factors determining the function of the total system. In addition, it is not at all certain that the singled out component represents a real form, as it exists in nature. It has for example been pointed out^{1,2,3} that the products obtained by extraction from the soil are not necessarily the forms which exist naturally. Moreover, the isolated products often represent only a fraction of the total system.

In the experiments reported here an effort was made to use subsystems as complex and close to the natural system as possible, but without completely losing the benefit of correlating the findings on the basis of structure. In the "amorphous" natural system direct correlation of function and structure becomes practically impossible. "Pure" systems on the other hand are poor simulations. The subsystem we chose lies in between.

In spite of these limitations, we believe that studies such as the present, are useful and the necessary first step in obtaining information on some of the possible properties of the natural system.

The subsystem studied in the present work, namely toluoquinone, its products of successive oxidative condensation and other derivatives consist of substances found in the soil and, as it is shown in the results, has several similarities with natural humic acids. Its special feature is that it has no carboxylic groups (except that of the acetate ester) nor "fixed" nitrogen -as many of the natural humic acids do. Carboxylic groups were avoided in order to study phenols, quinones etc., and "fixed" nitrogen was avoided because it was indeed intended to use the subsystem in nitrogen fixation experiments.

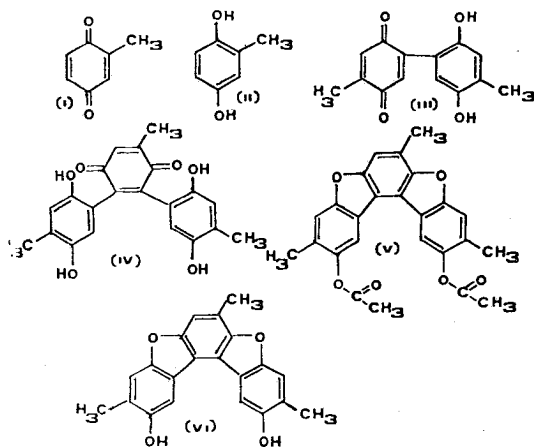
The work is reported in three parts. In part I the ligands are monomeric or oligomeric, in Part II polymeric and in Part III we use these compounds in nitrogen fixation experiments.

Experimental

Ligands.

Toluoquinone (methyl-p-benzoquinone) (I) is prepared by oxidation of toluidine⁴ and purified by an adaptation of the zone melting technique.⁵ Toluohydroquinone (methyl-p-benzohydroquinone) (II) is prepared from toluoquinone by reduction.⁵

The dimer (III), the trimer (IV), the ester (V) and the trimeric phenol (VI) are synthesized by methods described in the literature.⁶⁻⁹ Thus the dimer and the



trimer is prepared by treating toluoquinone with sulfuric acid, the ester from the trimer by treating with zinc and acetic anhydride and the trimeric phenol by hydrolyzing the ester.

The elemental analysis results and the calculated values (in parenthesis) for these ligands are the following:

dimer (III)	C 68.62 (68.85), H 4.82 (4.91), O 26.56 (26.23)
trimer (IV)	C 68.61 (68.85), H 4.75 (4.91), O 26.64 (26.23)
ester (V)	C 72.18 (72.11), H 4.90 (4.56), O 22.92 (23.23)
trimeric phenol (VI)	C 68.60 (68.86), H 4.70 (4.91), O 26.61 (26.23)

Complexes.

Fe (II)-toluquinone Fe (C₇H₆O₂)₂. Five grams of iron (O) pentacarbonyl (Alfa Inorganics) are mixed in a round bottom flask with 5 g of well purified toluquinone dissolved in benzene. The mixture is refluxed in a nitrogen atmosphere for three hours and the dark green precipitate obtained is filtered under nitrogen, washed with benzene and ether and dried at ~ 100°C.

The complex is hygroscopic, paramagnetic, insoluble in the usual solvents and decomposes before melting at 135°C. It also decomposes, giving Fe(II) and toluquinhydron when treated with acids.

analysis: C 55.94, H 4.04, Fe 19.45

calculated: C 56.18, H 4.01, Fe 18.63

Fe (III) and Cu (II) with toluquinone. The composition of the colored and insoluble products obtained from the nitrates of Fe(III) or Cu(II) and toluquinone in aqueous or alcoholic media is variable, depending on pH (4, 5-6.5) and the relative amounts of metal ion and ligand used in the preparation. The analysis gives a metal ion content invariably higher than that corresponding to the simple formula M (tol)₂.

Cu (II)-dimer. Two yellow complexes of Cu (II) with the dimer were isolated, corresponding to the empirical formulae (C₁₄H₁₁O₄)Cu(H₂O)(HO) and (C₁₄H₁₁O₄)₂ Cu. They are both prepared from aqueous suspensions of the dimer at pH ~ 5.5, washed with alcohol, water and ether and dried under reduced pressure.

Analysis of the complex (C₁₄H₁₁O₄) Cu (H₂O) (HO): C 49.75 (49.2), H 3.85 (4.1), Cu 18.5 (18.6) and of the complex (C₁₄H₁₁O₄)₂ Cu: C 61.1 (61.1), H 3.5 (4.03), Cu 11.9 (11.6). In parenthesis the calculated values.

Both complexes are only slightly soluble in water and non-polar solvents.

Cu (II) - trimer. A yellow complex was also prepared from Cu (II) and the trimer (IV) in water-alcohol mixtures at pH ~ 5. The complex is slightly soluble in non-polar solvents, but insoluble in water and other polar solvents. The analysis gave the following results:

C 58.37, H 3.73, Cu 12.73.

The simplest empirical formula best fitting these data is Cu₄(C₂₁H₁₆O₆)₃(C₂₁H₁₇O₆)₂. The calculated values on the basis of this formula are:

C 60.69, H 3.95, Cu 12.24

Cu (II)-phenol and its ester. Phenol (VI) gives with Cu (II) Complicated mixtures containing hydrolyzed and polymeric forms, which in spite of numerous attempts we were unable to isolate. Generally speaking, complicated mixtures are also obtained with the ester (V), containing copper bound to the organic ligand but also variable quantities of water and "inorganic" copper, including hydrolyzed and polynuclear forms. The composition of these mixtures depends on pH and water content of the solvent. Nevertheless, we were able to isolate from such mixtures a yellow-green compound, from ethanol at pH 7-7.5. The precipitate contains large amounts of unreacted copper nitrate, which was used

in excess (molar ratio 1:2). Removal of this salt was achieved by exhaustive washing with warm water. The remaining solid is finally washed with alcohol, acetone and ether and dried.

Analysis: C 33.66, N 6.19, H 3.09, Cu 13.8.

Calculated values on the basis of the formula $C_{25}O_6H_{20} \cdot 2Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$:

C 33.37, N 6.22, H 3.55, Cu 14.1.

Spectra.

Visible and UV absorption spectra were taken using a Zeiss, Unicam Sp 800 or Carry 14 spectrophotometer. Reflectance spectra in MgO were taken with the Zeiss instrument.

For the ir spectra (in KBr or nujol) we used Perkin Elmer models 137, 180 and 337. Far ir spectra in vaseline or nujol were taken with a Beckmann RIIC and a Perkin Elmer 180.

Analysis.

Elemental analyses were performed with a Perkin Elmer 240 analyzer and copper was determined gravimetrically and electrolytically.

Results and Discussion.

Ligands.

We use as a key for the ir assignments the pair toluoquinone-toluohydroquinone: the spectrum of the first contains carbonyl but not hydroxyl group bands; the opposite is true for the second. We identify these, so to say, mutually exclusive bands and then look for them in the more complicated ligands.

The relevant data are included in Table I.

The ir spectra of the dimer and the trimer show both the characteristic O-H and C-O bands of the phenolic hydroxyl group and the characteristic quinone carbonyl band. This is consistent with formulae (III) and (IV), respectively, derived on the basis of stoichiometry.

In the ester of the trimer the O-H band at 3300 cm^{-1} disappears and the carbonyl frequency is shifted to 1750 cm^{-1} as expected for the acetate carbonyl. The disappearance of the OH stretching frequency in combination with the appearance of a strong peak at 870 cm^{-1} suggest formation of furan rings. A new strong peak also appears at 1010 cm^{-1} which may be assigned to furan and the symmetric stretching of the acetate $=C-O-C$. The ir spectra are again consistent with the formula (V) given above.

TABLE I: IR spectra of the Ligands

Toluoquinone	Toluohydroquinone	Dimer	Trimer	Ester	Trimeric phenol	Assignments
—	3250	3350	3300	—	3300	O-H stretching
1660	—	1620	1640	1750	—	C=O stretching
—	—	—	—	1230	—	Asym. stretching of "acetate band"
—	1205	1180	1180	1170	1180	C-O stretching
—	—	—	—	1010	1025	sym. =C-O-C stretching (furan and acetate)
—	—	—	—	870	880	characteristic furan peak (sharp)

In the trimeric phenol (VI) the OH and C-O stretching frequencies appear again. In addition, we have strong peaks at 1025 and 880 cm^{-1} which may be assigned to furan. The acetyl group is absent in this case and the formula given (VI) is again consistent with ir spectra.

The wavelengths of the ligand UV-vis absorption maxima in the region between 210 and 500 nm are also consistent with the structures given.

The dimer in chloroform solutions has two strong peaks, one at 260 and the other at 295 nm (Fig. 1.). The weak $n \rightarrow \pi^*$ transition (R band), which in toluoquinone (in water) was observed at 425 nm, in the dimer was not apparent, possibly because it is covered by the tail of the strong 295 absorption. The band at 260 nm can tentatively be taken as the carbonyl K band ($\pi \rightarrow \pi^*$). In toluoquinone this band appears at 237 nm. The bathochromic shift can be attributed to the condensation. The second band of the dimer at 295 is broad, having a poorly resolved vibrational structure and probably corresponds to the B band of benzene (aromatic $\pi \rightarrow \pi^*$, $A_{1g} \rightarrow B_{2u}$). In fact, the position of this band is remarkably close to that of the corresponding band in p-diphenol (299 nm).

The trimer exhibits (Fig. 1) one maximum at 277 nm, which can be considered as the carbonyl K band, shifted to longer wavelength relative to the dimer. It also exhibits a system of bands extending all the way from 315 to 350 nm. With the information available it is difficult to make definite assignments for this system, but it seems reasonable to suggest that it results from an overlap of the vibrationally structured E_2 and B aromatic bands. In fact, even in the dimer such an overlap cannot be ruled out, since the shape of the absorption curve indicates poor resolution of the peaks. In both cases, however, one can argue that the UV-vis spectra complement the other data in strongly supporting the suggestion that in the dimer and the trimer aromatic and quinone rings coexist.

