

• 研究论文 •

六、七元瓜环与苯二胺及硝基苯胺异构体相互作用的 HPLC 研究

董南^{a,b} 薛赛凤^{*,b} 陶朱^b 赵昱^a

(^a浙江大学药学院天然产物研究室 杭州 310058)

(^b贵州大学应用化学研究所 贵阳 550025)

摘要 利用 HPLC 法考察了六、七元瓜环(Q[6], Q[7])与邻苯二胺(g1)、间苯二胺(g2)、对苯二胺(g3)、邻硝基苯胺(g4)、间硝基苯胺(g5)、对硝基苯胺(g6)的相互作用. 实验结果表明: Q[6]可与客体 g1~g3, g5 形成 1:1 的包结配合物; Q[7]与客体 g1~g6 形成 1:1 包结配合物, 同时计算了包结配合物的包结稳定常数, 探讨了主-客体的相互作用模式, 并利用 ¹H NMR、紫外吸收光谱法进行了佐证.

关键词 HPLC; 紫外吸收光谱; ¹H NMR; 瓜环; 包结稳定常数

HPLC Study on Interaction of Cucurbit(*n*)uril (*n*=6,7) with Phenylenediamine and Nitroaniline Isomers

DONG, Nan^{a,b} XUE, Sai-Feng^{*,b} TAO, Zhu^b ZHAO, Yu^a

(^aInstitute of Natural Product, College of Pharmacy, Zhejiang University, Hangzhou 310058)

(^bInstitute of Applied Chemistry, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract Interaction of cucurbit(*n*)uril (*n*=6,7) with aniline and its derivatives was studied by using high performance liquid chromatography (HPLC). The guests are *o*-phenylenediamine (g1), *m*-phenylenediamine (g2), *p*-phenylenediamine (g3), *o*-nitroaniline (g4), *m*-nitroaniline (g5) and *p*-nitroaniline (g6). The experimental results revealed that Q[6] bound only g1~g3 and g5 respectively to form the inclusion complex in a ratio of 1:1; while Q[7] was observed to form a 1:1 host-guest product with guests g1~g6 respectively. The stability constants and ratio of host:guest were determined. And the interaction model of the inclusion complexes was proposed, which were further confirmed by UV absorption spectroscopy and ¹H NMR technique.

Keywords HPLC; UV absorption spectroscopy; ¹H NMR; cucurbit(*n*)uril; stability constant

瓜环以其具有疏水的空腔和亲水的端口, 可以在溶液中选择性结合多种有机、无机及生物分子形成主-客体包结配合物或自组装超分子实体. 因此, 与冠醚、环糊精等主体大环化合物一样, 瓜环作为一类有发展前途的新型主体大环化合物, 在分子识别、分离提纯等诸多领域有广泛的应用前景^[1,2]. 瓜环与客体分子相互作用的研究方法有 NMR 技术^[3,4], 紫外吸收光谱法^[5,6], 荧光光谱法^[7,8], 电导法^[9], 热分析法^[10], 单晶 X 射线衍射分析法^[11,12],

ITC^[13], ESI-MS^[14], X 射线粉末衍射分析法^[15], 量化学计算^[16]等, 但较少见有 HPLC 研究方法的报道^[17,18]. 本文尝试利用 HPLC 法考察了六、七元瓜环与芳环化合物邻、间、对位苯二胺, 邻、间、对位硝基苯胺的相互作用, 测定了包结配合物的包结比, 计算了包结稳定常数, 探讨了主-客体的相互作用模式. 实验结果得到了 ¹H NMR、紫外吸收光谱方法的佐证. 瓜环与客体的结构如下:

* E-mail: gzutao@263.net

Received November 10, 2006; revised December 20, 2006; accepted February 1, 2007.

科技部国际科技合作重点项目(No. 2003DF000030)、贵州省省长基金(黔省专合字[2005]15, 黔省专合字[2005]369)、贵州省国际科技合作重点项目(黔科合国字[2005]400101)和贵州省教育厅自然科学研究(黔教科[2002]103)资助项目.

