

UNIVERSITE DU QUEBEC

THESE

PRESENTEE A

L'UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAITRISE ES SCIENCES (PHYSIQUE)

PAR

ROBERT CROTEAU

B.Sp. SCIENCES (CHIMIE)

APPROCHE COMPARATIVE DES PROCESSUS PHOTOPHYSIQUES

DANS LA COLCHICINE, LA TROPOLONE ET L' α -METHOXY-TROPONE

JUILLET 1976

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

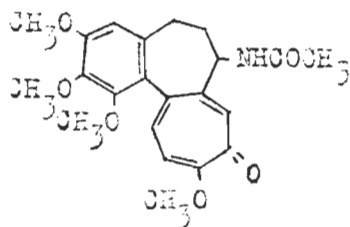
Avertissement

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.

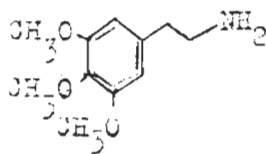
Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son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

RESUME DE LA THESE

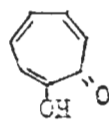
Le travail porte sur la nature des processus photophysiques qui ont lieu dans la molécule de colchicine (I). Nous nous servons de comparaisons avec des molécules servant de modèles à des fragments de la colchicine: la mescaline (II), la tropolone (III) et son éther méthylé (IV).



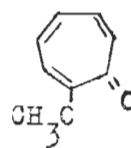
(I)



(II)



(III)



(IV)

Nous avons obtenu les spectres électroniques d'absorption pour (II), (III) et (IV); ceci permet de suggérer une explication du spectre de (I), surtout pour la région 25,000-33,000 cm⁻¹.

Les spectres d'émission de (I), (III) et (IV) dans des verres à 77°K ont été caractérisés. Le rendement quantique, les temps de vie, les mesures de polarisation d'émission et d'excitation indiquent que ces émissions sont des fluorescences. Pour situer énergétiquement les états triplets des molécules, il a fallu alors procéder à des expériences de transfert d'énergie.

L'ensemble des résultats des mesures énumérées plus haut mène à proposer des diagrammes de Jablonski pour les molécules (I), (III) et (IV).

Enfin, nous avons procédé à quelques essais visant à détecter, par spectroscopie, une interaction entre (I) et le tryptophane.

Robert C. E. L.

J. P. L.

REMERCIEMENTS

Il me fait grand plaisir de remercier le professeur Roger M. Leblanc de m'avoir guidé tout au long de ce travail.

Je remercie également le docteur R.W. Yip du Conseil national de recherches du Canada et le professeur W.R. Ware de l'université Western Ontario, chez qui les mesures de temps de vie de fluorescence ont été faites.

Merci au professeur C. Chapados pour l'enregistrement d'un spectre infra-rouge.

Je suis reconnaissant envers messieurs R. Thibodeau et L. Lamontagne pour leur diligence à rendre maints services.

Enfin, l'appui financier du Conseil national de recherches du Canada a été grandement apprécié.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIERES	iii
LISTE DES FIGURES	v
LISTE DES TABLEAUX	viii
I- INTRODUCTION	1
II- PARTIE EXPERIMENTALE	4
A. Produits	4
B. Synthèse de l' α -méthoxy-tropone	7
C. Instruments	12
III-RESULTATS	20
A. Spectres électroniques	20
1. Spectres d'absorption	22
a) Tropolone	22
b) α -méthoxy-tropone	23
c) Mescaline	23
2. Spectres d'émission en solutions	41
a) Spectres observés avec l'appareil MPF-2A (Perkin Elmer)	41
b) Spectres observés avec le spectrofluorimètre laser	41
3. Spectres d'émission à 77°K	46
a) Spectres d'excitation et d'émission; polarisation	46
b) Temps de vie	52
c) Rendements quantiques	63
d) Effet de solvant	73
4. Situation des états triplets	82
B. Spectres électroniques de solutions de colchicine et de tryptophane	85
1. Spectres d'absorption	85
2. Spectres d'émission	85

IV- DISCUSSION	87
A. Spectres d'absorption	87
B. Spectres d'émission	96
1. Emission à 77°K	96
2. Emission en solutions	103
C. Diagrammes de Jablonski	106
D. Système colchicine - acide aminé	108
V - CONCLUSION	111
APPENDICE A. Temps de vie radiatif de fluorescence	113
LISTE DES OUVRAGES CITES	117

LISTE DES FIGURES

1- Chromatogramme de l' α -méthoxy-tropone	p. 9
2- Spectre R.M.N. (60 MHz) de l' α -méthoxy-tropone	p. 10
3- Spectre Infra-rouge de l' α -méthoxy-tropone dans le CCl_4	p. 11
4- Schéma du spectrofluorimètre laser	p. 14
5- Appareil pour la mesure des temps de vie par la technique des impulsions	p. 17
6- Appareil pour la mesure des temps de vie par la technique du compte de photons	p. 18
7- Fragmentation de la colchicine en molécules modèles	p. 21
8- Spectre d'absorption de la tropolone dans l'hexane	p. 24
9- Spectre d'absorption de la tropolone dans l'éthanol (95%)	p. 25
10- Spectre d'absorption de la tropolone dans la formamide	p. 26
11- Spectre d'absorption de la tropolone dans la diméthyle- formamide	p. 27
12- Spectre d'absorption de la tropolone dans l'eau à pH 4.0	p. 28
13- Spectre d'absorption de la tropolone dans l'eau à pH 10.0.	p. 29
14- Effet du pH sur la région $35,000-23,000 \text{ cm}^{-1}$ du spectre de la tropolone	p. 30
15- Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans l'hexane.	p. 32
16- Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans l'éthanol (95%)	p. 33
17- Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans la formamide	p. 34
18- Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans la dimé- thyle-formamide	p. 35
19- Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans l'eau	p. 36
20- Spectre d'absorption du chlorure de mescaline dans l'éthanol	p. 38

21-	Spectre d'absorption du chlorure de mescaline dans l'eau . .	p. 39
22-	Spectres d'émission et d'excitation pour la colchicine dans l'eau	p. 43
23-	Spectres d'émission et d'excitation pour la tropolone dans le n-hexane	p. 44
24-	Spectres d'émission observés avec le spectrofluorimètre laser	p. 45
25-	Spectres électroniques de la tropolone dans l'E.P.A. . . .	p. 47
26-	Spectres électroniques de l'ion tropolonate dans l'E.P.A.	p. 48
27-	Spectres électroniques de l' α -méthoxy-tropone dans l'E.P.A.	p. 49
28-	Spectres électroniques de la colchicine dans l'E.P.A. . .	p. 50
29-	Courbes de décroissance des luminescences à 77°K. (traces d'oscilloscope)	p. 54
30-	Courbes types de l'éclair d'excitation et de la luminescence des échantillons	p. 57
31-	Courbe de décroissance de la luminescence de la tropolone dans le n-hexane	p. 58
32-	Courbe de décroissance de la luminescence de la tropolone dans l'E.P.A. à 77°K	p. 59
33-	Courbe de décroissance de la luminescence de l' α -méthoxy- tropone dans l'E.P.A. à 77°K	p. 60
34-	Courbe de décroissance de la luminescence de la colchicine dans l'E.P.A. à 77°K	p. 61
35-	Courbe de correction des spectres pour la sensibilité de l'ensemble détecteur-monochromateur	p. 66
36-	Spectre de phosphorescence corrigé pour la benzophénone, dans l'E.P.A. à 77°K	p. 67
37-	Spectre de fluorescence corrigé pour le chrysène, dans l'E.P.A. à 77°K	p. 68
38-	Spectre de phosphorescence corrigé pour l'acétophénone, dans l'E.P.A. à 77°K.	p. 69
39-	Spectre de fluorescence corrigé pour la tropolone, dans l'E.P.A. à 77°K	p. 70
40-	Spectre de fluorescence corrigé pour l' α -méthoxy-tropone, dans l'E.P.A. à 77°K	p. 71