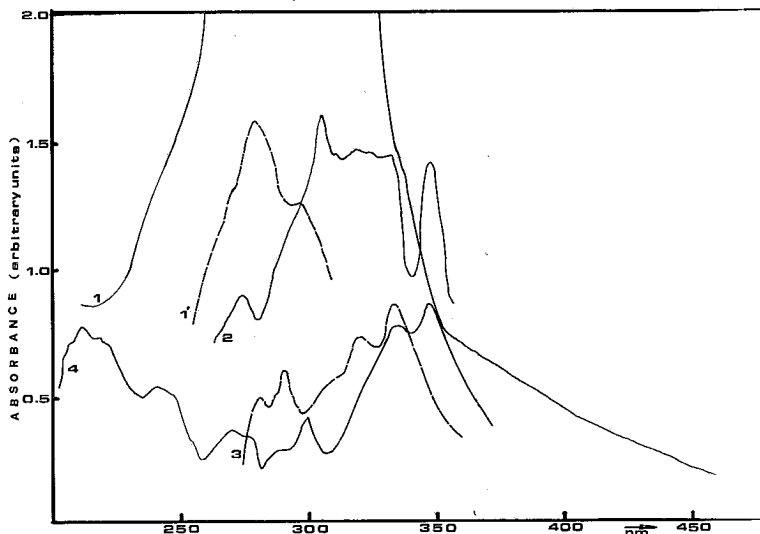


FIG 1. U.V.—vis spectra of the dimer (in water, 1 and 1' different concentrations), the trimer (in water, 2), the ester (in benzene, 3, with benzene as reference), and of the phenol (in 95% ethanol, 4).

The spectrum of the ester (Fig. 1) seems to have two groups of peaks: one consisting of two peaks (at 335 and 320 nm) and a shoulder (at ~ 310 nm) and another consisting of two peaks (at 290 and 280 nm). In the trimeric phenol (formula VI) both groups are displaced as such with retention of the distances between peaks within the group. Each peak in the first group is displaced by ~ 15 nm (350, 335 and 325, respectively), whereas the second group is displaced as a whole by ~ 10 nm (300 and 290 nm, respectively). The first, more intense group may tentatively be assigned to the vibrationally structured E_2 band, the second to the B band. In these highly condensed systems it is reasonable to expect the E_2 band to shift more rapidly and to appear at longer wavelengths relative to the B band.

The spectrum of the triphenol in ethanol shows three additional groups of peaks at shorter wavelengths (270, 245 and 220 nm), presumably corresponding to the E_1 bands of the condensed aromatic and furan rings. The spectra of the ester were taken in benzene for solubility reasons and the strong absorption of the solvent in this region (below ~ 280 nm) prevented observation of these peaks.

Complexes.

The ir spectrum of Fe $(C_7H_6O_2)_2$ (Table II) indicates presence of phenolic hydroxyl groups. The intermolecularly hydrogen bonded O-H stretch is shifted to somewhat longer wavelengths, relative to the "free" ligand, but it is present in the complex too. The reduction of toluoquinone by Fe $(CO)_5$ was done without intentionally admitting in the system any proton source, yet the appearance of the O-H stretch shows that such a proton source was present. In view of the highly hygroscopic nature of the complex it must therefore be concluded that either during the preparation or during the recording of the spectrum, moisture was not completely excluded. On the other hand, the C-O frequency is shifted in the complex to lower values by ~ 15 cm^{-1} and the corresponding peak is broadened, whereas the carbonyl frequency is practically unaffected. These observations suggest that a fraction only of the phenolic hydroxy groups is involved in coordination with iron (II), whereas the carbonyl groups are not. In view of this and also of the other properties of the compound (stoichiometry, dark color, paramagnetism, insolubility and mode of decomposition) it must be concluded that the formula Fe $(C_7H_6O_2)_2$ does not represent discrete complexes. Iron (II) probably occupies octahedral sites in a three dimensional polymeric and or polynuclear structure, connected to the organic ligand by chemical bonds through phenolic oxygens.

TABLE II: IR spectra of the "complexes"

Fe ^{II} (C ₇ H ₆ O ₂) ₂	Fe ^{III} -tol	Cu ^{II} -tol	Cu ^{II} (C ₁₄ H ₁₁ O ₄)(H ₂ O)(HO)	Cu ^{II} (C ₁₄ H ₁₁ O ₄) ₂	Cu ^{II} -trimer	Cu ^{II} -ester	Assignments
3350	3350	3400	3400	3400	3400	3550	O-H stretching
1660	1640	1660	1640	1640	1640	3400	
—	—	—	1590	1590	1590	1750	C=O stretching
1190	1190	1180	1200	1210	1230	1230	"acetate band"
—	—	—	—	—	1200	1170	C-O stretching
—	—	—	—	—	—	1010	sym. =C-O-C Stretch (furan and acetate)
—	—	—	—	—	—	870	Characteristic furan peak.

The existence of a polynuclear arrangement is more evident in the nonstoichiometric products obtained from Fe (III) or Cu (II) and toluoquinone. Yet, a plot (Fig. 2) of the iron content of the products vs the initial molar ratio of Fe (III) over toluoquinone indicates that a limiting 1:2 stoichiometry is approached at low (Fe (III)/tol)₀. Fig 2 also shows that a second limiting stoichiometry (1:1) may be approached at high (Fe (III)/tol)₀, but slower. The ir spectra of the Fe (III)-tol products (Table II) show strong absorptions in the O-H stretching region. This may indicate presence of basic hydroxyl groups or water, but we believe that it is at least partly due to the condensation of toluoquinone. During the treatment with the iron or copper salts toluoquinone is presumably transformed into condensation products containing toluohydroquinone units. Additional support for this hypothesis is provided by the appearance in the complex of new peaks, which were not present in toluoquinone, such as a weak peak at 2850 cm⁻¹, which may be assigned to the aromatic C-H stretch, and the C-O peak at 1190 cm⁻¹. In fact, the shift in this frequency relative to toluohydroquinone is also consistent with the hypothesis of condensation. Similar remarks can be made for the mixtures obtained from toluoquinone and copper nitrate.

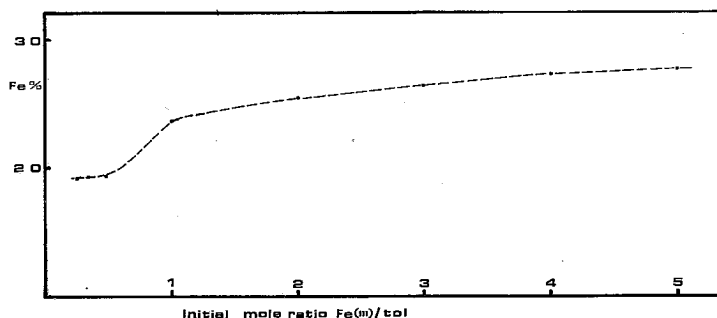
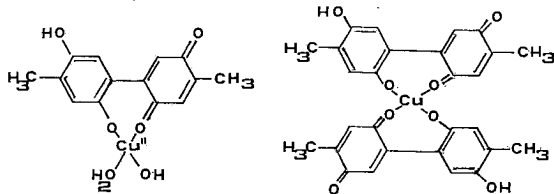


FIG. 2. Dependence of the iron content of the products in the reaction between iron (III) nitrate and toluoquinone on the initial mole ratio of Fe(III) over toluoquinone.

The two compounds obtained from Cu(II) and the dimer are stoichiometrically much better defined. They are slightly soluble and their ir spectra (Table II) indicate presence of -OH from toluohydroquinone or water. Coordination of Cu (II) through hydroxyl is indicated by the shift of the C-O mode and by the appearance of a new peak at 450 cm⁻¹, which can be assigned to the copper-oxygen bond. The appearance on the other hand of the new peak at ~1590 cm⁻¹ can be attributed to coordination of one of the carbonyls of the quinone ring with Cu(II).

Possible structural units:

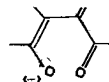


Analogous structures have been suggested for 2,5-dihydroxy-p-benzoquinonecopper (II) by Kobayashi *et al*^{10,11}. Bridged structures similar to

those found in carboxylates,¹² involving copper-copper interaction cannot, however, be excluded. In the carboxylate group the carbonyl and hydroxyl oxygen are attached to the same carbon atoms:



in our case they belong to different parts of the molecule:

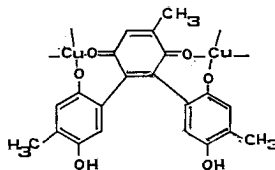


but this difference should not necessarily affect the capacity of the ligands to bridge the copper ions, provided of course that the stereochemical requirements are fulfilled.

Chelation and steric factors may limit formation of polynuclear structures.

The ir spectra of the compound obtained from Cu (II) and the trimer are similar to those of the complexes obtained from the dimer, indicating similar coordination too. The analysis, however, corresponds to a more complicated structure, perhaps because each dimer has only one site for chelation, whereas each trimer has two such sites, allowing formation of more complicated polynuclear arrangements. In both cases (dimer and trimer) the coordination requirements of Cu (II) are satisfied by the organic ligands or water. Nitrate in particular does not participate.

Possible structural unit for the complex of the trimer:



extending over four copper ions and five trimeric ligands. The terminal hydroxyl groups are rigidly apart from each other and they cannot form chelate rings.

Our failure to prepare any well defined complexes in the case of the trimeric phenol (VI) may be attributed to the destruction of the proper coordination sites, because of the formation of the furan rings and possibly of other condensation products as well.

In contrast, the ester (V) gave with Cu (II) a product containing two copper ions per ligand. The hydroxyl absorption of this compound in the 3400-3600 cm^{-1} region, which is absent in the initial organic reagent, is displaced upon deuteration to $\sim 2500 \text{ cm}^{-1}$. Prolonged heating on the other hand at 110°C does not remove these peaks. These findings suggest presence of coordinated water or hydroxide. Copper (II) seems to be coordinated to nitrate too. Generally speaking the ir spectrum is dominated by the absorptions of water and nitrate. It can be seen, however, (Table II) that the furan and acetate bands, including the carbonyl band, are essentially unaffected. On the other hand the UV spectrum of the product above $\sim 280 \text{ nm}$ is also identical with that of the free ligand.

Thus, the conclusion that can be drawn from these observations is that the interaction of Cu (II) with the ester is weak. The reproducible stoichiometry must be attributed to lattice factors rather than to specific chemical interactions.

Conclusions

We report here on the synthesis and characterization of compounds formed in the first stages of the polymerization process of toluoquinone to an artificial humic acid. The interaction of these compounds and of the simple quinone and hydroquinone with Fe(II), Fe(III) and Cu(II) varies from weak physical to formation of polynuclear complexes, and it depends, among other things, on the degree of condensation of the organic system, the pH, the metal ion etc. Efforts were particularly made to isolate from the complicated reaction mixtures complexes having well defined and reproducible stoichiometry. In some cases these efforts were successful, in spite of the strong restriction imposed by the general objective of this investigation, namely to work with conditions departing as little as possible from those in the soil.

The coexistence in the ligand of hydroxyl and quinone groups in suitable relative positions for chelation seems to be necessary for the formation of the polynuclear complexes investigated in this paper. Inhibition of the function of these groups, e.g. by formation of furan rings or by esterification, results in loss of the capacity for complex formation. In fact, it is shown that for complex formation carboxylic groups, which are known¹³⁻¹⁶ to act as donor groups in complex formation with humic acids can effectively be replaced in this function by quinone carbonyls and phenolic hydroxyls.

