

UNIVERSITE DU QUEBEC

MEMOIRE

PRESENTE A

L'UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAITRISE ES SCIENCES (PHYSIQUE)

PAR

HUBERT ROIGT, Licence ès Sciences, D.E.N.S.

PROCESSUS PHOTOPHYSIQUES DE LA COLCHICINE

Décembre 72

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

PROCESSUS PHOTOPHYSIQUES DE LA COLCHICINE

RESUME

La colchicine trouve son plus grand intérêt dans son action antimitotique, c'est à dire dans son pouvoir de stopper la division cellulaire.

Son étude cadrait donc avec la recherche entreprise dans notre laboratoire, à savoir l'étude de l'effet des polluants sur l'appareil photosynthétique (étude in vitro de la chlorophylle sous forme de monocouches)

Or des études antérieures ont prouvé que certains produits cancérigènes agissent à l'état excité et des hypothèses ont même été formulées concernant la possibilité d'une "réaction photochimique sombre".

C'est dans cette optique qu'ont été entreprises les recherches sur les processus photophysiques de la molécule et sur sa photochimie.

Le but a été évidemment atteint, et à l'heure actuelle, le diagramme de Jablonski pour la colchicine a été établi, comportant les paramètres les plus importants en ce qui concerne les premiers états excités. En ce qui a trait à la détermination des niveaux excités supérieurs, la technique de photolyse éclair a été envisagée.

Une découverte importante découle de ce travail: alors que beaucoup d'auteurs affirmaient que la colchicine irradiée perdait son activité à cause d'une photoisomérisation, nous sommes en mesure aujourd'hui de prétendre qu'il n'en est rien et que l'inactivité en lumière U.V. est due principalement au fait que c'est à l'état excité, singulet ou triplet, que la molécule devient inactive, perdant son excès d'énergie principalement par le processus de phosphorescence.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements les plus vifs vont à l'administration, aux professeurs, aux techniciens et aux étudiants du CEGEP de Trois-Rivières, pour l'aide et la compréhension dont ils ont fait preuve tout au long de la scolarité de maîtrise.

Au Docteur R.M. Leblanc, j'adresse ma plus profonde gratitude pour la confiance inébranlable qu'il a su me porter.

Je suis également très reconnaissant à la Compagnie Westinghouse de Trois-Rivières, qui a pu me fournir régulièrement l'azote liquide nécessaire à ma recherche.

Enfin à mon épouse Lisette et à ma fille Delphine, merci du fond du coeur pour le calme et la patience dont elles ont su m'entourer.

TABLE DES MATIERES

Liste des figures	vii
Liste des tableaux	viii
Liste des graphiques	x
PREFACE	xii
<u>Chapitre premier : PRESENTATION DE LA COLCHICINE</u>	
1.1 Constitution chimique	3
1.2 Historique	5
1.3 Molécules de la même famille	7
1.4 Principaux résultats antérieurs concernant la photodégradation	8
<u>Chapitre deuxième : METHODE EXPERIMENTALE</u>	
2.1 Système d'irradiation	11
2.2 Système à vide	15
2.3 Spectrophotomètre d'absorption	17
2.4 Spectrofluorimètre	18
2.5 Pureté des solvants et des produits	19
<u>Chapitre troisième : SPECTROSCOPIE U.V. ET VISIBLE</u>	
3.1 Généralités	24
3.1.1 Notion de force d'oscillation	24
3.1.2 Classification des spectres	28
3.1.3 Transitions électroniques dans les molécules	30
3.1.4 Principe de Franck-Condon	35
3.1.5 Loi de Lambert-Beer	37

3.2 Effet de solvant	39
3.2.1 Spectre d'absorption dans l'eau	39
3.2.2 Absorption dans différents solvants	40
3.2.3 Calcul des coefficients d'extinction moléculaire	40
3.3 Conclusion	45

Chapitre quatrième : PHOTOLYSE

4.1 Généralités	48
4.1.1 Historique de la photochimie	48
4.1.2 Réaction photochimique	49
4.1.3 Lois photochimiques	51
4.1.4 Rendement quantique	51
4.1.5 Rendements photochimiques primaires	53
4.1.6 Désexcitation d'une molécule	53
4.1.7 Orbitales électroniques	53
4.1.8 Exemple du formaldéhyde HCHO	57
4.2 Actinométrie	58
4.2.1 Généralités	58
4.2.2 Ferrioxalate de potassium	58
4.2.3 Préparation du ferrioxalate de potassium .006M	61
4.3 Calibration du spectrophotomètre	62
4.4 Irradiation de l'actinomètre	66
4.5 Détermination de l'intensité incidente de la lampe	68
4.6 Photodégradation de la colchicine	70
4.7 Rendement quantique de dégradation de la colchicine	73
4.8 Effet de solvant	78
4.8.1 Correction du rendement quantique	78
4.8.2 Evolution du rendement dans les chlorométhanes	80

4.8.3	Evolution du rendement dans les solvants hydroxylés	82
4.8.4	Autres solvants	84
4.8.5	Discussion et interprétation de l'effet du solvant	84
4.9	Effet d'intensité	99
4.10	Effet de concentration	101

Chapitre cinquième : LUMINESCENCE

5.1	Généralités	104
5.1.1	Durée de vie des états excités	104
5.1.2	Désexcitation non radiative	104
5.1.3	Fluorescence	107
5.1.4	Phosphorescence	110
5.1.5	Couplage spin-orbite	110
5.1.6	Rendements de luminescence	111
5.1.7	Interaction coulombienne de Dexter-Förster	113
5.2	Standards de fluorescence	115
5.2.1	Mise au point sur les résultats antérieurs	115
5.2.2	Préparation des solutions	115
5.2.3	Absorption des solutions	116
5.2.4	Détermination de la sensibilité relative des phototubes	118
5.2.5	Spectres d'émission	124
5.2.6	Correction des spectres	124
5.2.7	Calcul des rendements relatifs de fluorescence	125
5.2.8	Comparaison des résultats avec ceux de la littérature	128
5.3	Caractérisation de la luminescence	131
5.3.1	Essai sur la fluorescence	131

5.3.2	Détection de la phosphorescence	132
5.3.3	Effet d'atome lourd	135
5.3.4	Polarisation de la luminescence	135
5.3.5	Mesure du temps de vie de l'état excité	139
5.4	Standards de phosphorescence	142
5.5	Calcul du rendement d ^q _{phosphorescence}	144

Chapitre sixième : DIAGRAMME DE JABLONSKI

6.1	Composantes issues directement de l'expérience . . .	170
6.2	Composantes calculées théoriquement	172
	CONCLUSION	175
	ANNEXE	178
	BIBLIOGRAPHIE	179

LISTE DES FIGURES

1	Numérotation des carbones dans la molécule	3
2	Système d'irradiation	12
3	Disposition des cellules dans le bloc d'irradiation . .	14
4	Système de dégazage	16
5	Formation des orbitales moléculaires	24
6	Orbitales moléculaires et transitions électroniques . .	31
7	Représentation des transitions $n\pi^*$ et $\pi\pi^*$ dans le groupement carbonyle	33
8	Transitions verticales dans une molécule diatomique . .	35
9	Photoisomérisation d'un α -méthyl éther tropolone	70
10	Photoisomérisation de la colchicine	71
11	Photodimérisation de la lumicolchicine	72
12	Mécanisme radicalaire de la dimérisation	72
13	Conversion interne et désexcitation non radiative	106
14	Prédissociation	106
15	Absorption, fluorescence, phosphorescence	108
16	Symétrie entre l'absorption et l'émission: exemple du naphthalène	109
17	Représentation des plans de la lumière incidente et de luminescence	137
18	Diagramme de Jablonski	173

LISTE DES TABLEAUX

1	Formule de la colchicine et de ses dérivés	7
2	Répartition de l'intensité dans le bloc d'irradiation .	13
3	Caractéristiques du spectrophotomètre Unicam SP 1800 . .	17
4	Caractéristiques du spectrofluorimètre Perkin-Elmer MPF 2A	18
5	Caractéristiques des solvants utilisés	21
6	Principaux types de spectres	29
7	Variation du coefficient d'absorption avec la conjugaison	32
8	Variation de la force de l'oscillateur dans les polyènes	32
9	Effet de solvant sur la transition $n\pi^*$ de l'acétone . .	34
10	Caractérisation d'une bande $n\pi^*$	35
11	Spectre d'absorption de la colchicine dans différents solvants	41
12	Calcul du coefficient d'extinction moléculaire par la méthode des moindres carrés	44
13	Equivalence longueur d'onde, unités énergétiques	50
14	Désexcitation d'une molécule	53
15	Processus photochimiques primaires et secondaires	54
16	Rendements quantiques d'apparition de Fe^{++} dans $K_3Fe(C_2O_4)_3$ en fonction de la longueur d'onde d'irradiation	59
17	Distribution énergétique des lampes au mercure	60
18	Calibration des spectrophotomètres	63
19	Etude de la saturation de l'actinomètre en fonction du temps	66
20	Dégradation de la colchicine en fonction du temps	74
21	Variation du rendement de photodégradation dans les chlorométhanés	80
22	Variation du rendement de photodégradation dans les solvants hydroxylés	82

23	Moment dipolaire des molécules	85
24	Constante diélectrique des liquides	86
25	Viscosité des solvants	87
26	Polarisabilité de CCl_4 et de C_6H_6	95
27	Variation du rendement de photodégradation en fonction de l'intensité	100
28	Variation du rendement de photodégradation dans iPrOH en fonction de la concentration	101
29	Préparation des standards de fluorescence	116
30	Densité optique des standards de fluorescence	117
31	Courbe de réponse spectrale relative des phototubes HTV	119
32	Sensibilité du R106	120
33	Sensibilité du R136	121
34	Aires sous les courbes des standards de fluorescence	129
35	Rendements de fluorescence	129
36	Résultats comparés à ceux publiés	130
37	Effet de la polarité du solvant sur les maxima de phosphorescence	132

LISTE DES GRAPHIQUES

1	Spectre d'absorption de la colchicine dans différents solvants	42
2	Calcul du coefficient d'extinction du ferrioxalate dans le cas du Coleman 124	64
3	Calcul du coefficient d'extinction du ferrioxalate dans le cas du SP 1800	65
4	Dégradation du ferrioxalate en fonction du temps	67
5	Dégradation de la colchicine en fonction du temps: spectres d'absorption	75
6	Dégradation de la colchicine en fonction du temps	76
7	Décroissance de la densité optique en fonction du temps: cas des solvants chlorés	81
8	Décroissance de la densité optique en fonction du temps: cas des solvants hydroxylés	83
9	Variation de ϕ en fonction de la constante diélectrique: cas des solvants chlorés	88
10	Variation de ϕ en fonction de la constante diélectrique: cas des solvants hydroxylés	89
11	Variation de ϕ en fonction du moment dipolaire: cas des solvants chlorés	90
12	Variation de ϕ en fonction du moment dipolaire: cas des solvants hydroxylés	91
13	Variation de ϕ avec la viscosité :cas des solvants chlorés	97
14	Variation de ϕ avec la viscosité :cas des solvants hydroxylés	98
15	Sensibilité relative du phototube HTV R 106: abscisses en nm	122
16	Sensibilité relative du phototube HTV R 106: abscisses en cm^{-1}	123
17	Réponse du phototube HTV R 136	126
18	Réponse du phototube HTV R 106	127

19	Phosphorescence de la colchicine	133
20	Absorption et émission de la colchicine	134
21	Polarisation de la phosphorescence	138
22	Calcul de la constante de vitesse de phosphorescence . .	141
23	Standards de phosphorescence	143
24	Phosphorescence de l'acétophénone (excit:260nm)	146
25	" la benzophénone "	147
26	" du biphenyle "	148
27	" l'acétophénone (excit:270nm)	149
28	" la benzophénone "	150
29	" du biphenyle "	151
30	" de l'acétophénone (excit:280nm)	152
31	" la benzophénone "	153
32	" du biphenyle " S=2	154
33	" " " S=3	155
34	" de l'acétophénone (excit:290nm)	156
35	" la benzophénone "	157
36	" du biphenyle "	158
37	" de la colchicine (excit:260,270,280nm) . .	159
38	" " (excit:290nm)	160
39	" l'acétophénone (excit:320nm)	161
40	" la benzophénone "	162
41	" " (excit:352nm)	163
42	" la colchicine (excit:320nm)	164
43	" " (excit:352nm)	165

(Les valeurs de S correspondent à l'échelle de sensibilité du spectrofluorimètre)

PREFACE

Lorsque le groupe de recherche en biophysique de l'Université du Québec à Trois-Rivières, décida de se pencher sur l'étude de l'action de la colchicine sur la cellule, afin d'élaborer un modèle *in vitro* du comportement des polluants sur l'appareil photosynthétique, l'aspect photochimique et photophysique du problème échut au laboratoire du Dr R.M. Leblanc.

Seul dans le groupe, le Docteur Mario Fragata, professeur de Physiologie Végétale et Cellulaire, avait antérieurement pris contact avec cette substance, et les séminaires qu'il donna alors suscitèrent un grand intérêt. (1,2)

L'étude bibliographique achevée, fin 69, nous permit de constater que le bilan des résultats photochimiques était bien mince, et le travail le plus intéressant dans ce domaine restait encore celui de Gruwe et Wulf qui en 1951, isolèrent et caractérisèrent les lumicolchicines après avoir exposé une solution de colchicine durant quelques semaines aux rayons de soleil. (3)

Une chaude alerte pourtant en 1970, lorsque le groupe d'Inoué de l'Université de Pennsylvanie publia un article sur la réversibilité de l'action de la colcémide (N-méthyl N-déacétyl colchicine) par la lumière U.V. Pour la première fois un rendement quantique de dégradation était calculé. (4)

Cependant à première vue, ce travail ne semblait pas être à la base d'une édification photochimique beaucoup plus substantielle, mais il nous fallait quand même redoubler d'ardeur devant cette sonnerie d'alarme.

CHAPITRE PREMIER

PRESENTATION DE LA COLCHICINE

PRESENTATION DE LA COLCHICINE

Notre but n'est pas de reprendre ici tous les aspects concernant la synthèse, la biosynthèse et l'analyse de la colchicine et de ses dérivés. Nous allons donc broser un tableau très succinct des propriétés chimiques et physiques de la molécule et aussi passer en revue rapidement les principaux résultats antérieurs concernant la photodégradation de la colchicine.

Cette partie constituera donc le tremplin nécessaire à notre étude sur la photophysique et la photochimie.

1.1 Constitution chimique

Formule brute: $C_{22} H_{25} NO_6$

Masse moléculaire: 399.43 g.

Composition centésimale: 66.15% C, 6.31% H, 3.51% N, 24.03% O

Aspect: poudre jaune pâle brunissant à la lumière

Point de fusion: entre 143 et 147° C.

Solubilité: 1 g/22 ml H_2O , 220 ml éther, 100 ml benzène,

peu soluble dans les solvants non polaires tels CCl_4 ,

soluble dans tous les alcools.

pH d'une solution .5%: 5.9 (5)

Formule développée: La molécule se compose de trois cycles:

- benzénique
- cycloheptane
- cycloheptatriénone (tropolone)

Les étapes de la découverte de sa structure s'échelonnent entre les années 45 et 52. (6,7,8,9,10,11)

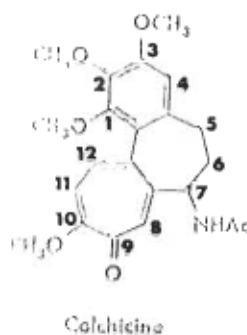


Fig.-1 -Numérotation des carbones dans la molécule

Numérotation des carbones: Elle est basée sur celle du benzo [a]

heptalène (12). Voir figure 1.

Longueurs et angles des liaisons: par construction d'un modèle de la molécule avec les "Dreiding Stereomodels de Fisher" on obtient les valeurs suivantes:

cycle A: $1.39 \overset{\circ}{\text{A}}$ et 120°
cycle B: $1.54 \overset{\circ}{\text{A}}$ et $109^\circ 28'$
cycle C: $1.33 - 1.53 \overset{\circ}{\text{A}}$
 $\text{> C} = \text{O}$: $1.24 \overset{\circ}{\text{A}}$
 $\text{-C} - \text{N}$: $1.44 \overset{\circ}{\text{A}}$

Le modèle obtenu reflète bien la réalité puisque les mesures concordent bien avec les calculs basés sur le tropolone. (13)

Synthèse de la colchicine: Une fois la structure de la colchicine établie, les chercheurs ont réussi à la synthétiser en utilisant différentes voies. (14, 15, 16, 17, 18, 19)

Biosynthèse: en parallèle avec la synthèse, on réussit à obtenir la colchicine par biosynthèse. (20, 21, 22)

1.2 Historique

La colchicine est préparée à partir des graines de la *Colchicum Autumnale* (famille des colchiques) et elle tire son nom de la ville de Colchis en Asie Mineure. (23)

Bien que son utilisation comme poison fut déjà connue, la préparation à partir de la plante fut recommandée pour soigner les maux d'origine articulaire, par Alexandre de Tralles au 6e siècle.

Les pharmaciens byzantins appelaient cette plante *hermodactyl* (doigts d'Hermès) et elle fut aussi appelée *articulorum* (l'âme des articulations).

Elle fut utilisée pour la thérapie de la goutte aiguë par le Baron Anton von Störck en 1763 et sa spécificité pour ce symptôme résultat très tôt dans son incorporation dans un bon nombre de "mixturees contre la goutte" popularisées par les charlatans.

Benjamin Franklin lui-même, souffrant de la goutte, eut l'honneur d'introduire aux Etats-Unis la thérapie par le *colchicum*.

L'alcaloïde colchicine fut isolé en 1820 par Pelletier et Caventou. (24)

Personnellement cette plante m'était familière, puisque poussant au Maroc mon pays natal. Je me souviens des vieux indigènes qui utilisaient le bulbe pour se soigner, mais je ne pourrais dire quelle maladie... Nos parents nous recommandaient de ne point toucher à ces plantes qui pouvaient donner de graves inflammations sur la peau.

Aujourd'hui la colchicine n'est pratiquement plus utilisée en pharmacologie à cause de ses effets secondaires nocifs, sauf pour détecter spécifiquement la goutte aiguë.

D'ailleurs, les principaux laboratoires, tels Rougier Laboratoires Inc. ou bien Welcher et Co. Ltée (colchicine Houde), dénotent une baisse générale dans la consommation de ce produit. (25)

Pourtant si l'on en juge par les publications qui paraissent régulièrement, on peut affirmer que la colchicine et ses dérivés demeurent encore malgré tout, la substance antimitotique par excellence. Sur ce point précis, Ertel et Wallace (26) nous fournissent un excellent résumé des principaux travaux sur les effets ainsi que sur le mode d'action de la colchicine sur la cellule animale ou végétale.

1.3 Molécules de la même famille

Les alcaloïdes de la même famille que la colchicine sont tous caractérisés par un cycle tropolone, leur formule est indiquée dans le tableau

1. (27, 28, 29, 30, 31)

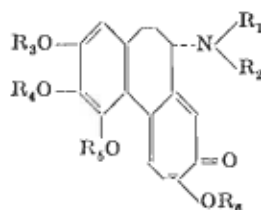


Tableau 1

ALCALOÏDE	SUBSTITUANTS					
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
Colchicine	H	COCH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Colchicéine	H	COCH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
2-Déméthylcolchicine	H	COCH ₃	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃
3-Déméthylcolchicine	H	COCH ₃	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃
Colchicoside	H	COCH ₃	Glucose	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Démécolcine	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
N-Méthyldémécolcine	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Désacétylcolchicine	H	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
Désacétylcolchicéine	H	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
N-Acétyldémécolcine	COCH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
N-Formyl-N-désacétyl colchicine	H	CHO	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃
N-Formyl-N-désacétyl colchicéine	H	CHO	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H
Démécolcine	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H

1.4 Principaux résultats antérieurs concernant la photodégradation

Il y a longtemps que l'on sait que la colchicine subit une photodégradation, lorsque soumise à la lumière. Ce phénomène fut d'ailleurs mentionné dès 1865 par Hübler (32) puis en 1873 par Struve (33). Jacobi avait pu ensuite isoler le produit et l'avait appelé oxydocolchicine croyant être en présence d'une photo-oxydation due à l'air (34). On prouva plus tard que seules les courtes longueurs d'onde affectaient la colchicine (35).

Grewe isola une petite quantité de substance cristalline en irradiant une solution aqueuse avec une lampe U.V.. Il expliquait ce résultat par une photoisomérisation (36). En 1951, Grewe et Wulf purent calculer un rendement chimique de transformation et la substance obtenue fut séparée en trois autres appelées lumicolchicines α , β , et γ , chacune isomère de la colchicine (3). En même temps Santavy prépara les lumicolchicines I et II identiques aux β et γ de Grewe (37).

Il est intéressant de noter que ces composés furent trouvés aussi présents dans la plante elle-même, ce qui prouve que le soleil peut affecter la plante, et ceci sans la participation d'enzymes.

C'est enfin à Forbes que revint l'honneur d'élucider les structures respectives des photoisomères (38).

CHAPITRE DEUXIEME

METHODE EXPERIMENTALE

METHODE EXPERIMENTALE

Il est à noter que la partie expérimentale est de loin la plus importante dans notre travail.

Nous décrirons dans l'ordre les systèmes d'irradiation utilisés pour la photolyse, le système à vide nécessaire du dégazage des échantillons, les spectrophotomètres d'absorption et spectrofluorimètre, et nous ferons aussi l'inventaire des différents produits et solvants utilisés tout au long de la recherche.

Les résultats ne sont considérés comme définitifs qu'après obtention d'une série de valeurs identiques, aux erreurs d'expérience près.

2.1 Système d'irradiation

Le système d'irradiation est monté sur banc optique, lequel est fixé à l'intérieur d'une armoire de bois à portes coulissantes et étanche à la lumière une fois les portes fermées. L'armoire est munie d'un système de ventilation dont la mise en marche s'effectue automatiquement avec l'allumage de la lampe au mercure.

A une des extrémités du banc optique est fixée la lampe au mercure interchangeable (3660 Å ou 2537 Å).

Un filtre de chaleur est utilisé ainsi qu'un filtre adéquat permettant d'isoler l'une ou l'autre des longueurs d'onde.

Un diaphragme suit, qui permet de régler le diamètre du faisceau incident en fonction de celui des cellules cylindriques.

Enfin, à une distance de la lampe variant avec l'intensité que l'on veut utiliser, est installé le support à cellules qui comporte trois cellules cylindriques en quartz, identiques, de 1 cm de trajet optique et de 2.75 cm³ de volume. Ce support est en bois peint en noir, afin d'éviter tout phénomène de réflexion.

La disposition des différents éléments apparaît sur la figure 2.

Le bloc d'irradiation supportant les trois cellules possède en son centre une lame de quartz placée à 45° par rapport au trajet optique et répartissant la lumière incidente en deux faisceaux dans le rapport: 7% réfléchie perpendiculairement et 93% traversant sans déviation. Ce rapport est indépendant de l'intensité incidente et il est calculé de la façon suivante

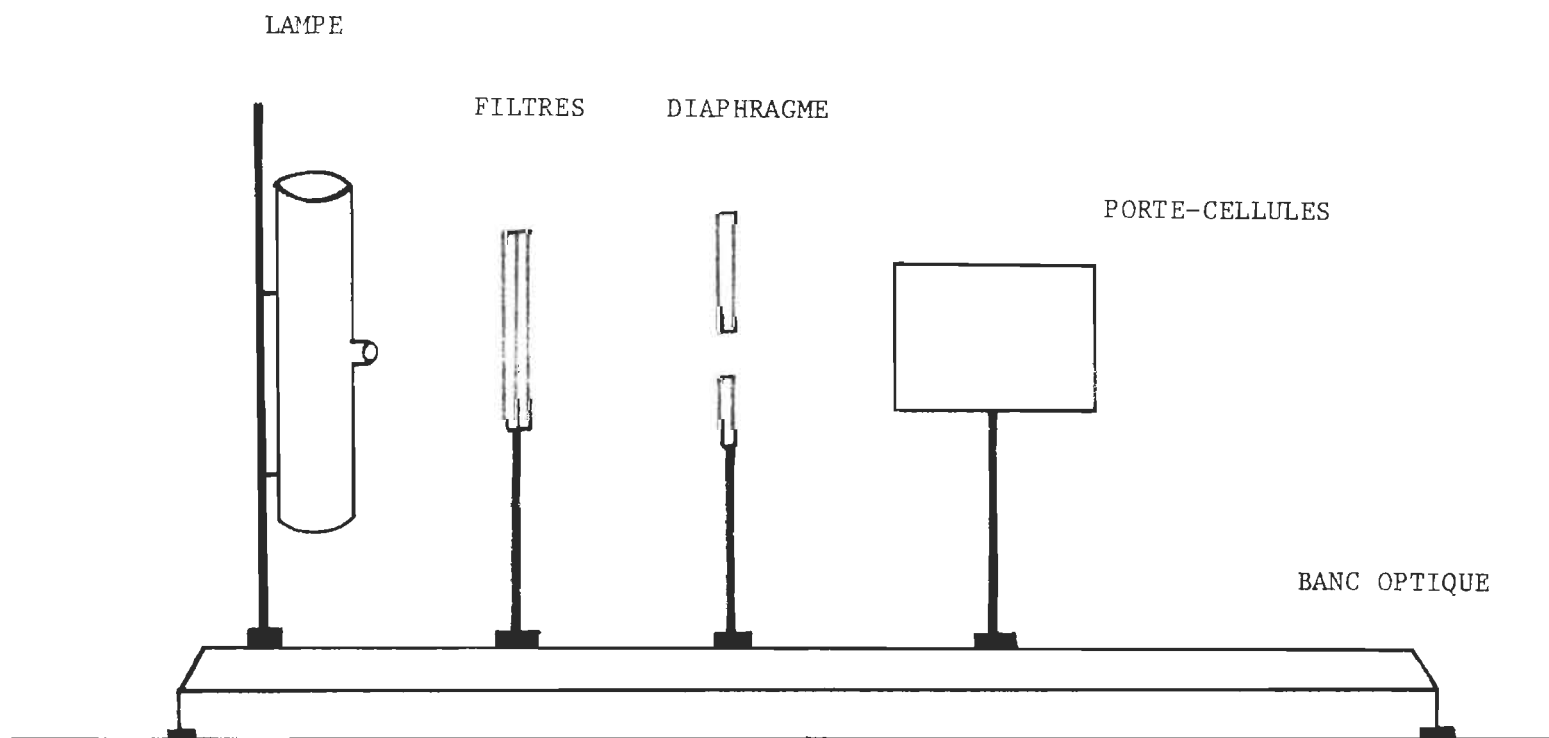


Fig. 2 -Système d'irradiation

Les trois cellules sont remplies d'actinomètre et on les irradie pendant un temps de 3000 secondes.

On dispose ensuite de quatre ballons jaugés de 10 cm^3 qu'on emplit comme l'indique le tableau 2.

Tableau 2

Ballon	Contenu de la cellule	Phénanthroline	Acétate de sodium	Densité optique obtenue	Densité optique véritable par rapport à 1
1	non irradiée	2 cm^3	1 cm^3	.060	-
2	frontale	2 cm^3	1 cm^3	.510	.450
3	latérale	2 cm^3	1 cm^3	.090	.035
4	arrière	2 cm^3	1 cm^3	.060	0

Une densité optique de .035 représente un pourcentage de $.035 / (.45 + .035) \approx 7\%$ approximativement.

On constate que dans le cas de l'actinomètre, celui-ci absorbe en totalité l'énergie incidente car on n'observe aucune dégradation de l'actinomètre arrière.

La disposition respective des différentes cellules apparaît sur la figure 3.

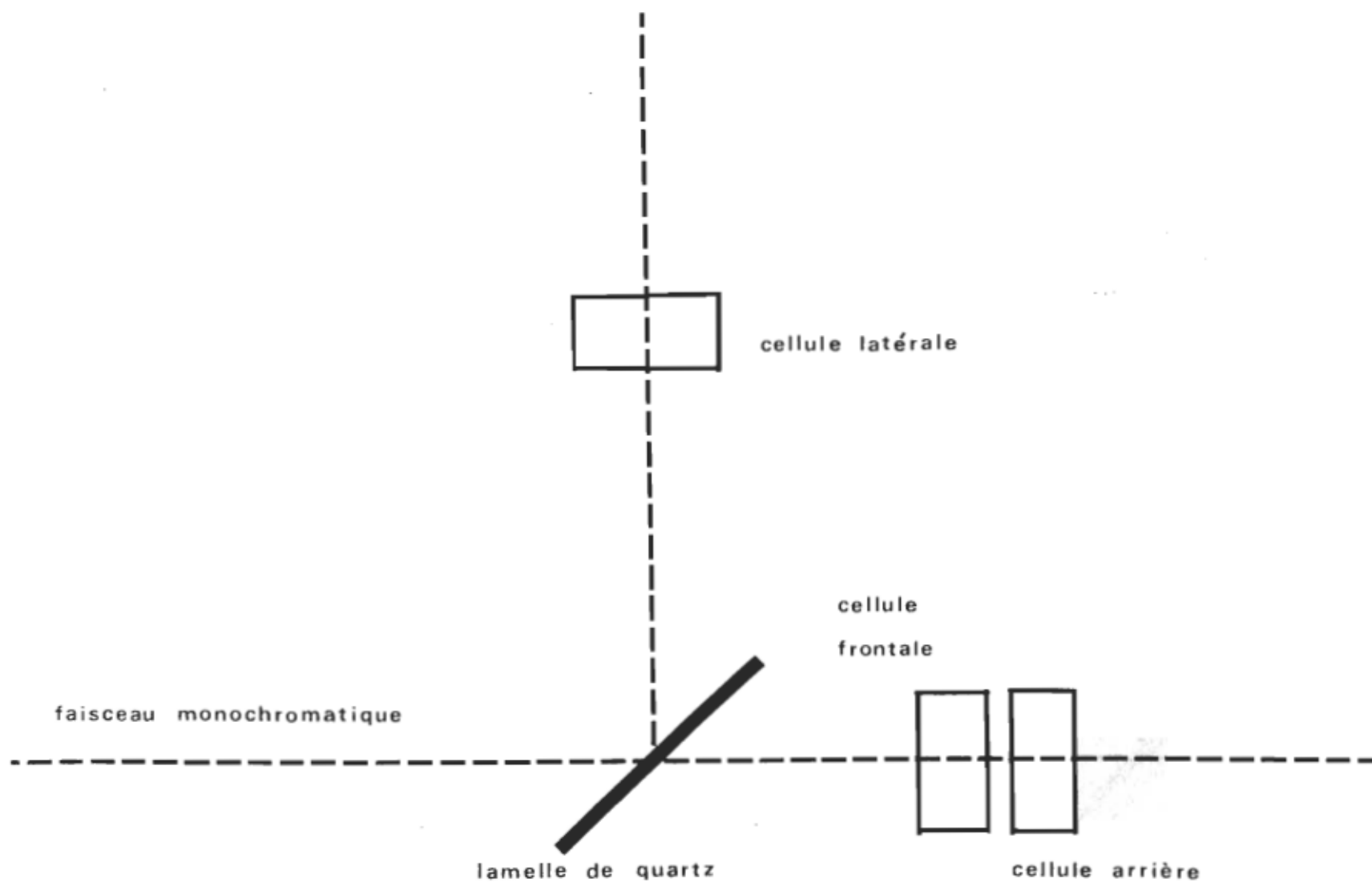


Fig. 3 - Disposition des cellules dans le bloc d'irradiation

2.2 Système à vide

Le système à vide utilisé est d'un type classique: une pompe à diffusion au mercure en série avec une pompe mécanique assure un dégazage des échantillons de colchicine suffisant pour que le quenching par O_2 soit négligeable.

Une jauge à ionisation permet de vérifier constamment l'état du vide intérieur au système. Ainsi, la pompe mécanique donne un vide préalable de 10^{-3} Torr environ et la pompe à diffusion peut donner jusqu'à $5 \cdot 10^{-6}$ Torr.

L'ensemble est illustré sur la figure 4.

Caractéristiques de la pompe mécanique: modèle 150, Precision Scientific Co.

Jauge à ionisation: modèle ion 7 (10^{-9} Torr), Edwards Vacuum Components.

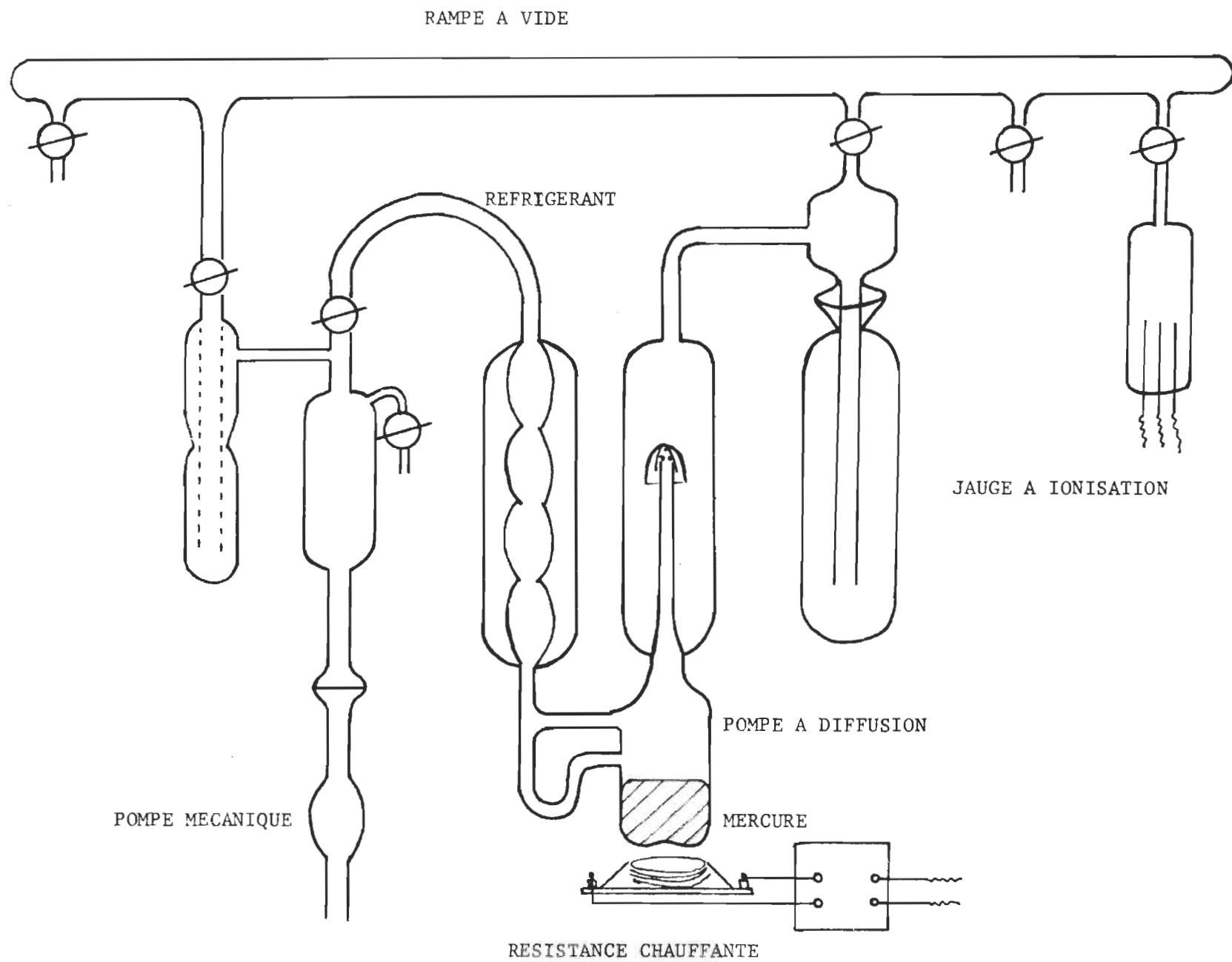


Fig. 4 - Système de dégazage

2.3 Spectrophotomètre

Deux spectrophotomètres différents ont été utilisés, soit le Coleman 124 de Hitachi pour les essais préliminaires et le SP 1800 de Canlab pour les mesures définitives.

Les caractéristiques techniques et opérationnelles de ce dernier sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3

Sources: arc au deutérium et filament de tungstène.

Le changement de lampe et de filtre se fait automatiquement.

Fentes: variation continue de .01 à 1 mm.

Monochromateur: à réseau, type Ebert, f/10, résolution limite de .1 nm.

Détecteur: photomultiplicateur EMI 9634 QA.

Système de mesure: à base logarithmique donnant directement la densité optique.

Absorption: 4 échelles différentes, soit 0-2, 0-1, 0-.5, 0-.2.

Sensibilité: $\pm 1\%$ de l'échelle totale d'absorption;

$\pm .5$ nm en ce qui a trait à la longueur d'onde.

2.4 Spectrofluorimètre

Le spectrofluorimètre utilisé lors de l'étude de l'émission était le MPF 2A de Perkin Elmer. Ses caractéristiques principales sont résumées dans le tableau 4.

Tableau 4

Monochromateur: type Czerny-Turner, 600 lignes/mm, ouverture f/4.

excitation: 200 nm à 700 nm

émission: 220 à 800

les fentes peuvent varier de façon continue de .13 mm à 5.16 mm et donnent une largeur de bande comprise entre 1.0 et 40 nm.

Balayage des λ : 3 vitesses, 25, 50 et 100 nm/min.

Photomultiplicateur: interchangeable: HTV R106 ou R136.

Source lumineuse: lampe au xenon de 150 watts.

Accessoire de polarisation: 1 polariseur d'excitation et 1 polariseur d'émission.

Accessoire de phosphorescence: amplificateur, dewar, chopper.

Sensibilité: permet d'identifier solutions 10^{-6} M fluorescéine.

2.5 Pureté des solvants et des produits

La colchicine de marque Sigma n'a révélé aucune impureté lors des tests de chromatographie sur couche mince (une seule tache). Elle possède les critères suivants:

- $R_F = .60$ avec le méthanol comme éluant, la chambre étant saturée à l'aide de papier filtre collé aux parois et baignant dans l'alcool. Les plaques de verre sont recouvertes par une couche de gel de silice (Machrey, Nagel et Co.) de 250 μ d'épaisseur. Le révélateur utilisé est le réactif de Dragendorff suivi d'une vaporisation d'acide sulfurique dilué (39). Les taches de colchicine apparaissent alors jaune-orange sur fond brun foncé. Des essais de détection des taches par utilisation d'une lampe U.V. n'ont rien donné de concret.

- Point de fusion: situé entre 145°C et 150°C. Ces températures ont été déterminées par utilisation d'appareils de point de fusion de Fisher et aussi par analyse différentielle thermique.

Il faut noter que cette dernière technique a révélé aussi l'existence des deux conformations d et l de la colchicine, en équilibre thermique à température moyenne ($t < 70^\circ\text{C}$).

- Coefficient d'absorption moléculaire: dans l'éthanol à 95%, on trouve:

$$\begin{aligned}\epsilon_{351 \pm 1 \text{ nm}} &= 16550 \text{ litre mole}^{-1} \text{ cm}^{-1} \\ \epsilon_{243 \pm .5 \text{ nm}} &= 29300 \text{ litre mole}^{-1} \text{ cm}^{-1}\end{aligned}$$

Ces valeurs se comparent relativement bien à celles de la littérature, soient:

$$\begin{aligned}\epsilon_{350 \text{ nm}} &= 16740, & \epsilon_{244 \text{ nm}} &= 30000 & (40) \\ \epsilon_{350.5 \text{ nm}} &= 16600, & \epsilon_{243 \text{ nm}} &= 29600 & (41)\end{aligned}$$

Toutes les solutions de colchicine sont préparées dans l'obscurité pour éviter toute dégradation possible.

Les principales caractéristiques des solvants utilisés pour l'irradiation sont résumées dans le tableau 5.

L'eau employée est préalablement distillée dans une colonne Barnsted.

Les standards de luminescence appartiennent à un ensemble de photosensibilisateurs (Organic Laboratory Chemicals, J.T. Baker Chemical Co., Phillipsburg, New Jersey, kit 4040).

TABLEAU 5
CARACTERISTIQUES DES SOLVANTS UTILISES

SOLVANT	MARQUE	PURETE	% D'IMPURETE
CCl_4	Fisher	Spectranalyzed	
CHCl_3	"	"	.75% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
CH_2Cl_2	"	"	.01% H_2O
Méthanol	"	"	99.9% pur
Ethanol	CIP, Gatineau, Québec		95% pur
n-propanol	Fisher	Certified normal	95% pur
Iso-propanol	"	Certified A.C.S.	.2% H_2O
n-butanol	"	Reagent A.C.S.	
Iso-butanol	"	Certified	.1% H_2O
Tertio-butanol	"	Certified	
1,4 - dioxane	"	Certified	99% pur
C_6H_6	"	Spectranalyzed	.002% H_2O
Formamide	"	Certified	
N,N - diméthylformamide	Fisher	Certified A.C.S.	
E.P.A. (5:5:2)	American Instrument Co. Inc.		
Oxalate de potassium	Fisher	Reagent grade	
Chlorure ferrique	"	"	
Acétate de sodium	Anachemia	"	
1,10 - phénanthroline	Fisher	Certified A.C.S.	

CHAPITRE TROISIEME

SPECTROSCOPIE U.V. ET VISIBLE

SPECTROSCOPIE U.V. ET VISIBLE

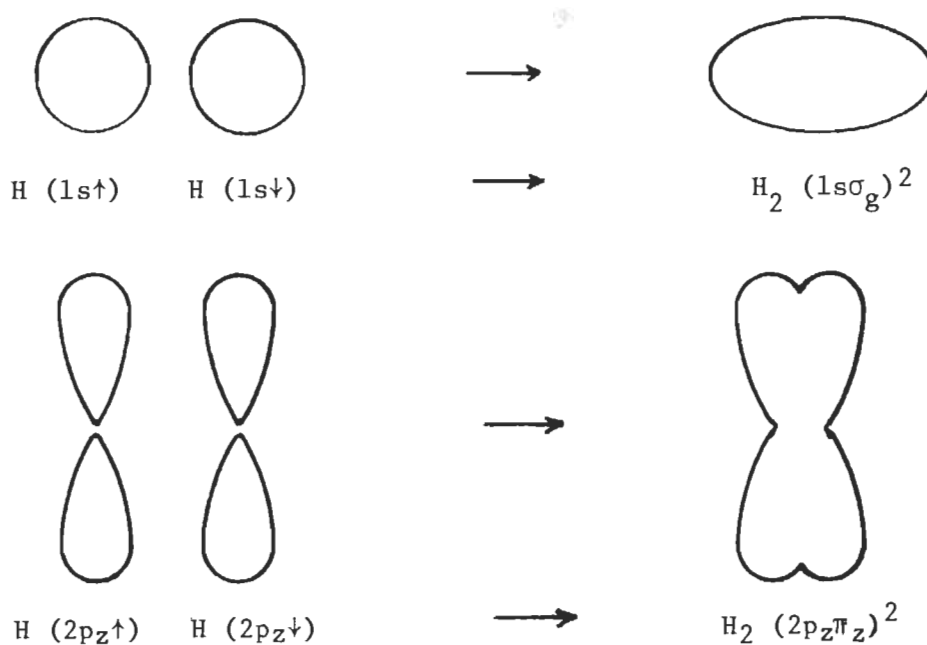
Dans la partie concernant les généralités, nous examinerons en détail le phénomène d'absorption de la lumière par des molécules polyatomiques. Nous introduirons les coefficients d'Einstein, sans pour autant que ceux-ci soient absolument nécessaires. Mais nous pensons cependant qu'une vue d'ensemble du phénomène aussi bien du côté théorique que du côté pratique ne peut que rendre service au futur étudiant qui fera un travail analogue.

3.1 Généralités

3.1.1 Notion de force d'oscillation

Lorsqu'une molécule est soumise à un faisceau lumineux d'une certaine longueur d'onde, il se peut que l'un des chromophores absorbe cette énergie. Il s'ensuit alors une délocalisation des électrons concernés et ceci se traduit sur le spectre par une bande d'absorption plus ou moins importante. Il en est ainsi par exemple lors de la formation d'orbitales moléculaires dans le cas de l'hydrogène (42), comme l'indique la figure 5.

Fig. 5 - Formation des orbitales moléculaires



Or il existe pour chaque molécule, une certaine probabilité d'absorption. Celle-ci est gouvernée par la grandeur du dipôle D ou du carré du moment de transition m :

$$D = m^2 = \left(\int \psi_m M \psi_n d\tau \right)^2$$

La sommation de $M \left(\sum e r_i \right)$ est faite sur tous les électrons,

M = vecteur moment dipolaire

e = charge de l'électron

r_i = distance de l'électron à un centre positif de la molécule.

Ψ_m et Ψ_n = fonction d'onde électronique totale des états initial et final.

Pour des molécules assez simples, D a été calculé (43).

$$m = \int \Psi_m^* M \Psi_n d\tau$$

Ψ_m^* et Ψ_n^* se rapportant aux orbitales dans leur état excité et fondamental, et ce pour l'électron qui subit la délocalisation.

La force du dipôle D est reliée à la probabilité d'Einstein B_{mn} par la relation:

$$B_{mn} = \left(\frac{8\pi^3 e^2}{3h^2 c} \right) g_n D_{mn}$$

g_n = dégénérescence du $n^{\text{ième}}$ état excité (nombre d'orbitales à l'état excité qui puisse se combiner à l'état fondamental).

e = charge de l'électron.

c = vitesse de lumière.

h = constante de Planck.

La force de l'oscillateur f , est fréquemment utilisée pour exprimer l'intensité absolue d'une transition électronique. Elle apparaît dans la théorie classique de la dispersion, dans l'expression de la réfractivité molaire R d'une substance:

$$R = \frac{M(n^2 - 1)}{d(n^2 + 2)} = \frac{Ne^2}{3\pi m_e} \sum \frac{f_{mn}}{\nu_{mn} - \nu^2}$$

M = masse moléculaire du composé

d = densité

n = indice de réfraction

N = nombre d'Avogadro

ν_{mn} = fréquence de l'absorption

f_{mn} = force moyenne de l'oscillateur

ν = fréquence de la lumière utilisée.

On voit donc d'après cette dernière équation que si ν incidente approche ν_{mn} , l'indice de réfraction devrait augmenter. Cette augmentation est observée expérimentalement, le phénomène étant appelé dispersion.

On peut considérer en termes de mécanique classique que l'électron est un oscillateur classique. La relation entre la force de l'oscillateur classique f et la grandeur du dipôle D en mécanique quantique est:

$$f_{mn} = \left(\frac{8\pi^2 m_e c g n}{3he^2} \right) \omega_{mn} D_{mn}$$

ω_{mn} = nombre d'ondes en cm^{-1}

En faisant intervenir le coefficient d'Einstein:

$$f_{mn} = \left(\frac{m_e h c^2 \omega_{mn}}{\pi e^2} \right) B_{mn}$$

Ou bien encore, si l'on fait intervenir le coefficient d'extinction moléculaire ϵ ,

$$f_{mn} = \left(\frac{2303 \, m_e \, c^2}{\pi \, N \, e^2} \right) F \int_{\omega_1}^{\omega_2} \epsilon \, d\omega$$

$$= 4.32 \, 10^{-9} \, F \int_{\omega_1}^{\omega_2} \epsilon \, d\omega$$

L'intégration est faite sur toute la bande d'absorption.