41-	Spectre de fluorescence corrigé pour la colchicine, dans l'E.P.A. à 77°K	p. 72
42-	Spectre de fluorescence de la tropolone dans l'éthanol à 77°K	p. 74
43-	Spectre de fluorescence de la tropolone dans le 2-méthyle-tétrahydrofurane à 77°K	p. 75
44-	Spectre de fluorescence de la tropolone dans le 3-méthyle-pentane à 77°K	p. 76
45-	Spectre de fluorescence de l' α -méthoxy-tropone dans l'éthanol à 77°K	p. 77
46-	Spectre de fluorescence de l' α -méthoxy-tropone dans le 2-méthyle tétrahydrofurane à 77°K	p. 78
47-	Spectre de fluorescence de la colchicine dans l'éthanol à 77°K	p. 79
48-	Spectre de fluorescence de la colchicine dans le 2-méthyle-tétrahydrofurane à 77°K	p. 80
49-	Effet de la colchicine sur la luminescence du d-2,3-bornanedione dans l'éthanol à 77°K	p. 83
50-	Effet de la colchicine sur la fluorescence du tryptophane (eau, pH 6.8)	p. 86
51-	Spectre réel et spectre construit à partir des modèles, pour la colchicine	p. 95
52-	Diagrammes de Jablonski	p. 107
53-	Absorption de la fluorescence du tryptophane par la colchicine le long du parcours de détection (eau, pH 6.8)	p. 110
A.1-	Calcul des intégrales de l'équation du temps de vie radiatif	p. 115

LISTE DES TABLEAUX

1-	Liste des produits employés	p. 5-6
2-	Position et coefficients d'extinction des bandes d'absorption de la tropolone	p. 31
3-	Position et coefficients d'extinction des bandes de l' α -méthoxy-tropone	p. 37
4-	Position et coefficients d'extinction des bandes d'absorption de l'hydrochlorure de mescaline	p. 40
5-	Spectres d'émission de la colchicine en solution	p. 42
6-	Spectres obtenus avec le spectrofluorimètre laser	p. 42
7-	Position des bandes d'absorption, d'excitation et d'émission pour les divers composés, dans l'E.P.A.	p. 51
8-	Temps de vie des luminescences	p. 62
9-	Rendements quantiques de luminescence, ϕ , à 77°K	p. 65
10-	Position des bandes d'émission de la colchicine, de la tropolone et de l' α -méthoxy-tropone dans divers solvants à 77°K.	p. 81
11-	Extinction de diverses phosphorescences par la colchicine, la tropolone et l' α -méthoxy-tropone, à 77°K.	p. 84
12-	Données utilisées comme références pour les spectres de nos composés	p. 89

INTRODUCTION

Colchicum autumnale : la colchique d'automne. Cette plante de la famille des Liliacées, commune surtout en Europe Centrale et du Sud, contient une substance connue depuis plus de trois millénaires comme poison mortel. On connaît aussi, depuis le seizième siècle environ, l'emploi de cette plante pour le traitement empirique de la goutte. On en a extrait la substance active à l'état relativement pur en 1820*. Il fallut plus d'un siècle ensuite pour déterminer la nature chimique exacte de ce produit, appelé colchicine par Geiger vers 1833. Vers 1885, Zeisel put en établir la formule moléculaire et Windaus proposa, en 1924, une structure qui, légèrement modifiée par Dewar, s'avéra exacte.

Pendant ce temps, soit en 1889, Pernice rapporta que la colchicine pouvait arrêter la division cellulaire au stage de la métaphase. Cette observation passa presque inaperçue. Ce n'est que plus tard, à la suite

* Les dates et noms mentionnés sont puisés des références 1 et 2, où l'on retrouvera les références originales.

des recherches d'Amoroso (1935) portant sur les tumeurs chez les souris, que les possibilités d'application en rapport avec le cancer suscitèrent un intérêt marqué pour la colchicine. De nombreuses études montrèrent alors que cette dernière possède des effets cytologiques prononcés, tant chez les plantes que chez les animaux. Les travaux de Borisy et de Taylor (3-5) ont depuis montré que ces divers effets résultent de l'établissement réversible d'un lien entre la colchicine et un site spécifique d'une macromolécule cellulaire. Plus précisément, ce site se trouve sur une protéine constituant des microtubules du fuseau: la tubuline. Son occupation par la colchicine préviendrait la formation du microtubule, et de ce fait, l'apparition du fuseau, nécessaire à la migration des chromosomes lors de l'anaphase.

On ne connaît cependant pas encore la nature moléculaire précise de cette interaction entre la colchicine et la protéine. C'est à ce niveau que s'est porté notre intérêt. On se proposa donc de rechercher et d'étudier une éventuelle interaction entre la colchicine et, non pas des protéines, mais, en premier lieu, des acides aminés aromatiques, en solution. Ces acides se prêtent bien aux méthodes spectroscopiques choisies pour le travail, soit l'absorption et l'émission de lumière dans le domaine de l'ultraviolet et du visible.

Il convenait alors de procéder d'abord à la caractérisation détaillée des spectres électroniques de la colchicine seule. Un travail dans ce sens fut fait (5), et il nous restait à mesurer un dernier paramètre photophysique: le rendement quantique de formation de l'état triplet. Des résultats négatifs nous forcèrent à reconsidérer certaines conclusions antérieures relatives aux processus photophysiques observés pour la

colchicine. Nous avons donc esquissé une nouvelle approche à cette étude. Elle consiste à comparer les résultats spectroscopiques déjà obtenus pour la colchicine avec ceux caractérisant les deux fragments résultant d'un morcellement imaginaire de la molécule. La tropolone et l' α -méthoxy-tropone servirent de modèles du premier fragment, la mescaline représentant le second. Les mesures ainsi faites doivent permettre de mieux interpréter les spectres de la colchicine.

Par la suite, il devient possible de procéder à un examen, préliminaire, des interactions avec les acides aminés.

Le détail de ces expériences fait l'objet des pages qui suivent. Ainsi, après un bref aperçu des aspects expérimentaux de notre travail, nous présentons les résultats obtenus en spectroscopie pour les molécules mentionnées plus haut. Puis, dans la discussion, nous en dégageons les diagrammes de Jablonski. Quelques commentaires sur le système colchicine-acides aminés sont également formulés.