Περίληψη

Μελέτη τῆς χημείας τῶν χουμικῶν ὀξέων I. Σύμπλοκα τοῦ Fe (II), Fe (III) καὶ Cu (II) μὲ τολουοκινόνη καὶ ὀλιγομερῆ παράγωγα.

Τολουοκινόνη καὶ τὰ προϊόντα τῶν πρώτων σταδίων τῆς ὀξειδωτικῆς συμπυκνώσεως τῆς πρὸς τεχνητὸ «χουμικὸ ὄξύ» ἀλληλεπιδροῦν μὲ ἰόντα Fe (II), Fe (III) καὶ Cu (II) ἀπὸ ἀσθενῶς μέχρι σχηματισμοῦ πραγματικῶν συμπλόκων. Τὰ σύμπλοκα ποὺ κατέστη δυνατό νὰ ἀπομονωθοῦν ἀπ' τὰ πολὺπλοκα μίγματα τῶν διαφόρων ἀντιδράσεων ἀντιστοιχοῦν στὶς ἐπαναλήψιμες στοιχειομετρίες Fe (C₇H₆O₂)₂, Cu (C₁₄H₁₁O₄) (H₂O) (HO), Cu (C₁₄H₁₁O₄)₂ καὶ Cu₄ (C₂₁H₁₆O₆)₃ (C₂₁H₁₇O₆)₂, ὅπου C₁₄H₁₁O₄ τὸ διμερὲς καὶ C₂₁H₁₆O₆ τὸ τριμερὲς ποὺ λαμβάνονται ἀπ' τὴν συμπύκνωση τῆς τολουοκινόνης. Τὰ σύμπλοκα αὐτὰ καὶ γενικὰ ἡ ἀλληλεπίδραση ἀνάμεσα στὰ παραπάνω μεταλλικὰ ἰόντα καὶ τὸ ὄργανικὸ ὑπόστρωμα μελετήθηκαν μὲ φασματοσκοπικὲς μεθόδους.

Ἡ παρούσα ἐργασία δίνει τὶς ἀπαραίτητες προκαταρκτικὲς πληροφορίες γιὰ τὴ διερεύνηση περισσότερο πολυπλόκων συστημάτων ποὺ εἶναι δυνατόν νὰ χρησιμοποιεῖσιν ὡς ὑποδείγματα τῶν χουμικῶν συστατικῶν τοῦ ἔδαφους.

References and Notes

1. Kononova M.M.: "Soil Organic Mater", 2nd ed., Pergamon Press, Oxford, p.p. 13-43. (1966)
2. Steelink C.: *J. Chem. Educ.* **40**, 373 (1963).
3. Schnitzer M., and Khan S.U.: "Humic Substance in the Environment", A. Douglas editor, McLaren Marcel-Dekker Inc., N.Y., (1972).
4. *Exh. Ber.* **20**, 2283 (1887); Fr. Chatway D., Parks G.D.: *J. Chem. Soc.* **1925**, 127.
5. Scoullos M.: "Artificial Humic Acid Complexes. Use in Nitrogen Fixation", PhD Thesis, Univ. of Athens, Athens, (1976).
6. Erdtman H., and Stjernström N.E.: *Chem. and Ind.* 1599 (1960).

7. Erdtman H., and Stjernström N.E.: *Acta Chem. Scand.* **13**, 653 (1959).
8. Stjernström N.E.: *Acta Chem. Scand.* **14**, 1274, 2191 (1960).
9. Erdtman H.: *Proc. Roy. Soc. London A* **143**, 119, 228 (1963).
10. Haseda T., Miedema A.R., Kobayashi H., and Kanda E.: *J. Phys. Chem. Soc. Japan*, **17**, 518 (1962).
11. Kobayashi H., Haseda T., Kanda E., and Kanda S.: *J. Phys. Chem. Soc. Japan* **18**, 349 (1963).
12. Kato M., Jonnassen H.B., and Fanning J.C.: *Chem. Rev.* **64**, 99 (1964).
13. Himes F.L., and Barber S.A.: *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **21**, 368 (1957).
14. Schnitzer M., and Skinner S.I.M.: *Soil Sci.* **99**, 278 (1965).
15. Gamble O.S., Schnitzer M., and Hoffman J.: *Can. J. Chem.* **48**, 3197 (1970).
16. H. Van Dijk: *Geoderma*, **5**, 53 (1971).

ZUM SPEKTROPHOTOMETRISCHEN VERHALTEN VON 1-NITRO-2-NAPHTHOL UND 2-NITRO-1-NAPHTHOL IN REINEN UND GEMISCHTEN LÖSUNGSMITTELN

D. JANNAKOUDAKIS, I. MOUMTZIS und E. THEODORIDOU

Institut für Physikalische Chemie der Universität Thessaloniki, Thessaloniki, Griechenland

(Erhalten am 23. August 1977)

Zusammenfassung

Es wird das spektrophotometrische Verhalten von 1-Nitro-2-naphthol und 2-Nitro-1-naphthol in reinen und gemischten Lösungssystemen verschiedener Dielektrizitätskonstante und chemischer Natur untersucht. Es wird festgestellt, daß die im sichtbaren Spektralbereich (395 nm) erscheinende Absorption von 2-Nitro-1-naphthol vom Lösungsmittel praktisch nicht beeinflusst wird, und wird einer $\pi \rightarrow \pi^*$ Anregung zugeschrieben, welche auf ein einziges Konjugationssystem infolge eher koplanarer Molekelanordnung zurückzuführen ist. Das 1-Nitro-2-naphthol zeigt sowohl in reinen als auch in den gemischten Lösungssystemen zwei Absorptionsbanden bei 333 nm und im Bereich 375-385 nm, je nach dem Lösungsmittel. Die Erhöhung der Polarität des Systems bis zu einem Grenzwert der Dielektrizitätskonstante ($\epsilon \approx 32$) hat eine Intensitätsverminderung der ersten Absorptionsbande und eine hypsochrome Verschiebung und gleichzeitig eine dramatische Intensitätsverminderung der zweiten Absorptionsbande zur Folge. Diese Absorptionsbanden werden einer gespaltenen $\pi \rightarrow \pi^*$ Anregung zugeschrieben, welche auf eine Verdrillung der Nitrogruppe infolge sterischer Gründe und auf die Erscheinung zweier elektronischen Konjugationssysteme zurückgeführt wird. Im Bereich 375-385 nm wäre auch die Existenz einer $n \rightarrow \pi^*$ Anregung nicht ausgeschlossen, welche auf eine Überlappung der "nicht bindenden" Elektronenbahnen der verdrillten Nitrogruppe und der π -Elektronenbahnen des Naphthalins zurückgeführt wird, und welche von der stärkeren $\pi \rightarrow \pi^*$ Bande überdeckt wird. Oberhalb des erwähnten Wertes (32) der Dielektrizitätskonstante wird im Bereich 375-385 nm eine unerwartete Intensitätserhöhung und eine bathochrome Verschiebung der Absorptionsbande in den gemischten wäßrigen Systemen beobachtet, welche auf das spezielle Solvationsverhalten des Wassers zurückzuführen sind.

Abkürzungen: 1N2N = 1-Nitro-2-naphthol, 2N1N = 2-Nitro-1-naphthol, DK = Dielektrizitätskonstante (Symbol ϵ), THF = Tetrahydrofuran, MeOH = Methanol, Diox = Dioxan.

Einführung

In früheren Arbeiten^{1,2} über die Ionisation der Nitronaphthole und über die Bildung von Ionenpaaren zwischen denselben und organischen Aninen in verschiedenen Lösungsmitteln wurde ein deutlich unterschiedliches spektrophotometrisches Verhalten der zwei isomeren Nitronaphthole - nämlich des 1N2N und des 2N1N - beobachtet. Das 1N2N zeigt zwei bezeichnende Absorptionsmaxima im sichtbaren Spektralbereich in verschiedenen Lösungsmitteln, wobei das 2N1N ein Maximum vorlegt. Es wurde auch festgestellt, daß die Absorptionsintensität von 1N2N von der Natur des Lösungsmittels stark beeinflusst wird, während diejenige von 2N1N praktisch unverändert bleibt.

Die verschiedenartige Entwicklung des Absorptionsspektrums von verschiedenen Verbindungen durch sterische Störungen der Konjugationswechselwirkung infolge Aufhebung der koplanaren Anordnung des Konjugationssystems ist gut bekannt. Im Falle z.B. der ortho-substituierten Diphenyl-derivate werden zwei Absorptionsmaxima beobachtet im Gegensatz zum unsubstituierten Diphenyl selbst, wobei nur ein Maximum im Bereich 220 - 300 nm zu sehen ist.³ Ein gleichartiges Verhalten zeigen auch die Absorptionsspektren von o-substituierten Benzophenonen im Vergleich zum unsubstituierten Benzophenon für den ungefähr gleichen Bereich in Äthanol.⁴ Im Falle der β,γ -ungesättigten Ketone hat die Störung der Konjugationswechselwirkung zwischen den >C=C< und $\text{>C=}\overline{\text{O}}$ Doppelbindungen eine merkliche Erhöhung der Absorptionsintensität der $n \rightarrow \pi^*$ Anregung zur Folge.^{5,6} Eine derartige Intensitätserhöhung bei der $n \rightarrow \pi^*$ Anregung wegen Verdrillung der Nitrogruppe durch sterische Störung wurde schließlich auch bei den o-substituierten Nitrobenzolderivaten festgestellt.^{7,8} Die Verminderung der Säurestärke des 1N2N im Vergleich zum 2N1N wurde allerdings der Verdrillung der Nitrogruppe von 1N2N zugeschrieben.²

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, das verschiedenartige spektrophotometrische Verhalten der erwähnten Nitronaphthole zu erklären, und zu diesem Zweck werden die Absorptionsspektren von beiden Nitronaphtholen in einer Reihe von reinen und gemischten Lösungsmitteln verschiedener DK und chemischer Natur untersucht.

Experimentelles

Die Absorptionsspektren von beiden Nitronaphtholen in den verwendeten Lösungssystemen wurden mittels eines Spektrophotometers DB-GT der Fa. Beckman registriert. Die Absorptionsmessungen bei konstanter Wellenlänge wurden mit einem Spektrophotometer "Acta-5" derselben Firma durchgeführt. Zu DK-Messungen der Lösungen diente ein Dipolmeter DM-01 der Fa. WTW, versehen mit den Zellen MFL 1/S, MFL 2/S und MFL 3/S entsprechend den DK-Bereichen 1,8-7, 7 - 21 und 21 - 90. Alle Messungen wurden bei einer Temperatur von $25 \pm 0,05^\circ\text{C}$ durchgeführt.