F = facteur de correction, proche de l'unité, relatif à l'indice de réfraction du solvant. ($F \approx n^2$)

On voit donc d'après cette dernière équation, que la force de l'oscillateur est proportionnelle à l'aire sous la courbe d'absorption. On peut poser approximativement:

$$\int \epsilon \, d\omega = \epsilon_{\max} \, \Delta\omega_{\frac{1}{2}}$$

$\Delta\omega_{\frac{1}{2}}$ = demi largeur de la bande d'absorption.

$$\epsilon = \frac{1}{2} \, \epsilon_{\max}$$

Jusqu'à présent la théorie n'a jamais été infirmée par l'expérience.

3.1.2 Classification des spectres

L'allure des spectres est liée à la structure des niveaux d'énergie de la molécule, calculables à partir de l'hamiltonien du système étudié. Dans une première étape, on considère la molécule isolée en laissant de côté les actions intermoléculaires qui peuvent être traitées ensuite comme des perturbations et correspondent aux effets de solvant.

Une première simplification consiste à séparer le mouvement de translation uniforme d'ensemble de la molécule, qui n'est pas quantifié et n'est pas susceptible d'être modifié par l'action d'une onde électromagnétique, de sorte qu'il ne joue aucun rôle en spectroscopie. Seul importe donc le mouvement autour du centre de gravité considéré comme fixe dont l'étude s'effectue généralement dans l'approximation de Born-Oppenheimer qui permet la décomposition de l'énergie totale de la molécule comme somme de quatre termes qui sont par ordre de valeurs décroissantes:

E_e = énergie électronique

E_v = énergie de vibration des noyaux

E_r = énergie de rotation propre de la molécule

E_s = énergie d'une configuration des spins électroniques et nucléaires éventuels.

Cette décomposition approximative présente un intérêt pratique étant donné les ordres de grandeur très différents de ces termes, donc des transitions correspondantes, ce qui permet de parler de spectres électroniques, de spectres de vibration, de spectres de rotation.

Les principales caractéristiques de ces spectres apparaissent dans le tableau 6 (44).

En ce qui nous concerne, seules les transitions électroniques à l'intérieur de la molécule de colchicine ont ici un intérêt.

Tableau 6

λ (nm)	ΔE (kcal mole ⁻¹)	Type de spectrographie	Nature de la transition
$3 \cdot 10^3$	$\sim .01$	Micro-ondes	Rotation
		----- Infrarouge lointain	
40	~ 0.7	----- Infrarouge	Vibration
0.8	~ 35	----- Visible	
0.4	~ 70	----- Ultraviolet	Electronique
0.2	~ 140	----- Ultraviolet "vide"	
0.01	~ 2800	----- Rayons X	

3.1.3 Transitions électroniques dans les molécules

On a vu précédemment que chaque molécule peut être décrite à l'aide de fonctions d'onde monoélectroniques. On est amené à distinguer différents états. Les liaisons simples sont décrites par des fonctions admettant l'axe de la liaison comme axe de révolution, tandis que, pour les liaisons multiples, il faut en outre faire appel à des fonctions antisymétriques par rapport à un plan. Les états ou les niveaux correspondants sont appelés *sigma* (σ) dans le premier cas et *pi* (π) dans le second. De plus, dans les molécules contenant des éléments tels que l'azote ou l'oxygène, on doit considérer que des paires d'électrons ne participent à aucune liaison. Dans l'approximation monoélectronique, les fonctions qui les décrivent sont dites non liantes et ces états sont représentés par la lettre n . Les états excités d'une molécule font intervenir des niveaux inoccupés à l'état fondamental, que l'on distingue des précédents en les affectant du signe *, et l'on parle alors de niveaux sigma-étoile ou pi-étoile (σ^* , π^*). Des raisons de symétrie font que les seules transitions permises sont celles dans lesquelles un électron passe d'un niveau à un autre de même type. La disposition relative des niveaux apparaît sur la figure 6 (45).

Les hydrocarbures saturés ne présentent que des états σ et les seules transitions électroniques possibles sont du type $\sigma \rightarrow \sigma^*$. Elles se manifestent à des longueurs d'onde inférieures à 180 nm et sont par conséquent inaccessibles dans les conditions d'expérimentation courantes. Cette propriété en fait de bons solvants spectroscopiques.

La présence de liaisons multiples entraîne l'apparition de transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ à des longueurs d'onde plus grandes. Dans les polyènes conjugués,

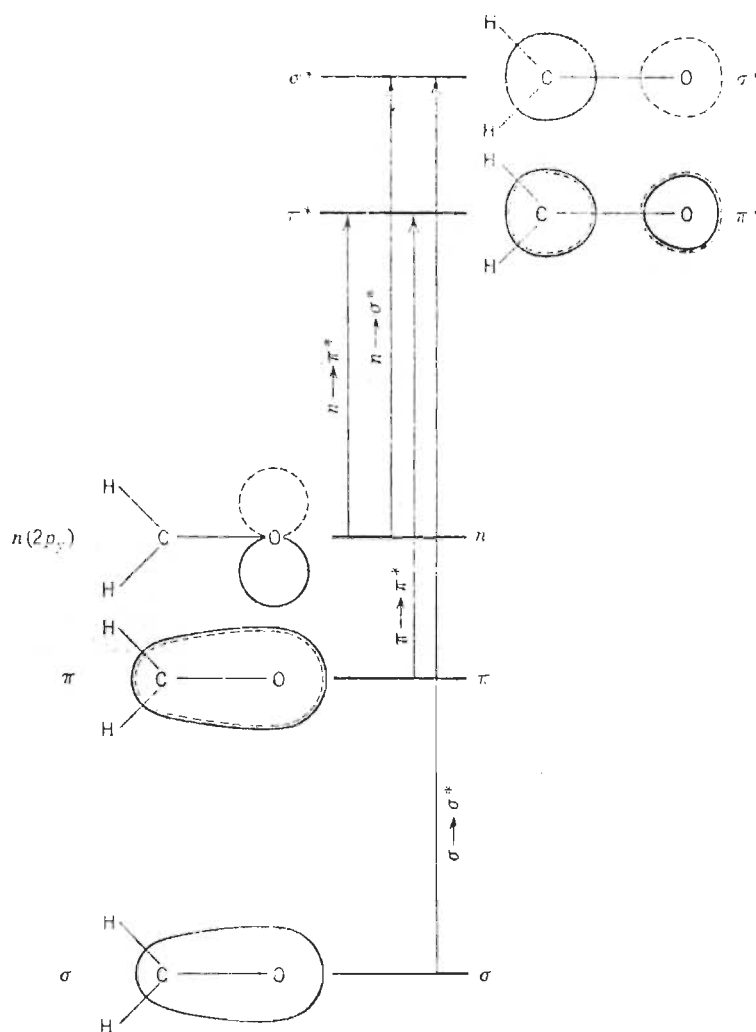


Fig. 6 - Orbitales moléculaires et transitions électroniques (45)

on observe un déplacement de cette bande vers les grandes longueurs d'onde, conjointement à une augmentation de son intensité. (Tableau 7).

Tableau 7

Substance	λ_{max} (nm)	ϵ_{max} ($\ell\text{-mole}^{-1}\text{cm}^{-1}$)
éthylène	171	15500
butadiène	217	20900
caroténoïdes	450-500	$\epsilon > 100,000$

Ces résultats s'interprètent bien à l'aide de méthodes théoriques très simplifiées, comme la méthode des orbitales moléculaires de Hückel. De même, on peut calculer les moments de transition, et, partant, les forces d'oscillation f correspondantes que l'on trouve sensiblement proportionnelles à n . La famille des polyènes vérifie bien cette loi, ainsi l'exemple des substances de formule $\text{CH}_3 - (\text{CH}=\text{CH})_n - \text{CH}_3$ comme le montre le tableau 8.

Tableau 8

n	λ (nm)	f	f/n
2	227	0.74	0.37
3	266	1.11	0.37
4	298	1.66	0.42
5	326	2.17	0.43

Naturellement, lorsque la molécule se complique, le nombre de transitions observables s'accroît et le spectre devient plus difficile d'interprétation.

Lorsque les électrons non liants restent indépendants des électrons π , le spectre est alors caractérisé par l'apparition aux grandes longueurs d'onde, de bandes de très faible intensité. Mulliken, qui a proposé d'attribuer ces transitions aux électrons non liants, les a interprétées comme étant du type $n \rightarrow \pi^*$. C'est le cas du groupement carbonyle $>C=O$, pour lequel ce type de transition est électriquement interdit d'où le faible coefficient d'absorption moléculaire ($\epsilon < 100$). Voir figure 7 (46).

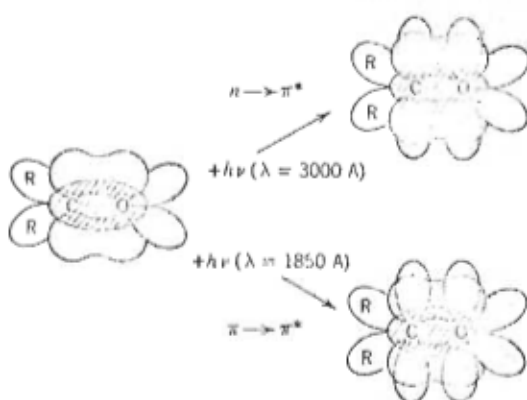


Fig. 7 - Représentation des transitions $n\pi^*$ et $\pi\pi^*$ dans le groupement carbonyle.

Lors de l'excitation $n \rightarrow \pi^*$, le moment dipolaire de la molécule varie fortement, ce qui explique la grande sensibilité de ces transitions à la polarité du solvant, comme le montre le tableau 9 qui traite de l'effet de solvant sur la transition $n \rightarrow \pi^*$ de l'acétone.

Tableau 9

Solvant	Eau	Méthanol	Ethanol	Chloroforme	Hexane
λ (nm)	264.5	270	272	277	279

Il faut noter aussi que les électrons n sont à l'origine de liaisons hydrogène avec les solvants hydroxylés qui voient, de ce fait, leur pouvoir perturbateur accru.

Enfin, dans les systèmes fortement conjugués, les bandes $n \rightarrow \pi^*$ peuvent être très proches des bandes $\pi \rightarrow \pi^*$, donc difficiles à observer.

Quant à ce qui a trait aux transitions $n \rightarrow \sigma^*$ ou $\sigma \rightarrow \sigma^*$, elles n'offrent aucun intérêt dans notre étude, l'état σ^* étant répulsif et conduisant généralement à une dissociation moléculaire.

La caractérisation des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ et $n \rightarrow \pi^*$ dans une molécule complexe s'effectue d'habitude à l'aide de critères élaborés par Kasha (47).

Ces critères se trouvent résumés dans le tableau 10.

Tableau 10

Caractérisation d'une bande $n \rightarrow \pi^*$ par:

- absence de bande $n \rightarrow \pi^*$ dans les hydrocarbures;
- disparition de la bande en milieu acide;
- effet bathochrome lorsque la polarité du solvant diminue;
- très faible coefficient d'absorption moléculaire;
- polarisation unique pour les spectres d'absorption et d'émission;
- apparition vers les grandes longueurs d'onde à cause de la faible transition électronique.

3.1.4 Principe de Franck-Condon

Dans le cas d'une molécule diatomique, l'énergie totale E_0 varie avec la distance interatomique r comme l'indique la figure 8.

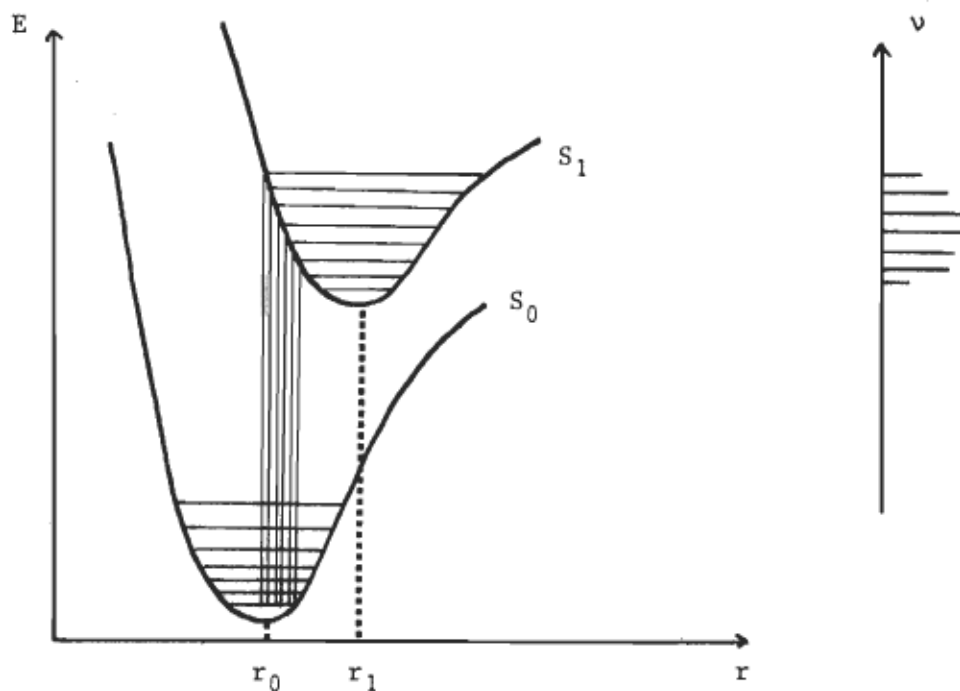


Fig. 8 - Transitions verticales dans une molécule diatomique.

(Les transitions apparaissent en intensité sur l'échelle des fréquences, à droite).

Elle passe par un minimum pour la distance d'équilibre r_0 . Sur la même figure est représentée l'énergie E_{S_1} du premier état excité correspondant à une transition permise avec l'état fondamental. La distance r_1 à l'équilibre n'a aucune raison d'être égale à r_0 , et, cet état étant moins "liant" que l'état fondamental, r_1 est en général supérieure à r_0 . Par ailleurs, la masse de l'électron étant de beaucoup inférieure à celle du noyau, l'énergie électronique peut varier beaucoup plus rapidement que la distance internucléaire. Cette remarque est à la base du principe de Franck et Condon qui peut s'énoncer ainsi:

"Les transitions électroniques les plus probables sont celles qui ne font intervenir aucun changement des coordonnées des noyaux".

On donne à ce type de transitions le nom de transitions verticales. Ce principe vaut pour n'importe quelle molécule.

Supposons qu'à l'état fondamental la molécule soit dans l'état de vibration le plus bas. Les transitions verticales amènent la molécule à l'état excité avec une énergie supérieure à celle de cet état au plus bas niveau de vibration. Ces transitions peuplent donc des états excités non seulement électroniquement mais également du point de vue vibrationnel. D'autre part, plusieurs états de vibration voisins peuvent être atteints à partir d'un même état fondamental qui, de surcroît, a une probabilité non nulle d'être vibrationnellement excité. Le système n'absorbera donc pas pour une fréquence unique mais présentera plusieurs raies d'absorption voisines dont l'intensité dépendra de la probabilité de la transition correspondante. Cette structure fine de vibration se rencontre dans certaines molécules simples comme l'anthracène par exemple. Mais dans la majorité des

cas, c'est une bande large qui apparaît, et ceci est encore plus vrai en phase liquide où toutes sortes d'interactions contribuent à l'élargissement des raies.

Il faut noter que certains effets perturbateurs peuvent rendre certaines transitions interdites, possibles.

3.1.5 Loi de Lambert-Beer

L'absorption d'un faisceau de lumière monochromatique par un système homogène est très bien décrit par la loi qui nous est familière, celle de Lambert-Beer. La forme communément utilisée par les photochimistes est la suivante:

$$\text{Log } \frac{I_0}{I} = \epsilon \ell c$$

I_0 = intensité incidente

I = intensité transmise

c = concentration de la solution en moles litre⁻¹

ℓ = épaisseur de la cellule optique en cm

ϵ = coefficient d'absorption moléculaire en litres mole⁻¹ centimètre⁻¹

Cette relation suppose que l'absorption lumineuse est simplement proportionnelle au nombre de collisions entre les quanta de lumière et les molécules de substance (48).

Pour que la relation soit rigoureusement valable, il faut que les interactions entre molécules de soluté soient peu importantes à n'importe quelle concentration.

A l'aide de toutes ces considérations d'ordre général, on va pouvoir étudier de façon minutieuse le comportement spectroscopique de la molécule de colchicine dans la région de l'ultraviolet et du visible.

3.2 Effet du solvant

3.2.1 Spectre d'absorption dans l'eau

Sans perdre de vue que la colchicine agit sur la cellule et que cette dernière contient une très importante proportion d'eau, l'étude préalable du spectre d'absorption se fera dans ce solvant.

Le graphique 1 nous montre le spectre d'absorption de la colchicine en milieu aqueux. (Courbe 1)

On note la présence de trois bandes importantes dont le coefficient d'extinction dépasse 15000: ce sont donc des bandes d'absorption $\pi \rightarrow \pi^*$ auxquelles il fallait s'attendre, compte tenu du grand nombre d'électrons π (cycle aromatique, cycle tropolone, groupement carbonyle et groupement acétamido).

Par contre, on devrait s'attendre à l'obtention d'une bande $n \rightarrow \pi^*$ vers les grandes longueurs d'onde, avec un faible coefficient ϵ , mais même en utilisant la plus grande sensibilité du spectrophotomètre, cette bande n'est pas décelable. Si elle existe dans l'eau, la bande disparaît alors dans la bande très large de 350 nm. Santavy (49) a déjà interprété ces bandes d'absorption et il ne fait aucunement mention d'une telle absorption $n \rightarrow \pi^*$, absorption qui trouvera tout son intérêt dans l'étude de l'émission de la colchicine. Ainsi, des études comparatives faites sur de nombreux tropolones et sur des aldéhydes aromatiques (50 à 55) prouvent encore la spécificité des bandes. Tous les composés tropoloniques comportent un maximum vers 350 nm. La colchicine montre en plus 2 maxima à 247 et 202 nm et un épaulement à 234 nm. Ces absorptions proviennent respectivement du cycle benzénique, du cycle tropolone et enfin de la non planéité de la molécule (49).

3.2.2 Absorption dans différents solvants

Les principaux résultats concernant l'effet de solvant sur le spectre d'absorption apparaissent dans le tableau 11.

Sur le graphique 1 on s'aperçoit du déplacement de la bande principale à 350 nm lorsque la polarité du solvant varie. Ainsi, pour cette bande en particulier, on observe un déplacement bathochrome (déplacement vers les grandes longueurs d'onde) quand la polarité du solvant augmente. C'est donc bien une bande d'absorption $\pi \rightarrow \pi^*$.

Il est à noter que nos résultats concordent avec ceux déjà publiés (40 et 41).

Enfin, il est important de remarquer que dans des solvants non polaires tels le benzène, on aperçoit à forte sensibilité un léger épaulement de la bande d'absorption vers 400-405 nm. Ce serait là la bande $n \rightarrow \pi^*$ correspondant au groupement carbonyle $>C=O$. Le calcul montre un coefficient d'extinction égal approximativement à 200 litres mole⁻¹ cm⁻¹.

3.2.3 Calcul des coefficients d'extinction moléculaire

C'est la méthode des moindres carrés qui est utilisée pour le calcul des coefficients ϵ pour chacun des maxima d'absorption. L'explication mathématique de cette méthode est très bien résumée dans "Absorption Spectroscopy" de R.P. Bauman (56).

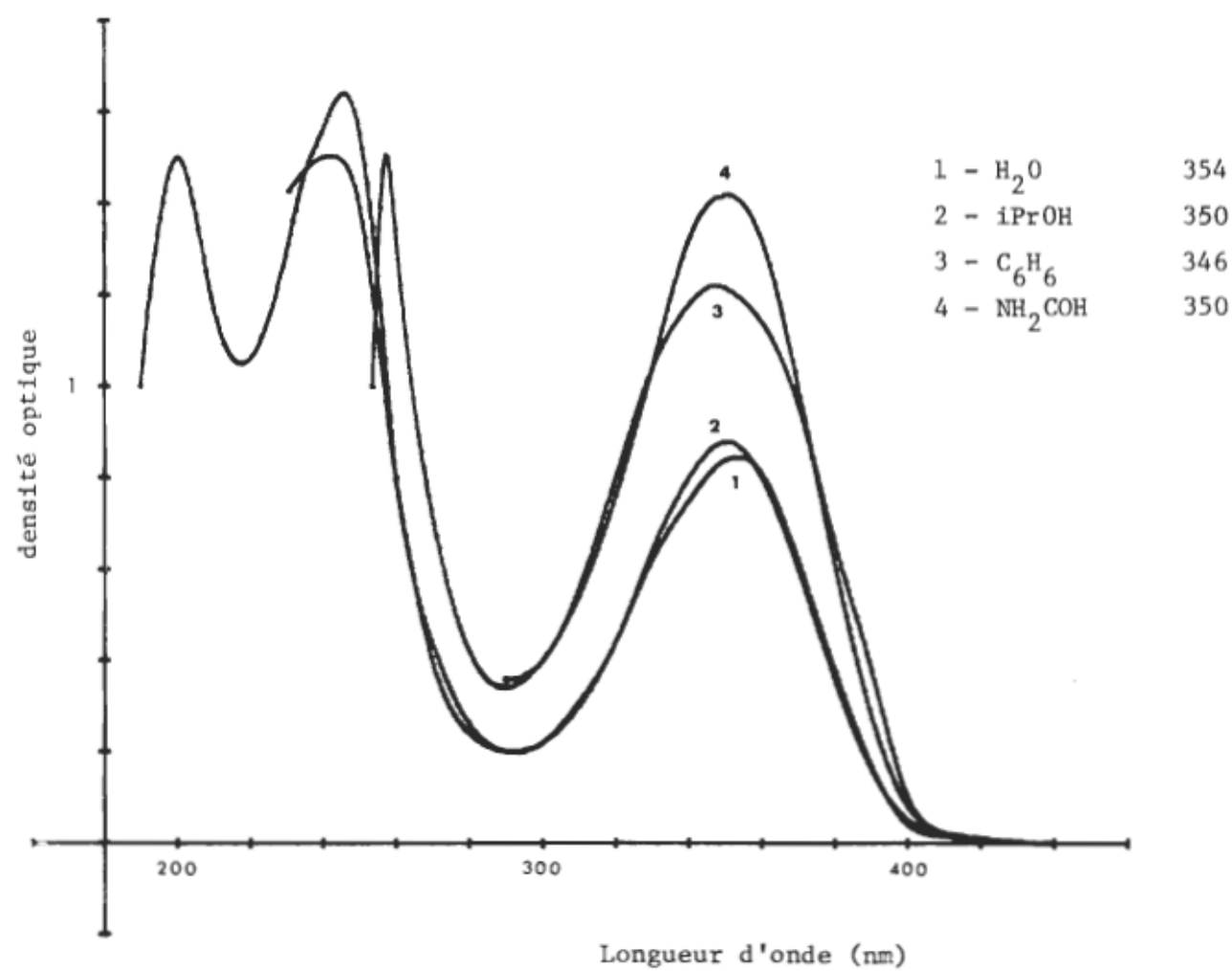
On se sert de la relation:

Tableau 11

Spectre d'absorption de la colchicine dans differents solvants

SOLVANT	Moment dipolaire	$\lambda_{\max}$	ϵ	$\lambda_{\max}$	ϵ	$\lambda_{\max}$	ϵ	$\lambda_{\max}$	ϵ
EAU	$1.85 \cdot 10^{-18}$ ues	354	16340	246	32000	234	27140	199	-
METHANOL	1.70	352	16500	243	28800	234	27450	206	-
ETHANOL	1.69	350	16500	243	29300	234	27300	202	25400
n-PROPANOL	1.69	350	15500	244	26700			202	-
2-PROPANOL	1.67	350	16900	243	28800	234	27300		
n-BUTANOL	1.67								
tert-BUTANOL		350	15850	242	25200			204	
TETRACHLORURE de C	0								
CHLOROFORME	1.02	350	16100	242					
DICHLOROMETHANE	1.54	343	16500	248	26600				
BENZENE	0	344±1	16400	-	-				
1,4-DIOXANE	0	342	15700	266	12800				
N,N-DIMETHYLFORMAMIDE		344	14900	262	12600				
FORMAMIDE		350	16600	255	19400				
ACETONITRILE		343	15500	230	28200				

GRAPHIQUE 1



$$\epsilon = \frac{\sum_{ij} A_i C_i B_j}{\sum_{ij} (C_i B_j)^2}$$

ϵ = coefficient d'extinction molaire

C_i = concentration molaire

B_j = parcours optique

A_i = densité optique.

Ainsi, pour la colchicine en solution dans le N,N-diméthyl formamide, on trouve pour la bande à 344 nm un coefficient égal à $14821 \pm 2.4\%$, voir tableau 12.

Tableau 12

Exp.	λ	A_i	C_i	B_j	$A_i C_i b_i$	$(C_i B_i)^2$	ϵ	$\frac{ \epsilon - a }{a} \times 100$
	nm			cm		$\text{mole}^2 \text{ cm}^2 \text{ litre}^{-2}$		
			10^4		10^5	10^{10}		
1	344	0.230	0.875	0.200	0.403	3.06	13,170	*
2	"	0.295	0.900	0.200	0.531	3.24	16,389	*
3	"	0.360	1.19	0.200	0.857	5.66	15,141	2.15
4	"	0.810	2.70	0.200	4.37	29.16	14,986	0.51
5	"	0.825	2.75	0.200	4.54	30.25	15,008	1.26
6	"	0.830	2.66	0.200	4.42	28.30	15,618	5.38
7	"	0.948	3.13	0.200	5.93	39.19	15,142	2.17
8	"	1.11	3.35	0.200	7.44	44.89	16,574	*
9	"	1.22	3.80	0.200	9.27	57.66	16,077	8.47
10	"	1.15	3.81	0.200	8.76	58.06	15,088	1.80
11	"	1.17	3.93	0.200	9.20	61.78	14,892	0.48
12	"	1.34	4.59	0.200	12.3	84.27	14,596	1.52
13	"	1.37	4.58	0.200	12.5	83.91	14,897	0.51
14	"	1.41	4.79	0.200	13.5	91.78	14,709	0.76
15	"	1.74	6.22	0.200	21.6	154.8	13,953	5.86
16	"	1.36	9.16	0.100	12.4	83.91	14,778	0.29
17	"	0.842	1.16	0.500	4.48	33.64	14,507	2.11
18	"	0.862	1.16	0.500	5.00	33.64	14,863	0.28
19	"	0.460	0.335	1.00	1.54	11.22	13,725	*
20	"	1.01	0.65	1.00	6.57	42.25	15,550	4.92
* valeurs rejetées					136.097	918.26	14,821	2.4

3.3 Conclusion

Tous ces résultats concernant la spectroscopie U.V. et visible de la molécule étaient nécessaires avant d'entreprendre l'étude de la dégradation photochimique de la colchicine.

On connaît donc le comportement de la molécule, lorsqu'elle absorbe un quantum lumineux, c'est-à-dire dans un temps inférieur à 10^{-12} seconde après l'absorption. Que se passe-t-il par la suite? Comment réagira la molécule dans les différents solvants? Quels seront les modes possibles de désexcitation de la molécule? Les réponses à toutes ces questions seront apportées dans les chapitres qui suivent et qui traitent de la photolyse d'une part et de la luminescence d'autre part de la colchicine.

CHAPITRE QUATRIEME

PHOTOLYSE

PHOTOLYSE

Cette partie de notre recherche est celle qui nous a demandé le plus de travail expérimental et c'est aussi celle qui a nécessité le plus d'apprentissage afin de mener à bien une mesure des rendements quantiques de photodégradation de la colchicine.

Il a fallu en effet, dans une première étape, "faire ses premières dents" sur des travaux déjà publiés et retrouver les résultats de la littérature. Ce premier pont franchi, il a fallu alors appliquer tout notre savoir à la bonne compréhension du phénomène de la photolyse de la colchicine.

Il faut remarquer que cette partie voit sa principale application dans le fait que la colchicine est sensible à la lumière du jour et qu'elle devient biologiquement inactive, une fois dégradée.

4.1 Généralités

4.1.1 Historique de la photochimie

Cette science est aussi vieille que le Monde puisque l'apparition de la vie sur la Terre est probablement due à l'irradiation du Soleil (actuellement $100 \text{ Kcal/cm}^2\text{-jour}$).

A la fin du 19^e siècle CIAMICIAN en fait une approche systématique (57). Une excellente description des principaux travaux de ce chercheur nous est donnée dans deux publications (58 et 59).

Puis l'intérêt est brusquement tombé à cause de la première guerre mondiale, du manque de techniques et aussi parce que la théorie est encore impuissante à tout expliquer.

Pendant trente cinq ans, par la suite, on étudiera partout la photochimie en phase gazeuse, prenant appui sur les derniers développements de la Mécanique Quantique et de la Théorie de la liaison chimique. Il existe par exemple une centaine de publications sur la photolyse de l'acétone.

Ensuite vers les années 1950, ce sont les produits naturels qui captent l'intérêt des photochimistes. A partir de 1960 par contre, on s'intéresse beaucoup plus à la photochimie organique mécanistique.

Aujourd'hui l'utilisation de nouvelles théories (méthodes d'approximation, théorie des perturbations, de Hartree-Fock, etc...) ainsi que le développement de nouvelles techniques (photolyse éclair, laser, E.S.R. etc...) provoque un attrait fulgurant pour cette science que ce soit dans le domaine pur ou appliqué.

4.1.2 Réaction photochimique

Celle-ci est due à l'absorption d'un photon (ou de plusieurs lorsque l'on utilise un laser de forte puissance).

L'activation photochimique est bien spécifique car elle n'atteint qu'une partie de la molécule, un chromophore bien déterminé. Cette caractéristique la différencie donc de l'activité calorifique pour laquelle toute la molécule est sensible. Il en résulte donc que la seule énergie disponible pour cette excitation est celle du photon.

Si E_2 est l'énergie finale du système et E_1 celle de la molécule dans son état fondamental, alors

$$E_2 - E_1 = h\nu$$

h est la constante de Planck = $6.62 \cdot 10^{-27}$ erg - sec

ν est la fréquence de la lumière absorbée (sec^{-1})

En fonction de la longueur d'onde λ ou bien du nombre d'onde $\bar{\nu}$, on aura:

$$E_2 - E_1 = \frac{hc}{\lambda} = hc \bar{\nu}$$

Le tableau 13 montre l'équivalence et la conversion des longueurs d'onde en unités énergétiques.

Tableau 13

λ (nm)	$\bar{\nu}$ (cm ⁻¹)	ΔE (kcal-mole ⁻¹)
200	50,000	143.0
250	40,000	114.4
300	33,333	95.3
350	28,571	87.7
400	25,000	71.5
500	20,000	57.2
600	16,666	47.7
700	14,286	40.8

Il est à remarquer qu'on appelle einstein, une énergie équivalente à 1 mole de photons.

Ainsi 1 einstein à 300 nm vaut 95.3 Kcal.

D'autre part ce sont les longueurs d'onde comprises entre 200 nm et 700 nm qui sont les plus fréquemment utilisées en photochimie.

4.1.3. Lois photochimiques

Elles sont au nombre de trois et elles régissent le comportement des molécules dans la phase d'absorption.

1ère loi: Seule la lumière absorbée par une molécule peut provoquer un changement photochimique (GROTTUS 1817 et DRAPER 1843)

2e loi: Chaque quantum absorbé n'active qu'une molécule dans l'étape primaire (STARK et EINSTEIN 1903).

3e loi: Chaque quantum absorbé possède une probabilité de bipartition entre S_1 et T_1 (KASHA 1960).

On s'aperçoit que les deux premières lois répondent tout-à-fait à la logique. Au sujet de la troisième, il faut signaler que la probabilité d'excitation en S_1 ou S_n est de beaucoup supérieure à celle du passage à T_1 ou T_n .

4.1.4. Rendement quantique

De même qu'il existe un rendement chimique de formation ou de disparition du substrat, on définit en photochimie un rendement quantique, lequel par définition est égal à:

$$\phi_i = \frac{d[A] / d\tau}{I_A} = \frac{\text{Nombre de molécules subissant un processus/sec}}{\text{Nombre de quanta absorbés/sec}}$$

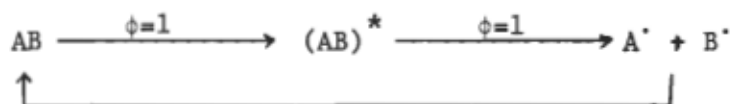
Le numérateur de cette équation peut être obtenu par des mesures de spectrophotométrie par exemple. Le dénominateur, par actinométrie ou par l'utilisation d'un photomultiplicateur.

Compte tenu des deux premières lois il s'en suit la relation:

$$\sum_{i=1}^n \phi_i \leq 1$$

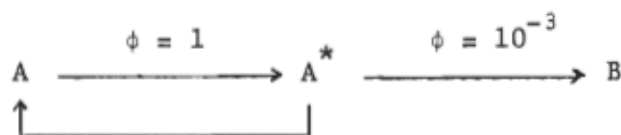
n = nombre d'étapes primaires

Il est important de connaître à quel processus se rapporte le rendement quantique, à ne point confondre avec le rendement chimique: Soit par exemple une molécule AB, qui par absorption se transforme en une molécule excitée $(AB)^*$. Le rendement quantique de formation de $(AB)^*$ est nécessairement égal à l'unité si aucun autre processus parallèle ne prend part au mécanisme. Si $(AB)^*$ se transforme par la suite en deux radicaux libres A^* et B^* , ces derniers se recombieront dans une large proportion en molécules AB excitées vibrationnellement et l'énergie sera dissipée sous forme de chaleur. On a donc la séquence suivante:



Chacune des étapes possède un rendement quantique égal à 1 mais le rendement chimique global (formation de radicaux libres) est nul.

Une situation inverse peut être obtenue, comme l'indique l'exemple suivant:



Si aucun processus compétitif n'intervient, toutes les molécules A seront converties en B, donc on aura un rendement chimique égal à 1, mais un rendement quantique (de formation de B) égal à un millièème.

Enfin dans le cas de réactions en chaîne faisant intervenir un

processus radicalaire, on peut avoir alors un rendement quantique supérieur à l'unité, mais dans ce cas il intervient des étapes non photochimiques.

4.1.5 Processus photochimiques primaires

Alors qu'il est très important de connaître le processus photophysique qui conduit à un état excité, il est aussi important de connaître avec précision le mode de dégradation de cet état excité. La molécule peut subir alors soit un processus primaire, soit un processus secondaire (la plupart du temps avec participation du solvant dans ce dernier cas) comme l'indique le tableau 15 .

4.1.6 Désexcitation d'une molécule

Le retour d'un état excité à la molécule fondamentale peut s'effectuer de différentes façons. (tableau 14)

Tableau 14

Désexcitation d'une molécule

$A + h\nu \longrightarrow A^* \longrightarrow A + h\nu'$	Luminescence
$A + Q$	Désexcitation thermique
A^{**}	Changement d'état excité
A^*	
$B + A$	Transfert d'énergie
	Réaction chimique

4.1.7 Orbitales électroniques

Une molécule quelconque possède plusieurs orbitales, donc

$$\Psi = \psi_1 \psi_2 \psi_3 \dots$$

Tableau 15

PROCESSUS PHOTOCHEMISTIQUES		
<u>Processus du premier ordre</u>		
ABC (S_1 ou T_1)	$AB^{\cdot} + C^{\cdot}$	Dissociation radicalaire
	$AB^{+} + C^{-}$	Dissociation ionique
	$ABC^{+} + e^{-}$	Photoionisation
	$AB + :C$	Dissociation avec formation d'un biradical
	$ABC' (S_1 \text{ ou } T_1) \rightarrow ABC'$	Photoisomérisation
	$\rightarrow ACB$	Réarrangement intramoléculaire
<u>Processus du second ordre</u>		
ABC (S_1 ou T_1)	$(ABCH)^{\cdot} + R^{\cdot}$	Abstraction d'un hydrogène
	$(ABC)_2$	Dimérisation
	$ABCD$	Photoaddition
	$ABC^{+} + D^{-}$	Transfert électronique

Les ψ_x peuvent être bien localisées (perturbées) ou alors délocalisées (orbitales moléculaires) spin

Chaque $\psi_x = \underset{\text{espace}}{\phi_x} \cdot \chi_\alpha \text{ ou } \chi_\beta$

$$\left. \begin{array}{l} \psi_1 = \phi_1(\alpha) \phi_2(\beta) \\ \quad \quad \quad +1/2 \quad -1/2 \end{array} \right\} \text{Principe de Pauli}$$

On assimile d'ordinaire les orbitales ϕ à celles de la théorie de HUCKEL (solutions de l'équation de Schrodinger pour l'atome d'hydrogène).

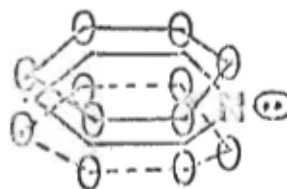
Si la condition d'équilibre nucléaire n'est pas satisfaite, la fonction d'onde devient alors:

$$\psi \sim \phi(\text{orbitale}) \times (\text{vibration}) S(\text{spin})$$

Orbitales n typiques

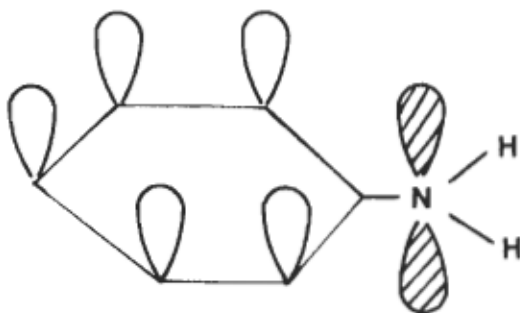


Carbonyle

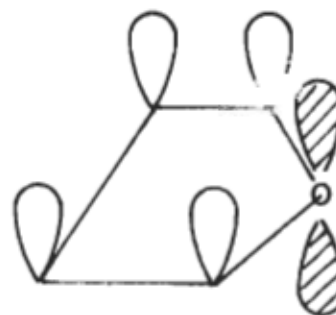


Pyridine

Dans ces deux cas, les orbitales n sont situées dans le plan de la molécule perpendiculairement aux orbitales π de la molécule.



Aniline

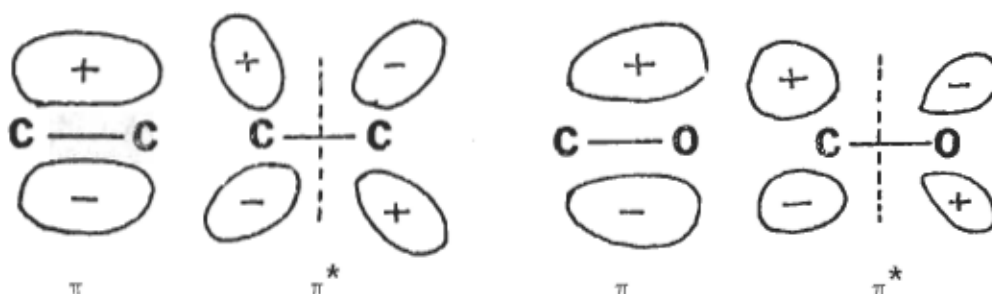


Furanne

Ici on assiste à un effet de conjugaison: les orbitales n deviennent parallèles aux orbitales délocalisées.

Les orbitales n sont donc constituées par des électrons célibataires portés par un hétéroatome et qu'elles soient localisées ou non, elles sont caractérisées par un faible potentiel d'ionisation.

Orbitales π et π^*



Ce type d'orbitale est dû à un recouvrement d'orbitales p_y ou p_z .

π et π^* possèdent un plan d'antisymétrie correspondant au plan de la molécule.

Orbitales σ et σ^*

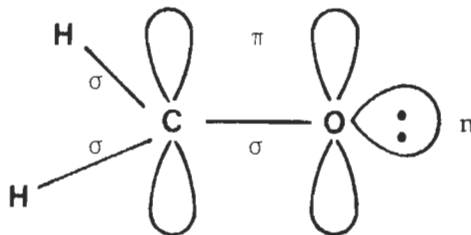
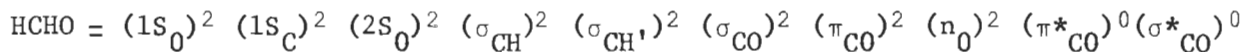


De σ à σ^* on assiste à un bris de la liaison.

Pour π ce n'est pas pareil car il reste toujours une liaison σ .

4.1.8 Exemple du formaldéhyde HCHO

La molécule contient un total de 16 électrons et on peut la représenter par la configuration électronique suivante:



Chaque état excité est une molécule particulière qui est beaucoup plus énergétique que la molécule à l'état fondamental.

<u>Etat</u>	<u>Configuration</u>
$^3(n \pi^*)$	$(\pi_{\text{CO}}^{\uparrow\downarrow})^2 (n_o^{\uparrow})^1 (\pi_{\text{CO}}^{\uparrow})^1$
$^1(n \pi^*)$	$(\pi_{\text{CO}}^{\uparrow\downarrow})^2 (n_o^{\uparrow})^1 (\pi_{\text{CO}}^{\uparrow\downarrow})^1$
$^3(\pi \pi^*)$	$(\pi_{\text{CO}}^{\downarrow})^1 (n_o^{\uparrow\downarrow})^2 (\pi_{\text{CO}}^{\downarrow})^1$
$^1(\pi \pi^*)$	$(\pi_{\text{CO}}^{\uparrow})^1 (n_o^{\uparrow\downarrow})^2 (\pi_{\text{CO}}^{\downarrow})^1$

On a donc deux sortes d'états excités: état singulet ou état triplet.

4.2 Actinométrie

4.2.1 Généralités

Régulièrement les photochimistes déterminent des rendements quantiques de synthèse de nombreux systèmes photochimiques en utilisant la combinaison thermocouple-galvanomètre pour le calcul de l'intensité incidente. Parmi ces systèmes, quelques-uns ont été tellement étudiés que plus aucun doute n'existe quant à la justesse de la valeur du rendement. Il en est même qui en plus sont caractérisés par une valeur constante en fonction de l'intensité, de la température, de la concentration et de la longueur d'onde d'irradiation. Beaucoup d'actinomètres chimiques ont été suggérés ces dernières années mais c'est encore le ferrioxalate de potassium qui trouve le plus d'adhérents en photochimie (60 à 63).

4.2.2 Ferrioxalate de potassium

Cet actinomètre a l'avantage d'être sensible dans un grand éventail de longueurs d'onde et il est très simple d'utilisation. Lorsque les solutions sulfuriques de $K_3Fe(C_2O_4)_3$ sont irradiées entre 2500 Å et 5770 Å, une réduction de Fe^{+++} et une oxydation de l'ion oxalate se produit simultanément. Le tableau 16 nous montre la constance de l'absorption entre 2537 Å et 4800 Å ainsi que sa valeur maximum (100%) à 3660 Å.

D'autre part dans le tableau 17 on s'aperçoit que l'énergie relative distribuée par une lampe au mercure "medium pressure" est maximale entre 3650-3663 Å alors que pour une "low pressure" ce maximum se situe à 2537 Å.

Il est important de remarquer que les ions Fe^{++} et leur complexe oxalate n'absorbent pas les radiations incidentes de façon notable durant la photolyse. Par contre, après sa formation, l'ion Fe^{++} peut se complexer avec la 1,10-phénanthroline pour donner une coloration rouge. Le coefficient

Tableau 16

Rendements quantiques d'apparition de Fe^{++} dans $\text{K}_3\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3$

λ (Å)	Concentration	Fraction d'intensité absorbée ($\ell = 15 \text{ mm}$)	ΦFe^{++}
5770 } 5790 }	0.15	0.118	0.013
5460	0.15	0.061	0.15
5090	0.15	0.132	0.86
4800	0.15	0.578	0.94
4680	0.15	0.850	0.93
4360	0.15	0.997	1.01
	0.006	0.615	1.11
4050	0.006	0.962	1.14
3660	0.006	1.00	1.21
			1.26*
	0.15	1.00	1.15
			1.20*
3340	0.006	1.00	1.23
3130	0.006	1.00	1.24
2970 } 3020 }	0.006	1.00	1.24
2537	0.006	1.00	1.25

La plupart de ces résultats sont ceux de Hatchard et Parker (60)

Les valeurs avec astérisque appartiennent à Lee et Seliger (63)

Tableau 17

Distribution énergétique des lampes au mercure

(Low and medium pressure)

λ (Å)	Energie relative	
	Low pressure (a)	Medium pressure (b)
13,673	...	15.3
11,287	...	12.6
10,140	...	40.6
5770-5790	10.14	76.5
5461	0.88	93.0
4358	1.00	77.5
4045-4078	0.39	42.2
3650-3663	0.54	100.0
3341	0.03	9.3
3126-3132	0.60	49.9
3022-3028	0.06	23.9
2967	0.20	16.6
2894	0.04	6.0
2804	0.02	9.3
2753	0.03	2.7
2700	...	4.0
2652-2655	0.05	15.3
2571	...	6.0
2537	100.00	16.6
2482	0.01	8.6
2400	...	7.3
2380	...	8.6
2360	...	6.0
2320	...	8.0
2224	...	14.0

(a) Hanovia Lamp Division, Engelhard Industries, Newark, N.J.

SC-2537 lamp.

(b) Hanovia's Type A, 637 A, 550 w lamp

d'absorption de ce nouveau complexe est très élevé ce qui fait qu'on peut utiliser des temps d'irradiation équivalents au 1/100 de ceux nécessaires lorsqu'on utilise par exemple l'acétate d'uranyle. Le rendement quantique de formation de Fe^{++} est indépendant de la température, de l'intensité incidente, ainsi que de la concentration des réactants ou des produits.

4.2.3 Préparation du ferrioxalate de potassium .006 M

Une concentration de .006 M est nécessaire lorsque l'on irradie à $3660 \text{ \AA}$ ou bien à $2537 \text{ \AA}$.

Trois volumes de solution de $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 1.5 M et 1 volume de solution de Fe Cl_3 1.5 M sont mélangés.

Le précipité obtenu est recristallisé en obscurité, trois fois dans l'eau tiède et ensuite il est séché dans un courant d'air à 45°C (séchoir électrique).

Le solide, cristaux de couleur verte, peut alors être stocké pendant très longtemps dans un flacon teinté sans qu'il ne subisse d'altération.

4.3 Calibration du spectrophotomètre

Elle a pour but de déterminer la valeur du coefficient d'extinction moléculaire ϵ pour l'actinomètre $K_3Fe(C_2O_4)$ lorsque ce dernier absorbe à $5100 \text{ \AA}$.

Il est nécessaire de préparer trois solutions:

- Solution A : 2 cc de solution $FeSO_4$.1 M portés à 500 cc, ce qui donne une solution vert-jaune $4 \cdot 10^{-4}$ M.
- Solution B : .5 g de 1,10 phénanthroline sont dissouts dans 500 cc d'eau distillée. La dissolution est très lente et la solution est incolore.
- Solution C : 136.08 g de CH_3CO_2Na sont portés à 1 litre.