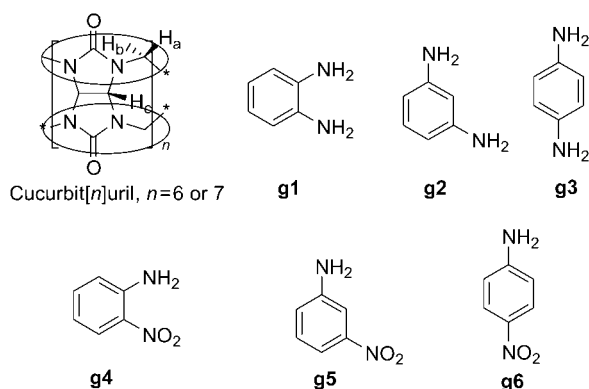


图1 瓜环与客体分子 g1~g6 的结构

Figure 1 Structures of cucurbiturils and guests g1~g6

1 实验部分

1.1 主要试剂

六、七元瓜环(Q[6], Q[7])均为贵州大学应用化学研究所自制,经EURO EA-3000元素分析仪检测, Q[6] ($C_{36}H_{36}N_{24}O_{12} \cdot H_2O$)的元素分析结果,计算值: N 33.14%, C 42.61%, H 3.748%;实验值: N 33.28%, C 42.93%, H 3.561%. Q[7] ($C_{42}H_{42}N_{28}O_{14} \cdot 1/2H_2O$)的元素分析结果,计算值: N 33.48%, C 43.04%, H 3.672%;实验值: N 33.94%, C 43.17%, H 3.592%. 客体邻苯二胺(g1),间苯二胺(g2),对苯二胺(g3)购自深圳迈瑞尔化学技术有限公司,纯度为98.0%,邻硝基苯胺(g4),间硝基苯胺(g5),对硝基苯胺(g6)购自北京化工厂,纯度为98.0%. 这些客体均制成盐酸盐的形式以增大在水中的溶解度. 甲醇为色谱纯,水为二次重蒸水,磷酸二氢钠为分析纯.

1.2 紫外吸收光谱的测定

采用摩尔比法即固定客体的浓度,改变Q[6,7]的浓度配制一系列不同物质的量之比的溶液,在室温下用安捷伦PH8453型分光光度计测定上述溶液的紫外吸收光谱.

1.3 1H NMR 的测定

1H NMR 谱在 20 °C 下用 VARIAN INOVA-400 MHz 核磁共振仪测定,氘代水为溶剂.

1.4 HPLC 法测定

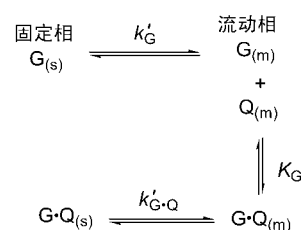
安捷伦 1100 型高效液相色谱仪;色谱条件 Hypersil ODS2 柱(4.6 mm×250 mm, 10 μm);检测波长 234 nm;流速 1 mL·min⁻¹;进样量 20 μL;流动相: 甲醇-0.005 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(25:75, V:V), 磷酸调 pH=3 和不同浓度的 Q[6,7]组成.

2 结果与讨论

2.1 Q[6]与客体 g1~g6 的相互作用

2.1.1 HPLC 法

瓜环虽拥有疏水性的内腔,可包结有机分子的非极性部分,但其表面分布着众多酰胺氮原子,而且其两端开口分别分布着与构成瓜环单体数目相同的羰基氧原子,可与亲水性物质、金属离子等相互作用^[19],因此作为反相色谱的流动相添加剂,可认为瓜环与固定相的作用很小或可忽略不计.对于在用瓜环作为流动相添加剂的反相高效液相色谱体系中,当客体分子仅与瓜环形成 1:1 包结配合物时,其平衡过程可描述如下:



其中 G 代表客体分子; k'_G , $k'_{G \cdot Q}$ 分别代表游离客体分子和它的瓜环包结物的容量因子; $[Q]_{(m)}$ 为瓜环添加剂在流动相中的浓度; K_G 代表客体分子与瓜环形成 1:1 包结配合物时的稳定常数.

$$K_G = \frac{[G \cdot Q]_{(m)}}{[G]_{(m)} \cdot [Q]_{(m)}} \quad (1)$$

在该体系中,表观容量因子 k' 可用公式(2)表示^[20]

$$k' = \frac{k'_G + k'_{G \cdot Q} \cdot K_G [Q]_{(m)}}{1 + K_G [Q]_{(m)}} \quad (2)$$

将公式(2)进行简单转换得公式(3)^[21]

$$k' = \frac{k'_G - k'}{K_G \cdot [Q]_{(m)}} + k'_{G \cdot Q} \quad (3)$$

其中 $[Q]_{(m)}$ 为实验参数, k' 可直接测得. 因此可通过表观容量因子 k' 和 $[Q]_{(m)}$ 之间的关系得到主客体包结配合物的包结稳定常数、包结比等,同时利用 $k'_{G \cdot Q}$ 值可对主客体间的相互作用模式进行探讨. 在相同的色谱条件下,不含瓜环的流动相体系中所测得客体的容量因子即为 k'_G . 固定客体的浓度为 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 改变流动相中 Q[6] 浓度,可观察到客体表观容量因子 k' 的变化,并测得各客体的表观容量因子 k' 随 Q[6] 浓度变化的关系曲线,如图 2 所示.

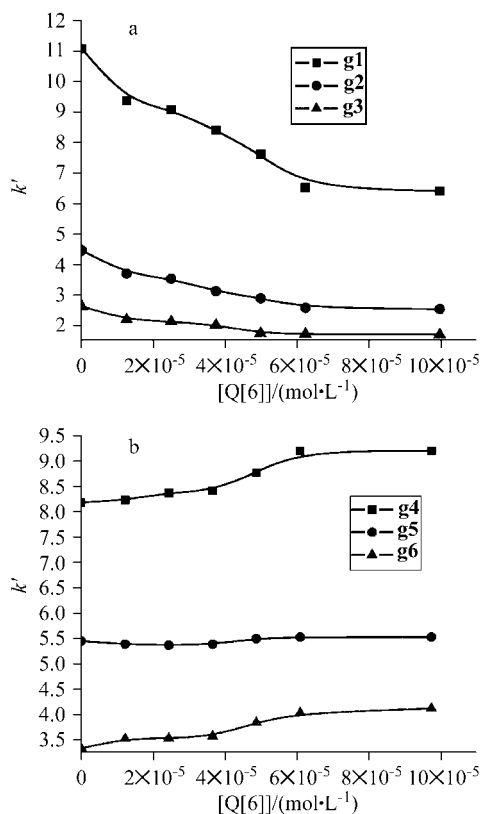


图2 客体 $g1\sim g3$ (a) 及 $g4\sim g6$ (b) 的 k' 与 $[Q[6]]$ 的关系曲线
Figure 2 The curves of k' vs. $[Q[6]]$ for $g1\sim g3$ (a) and $g4\sim g6$ (b) respectively

从图 2(a)可以看出, 客体 $g1\sim g3$ 的 k' 随 $Q[6]$ 浓度的增大而逐渐降低, 并逐渐趋于一致, 而图 2(b) 则展示出客体 $g4\sim g6$ 的 k' 却随 $Q[6]$ 浓度的增大而逐渐增大, 说明这两类客体与 $Q[6]$ 的作用模式可能是不相同的. 当 $Q[6]$ 与客体 $g1\sim g3$ 发生相互作用时, 客体的苯环部分可能进入了 $Q[6]$ 的空腔, 导致形成的包结配合物与固定相的作用力较游离客体减弱, 表观容量因子减小; 而 $Q[6]$ 与客体 $g4\sim g6$ 却可能是客体分子上的 NH_3^+ 与瓜环端口的偶极羰基氧发生相互作用, 导致主客体配合物的亲水性减弱, 与固定相的作用力较游离客体增强, 表观容量因子增大. 上述推测与 1H NMR 的研究结果是一致的.