Die verwendeten Nitronaphthole waren von der Fa. Ferak, Berlin und wurden: das 1N2N aus einer Mischung Benzol-Petroläther 1:1 und das 2N1N aus Äthanol umkristallisiert. Benzol, n-Hexan, n-Heptan und n-Oktan der Fa. Carlo Erba (RP ACS), Cyclohexan, Methanol der Fa. Fluka (puriss p.a.) und der Tetrachlorkohlenstoff der Fa. Merck (zur Analyse) wurden durch Stufendestillation weitergereinigt. Das Dioxan der Fa. Carlo Erba (puro) wurde durch Sieden über Na-Metall und weitere Stufendestillation gereinigt.⁹ Durch Sieden über LiAlH_4 und weitere Destillation mit Säule wurde das Tetrahydrofuran der Fa. Fluka (purum) ebenfalls weitergereinigt.¹⁰

Ergebnisse und Diskussion

Die Absorptionsspektren von 1N2N ($1 \cdot 10^{-4}$ M) in den verwendeten reinen Lösungsmitteln werden in Abb. 1 (Kurven 1-9) dargestellt. In derselben Abbildung wird beispielsweise auch das Spektrum von 2N1N ($1 \cdot 10^{-4}$ M) im Tetrachlorkohlenstoff (Kurve 10) angegeben, mit dem sich auch die Spektren von 2N1N in allen verwendeten Lösungsmitteln - außer vernachlässigter Unterschiede im Wert des Extinktionskoeffizienten - treffen.

Wie aus dieser Abbildung hervorgeht, erscheinen bei den Spektren von 1N2N zwei Absorptionsbanden, eine bei 333 nm und eine andere im Bereich von

375-385 nm. Die längstwellige Bande zeigt einerseits eine kurzwellige (hypsochrome) Verschiebung und andererseits eine dramatische Intensitätsverminderung beim Übergang von nicht polaren zu polaren Lösungsmitteln. Das

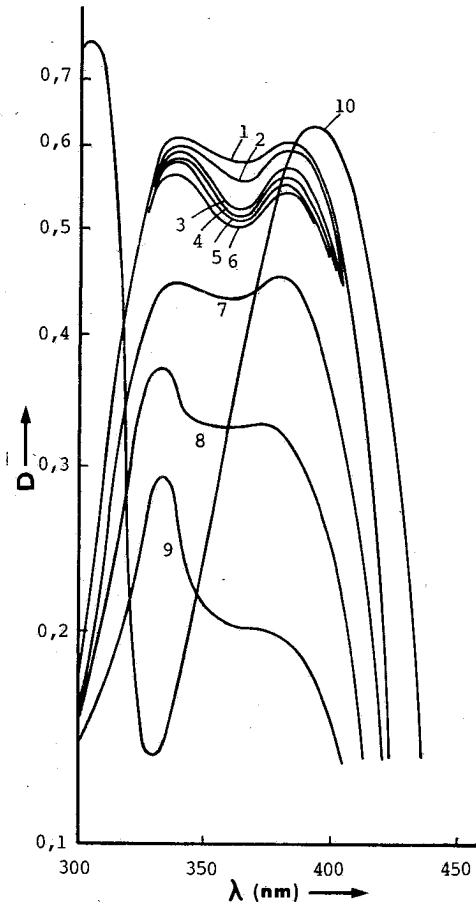
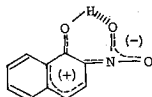


ABB.1. Absorptionsspektren von 1N2N ($1.10^{-4}M$) in verschiedenen reinen Lösungsmitteln (1. Benzol, 2. Tetrachlorkohlenstoff, 3. n-Oktan, 4. Cyclohexan, 5. n-Heptan, 6. n-Hexan, 7. Dioxan, 8. THF, 9. Methanol) und von 2N1N ($1.10^{-4}M$) im Tetrachlorkohlenstoff (Kurve 10) bei 25°C.

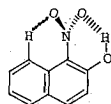
Absorptionsmaximum bei 333 nm zeigt nur eine kleinere Intensitätsverminderung unter den gleichen Bedingungen. Im Gegenteil dazu erscheint beim Absorptionsspektrum von 2N1N nur eine Absorptionsbande bei 395 nm, welche praktisch - sowohl bei der Absorptionsfrequenz, als auch bei der Intensität - von der Natur des Lösungsmittels unbeeinflusst ist.

Im Molekül von 2N1N findet keine deutliche Verdrillung der Nitrogruppe statt, so daß die fast ebene Molekelanordnung nur ein Verhalten erlaubt; also ein einziges Konjugationssystem. Dies hat die Erscheinung nur einer Absorptions-

bande im sichtbaren Spektralbereich zur Folge, wegen der Konjugation:



Diese Absorptionsbande ist einer $\pi \rightarrow \pi^*$ Anregung zuzuschreiben. Im Gegenteil dazu tritt eine derartige Verdrillung der Nitrogruppe im Molekül von 1N2N wegen sterischer Störung stark auf, welche auf das Wasserstoffatom in der 8. Stellung zurückzuführen ist.² Dies hat eine teilweise Störung der Konjugation zwischen Hydroxyl- und Nitrogruppe zur Folge, weil sich diese Gruppen nicht mehr auf derselben Ebene anordnen. Infolgedessen ist hier kein einziges Konjugationssystem möglich, sondern eher zwei geteilte elektronische Anordnungen, weil eben die Konjugation zwischen Nitro- und Hydroxylgruppe unterbrochen ist, wie es im folgenden Modell zu sehen ist:



Es ist bemerkenswert, daß im Bereich von 330 nm eine Absorptionsbande auch für β -Naphthol (328 nm im Isooktan¹¹ und 331 nm im Äthanol¹²) erscheint, verursacht durch eine $\pi \rightarrow \pi^*$ Anregung infolge einer koplanaren Molekelanordnung und Konjugation der Hydroxylgruppe mit dem Naphthalinkern.

Aus den oben erwähnten Gründen sind zwei Absorptionsbanden im sichtbaren Spektrum von 1N2N zu erwarten, welche - anders ausgedrückt - auf die Aufhebung der Entartung von π -Elektronenzuständen zurückgeführt werden und deren Lage und Absorptionsintensität auf den Verdrillungswinkel der Nitrogruppe ankommen soll. Es handelt sich also im Falle vom 1N2N um eine Spaltung der $\pi \rightarrow \pi^*$ Anregung zu zwei geteilten Anregungen.

Für große Werte des Verdrillungswinkels ist es möglich, daß die der Konjugation mit ebener Molekelanordnung entsprechende Lichtabsorption verschwinden kann, wie es der Fall bei den *o*- und *o,o'*-substituierten Dimethylanilinderivaten ist, wobei die Konjugation der Dimethylaminogruppe mit dem aromatischen Ring aus sterischen Wechselwirkungen vollständig verhindert wird, und deswegen sind ihre Absorptionsspektren denjenigen der entsprechenden Alkylbenzole ähnlich.¹³

Wie bereits erwähnt wurde, wirkt die Polarität des Lösungsmittels auf die Intensität und auf die Lage der Absorptionsbanden von 1N2N (Abb. 1, Kurven 1-9). Zur besseren Untersuchung des Einflusses der DK auf das spektrophotometrische Verhalten von 1N2N wurden folgende gemischte Lösungssysteme verwendet: Dioxan - Wasser, THF - Wasser, Dioxan - Methanol und Methanol - Wasser. In Abb. 2 werden beispielsweise die Absorptionsspektren von 1N2N ($1 \cdot 10^{-4}$ M) in gemischten Dioxan-Wasser-Lösungen bis zu einem 90 v/v %-igen Wassergehalt - wegen begrenzter Löslichkeit vom 1N2N im Wasser unter dieser Konzentration - dargestellt.

Aus dieser Abbildung ergibt sich, daß sich die Absorptionsintensität - hauptsächlich der Bande bei 380 nm - um so deutlicher vermindert, je größer der Wassergehalt (bis zu 50% v/v) ist, während gleichzeitig eine deutliche hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums nur bei 380 nm auftritt. Oberhalb dieses Wassergehaltes wird aufs neue eine Intensitätserhöhung und bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums bei 380 nm beobachtet, während die Lage und die Absorptionsintensität des Maximums bei 333 nm praktisch unverändert bleiben. Ähnliches Verhalten wird auch im Falle von gemischten Wasser-THF-Lösungen beobachtet, während in den Systemen Dioxan-Methanol und Wasser-Methanol eine kontinuierliche Intensitätsverminderung und kurzwellige Verschiebung des Absorptionsmaximums mit steigendem Methanolgehalt (bis zu reinem Methanol) festgestellt wird. In der Tabelle I werden die Werte der optischen Dichte von 1N2N ($1 \cdot 10^{-4}$ M) in allen untersuchten gemischten Lösungssystemen wie auch die DK-Werte dieser Systeme angegeben.

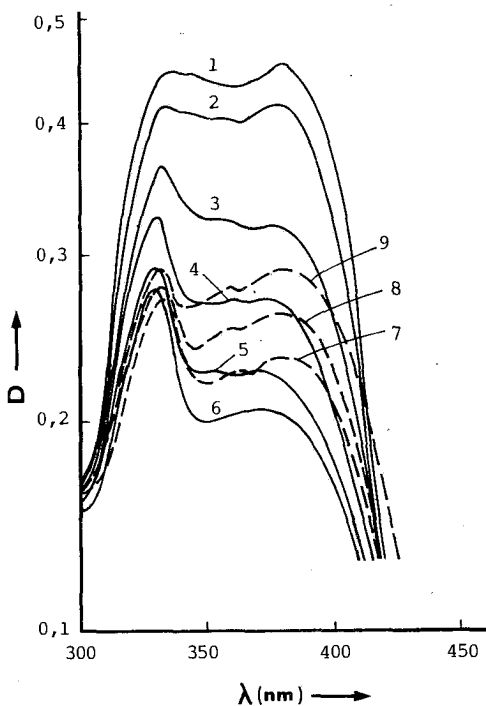


ABB. 2. Absorptionsspektren von 1N2N ($1 \cdot 10^{-4}$ M) in gemischten Wasser-Dioxan-Lösungen von verschiedenem volumcnprozentigen Wassergehalt (Kurven 1 bis 9 entsprechen den Wassergehalten: 0%, 1%, 5%, 10%, 20%, 50%, 70%, 80% und 90%) bei 25°C.

Aufgrund der Werte der Tab. I wurde das Diagramm der Abbildung 3 gezeichnet, wobei die Abhängigkeit der optischen Dichte des 1N2N ($1 \cdot 10^{-4}$ M) in den verwendeten gemischten Lösungssystemen von der DK derselben graphisch dargestellt wird.

TABELLE I. Werte der optischen Dichte von 1N2N ($1.10^{-4}M$) beim λ_{max} in den Systemen THF-Wasser, Dioxan-MeOH, MeOH-Wasser und Dioxan-Wasser, und DK-Werte derselben Systeme bei 25°C.