II

PARTIE EXPERIMENTALE

A. Produits

Les principaux produits employés lors de notre travail sont la colchicine, la tropolone et la mescaline (sel hydrochlorique). Divers autres produits ont servi pour la synthèse de l' α -méthoxy-tropone. Enfin, plusieurs solvants ont été utilisés. Le tableau 1 donne la liste de toutes ces substances, leur provenance et leur qualité. Aucune d'entre elles n'a été purifiée davantage.

Tableau 1. Liste des produits employés

Produit	Provenance	Qualité*
Colchicine	Sigma Chemical Co.	** (pfs)
Tropolone	Aldrich Chemical Co.	98%
Hydrochlorure de mescaline	Sigma Chemical Co.	non mentionnée (pfs)
Tryptophane	Sigma Chemical Co.	Sigma grade
Méthylamine	Fischer Scientific Co.	Reagent grade
Nitrite de sodium	Fischer Scientific Co.	Certified
Urée	Fischer Scientific Co.	U. S. P.
Acide chlorhydrique	Baker Chemical	Analysed Reagent
Hydroxyde de sodium	Baker Chemical	Analysed Reagent
E. P. A.	American Instrument Co.	pour phosphorescence
Ethanol	Consolidated Alcohols	absolu
Méthanol	Fischer Scientific	Spectranalysed
n-hexane	Fischer Scientific	Certified 99% mol.
Diméthylformamide	Fischer Scientific	Certified ACS
Chloroforme	Fischer Scientific	Certified ACS
Ether	Fischer Scientific	Anhydre
Formamide	Baker Chemical	Baker grade
2-Méthyle tétrahydrofurane	Matheson, Coleman & Bell	99% mol Chromatoqual.
Tétrachlorure de carbone	Fischer Scientific	"Certified A.C.S."
Benzophénone et acétophénone	Baker Chemical	"Suitable for photo-sensitizer use"
d-2,3-bornanedione	Eastman	pt. fusion: 201-203°

Tableau 1. Liste des produits employés (suite)

Produit	Provenance	Qualité*
Fluorescéine	Eastman	Practical
Riboflavine	Sigma Chemical	"at least equiv. to U.S.P."
Eosine Y	Baker Chemical	Baker grade
3-méthyle-pentane	Aldrich Chemical	Puriss
Iodure d'éthyle	Fischer Scientific	Certified

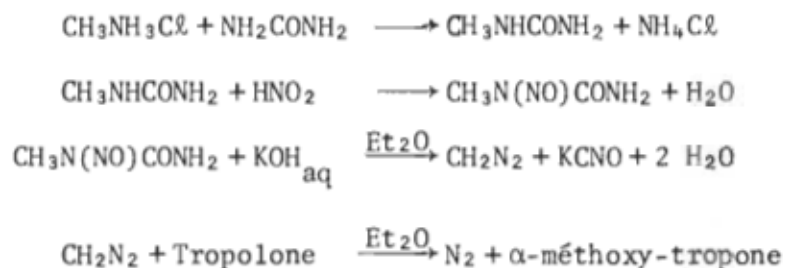
* Nous avons conservé la terminologie originale anglaise.

** Non mentionnée; a fait l'objet de mesure au laboratoire. (5)

B. Synthèse de l' α -méthoxy-tropone

La synthèse de l' α -méthoxy-tropone a été effectuée par méthylation de la tropolone à l'aide du diazométhane. Cook et al. (6) ont employé cette méthode avec un rendement quantitatif.

La méthode suivie est celle décrite par Vogel (7). Nous avons au début synthétisé la méthyle-urée par réaction de l'hydrochlorure de méthylamine sur l'urée, puis nous l'avons soumise au nitrite de sodium en milieu sulfurique, produisant ainsi le dérivé nitrosé. Ce dernier, sous l'action d'une solution concentrée de KOH sert à la préparation d'une solution étherée du diazométhane. Les équations suivantes décrivent les réactions:



Environ 500 mg de tropolone ont été traités en les ajoutant à la solution du diazométhane dans l'éther. On agita pendant 24 heures le mélange réactionnel, maintenu à une température inférieure à 5°C. Après avoir concentré la solution et évaporé l'excès de diazométhane en chauffant doucement, on a refroidi le milieu à 0°C. Les 200 premiers mg d' α -méthoxy-tropone, cristallisant sous forme d'hémi-hydrate, ont été récupérés.

Nous avons soumis le produit aux mesures suivantes:

- point de fusion : 38-39°C comparé à 38-39°C (6).
- chromatographie en phase liquide: un seul produit détecté, comme le montre le chromatogramme de la figure 1.

- spectre d'absorption: dans l'éthanol, on a trouvé λ_{max} à 237, 320, 347 nm avec $\log \epsilon$: 4.33, 3.89, 3.81 (ϵ en litre par mole par centimètre: $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$); ceci est en bon accord avec les valeurs de Cook et al. (6).
- spectre R.M.N. : dans le CCl_4 on peut voir deux séries de signaux, soit à $\tau = 5.9$ (singulet) et à $\tau = 2.9, 3.1, 3.2$ (multiplets). Le rapport des intensités est de 1.9 : 1.0, alors que le rapport moléculaire est 1.67 : 1.0. La figure 2 montre cependant que l'intégration est soumise à un bruit de fond non négligeable.
- spectre infra-rouge: le spectre illustré à la figure 3 reproduit très bien celui de Kuratani et al. (8). Le produit employé pour cette mesure a été débarrassé de son eau de cristallisation.
- hydrolyse alcaline: le produit mis en solution alcaline redonna la tropolone, tel qu'on peut le voir en assistant à l'apparition de la bande d'absorption à 392 nm, caractéristique de l'ion tropolonate.

Nous croyons que ces résultats confirment la nature du produit de synthèse, et permettent d'estimer sa pureté à $\sim 99\%$.