根据公式(3), 瓜环与客体的包结稳定常数 K_G 可由 k' 对 $k'_G - k'/[Q[n]]_{(m)}$ 线性回归的斜率 $1/K_G$ 计算出来, 其相应的 $k'_{G\cdot Q}$ 则由线性方程的截距求得(参见表 1).

由表 1 看出 $Q[6]$ 与客体 $g1\sim g3, g5$ 作用体系的 k' 与 $k'_G - k'/[Q[6]]_{(m)}$ 有较好的线性关系, 说明这些客体与 $Q[6]$ 形成了 1:1 的包结配合物, 而客体 $g4, g6$ 的 k' 与 $k'_G - k'/[Q[6]]_{(m)}$ 不呈线性关系, 这可能是由于客体 $g4, g6$ 与 $Q[6]$ 之间还存在其他作用方式, 从而不满足式(1)的要求.

若忽略客体分子完全进入瓜环空腔的包结配合物

表 1 $K_{G(Q[6])}$, $k'_{G\cdot Q(Q[6])}$ 及有关的数据

Table 1 $K_{G(Q[6])}$, $k'_{G\cdot Q(Q[6])}$ and related parameters

客体	相关系数 r	稳定常数 $K_G/$ ($L\cdot mol^{-1}$)	$k'_{G\cdot Q}$
邻苯二胺($g1$)	0.950	1.88×10^4	4.09
间苯二胺($g2$)	0.989	3.64×10^4	2.04
对苯二胺($g3$)	0.967	3.75×10^4	1.39
间硝基苯胺($g5$)	0.969	2.33×10^4	5.49

在反相固定相上的作用, 部分包结有机分子或仅发生端口作用的主客体配合物与固定相的作用则与该有机分子及其与瓜环相互作用所形成主客体配合物的结构有关^[22], 因此可通过 $k'_{G\cdot Q}$ 值大小来帮助了解主客体配合物与固定相的相互作用情况及其结构特征. 由表 1 可见, $Q[6]-g3$ 的 $k'_{G\cdot Q}$ 值较小, 说明该主客体配合物与反相固定相的作用力较小, 意味着客体 $g3$ 分子的苯环部分可能被 $Q[6]$ 空腔包结的程度较大. 为了进一步说明, 用客体 $g1\sim g3$ 及其与 $Q[6]$ 的主客体配合物在相同的实验条件下进样, 色谱图参见图 3.

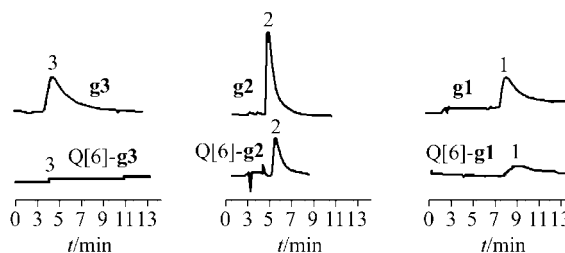


图3 游离客体分子 $g1\sim g3$ 及其与 $Q[6]$ 主客体配合物的色谱图

流动相: 甲醇-0.005 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠(25:75, V:V), pH=3

Figure 3 Chromatograms of the guests $g1\sim g3$ and corresponding inclusion complex with $Q[6]$

Mobile phase: methanol-0.005 mol·L⁻¹ NaH₂PO₄ (25:75, V:V), pH=3

由图可见, 客体 $g3$ 分子可能被 $Q[6]$ 完全包结, 其包结配合物的色谱图上几乎看不到色谱峰, 而 $g1, g2$ 分子则可能被 $Q[6]$ 部分包结, 其包结配合物的色谱峰比各自游离客体分子的色谱峰低, 这与前面的论述是一致的. 由此可推测, $Q[6]$ 与客体 $g1\sim g3$ 的作用模式是包结作用, 空腔疏水相互作用为主要驱动力, 不同的客体分子其被包结的程度是不相同的, $g1, g2$ 被部分包结, $g3$ 被完全包结, 而客体 $g5$ 却以端口作用模式与 $Q[6]$ 发生相互作用.