THF - H ₂ O		Diox - MeOH		MeOH - H ₂ O		Diox - H ₂ O					
H ₂ O	D	MeOH	D	H ₂ O	D	H ₂ O	D				
v/v %	ϵ	v/v %	ϵ	v/v %	ϵ	v/v %	ϵ				
	(375nm)		(380 nm)		(380 nm)		(380 nm)				
0	7,37	0,314	0	2,21	0,452	0	32,63	0,197	0	2,21	0,452
1	7,88	0,239	10	4,00	0,367	10	38,90	0,200	1	2,43	0,413
5	9,73	0,175	20	5,86	0,321	20	44,32	0,206	5	3,64	0,318
10	12,08	0,162	30	8,17	0,290	30	49,15	0,210	10	5,79	0,266
20	18,71	0,153	40	10,68	0,263	40	53,71	0,221	20	11,54	0,222
30	25,90	0,153	50	14,00	0,244	50	58,67	0,230	30	17,88	0,213
40	33,65	0,153	60	16,31	0,233	60	63,17	0,250	40	25,64	0,202
50	41,76	0,157	70	20,10	0,222	70	67,14	0,282	50	33,93	0,202
60	49,84	0,164	80	23,90	0,210	80	70,70	0,292	60	42,68	0,221
70	57,85	0,179	90	27,90	0,201	90	74,70	0,294	70	51,22	0,234
80	65,58	0,213	100	32,63	0,197				80	60,03	0,260
90	72,42	0,267							90	69,76	0,289

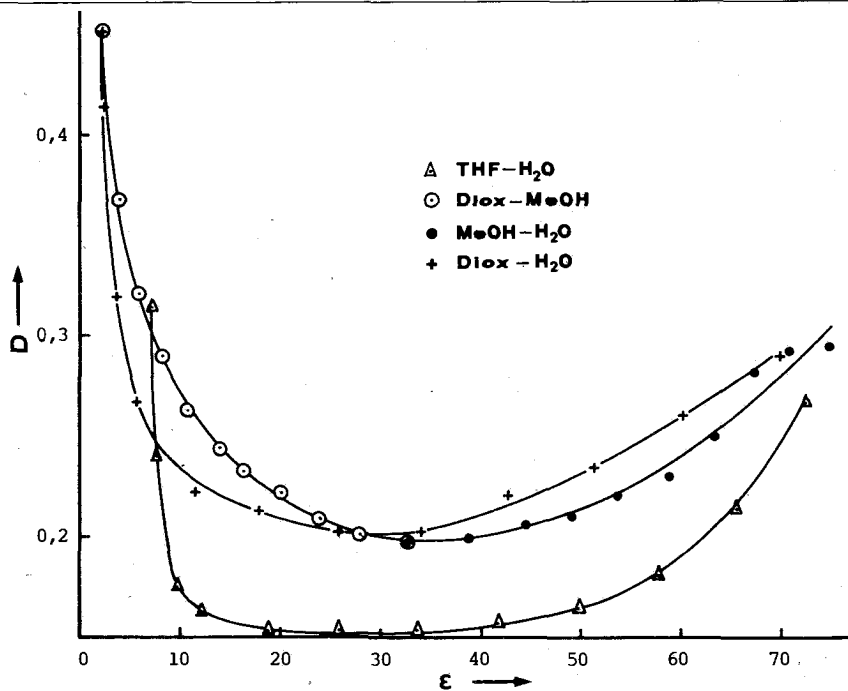


ABB. 3. Abhängigkeit der optischen Dichte des 1N2N ($1.10^{-4}M$) beim λ_{max} in den gemischten THF-Wasser-, Dioxan-MeOH-, MeOH-Wasser- und Dioxan-Wasser-Systemen von der DK des Lösungsmittels bei 25°C.

Aus dem Diagramm der Abb. 3 geht hervor, daß in allen untersuchten Systemen die optische Dichte des 1N2N ein Minimum bei einem DK-Wert des Systems - unabhängig von seiner Naturzeit, welches bemerkenswert dem DK-Wert vom Methanol ($\epsilon = 32,6$) entspricht. Dieses Verhalten wird - soweit wir aus der Literatur wissen - zum ersten Mal beobachtet.

Wie bereits erwähnt wurde, wird die Absorptionsintensität bei 333 nm - sowohl in reinen, als auch in den gemischten Lösungsmitteln - wesentlich weniger vermindert im Vergleich zu derjenigen bei 380 nm. Diese Intensitätsverminderung bei 333 nm könnte dann auf die deutliche Intensitätsänderung der Absorption bei 380 nm zurückgeführt werden, wegen der Angrenzung beider Absorptionsbanden.

Die hypsochrome Verschiebung und die deutliche Intensitätsverminderung der Absorptionsbande von 1N2N bei 375-380 nm mit der DK des Lösungsmittels bis zu diesem DK-Grenzwert vom Methanol führt zur Überlegung, daß auch in diesem Spektralbereich eine Absorption erscheinen kann, welche einer $n \rightarrow \pi^*$ Anregung einsamer Elektronen der Nitrogruppe zuzuschreiben ist, und welche teilweise - wegen eben der Verdrillung der Nitrogruppe aus der Ebene des Naphthalin-Systems - aufgehört, Überlappungsverboten zu sein. Diese Verdrillung erlaubt zum Teil eine Überlappung zwischen den "nicht bindenden" Elektronenbahnen der Nitrogruppe und den π -Elektronenbahnen des Naphthalinrings und macht die Absorption der $n \rightarrow \pi^*$ Anregung intensiver. Die Intensitätsverminderung und hauptsächlich die kurzwellige Verschiebung der Absorptionsbanden beim Übergang von unpolaren zu polaren Lösungsmitteln sind tatsächlich charakteristische Eigenschaften der $n \rightarrow \pi^*$ Anregungen.¹⁵⁻¹⁷ Es wurde z.B. im Falle von $n \rightarrow \pi^*$ Anregungen gezeigt, daß die Änderung der Absorptionsfrequenz ($\Delta\nu$) von der Darstellung $(2\epsilon-1)/(2\epsilon+2)$ für polare Lösungsmittel linear abhängt.¹⁵ Dies wurde auch im Falle des 1N2N für den DK-Bereich von kleinen DK-Werten bis zum charakteristischen DK-Wert des Methanols und in allen untersuchten Lösungssystemen beobachtet. In der Tabelle

TABELLE II. Werte der Absorptionsfrequenz, des $\Delta\nu$ und der Darstellung $(2\epsilon-1)/(2\epsilon+2)$ im Falle des 1N2N für die verschiedenen Zusammensetzungen der gemischten Lösungssysteme Dioxan - Wasser, Dioxan - MeOH und THF - Wasser bei 25°C.

Diox - H ₂ O				Diox - MeOH				THF - H ₂ O			
H ₂ O	ν	$\Delta\nu$	$\frac{2\epsilon-1}{2\epsilon+2}$	MeOH	ν	$\Delta\nu$	$\frac{2\epsilon-1}{2\epsilon+2}$	H ₂ O	ν	$\Delta\nu$	$\frac{2\epsilon-1}{2\epsilon+2}$
v/v %	(cm ⁻¹)	(cm ⁻¹)		v/v %	(cm ⁻¹)	(cm ⁻¹)		v/v %	(cm ⁻¹)	(cm ⁻¹)	
0	26316	0	0,533	0	26316	0	0,533	0	26667	0	0,821
1	26385	69	0,563	10	26525	209	0,700	1	26810	143	0,831
5	26596	280	0,677	20	26667	351	0,781	5	26954	287	0,860
10	26810	494	0,779	30	26738	422	0,836	10	27174	507	0,885
20	27027	711	0,880	50	26810	494	0,900	20	27322	655	0,924
30	27100	784	0,921	80	26882	566	0,940				
40	27174	858	0,944	100	26882	566	0,955				

II werden die Werte der Absorptionsfrequenz von 1N2N, des $\Delta\nu$ und der Darstellung $(2\varepsilon-1)/(2\varepsilon+2)$ für die Lösungssysteme Dioxan-Wasser, THF-Wasser und Dioxan-Methanol verschiedener Zusammensetzungen bei 25°C angegeben.

Aufgrund der Werte der Tab. II wird das Diagramm der Abbildung 4 gezeichnet, wobei die befriedigende lineare Abhängigkeit des $\Delta\nu$ vom $(2\varepsilon-1)/(2\varepsilon+2)$ zu sehen ist.

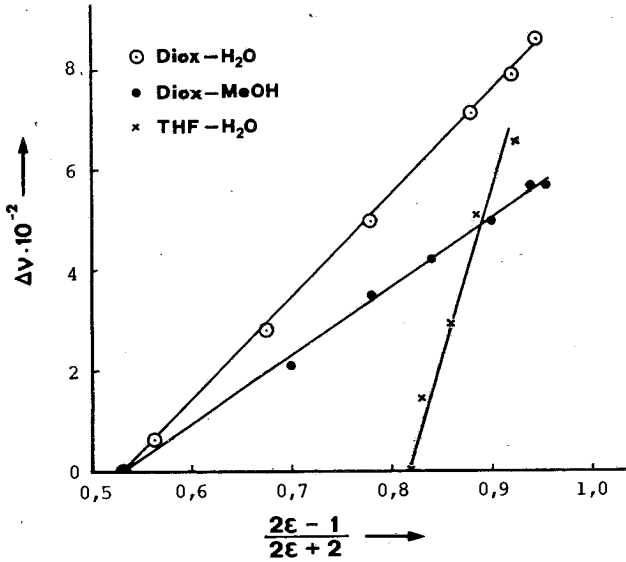


ABB. 4. Abhängigkeit des $\Delta\nu$ im Falle des 1N2N von der Darstellung $(2\varepsilon-1)/(2\varepsilon+2)$ für die gemischten Lösungssysteme Dioxan-Wasser, Dioxan-MeOH und THF-Wasser bei 25°C.

Es muß hier erwähnt werden, daß das 1N2N ein ähnliches Verhalten auch in den reinen Lösungsmitteln mit der Vergrößerung des DK-Wertes zeigt, wie in den gemischten Lösungssystemen, soweit es sich um die hypsochrome Verschiebung und die Intensitätsverminderung der Absorptionsbande bei 375-385 nm handelt (siehe Abb. 1, Kurven 1-9). Ausnahmsweise wird im Dioxan eine relative Abweichung von diesem Verhalten beobachtet, trotz des niedrigen DK-Wertes des Dioxans (Abb. 1, Kurve 7).

Die neuerliche Intensitätserhöhung der Absorptionsbande bei 380 nm für DK-Werte der gemischten Lösungssysteme größer als derjenige des Methanols wird auf die verschiedenartige Solvation des 1N2N-Moleküls zurückgeführt, wegen des großen Wassergehaltes der Systeme und des speziellen Solvationsverhaltens des Wassers im Vergleich zu allen anderen Lösungsmitteln.