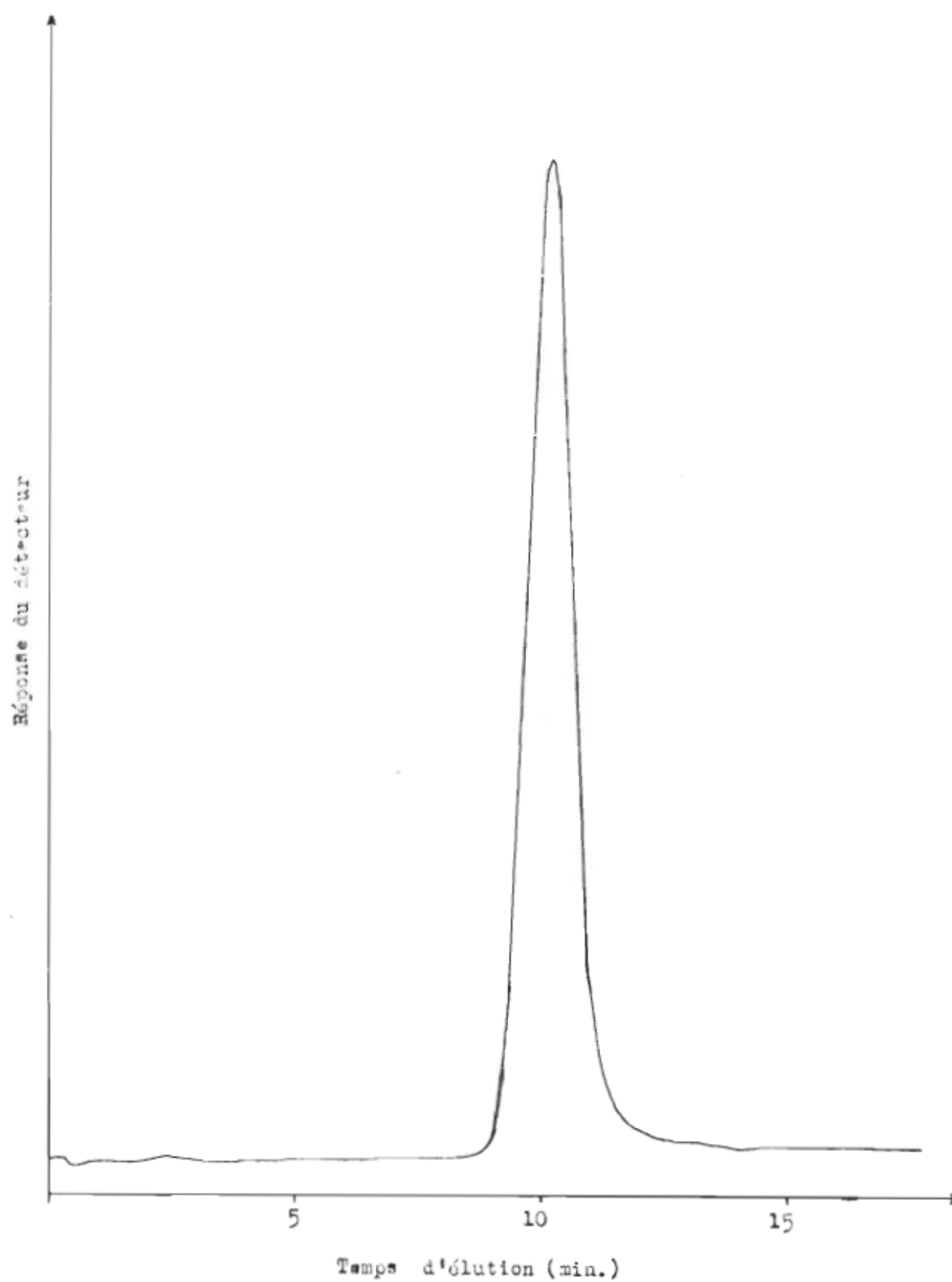


Figure 1. Chromatogramme de l' α -méthoxy-tropone.

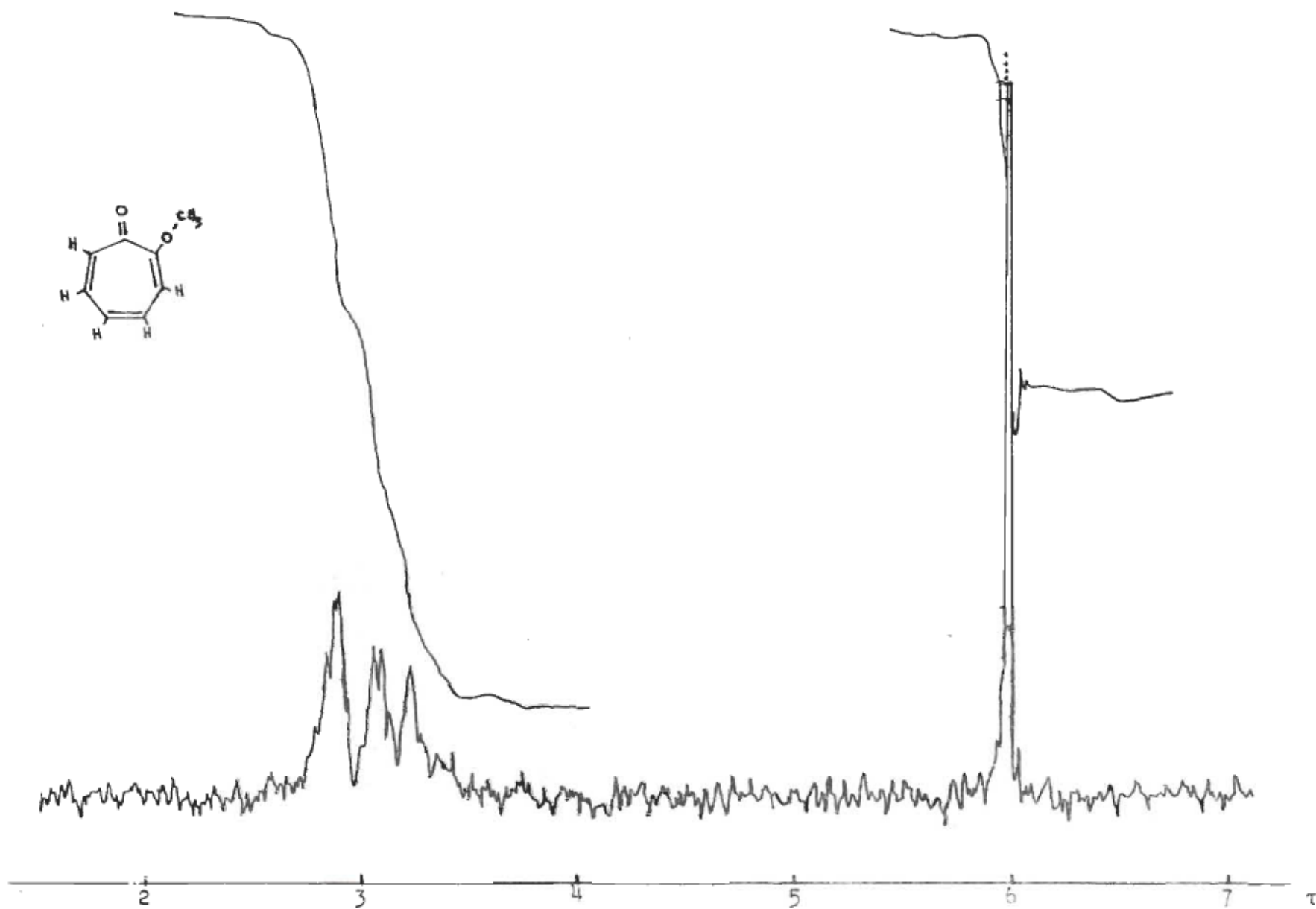


Figure 2. Spectre R.M.N. (60 MHz) de 1'- α -méthoxy-tropone.