2.1.2 紫外吸收光谱法

采用摩尔比法考察了 $Q[6]$ 与客体 $g1\sim g6$ 的相互作用情况. 我们曾对 $Q[6]$ 与客体 $g1\sim g3$ 的相互作用进行了考察^[23], 紫外吸收光谱法研究结果表明, $Q[6]$ 与上述几个客

体都可形成包结比为 1 : 1 的包结配合物. 图 4 描述了客体 $g_4 \sim g_6$ 在最大吸收波长($\lambda_{225} \text{ nm}$, $\lambda_{225} \text{ nm}$, $\lambda_{382} \text{ nm}$)处, Q[6]与客体在不同物质的量之比时吸光度的变化规律.

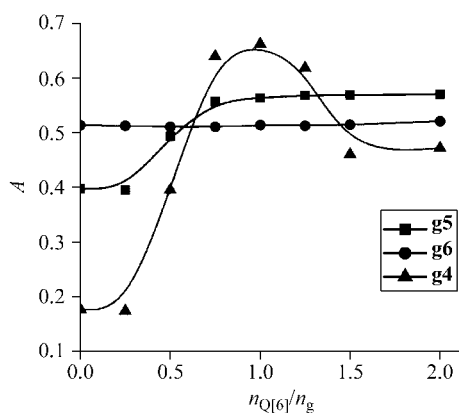


图 4 Q[6]与 $g_4 \sim g_6$ 作用体系的 $A \sim n_{Q[6]}/n_g$

Figure 4 $A \sim n_{Q[6]}/n_g$ curves for the systems of Q[6] with $g_4 \sim g_6$

图 4 显示出客体 g_6 在其最大吸收波长处, 主客体体系的 A 不随 $n_{Q[6]}/n_{g_6}$ 的改变而改变, 是平行于横轴的一条直线, 表明在此条件下, 用紫外吸收光谱法观察不到 Q[6]与 g_6 的相互作用. Q[6]与客体 g_4 的 $A \sim n_{Q[6]}/n_{g_4}$ 关系曲线形状较为复杂, 说明 g_4 与 Q[6]之间可能存在多种作用方式, 形成了多种形式的主客体包结配合物. 客体 g_5 的 $A \sim n_{Q[6]}/n_{g_5}$ 关系曲线在物质的量之比为 1 : 1 时开始出现平台, 表明 Q[6]与 g_5 可形成 1 : 1 主客体配合物. 从其体系吸光度的变化情况看, 随着 Q[6]物质的量的增加, 体系的吸光度也在升高并逐渐趋于一致, 说明 Q[6]与 g_5 发生的可能是端口作用, 瓜环端口氧原子上的孤对电子与客体 g_5 苯环上的 π 电子形成超共轭导致了体系的吸光度升高.

2.1.3 ^1H NMR 法

^1H NMR 表明, 在 pD 约为 5 的条件下, 与游离客体比较, Q[6]分别和客体 $g_1 \sim g_3$ 共存体系中苯环上的质子共振峰均向高场移动, 表明主客体间发生了包结作用^[23], 而与客体 $g_4 \sim g_6$ 共存体系的 ^1H NMR 谱图则观察不到明显的差异, 相应质子共振峰一般都略向低场移动, 推测这些客体与 Q[6]作用形式不是以包结为主而是以端口作用为主(参见图 5).