Die Änderung schließlich der DK hat auf die Absorptionsintensität von 2N1N in den verwendeten Lösungssystemen keine wesentliche Einwirkung. Es wird nur eine längstwellige Verschiebung des Absorptionsmaximums mit bedeutender Vergrößerung des Wassergehaltes - bzw. der DK des Systems - beobachtet, welche eine $\pi \rightarrow \pi^*$ Anregung bezeichnet.¹⁶

Abstract

Spectrophotometric behaviour of 1-nitro-2-naphthol and 2-nitro-1-naphthol in pure and mixed solvents

The spectrophotometric behaviour of 1N2N and 2N1N in pure and mixed solvents of different dielectric constant and chemical nature is studied. It is certified that the absorption band of 2N1N in the visible spectrum (395 nm) remains almost invariable on changing of the solvent system; this band is due to a $\pi \rightarrow \pi^*$ transition and is explained by a single resonance system caused by the planar structure of the molecule. 1N2N shows two absorption bands in the visible spectrum, one at 333 nm and another between 375 and 385 nm, depending on the solvent system. The increase of the solvent polarity - until a boundary dielectric constant value ($\epsilon \approx 32$) - causes a decrease of the first band intensity and a blue shift with a simultaneous dramatic intensity decrease of the second band. The absorption of 1N2N is attributed to a splitting $\pi \rightarrow \pi^*$ transition, caused by the twisting of the nitro group, because of a steric effect, and the appearance of two electronic resonance systems. At the wave length range 375-385 nm also an $n \rightarrow \pi^*$ band should exist - due to the overlapping of the non bonding orbitals of the twisting nitro group with the π -orbitals of the naphthalene system - which is covered by the stronger $\pi \rightarrow \pi^*$ band. Above the ϵ -value 32 the 375-385 nm band shows an unexpected intensity increase and a red shift, in the water mixed solvents, which are attributed to the special water solvation.

Key words: Nitronaphthols, absorption spectra, $\pi \rightarrow \pi^*$ and $n \rightarrow \pi^*$ transition, band intensity, blue and red shift, pure and mixed solvents, dielectric constant.

Περίληψη

Φασματοφωτομετρική συμπεριφορά της 1-νιτρο-2-ναφθόλης και της 2-νιτρο-1-ναφθόλης σε άπλά και μικτά διαλυτικά μέσα.

Μελετάται η φασματοφωτομετρική συμπεριφορά της 1N2N και της 2N1N μέσα σε άπλά και μικτά διαλυτικά συστήματα με διάφορη διηλεκτρική σταθερά και χημική φύση και καταβάλλεται προσπάθεια να εξηγηθούν οι διαφορές, που εμφανίζονται στην όρατη περιοχή του φάσματος. Διαπιστώνεται ότι η εμφανιζόμενη στα 395 nm απορρόφηση της 2N1N παραμένει πρακτικά ανεπηρέαστη στα άπλά διαλυτικά με τη μετάβαση από μη πολικά σε πολικά μέσα τόσο ως προς τη συχνότητα, όσο και ως προς την ένταση απορρόφησης, ενώ στα μικτά διαλυτικά μέσα παρατηρείται μια βαθυχρωμική μετατόπιση, χαρακτηριστική των $\pi \rightarrow \pi^*$ διεγέρσεων με την αύξηση της πολικότητας του συστήματος, για μεγάλες όμως τιμές διηλεκτρικής σταθεράς. Η ύπαρξη ενός μόνο μεγίστου απορρόφησης στο φάσμα της 2N1N εξηγείται με την εμφάνιση ενός ενιαίου συστήματος συντονισμού λόγω της σχετικής επιπεδότητας του μορίου της 2N1N και αποδίδεται σε μια $\pi \rightarrow \pi^*$ διεγερση. Αντίθετα η 1N2N εμφανίζει δύο μέγιστα απορρόφησης στα 333 nm και στα 375-385 nm στα διάφορα διαλυτικά συστήματα, από τα όποια το πρώτο επηρεάζεται σχετικά λιγότερο και μόνο ως προς την ένταση απορρόφησης, ενώ το δεύτερο εμφανίζει σημαντική πτώση της έντασης απορρόφησης και ταυτόχρονα ύψιχρωμική μετατόπιση με την αύξηση της διηλεκτρικής σταθεράς, μέχρι όμως μια όριακή τιμή, που αντιστοιχεί στη διηλεκτρική σταθερά της μεθανόλης ($\epsilon = 32,6$). Πέρα από την τιμή αυτή η απορρόφηση στα 333 nm παραμένει πρακτικά ανεπηρέαστη, ενώ η απορρόφηση στα 375-385 nm εμφανίζει αύξηση της έντασης απορρόφησης και

βαθυχρωμική μετατόπιση στα μικτά με νερό διαλυτικά συστήματα, πράγμα που αποδίδεται στην ιδιαίτερη συμπεριφορά του νερού από άποψη επιδιαλυτώσεως. Η φασματοφωτομετρική συμπεριφορά της 1N2N αποδίδεται σε σχάση της $\pi \rightarrow \pi^*$ διεγέρσεως, που οφείλεται στην εμφάνιση δύο επί μέρους ηλεκτρονικών συστημάτων λόγω της στρέψεως της νιτροομάδας και της άρσεως της επιπεδότητας του μορίου. Η ύψιχρωμική μετατόπιση της απορρόφησης όμως στα 375-385 nm και η σημαντική ελάττωση της έντάσεώς της με την αύξηση της πολικότητας του συστήματος (μέχρι $\epsilon \approx 32$) επιτρέπει παρ' όλα αυτά την υπόθεση ότι στην περιοχή αυτή του φάσματος πιθανό να εμφανίζεται απορρόφηση οφειλόμενη σε $\pi \rightarrow \pi^*$ διεγερση λόγω ακριβώς της στρέψεως της νιτρο-ομάδας και της δυνατότητας υπερχαλύψεως των άδεσμικών της τροχιακών με τα π -τροχιακά του ναφθαλινικού συστήματος, ή όποια απορρόφηση καλύπτεται από την οφειλόμενη στην $\pi \rightarrow \pi^*$ διεγερση.

Literatur

1. Jannakoudakis, D., Moumtzis, I.: *Chimika Chronika*, 29A, 279 (1964).
2. Jannakoudakis, D., Theodoridou, E.: *Z. phys. Chem.*, Leipzig, im Druck.
3. Schwarz, J.C.P.: "Physical Methods in Organic Chemistry", p. 159, Oliver & Boyd, London, 1964.
4. Rekker, R.F., Nauta, W. Th.: *Recueil des trav. chim. des Pays-Bas*, 73, 969 (1954).
5. Murrell, J.N.: "The Theory of the Electronic Spectra of Organic Molecules", p. 165, Methuen & Co LTD, London, 1963.
6. Labhart, H., Wagnière, G.: *Helv. Chim. Acta*, 42, 2219 (1959).
7. Murrell, J.N.: "The Theory of the Electronic Spectra of Organic Molecules", p. 187, Methuen & Co LTD, London, 1963.
8. Suzuki, H.: "Electronic Absorption Spectra and Geometry of Organic Molecules", p. 471, Academic Press, London, 1967.
9. Stumpf, W.: "Chemie und Anwendungen des 1,4-Dioxanes", S.15, Verlag Chemie G.m.b.H., Weinheim/Bergstr., 1956.
10. Perrin, D.D., Armarego, W.L.F., Perrin, Dawn R.: "Purification of Laboratory Chemicals", p. 262, Pergamon Press, Oxford, 1966.
11. Baba, H., Suzuki, S.: *J. Chem. Phys.*, 35, 1118 (1961).
12. Patton, T.L.: *J. Org. Chem.*, 26, 1677 (1961).
13. Staab, H.A.: "Einführung in die theoretische organische Chemie", S. 380, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr., 1959.
14. Staab, H.A.: "Einführung in die theoretische organische Chemie", S. 319, 362, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr., 1959.
15. Ramsay, D.A.: *Ann. Rev. of Phys. Chem.*, 12, 255 (1961).
16. Bayliss, N.S., McRae, E.G.: *J. Phys. Chem.*, 58, 1002, 1006 (1954).
17. Krishna, V.G., Goodman, L.: *J. Chem. Phys.*, 33, 381 (1960).

MERSTELLUNG, IR UND ESR UNTERSUCHUNGEN VON Cu(II) - KOMPLEXE MIT MALEINSÄUREANALOGE

SPYRIDON PARASKEWAS* und DEMETRIOS KONSTANTINIDIS**

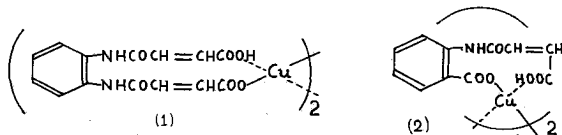
Laboratorium für Organische Chemie *und Laboratorium für Industrielle Chemie ** Universität Athen
(Erhalten am 14 November, 1977)

Zusammenfassung

(O-Phenyleno-diimino)dimaleylsäure und o-Carboxy-maleinsäure-anilid reagieren mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ als zweizählige Liganden und stellen Komplexverbindungen her. Diese Verbindungen zeigen ESR-Signale die aus der $3d^9$ Elektronenkonfiguration herrühren. Anhand der IR und ESR Spektren ist zu vermuten, dass diese Komplexe eine planare Konfiguration bilden.

Einleitung

(O-Phenyleno-diimino)di-maleylsäure und o-Carboxy-maleinsäure-anilid, können bei der Reaktion mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$, als zweizählige Liganden koordiniert werden, sodass die mögliche Strukturen (1) und (2) existenzfähig sein können:



Diese Komplexe zeigen interessante ESR-Signale, die aus der $3d^9$ -Elektronenkonfiguration des Cu(II) herrühren.

Nach der IR- und ESR- sowie der Elementaranalyse, diese Komplexe besitzen ein planares Gerüst, das geringfügig verzerrt und offenbar nicht Spannungsfrei ist.

Diskussion der Ergebnisse

Diese Komplexe entsprechen die Struktur von Cu(II)-bis-Acetyl-acetonat und Cu(II)-bis-Salicylaldehyd-imin,¹ sowie die Struktur von Cu(II)-Komplexe mit Peptiden.² Die hergestellte Komplexe, die als gefärbte Pulvern zu bekommen sind, unter normalen Bedingungen sind sehr beständig und sind nur in DMF und DMSO löslich. Die beobachtete IR-Spektren zeigen für diese Komplexverbindungen typische Banden. Verschiebungen von Maxima und Änderungen charakteristischen Banden, sind jedoch ausreichend um die einzelnen Komplexen auf Grund der Absorptionsspektren identifizieren zu können. Während im nahen IR-Bereich ausschliesslich die verschobenen Banden der koordinierten Säuren auftreten, beobachtet man in ferner IR-Bereich die Cu-O Valenzschwingungen.