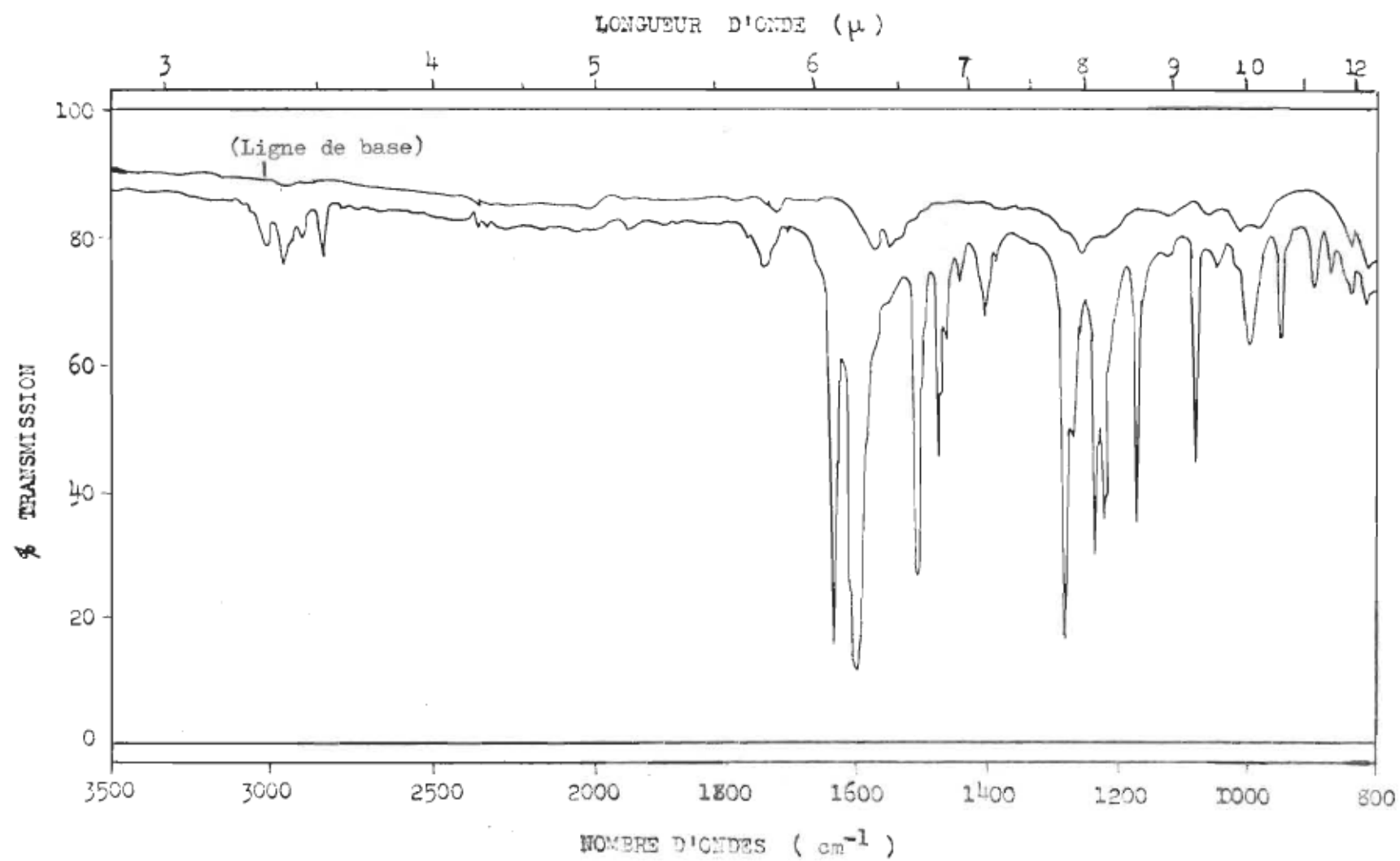


Figure 3. Spectre Infra-rouge de l' α -méthoxy-tropone dans le CCl_4 .

C. Instruments

Les méthodes spectroscopiques employées requièrent l'utilisation de spectrophotomètres d'absorption et d'émission, et d'appareils pour la mesure des temps de vie. Quelques caractéristiques de ces instruments sont ici énumérées.

1) Spectrophotomètre d'absorption Unicam modèle S.P. 1800.

Cet appareil opère en double faisceau. Le monochromateur est muni d'un réseau; les sources lumineuses sont une lampe à arc au deutérium et une lampe à filament de tungstène. Le photomultiplicateur, du type EMI 9558 QB, permet de travailler entre 190 et 850 nm. Le balayage de ces longueurs d'onde se fait automatiquement et est couplé à un enregistreur. On lit l'absorbance sur l'une des quatre échelles de sensibilité disponibles. Nous avons utilisé une largeur de fentes de 0.25 nm (bande passante de 0.8 nm).

2) Spectrophotomètre d'absorption Perkin-Elmer modèle Coleman 124.

Ce spectrophotomètre, également à double faisceau et à réseau, possède des lampes du même type que celles décrites plus haut. On peut lire la transmittance ou l'absorbance (0-1, 0-2) entre 180 et 820 nm. Le photomultiplicateur est du type R 446. Les largeurs de fentes possibles donnent des bandes passantes de 0.5, 1.0 et 2.0 nm; nous avons utilisé celle de 1.0 nm. L'appareil est automatique, et relié à un enregistreur.

3) Spectrophotomètre de fluorescence Perkin-Elmer modèle MPF-2A.

Notre spectrofluorimètre emploie une lampe au xénon de 150 watts pour exciter les échantillons. Il y a deux monochromateurs à réseau, l'un dans le parcours d'excitation, l'autre, dans celui d'émission. Un

photomultiplicateur R 136 détecte la luminescence. Les bandes passantes sont fonction des largeurs des fentes d'excitation et d'émission, continuellement variables de 0.13 à 5.16 nm (1-40 nm).

Pour le travail à basse température (77°K), on place l'échantillon dans un tube en quartz cylindrique que l'on immerge dans un contenant "Dewar" en quartz, rempli d'azote liquide. Afin d'assurer une bonne reproductibilité des spectres lors de mesures quantitatives, le tube est tenu en place par un manchon de Teflon introduit à travers le couvercle du "Dewar".

Des accessoires de polarisation sont aussi disponibles (filtres et support, Hitachi).

4) Spectrofluorimètre laser.

Pour la détection de fluorescence de faible intensité, nous avons eu recours à un appareil à laser, dont le schéma de la figure 4 fait la description. La source excitatrice est un laser He-Cd de marque Spectra Physics, donnant des raies à 441.6 et 325 nm (75mW à 441.6 nm). Un monochromateur à réseau (Jarrel Ash 82-410) se situe entre le compartiment de l'échantillon et le détecteur. Celui-ci est un photomultiplicateur EMI 9558 QB refroidi par un mélange n-propanol-glace sèche (-70°C) et alimenté par une source de tension stable (Velonex Nimpac 105, 0-30 kV, 10 mA). Le signal récupéré est mesuré par un nano-ampèremètre* et enregistré. Ce montage permet de détecter de très faibles intensités de luminescence (9).

*Marque Gencom, modèle 911.