Cette solution 1 N obtenue est incolore.

On prépare ensuite onze ballons jaugés de 25 cc, de concentration différente en A, dont on étudie l'absorption à $5100 \text{ \AA}$. La pente de la droite densité optique = f (concentration en A) est alors égale au coefficient ϵ . Ces mesures ont été effectuées sur le Coleman 124 et sur le SP 1800. Les résultats sont compilés dans le tableau 18 et sur les graphiques 2 et 3.

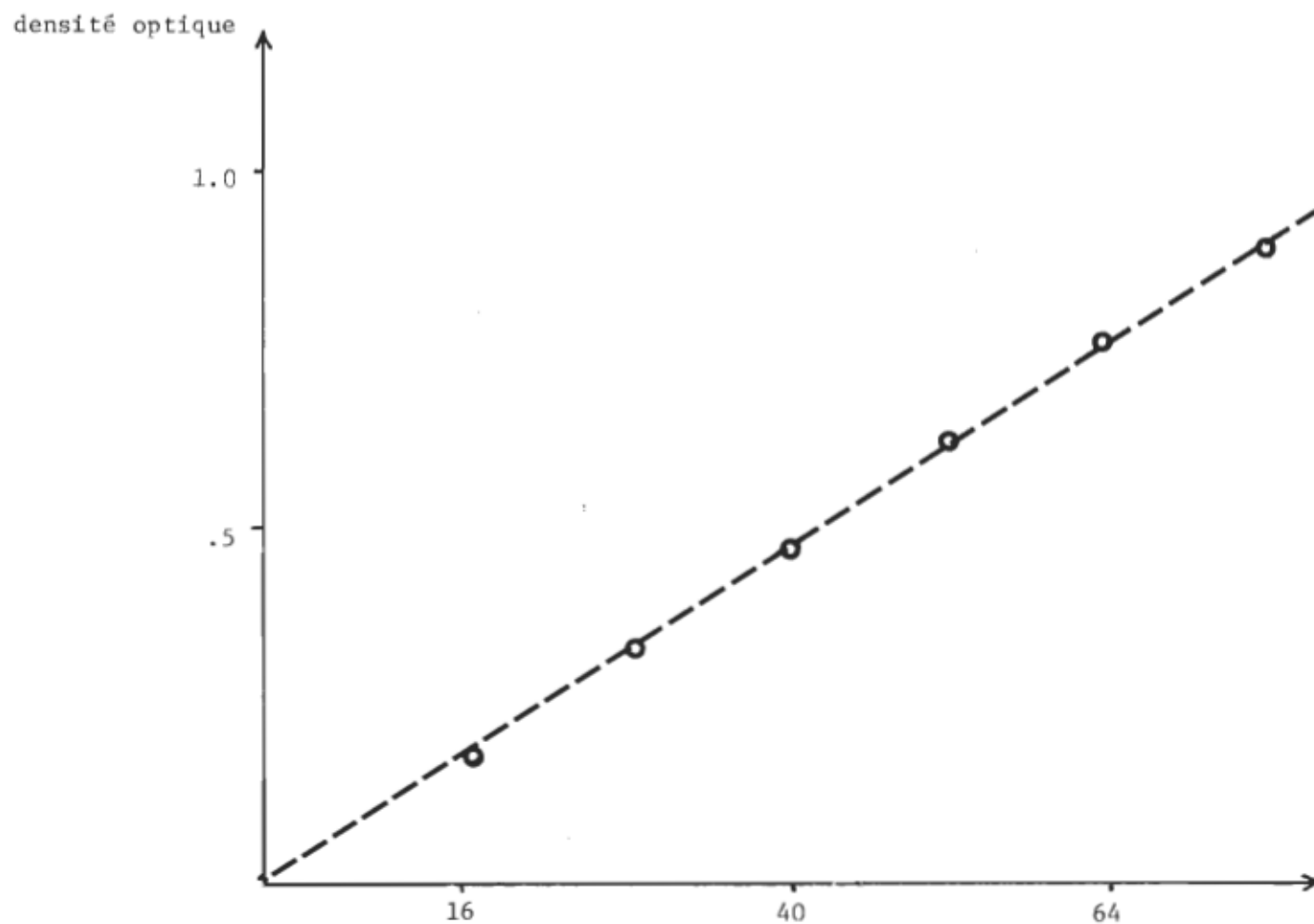
Pour le Coleman 124 on trouve $\epsilon = 1.15 \cdot 10^4 \text{ litre mole}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Pour le SP 1800 on trouve $\epsilon = 1.12 \cdot 10^4 \quad " \quad " \quad "$

Tableau 18

Flacon No.	sol. A	sol. B	sol. C	H ₂ SO ₄ .1N	H ₂ O	conc. A	D.O. COL 124	D.O. SP 1800
1	0 cc	2 cc	5 cc	10 cc	→ 25 cc	0 10 ⁻⁶ M	0.000	0.000
2	.5	"	"	9.5	"	8	.11	.086
3	1	"	"	9	"	16	-	.238
4	1.5	"	"	8.5	"	24	.29	.280
5	2	"	"	8	"	32	.38	.366
6	2.5	"	"	7.5	"	40	.475	.450
7	3	"	"	7	"	48	.56	.532
8	3.5	"	"	6.5	"	56	.66	.638
9	4	"	"	6	"	64	.75	.728
10	4.5	"	"	5.5	"	72	.85	.830
11	5	"	"	5	"	80	.925	.900
12	5.5	"	"	4.5	"			
13	6	"	"	4	"			

Calcul du coefficient d'absorption du ferrioxalate
de potassium: cas du Coleman 124

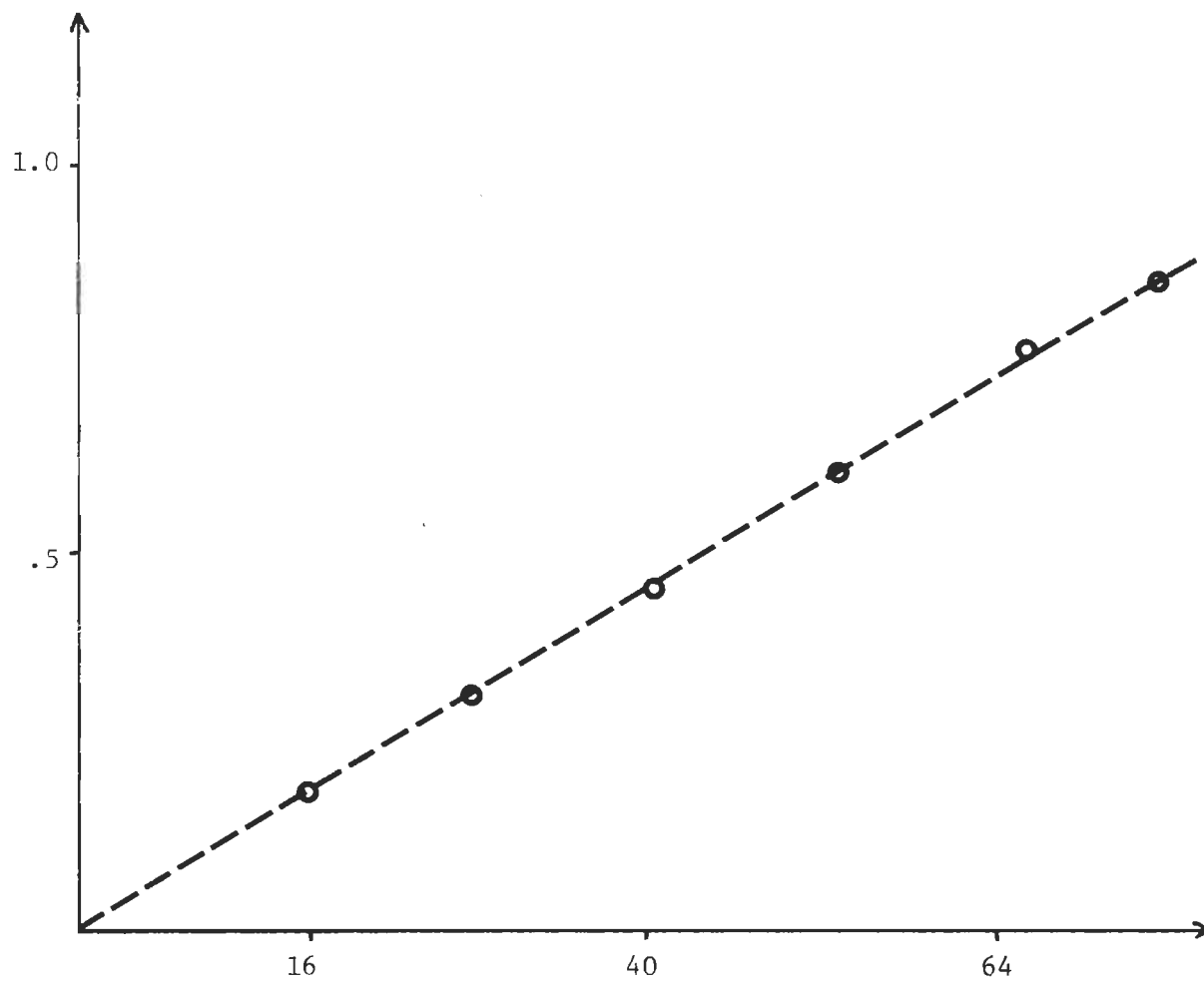


GRAPHIQUE 2

Concentration du ferrioxalate ($\times 10^{-6}$ M)

Calcul du coefficient d'absorption du ferrioxalate
de potassium: cas du SP 1800

densité optique



Concentration de ferrioxalate ($\times 10^6$ M)

GRAPHIQUE 3

4.4 Irradiation de l'actinomètre

Avant d'entreprendre une mesure de rendement quantique relatif, il est nécessaire de s'assurer de deux points fondamentaux quant à l'utilisation de l'actinomètre:

1er point: il faut déterminer le temps de saturation de cet actinomètre, c'est-à-dire le temps au bout duquel ce dernier n'absorbe plus, à cause de sa dégradation presque complète. Ce temps varie évidemment avec l'intensité lumineuse utilisée.

Cette détermination peut aussi se faire par calcul théorique lorsqu'on connaît I_0 , ϕ_A et $[A]$ soit l'intensité incidente, le rendement quantique de disparition de l'actinomètre, et la concentration de ce dernier.

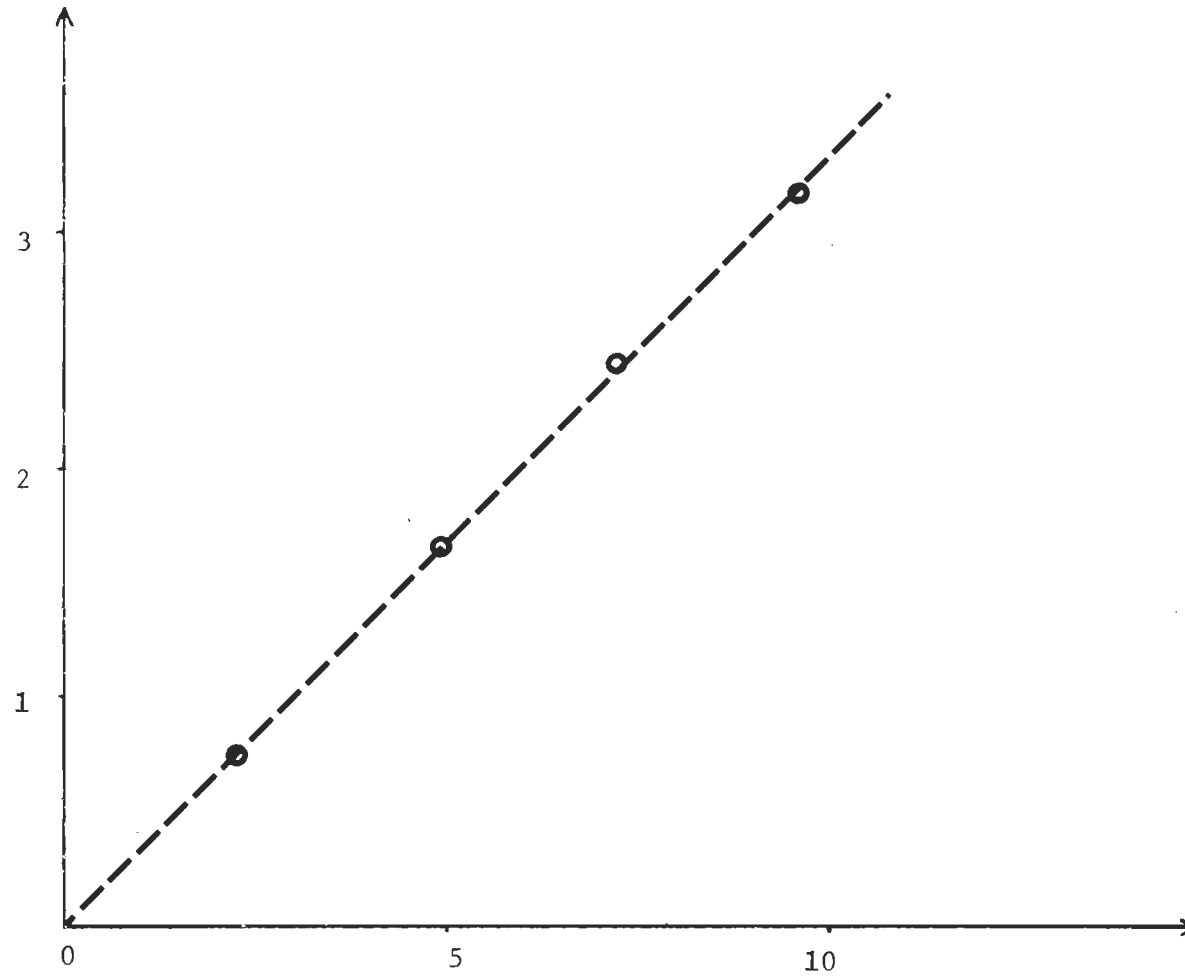
2e point: il faut également être certain que la dégradation de l'actinomètre est linéaire en fonction du temps. Un exemple d'une telle étude est fournie par le tableau 19 et le graphique 4.

Tableau 19

temps (mn)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
densité optique	.000	.355	.690	1.020	1.270	1.690	1.900	2.40	2.60	3.00	3.25

Dégradation du ferrioxalate de potassium
en fonction du temps

densité optique



Temps (mn)

GRAPHIQUE 4

4.5 Détermination de l'intensité incidente de la lampe

Ce calcul est valable aussi bien dans le cas d'une irradiation à 3660 Å que celui à 2537 Å. Dans une première étape il nous faut calculer le nombre d'ions Fe^{++} formés en t secondes. Pour cela on mesure la diminution de densité optique à 5100 Å et connaissant la valeur de ϵ , coefficient d'absorption de l'actinomètre, on arrive à la relation:

$$\Delta C = \frac{\Delta(\text{densité optique})}{\epsilon} \text{ mole litre}^{-1}$$

ΔC = diminution de la concentration en ions Fe^{++} (apparition et complexation de Fe^{++} avec la phénanthroline).

$\Delta(\text{densité optique})$ = différence de densité optique observée pour une irradiation de t secondes

ϵ = coefficient d'absorption de l'actinomètre.

Etant donné que:

$$1 \text{ mole litre}^{-1} \rightleftharpoons 10^{-3} N_0 \text{ ions/cm}^3$$

$$\text{donc } \Delta C = \frac{N_0 \Delta(\text{densité optique})}{10^3 \epsilon}$$

avec N_0 = nombre d'Avogadro

Si on irradie $V_1 \text{ cm}^3$ de solution

qu'on en prélève $V_2 \text{ cm}^3$

et que l'on porte ce volume à $V_3 \text{ cm}^3$ par dilution dans H_2O ,

on aura donc:

$$n_{\text{Fe}^{++}} = \frac{N_0 \Delta(\text{densité optique}) V_1 V_3}{10^3 \epsilon V_2}$$

avec $n_{\text{Fe}^{++}}$ = nombre d'ions ferreux formés en t secondes.

Cette relation n'est valable que pour une cellule d'irradiation de 1 cm de trajet optique. Or l'intensité incidente I_0 de la lampe se calcule par la relation:

$$I_o = \frac{n_{Fe^{++}}}{\phi_A t}$$

ϕ_A = rendement quantique d'apparition de Fe^{++}

t = temps d'irradiation en secondes.

On a donc en définitive:

$$I_o = \frac{N_o \Delta(\text{densité optique}) V_1 V_3}{10^3 \epsilon V_2 \phi_A t} \text{ quanta/sec.}$$

Exemple de calcul:

$$N_o = 6.023 \cdot 10^{23} \text{ atomes mole}^{-1}$$

$$\Delta(\text{densité optique}) = 3.5$$

$$V_1 = 3 \text{ cm}^3$$

$$V_2 = 2 \text{ cm}^3$$

$$V_3 = 10 \text{ cm}^3$$

$$\phi_A = 1.21$$

$$t = 600 \text{ sec}$$

$$\left. \begin{array}{l} N_o = 6.023 \cdot 10^{23} \text{ atomes mole}^{-1} \\ \Delta(\text{densité optique}) = 3.5 \\ V_1 = 3 \text{ cm}^3 \\ V_2 = 2 \text{ cm}^3 \\ V_3 = 10 \text{ cm}^3 \\ \phi_A = 1.21 \\ t = 600 \text{ sec} \end{array} \right\} I_o = 3.9 \cdot 10^{15} \text{ quanta sec}^{-1} \text{ cm}^{-2}$$

4.6 Photodégradation de la colchicine

Soumise aux rayons U.V., la colchicine subit un réarrangement au niveau du cycle tropolone.

Un mécanisme proposé par Chapman (64) explique la formation des lumicolchicines β et α . Ainsi, pour le α -méthyl éther tropolone, on passe par des espèces excitées dipolaires comme l'indique la réaction ci-dessous:

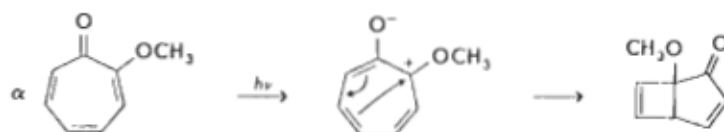


Fig. 9 - Photoisomérisation d'un α méthyl éther tropolone

Cependant, étant donné la complexité de la molécule de colchicine par rapport au tropolone, le produit obtenu n'est pas déterminé uniquement par des facteurs électroniques, mais aussi par des empêchements stériques. C'est la raison pour laquelle le groupement méthoxy OCH_3 n'est pas à la même place dans le photoproduit ci-haut mentionné que dans les lumicolchicines.

Ce même mécanisme est expliqué de façon plus détaillée par Zimmerman (65 et 66), lequel fait intervenir plusieurs étapes telles : excitation, la transition $S_1 \rightarrow T_1$, la redistribution électronique, les réarrangements et la désexcitation.

La figure suivante nous montre de façon détaillée les principaux réarrangements obtenus lors de la photodégradation de la colchicine.

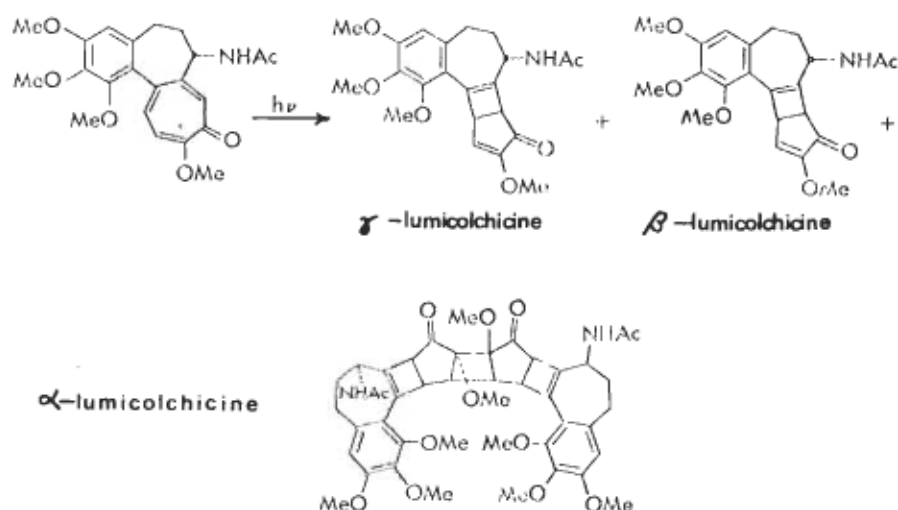


Fig. 10 - Photoisomérisation de la colchicine

En ce qui concerne le mécanisme de la photodimérisation de la lumicolchicine β , celui-ci s'effectuerait en deux étapes.

La première consisterait en la formation d'un biradical intermédiaire stable.

La deuxième, en l'addition de deux intermédiaires qui aboutirait à une dimérisation tête à tête comme l'indiquent les figures 11 et 12.

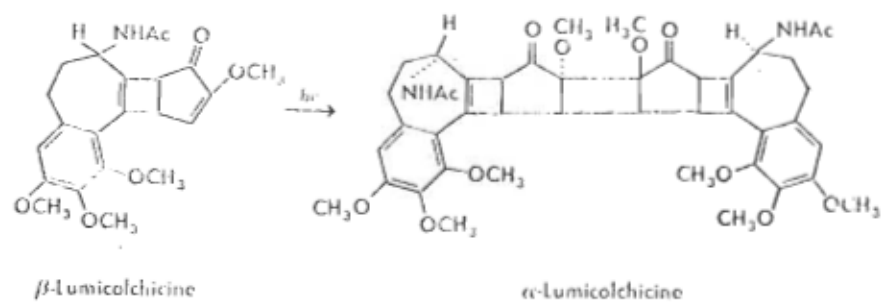


Fig. 11 - Photodimérisation de la lumicolchicine β

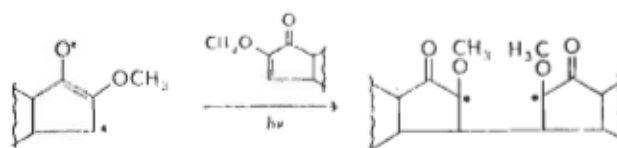
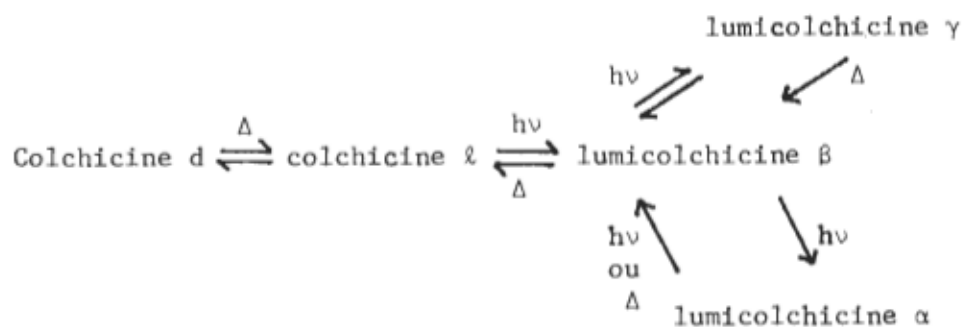


Fig. 12 - Mécanisme radicalaire conduisant à la dimérisation de la lumicolchicine β

Le bilan général de ces mécanismes est récapitulé dans le diagramme ci-dessous (67).



4.7 Rendement quantique de dégradation de la colchicine

Pour avoir une idée de la valeur du rendement quantique de photo-dégradation de la colchicine, il est préférable de faire un premier test sans le système des trois cellules mais en irradiant carrément une seule cellule et en observant ce qui se passe dans le spectre.

La première étape consiste à trouver le plus exactement possible le coefficient d'absorption moléculaire dans le solvant considéré. Prenons par exemple le cas d'une solution aqueuse pour laquelle on a déjà trouvé:

$$\begin{aligned}\epsilon_{351 \text{ nm}} &= 16,550 \text{ litre mole}^{-1} \text{ cm}^{-1} \\ \epsilon_{243 \text{ nm}} &= 29,300 \text{ litre mole}^{-1} \text{ cm}^{-1}\end{aligned}$$

On irradie ensuite cette solution dans une cuvette en quartz de 1 cm de trajet optique et de 2.75 cm³ de volume. La longueur d'onde d'irradiation est celle à 3660 Å et l'intensité a été mesurée : $I_0 = 3.8 \cdot 10^{15}$ quanta/sec - cm².

On prend un spectre toutes les dix minutes et le graphique 5 nous indique l'allure générale des différentes courbes. On s'aperçoit qu'il existe des points communs à toutes les courbes qu'on appelle points isobestiques et qui caractérisent la formation d'un seul photoproduit. On constate aussi que les deux maxima principaux disparaissent progressivement pour faire place à deux autres mais à des longueurs d'onde différentes, soit à 270 et à 210 nm.

Gruwe et Wulf (3) d'une part et Santavy (39) d'autre part, ont trouvé exactement les mêmes maxima lorsqu'ils ont caractérisé les *isocolchicines* β et γ (même spectre d'absorption pour les deux). Ceci nous permet donc d'affirmer qu'on est bien en présence d'un processus primaire.

D'autre part, la mesure de la décroissance de la densité optique à 350 nm nous indique aussi une photodégradation linéaire en fonction du temps, et cela jusqu'à une certaine valeur de ce temps. Au delà de cette valeur, la dégradation n'est plus linéaire, ce qui signifie que les photoproduits sont à leur tour irradiés.

Les résultats apparaissent dans le tableau 20 et sur les graphiques 5 et 6.

Tableau 20

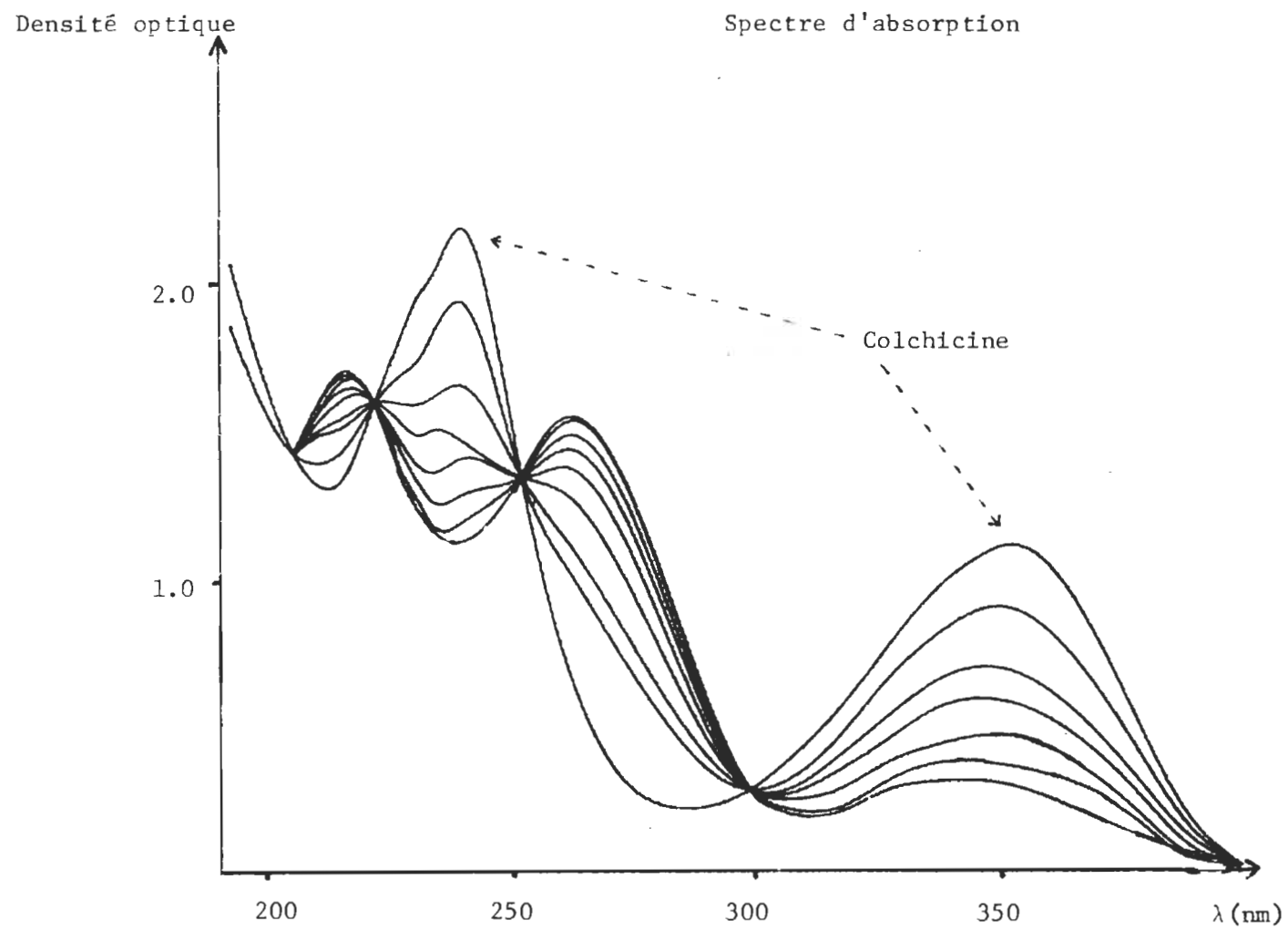
Temps (sec.)	Densité optique à 350 nm	à 244 nm
0	1.05	2.06
600	1.00	2.00
1200	.95	1.95
1800	.92	1.89
2400	.90	1.84

Pour le calcul du rendement quantique de disparition de la colchicine, c'est la décroissance à 350 nm qui va être prise en considération, cette bande d'absorption provenant spécifiquement de la délocalisation des électrons sur le cycle tropolone

Les trois premières valeurs montrent une linéarité parfaite, on ne va donc considérer que la décroissance pendant 600 secondes.

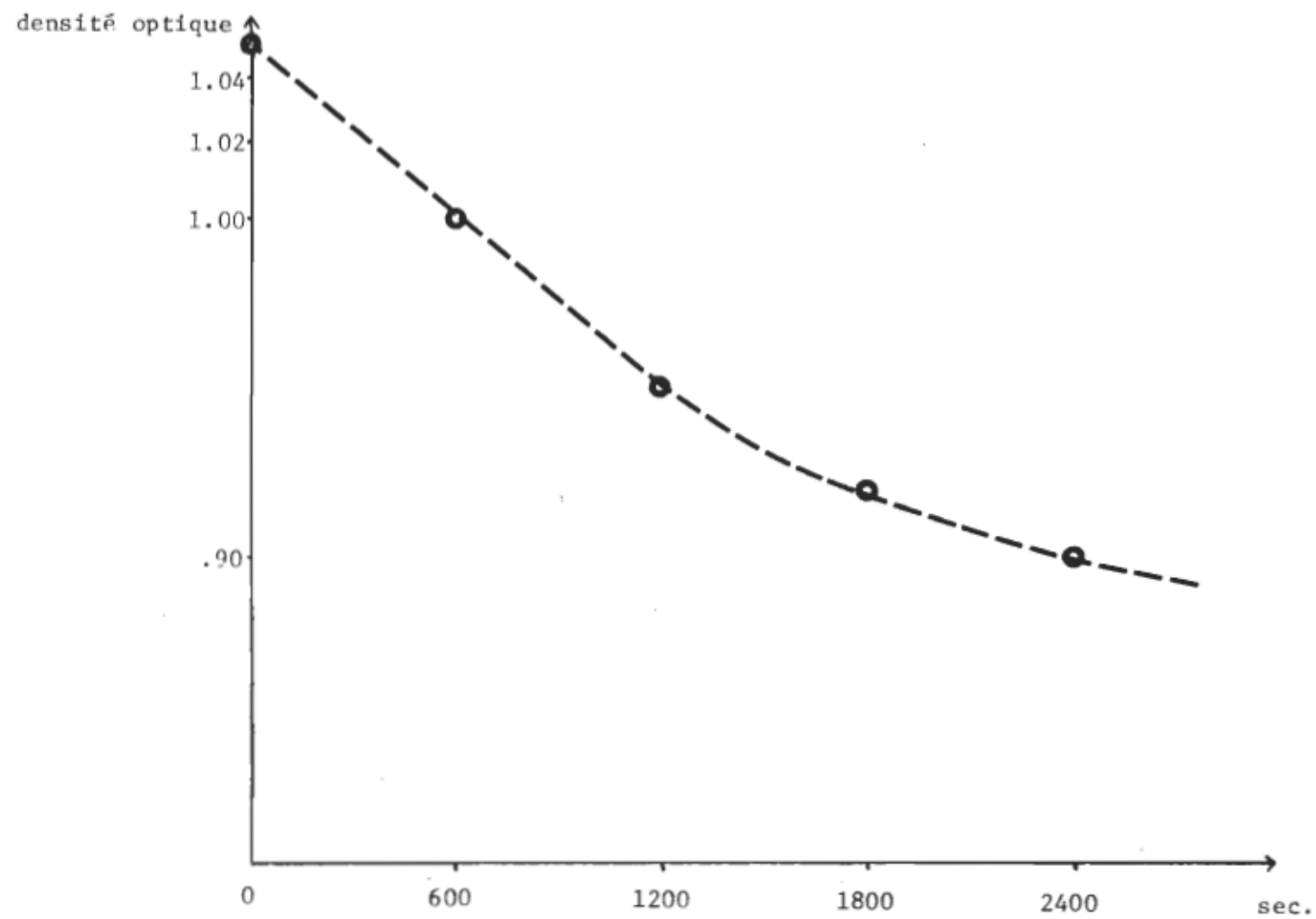
Le nombre de molécules de colchicine qui ont été dégradées est égal à:

Dégradation de la colchicine en fonction du temps:



GRAPHIQUE 5

Dégradation de la colchicine en fonction du temps



GRAPHIQUE 6

$$\begin{aligned}
 n_{\text{col}} &= \frac{\Delta(\text{densité optique}) \times N_0 \times V}{\epsilon \times 10^3} \\
 &= \frac{.05 \times 6.023 \times 10^{23} \times 2.75}{16550 \times 10^3} \\
 &= 5.5 \times 10^{15} \text{ molécules}
 \end{aligned}$$

Le rendement quantique de disparition de la colchicine (non corrigé) devient donc égal à:

$$\begin{aligned}
 \phi_{\text{col}} &= \frac{n_{\text{col}}}{t \times I_0} \\
 &= \frac{5.5 \times 10^{15}}{600 \times 3.8 \times 10^{15}}
 \end{aligned}$$

$\phi_{\text{col}} = 2 \times 10^{-3}$
--

La valeur de ce rendement est à comparer à celui qu'ont trouvé Aronson et Inoué (4) pour la colcémide, soit $\phi = 3 \times 10^{-3}$.

Il faut souligner que la valeur corrigée du rendement pour la colchicine sera déterminée ultérieurement, mais il est égal à 3.5×10^{-3} .

4.8 Effet de solvant

Le but de cette étude est de vérifier et de comparer le comportement de la colchicine, lorsque celle-ci est irradiée dans différents solvants. La concentration des solutions est constante et égale à $5 \cdot 10^{-5}$ M et l'intensité de la lampe donne également une intensité d'absorption constante, comprise entre $5 \cdot 10^{14}$ et 10^{15} quanta $\text{sec}^{-1} \text{ cm}^{-2}$.

La valeur définitive du rendement quantique ainsi obtenue est une moyenne arithmétique de plusieurs résultats et elle est donnée avec une marge d'erreur de 10%.

4.8.1 Correction du rendement quantique

A partir de ce point, tous les rendements quantiques de photodégradation calculés seront corrigés, c'est-à-dire que l'on tiendra compte uniquement de l'intensité absorbée et non plus de l'intensité incidente comme dans le paragraphe précédent.

Soit encore l'exemple d'une solution aqueuse de colchicine. Pour un temps d'irradiation de 4000 secondes, les cellules disposées comme sur la figure 3 donnent les résultats suivants:

Actinomètre arrière : $.315 - .060 = .255$

Actinomètre latéral : $.145 - .060 = .085$ à 510 nm.

Référence : $.060$

L'irradiation de la cellule latérale équivaut à 7% de l'intensité incidente, ce qui représente donc 93% d'irradiation pour la cellule frontale qui contient de la colchicine.

93% représentent donc une densité optique de:

$$.085 \times \frac{93}{7} = 1.13$$

Mais compte tenu de l'intensité qui a traversé la solution sans être absorbée, et qui a irradié la cellule arrière, la densité optique véritable devient:

$$1.13 - .255 = .875$$

On peut vérifier d'autre part que, pour un temps d'irradiation de 1000 secondes,

$$I_0 = 4.45 \cdot 10^{14} \text{ (d.o.) } \frac{1000 \text{ sec.}}{510 \text{ nm}} \text{ quanta sec.}^{-1} \text{ cm}^{-2}$$

$$\begin{aligned} \text{donc } I_{\text{abs}} &= 4.45 \cdot 10^{14} \cdot \frac{.875}{4} \\ &= 9.8 \cdot 10^{13} \text{ quanta sec}^{-1} \text{ cm}^{-2} \end{aligned}$$

C'est donc cette valeur de l'intensité qu'on utilisera dans la formule qui donne le rendement quantique de dégradation. Si on n'avait pas tenu compte de l'actinomètre arrière, on aurait trouvé par contre:

$$\begin{aligned} I_0 &= 4.45 \cdot 10^{14} \cdot \frac{1.13}{4} \\ &= 1.25 \cdot 10^{14} \text{ quanta sec}^{-1} \text{ cm}^{-2} \end{aligned}$$

soit une erreur de + 30% sur l'intensité véritablement absorbée.

4.8.2 Evolution du rendement dans les chlorométhanés

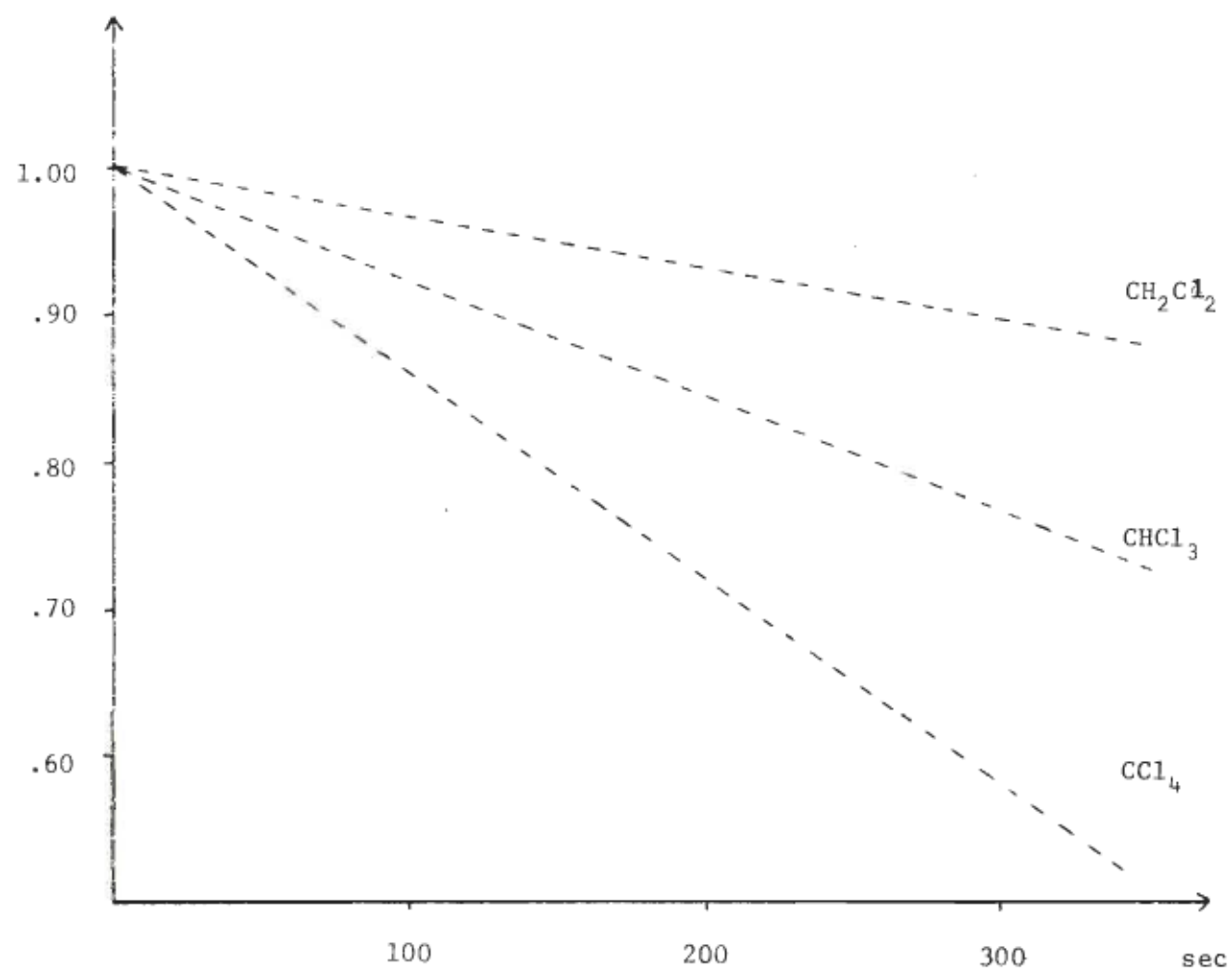
Les résultats concernant la série CCl_4 , CHCl_3 , CH_2Cl_2 apparaissent dans le tableau 21 et sur le graphique 7.

Tableau 21

Temps d'irradiation	d.o. (CCl_4)	d.o. (CHCl_3)	d.o. (CH_2Cl_2)
0 sec.	1.00	1.00	1.00
25	.961	.980	.989
50	.922	.961	.978
75	.883	.941	.967
100	.844	.922	.956
125	.803	.902	.945
150	.765	.884	.933
175	.726	.867	.922
200	.695	.849	.911
250	.628	.821	.893
300	.565	.773	.871
Résultats			
Actinomètre arrière (200 sec)	.391	.324	.409
Actinomètre latéral	.212	.214	.211
Actinomètre référence	.125	.125	.125
Iabs. ($\text{quanta sec}^{-1} \text{ cm}^{-2}$)	$1.34 \cdot 10^{15}$	$1.55 \cdot 10^{15}$	$1.29 \cdot 10^{15}$
$\phi \cdot 10^3$	117	50	34

DECROISSANCE DE LA DENSITE OPTIQUE EN FONCTION DU TEMPS:
CAS DES SOLVANTS CHLORES

Densité optique



GRAPHIQUE 7

4.8.3 Evolution du rendement dans les solvants hydroxylés

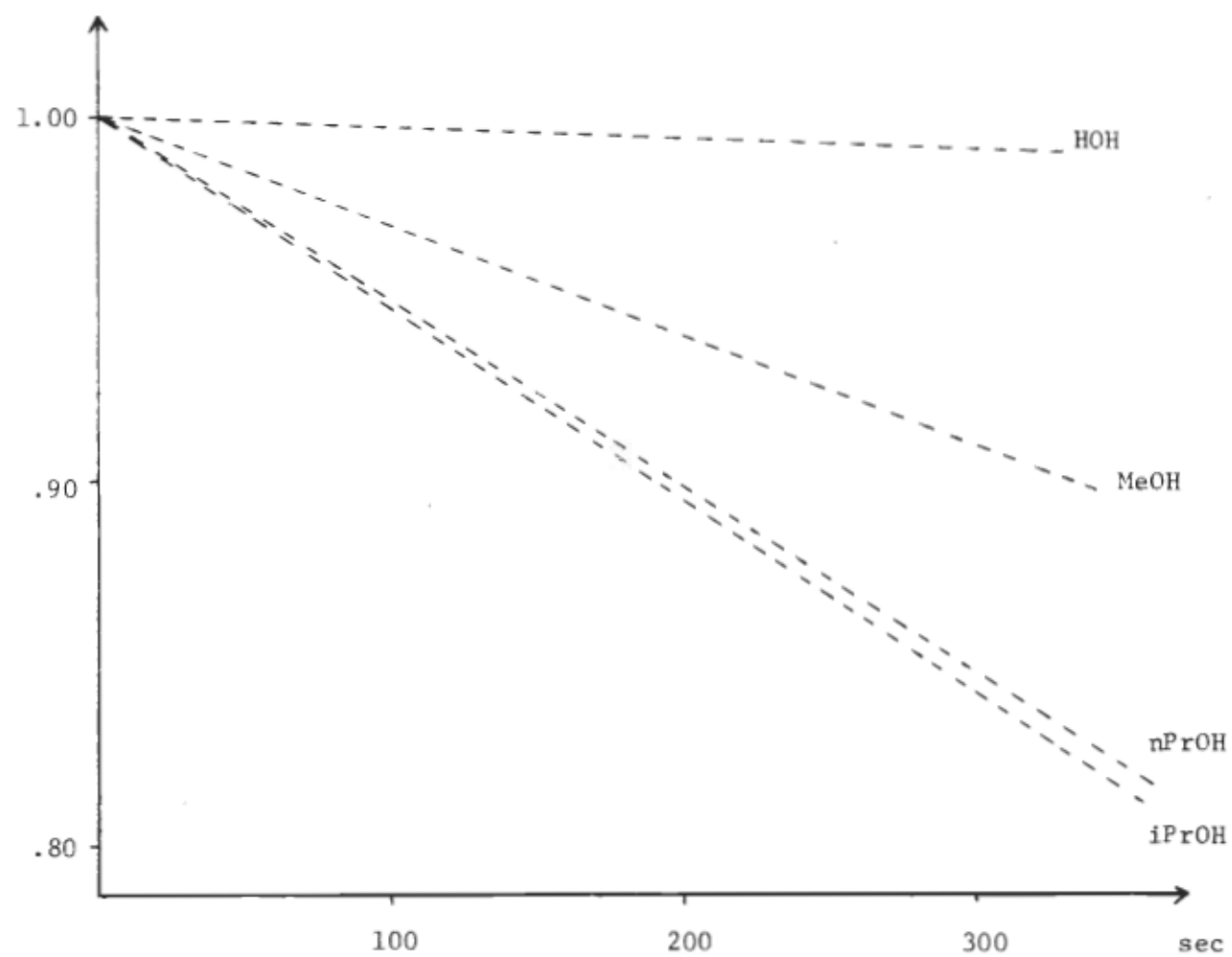
Les résultats concernant la série HOH, CH₃OH, nPrOH, iPrOH sont résumés dans le tableau 22 et sur le graphique 8.