Die wichtigste IR-Banden im Bereich von 4000-350 cm^{-1} der Untersuchten Komplexen, sind aus der Tab. I zu entnehmen. Die Zuordnungen sind dort versuchsweise und in Vergleich zu analoge Spektren, ebenfalls angegeben.⁴ Den $\nu(\text{Cu-O})$ Schwingungen für Komplex (1) ordnen sich Banden bei 490 cm^{-1} und 415 cm^{-1} zusammen mit der Ringdeformationsschwingungen. Für den Komplex (2) ordnen sich Banden bei 460 cm^{-1} und 425 cm^{-1} , ebenfalls zusammen mit der Ringdeformationsschwingungen.³

TAB. I. Charakteristische Schwingungen:⁴

Schwingung	Komplex(1)	[cm^{-1}]	Komplex(2)
$\nu_{\text{C=O}}$	1600		1660 1620
ν_{NH}	1545		1520
$\nu_{\text{C=C}}$	1436		1450
$\nu_{\text{C=C}} + \nu_{\text{synC=O}}$	1395		1420
$\nu_{\text{synCO}} + \delta_{\text{O-C=O}}$	1293		1295
	1245		1235
$\delta_{\text{O-C=O}} + \nu_{\text{CuO}}$	845		835
	801		810
$\nu_{\text{CuO}} + \text{Ringdeform}$	710		735
$\nu_{\text{CuO}} + \nu_{\text{C=O}}$	590		575
ν_{CuO}	490		460
$\text{Ringdeform} + \delta_{\text{O-C=O}}$	415		425
$\delta_{\text{O-C=O}}$	375		335

Im Bereich von 3500 cm^{-1} bis 3200 cm^{-1} sowie 1600 cm^{-1} bis 1580 cm^{-1} liegen auch die NH-Valenzschwingungen, die mit dem Cu^{2+} nicht koordiniert sind.

ESR-Messungen

Die Komplexverbindungen (1) und (2) lassen sich, wegen ihre paramagnetische Eigenschaften, ESR-Messungen bei Raumtemperatur durchzuführen. Die Hauptachsenwerte des g-Tensors, errechnen sich für (1) und (2) zu $g_{\perp} = 2,045$, $g_{\parallel} = 2,225$ und $g_{\perp} = 2,046$, $g_{\parallel} = 2,262$ entsprechend.

Diese Befunde deuten auf, das die organische liganden der Festkörpern als zweizählige anzunehmen sind, und die Umgebung tetragonal sein muss.⁵ Die deutliche Verbreitung des "g \parallel "-Teils der ESR-Spektren, ist charakteristisch bei schwachen Wechselwirkungen zwischen den freien Spins verschiedener Cu(II) Ionen des Gitters. Die effektive Symmetrie an Metall und Ligand unserer Komplexe, im Vergleich zu analoge Ergebnisse,¹ muss D_{4h} sein.

In der LCAO-Annäherung nach der MO-Theorie, müssen Einundzwanzig Orbitale entstehen. Diese sind aus der σ und 2p Orbitale der Sauerstoffatome, und der 3d, 4s und 4p-Orbitale des Metalls zu entnehmen. Es muss beachtet werden, dass die Ligandorbitale, nehmen nicht alle in der Bindung teil. Nur vier davon haben diese Symmetrie.

Wenn die Ligandelekttronen, zwischen den 4s- und 4p-Orbitalen des Metalls verteilt sind, das ungepaarte Elektron ist als ein "Loch" in der antibindende Orbitale, die mit der 3d-Metallorbitale assoziiert sind, darzustellen.

In vorliegenden Fall, zwei der drei Komponenten des g-Faktors einander gleich sind, benützen wir die Bezeichnungen $g_z = g_{\parallel}$ und $g_x = g_y = g_{\perp}$. Nach Berechnungen $\lambda_0 = -828\text{cm}^{-1}$ (1,5,6) entspricht etwa 40% des freien Ions und für

einen hohen Kovalentcharakter der Bindung sehr charakteristisch ist. Im Fall der untersuchten Komplexen (1) und (2), die berechnete λ_o -Werte sind etwa -712cm^{-1} mit $E_{xz,yz}-E_0$ und $E_{xy}-E_0$ Werte zwischen 21500cm^{-1} und 15700cm^{-1} die der sp^2 -Hybridisierung der σ -Orbitalen des Ligands zu erklären sind.

Die berechnete Werte sind charakteristisch für planar tetragonale Komplexe, mit σ und π Bindung in "in plane" und Kovalentcharakter.² Im Gegenteil, die π Bindung "out of plane" hat mehr den ionischen Charakter. Die berechnete Werte sind aus der Tab. II zu entnehmen. Die Abb. I und II zeigen die ESR-Spektren beider Komplexen (1) und (2).

TAB. II. ESR berechnete spin-Hamiltonian Parameter

Komplex	$g_{ }$	g_{\perp}	$E_{xy} - E_0$	$E_{xz,yz} - E_0$	$A_{ } [G]$
(1)	2,225	2,045	21500	15700	171
(2)	2,262	2,046	21560	15680	173

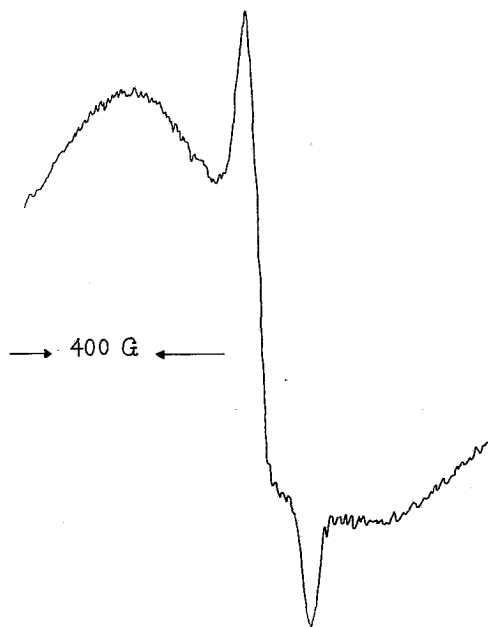


ABB. I ESR-Spekt. Komplex I

Experimenteller Teil

(1) (*o*-Phenyleno-diimino)dimalcylsäure

In abs. Aceton, wurden 0,01mol von *o*-Phenylendiamin und 0,02 mol. Maleinsäureanhydrid eingelöst. Das ganze wurde unter Rückflusskühler und unter rühren für 2 Stdn. erhitzt. Es wurde ein gelb-oranger Niederschlag ausgefällt,

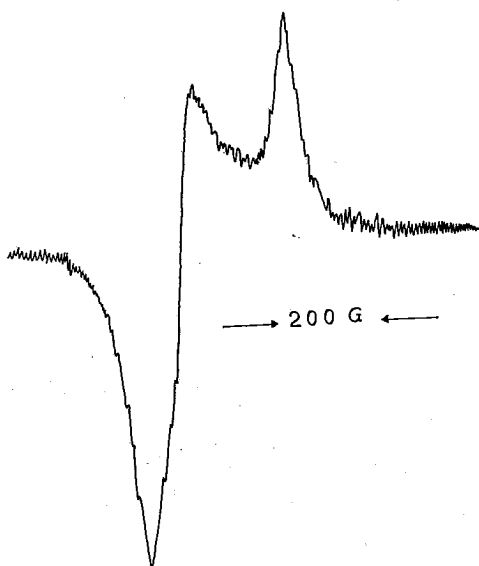


ABB. II: E.S.R.-Spekt. Komplex II

der nach abfiltrieren und abwaschen mit Aceton wurde getrocknet und zeigte einen Schmp. 182°C. Ausbeute > 95% (d. Th.)

Analyse: Ber. C 55,26 H 3,99 N 9,21
Gef. C 55,10 H 4,05 N 8,95

Mol. Gew. durch MS (m/e) 304

(2) *o*-Carboxy-maleinsäureanilid

In abs. Äther wurden 0,01mol von Athranilsäure und 0,02mol Maleinsäureanhydrid. Das ganze wurde unter Rückflusskühler und Rühren 1 std. erhitzt. Es wurde ein gelber Niederschlag ausgefällt, der nach Abfiltrieren und guten Abwaschen mit warmen Äthanol wurde getrocknet. Schmp. 185°C. Ausbeute > 95% (d.Th.)

Analyse: Ber. C 26,94 H 1,83 N 2,85
Gef. C 26,60 H 2,00 N 3,05

Mol. Gew. durch MS(m/e)

3) *Cu*[Bis-(*o*-phenylenodiimino)maleylat] - Komplex (1)

In 50ml abs. Dioxan wurden 0,02mol von *o*-Phenyl-di-maleino-anilsäure und 0,01mol von $\text{Cu}(\text{OH})_2$ suspendiert. Das ganze wurde unter Rückflusskühler und kräftigen Rühren für 48 Stdn. erhitzt. Es wurde ein blaugrünes Pulver ausgefällt das nach gutem Abwaschen mit Äthanol und Trocknen zeigte einen Schmp. (Zersetzung) von 200°C. Ausbeute 92% (d. Th.)

Analyse: Ber. C 25,09 H 1,64 N 4,18 Cu 9,49
Gef. C 25,32 H 1,60 N 4,00 Cu 9,50

4) Cu-[Bis-(*o*-phenyloearboxyimino)maleylat] - Komplex (2)

Herstellung Analog der Methode (3). Smaragdgrünes Pulver. Schmp. > 235°C (Zersetzung). Ausbeute 96% (d. Th.)

Analyse: Ber. C 13,20 H 1,10 N 1,40 Cu 6,35

Gef. C 13,20 H 0,95 N 1,15 Cu 6,42

Das Cu(OH)₂ wurde nach bekannte Methode hergestellt.⁸ Für die ESR-Spektrenaufnahme wurde ein E-4 Apparat der Firma Varian und für die IR-Spektrenaufnahme ein Apparat der Firma Perkin-Elmer Model 521 benützt.

Diese Arbeit wurde von der National Hellenique Research Fonds (N.H.R.F.) unterstützt. Für die Durchführung der Elementaranalysen danken wir Herrn Dr. Ch. Mantzos, ebenfalls von N.H.R.F. Für die Durchführung der Cu-Analysen und der IR-Aufnahmen, danken wir Herrn Dr. A. Souliotis und Frä. V. Georgogala, der analytischen Abteilung von Nuclearforschungszentrum "DEMOKRITOS".

Abstract

Synthesis and IR, ESR spectrometric studies of Cu(II) complexes with maleic acid analogous.

O-(phenylenediimine)dimaloylic acid and o-carboxymaleic anilide react, as bivalent ligands, with Cu(OH)₂ to form complex compounds. The latter ones show ESR-signals resulting from the 3d⁹ electronic configuration of Cu(II). From the IR and ESR spectra is detected that these complex compounds possess a plane configuration.

Keywords: Copper complexes, maleoylic acid analogous.

Περίληψις

Παροασκενή, IR και ESR μελέτη συμπλόκων χαλκού, με ανάλογα του μηλεϊνικού όξέος.

(ο-φαινυλενο-διϊμινο)διμηλεϋλικόν ὄξυ καὶ ο-καρβοξυ-μηλεϊνικόν ἀνιλιδιον, ἀντιδρῶν μετὰ Cu(OH)₂ ὡς δισχιδεῖς δεσμευταί, σχηματίζοντα συμπλόκους ἐνώσει. Αἱ ἐνώσει αὐταὶ δεικνύουν ESR σήματα ἐκπηγάζοντα ἐκ τῆς 3d⁹ ἠλεκτρονιακῆς διατάξεως. Βάσει τῶν IR καὶ ESR φασμάτων, δυνάμεθα νὰ θεωρήσωμεν ὅτι τὰ συμπλόκα ταῦτα σχηματίζουν μίαν ἐπίπεδον διάταξιν.