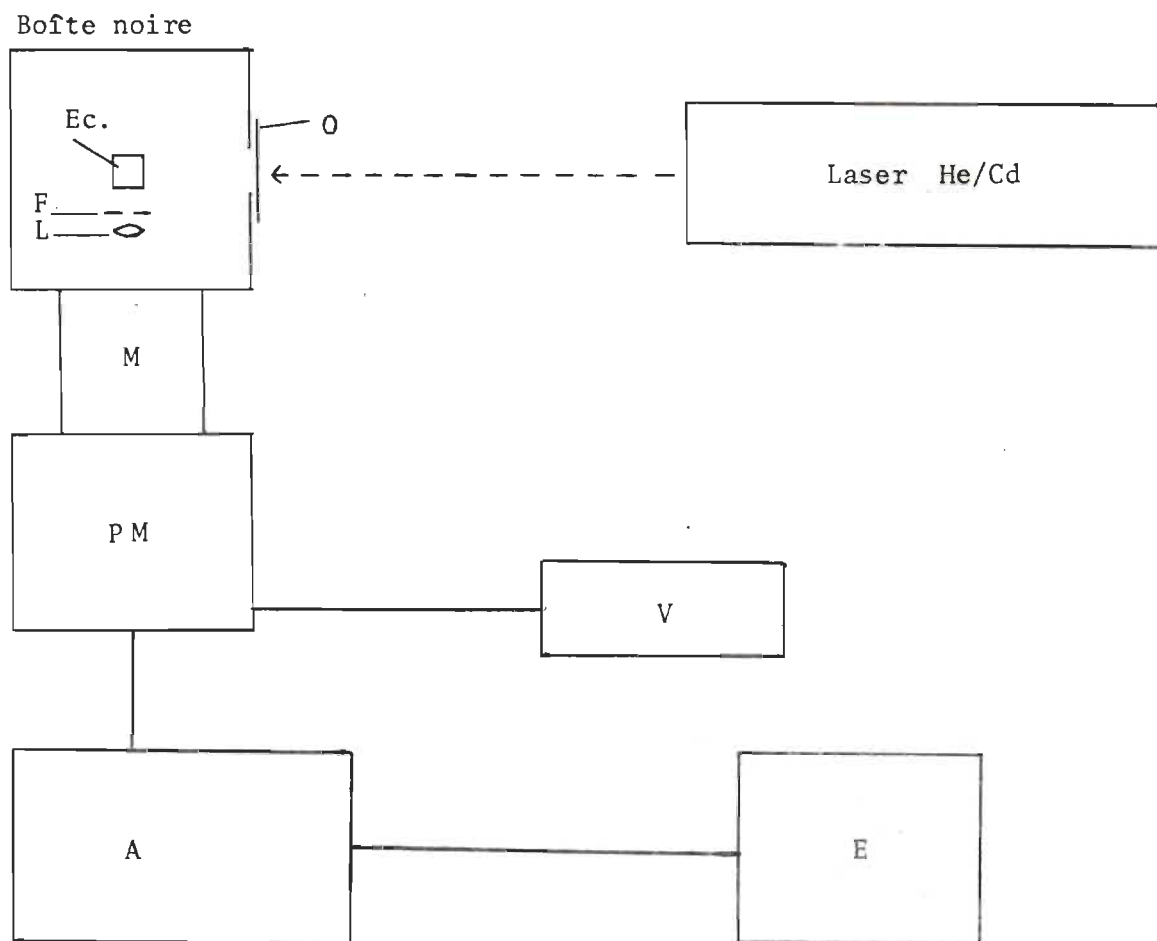


Figure 4. Schéma du spectrofluorimètre laser.
 O: obturateur; Ec: échantillon; F: fente; L: lentille;
 M: monochromateur; PM: photomultiplicateur; V: source de tension;
 A: nanoampèremètre; E: enregistreur.

5) Appareils pour les mesures de temps de vie

Pour faire des mesures des temps de vie moléculaires, nous sommes allés dans les laboratoires du Dr Yip et du professeur Ware respectivement du C.N.R.C. et de l'université Western Ontario. Les montages utilisés à ces endroits sont décrits aux paragraphes suivants.

Nous avons d'abord procédé à la mesure des temps de vie en enregistrant la courbe de décroissance de l'émission à la suite de son excitation par une impulsion de courte durée. La figure 5 montre l'arrangement du montage. Un laser à l'azote sert de source excitatrice; il est déclenché à l'aide d'un éclateur (spark gap) de 15 kV, et donne une raie, entre autres, à 337 nm. On a détecté l'émission à la sortie d'un monochromateur (Bausch & Lomb $\frac{1}{4}$ m, haute intensité) avec un photomultiplicateur TV R 446 mis en circuit pour mesurer des impulsions. Le signal produit est tracé sur l'écran d'un oscilloscope (Tektronix 7904, 500 MHz) d'où on peut le photographier.

La largeur à mi-hauteur de l'impulsion d'excitation était d'environ 10 nsec; ceci limite la mesure à celle de temps de vie assez longs (~ 20 nsec.) et nous n'avons pas pu obtenir de valeurs précises pour les molécules étudiées. (Il est difficile de faire la déconvolution à partir des courbes enregistrées sur l'oscilloscope). Pour remédier à cet inconvénient, nous avons eu recours à la méthode du compte des photons.

L'appareil utilisé est illustré schématiquement à la figure 6. Il comprend une source lumineuse pulsée (25 kHz) de faible intensité (arc au deutérium à 0.5 atm.) excitant l'échantillon pendant environ 2-3 nsec. Cette lampe possède une distribution spectrale continue dont nous avons

utilisé la région 300-400 nm. La lampe déclenche un convertisseur temps-amplitude (C.T.A.) par le biais d'un photomultiplicateur RCA IP 28 (P2). L'émission de photons est perçue par un photomultiplicateur rapide Amperex 56 DUVP 03 (P1) qui fournit, après amplification, le signal d'arrêt du C.T.A. Cette séquence se produit à chacune des impulsions de la lampe, dont la fréquence doit être constante. Les signaux contrôlant le C.T.A. sont soumis à des discriminateurs d'amplitude (Disc.) pour les différencier des bruits de fond. Un monochromateur (Jarrel-Ash, $\frac{1}{4}$ m) a été utilisé à l'émission.

La distribution statistique des photons dans le temps, obtenue par répétition de la mesure précédente un très grand nombre de fois, est accumulée par un système d'analyse à canaux multiples. Celui-ci sert de mémoire dans laquelle se construit peu à peu la courbe de décroissance de l'émission. On peut aussi observer ce processus sur un oscilloscope. Les données emmagasinées sont ensuite transmises à un ordinateur pour analyse mathématique. Celle-ci consiste à reproduire la courbe expérimentale à l'aide d'une fonction de la forme $\exp(-t/\tau)$, dans laquelle le paramètre τ^* est varié par l'ordinateur jusqu'au meilleur accord possible ("best fit") avec la courbe expérimentale. Si l'accord ultime est peu satisfaisant,

on emploie une somme d'exponentielles, ce qui indique la présence de plusieurs émissions simultanées. Dans le cas de temps de vie très courts, l'analyse requiert la déconvolution des courbes exponentielles avec celle décrivant l'éclair d'excitation.

Enfin, un traceur dessine les courbes de la lampe, celle de la décroissance de la luminescence de l'échantillon, et celle calculée avec les temps de vie extraits.