Tableau 22

Temps d'irradiation	d.o. (iPrOH)	d.o. (nPrOH)	d.o. (CH ₃ OH)	d.o. (HOH)
0 seconde	1.00	1.00	1.00	Δ(d.o.) = .02 cm 1000 sec.
25	.988	-	.991	
50	.975	.972	.981	
75	.961	.960	.972	
100	.948	.947	.964	
125	.932	.932	.957	
150	.920	.920	.949	
175	.907	.908	.941	
200	.892	.896	.932	
250	.864	.868	.916	
300	.840	.841	.900	
Résultats				
Actinomètre arrière (200 sec.)	.408	.374	.368	2.37 10 ¹⁵
Actinomètre latéral	.225	.221	.238	
Actinomètre référence	.130	.137	.130	
Iabs. (quanta sec ⁻¹ cm ⁻²)	1.50 10 ¹⁵	1.37 10 ¹⁵	1.89 10 ¹⁵	
Φ 10 ³	35	35	20	3.5

DECROISSANCE DE LA DENSITE OPTIQUE EN FONCTION DU TEMPS:
CAS DES SOLVANTS HYDROXYLES

Densité optique



GRAPHIQUE 8

4.8.4 Autres solvants

De la même façon, d'autres solvants ont été étudiés à cause des conclusions qu'ils auraient pu apporter quant à l'importance de la liaison hydrogène dans le complexe solvant-colchicine.

Toujours dans les mêmes conditions d'intensité et de concentration, on a obtenu les résultats suivants:

Benzène	$\Phi = 15 \cdot 10^{-3}$
Formamide	$\Phi = 16 \cdot 10^{-3}$
N,N-diméthylformamide	$\Phi = 30 \cdot 10^{-3}$

4.8.5 Discussion et interprétation de l'effet de solvant

Les tableaux 23, 24 et 25 nous indiquent les valeurs du moment dipolaire, de la constante diélectrique et de la viscosité, respectivement pour différents solvants. Comme le montrent les graphiques 9, 10, 11 et 12 dans lesquels on a porté le rendement quantique de photodégradation en fonction de la constante diélectrique d'une part et de son moment dipolaire d'autre part, on s'aperçoit que le rendement est inversement proportionnel à ces quantités et cela aussi bien dans les solvants chlorés que dans les solvants hydroxylés. Donc plus la polarité du solvant augmente, plus il devient difficile pour la colchicine de se dégrader photochimiquement.

On peut expliquer ce fait par l'établissement d'un complexe colchicine-solvant par ponts hydrogène, beaucoup plus stables dans le cas d'un solvant polaire, nécessitant donc plus d'énergie pour l'obtention d'une nouvelle configuration de la colchicine à l'état excité, conduisant à sa photodégradation.

Tableau 23

Moment dipolaire des molécules à l'état gazeux (68)

H_2O	$1.85 \cdot 10^{-18} \text{ u.e.s.}$
DHO	1.84
D_2O	1.86
CCl_4	0
CHCl_3	1.02
CH_2Cl_2	1.54
MeOH	1.70
EtOH	1.69
PrOH	1.69
iPrOH	1.67
ButOH	1.67
iButOH	1.64
MeOMe	1.30
1,4-dioxane	0
Anisole	1.38
C_6H_6	0

Tableau 24

Constante diélectrique des liquides (68)

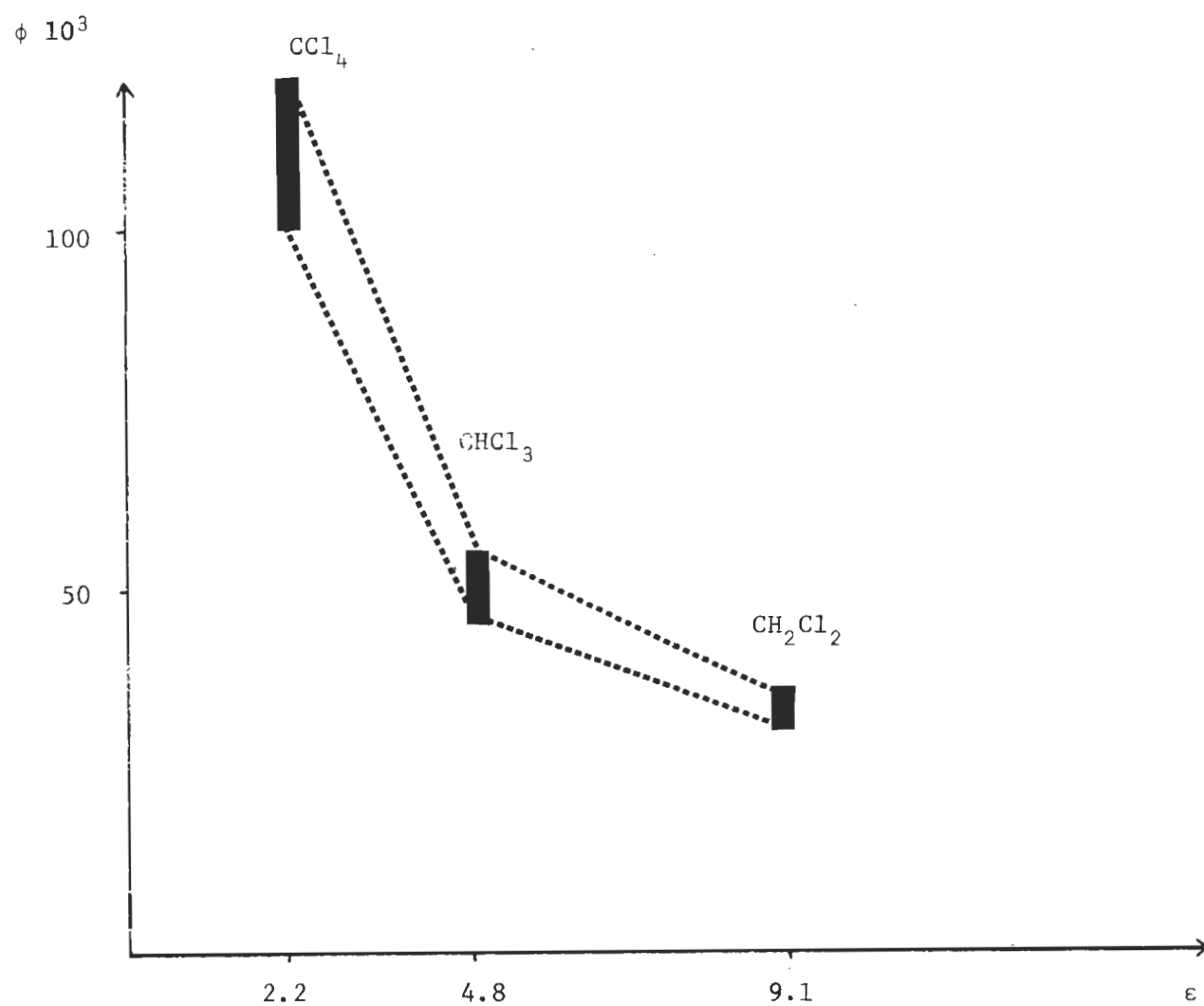
H_2O	80.37 à 20°C 78.54 à 25°C
CCl_4	2.238 à 20°C 2.228 à 25°C
$CHCl_3$	4.808 à 20°C
CH_2Cl_2	9.08 à 20°C
MeOH	32.63 à 25°C
EtOH	24.3 à 25°C
PrOH	20.1 à 25°C
iPrOH	18.3 à 25°C
ButOH	17.1 à 25°C
iButOH	17.7 à 25°C
terButOH	10.9 à 30°C
1,4-dioxane	2.21 à 25°C
EtOEt	4.34 à 20°C

Tableau 25

Viscosité des solvants exprimée en centipoises (68)

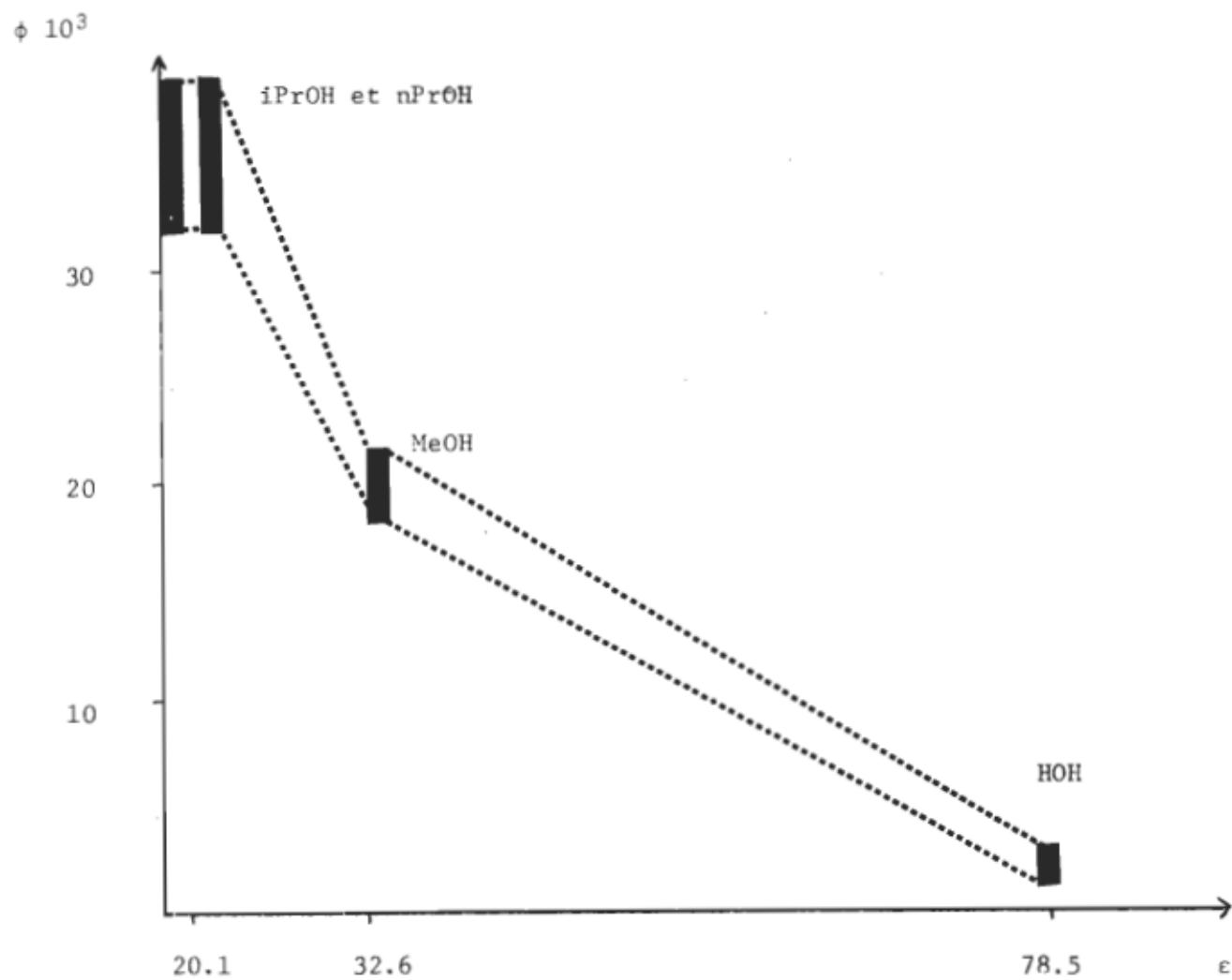
H_2O	1.0050	à 20°C
	.8937	à 25°C
	.8007	à 30°C
MeOH	.597	à 20°C
	.547	à 25°C
	.510	à 30°C
EtOH	1.20	à 20°C
	1.003	à 30°C
CCl_4	.969	à 20°C
	.843	à 30°C
$CHCl_3$	.58	à 20°C
	.542	à 25°C
	.514	à 30°C
CH_2Cl_2	.449	à 15°C
	.393	à 30°C
iPrOH	1.77	à 30°C
C_6H_6	.562	à 30°C

VARIATION DE ϕ EN FONCTION DE LA CONSTANCE DIELECTRIQUE:
CAS DES SOLVANTS CHLORES



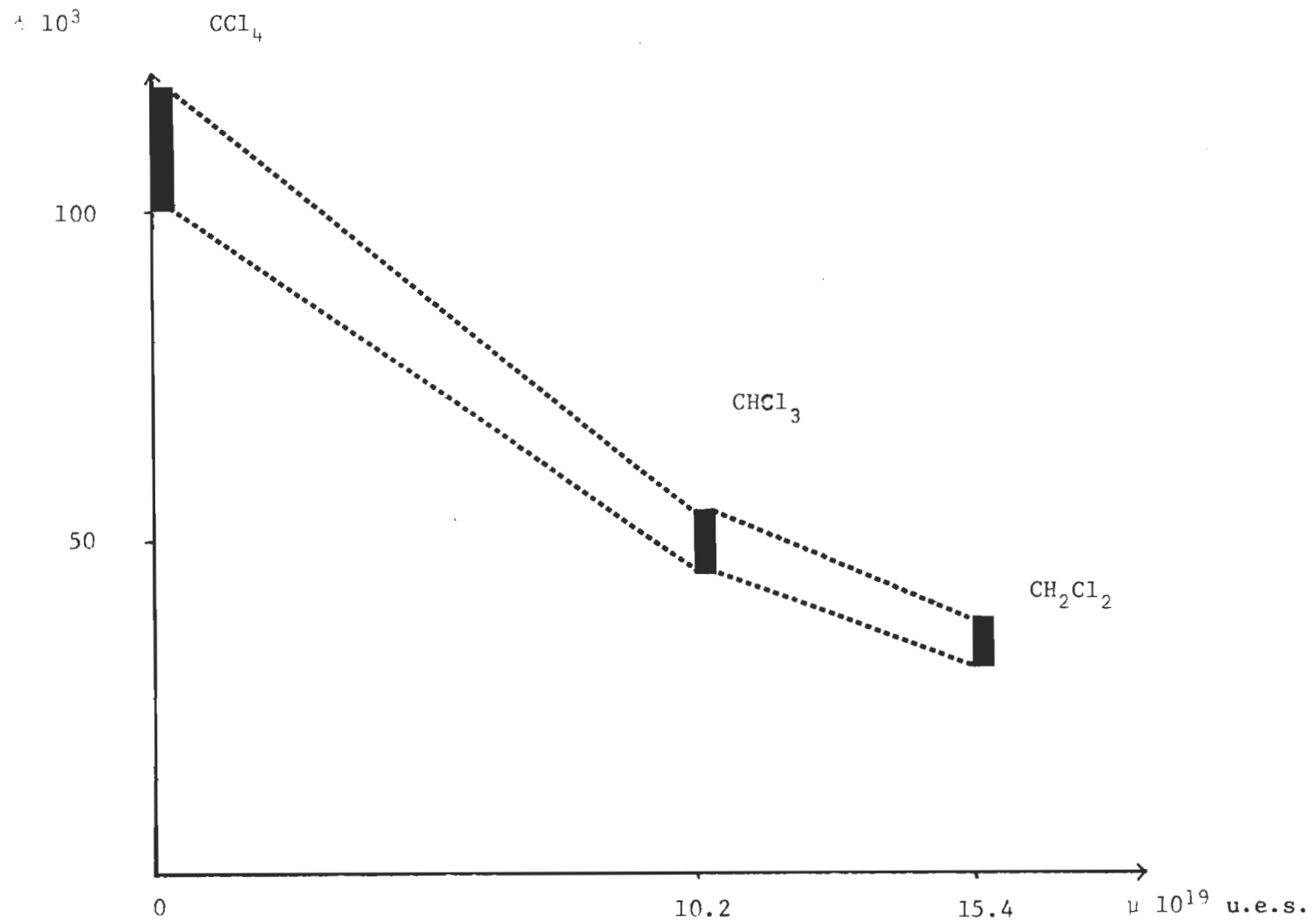
GRAPHIQUE 9

VARIATION DE ϕ EN FONCTION DE LA CONSTANCE DIELECTRIQUE :
CAS DES SOLVANTS HYDROXYLES



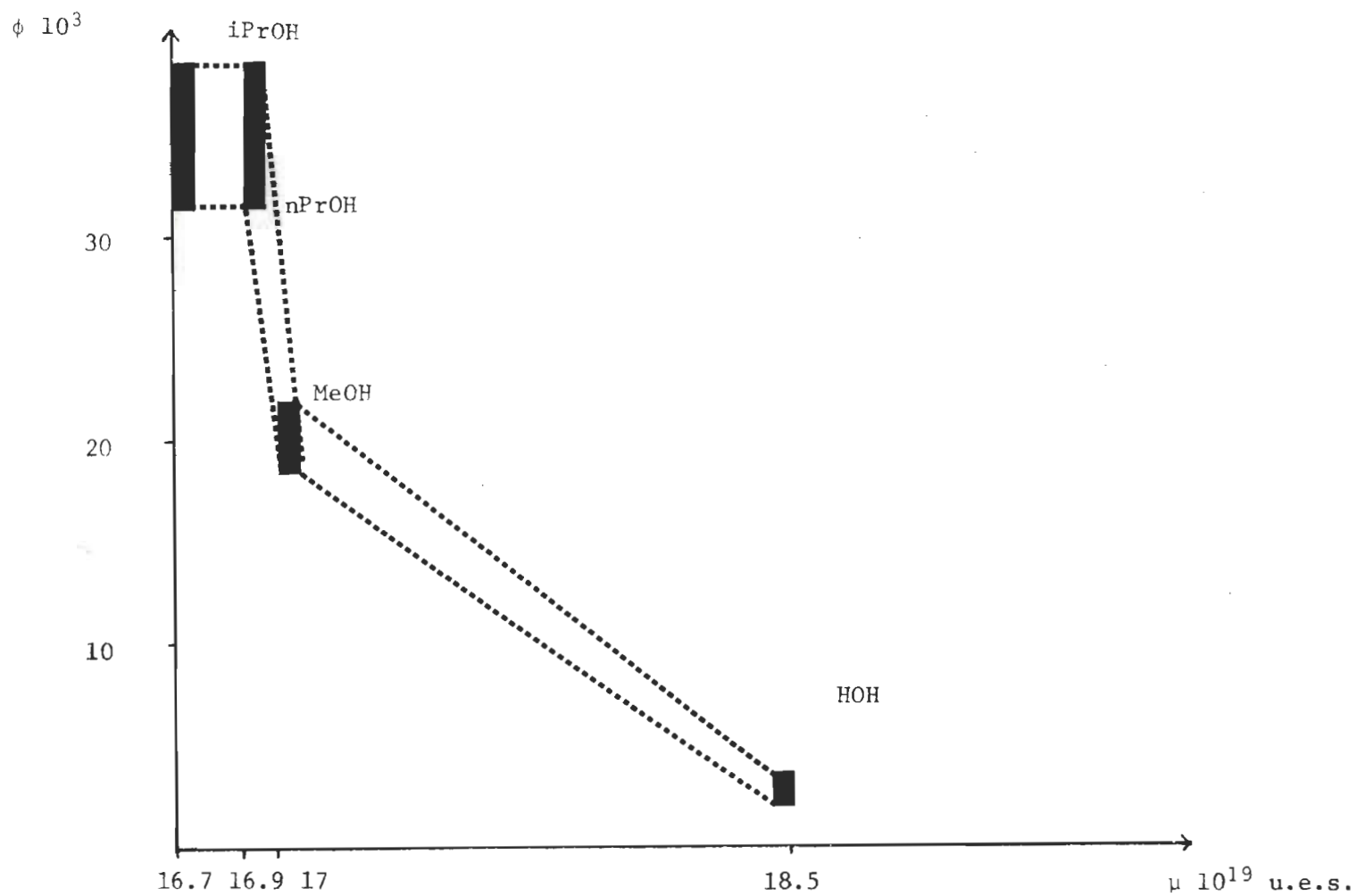
GRAPHIQUE 10

VARIATION DE ϕ EN FONCTION DU MOMENT DIPOLAIRE:
CAS DES SOLVANTS CHLORES



GRAPHIQUE 11

VARIATION DE ϕ EN FONCTION DU MOMENT DIPOLAIRE:
CAS DES SOLVANTS HYDROXYLES



GRAPHIQUE 12

La participation des ponts hydrogène et de la viscosité du solvant a été discutée pour certaines molécules (69 à 71).

La différence de réactivité de l'état excité dans différents solvants, peut aussi être expliquée par l'inversion des niveaux proches $n\pi^*$ et $\pi\pi^*$ (72 à 75), et ce surtout dans le cas de molécules aromatiques carbonylées.

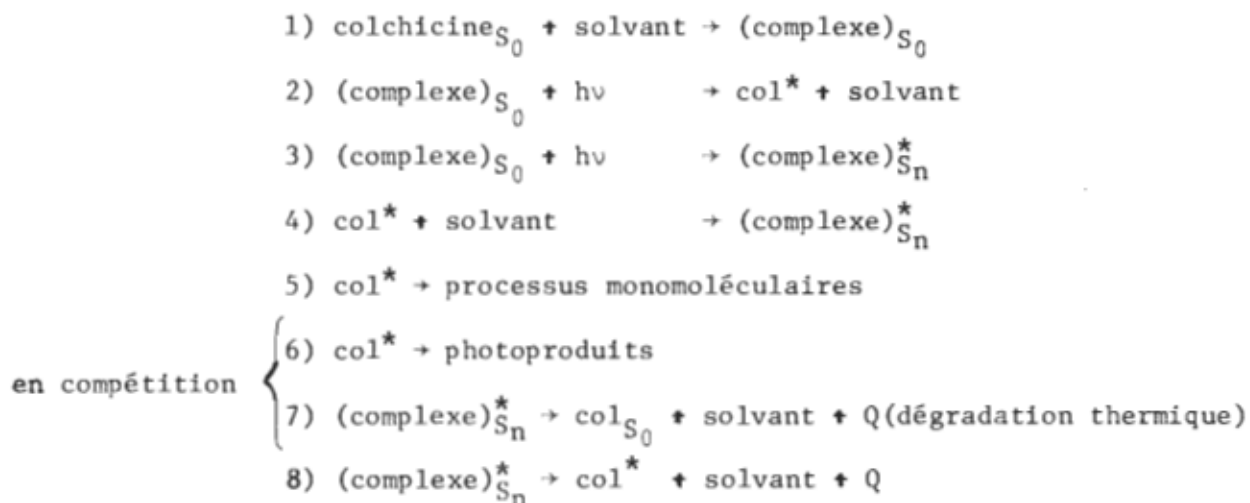
On s'aperçoit donc de la grande complexité d'interprétation du phénomène photochimique lorsque celui-ci est sujet à un effet de solvant. Cependant, en ce qui a trait à nos résultats, plusieurs questions restent à débattre, à savoir:

- pourquoi une différence de comportement entre les chlorométhanés et les solvants hydroxylés?
- pourquoi obtient-on un rendement si faible dans le benzène?
- peut-il se produire une réaction d'abstraction d'hydrogène avec le solvant?
- la différence entre la formamide et son dérivé diméthylé est-elle normale?
- la viscosité du solvant joue-t-elle un rôle quelconque?

Différence alcools-chlorométhanés

Par les graphiques précédents on s'aperçoit qu'à moment dipolaire égal, la colchicine se dégrade plus vite dans un solvant hydroxylé que dans un solvant chloré. Une explication possible de ce résultat réside dans le fait que les deux séries de solvants ont un pouvoir de solvation différent. Il y aurait ainsi beaucoup moins de molécules hydroxylées qui participeraient à l'élaboration du complexe colchicine-solvant que dans le cas des molécules chlorées et ceci à cause des ponts hydrogènes entre molécules d'alcool elles

mêmes. Ces liaisons hydrogène n'existent pas entre deux molécules de chlorométhanés, donc ces dernières participent entièrement à la solvata-tion de la colchicine et donnent des complexes beaucoup plus difficiles à dissocier (toujours en conservant l'idée que pour passer à l'état excité, la colchicine doit se débarrasser de son entourage dans un très court laps de temps). On pourrait donc avoir le schéma réactionnel suivant:



Donc plus le solvant serait polaire ou encore plus son pouvoir de complexation serait important, plus la probabilité de formation de $(\text{complexe})_{S_n}^*$ serait grande et comme ce processus entre en compétition avec la formation des photoproduits, plus le rendement quantique de dégradation de la colchicine diminuerait.

L'énergie libérée par la désactivation de $(\text{complexe})_{S_n}^*$ servirait à briser les ponts hydrogène (~ 5 Kcal par pont hydrogène) établis entre la colchicine et le solvant, ou encore à libérer la molécule de colchicine. Ceci expliquerait donc pourquoi, avec une énergie d'excitation égale, la formation de photoproduits serait moins rapide dans le cas des solvants chlorés que dans le cas des alcools.

Il est cependant important de remarquer que la seule preuve d'une réaction photochimique au point de vue expérimental, réside dans la mesure de la décroissance de densité optique à 350 nm. Cette technique donne un très bon aperçu des cinétiques de dégradation photochimique mais demeure toutefois stérile quant aux cinétiques individuelles de formation des lumi-colchicines. La technique de chromatographie en couche mince n'est pas assez précise pour cela et une possibilité de résolution du problème réside dans la technique de chromatographie en phase gazeuse si cela s'avère possible, car jusqu'à présent, il a été impossible d'obtenir une réponse du chromatographe aussi bien avec la colchicine que la colchamine ou que le tropolone.

Cas du benzène

Comme le tétrachlorure de carbone, le benzène possède un moment dipolaire nul. Donc, à priori, il devrait se comporter comme lui et on devrait donc obtenir des rendements semblables. Or, pour le CCl_4 on obtient $110 \cdot 10^{-3}$ et dans le cas de C_6H_6 on obtient $15 \cdot 10^{-3}$. Comment expliquer ce fait?

Il ne faut pas perdre de vue que la colchicine elle même possède un moment dipolaire permanent. Donc, lorsqu'elle est solvatée, elle induit sur son entourage un champ électrique qui provoque la polarisation des molécules de solvant. Donc si le benzène était plus polarisable que le tétrachlorure de carbone, ceci pourrait alors expliquer la différence dans le rendement photochimique.

Le tableau 26 nous indique les différentes valeurs de la polarisibilité α selon les trois axes spaciaux (76 et 77).

Tableau 26

CCl_4	$\alpha_1 = 105$	$\alpha_2 = 105$	$\alpha_3 = 105$	$\alpha = 105$
C_6H_6	$\alpha_1 = 63.5$	$\alpha_2 = 123.1$	$\alpha_3 = 123.1$	$\alpha = 103.2$

$\alpha_1 =$ (l'axe étant perpendiculaire au cycle benzénique)

Si l'on ne considère que la valeur de α , il n'y a pratiquement pas de différence entre les deux solvants. Par contre, si l'on admet que dans le complexe, les molécules de solvant prennent une orientation bien définie, ceci signifierait que les molécules de C_6H_6 seraient pratiquement perpendiculaires à la molécule de colchicine en prenant le plan des carbones comme référence. La polarisibilité de C_6H_6 serait donc supérieure à celle de CCl_4 et ceci expliquerait une plus grande solvatation dans le cas du benzène, molécule de plus petite taille que le tétrachlorure.

Possibilité de réaction secondaire

Il a déjà été prouvé que les cétones aromatiques, la benzophénone en particulier, pouvait donner lieu à une réaction d'abstraction de l'hydrogène, quand soumises à une irradiation dans un solvant adéquat tel l'isopropanol.

La colchicine pourrait se conduire de la même façon et pour mettre ce point en évidence deux méthodes sont à envisager. La première utiliserait la chromatographie en phase gazeuse avec la possibilité de déceler l'acétone formée (78 et 79).

La seconde méthode consisterait à vérifier si une variation de concentration ou d'intensité incidente, amènerait un changement dans la valeur

des rendements quantiques de photodégradation. Ceci va être vérifié dans les prochains paragraphes.

Différence entre la formamide et son dérivé N,N-diméthylé:

Dans la formamide, l'atome d'azote qui possède un doublet libre responsable des ponts hydrogène, est porteur de deux atomes d'hydrogène. Dans le dérivé N,N-diméthylé, ce même azote est soudé à deux radicaux $-CH_3$ beaucoup plus volumineux que ne le sont les hydrogènes. On peut donc affirmer que le doublet électronique libre de l'atome d'azote est beaucoup plus disponible dans la formamide que dans son dérivé. Il en découle donc une plus grande capacité pour la formamide de contracter des liaisons hydrogène avec par exemple l'oxygène du groupement carbonyle de la colchicine. Les ponts hydrogène étant plus fort dans la formamide, on doit donc s'attendre à un rendement plus faible que dans le N,N-diméthyl formamide.

C'est bien ce que nous indiquent les résultats expérimentaux.

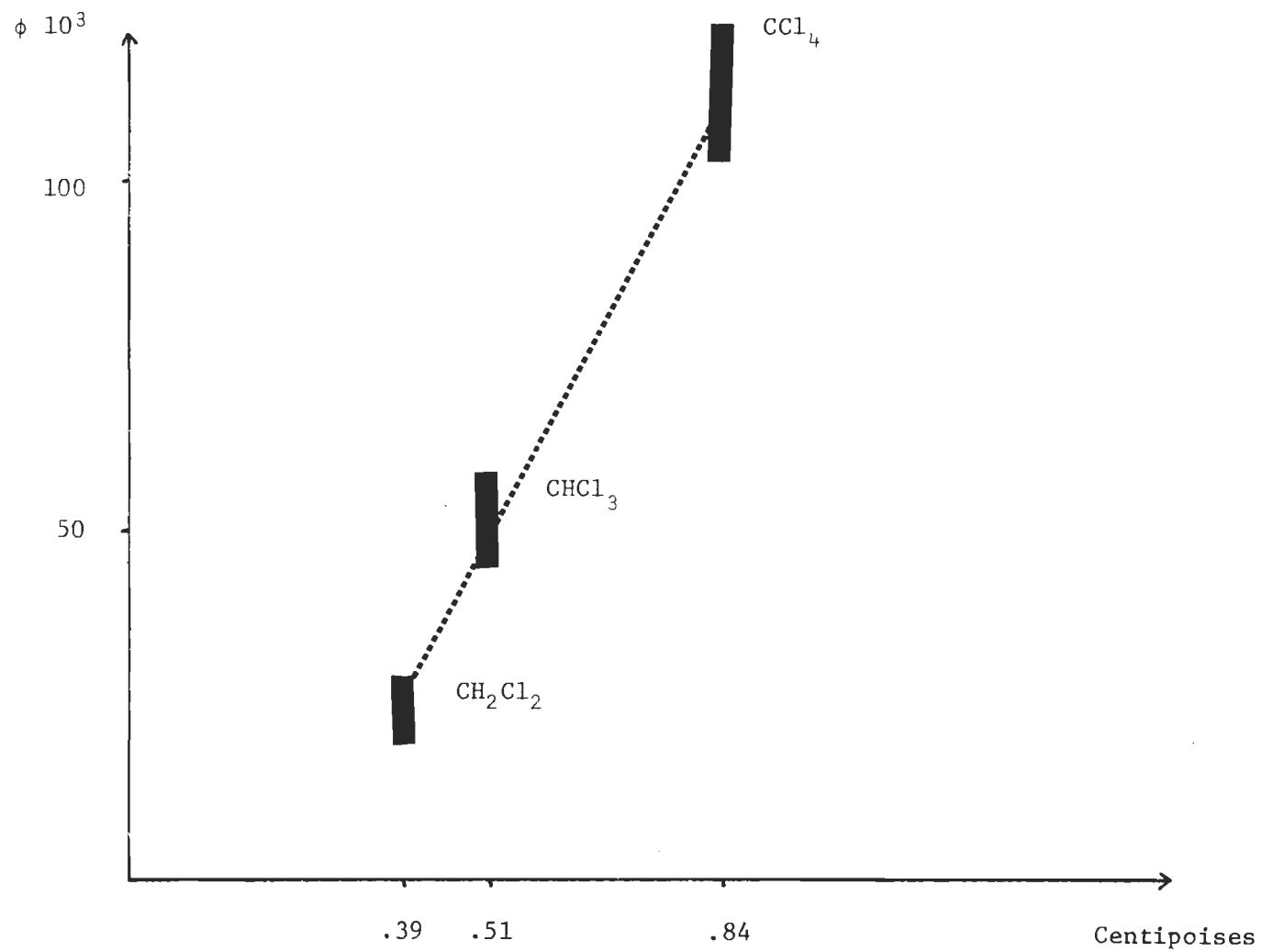
La viscosité du solvant a-t-elle une certaine importance?

Les graphiques 13 et 14 étudient la variation du rendement en fonction de la viscosité du solvant.

On s'aperçoit de la parfaite linéarité de la courbe dans le cas des solvants chlorés, ce qui n'est pas le cas pour les solvants hydroxylés.

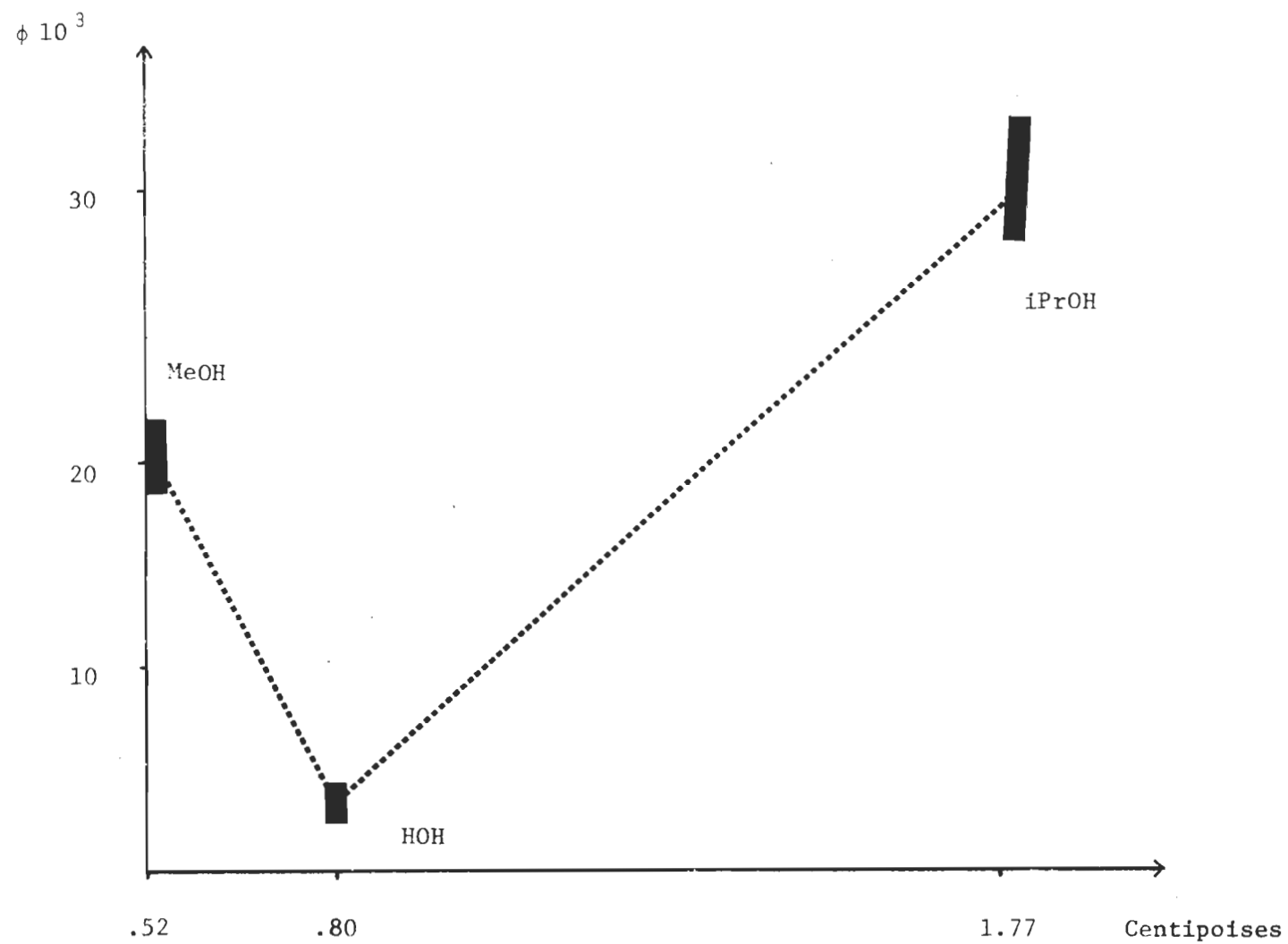
Il semblerait que la viscosité ne puisse expliquer à elle seule le comportement des solvants dans leur rôle de complexation de la colchicine, puisque cette notion de viscosité englobe beaucoup d'autres propriétés fondamentales au niveau microscopique.

VARIATION DE ϕ EN FONCTION DE LA VISCOSITE:
CAS DES SOLVANTS CHLORES



GRAPHIQUE 13

VARIATION DE ϕ EN FONCTION DE LA VISCOSITE:
CAS DES SOLVANTS HYDROXYLES



GRAPHIQUE 14

4.9 Effet d'intensité

Trois intensités différentes ont été utilisées. Les résultats apparaissent dans le tableau 27.

Il est à noter d'autre part que la vitesse d'abstraction de l'hydrogène est douze fois supérieure dans le cas de l'isopropanol que dans celui du benzène par exemple.

Donc, en ce qui concerne l'effet d'intensité, on ne peut considérer que les résultats obtenus militent en faveur d'une réaction secondaire, les valeurs du rendement quantique ne variant que par la marge d'erreur expérimentale, à savoir $\pm 10\%$.

Tableau 27

Variation de $\phi(10^3)$ en fonction de I_0 (quanta $\text{sec}^{-1} \text{ cm}^{-2}$)

Intensité Solvant	10^{15}	$\sim 5 \cdot 10^{14}$	$1 \cdot 10^{14}$
CCl_4	$1.27 \cdot 10^{15}$ 117	$4.65 \cdot 10^{14}$ 110	$9.9 \cdot 10^{13}$ 115
CHCl_3	$1.34 \cdot 10^{15}$ 50	$2.4 \cdot 10^{14}$ 42	$2.2 \cdot 10^{14}$ 46
CH_2Cl_2	$1.29 \cdot 10^{15}$ 34	$4.48 \cdot 10^{14}$ 31	$1.5 \cdot 10^{14}$ 29
iPrOH	$1.50 \cdot 10^{15}$ 35	$4.48 \cdot 10^{14}$ 32	1.14 39
MeOH	$1.89 \cdot 10^{15}$ 20	$5.85 \cdot 10^{14}$ 19	$1.8 \cdot 10^{14}$ 23
HOH	$2.05 \cdot 10^{15}$ 3	$5.8 \cdot 10^{14}$ 3.5	$1.33 \cdot 10^{14}$ 3
nPrOH	$1.37 \cdot 10^{15}$ 35		$2.4 \cdot 10^{14}$ 32
C_6H_6	$2.55 \cdot 10^{15}$ 16	$5.9 \cdot 10^{14}$ 17	$1.02 \cdot 10^{14}$ 15

4.10 Effet de concentration

Après avoir vérifié qu'il n'existait aucun effet de concentration pour des solvants tels le benzène (probabilité d'abstraction de l'hydrogène infiniment faible) et le méthanol (faible probabilité d'abstraction), des mesures ont été faites avec l'isopropanol comme solvant. Comme l'indiquent les résultats dans le tableau 28, il semblerait qu'il y ait cette fois un effet de concentration car les valeurs du rendement varient du simple au double lorsque la concentration de la solution de colchicine passe de 10^{-5} M à 10^{-4} M.

Tableau 28

Concentration dans iPrOH	Rendement $\times 10^3$
$1 \cdot 10^{-5}$ M	15
$2 \cdot 10^{-5}$ M	17
$2.5 \cdot 10^{-5}$ M	26
$3 \cdot 10^{-5}$ M	28
$5 \cdot 10^{-5}$ M	33
$1 \cdot 10^{-4}$ M	45

CHAPITRE CINQUIEME

LUMINESCENCE

LUMINESCENCE

L'étude de la luminescence de la colchicine est d'autant plus importante que certains auteurs (81 à 85) ont déjà tenté, parfois avec succès, de trouver une corrélation entre l'activité biologique d'une substance cancérigène et l'énergie de leurs états excités.

Or, il ne faut pas perdre de vue que le mode d'action de la colchicine sur la cellule vivante n'a pas reçu encore l'éclaircissement désiré. Pour le moment donc, toute hypothèse est permise.

Dans cet ordre d'idées, nous allons passer en revue les différents points théoriques nécessaires à la compréhension du phénomène d'abord, puis, par des techniques particulières nous allons caractériser cette luminescence et calculer les différentes composantes telles le rendement de luminescence, le temps de vie des états excités, la polarisation ...

Une importance particulière sera apportée à l'étude des standards utilisés pour le calcul des rendements de luminescence.

5.1 Généralités

5.1.1 Durée de vie des états excités:

Le fait que l'absorption de lumière par un ensemble de molécules ne dépende généralement pas du temps, indique que le nombre de systèmes absorbants reste constant, c'est-à-dire que les molécules excitées retournent rapidement à l'état fondamental. Elles peuvent le faire en réémettant une radiation et ce phénomène porte le nom général de luminescence. Dans ce type de désexcitation, on peut définir une durée de vie τ d'un état excité par l'inverse du coefficient d'émission spontanée introduite au chapitre 3.

$$\tau = \frac{1}{A_{12}} = \frac{N_c}{8\pi \times 2303 \nu^2 \int \epsilon_\nu d\nu} \cdot \frac{g_1}{g_2}$$

Dans cette équation, le facteur $\int \epsilon_\nu d\nu$ joue un rôle prépondérant puisqu'il peut prendre des valeurs de l'ordre de 10^9 dans le cas d'une transition permise ou bien être pratiquement nul si la transition est interdite. Cela a conduit à distinguer deux sortes de luminescence connues sous le nom de fluorescence et de phosphorescence*. Mais on a remarqué que l'émission de radiations ne suffisait pas à interpréter les faits expérimentaux et qu'il fallait faire appel à des processus non radiatifs.

5.1.2 Désexcitation non radiative

On a déjà vu que l'énergie d'une molécule dépendait non seulement de

* D'une façon approximative, on peut poser:

$$\tau_0 \approx \frac{10^{-14}}{\epsilon_{\max}} \text{ sec.}$$

son état électronique mais aussi de la position relative de ses atomes. Une transition électronique verticale peut donc l'amener à avoir une énergie supérieure à celle qui correspond à la configuration la plus stable dans le nouvel état S. Cet excédent d'énergie se manifeste sous forme vibrationnelle mais il est rapidement perdu par la molécule lors des chocs avec les molécules de son entourage. A la température ordinaire, le temps de désexcitation vibrationnelle est extrêmement court, soit de l'ordre de 10^{-12} seconde. Ce processus n'est pas radiatif. On peut atteindre ainsi l'état fondamental, uniquement par "cascade vibrationnelle", avec perte d'énergie thermique par la molécule.

Cependant, il se peut qu'au cours de cette désexcitation vibrationnelle la molécule se trouve dans un autre état excité S, voir figure 13. Ceci devient alors une conversion interne. Cette intersection des courbes de potentiel est très fréquente dans les molécules polyatomiques qui comportent un très grand nombre de degrés de liberté vibrationnels.

Enfin, il est possible qu'un des états excités rencontrés soit non liant ou peu liant, et que l'énergie vibrationnelle soit suffisante pour provoquer la rupture d'une liaison chimique. On dit alors qu'il y a pré-dissociation de la molécule (fig. 14).

Cette caractéristique permet sans aucune ambiguïté de séparer le phénomène de diffusion de Rayleigh avec celui de fluorescence car cette dernière ne dépend pas de la longueur d'onde d'excitation.

De plus, la fluorescence est en concurrence avec des processus non radiatifs et l'on peut définir un rendement quantique de fluorescence Φ_F .

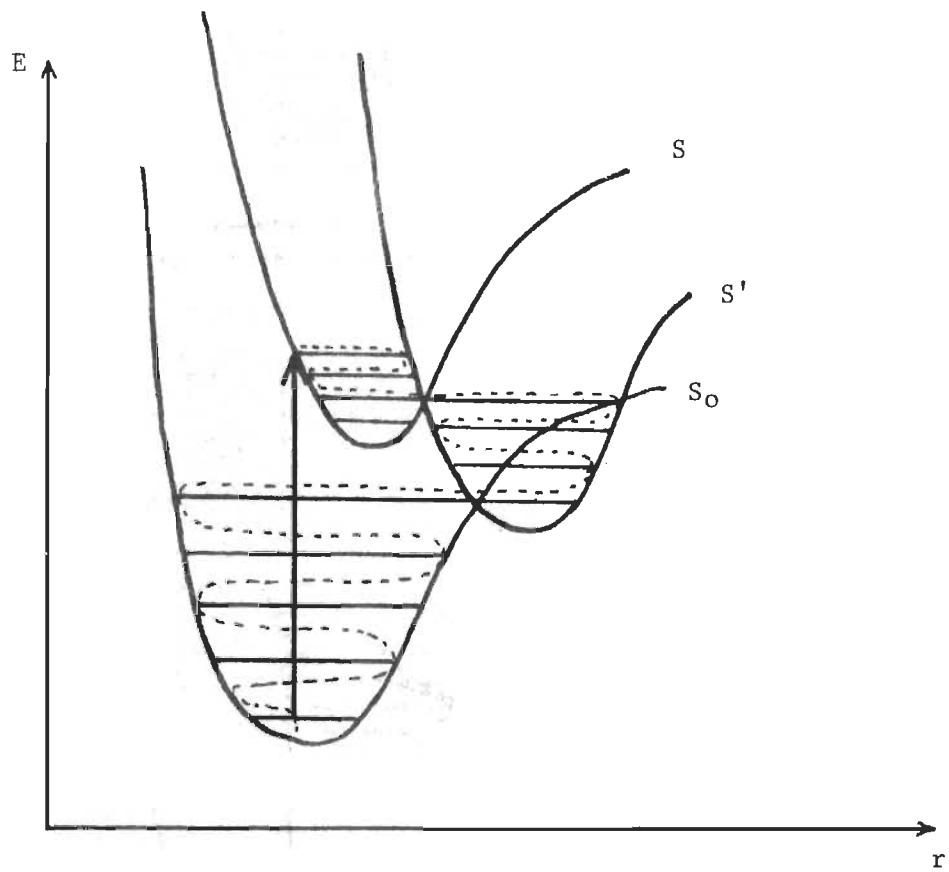


Fig. 13 - Conversion interne et désexcitation non radiative

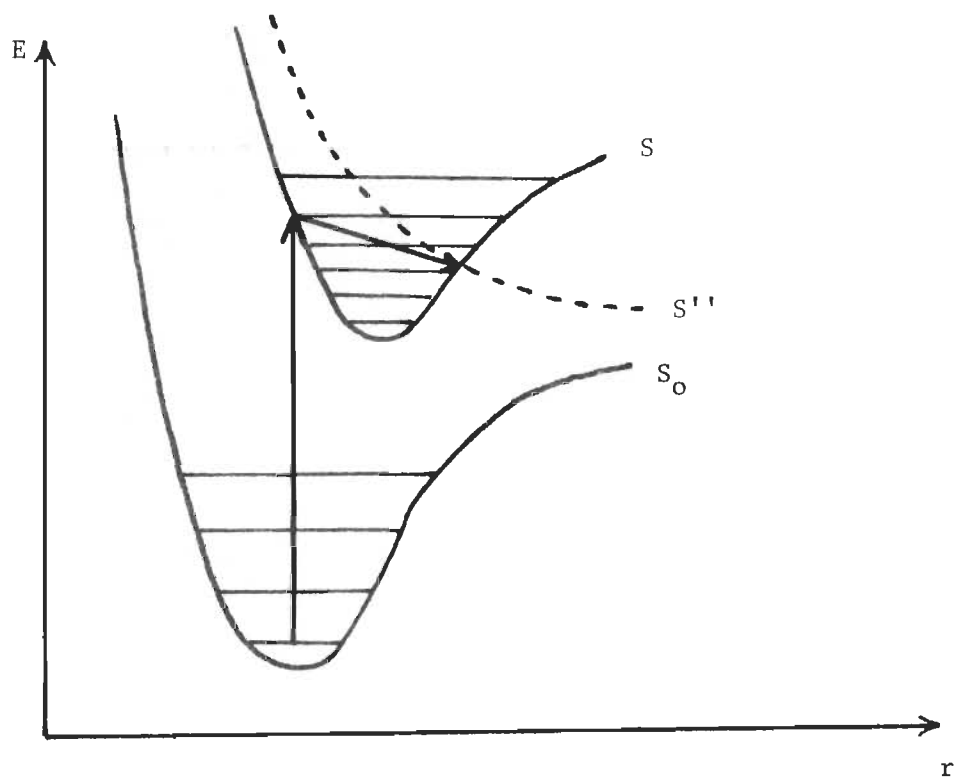


Fig. 14 - Prédissociation

$$\Phi_F = \frac{\text{nombre de photons réémis par fluorescence}}{\text{nombre de photons absorbés}}$$

Ces rendements sont d'ordinaire très inférieurs à l'unité. Dans de nombreux cas, la fluorescence est observée à la température ordinaire, un abaissement de température ayant un effet favorable puisque diminuant la probabilité des transitions non radiatives.