2.2 Q[7]与客体 $g_1 \sim g_6$ 的相互作用

2.2.1 HPLC 法

采用考察 Q[6]与各客体相互作用的方法, 以 Q[7]为流动相添加试剂, 改变流动相中 Q[7]的浓度, 可得到各客体的表观容量因子 k' 与 Q[7]浓度之间的关系曲线(参见图 6).

从图 6 可看出, 随着流动相中 Q[7]浓度的增加, 客

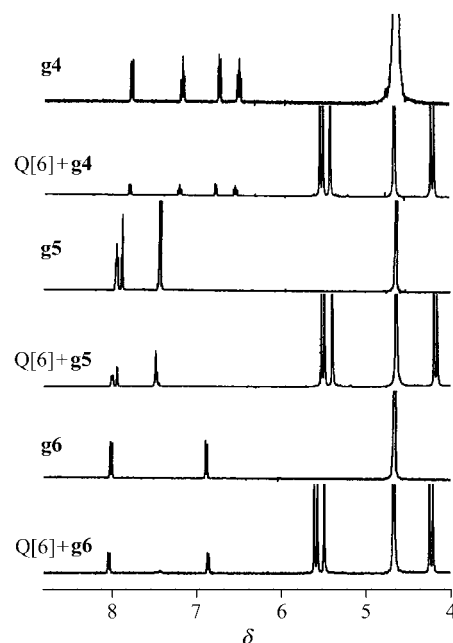


图 5 客体 $g_4 \sim g_6$ 与 Q[6]共存体系的 ^1H NMR 谱图

Figure 5 ^1H NMR spectra for the Q[6]- $g_4 \sim g_6$ systems respectively

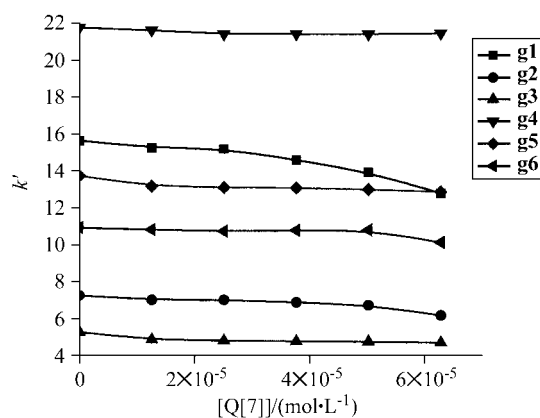


图 6 k' 与 [Q[7]]的关系曲线

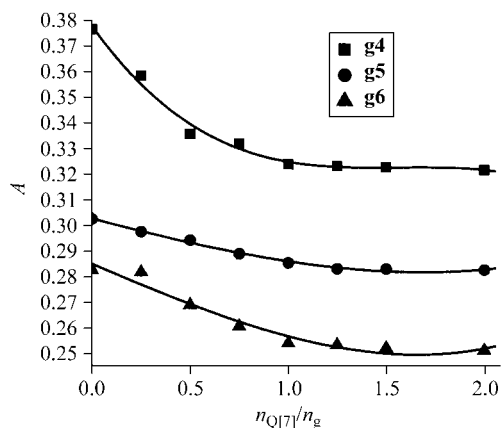
Figure 6 The curves of k' vs. [Q[7]] for guests

体分子的容量因子缓慢下降, 变化幅度比 Q[6]体系小. 这种客体 k' 的变化说明 Q[7]可与这些客体发生相互作用. 根据公式(3), 通过将 k' 对 $k'_G - k'/[Q[7]]_{(m)}$ 线性回归, 同理可计算出 Q[7]与客体的包结稳定常数 K_G 和其相应的 k'_{GQ} (参见表 2).

由表 2 可见客体 $g_1 \sim g_6$ 与 Q[7]作用体系的 k' 对 $k'_G - k'/[Q[7]]_{(m)}$ 均有良好的线性关系, 表明 $g_1 \sim g_6$ 与 Q[7]均可形成 1 : 1 的主客体配合物.