* Temps de vie

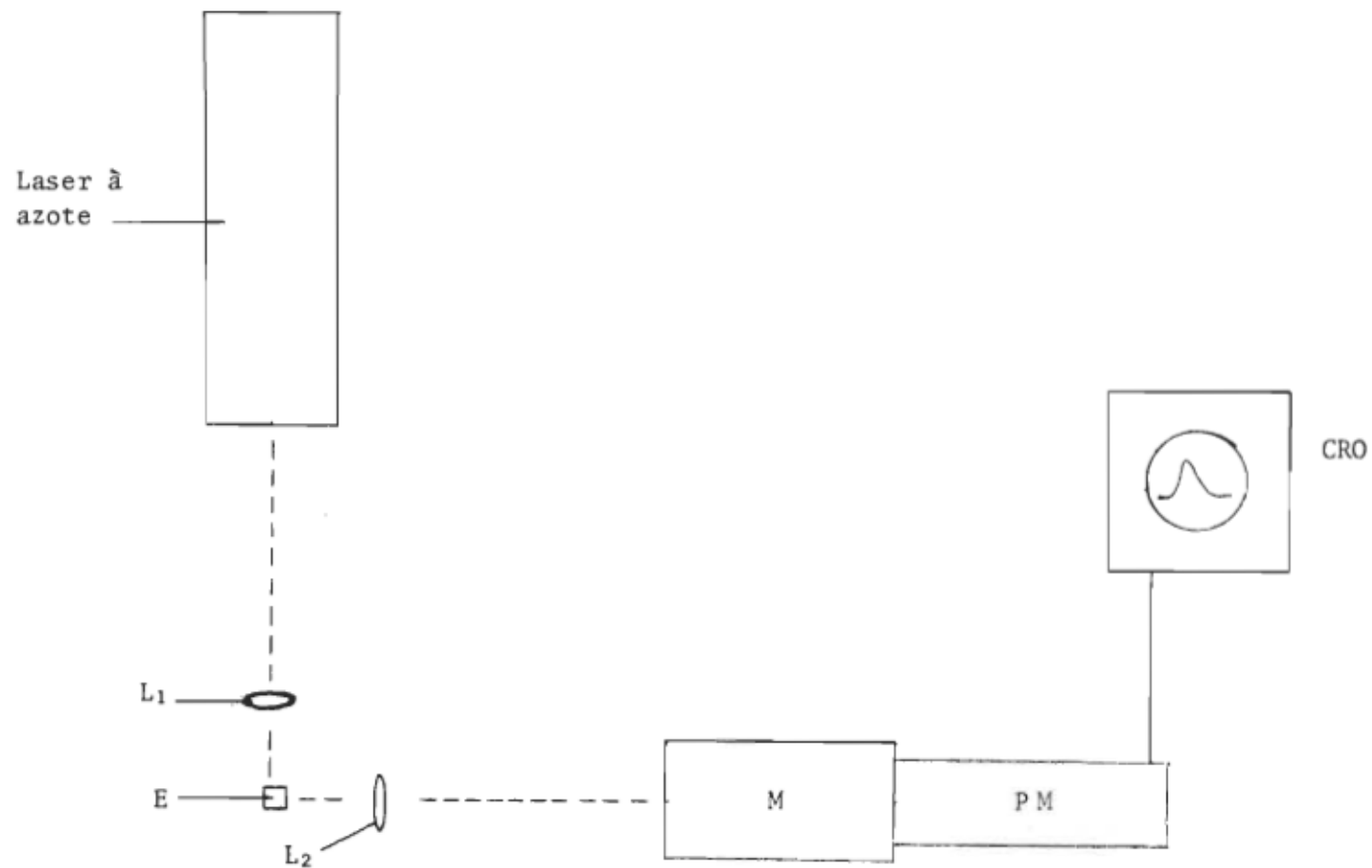


Figure 5. Appareil pour la mesure des temps de vie par la technique des impulsions.
 L_1 , L_2 : lentilles; E: échantillon; M: monochromateur; PM: photomultiplicateur;
 CRO: oscilloscope

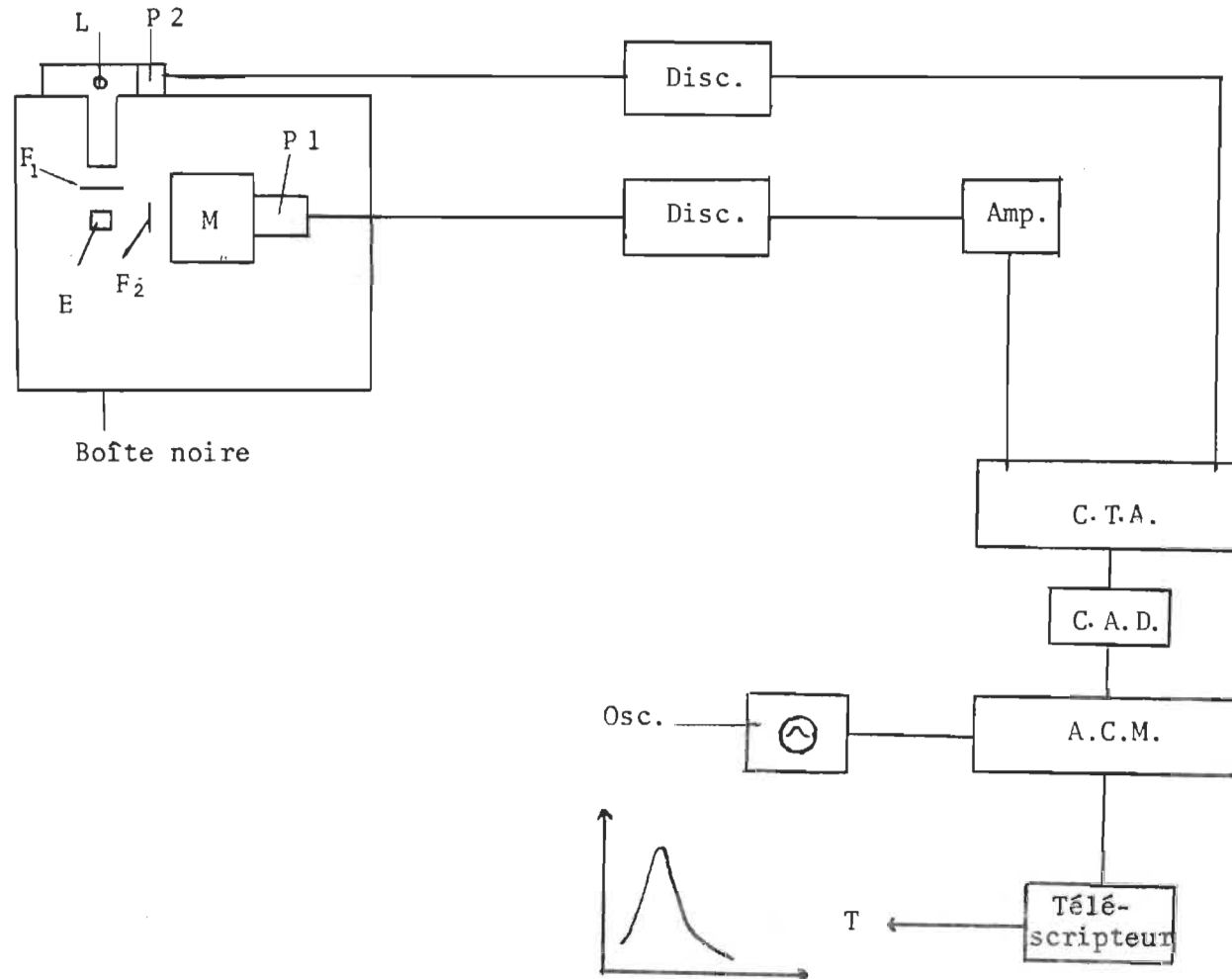


Figure 6. Appareil pour la mesure des temps de vie par la technique du compte de photons.
 L: lampe; E: échantillon; F₁, F₂: fentes et lentilles; P₁, P₂: photomultiplicateur;
 M: Monochromateur; Disc: discriminateur; Amp.: amplificateur; C.T.A.: convertisseur
 temps-amplitude; C.A.D.: convertisseur analogue-digital; Osc: oscilloscope; T: traceur;
 A.C.M.: analyseur à canaux multiples.