5.1.3 Fluorescence

Lorsque la désexcitation non radiative n'a pas une grande possibilité de se produire, le retour à l'état fondamental d'une molécule dans un état excité peut se faire par émission de rayonnement. On donne le nom de *fluorescence* à ce phénomène lorsque la transition est permise (états de même multiplicité). On pourra avoir différents cas:

$S_0 \rightarrow S_1$	fluorescence normale
$S_p \rightarrow S_0$	cas de l'azulène
$T_q \rightarrow T_1$	fluorescence
$S_p \rightarrow S_1$	fluorescence non encore décelée.

L'état excité a une faible durée de vie (10^{-6} sec. à 10^{-9} sec.) qui est cependant grande devant le temps nécessaire à la molécule pour perdre son énergie de vibration, de sorte que l'émission se fait à partir de l'état vibrationnel le plus bas. Comme lors de l'absorption, la transition est verticale et l'on peut constater sur la figure 15 que l'émission ne peut se faire qu'à des longueurs d'onde égales ou supérieures à celles du spectre d'absorption. Cette remarque est confirmée par l'expérience (86).

Il arrive souvent que les spectres d'absorption et d'émission soient symétriques. Ceci s'explique par les diagrammes de la figure 16.

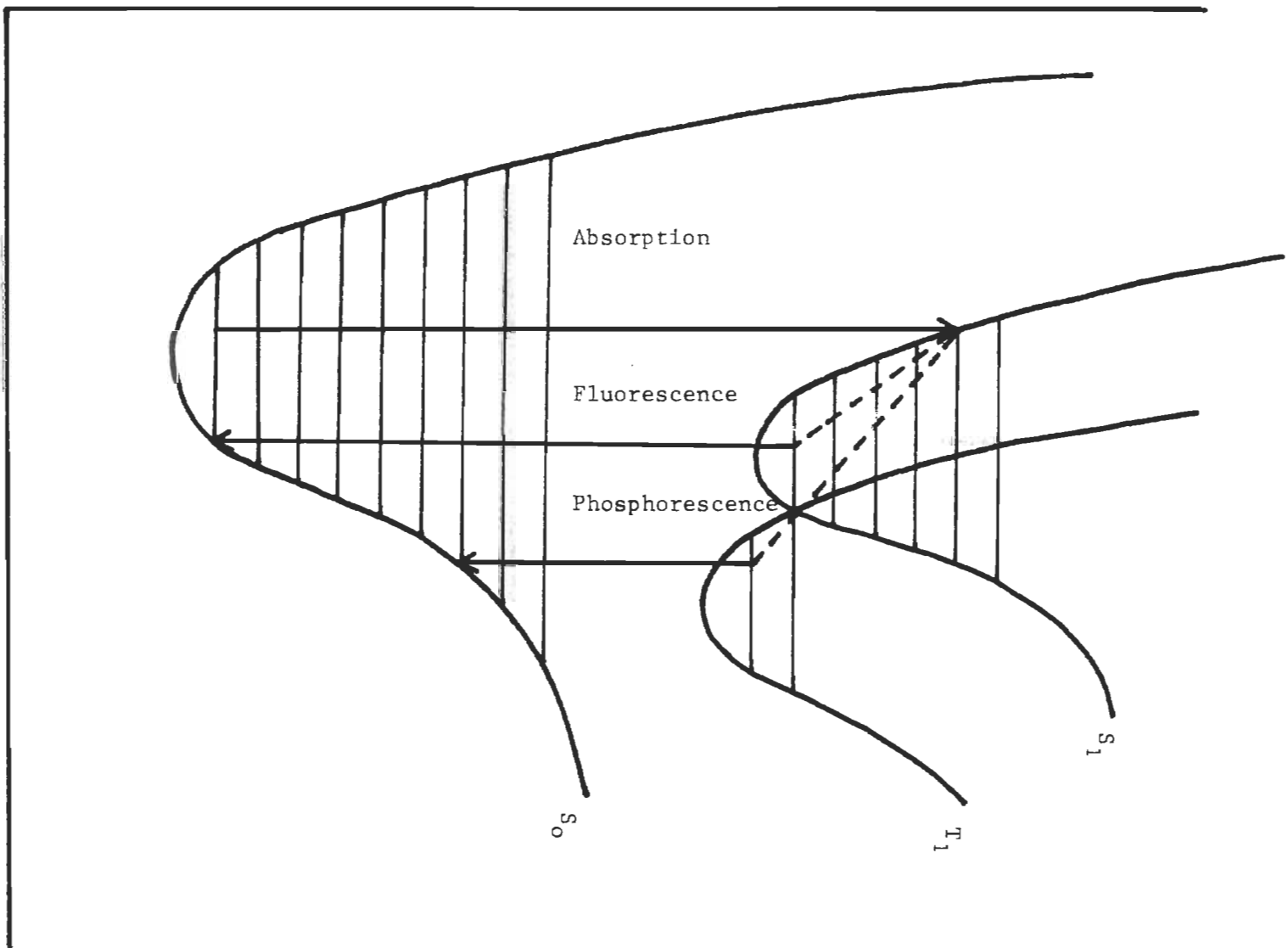


Fig. 15 - Absorption, fluorescence, phosphorescence.

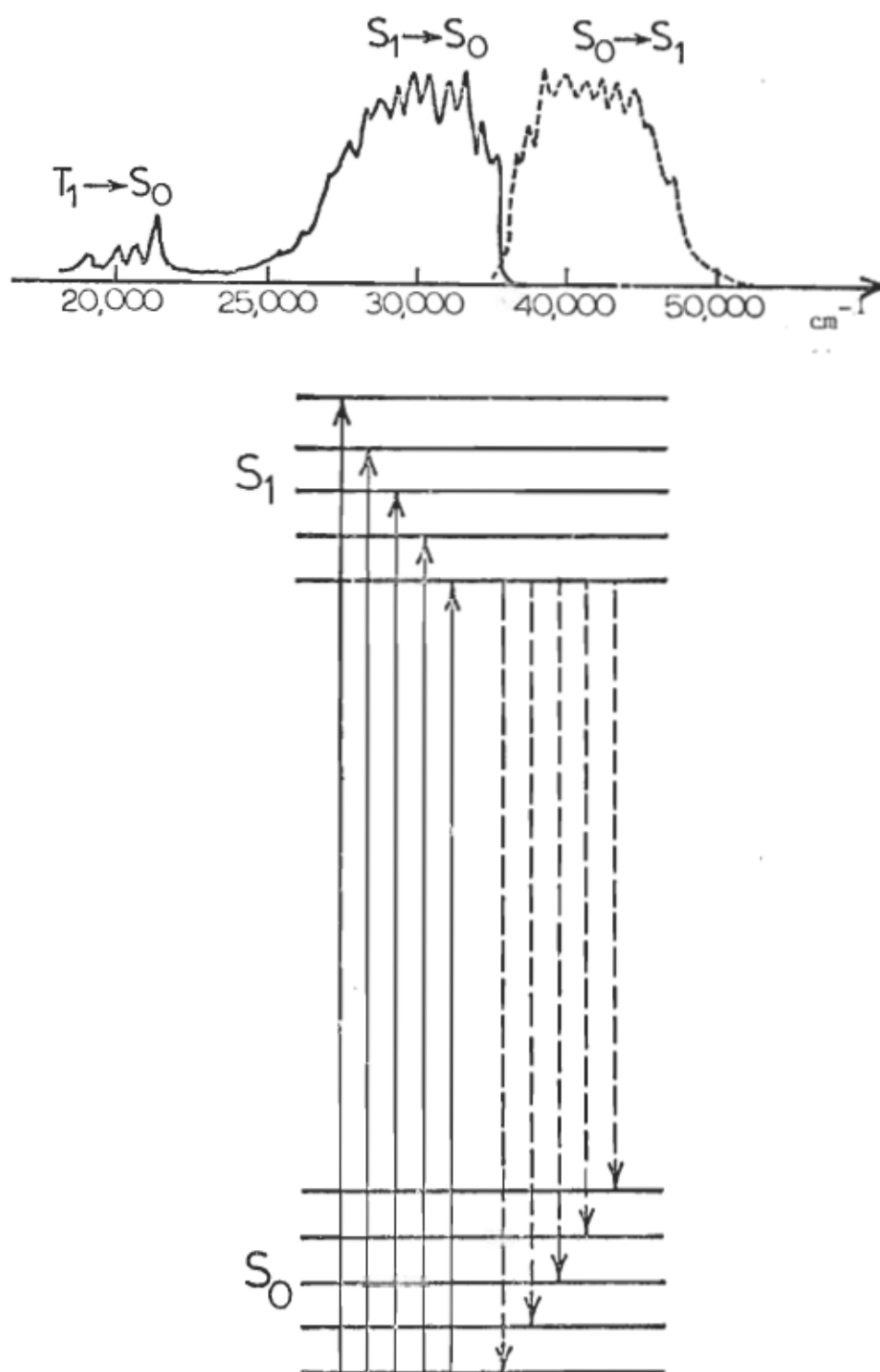


Fig. 16 - Symétrie entre l'absorption et l'émission: exemple du naphthalène.

5.1.4 Phosphorescence

Lorsqu'une émission s'effectue entre deux états de multiplicité différente, on le nomme *phosphorescence*. On la distingue de la fluorescence par son temps de vie beaucoup plus important. Ce temps peut atteindre plusieurs secondes même pour des composés tels le biphényle ou le benzène (87 à 92).

Le cas de phosphorescence le plus courant est celui relatif à la transition $T_1 \rightarrow S_0$, la transition $T_q \rightarrow S_0$ étant observée pour le fluoranthène seulement.

L'état triplet ne peut évidemment être obtenu que par conversion interne à partir d'un état singulet excité comme le montre la figure 15. On désigne ce type de conversion par le terme anglais "*d'intersystem crossing*".

L'état triplet ayant toujours une énergie inférieure au singulet correspondant, la différence d'énergie entre la radiation émise et la radiation absorbée est encore plus grande que dans le cas de la fluorescence comme le montre la figure 16.

L'énergie de T_1 est moins grande que celle de S_1 à cause du spin parallèle des électrons dans l'état triplet: à cause du principe d'exclusion de Pauli, ces électrons ne pourront jamais se trouver dans la même orbitale en même temps, provoquant donc moins de répulsion que dans l'état singulet.

5.1.5 Couplage spin-orbite

L'électron à l'intérieur de l'orbitale peut être comparé à un dipôle se déplaçant dans un champ magnétique. On a vu que les excitations ou les

émissions avec un changement de spin sont improbables (faible coefficient d'absorption et le temps de phosphorescence long).

En mécanique quantique ces transitions sont interdites, mais, par contre, elles peuvent apparaître si l'électron subit une perturbation externe ou interne. Ainsi, pour une perturbation interne, l'intensité de transition S_1 à T_1 est déterminée par le pourcentage de caractère singulet mélangé par couplage spin-orbite avec l'état triplet. Le couplage est plus prononcé quand l'électron se trouve dans un champ plus fort, c'est-à-dire lorsqu'il se trouve dans une orbitale entourant le noyau et plus spécialement quand ce noyau est gros. En spectroscopie le couplage spin-orbite est défini par le nombre quantique intrinsèque $\vec{j}$ défini par:

$$\vec{j} = \vec{l} + \vec{s}$$

Il est à noter également que le couplage est plus fort quand ΔE_{ST} est faible. Il n'a aucun effet sur le temps de fluorescence, mais il augmente le rendement en états T_1 soit le ϕ_p et il diminue le τ_p .

5.1.6 Rendements de luminescence

Le temps de vie théorique τ_0 est égal au temps de vie mesuré expérimentalement τ uniquement lorsque le rendement de luminescence est égal à l'unité, c'est-à-dire lorsque la désexcitation s'effectue uniquement par fluorescence ou phosphorescence. Mais si par exemple $\phi_f < 1$,

$$\tau_{\text{mesuré}} = \phi_f \tau_0$$

τ = temps requis pour que l'on ait une dépopulation de l'état excité de 1 à $1/e$. La vitesse de disparition ou de dépopulation de S_1 est donnée par:

$$\frac{-d[S_1]}{dt_s} = (\sum_i k_i^S) [S_1] \quad *$$

$$\text{où} \quad \sum_i k_i^S = k_f + k_{ST} + k_s + k_c^S + \sum_i k_{Qi}^S [Q_i]$$

$$\text{ou bien} \quad [S_1] = [S_1]_0 \exp - \sum_i k_i^S t$$

$$\text{puisque} \quad [S_1] = [S_1]_0 \exp (-t/\tau)$$

$$\text{avec} \quad [S_1]_0 = \text{concentration de } S_1 \text{ au temps } t=0$$

$$\text{donc} \quad \tau = 1/\sum_i k_i^S$$

$$\text{A présent} \quad \phi_f = \frac{\text{vitesse de dépopulation par fluorescence}}{\text{vitesse d'absorption}}$$

$$\text{donc} \quad \phi_f = \frac{k_f [S_1]}{\sum_i k_i^S [S_1]} = \frac{k_f}{\sum_i k_i^S} \quad \text{et puisque} \quad \tau_0 = k_f^{-1} \quad \phi_f = \frac{\tau}{\tau_0}$$

Pour ce qui est de la phosphorescence

$$\phi_p = \frac{K_p K_{ST}}{\sum_i k_i^S \sum_j k_j^T}$$

K_p = constante de vitesse de la phosphorescence.

$\sum_j k_j^T$ = somme de tous les genres de dépopulation de T_1 .

$$\phi_p = \frac{\text{vitesse de dépopulation du triplet par phosphorescence}}{\text{vitesse d'absorption par les singulets excités}} = \frac{K_p [T_1]}{\sum_i k_i^S [S_1]}$$

* Les constantes sont définies en annexe.

D'autre part la vitesse de formation de T_1 = vitesse de décroissance de T_1 à l'état stationnaire.

$$K_{ST} [S_1] = \sum_j K_j^T [T_1]$$

$$\text{avec } \sum_j K_j^T = k_p + k_t + k_c^T + \sum_i K_{Qi}^T Q_i$$

$$\text{donc } \frac{[T_1]}{[S_1]} = \frac{K_{ST}}{\sum_j k_j^T} \quad \text{et} \quad \phi_p = \frac{K_p K_{ST}}{\sum_i k_i^S \sum_j k_j^T}$$

$$\text{d'où} \quad \phi_p / \phi_f = \frac{K_p K_{ST}}{k_f \sum_j k_j^T}$$

Si la phosphorescence est le seul mode de décroissance de T_1 et que la conversion intersystème soit le seul mode de décroissance de S_1 à part la fluorescence,

$$\sum_j k_j^T = K_p \quad \text{et} \quad \phi_p / \phi_f = \frac{K_{ST}}{k_f}$$

$$\text{et} \quad \phi_p = \tau_f K_{ST}$$

Dans ces conditions $\phi_f + \phi_p = 1$

5.1.7 Interaction coulombienne de Dexter - Förster

Cette théorie permet de calculer avec quelle probabilité s'effectue un transfert d'énergie entre un donneur D et un accepteur A.



si Ψ_A et Ψ_D représentent l'état fondamental

et Ψ'_A et Ψ'_D représentent l'état excité

$$P_{D^* \rightarrow A} = (2\pi/h) \rho_E \left| \int \Psi_I H_{IF} \Psi_F d\tau \right|^2$$

ρ_E = densité des états

H_{IF} = variation de l'Hamiltonien entre I et F

$$\Psi_I = 1/\sqrt{2} \left[\Psi'_D(r_1) \Psi_A(r_2) - \Psi'_D(r_2) \Psi_A(r_1) \right]$$

$$\Psi_F = 1/\sqrt{2} \left[\Psi_D(r_1) \Psi'_A(r_2) - \Psi_D(r_2) \Psi'_A(r_1) \right]$$

Comme $\Psi(r, \sigma) = \phi(r) \chi(\sigma)$

orbitale spin

$$P_{D^* \rightarrow A} = (2\pi/h) \rho_E \left\{ \int - \times \int \begin{matrix} \text{interaction} \\ \text{d'échange} \end{matrix} - \times \int - \right\}$$

interaction
coulombienne

↙
Probabilité du transfert $D^* \rightarrow A$

On prend pour H_{IF} le premier terme du développement en série de Taylor,

$$P_{D^* \rightarrow A} = 3h^4 c^4 \frac{Q_A}{4\pi R^6 n^4 \tau_D^N} \left(\frac{\epsilon}{\epsilon_c K^2} \right)^4 \int f_D(E) f_A(E) \frac{dE}{E^4}$$

Q_A = aire sous le spectre d'absorption de A

R = distance D à A

n = indice de réfraction

τ_D^N = temps de vie naturel de D (théorique)

ϵ/ϵ_c = intensité du champ électrique par rapport au vide

K = constante diélectrique

$\int f_D(E) f_A(E) dE$ = intégrale de recouvrement.

5.2 Standards de fluorescence

Cette étude est faite dans le but de savoir quel standard utiliser pour mesurer des rendements quantiques relatifs de fluorescence.

Cette technique n'utilise comme appareillage que le spectrophotomètre qui nous indique la densité optique des solutions et le spectrofluorimètre qui nous donne d'une part la sensibilité relative des phototubes utilisés et d'autre part les spectres d'émission.

Les détails théoriques de cette étude sont condensés dans l'article de Parker et Rees (93).

On peut aussi, pour de plus amples détails, se référer au volume de Parker (94) page 252.

5.2.1 Mise au point sur les résultats antérieurs.

Ils nous indiquent:

- quels standards utiliser;
- la concentration des solutions à préparer;
- les longueurs d'onde d'excitation;
- la valeur du rendement quantique de fluorescence du bisulfate de quinine qui sert de référence;
- la façon dont on corrige les spectres d'émission;
- la formule qui sert à calculer les ϕ_F .

5.2.2 Préparation des solutions.

Il vaut mieux dans une première étape, préparer des solutions mères de concentration supérieure à celle qu'on utilisera pour l'étude de l'émission.

Les concentrations doivent être approximatives puisque le facteur densité optique intervient dans le calcul de ϕ_F (la densité optique est proportionnelle à la concentration) (tab. 29).

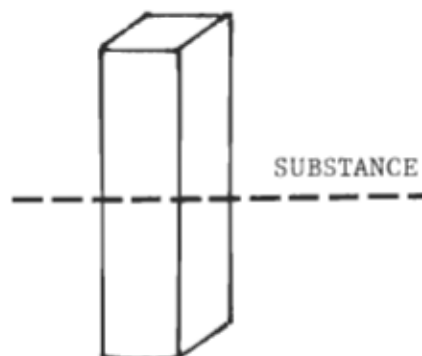
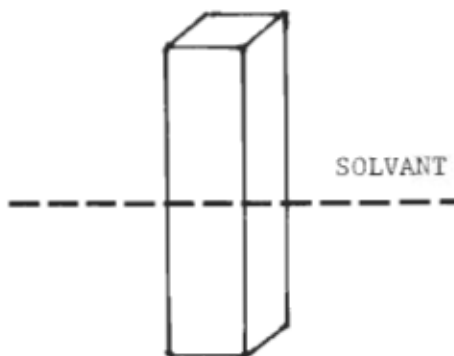
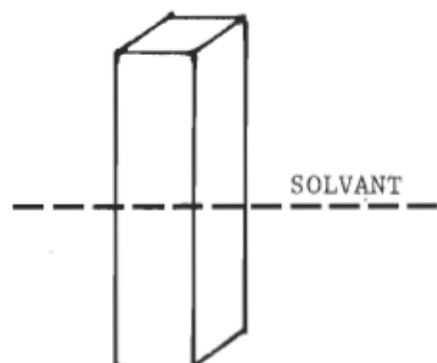
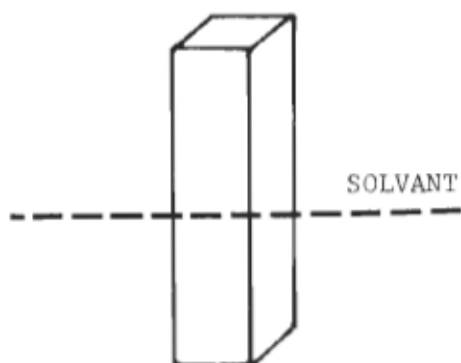
Tableau 29

Substance	Concentration	Solvant
Bisulfate de quinine	1 $\mu\text{g/ml}$	H_2SO_4 .1N
Fluorescéine	1.5 $\mu\text{g/ml}$	NaOH .1N
Rhodamine B	2.3 $\mu\text{g/ml}$	Ethanol
Eosine	2.5 $\mu\text{g/ml}$	NaOH .1N

Il est recommandé d'utiliser une microseringue pour la préparation de ces solutions à partir des solutions mères. Il faut prendre garde aussi à ce que tous les ustensiles soient d'une propreté parfaite: la fluorescence est une technique tellement sensible que la moindre impureté fausserait tous les résultats. La pureté des solvants est aussi une condition essentielle.

5.2.3 Absorption des solutions

On prépare des solutions cent fois plus concentrées que celles indiquées dans le tableau précédent et on opère comme le montre le schéma de la page suivante.



Réglage du 0 à 366 nm

Lecture de la densité optique

Les résultats ramenés à une concentration cent fois moindre sont indiqués dans le tableau 30.

Tableau 30

Substance	Densité optique (Solvant comme référence)
Bisulfate de quinine	.0061
Fluorescéine	.0086
Rhodamine B	.0220
Eosine	.0142

Parker et Rees proposent une densité optique de .0062/cm, c'est donc que les solutions possèdent la concentration adéquate.

5.2.4 Détermination de la sensibilité relative des phototubes.

Avant de faire le choix d'un photomultiplicateur, il faut savoir exactement quel est le spectre des longueurs d'onde couvert par l'émission.

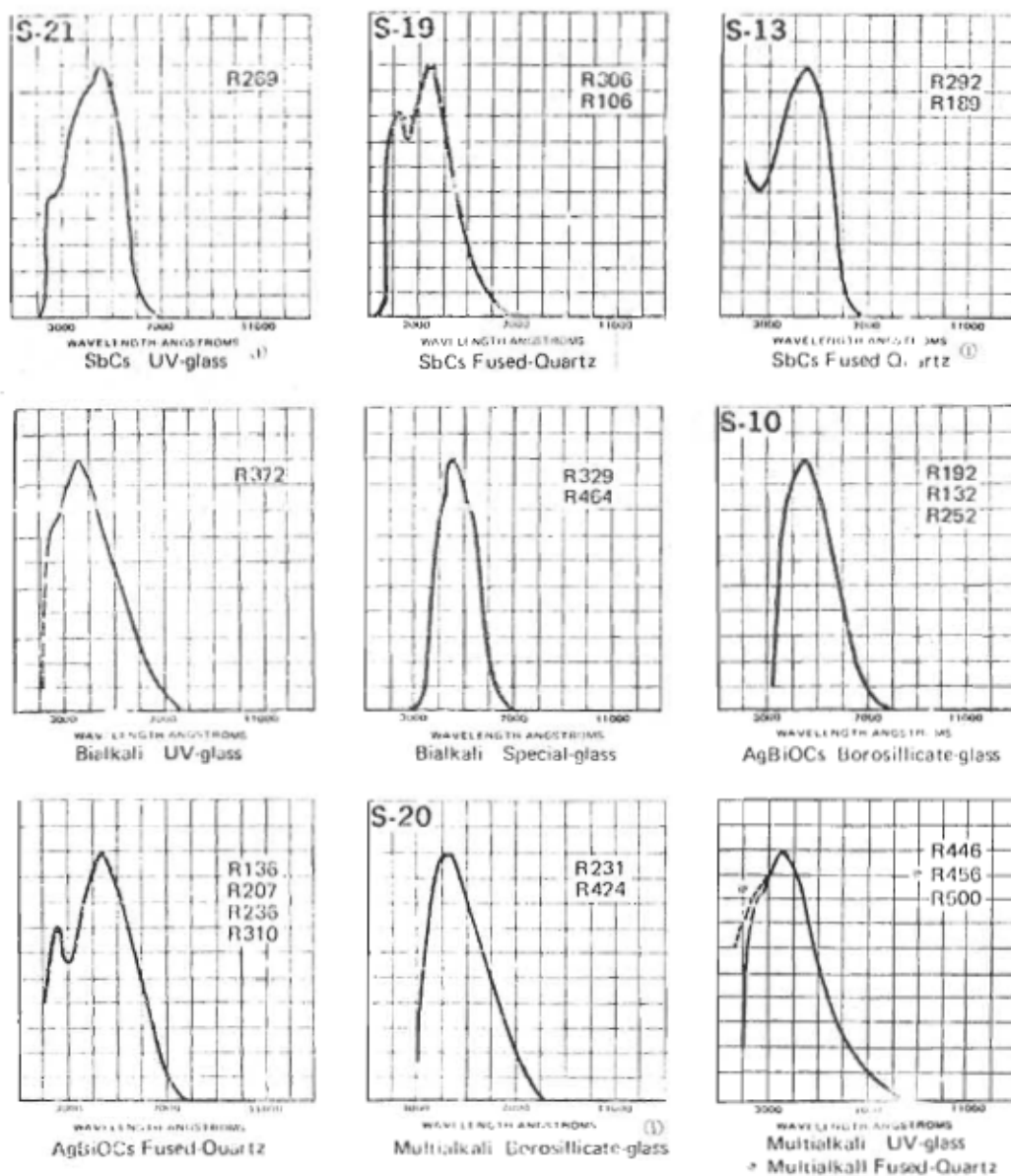
Ainsi dans notre cas, l'émission des quatre substances apparaît entre 380 nm et 660 nm environ. Il faut donc choisir celui qui sera le plus sensible vers les grandes longueurs d'onde. Nous avons à notre disposition le HTV R106 et le HTV R136 et le tableau 31 nous indique que c'est le R136 qui sera le plus adéquat.

Une fois le phototube monté, on procède comme suit à l'aide du spectrofluorimètre:

- . Excitation sur 400 nm (borne inférieure) et émission juste avant (395 nm par ex.).
- . S = 1, pas de filtre (.), fentes 1 et 1, sample adjust 100% à fond vers la droite.
- . Balayage des λ = low, vitesse d'enregistrement: low.
- . Tourner le bouton E_m sur émission et enregistrer le pic sur le papier.
- . Répéter l'opération en diminuant les fentes et le "100% adjust" jusqu'à ce que le pic soit contenu dans le papier graphique (le plus haut possible).
- . Ne plus toucher alors aux boutons de réglage.
- . Excitation sur 410 nm, émission sur 405 nm, enregistrer le pic.
- . Continuer l'opération de 10 en 10 ou de 5 en 5 nm jusqu'à 600 nm.
- . Refaire exactement les mêmes opérations pour des tranches plus courtes de λ (voir tableaux 32 et 33 et graphiques 15 et 16).

Tableau 31

Courbe de réponse spectrale relative des phototubes HTV

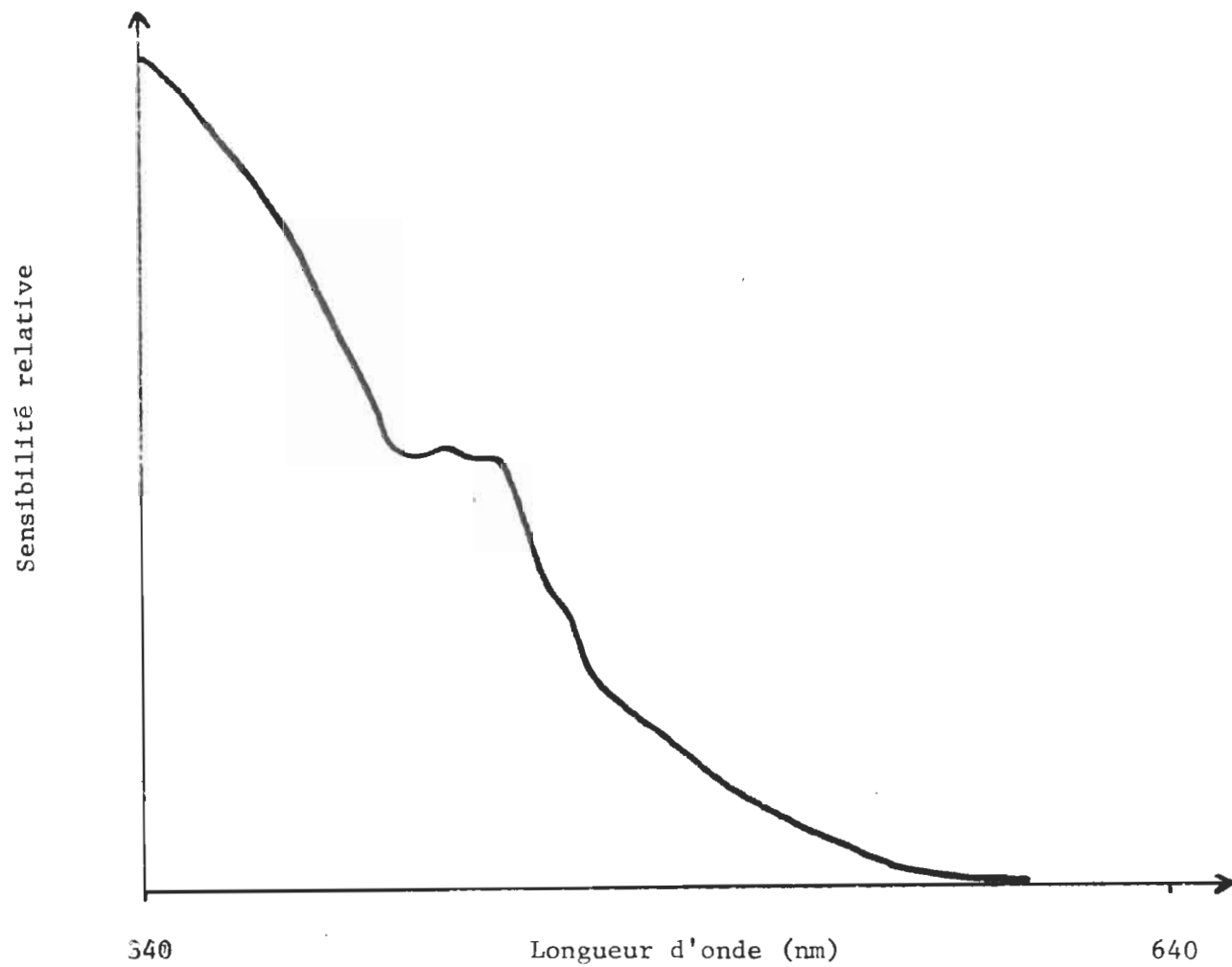


λ (nm)	Courbe D	Courbe E	Courbe E	Courbe E	Ensemble	Pourcentage
380	1				1	5.75
390	9.3				9.3	53.5
400	11.8				11.8	68
410	12.8				12.8	73.5
420	13.7				13.7	78
430	13.7				13.7	78
440	14.4				14.4	83
450	15.8				15.8	92
460	17.4				17.4	100%
470	15.3				15.3	88
480	17.1				17.1	98
490	12.5				12.5	72
500	10.3				10.3	59
510	8.8				8.8	51
520	7.9				7.9	45
530	6.9				6.9	40
540	5.8				5.8	33
550	4.6	16.3			4.6	26
560		13			$\frac{13 \times 4.6}{14.3} = 3.7$	21
570		10.4			2.9	17
580		8.2			2.3	13
590		5.8			1.64	9.5
600		3.1	15.4		.88	5
610			7.4		$\frac{.88 \times 7.4}{18.4} = .44$	2.5
620			4	17.4	.23	1.3
630				8.4	.12	
640				4.2	.06	
650						
660						

λ (nm)	Courbe A	Courbe B	Courbe C	Ensemble		Pourcentage
380	6			620		35
390	17			1700		100%
400	14.5			1450		85
410	13.5			1350		80
420	12.3			1230		72
430	11.7			1170		69
440	12			1200		70
450	13.3			1330		78
460	13			1300		76
470	11			1100		65
480	11.5		10.6	1150		68
490	10		8.6	1000		59
500	6.8		6.8	680		40
510			5.8	580		34
520			5.4	540		32
530			4.6	460		27
540			4.0	400		24
550		17	3.4	340		20
560		14.5		$\frac{14.5 \times 34}{17} = 290$		17
570		12.3		246		14
580		10.8		216		12.7
590		9		180		10.6
600		7		140		8.2
610		5.6		112		6.6
620		5		100		5.9
630		3.6		72		4.2
640		2.6		52		3.0
650		2		40		2.4

Sensibilité relative du phototube HTV R136

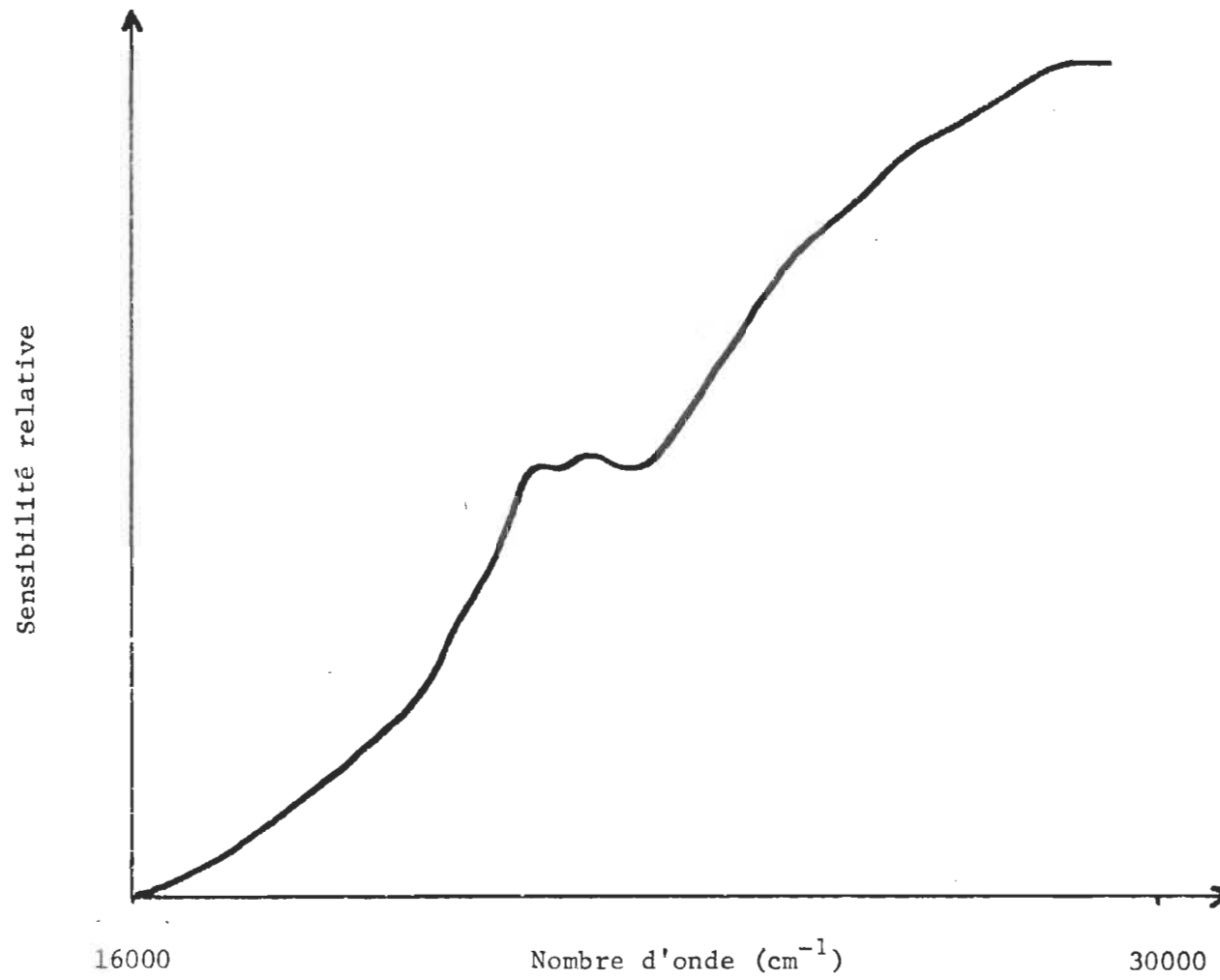
Les abscisses sont données en nm



GRAPHIQUE 15

Sensibilité relative du phototube R-136

Les abscisses sont données en cm^{-1}



GRAPHIQUE 16

5.2.5 Spectres d'émission

On dispose nos quatre cuvettes dans le support, chacune contenant une solution différente. Dans ce cas précis, c'est la concentration réelle que l'on utilise.

On s'est d'abord assuré évidemment que les solvants utilisés ne donnaient aucune émission susceptible de fausser les résultats.

La longueur d'onde est réglée sur 366 nm, la sensibilité sur la position 1, les fentes d'excitation et d'émission sur 10 mμ et on n'utilise pas de filtre.

On règle ensuite le 100% et le 0% de la plume sur l'enregistreur.

Afin d'avoir le plus de précision possible, on utilise la plus faible vitesse d'enregistrement et de balayage des longueurs d'onde.

On enregistre alors les spectres.

Remarque importante: il est conseillé de prendre en premier lieu le spectre de la rhodamine B car il y a de fortes chances pour que le spectre d'émission sorte du papier graphique. Dans ce cas, on a deux possibilités:

- changer les conditions expérimentales en fermant l'une ou l'autre des fentes (et conserver la même ouverture pour les autres standards);
- diminuer à l'aide du bouton approprié le 100%.

5.2.6 Correction des spectres.

Le spectrofluorimètre MPF 2A de Perkin Elmer nous donne l'intensité d'émission en fonction de la longueur d'onde. Il nous faut corriger le spectre obtenu afin de pouvoir calculer la surface corrigée sous le spectre d'émission, et ceci s'effectue de la façon suivante:

- il faut transformer les nm en cm^{-1} ;
- il faut corriger les intensités lues en les multipliant par le facteur de correction obtenu pour une longueur d'onde et un phototube donnés (voir tableaux 32 et 33).
- il faut enfin construire les spectres corrigés en utilisant une échelle identique pour chaque substance et calculer les aires sous les courbes. Ceci peut être fait rapidement avec une calculatrice électronique qui trace automatiquement le spectre corrigé et qui donne instantanément la valeur de la surface intégrée.

Les différents spectres sont donnés sur les graphiques 17 et 18.

Les aires sous les courbes sont données dans le tableau 34.

5.2.7 Calcul des rendements relatifs de fluorescence.

Lorsqu'on est en possession de la densité optique et de la surface du spectre corrigé pour chacun des standards, on peut alors calculer facilement ϕ_F en appliquant la relation:

$$\frac{(\text{AIRE})_S}{(\text{AIRE})_E} = \frac{\phi_S \times (\text{D.O.})_S}{\phi_E \times (\text{D.O.})_E}$$

E référant à l'échantillon et S au standard. (ici c'est le bisulfate de quinine qui est le standard).

Remarque importante: Si les substances comparées sont dissoutes dans des solvants différents, la surface doit être corrigée encore en multipliant par le facteur n^2 , n étant l'indice de réfraction du solvant.

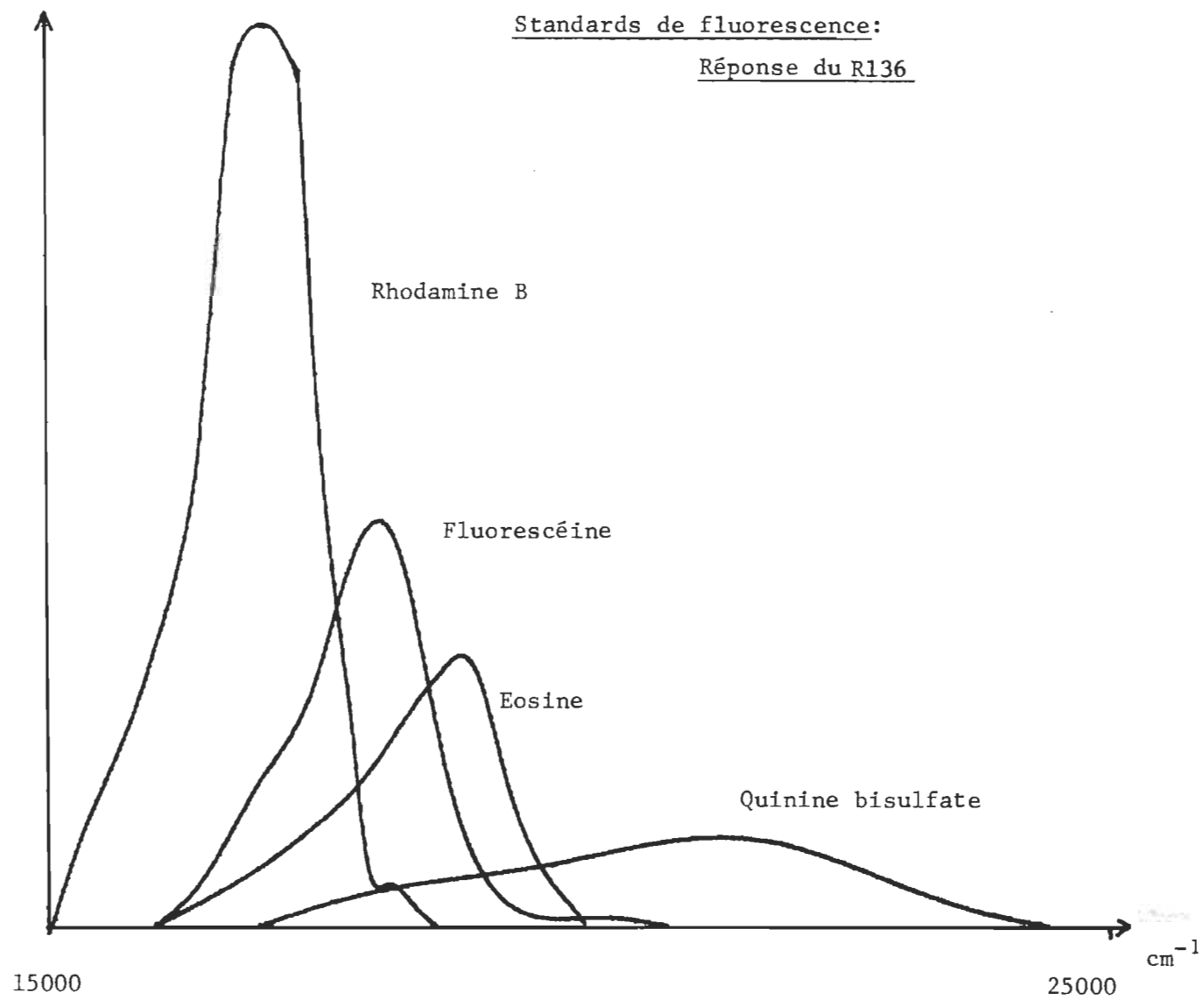
$$\text{Ainsi, } n_{\text{H}_2\text{O}}^{20^\circ\text{C}} = 1.333 \quad n^2 = 1.555$$

$$n_{\text{EtOH}}^{20^\circ\text{C}} = 1.361 \quad n^2 = 1.851$$

Intensité corrigée

Standards de fluorescence:

Réponse du R136

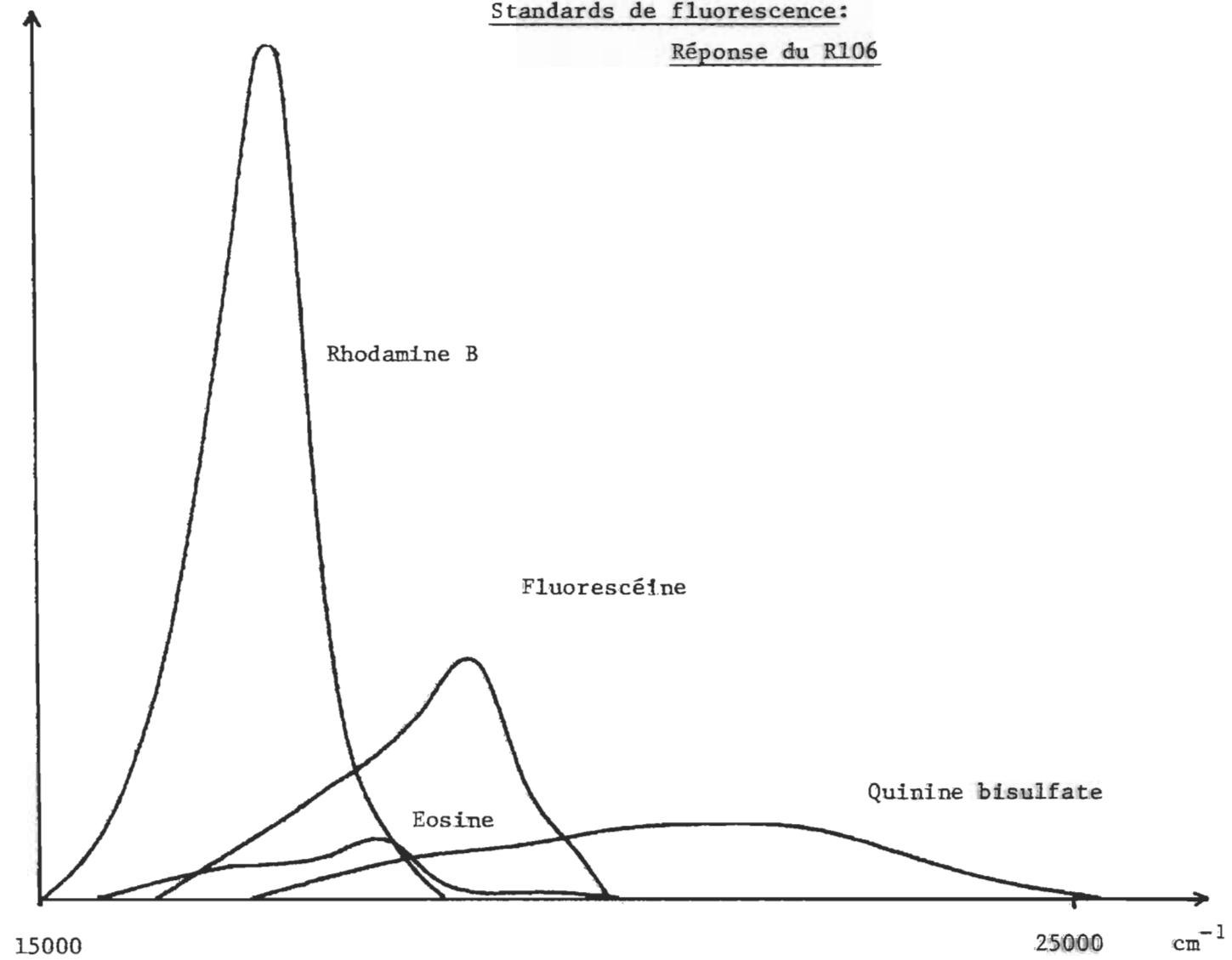


GRAPHIQUE 17

Intensité corrigée

Standards de fluorescence:

Réponse du R106



GRAPHIQUE 18

Les différents résultats apparaissent dans le tableau 35.