2.2.2 紫外吸收光谱法

采用摩尔比法, 考察了 Q[7]与客体 $g_1 \sim g_6$ 的相互作用情况. 在曾启华等^[23]的论文中已对客体 $g_1 \sim g_3$ 与 Q[7]的相互作用进行了详细的讨论, 紫外吸收光谱法显示 Q[7]与这几个客体的包结比都为 1 : 1. 图 7 描述了客

图7 Q[7]与g4~g6作用体系的A~n_{Q[7]/n_g}Figure 7 A~n_{Q[7]/n_g} curves for the Q[7]-g4~g6 systems表2 K_{G(Q[7])}, k'_{G·Q(Q[7])} 及有关的数据Table 2 K_{G(Q[7])}, k'_{G·Q(Q[7])} and related parameters

客体	相关系数 r	稳定常数 K _G / (L·mol ⁻¹)	k' _{G·Q}
邻苯二胺(g1)	0.982	9.80×10 ⁴	8.26
间苯二胺(g2)	0.985	1.35×10 ⁴	1.38
对苯二胺(g3)	0.987	2.18×10 ⁵	4.71
邻硝基苯胺(g4)	0.994	3.32×10 ⁴	5.45
间硝基苯胺(g5)	0.989	8.81×10 ⁴	4.06
对硝基苯胺(g6)	0.965	7.60×10 ⁴	4.08

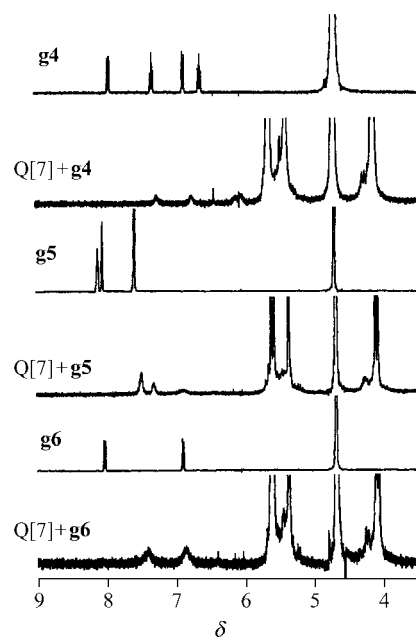
体 g4~g6 在最大吸收波长(λ_{225 nm}, λ_{225 nm}, λ_{382 nm})处, Q[7] 与客体在不同物质的量之比时吸光度的变化规律. 客体 g4~g6 的 A~n_{Q[7]/n_g} 关系曲线表明了三种客体均可与 Q[7] 形成 1:1 的包结配合物. 可计算客体 g4~g6 与 Q[7] 的包结稳定常数分别为 2.77×10⁵, 8.17×10⁴, 4.14×10⁵ L·mol⁻¹.

2.2.3 ¹H NMR 法

客体 g1~g3 与 Q[7] 相互作用的 ¹H NMR 在曾启华等^[23]的论文中已进行了详细的讨论. 图 8 展示了在 pD 约为 5 的条件下 Q[7] 与 g4~g6 客体共存体系的 ¹H NMR 谱图. 从谱图中可看出作用客体苯环质子峰均明显向高场有不同程度的移动, 表明客体的苯环部分进入 Q[7] 的空腔, 受到了瓜环内腔的屏蔽作用, 形成了包结配合物.

3 结论

综上所述, 结合 ¹H NMR, HPLC 和紫外吸收光谱的测试结果, 表明 Q[6] 可与客体 g1~g3, g5 形成 1:1 的主客体配合物; 而 Q[7] 因其空腔比 Q[6] 大, 与客体 g1~g6 均可形成 1:1 的主客体配合物. HPLC 法作为考察瓜环与客体相互作用的一种尝试, 具有直观、可靠的优点,

图8 客体g4~g6与Q[7]共存体系的¹H NMR谱图Figure 8 ¹H NMR spectra for the Q[7]-g4~g6 systems respectively

其研究结果与 ¹H NMR 技术, 紫外吸收光谱等方法的研究结果有较好的一致性, 并且能互相佐证, 特别是利用 k'_{GQ} 值及表观容量因子的变化研究主客体的相互作用模式有其特色. 当然我们的研究还只涉及比较简单的体系, 主客体仅以一种作用方式且以 1:1 作用比发生相互作用, 至于更复杂的作用体系还有待进一步的研究.