Literaturangabe

1. Maki A.M., Garvey B.R.; *J. Chem. Phys.* **29** 31(1958) *ibid.* **29**, 35(1958)
2. Sugiura Y., Mirayama Y., Tanaka M., Ishizu K.; *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 5577(1975)
- 3 a. Nakamoto K., McCarthy P.J., Miniato B., *Spectrochim. Acta* **21**, 359(1965)
b. Nakamoto K.: *Infrared spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. J. Wiley, New York 1963
c. Nester R.E., Plane R.A.; *Inorg. Chem.* **3**, 513(1964)
4. Ferraro J.R.: *Low-Frequency Vibrations of Inorganic and Coordination Compounds*. Plenum Press, New York (1971)
5. Bolton J.R., Wertz J.E.: *Electron Spin Resonance Measurements*, McCraw Hill (1971)
- 6 a. Blumenfeld L.A., Wojewodski W.W., Semjonow A.G.: *Die Anwendung der PER in der Chemie*. AVG Geest-Portig, 5.85 Leipzig (1966)
b. Schäfer M.L., Gilemann G.: *Basic Principles of Ligand Field Theory* p. 93. Wiley Interscience, London (1969)
7. *Beilstein* **12**, 305, I, 211
8. Vanino L.: *Handbuch der Präparativen Chemie*. S. 505 Ferdinand Encke Stuttgart (1925)

Short Papers

Chimika Chronika, New Series, 7, 91—93 (1978)

ON THE *IN VIVO* BIOSYNTHESIS OF GLYCERYL ETHERS BY *TETRAHYMENA PYRIFORMIS**

VASSILIOS M. KAPOULAS and CHRISTINE GABRIELIDES**

Department of Food Chemistry, National University of Athens, Athens, Greece

(Received July 1, 1977)

Tetrahymena pyriformis possesses a potent system of glyceryl ether biosynthesis, since over 20% of its structural phospholipids consist of glyceryl ether derivatives,¹ i.e. 0-alkyl fatty chains constitute approx. 3-5% of the total aliphatic chain content of the cells. Early observations² indicated that [¹⁴C]-palmitate (or-acetate) fed to living *Tetrahymena* cells is incorporated into glyceryl ethers to the extent of their normal levels and, on this basis, Thompson and Kapoulas³ suggested this route as a useful biological method for the preparation of radioactive chimyl alcohol.

Although cetyl alcohol serves as the immediate precursor of chimyl alcohol in *Tetrahymena*,⁴ Stoffel *et al.*⁵ reported that in a long-term experiment with [1-¹⁴C] cetyl alcohol added to the growth medium of the culture, the amount of radioactivity incorporated into chimyl alcohol accounted for only 8% of the substrate taken up by the cells. The total uptake of 71% reported in this experiment indicates a very low rate of uptake which, according to our experience, in some cases is highly increased by feeding a substrate in inorganic medium. In spite of the fact that fatty acid-fatty alcohol interconversion is known to occur in *Tetrahymena* by a potent dehydrogenase system,^{4,5} it appeared worthwhile to compare the relative rates of glyceryl ether biosynthesis by *Tetrahymena in vivo* from [1-¹⁴C] palmitate or/and [1-¹⁴C] cetyl alcohol as substrate.

[1-¹⁴C] palmitic acid (55.2 mCi/mmmole) and 1-¹⁴C cetyl alcohol (11.4 mCi/mmmole) were purchased from The Radiochemical Centre, Amersham England. *Tetrahymena pyriformis*, strain WH-14 was a generous gift from G.A. Thompson, Jr., Department of Botany, University of Texas at Austin, U.S.A. (As a result of comparative studies⁶ of this strain, previously designated by us⁴ as strain E and strains from other laboratories, Dr. Dennis Borden has suggested that WH-14 is a more appropriate classification). Other materials and methods were previously described.^{1,3,4}

*Part of this work was taken from the doctoral dissertation of Christine Gabrielides, School of Natural Sciences (Chemistry Section), University of Athens, Athens Greece.

** Present address: The Rockefeller University, 1230 York Ave, New York, N.Y. 10021, U.S.A.

The identity of [^{14}C] fatty alcohols and [^{14}C] chimyl alcohol formed by LiAlH_4 reduction of *Tetrahymena's* lipids isolated after feeding the cells with the radioactive precursors, as described below, was proven by autoradiography on thin-layer chromatograms and by their radioactivity profiles, using a Packard Model 7201 radiochromatogram scanner. In addition, the identity of [^{14}C] chimyl alcohol, being the sole glyceryl ether formed, was proven by mixing with cold chimyl alcohol, conversion to isopropylidene-derivative, preparative gas-liquid chromatography on a Varian chromatograph (model 3700) with thermal conductivity detector and comparison of the specific radioactivity of the product collected at the time of elution of the chimyl alcohol derivative to that of the original sample, prior to injection.

Up to 90-95% of [^{14}C]-palmitic acid ($1\ \mu\text{Ci}$) added to the growth medium of *Tetrahymena* cultures (age: 42 hrs) is taken up by the cells within 5-10 min. The absorbed palmitate is immediately incorporated into the phospholipids and triglycerides to an extent of 75-80% and 15-16% respectively. Thereafter, the distribution of radioactivity in the lipids remains largely unchanged.

The products of LiAlH_4 reduction of the total lipids extracted 15 or 60 min. after the administration of the substrate give on TLC-plates two main radioactive spots, one moving at an R_f identical to fatty alcohol and the second, containing 3-5% of the radioactivity, moving together with an authentic sample of chimyl alcohol.

Fractionation of these products on a silicic acid column yielded almost pure fatty alcohol and glyceryl ether fractions, whose identity was proven as described above.

When the [^{14}C] palmitic acid is fed to cells, harvested by centrifugation at 300 xg (5 min) and resuspended in an equal volume of inorganic medium,⁷ a slightly higher yield of radioactive glyceryl ethers results, i.e. approx. 6% of the total lipid-bound radioactivity is found in the glyceryl ether fraction.

In contrast, as shown in Table 1, [^{14}C] cetyl alcohol ($1\ \mu\text{Ci}$) fed to *Tetrahymena* cells in inorganic medium is incorporated into the aliphatic chains of glyceryl ethers to a much higher yield, namely 20-22% of total radioactivity of the products of LiAlH_4 reduction is recovered in the chimyl alcohol fraction by thin-layer and column chromatography. Furthermore, the data of Table 1 show that, after feeding the cells under the same conditions with a mixture of [^{14}C]-palmitate and [^{14}C] cetyl alcohol ($1\ \mu\text{Ci}$ each) the yield of radioactive glyceryl ether has an intermediate value. A similar effect is also observed with respect to the proportion of radioactivity incorporated into phospholipids and triglycerides, its ratio increasing in a parallel fashion to the increase of radioactive glyceryl ethers.

Finally, taking into account that the rate of uptake of cetyl alcohol by *Tetrahymena* was found only slightly lower than for the uptake of palmitate, the data presented in this report indicate that the proportion of the glyceryl ether lipids of *Tetrahymena* is largely regulated *in vivo* by a potent dehydrogenase system, interconverting effectively fatty acids and fatty alcohols during lipid biosynthesis under normal conditions. However, exogenous cetyl alcohol, is rapidly incorporated into the aliphatic chain of chimyl alcohol, prior to its oxidative equilibration with the normal proportion of palmitate. In other words, the glyceryl ether biosynthesizing system of *Tetrahymena* incorporates very rapidly, into glyceryl ethers any available cetyl alcohol. Therefore, in addition to the importance of these findings with respect to lipids' turnover and metabolism in living *Tetrahymena* cells, the data presented above provide a very useful and simple

biological method for the preparation of highly radioactive chimyl alcohol by feeding *Tetrahymena* with (radioactive) cetyl alcohol. The yield might be further improved by simultaneous injection of cold palmitate, which in optimal concentrations would decrease the rate of oxidation of the radioactive cetyl alcohol by the dehydrogenase system discussed.

TABLE 1: Percentages of total radioactivity incorporated into the lipids of *Tetrahymena*, after administration of radioactive palmitate and/or cetyl alcohol.

Radioactive Products	Substrate added to culture		
	[1- ¹⁴ C] palmitate	[1- ¹⁴ C] palmitate plus [1- ¹⁴ C] hexadecanol	[1- ¹⁴ C] hexadecanol
(a) Phospholipids	78%	85%	86%
(b) Triglycerides	16%	9%	5%
(c) Ratio (a)/(b)	4,9	9,5	17,2
(d) Chimyl alcohol (after LiAlH ₄ -reduction)	6%	13%	22%

Abstract

The proportion of glyceryl ether lipids of *Tetrahymena* is largely regulated *in vivo* by a potent dehydrogenase system, interconverting effectively fatty acids and fatty alcohols. As a result, 20-22% of exogenous cetyl alcohol, but only 3-6% of exogenous palmitate, are incorporated into the aliphatic chain of chimyl alcohol. An important application of these data is that they provide a very useful biological method for the preparation of highly radioactive chimyl alcohol.

Περίληψη

In vivo Βιοσύνθεση γλυκεριναιθέρων στην Τετραϊμένα

Τò ποσοστό τών γλυκεριναιθερικών λιποειδών τής Τετραϊμένης ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό από ένα δραστικό σύστημα αφυδρογονάσης, που άλληλομετατρέπει με μεγάλη επάρκεια τὰ λιπαρά όξέα και τες λιπαρές άλκοόλες. Σάν άποτέλεσμα, 20-22% έξωγενούς κετυλικής άλκοόλης, άλλά μόνον 3-6% έξωγενούς παλμιτικού όξέος ένσωματώνονται στην λιπαρή άλυσίδα τής χιμυλικής άλκοόλης. Μια ένδιαφέρουσα εφαρμογή τών εύρημάτων αυτών είναι ότι παρέχουν μια πολύ χρήσιμη βιολογική μέθοδο παρασκευής ραδιενεργού χιμυλικής άλκοόλης με μεγάλη ειδική ραδιενέργεια.

References and Notes

- 1 Kapoulas V.M., Thompson, G.A.T., Jr. and Hanahan, D.J.: *Biochim. Biophys. Acta*, **176**, 237 (1969)
- 2 Thompson, G.A.T., Jr.: *Biochemistry*, **6**, 2015 (1967)
- 3 Thompson G.A.T., Jr. and Kapoulas V.M.: In "Methods in Enzymology" (S.P. Colowick and N.O. Kaplan, editors), Vol. 14, pp. 668, Academic Press, New York, 1969.
- 4 Kapoulas V. M. and Thompson G.A.T., Jr.: *Biochim. Biophys. Acta*, **187**, 594 (1969)
- 5 Stoffel W., Bauer E. and Stahl J.: *Hope Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **355**, 61 (1974)
- 6 Borden D., Whitt G.S. and Nanney D.L. = *J. Protozool.* **20**, 693 (1973)
- 7 Hamburger K. and Zeuthen E.: *Exptl. Cell Res.*, **13**, 443 (1957)