5.2.8 Comparaison des résultats avec ceux de la littérature.

Le tableau 36 permet de comparer nos résultats avec ceux publiés antérieurement. Il faut noter qu'on a parfois un choix assez large de valeurs comme pour la rhodamine B par exemple:

$$.69 < \phi_F < .97$$

Nous trouvons quant à nous deux fois .80 avec deux photomultiplicateurs différents.

Tableau 34AIRES SOUS LES COURBES

	<u>R 136</u>	<u>R 106</u>
Q.S.	21 cm ²	43 cm ²
R.B.	66 cm ²	132 cm ²
F.	26 cm ²	56 cm ²
E.	4 cm ²	15 cm ²

Tableau 35RENDEMENTS DE FLUORESCENCE

	<u>R 136</u>	<u>R 106</u>
Q.S.	[.55]	[.55]
R.B.	.80	.80
F.	.62	.64
E.	.05	.13

Tableau 36

RESULTATS COMPARES A CEUX PUBLIES

SUBSTANCE	Ø EXPERIMENTAL	Ø LITTERATURE	REFERENCES
Q.S.	.55	.55	Melhvish, W.H. N.Z., J. Sci. Tech., B, 1955, 37, 142.
R.B.	.80 R106	.69	Parker and Rees Analyst, 85, 1960, 587.
"	.80 R136	.97	Weber, G, and Teale, F.W.J. Trans Faraday Soc., 1957, 53, 646.
F	.62 R136	.85	Parker and Rees
"	.64 R106	.92	Weber and Teale
"		.78	Forster, L.S., and Livingston R., J. Chem. Phys., 1952, 20, 1315.
"		.84	Vavilov, S.I., Z. Physik, 1924, 22, 266.
"		.85	Hellstrom, H., Arkiv, Kemi, Minc Geol, 1937, 12A, 17.
"		.85	Umberger, J. and La Mer, V., J. Amer. Chem. Soc., 1945, 67, 1099.
E	.05 R136	.23	Parker and Rees
"	.13 R106	.19	Weber and Teale

5.3 Caractérisation de la luminescence

Il est à noter que cette partie a déjà fait l'objet d'une publication (95). Nous reprendrons ici les principaux résultats en insistant sur le côté pratique de la recherche.

5.3.1 Essai sur la fluorescence

Après avoir obtenu des résultats valables quant aux standards de fluorescence, des tentatives de détection de cette luminescence ont été entreprises sur des solutions de colchicine, à température ambiante et à 77°K également.

Tous ces essais se sont avérés négatifs, et comme dans le cas de la benzophénone (96) pour laquelle il n'existe non plus aucune fluorescence, on prendra comme valeur du rendement quantique de fluorescence:

$$\phi_F = 10^{-4}$$

Il faut bien prendre garde à ce que le solvant utilisé soit d'une pureté parfaite d'une part, et aussi qu'il ne donne lui même aucune fluorescence, qui pourrait être confondue facilement avec celle de la colchicine.

Il est nécessaire aussi d'étudier des solutions de concentrations différentes, car l'absence de fluorescence peut parfois être dû à un quenching par concentration.

Enfin, étant donné que l'oxygène peut aussi quencher la fluorescence il vaut mieux faire quelques essais sur des solutions dégazées (97).

5.3.2 Détection de la phosphorescence

Par excitation de la colchicine à 370 nm, une bande d'émission relativement large est décelée à la température de l'azote liquide. Les différents spectres d'absorption, d'excitation et d'émission apparaissent sur les graphiques 19 et 20.

L'effet de solvant montre que l'on est en présence d'une bande d'émission $n \rightarrow \pi^*$ car il se produit un effet hypsochrome lorsque la polarité du solvant augmente. Les résultats apparaissent dans le tableau 37.

Tableau 37

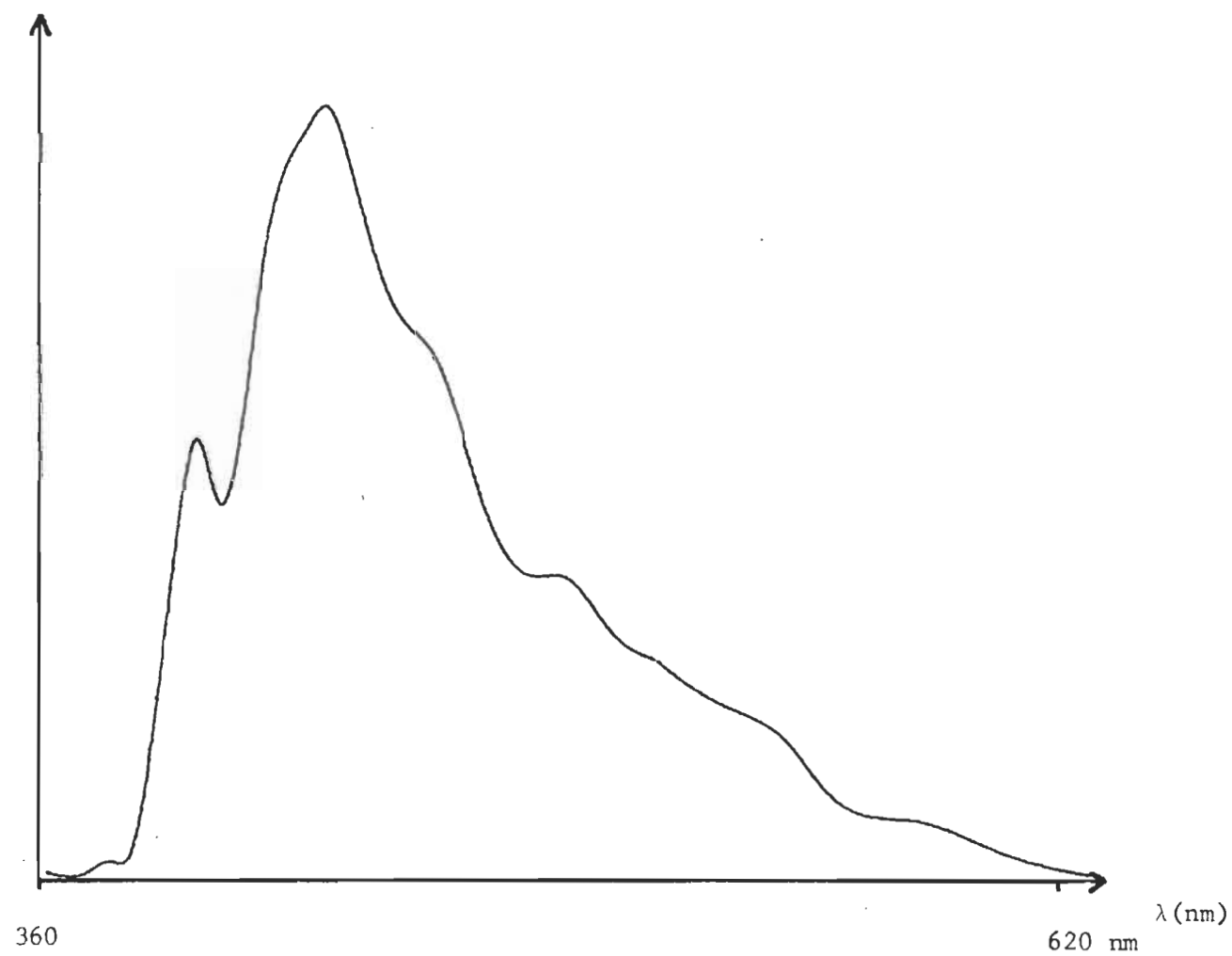
Solvant	ϵ	1	2
		$\lambda_{\max}$ (bande 0-0)	$\lambda_{\max}$
isopentane	2	404 nm	425 nm
Et I	6	404	425
Et OH	24	402	423
E.P.A.	24	400	420

Il est à remarquer que le spectre d'émission ne présente pas une très bonne structure vibrationnelle comme celle à laquelle on devrait s'attendre compte tenu de l'analogie de comportement et de structure chimique entre la colchicine et la benzophénone. Mais on peut tout de même considérer que la différence énergétique entre les deux principaux maxima à 404 nm et à 425 nm correspond à peu près à la différence de 1700 cm^{-1} existant entre les bandes vibrationnelles dans le cas d'une émission $n \rightarrow \pi^*$ provenant d'un groupement carbonyle.

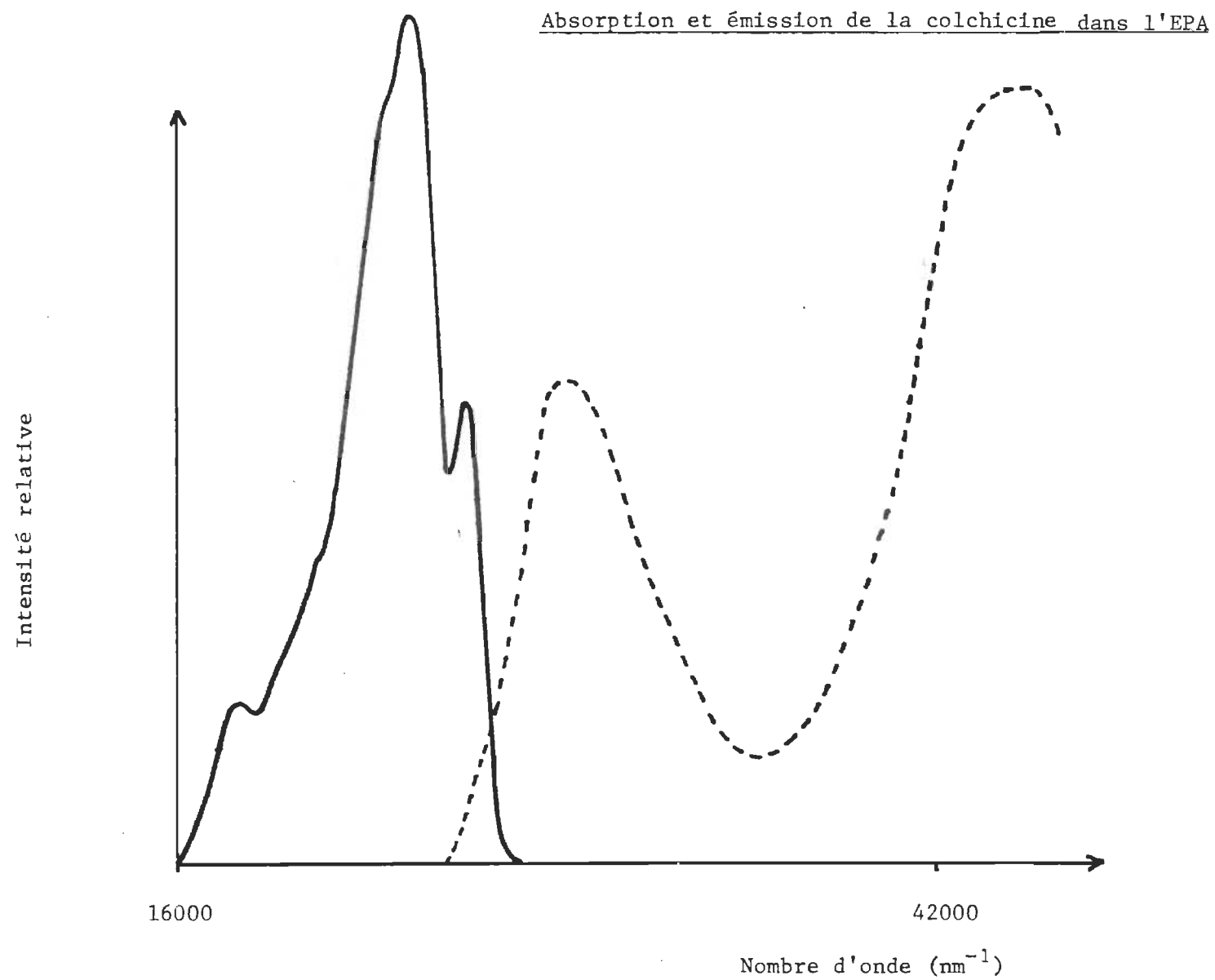
Phosphorescence de la colchicine

dans l'EPA à 77°K

Intensité corrigée



GRAPHIQUE 19



GRAPHIQUE 20

Cette absence de structure vibrationnelle est par contre très bien expliquée par la complexité de la molécule de colchicine, par rapport à celle de benzophénone.

Une deuxième remarque concerne la situation du spectre d'émission par rapport à celui d'absorption. On voit sur le graphique 20 que ces deux spectres se coupent dans la région de 390 nm et que la zone de recouvrement (intégrale de recouvrement dans la théorie de Förster) est très petite. Cette dernière remarque milite en faveur du fait qu'il n'y aura vraisemblablement aucun auto-absorption.

5.3.3 Effet d'atome lourd

L'augmentation du couplage spin-orbite par dissolution de la colchicine dans l'iodure d'éthyle n'apporte aucun changement dans le spectre d'émission. Un tel résultat a été commenté par Mc Glynn et coll. (98).

Cet effet nous permet donc d'appuyer la conclusion concernant la nature $n \rightarrow \pi^*$ de la bande d'émission.

5.3.4 Polarisation de la luminescence

Une fois l'accessoire de polarisation monté sur l'appareil, on fixe la longueur d'onde d'excitation et la longueur d'onde d'émission aux valeurs désirées. En ce qui nous concerne, l'excitation sera celle qui nous donne l'émission maximum à 425 nm. La longueur d'onde d'émission variera d'une mesure à l'autre, de 380 nm à 600 nm.

Le tableau 38 et la fig. 17 donnent la façon de calculer les composantes.

V_H, L_H, V_V, L_V qui ne sont que les hauteurs maxima indiquées par la plume de l'enregistreur exprimées dans une unité commune.

Tableau 38

Composante de l'excitation	Polariseur de l'excitation	Polariseur de l'émission	Composante de l'émission
horizontale (H)	90°	0°	V_H
horizontale (H)	90°	90°	L_H
verticale (V)	0°	0°	V_V
verticale (V)	0°	90°	L_V

La polarisation P corrigée est alors égale à:

$$P = \frac{V_V - L_V \frac{V_H}{L_H}}{V_V + L_V \frac{V_H}{L_H}}$$

Les résultats concernant la polarisation de l'émission de la colchicine apparaissent sur le gra. 21. On s'aperçoit que la valeur de la polarisation P est toujours positive quelque soit la longueur d'onde d'émission et qu'elle est comprise entre les valeurs 0.05 et 0.4, soit une valeur moyenne:

$$P = + 0.2$$

De dernier résultat prouve encore qu'on est bien en présence d'une bande d'émission $n \rightarrow \pi^*$ (99).

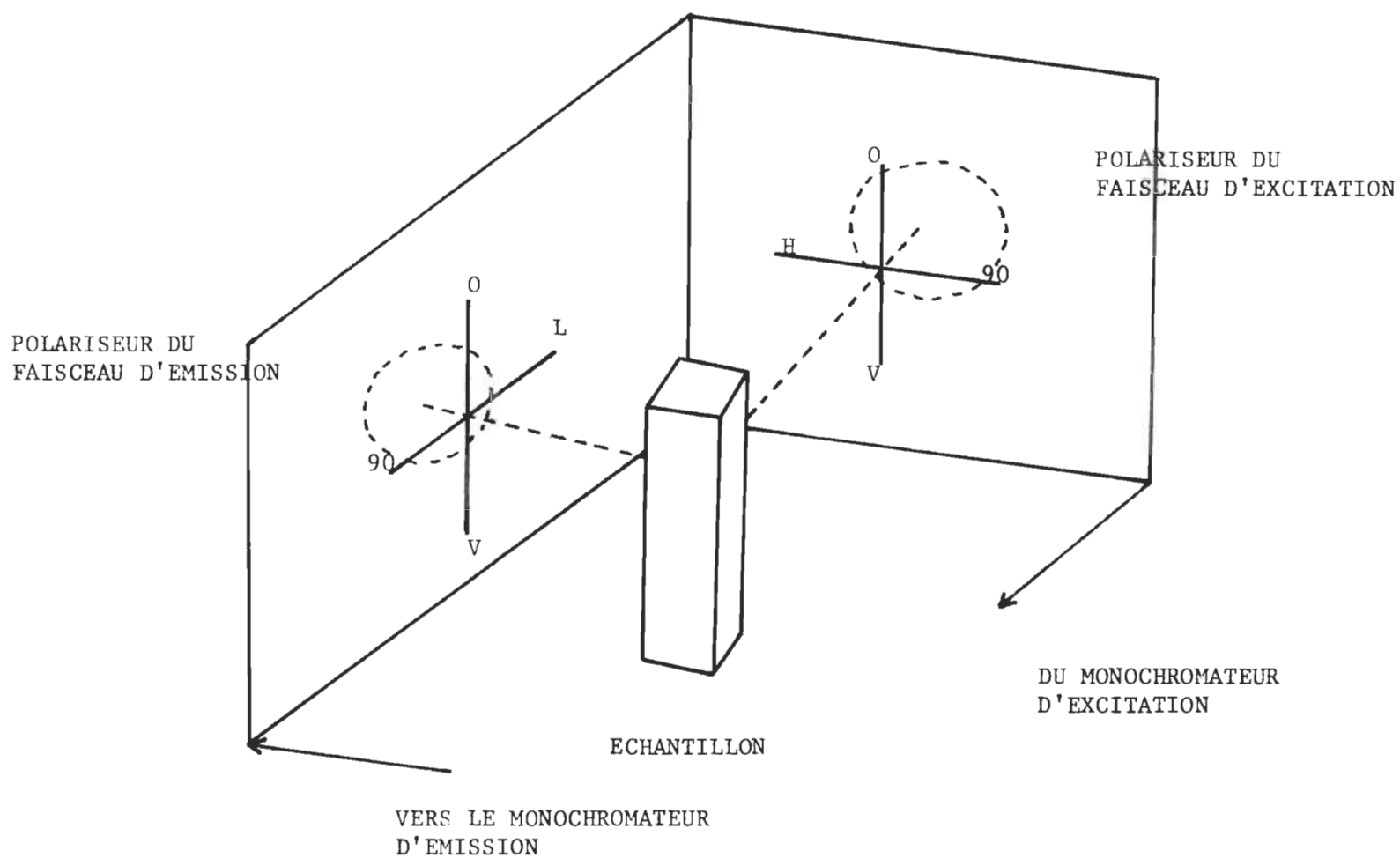
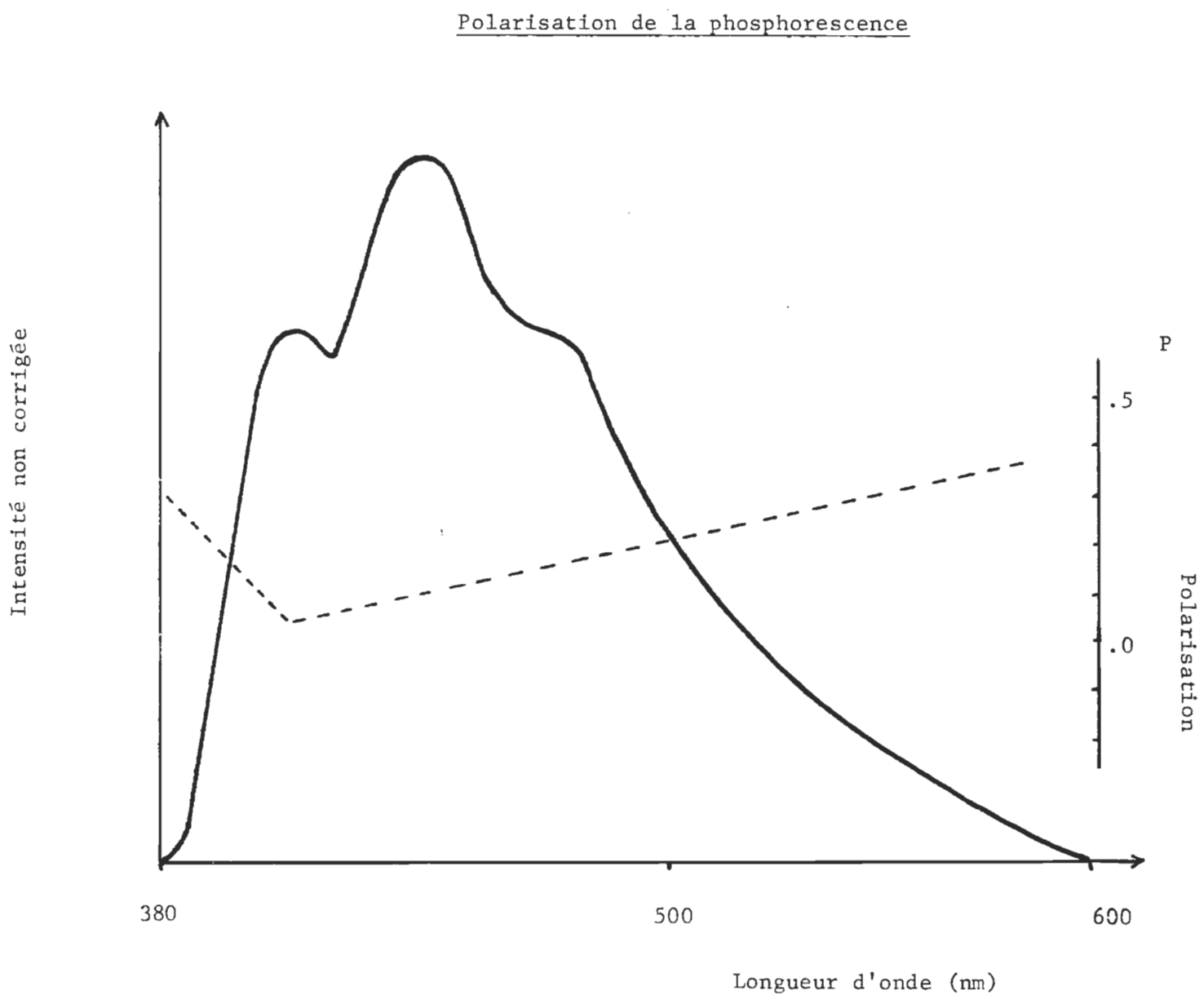


Fig. 17 - Représentation des plans de la lumière
Incidente et de luminescence



GRAPHIQUE 21

5.3.5 Mesure du temps de vie de l'état excité

Cette mesure est très importante puisque c'est elle qui va trancher la question à savoir si nous sommes en présence de fluorescence à basse température ou bien de phosphorescence.

Des essais avec l'accessoire de phosphorescence conventionnel se sont avérés infructueux, le temps de vie expérimental étant inférieur à celui que nous pouvions détecter avec l'utilisation du "chopper" à son maximum de vitesse.

Nous avons donc utilisé à la place du photomultiplicateur, une cellule photoélectrique du type "pin diode", MRD 500, reliée à un oscilloscope au moyen d'un amplificateur différentiel. L'impédance d'entrée diode-amplificateur est supérieur à 20 M Ω et la lampe du spectrofluorimètre est remplacée par une lampe éclair au xénon de 100 watts de Nihon-Koden donnant des éclairs de 10 μ s.

Le temps de vie a été calculé par méthode graphique en posant le logarithme de l'intensité en fonction du temps.

L'utilisation d'un computer s'est avérée nécessaire. Les résultats donnés par ce dernier apparaissent dans le tableau 39, les intervalles de temps entre chaque ligne étant de 10 μ s.

Tableau 39

45	44	42	41	40	38	37	37	35	34
34	32	32	30	29	29	28	28	27	26
25	25	25	25	23	23	23	23	22	21
22	22	21	20	20	20	20	20	20	20

A l'aide de ces résultats, on a pu calculer le $\log X_0/X$.

X_0 représentant l'intensité d'émission au temps $t = 0$ et X celle au temps t .

Les calculs sont condensés dans le tableau 40.

Tableau 40

t	X	X_0/X	$\log X_0/X$
0	45	1.00	0.000
2	42	1.07	.030
6	37	1.21	.080
11	32	1.41	.150
15	29	1.60	.204
19	25	1.80	.255

Le graphique 22 nous montre la linéarité de la courbe $\log X_0/X = f(t)$.

$$\text{pente de la droite: } \frac{.240}{18 \cdot 10^{-5}} = 1.33 \cdot 10^3$$

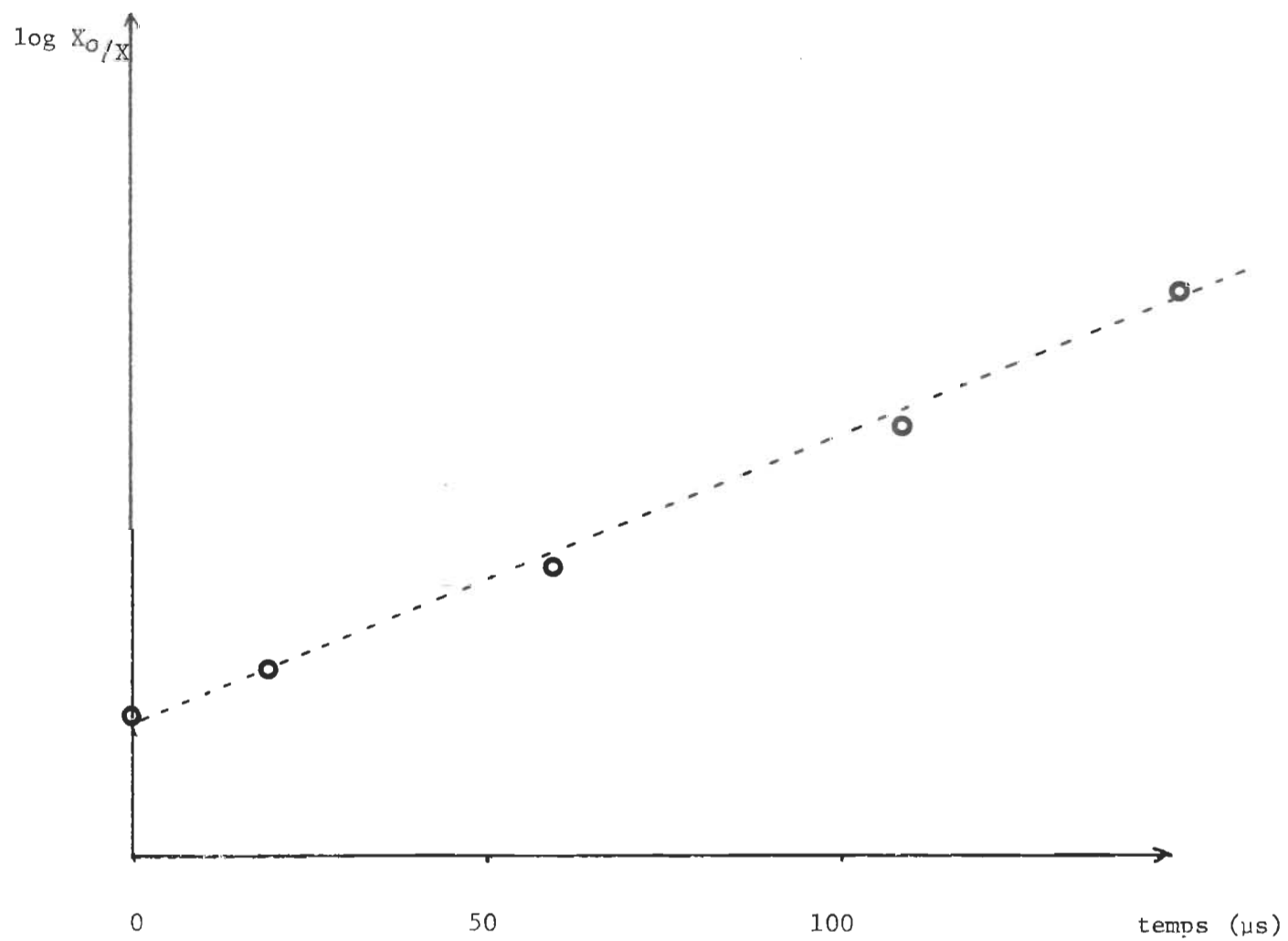
$$\text{d'où } k = 2.303 \times 1.33 \cdot 10^3 = 3.06 \cdot 10^3$$

$$\tau = \frac{1}{k} = 3.27 \cdot 10^{-4} \text{ seconde.}$$

Bien que relativement court, ce temps est quand même caractéristique d'une émission à partir d'un état triple T_1 .

On peut donc affirmer que l'émission est bien de la phosphorescence.

Calcul de la constante de dépopulation de T_1



GRAPHIQUE 22

5.4 Standards de phosphorescence

Le choix des standards pour la mesure du rendement relatif de phosphorescence de la colchicine a été conditionné par l'énergie de l'état triplet de celle-ci (bande 0-0) qui se situe à:

$$400 \text{ nm}, 25,000 \text{ cm}^{-1}, 71.5 \text{ Kcal-mole}^{-1}, 3.1 \text{ eV}$$

Ainsi, trois substances différentes ont été choisies, et leurs caractéristiques apparaissent dans le tableau 41.

Tableau 41

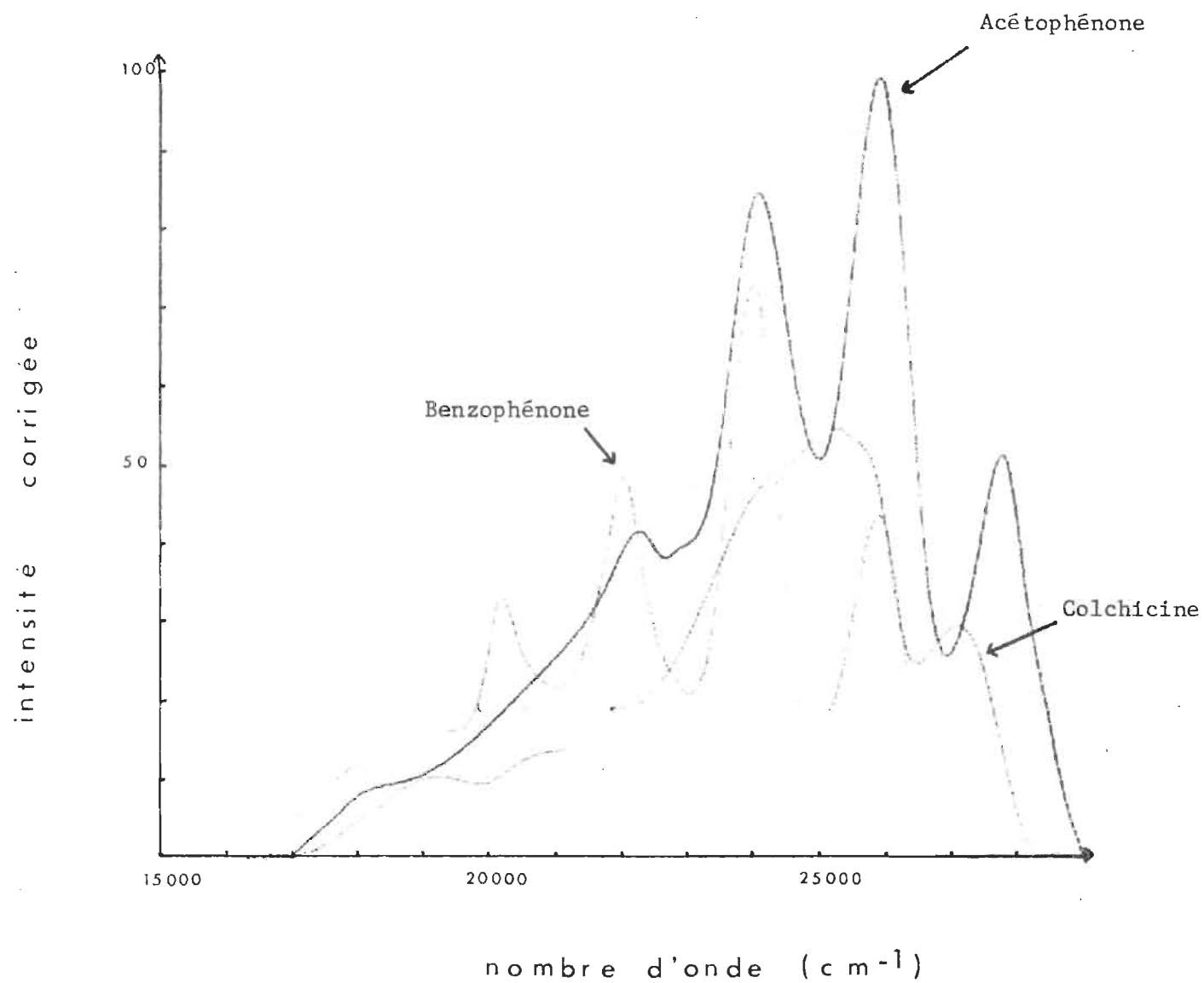
Substance	E_T	Φ_p	Référence
Benzophénone	69 Kcal mole ⁻¹	.75	(100)
Acétophénone	74 Kcal mole ⁻¹	.74	(101)
Biphényle	65 Kcal mole ⁻¹	.25	(89)

Il faut souligner ici que la valeur des rendements de phosphorescence utilisée ici ne fait pas l'unanimité des auteurs.

Ainsi, Parker et Hatchard proposent un rendement de 1 pour l'acétophénone à 77°K dans l'E.P.A. et un rendement de .71 pour la benzophénone dans les mêmes conditions. Quant à celui concernant le biphényle, sa valeur n'est pas encore très certaine (102).

Les différents spectres apparaissent sur le graphique 23. L'éventail des longueurs d'onde recouvert par les standards couvre bien celui correspondant à la colchicine.

Standards de phosphorescence



GRAPHIQUE 23

5.5 Calcul du rendement de phosphorescence

On agit de la même façon que pour le calcul du rendement de fluorescence (voir paragraphe 5.2.7).

Cependant, on ne considère plus ici la densité optique d'absorption mais plutôt la hauteur maximum du spectre de phosphorescence, cette hauteur n'étant pas corrigée.

L'explication de ce fait réside dans la considération que les spectres de fluorescence et d'absorption sont symétriques tandis qu'il n'en est pas de même entre la phosphorescence et l'absorption (103).

Dans une première étape, on prend les spectres des standards et de la colchicine, dans un solvant identique, soit l'EPA. Puis les spectres sont corrigés, compte tenu de la sensibilité du photomultiplicateur, et sont repris avec une échelle énergétique par le biais d'une traceuse électronique Hewlett-Packard qui calcule automatiquement la surface sous les spectres.

Les principaux résultats apparaissent sur les graphiques 24 à 43 et dans les tableaux 42 et 43.

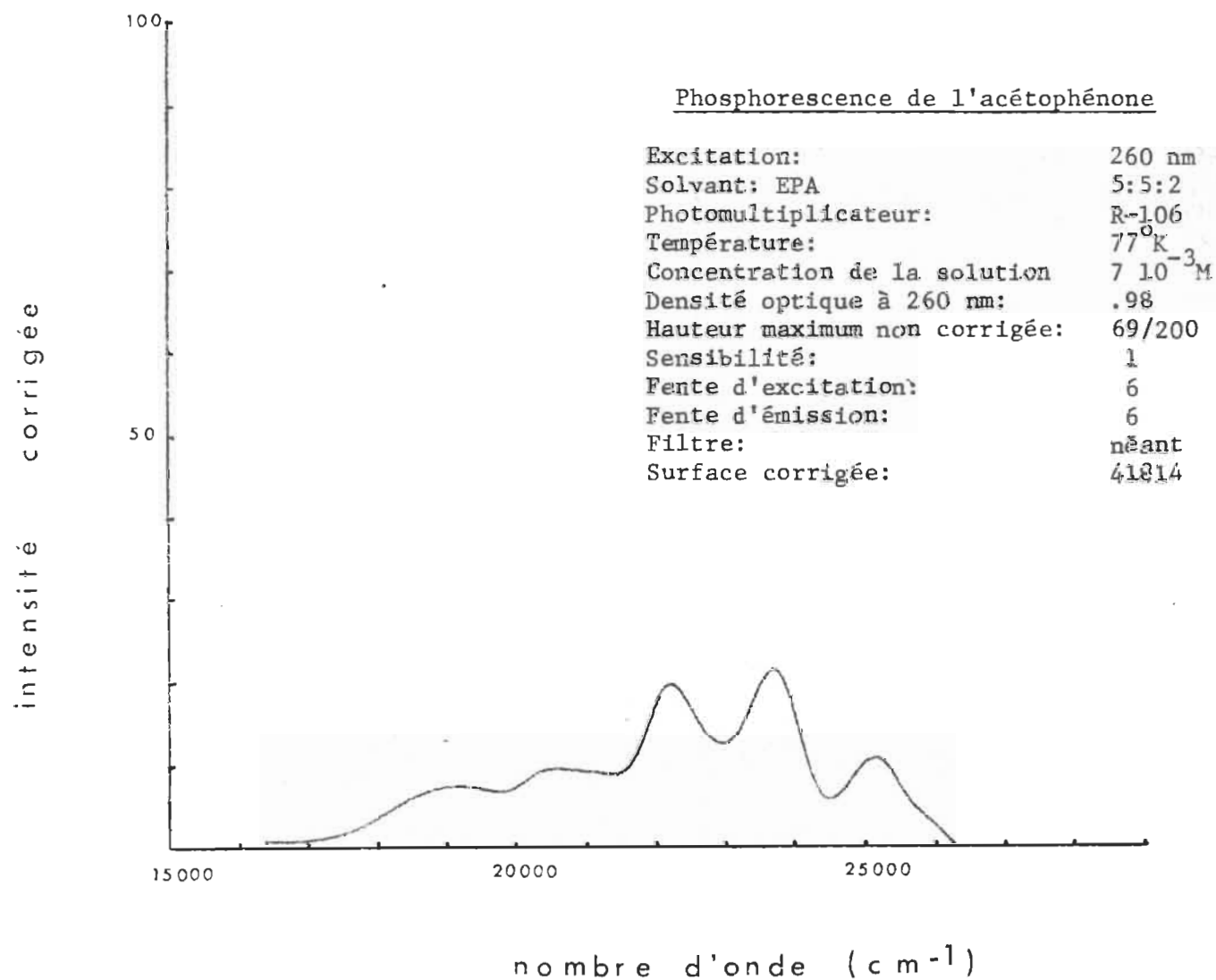
Si l'on rejette les valeurs obtenues avec le biphényle comme standard, on peut considérer que toutes les autres valeurs du rendement de phosphorescence obtenues sont convenables dans la série.

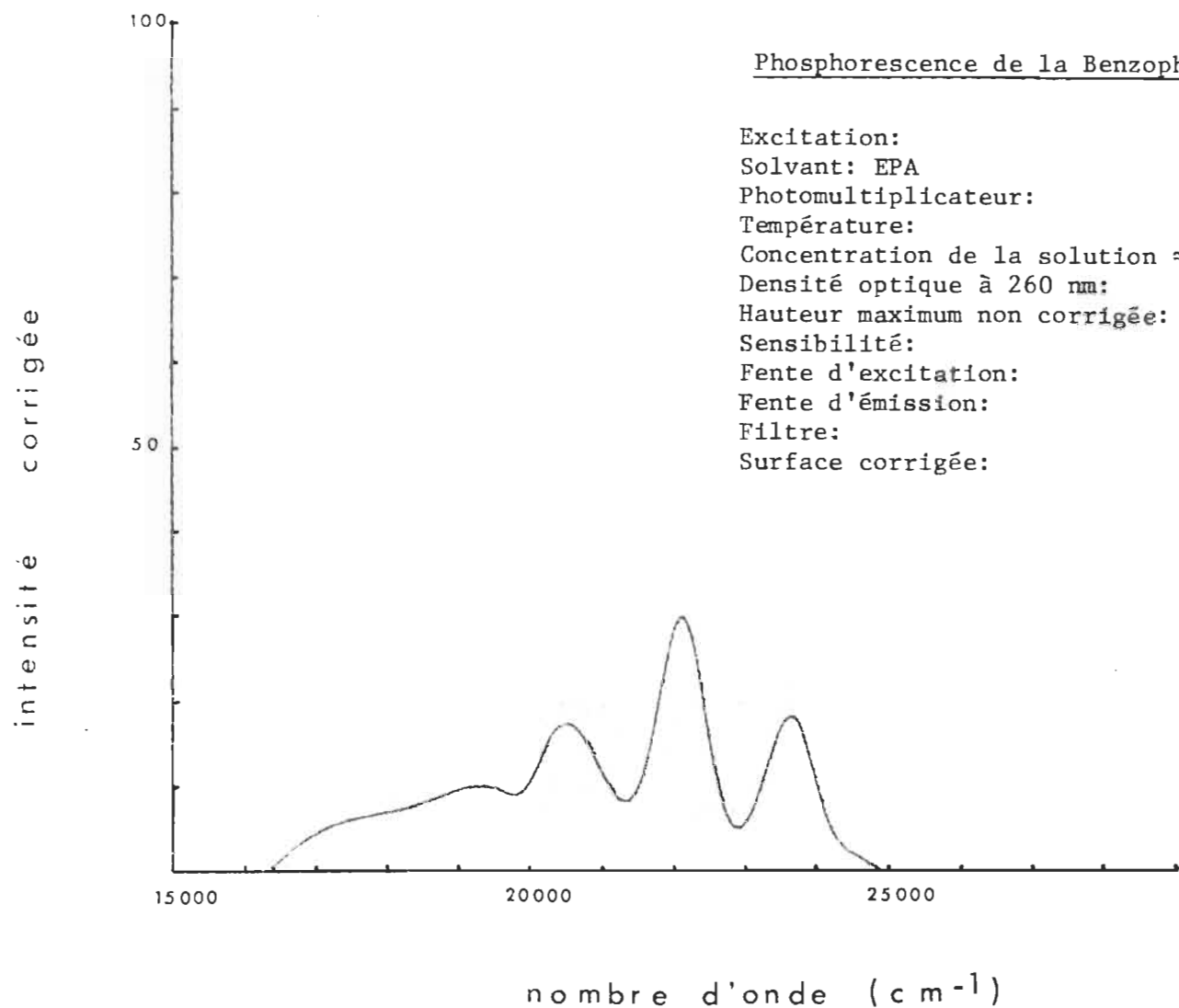
La moyenne de toutes ces valeurs indique un rendement:

$$\phi_p = .90$$

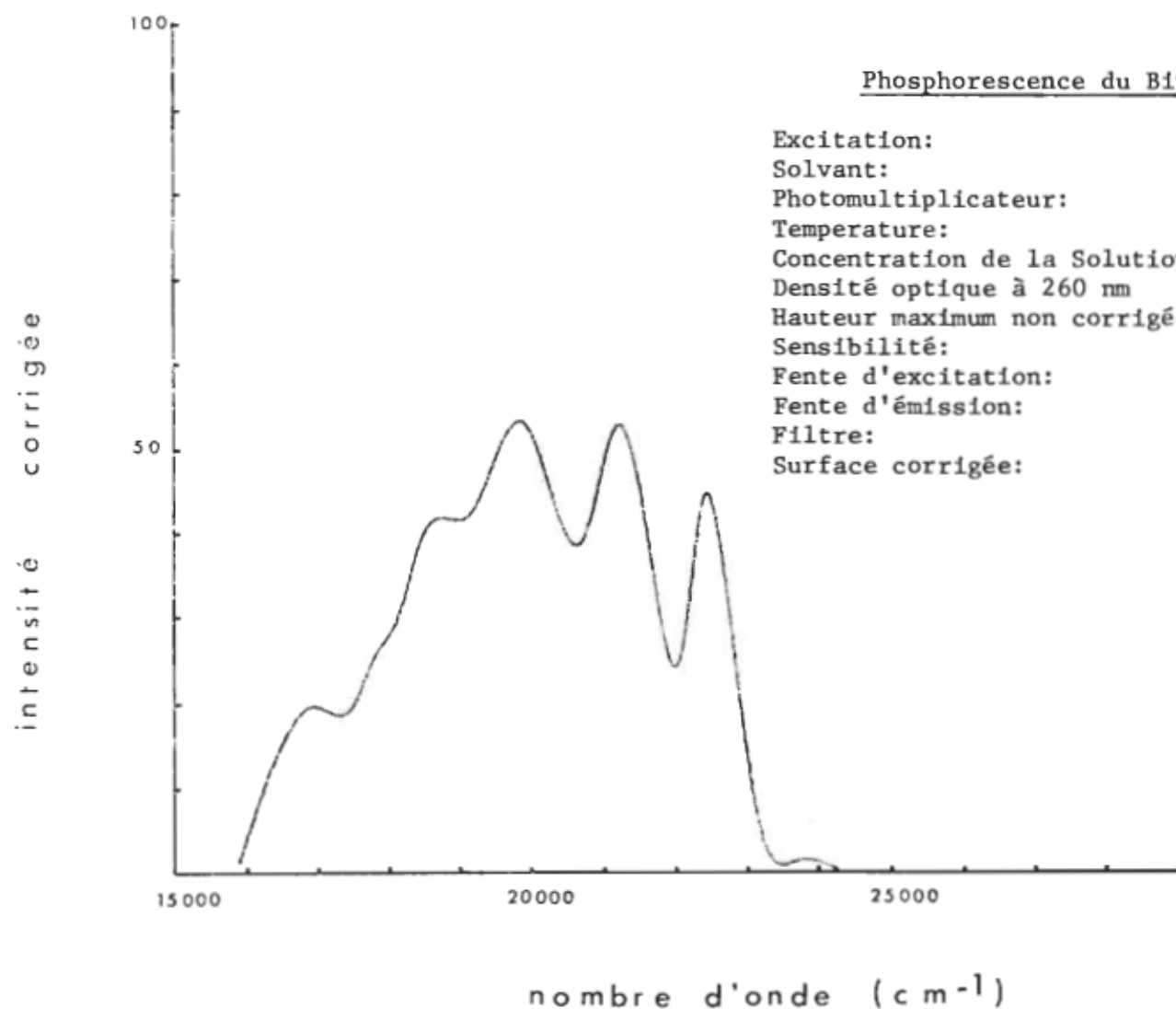
Cette valeur du rendement quantique de phosphorescence est très

importante. Mais si l'on tient compte de la faible valeur de rendement quantique de dégradation et de l'absence de fluorescence, alors il n'est pas étonnant que le rendement de phosphorescence soit élevé. Cette valeur de .9 obtenue constitue en quelque sorte une vérification de nos calculs sur les rendements de photodégradation, puisque la somme de tous les processus primaires ne doit pas constituer un rendement supérieur à 1.