References

- Gerasko, O. A.; Samsonenko, D. G.; Fedin, V. P. *Russ. Chem. Rev.* **2002**, *71*, 741.
- Wheate, N. J. *Aust. J. Chem.* **2006**, *59*, 354.
- Ong, W.; Gomez-Kaifer, M.; Kaifer, A. E. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1791.
- Mohanty, J.; Bhasikuttan, A. C.; Nau, W. M.; Pal, H. *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 5132.
- Lagona, J.; Wugner, B. D.; Isaccs, L. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1181.
- Mori, T.; Ko, Y. H.; Kim, K.; Inoue, Y. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3232.
- Marquez, C.; Pischel, U. W.; Nau, W. M. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3911.
- Saleh, N.; Al-Rawashdeh, N. A. F. *J. Fluoresc.* **2006**, *16*, 487.
- Jeon, W. S.; Moon, K.; Park, S. Y.; Chun, H.; Ko, Y. H.; Lee, J. Y.; Lee, E. S.; Samal, S.; Selvaplam, N.; Rekharsky, M. V.; Sindelar, V.; Sobransigh, D.; Inoue, Y.; Kaifer, A. E.; Kim, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12984.
- Ma, P. H.; Dong, J.; Xiang, S. C.; Xue, S. F.; Zhu, Q. J.;

- Tao, Z.; Zhang, J. X.; Zhou, X. *Sci. China, Ser. B* **2004**, *47*, 301.
- 11 Tao, Z.; Zhang, G. Y.; Luo, X. Q.; Xue, S. F.; Zhu, Q. J.; Wei, Z. B.; Long, L. S. *Inorg. Chim. Acta* **2004**, *357*, 953.
- 12 Mitkina, T. V.; Sokolov, M. N.; Naumov, D. Y.; Kuratieva, N. V.; Gersko, O. A.; Fedin, V. P. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 6950.
- 13 Heitmann, L. M.; Taylar, A. B.; Hart, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12574.
- 14 Osaka, I.; Kondou, M.; Selvapalam, N.; Samal, S.; Kim, K.; Rekharsky, M. V.; Inoue, Y. *J. Mass Spectrom.* **2006**, *41*, 202.
- 15 Mainicheva, E. A.; Gerasko, O. A.; Sheludyalova, L. A.; Naumov, D. Y.; Naumova, M. I. *Russ. Chem. Bull.* **2006**, *55*, 267.
- 16 Buschmann, H. J.; Zielesny, A.; Sxhollrmeyer, E. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2006**, *54*, 181.
- 17 Tihamer, H.; Yoshio, O. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **1993**, *16*, 843.
- 18 Seidel, V.; Poglits, E. *J. Chromatogr.* **1993**, *635*, 227.
- 19 Freeman, W. A.; Mock, W. L.; Shin, N. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 7367.
- 20 Uekanma, K.; Hirayama, F.; Nasu, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, *26*, 3477.
- 21 Horvth, C.; Melander, W.; Melander, J. *J. Chromatogr.* **1980**, *26*, 371.
- 22 Sybilska, D.; Lipkowski, J.; Wojcikoxaki, J. *J. Chromatogr.* **1982**, *253*, 95.
- 23 Zeng, Q. H.; Zhu, Q. J.; Xue, S. F.; Mu, L.; Tao, Z. *Acta Chim. Sinica* **2006**, *64*, 2101 (in Chinese).
(曾启华, 祝黔江, 薛赛凤, 牟兰, 陶朱, 化学学报, **2006**, *64*, 2101.)

(A0611107 CHENG, B.; ZHENG, G. C.)