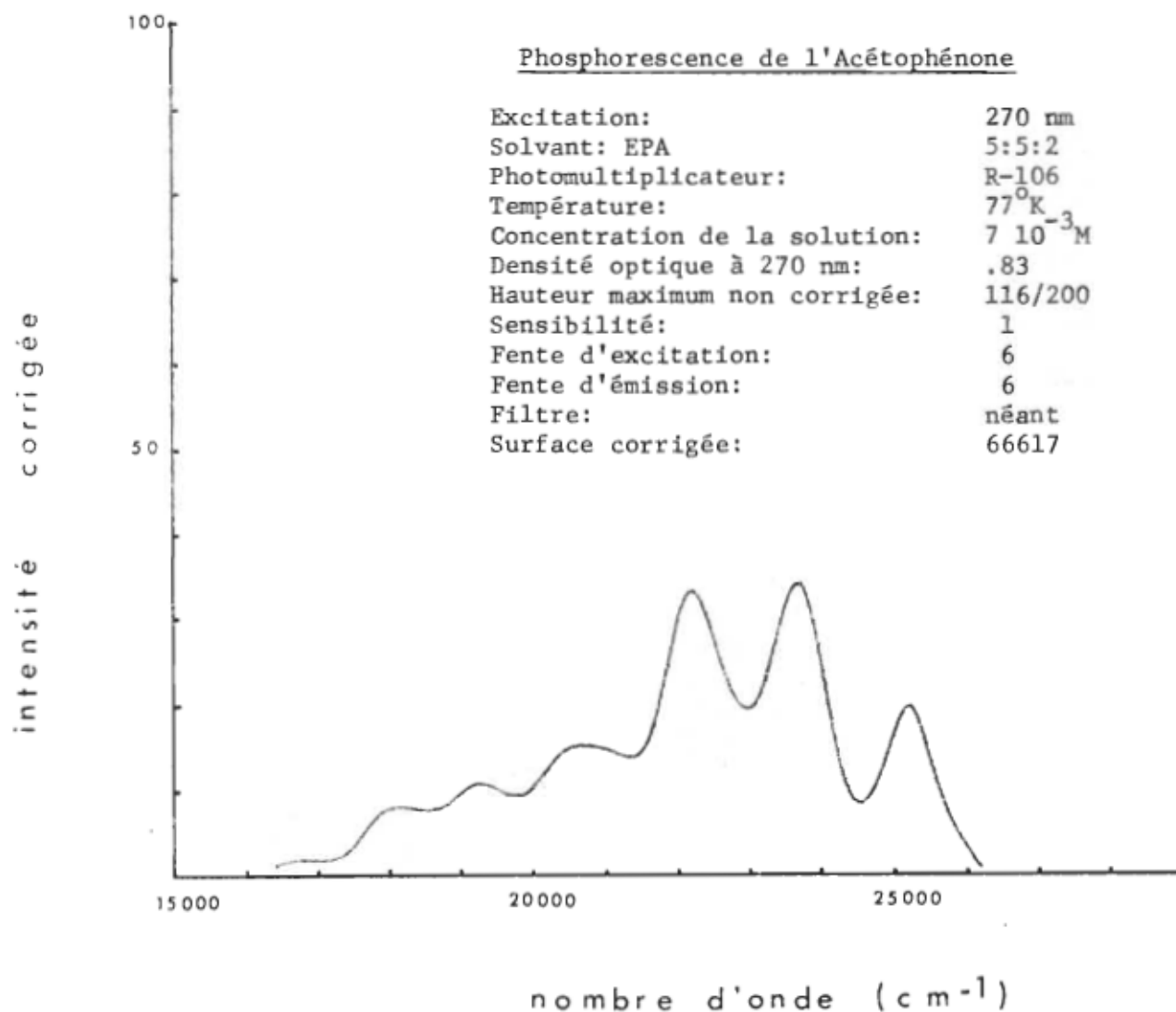


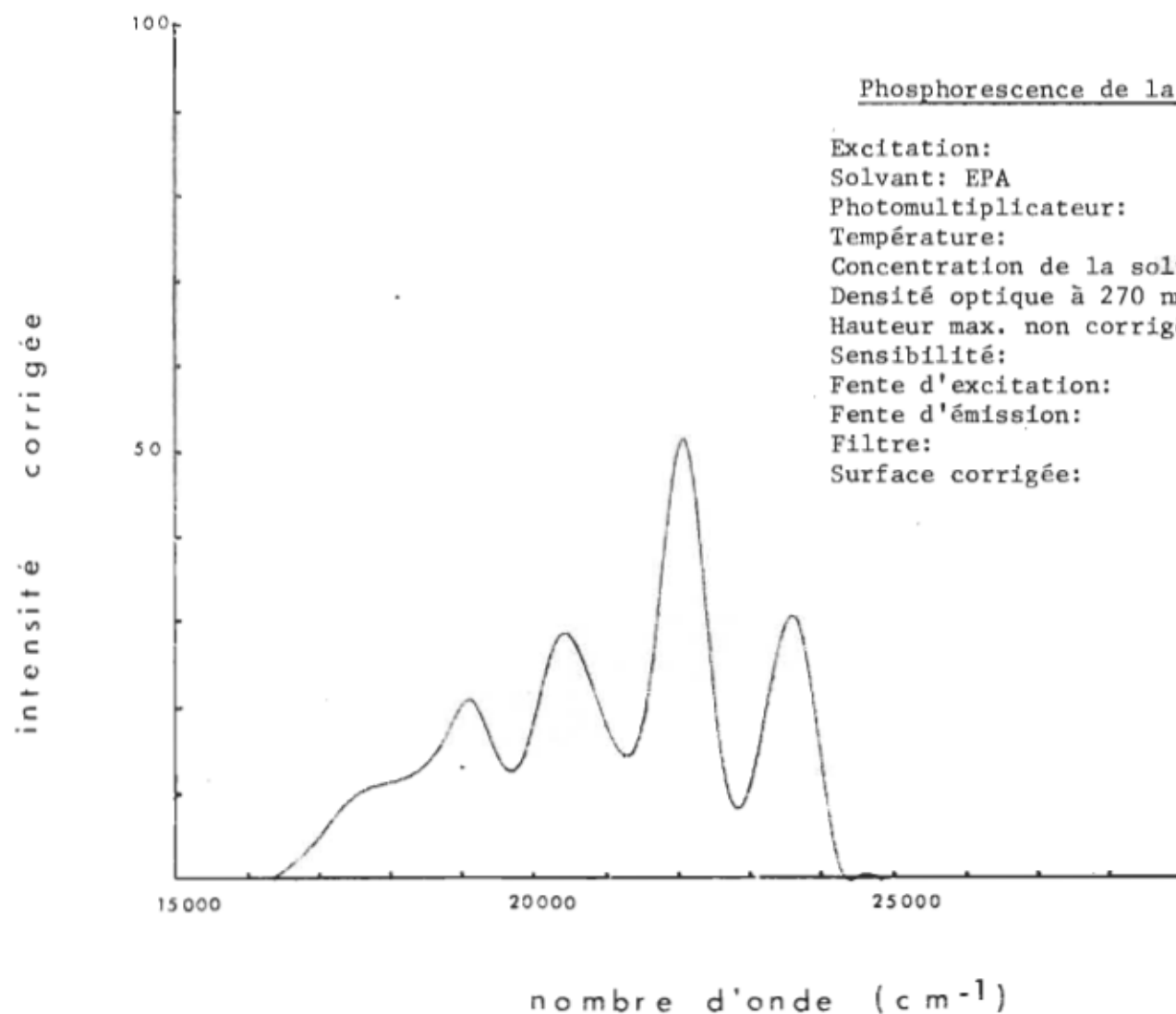


GRAPHIQUE 25

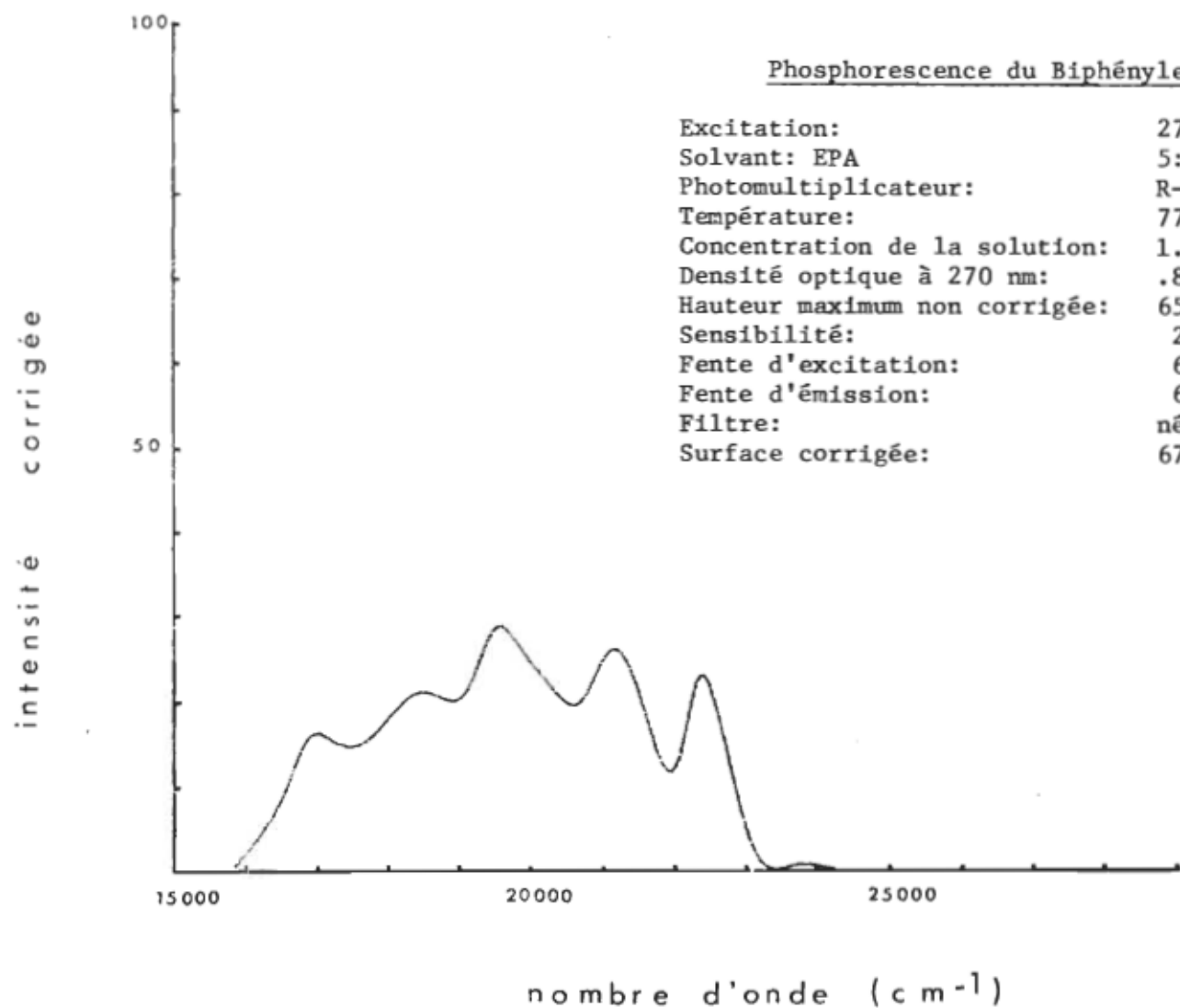


GRAPHIQUE 26

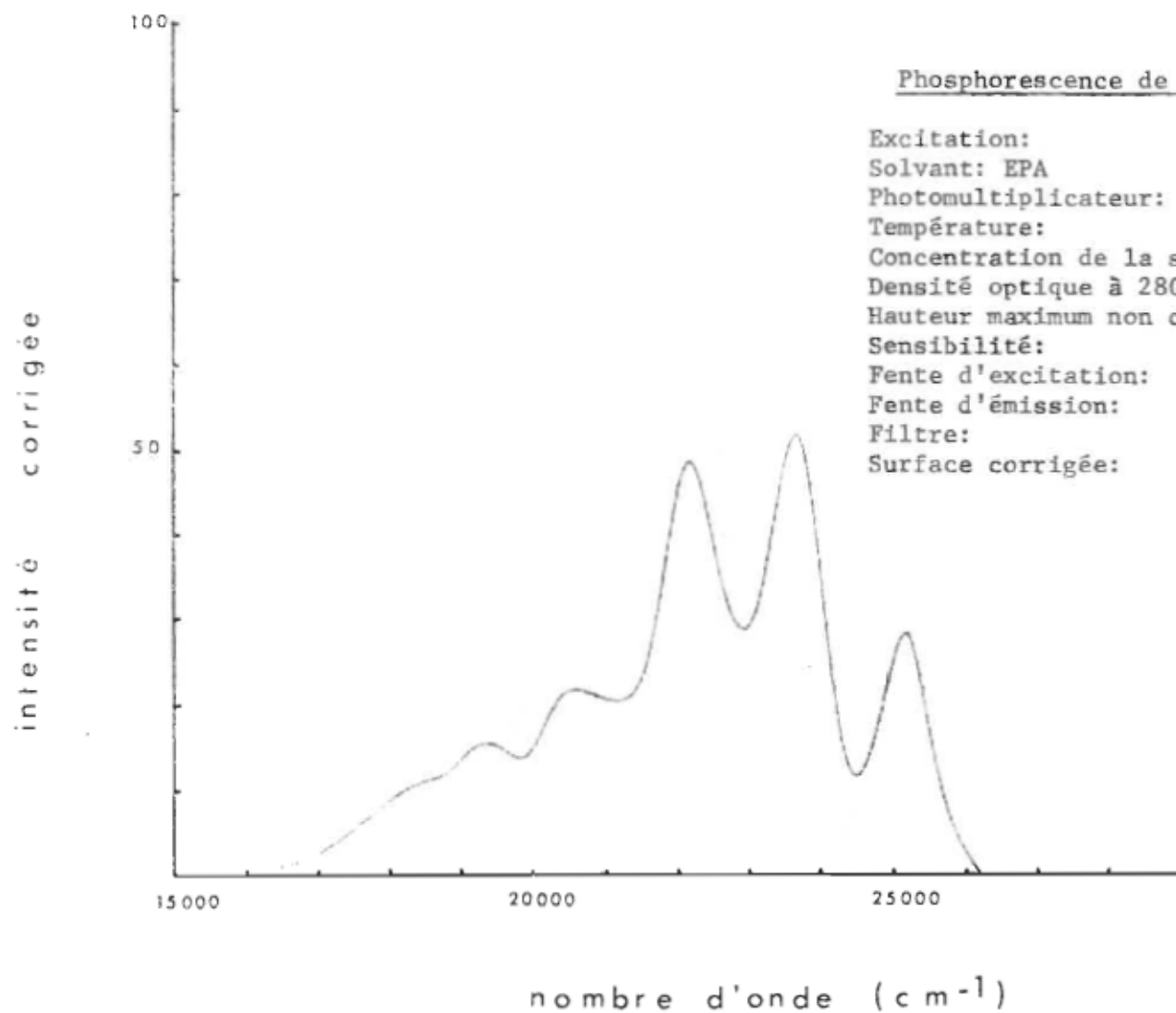




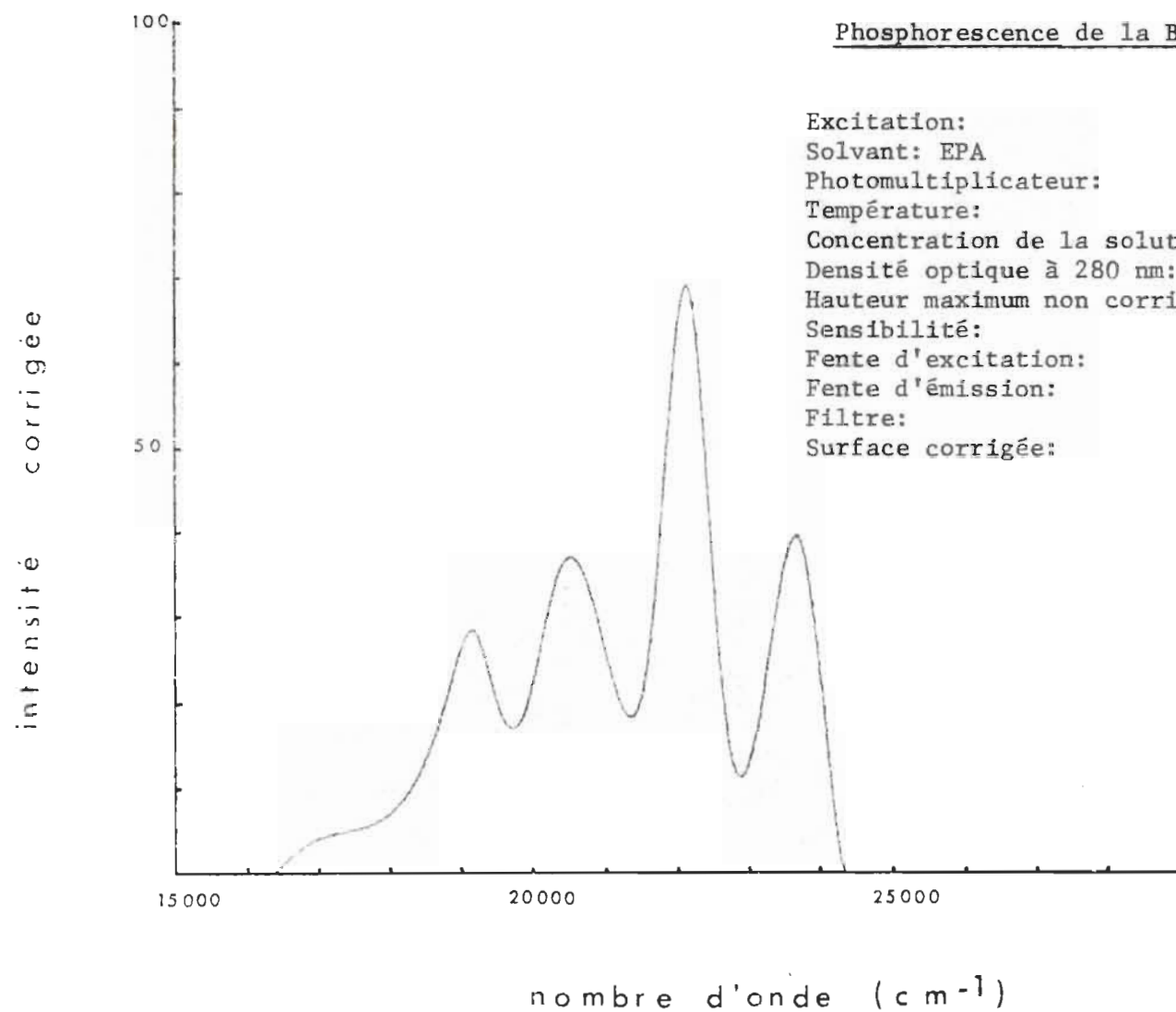
GRAPHIQUE 28



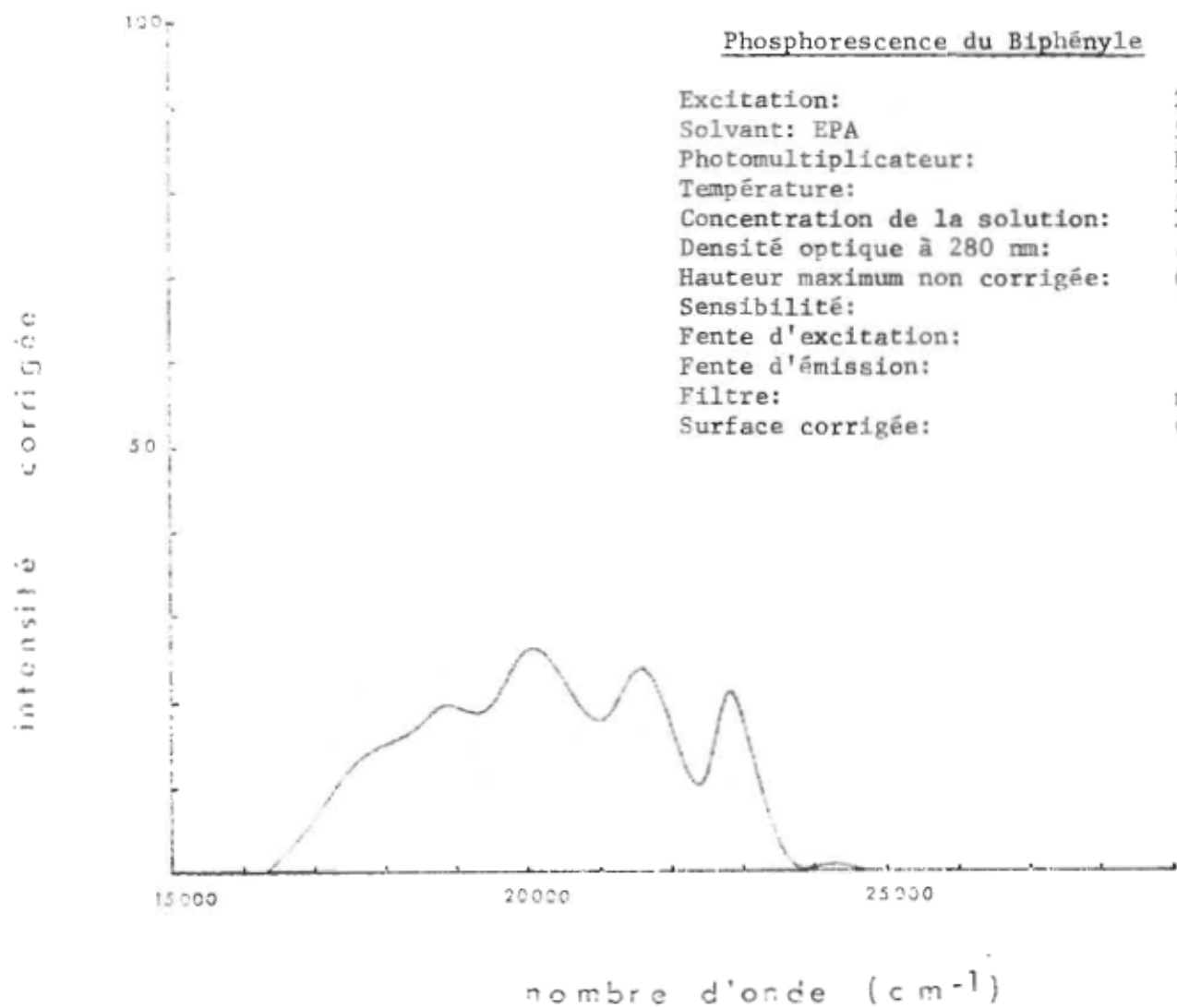
GRAPHIQUE 29

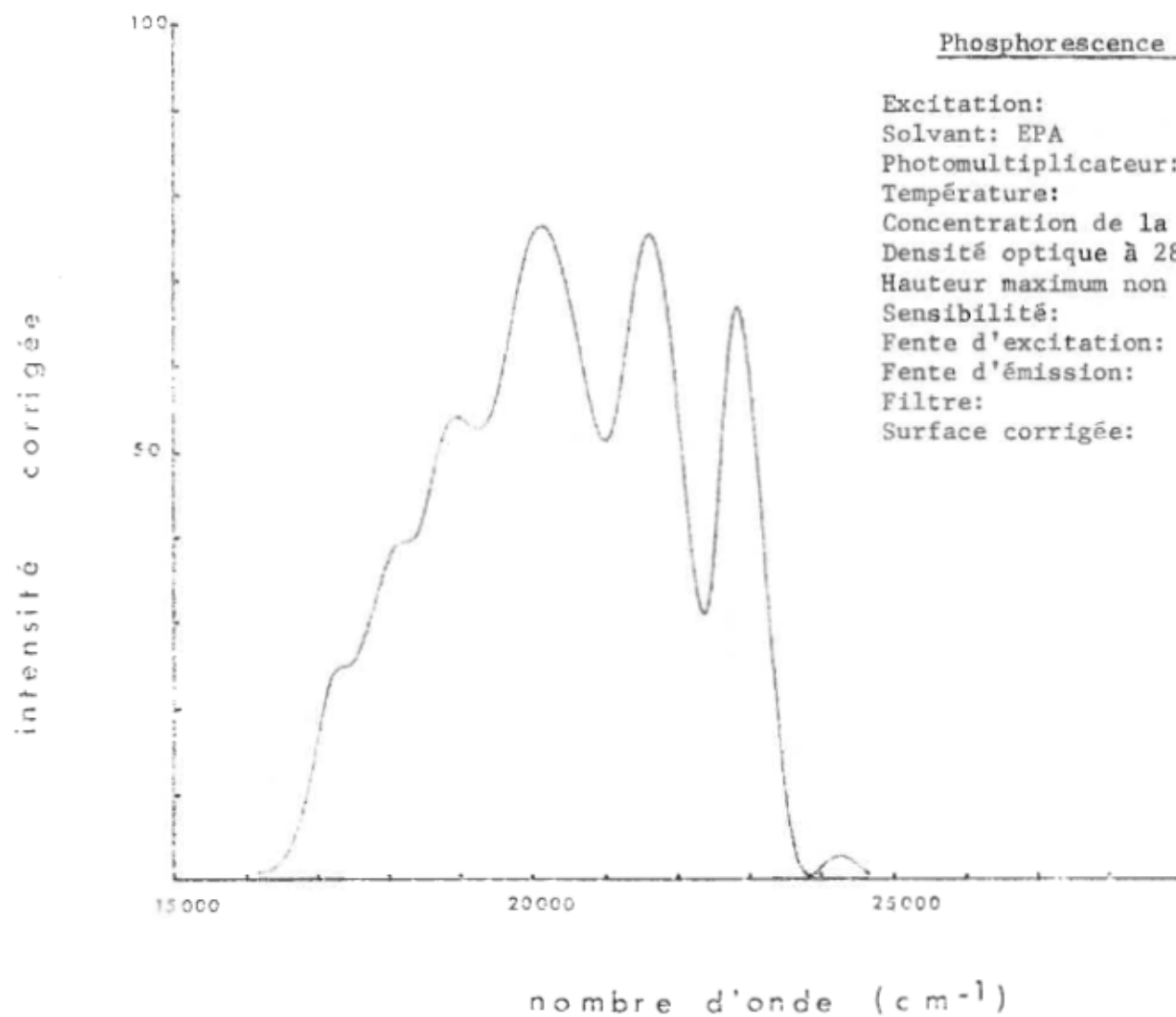


GRAPHIQUE 30

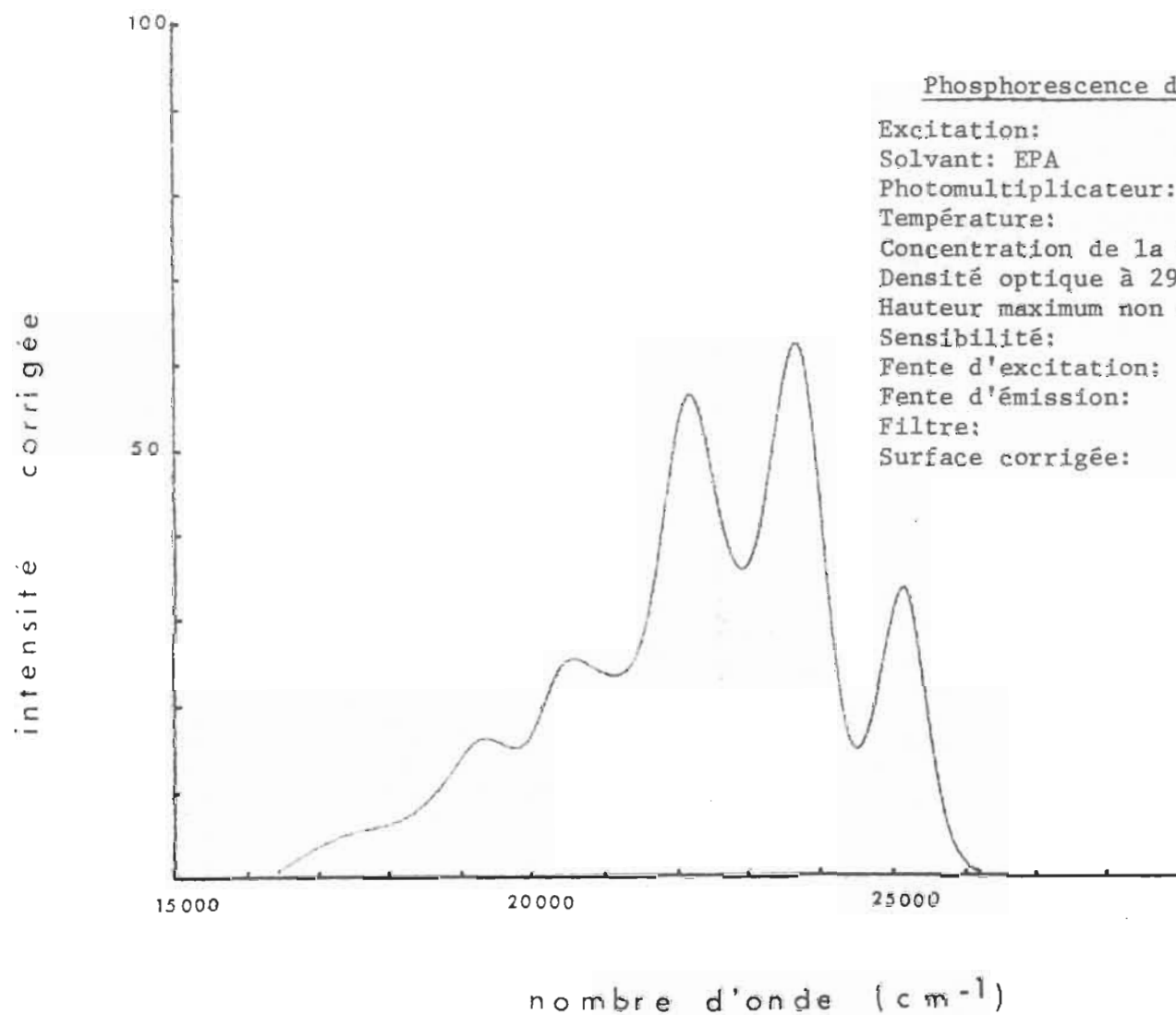


GRAPHIQUE 31

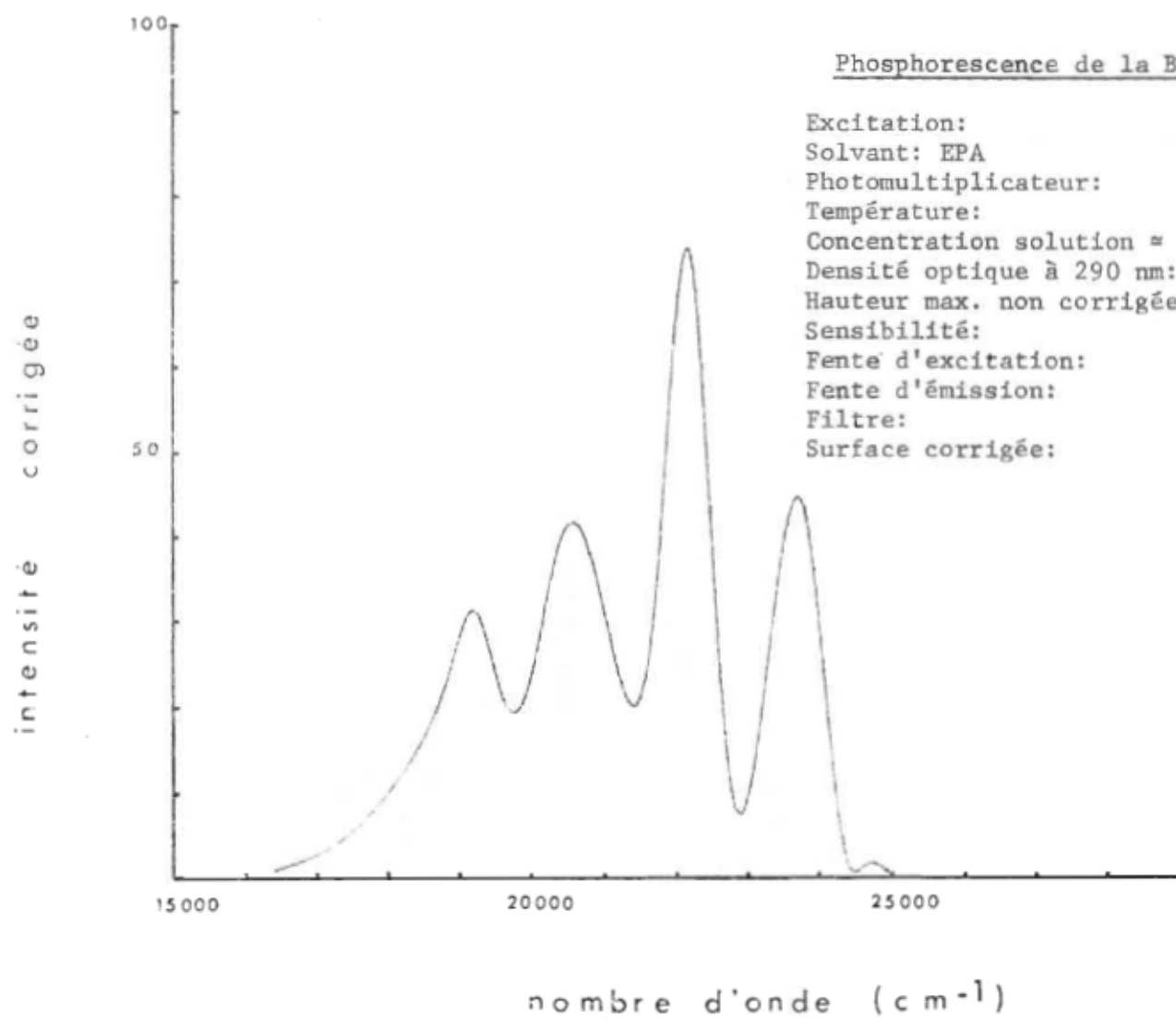




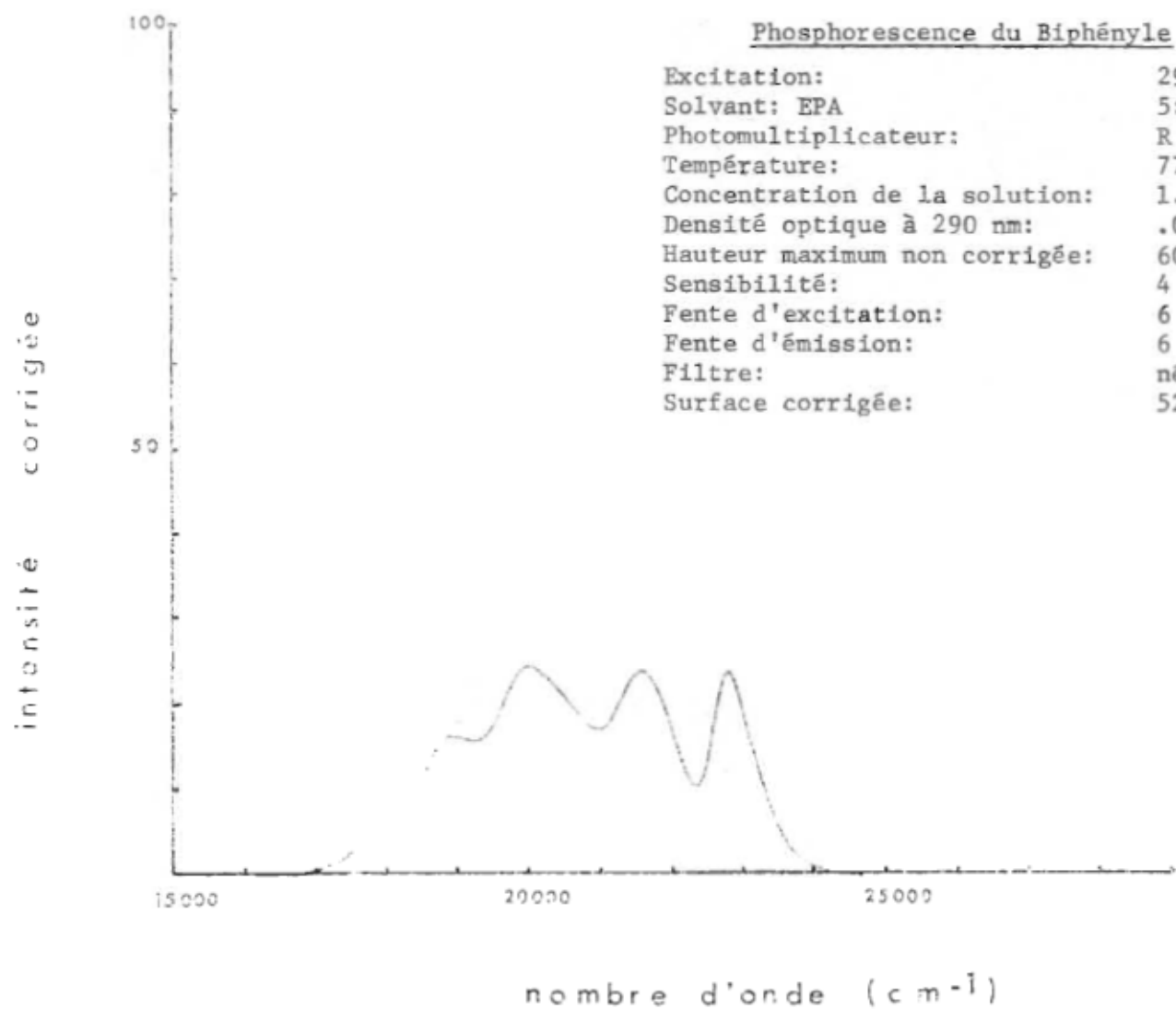
GRAPHIQUE 33



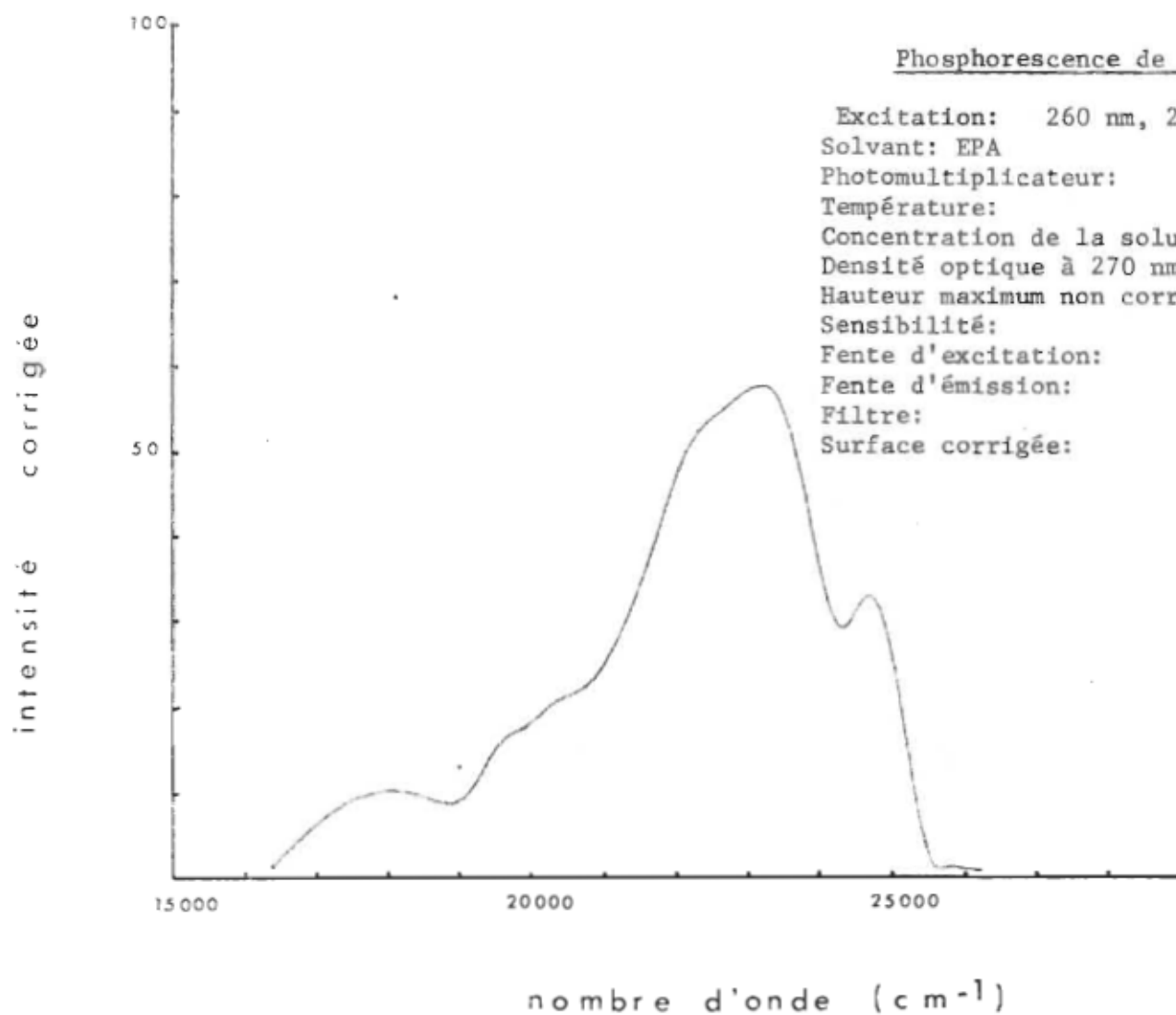
GRAPHIQUE 34



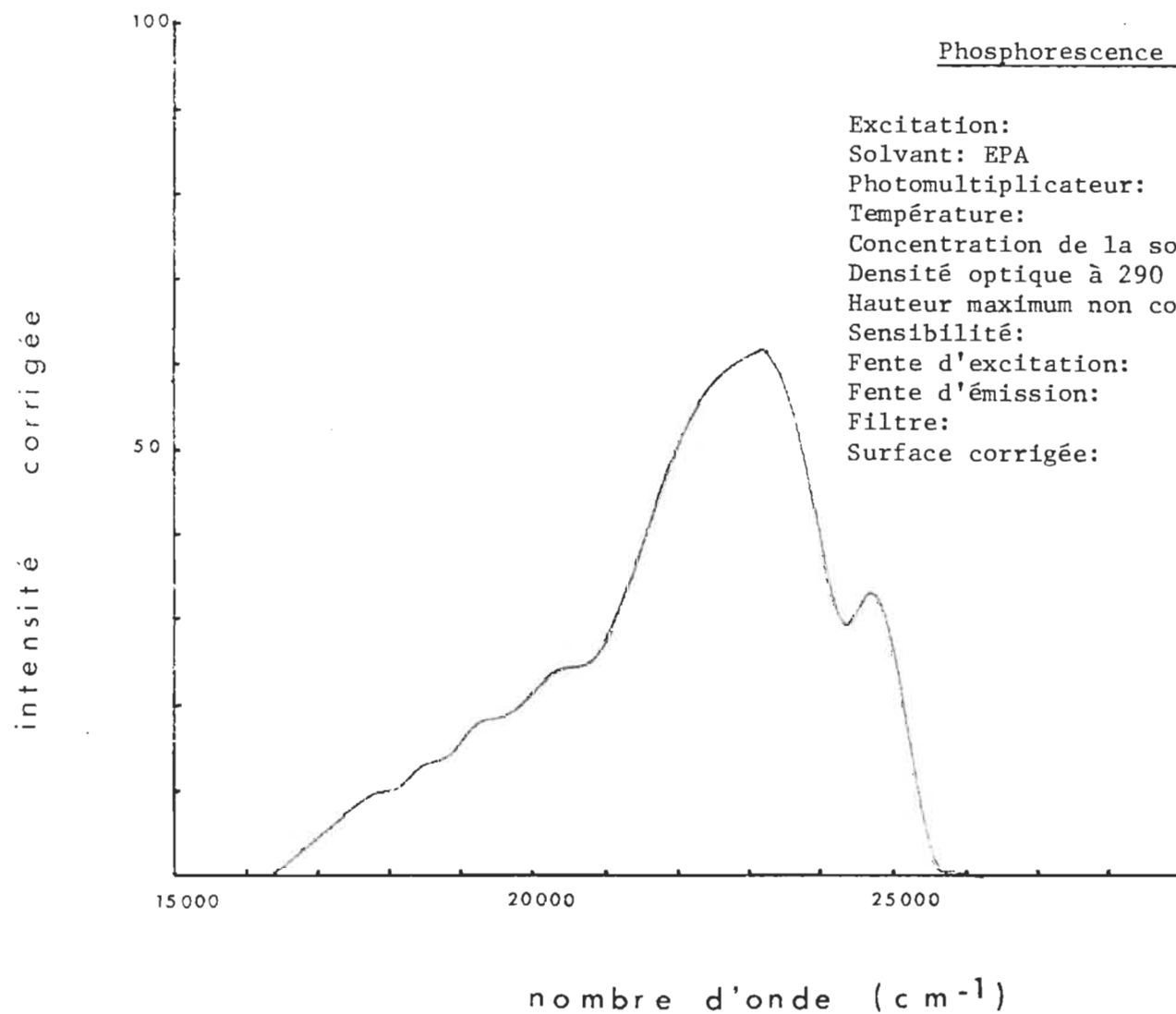
GRAPHIQUE 35



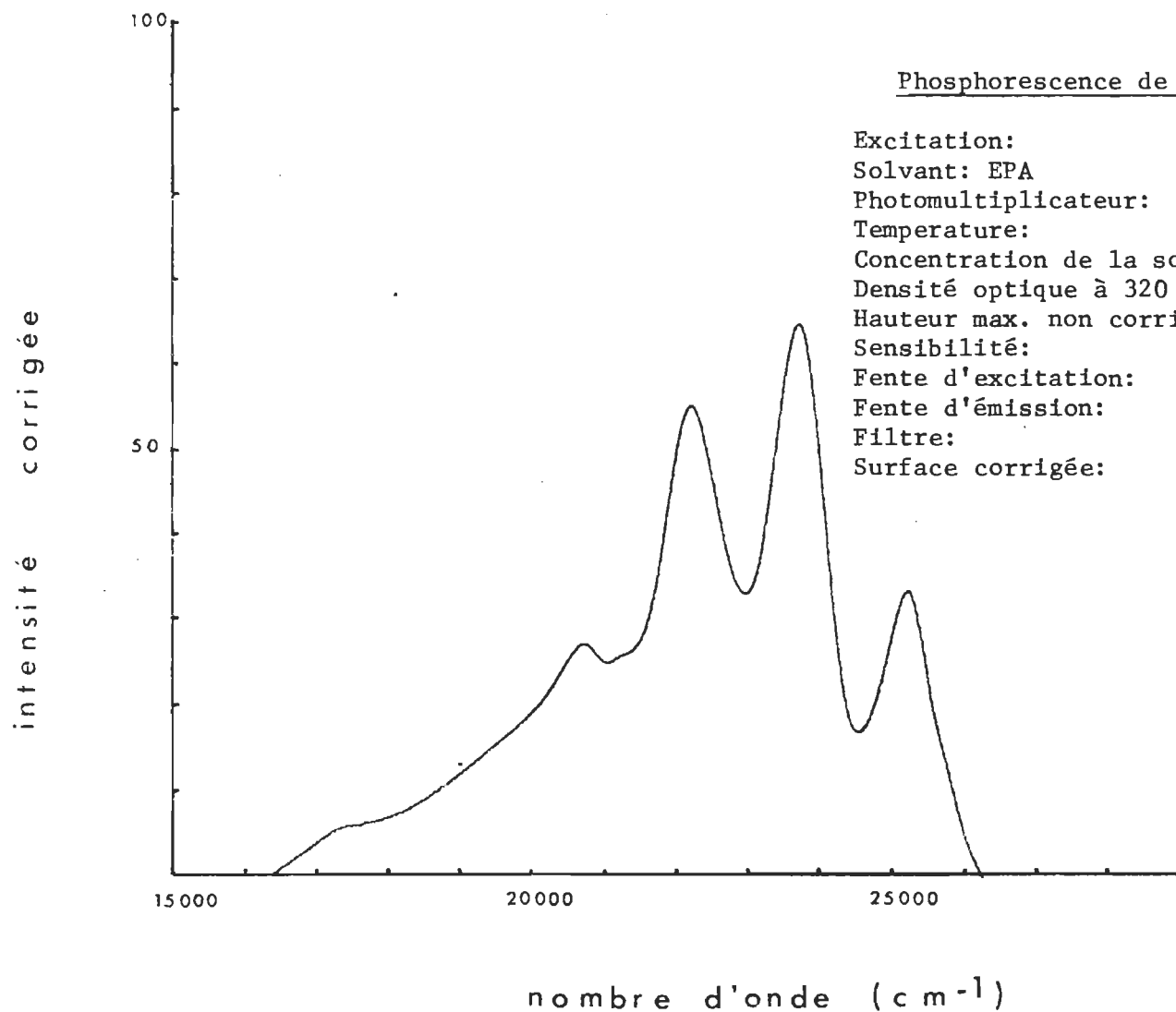
GRAPHIQUE 36



GRAPHIQUE 37



GRAPHIQUE 38

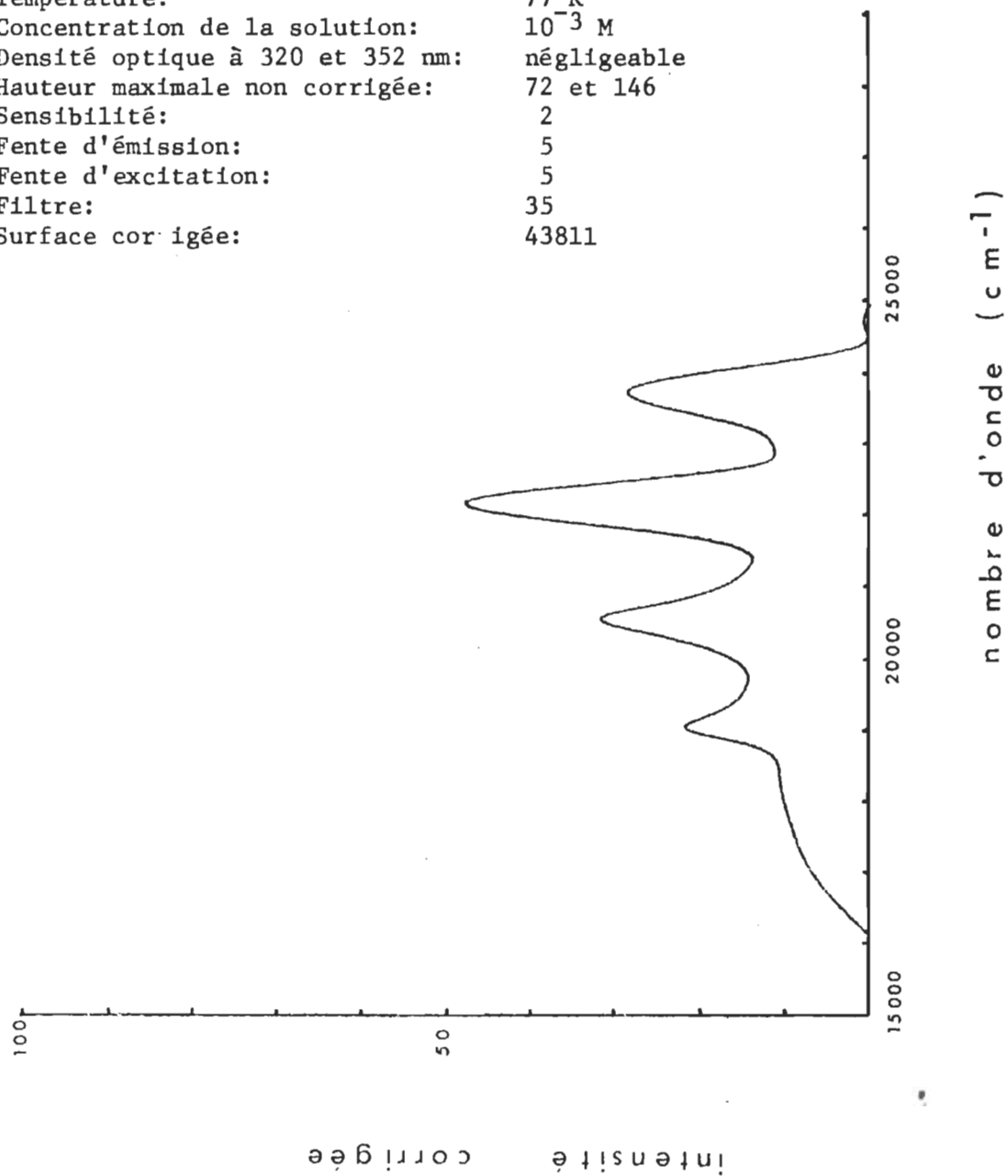


GRAPHIQUE 39

GRAPHIQUE 40

Phosphorescence de la Benzophénone

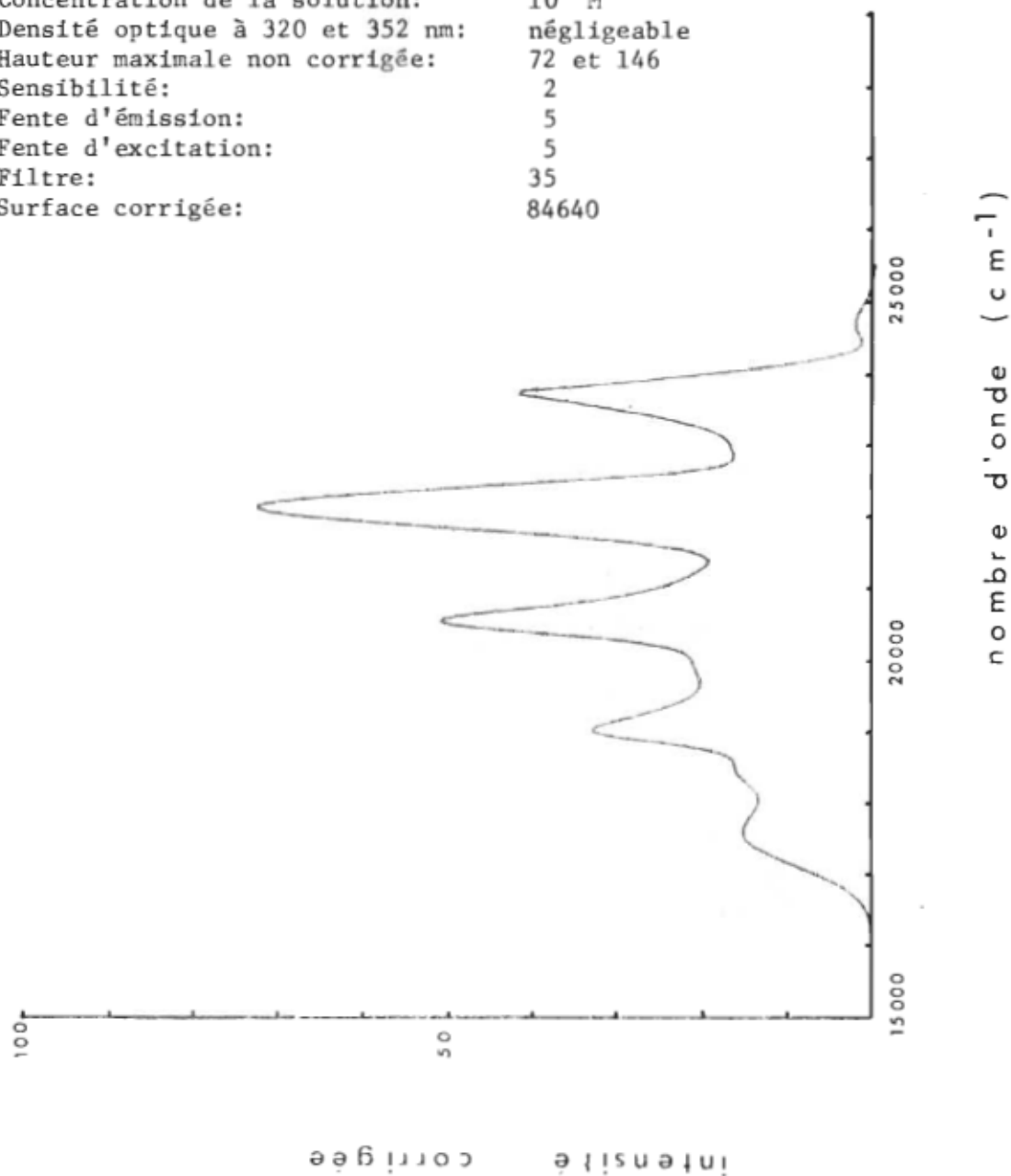
Excitation:	320 nm
Solvant: EPA	5:5:2
Photomultiplicateur:	R-106
Température:	77°K
Concentration de la solution:	10^{-3} M
Densité optique à 320 et 352 nm:	négligeable
Hauteur maximale non corrigée:	72 et 146
Sensibilité:	2
Fente d'émission:	5
Fente d'excitation:	5
Filtre:	35
Surface corrigée:	43811

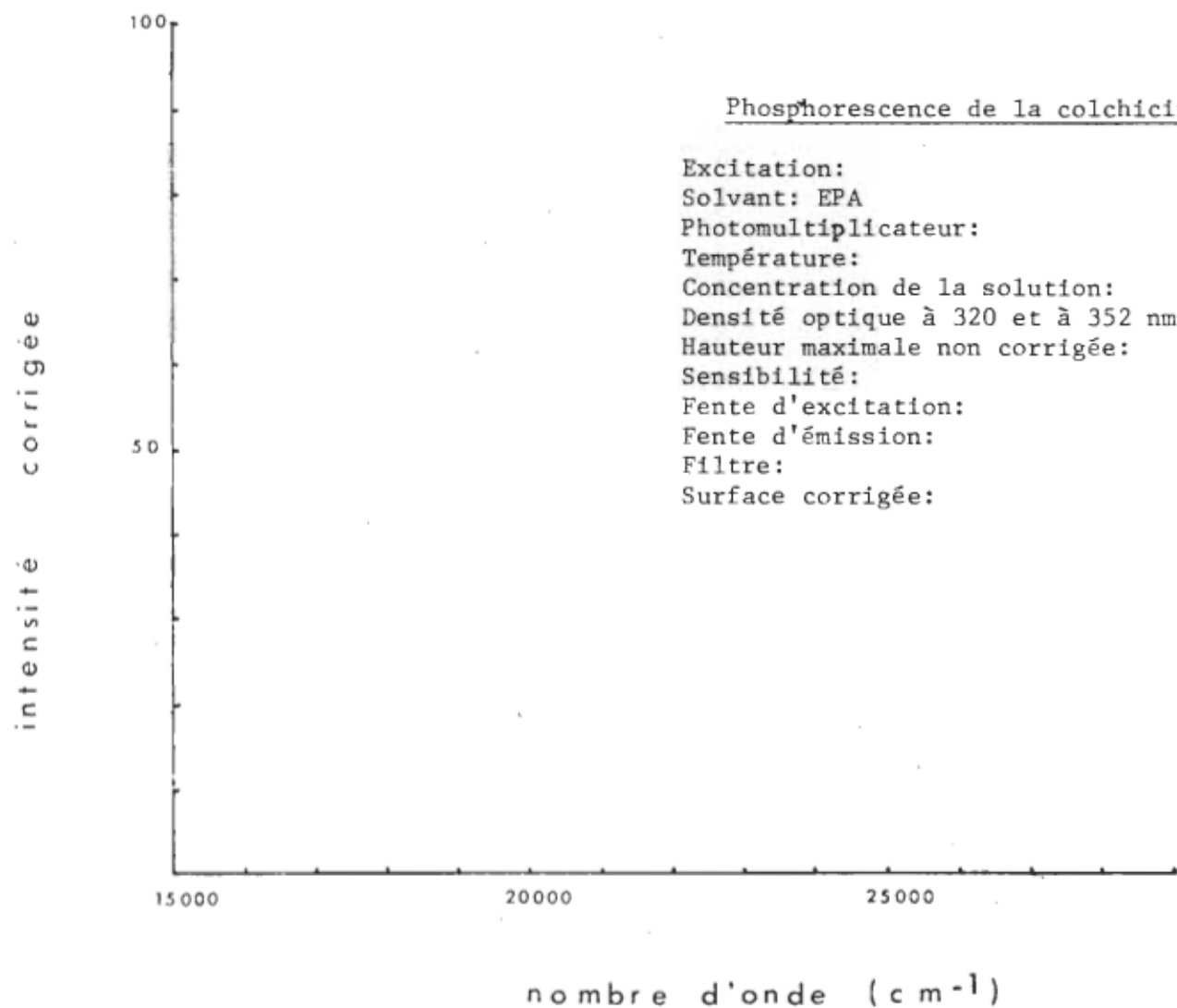


GRAPHIQUE 41

Phosphorescence de la Benzophénone

Excitation: 352 nm
 Solvant: EPA 5:5:2
 Photomultiplicateur: R-106
 Température: 77°K
 Concentration de la solution: 10^{-3} M
 Densité optique à 320 et 352 nm: négligeable
 Hauteur maximale non corrigée: 72 et 146
 Sensibilité: 2
 Fente d'émission: 5
 Fente d'excitation: 5
 Filtre: 35
 Surface corrigée: 84640





GRAPHIQUE 42

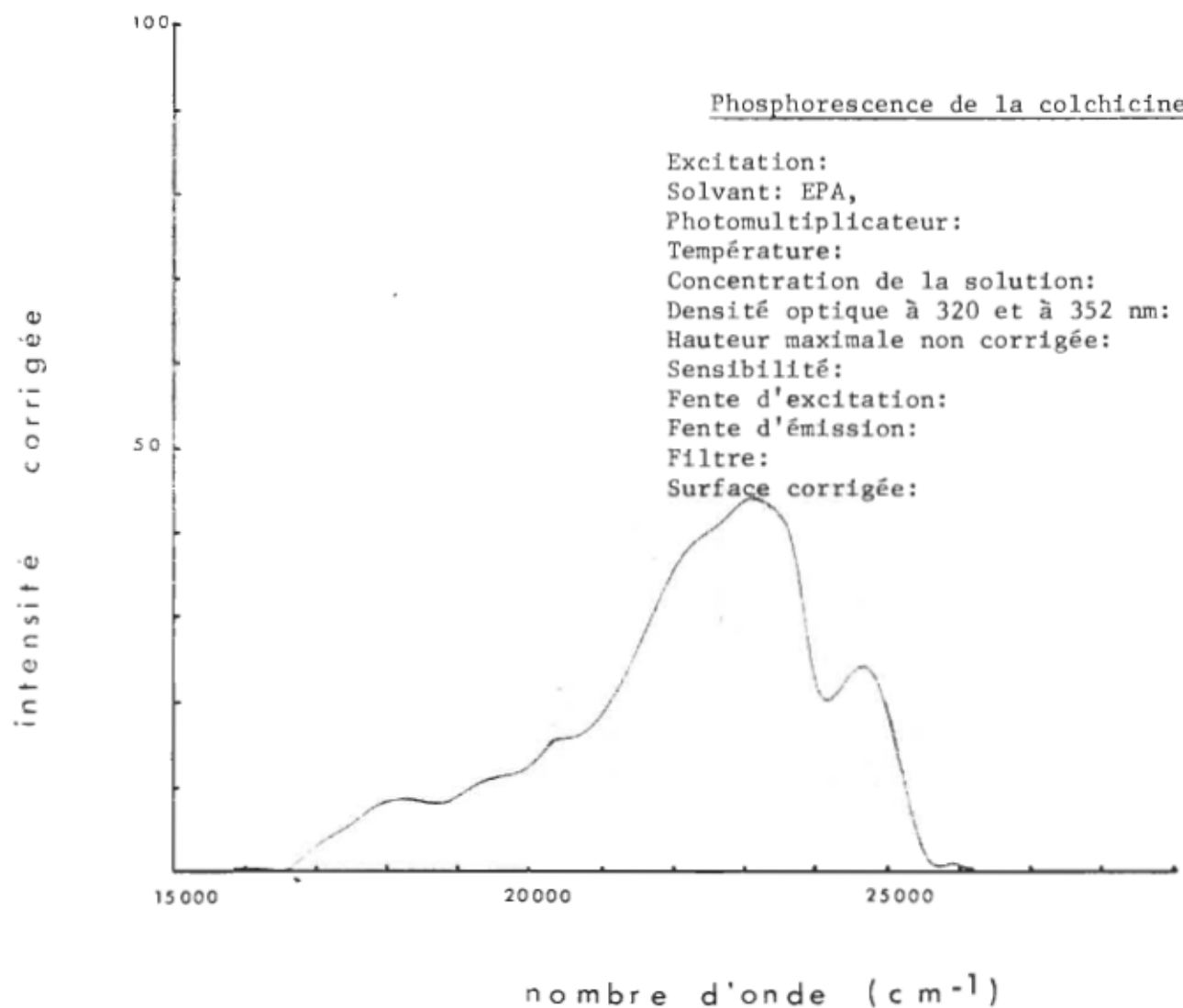


Tableau 42

STANDARDS	BENZOPHENONE		ACETOPHENONE		BIPHENYLE		COLCHICINE	
Excitation	Hauteur	Surface corrigée	Hauteur	Surface corrigée	Hauteur	Surface corrigée	Hauteur	Surface corrigée
260								
6,6,(1)	76	45888	69	41943	131	127000	117	73929
270								
6,6,(1)	130	75973	116	66617	65	67653	107	71626
280								
6,6,(1)	174	93932	171	101181	60	63973	107	71626
290								
6,6,(1)	184	99642	205	117361	60	51957	113	80789
320								
5,5,(35)	72	43477	132	73473			36	23745
352								
5,5,(35)	146	85029					106	72780

Tableau 43

RENDEMENT DE PHOSPHORESCENCE DE LA COLCHICINE

STANDARDS	BENZOPHENONE	ACETOPHENONE	BIPHENYLE
Conditions expérimentales			
excitation 260 nm fentes 6 et 6 pas de filtre	.79	.77	.16
excitation 270 nm fentes 6 et 6 pas de filtre	.88	.89	.17
excitation 280 nm fentes 6 et 6 pas de filtre	.96	.86	.18
excitation 290 nm fentes 6 et 6 pas de filtre	.92	.85	.18
excitation 320 nm fentes 5 et 5 filtre 35	.82		
excitation 352 nm fentes 5 et 5 filtre 35	.88	.88	

CHAPITRE SIXIEME

DIAGRAMME DE JABLONSKI

DIAGRAMME DE JABLONSKI

Nous sommes en mesure à présent, à l'aide de tous les résultats précédents, de construire le diagramme de Jablonski de la molécule de colchicine. Celui-ci comporte certaines composantes issues directement de l'expérience mais d'autres doivent être déduites par calcul théorique.

6.1 Composantes issues directement de l'expérience

1. L'énergie du niveau S_1 : $E_{S_1} = 74.3$ Kcal/mole.

Il est à remarquer que la bande d'absorption correspondante n'est pas nette: on voit tout juste un épaulement très léger lorsqu'on prend un spectre de la colchicine dans un solvant peu polaire tel le benzène par exemple.

2. La nature de S_1 : c'est une bande de $n\pi^*$ à cause:

- de son faible coefficient d'extinction moléculaire ($\epsilon \approx 200$);
- de son déplacement vers les courtes longueurs d'onde lorsque la polarité du solvant augmente.

3. L'énergie du niveau S_2 : $E_{S_2} = 81.7$ Kcal/mole.

Cette bande d'absorption est très intense et c'est la raison pour laquelle la bande $n\pi^*$ précédente n'est pas visible ou très peu.

4. La nature de S_2 : c'est une bande $\pi\pi^*$ à cause:

- de son coefficient d'extinction élevé ($\epsilon = 16000$);
- de son déplacement vers les grandes longueurs d'onde quand la polarité du solvant augmente.

5. L'énergie de T_1 : $E_{T_1} = 71.5$ Kcal/mole.

Pour cela on considère ce qui devrait être la bande 0-0 de phosphorescence à 400 nm.

6. La nature de T_1 : c'est une bande $n\pi^*$ à cause de:

- l'effet de solvant;
- de sa polarisation positive;
- sa courte durée de vie.

7. Le rendement de phosphorescence: $\phi_p = .90$

Il a été mesuré relativement à deux standards:

- la benzophénone $\phi_p = .75$
- l'acétophénone $\phi_p = .71$

8. Le rendement de fluorescence: $\phi_F = 10^{-4}$

Lorsqu'aucune fluorescence n'est décelée, c'est la valeur du rendement utilisée pour les calculs.

9. Le temps de vie mesuré de l'état excité T_1 : $\tau_p = 3 \cdot 10^{-4}$ sec.

On considère la pente de la droite $\log \frac{X_0}{X} = f(t)$.

10. La largeur de la bande d'absorption $n\pi^*$ à mi-hauteur:

$$\Delta \bar{\nu} \frac{1}{2} = \left\{ \begin{array}{c} 3700 \text{ Å} \\ - \\ 4100 \text{ Å} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{c} 27000 \text{ cm}^{-1} \\ - \\ 24400 \text{ cm}^{-1} \end{array} \right\} = 2600 \text{ cm}^{-1}$$

11. Le rendement quantique de dégradation dans l'EPA:

$$\phi \text{ dégradation} = 10^{-2} \text{ environ.}$$

A partir de ces résultats expérimentaux, toutes les autres composantes du diagramme de Jablonski peuvent être déterminées.

6.2 Composantes calculées théoriquement

1. Temps de vie inhérent à l'état S_1 :

$$\tau^0 = \frac{3.5 \cdot 10^8}{\nu_m^2 \epsilon_m \Delta\nu_{1/2}^2}$$

$$\left. \begin{array}{l} \nu_m = 26000 \text{ cm}^{-1} \\ \epsilon_m \approx 200 \\ \Delta\nu_{1/2} = 2600 \text{ cm}^{-1} \end{array} \right\} \tau^0 = \frac{3.5 \cdot 10}{(26000)^2 \times 200 \times 2600} = 10^{-6} \text{ sec.}$$

2. Constante de desexcitation de S_1 par fluorescence:

$$kf^0 = \frac{1}{\tau^0} = \frac{1}{10^{-6} \text{ sec}} = 10^6 \text{ sec}^{-1}$$

3. Temps de vie réel de l'état T_1 :

$$\begin{aligned} \tau_p^0 &= \tau_p \text{ mesuré } \left(\frac{1 - \phi_f - \phi_d}{\phi_p} \right) \\ &= 3 \cdot 10^{-4} \text{ sec } \left(\frac{1 - 10^{-4} - 10^{-2}}{.9} \right) \\ &\approx 3 \cdot 10^{-4} \text{ sec} \end{aligned}$$

4. Constante de desexcitation thermique à partir de T_1 :

$$\begin{aligned} kt^0 &= kp^0 \left(\frac{1 - (\phi_p + \phi_f + \phi_d)}{\phi_p} \right) \\ &= 5 \cdot 10^3 \text{ sec}^{-1} \left(\frac{1 - .92}{.9} \right) \\ &= 5 \cdot 10^2 \text{ sec}^{-1} \end{aligned}$$

5. Constante de desexcitation thermique à partir de S_1 :

$$k_s^0 = k_f^0 \left(\frac{1 - (\phi_f + \phi_p + \phi_d)}{\phi_f} \right)$$

$$= 10^6 \text{ sec}^{-1} \left(\frac{1 - .92}{10^{-4}} \right)$$

$$= 10^9 \text{ sec}^{-1}$$

6. Constante de transition intersystème $S_1 \rightarrow T_1$:

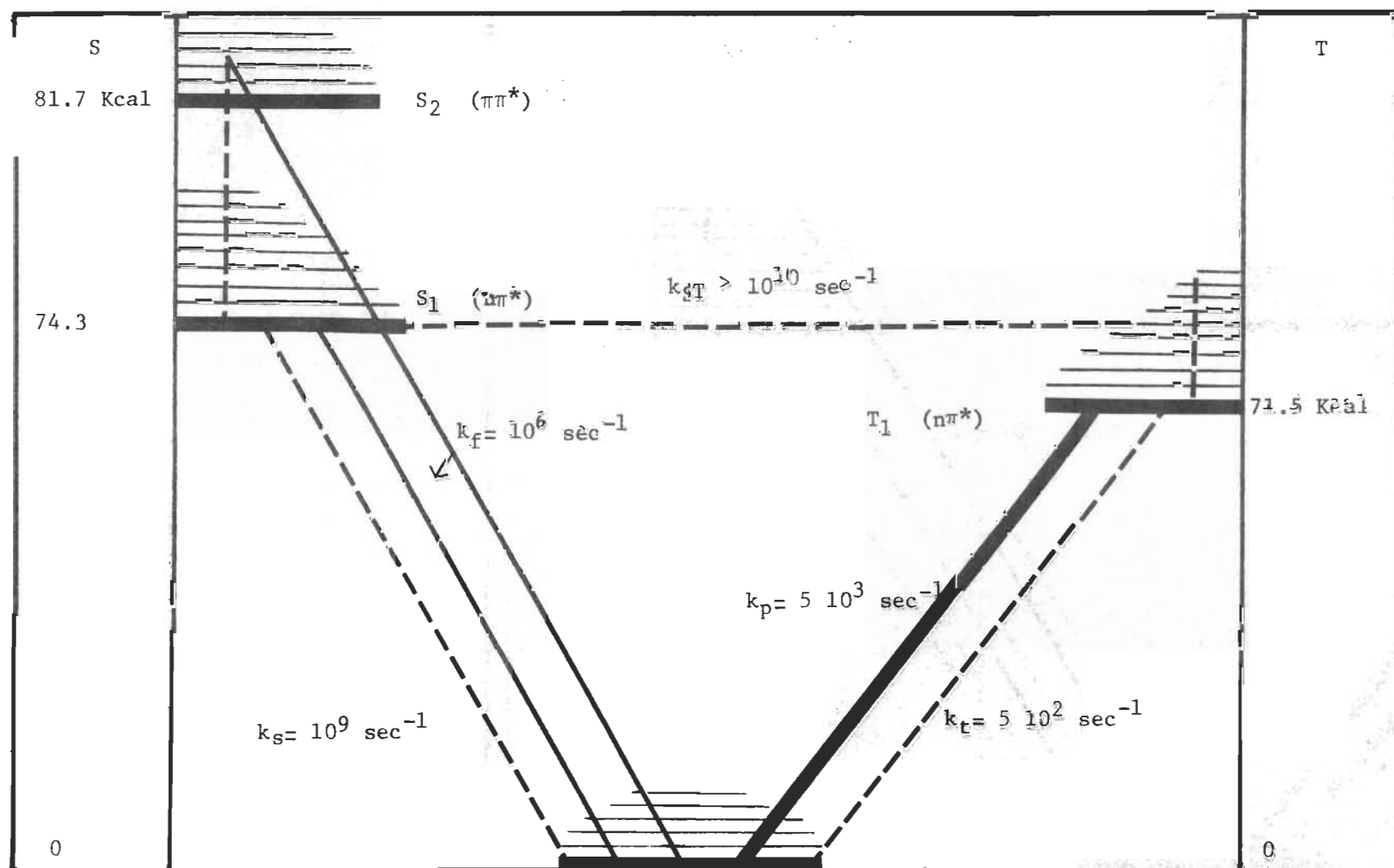
$$k_{st} = \frac{\phi_p}{\phi_f} \times \frac{k_f^0}{k_p^0} (k_t^0 + k_p^0)$$

$$k_{st} > \frac{.9}{10^{-4}} \frac{10^6}{5 \cdot 10^3} (5 \cdot 10^2 + 5 \cdot 10^3)$$

$$k_{st} > 10^{10} \text{ sec}^{-1}$$

Le diagramme apparaît sur la figure 18.

Fig.18- Diagramme de Jablonski



CONCLUSION

Au terme de cette étude concernant les processus photophysiques de la colchicine, une récapitulation des résultats s'impose.

Soumise à une irradiation U.V., la colchicine absorbe en présentant des bandes intenses $\pi\pi^*$ au nombre de deux ou trois selon le solvant utilisé. Une bande $n\pi^*$ existe aussi vers 400 nm en solvant non polaire mais elle est difficilement observable, masquée par la queue de la bande $\pi\pi^*$ à cause de son très faible coefficient d'extinction molaire. L'existence de cette bande est prouvée par la nature de la bande d'émission (95). On a donc une disposition relative des niveaux suivants que l'on a pu observer expérimentalement.

$$T_1(n\pi^*) < S_1(n\pi^*) < S_2(\pi\pi^*) < S_3(\pi\pi^*)$$

ou encore si l'état singulet S_1 possède un double caractère ($n\pi^*$ et $\pi\pi^*$):

$$T_1(n\pi^*) < S_1(n\pi^*) < S_1(\pi\pi^*) < S_2(\pi\pi^*)$$

La situation énergétique du niveau $T_1(\pi\pi^*)$ ou $T_2(\pi\pi^*)$ pourrait être décelée à l'aide d'une expérience de photolyse éclair.

Le calcul de la constante K_{ST} montre l'importance de l'"intersystem crossing" ce qui signifie donc que la plupart des molécules excitées en S_1 passent immédiatement en T_1 , ce phénomène concordant avec la faible valeur de $\Delta E_{ST} < 3 \text{ Kcal mole}^{-1}$.

La photodégradation de la colchicine s'effectue à partir de S_1 ou de T_1 , mais compte tenu du temps de vie relativement long de T_1 , c'est cet état qui serait plutôt le point de départ de la réaction photochimique, comme d'ailleurs dans le cas des cétones aromatiques (80 et 96). Quant aux processus de désexcitation des états S_1 ou T_1 , il est important de

remarquer que la plus probable est la phosphorescence $T_1 \rightarrow S_0$, dont le rendement $\phi_p = .90$ dans l'E.P.A.

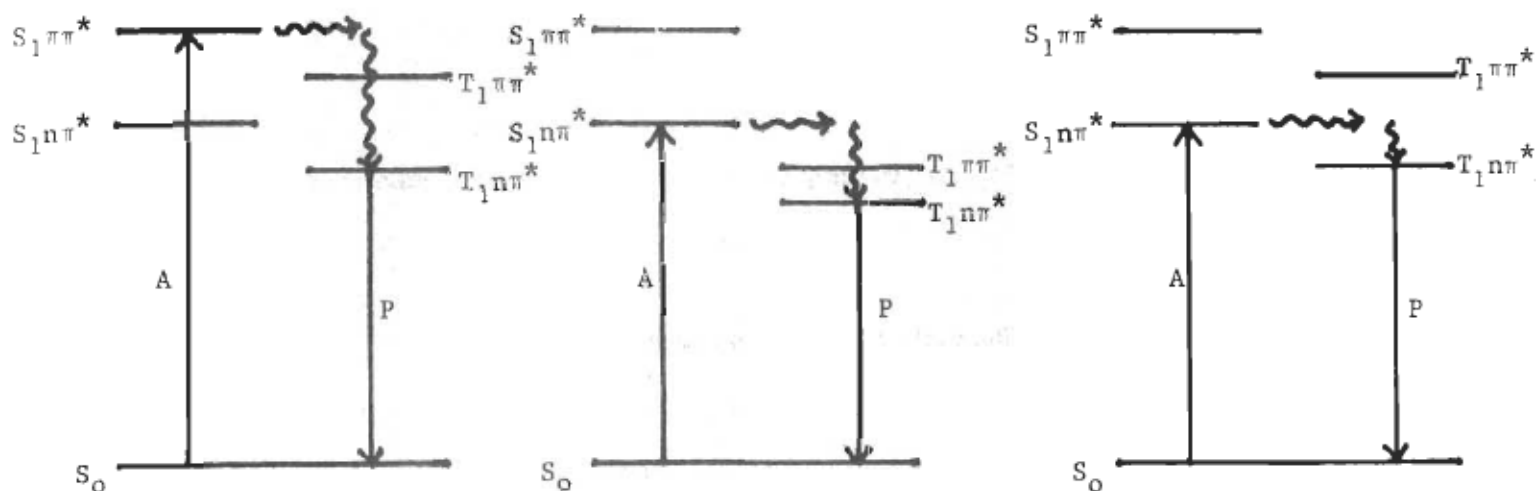
Si l'on se réfère aux différents rendements de photodégradation dans les solvants utilisés, rendements compris entre $3 \cdot 10^{-3}$ et $120 \cdot 10^{-3}$, on s'aperçoit donc que tous nos résultats se tiennent et constituent chacun une vérification du précédent.

Ainsi la somme des rendements des processus primaires doit égaler l'unité et c'est bien là notre résultat.

Les principaux processus photophysiques observés sont les suivants:

excitation en S_p	$(col)_{S_0} + hv \rightarrow (col)_{S_p}^*$	
conversion interne	$(col)_{S_p}^* \rightarrow (col)_{S_1}^* + Q$	
désexcitation non radiative	$(col)_{S_1}^* \rightarrow (col)_{S_0} + Q$	faible
fluorescence	$(col)_{S_1}^* \rightarrow (col)_{S_0} + hv$	non décelable.
"intersystem crossing"	$(col)_{S_1}^* \rightarrow (col)_{T_1, v}^*$	très important
	et $(col)_{T_1, v}^* \rightarrow (col)_{T_1, v=0}^*$	
photodégradation	$(col)_{T_1}^* \rightarrow \text{photoproduits}$	faible
désexcitation non radiative	$(col)_{T_1}^* \rightarrow (col)_{S_0} + Q$	faible
phosphorescence	$(col)_{T_1}^* \rightarrow (col)_{S_0} + hv$	importante.

Quant à la nature des transitions, trois schémas sont à envisager:



A = absorption

P = phosphorescence

Ici encore c'est la technique de photolyse éclair (absorption triplet-triplet) qui pourra trancher la question.

Enfin, pour ceux qui comme moi se sont demandés avec étonnement comment la plante de colchique pouvait résister à la colchicine qu'elle produit, signalons que c'est la colchicoside (glucoside du 3 déméthyle colchicine) qui est le "détoxicant" dans le colchicum (réf. 23, page 398).

ANNEXE

Signification des constantes utilisées en cinétique photophysique:

$[S_1]$	concentration des molécules excitées dans le premier état singulet S_1 .					
$[T_1]$	"	"	"	"	"	triplet T_1 .
k_f	constante de vitesse de fluorescence.					
k_p	"	"	de phosphorescence.			
k_S	"	"	de désexcitation non radiative à partir de S_1 .			
k_t	"	"	"	"	"	T_1 .
k_{Q1}^S	"	"	de quenching par une espèce Q_1 à partir de S_1 .			
k_{Q1}^T	"	"	"	"	"	T_1 .
k_c^S	"	"	de self quenching à partir de S_1 .			
k_c^T	"	"	"	"	"	T_1 .
k_{ST}	"	"	d'"intersystem crossing".			

BIBLIOGRAPHIE

- 1) M. Fragata, Die Naturwissenschaften, 3, 139 (1970).
- 2) M. Fragata, Experientia, 26, 104 (1970).
- 3) R. Grewe et W. Wulf, Chem. Ber. 84, 621 (1951).
- 4) J. Aronson et S. Inoue, J. Cell. Biol., 45, 470 (1970).
- 5) Index Merck, 8e édition, Merck et Cie Inc., New Jersey, (1968).
- 6) Dewar, Nature, 155, 141 (1945).
- 7) Loudon, Ann. Rept., 45, 187 (1948).
- 8) Doering et Knox, J. Am. Chem. Soc., 73, 828 (1951).
- 9) Cook et Loudon, Quaterly Rev., 5, 99 (1951).
- 10) King et al, Acta Cryst., 5, 437 (1952).
- 11) R.M. Horowitz et G.E. Ulliot, J. Am. Chem. Soc., 74, 587 (1952).
- 12) H. Rapoport, Journal Am. Chem. Soc., 76, 3693 (1954).
- 13) T. Hoshi et Y. Tanizaki, Zeitschrift fur Physikalische Chemie Neue Folge, 71, 230 (1970).
- 14) Nakamura, Chem. Pharm. Bull., 8, 843 (1960).
- 15) Schreiber et al, Helv. Chim. Acta, 44, 540 (1961).
- 16) Van Tamelen et al, Tetrahedron, 14, 8 (1961).
- 17) Sunagawa et al, ibid, 9, 81(1961) et 10, 281 (1962).
- 18) Scott et al., Tetrahedron 21, 3605 (1965).
- 19) Woodward, Harvey Lectures Ser. 59, (Academic Press, New York, 1965).
- 20) Battersby et al., J. Am. Chem. Soc. 4257 (1964).
- 21) Hill, Unrav, Can. J. Chem., 43, 709 (1965).
- 22) Leete, Tetrahedron Letters, 333 (1965).
- 23) O.J. Eigsti et P. Dustin, Iowa State College Press, Colchicine in Agriculture, Medicine, Biology and Chemistry, Ames, Iowa.
- 24) L.S. Goodman et Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics,

4th edition, 1970.

- 25) Monographie distribuée par les laboratoires de la colchicine ROUGIER.
- 26) S.L. Wallace et N.H. Ertel, Bull. on the Rheum. Diseases, 20, 582 (1969).
- 27) F. Santavy, Pharmaz. Zentralhalle, 96, 307 (1957).
- 28) F. Santavy, Alkaloidy ocunovitych rostlin a jejich derivaty - Stat. zdrav. nakl., Praha 1958.
- 29) J.W. Cook et J.D. Lovdon, The Alkaloids, vol. II, p. 261, Academic Press, New-York 1952.
- 30) P. Bellet, Ann. Pharm. Franc., 12, 821 (1954).
- 31) W.C. Wildman, The Alkaloids, Vol. VI, p. 247, Academic Press, New-York (1960).
- 32) Hübner, Arch. Pharm., 171, 205 (1865).
- 33) Struve, Z. Anal. Chem., 12, 164 (1873).
- 34) Jacobi, Arch. exp. Path. Pharmac. 27, 129 (1890).
- 35) Macht, Science, 66, 653 (1927).
- 36) Grewe, Naturwiss., 33, 187 (1946).
- 37) Santavy, Coll. Czech. chem. Comm., 16, 655 (1951).
- 38) E.J. Forbes, J. Chem. Soc., , 3864 (1955).
- 39) H. Potesilová, J. Wiedermannová et F. Santavý, Coll. Czech. Chem. Commun. 34, 3642 (1969).
- 40) R.M. Horowitz et G.E. Ulliot, J. Am. Chem. Soc. 74, 587 (1952).
- 41) Index Merck, 8ième édition, Merck & Cie Inc., Rahway, N.J., 1968.
- 42) E.J. Bowen, Chemical Aspects of Light, 2nd edition, Oxford University Press, Oxford (1946).
- 43) R.S. Mulliken et C.A. Rieke, Repts. Progr. in Phys., 8, 231 (1941).
- 44) J. Barriol et J.L. Rivail, Spectroscopie de la molécule, P.U.F., Paris, 1970.

- 45) M. Kasha, Radiation Research, Suppl. 2, 243 (1960).
- 46) D.J. Cram et G.J. Hammond, Organic Chemistry, 2nd edition, Mc Graw Hill Book Co., New York, 1964.
- 47) M. Kasha, The Nature and Significance of $n \rightarrow \pi^*$ Transitions, Light and Life, édité par W.B. Mc Elroy et B. Glass, John Hopkins Press, Baltimore, 1961.
- 48) F.H. Lohman, J. Chem. Educ., 32, 155 (1955).
- 49) A.D. Cross, J. Hrbek Jr., J. Kaul, F. Santavý, Beitr. Biochem. Physiol. Naturstoffen, Festschr. 1965, 97-112.
- 50) F. Santavý, Publi. Fac. Med., in Brno, 19, 149 (1966).
- 51) F. Santavý, Coll. Czech. Chem. Commun., 14, 145 (1949).
- 52) J. Fabian, V. Delaroff, P. Poirier et M. Legrand, Bull. Soc. Chim. France, 1455 (1955).
- 53) D.S. Tarbell, H.R. Franck et P.E. Fanta, J. Am. Chem. Soc., 68, 502 (1946).
- 54) F. Santavý et T. Reichstein, Helv. Chim. Acta, 33, 1606 (1950).
- 55) K. Ahmad, G.L. Buchanan et J. W. Cook, J. Chem. Soc., 74, 587 (1952).
- 56) R.P. Bauman, Absorbtion Spectroscopy, John Wiley and Sons, New York, p. 388.
- 57) G. Ciamician, Science, 36, 385 (1912).
- 58) P. Pfau et N.D. Heindel, Ann. Chim., 187 (1965).
- 59) M. Pfau et N.D. Heindel, J. Chem. Educ., 42, 383 (1965).
- 60) C.G. Hatchard et C.A. Parker, Proc. Roy. Soc. (London) Serie A, 235, 518 (1956).
- 61) C.A. Parker et C.G. Hatchard, J. Phys. Chem., 63, 22 (1959).
- 62) G.B. Porter, J.G.W. Doering et S. Kararika, J. Am. Chem. Soc., 84, 4027 (1962).
- 63) J. Lee et H.H. Seliger, J. Chem. Phys., 40, 519 (1964).

- 64) O.L. Chapman et D.J. Pasto, J. Am. Chem. Soc., 82, 3642 (1960).
- 65) H.E. Zimmerman et D.I. Schuster, J. Am. Chem. Soc., 83, 4486 (1961).
- 66) H.E. Zimmerman et D.I. Schuster, J. Am. Chem. Soc., 84, 4527 (1962).
- 67) H.J. Kuhn, O.A. Neumuller et G.O. Schenck, Westdent. Verlag Opladen Germany, 1966.
- 68) Handbook of Chemistry and Physics, 44th edition, The Chemical Rubber Co., Cleveland, Ohio 44114, 1963.
- 69) D.V. Rao et V. Lamberti, J. Org. Chem., 32, 2896 (1967).
- 70) A. Lamola et L.J. Sharp, J. Phys. Chem., 70, 2634 (1966).
- 71) M.S. Sander et D.J. Trecker, J. Am. Chem. Soc., 89, 5725 (1967).
- 72) A. Lamola, J. Chem. Phys., 47, 4810 (1967).
- 73) D. Rauch et P.A. Leermakers, J. Am. Chem. Soc., 90, 2246 (1968).
- 74) K. Mitteilung, Z. Phys. Chem., 41, 245 (1964).
- 75) R.N. Nurmukhametov, L.A. Mileschina et D.M. Shigorim, Opt. Spectry, 22, 404 (1967).
- 76) Hirschfelder, Curtiss, Bird, Molecular Theory of Gases and Liquids, John Wiley and Sons, New York, 1967.
- 77) Landolt-Bornstein, Zahlenwerte und functionen, Springer (1951), Vol I, part 3, p. 510.
- 78) W.M. Moore, G.S. Hammond et R.P. Foss, J. Am. Chem. Soc., 83, 2789 (1961).
- 79) W.M. Moore et M. Ketchum, J. Am. Chem. Soc., 84, 1368 (1962).
- 80) A.A. Lamola et M.J. Turro, Energy Transfer and Organic Photochemistry, Interscience Publishers, New York, 1969.
- 81) B. Muel et M. Hubert Harbart, Proc. Intern. Meeting Mol. Spectry 4th, Bologna, 1959, 2, 647 (1962).
- 82) S.S. Epstein, Acta Unio. Intern. Contra Canctum, 19, 599 (1963).

- 83) E.H. White et al, J. Am. Chem. Soc., 91, 5194 (1969).
- 84) L. Santamaria et G. Prino, Biological and Medicinal Chemistry, édité par Gallo et Santamaria, Societa Editoriale Farmaceutica, Milano 1964, p. 259.
- 85) N.P. Buu Hoi et S.S. Sung, Naturwissenschaften, 57, 3 (1970).
- 86) C. Helene et al., Chem. Phys. LeHers, 2, 25 (1968).
- 87) D.S. Mc Lure, J. Chem. Phys., 17, 905 (1949).
- 88) R. Kellog et R. Schwenker, J. Chem. Phys., 41, 2860 (1964).
- 89) C. Parker et C. Hatchard, Analyst, 87, 644 (1962).
- 90) E. Gilmore, G. Gibson et D. Mc Lure, J. Chem. Phys., 20, 829 (1952).
- 91) E. Gilmore et al, J. Chem. Phys., 23, 399 (1955).
- 92) E. Lim, J. Chem. Phys., 36, 3497 (1962).
- 93) Parker et Rees, Analyst, 85, 587 (1960).
- 94) C.A. Parker, Photoluminescence of solutions, Elsevier Publishing Co., New York, 1968.
- 95) H. Roigt et R.M. Leblanc, Can. J. Chem., 50, 12 (1972).
- 96) N.J. Turro, Molecular Photochemistry, W.A. Benjamin Inc., New York, 1967.
- 97) J.B. Birks, Photophysics of Aromatic Molecules, Wiley Interscience, Toronto, 1970.
- 98) S.P. Mc Glynn, T. Azumi et M. Kasha, J. Chem. Phys., 40, 507 (1964).
- 99) S. Hotchandani et A.C. Testa, J. Chem. Phys., 54, 4508 (1971).
- 100) E. Gilmore, G. Gibson et D. Mc Lure, J. Chem. Phys., 20, 829 (1952).
- 101) E. Gilmore et al, J. Chem. Phys., 23, 399 (1955).
- 102) V.L. Ermolaev, Uspekhi Fiz. Nank., 80, 3(1963).
- 103) R.P. Wayne, Photochemistry, Butterworth and Co. Ltd, Toronto, 14 Curity Avenue, 1970.

- 104) J.G. Calvert et J.N. Pitts Jr., Photochemistry, John Wiley and Sons, New York, 1967.
- 105) R.S. Becker, Theory and interpretation of fluorescence and phosphorescence, Wiley Interscience, New York 1969.