6) Divers

Un spectromètre de résonance magnétique nucléaire, opérant à 60 MHz, (Perkin-Elmer R-12) a servi à l'enregistrement du spectre de l' α -méthoxy tropone après sa synthèse. Un chromatographe en phase liquide, modèle Tracor 5000, muni d'une colonne d'acier de 2 pieds par 2 mm a permis de vérifier sa pureté. L'adsorbant était de la silice (Chromasep S, 37 μ) et la détection de l'éluat se faisait par absorption de lumière à 254 nm. (détecteur U.V. Tracor 100).

Le point de fusion fut obtenu avec un appareil Fischer-Johns.

Le spectre dans l'infra-rouge a été enregistré avec un appareil Perkin-Elmer, modèle 180.

III

RESULTATS

A. Spectres électroniques

Les résultats obtenus au cours de notre étude spectroscopique seront maintenant présentés. Tel que mentionné au début, diverses molécules servent de modèles à des fragments imaginaires de la colchicine. La figure 7 illustre ces molécules en regard du morcellement de la colchicine. La tropolone et l' α -méthoxy-tropone représentent le cycle C. L'hydrochlorure de mescaline tient la place du cycle A et de la chaîne aliphatique formant le cycle B. Ce dernier et le groupe NHCOCH_3 ne participent pas à l'absorption électronique aux longueurs d'onde supérieures à 210 nm, de sorte que la chaîne latérale de la mescaline importe peu par sa nature.

Avec ce choix de molécules, seuls la conjugaison entre les cycles A et C, et les effets de substituants aux points de jonction des cycles sont perdus. Ce dernier effet ne devrait pas modifier la répartition des états électroniques de façon marquée(14) en ce qui concerne la conjugaison, il faut être plus prudent. Nous y reviendrons lors de la discussion.

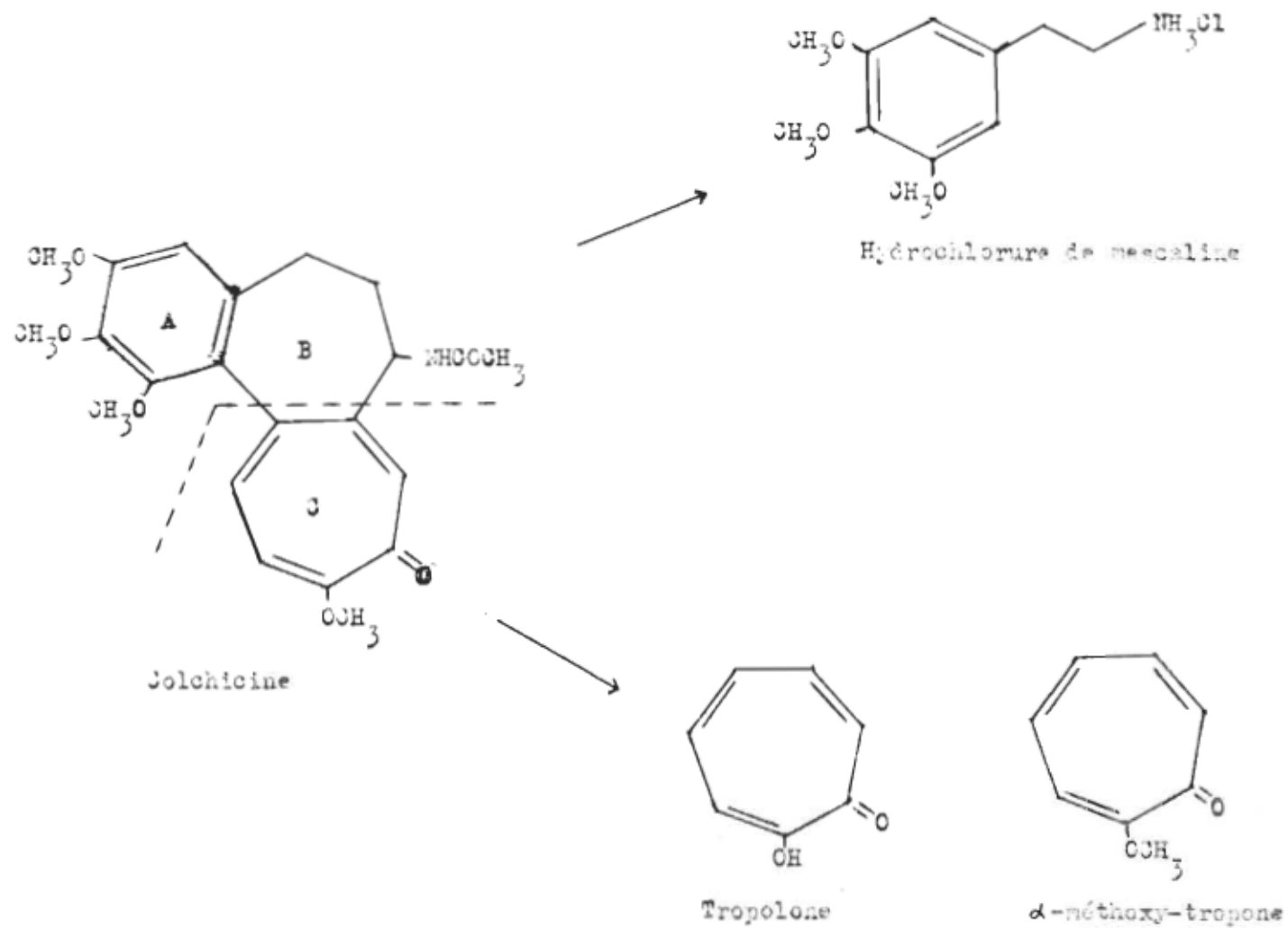


Figure 7. Fragmentation de la colchicine en molécules modèles.

1. Spectres d'absorption

Les spectres d'absorption électronique dans la région de l'ultra-violet et du visible sont présentés pour des solutions de tropolone, d' α -méthoxy-tropone et de mescaline (sel chlorhydrique) dans différents solvants, à la température de la pièce.

La position des maxima d'absorption et des épaulements, de même que les coefficients d'extinction molaire sont regroupés sous formes de tableaux. Les coefficients donnés résultent de seulement quelques mesures, notre intention n'étant pas d'en faire la détermination précise.

Les spectres de la colchicine ont été observés antérieurement (5) (voir aussi fig. 28, page 50).

Nous avons enregistré les spectres avec l'appareil Perkin-Elmer.

a) Tropolone

Nous avons observé les spectres de la tropolone dans le n-hexane, l'éthanol (95% vol H_2O), la formamide et son dérivé diméthylé, et l'eau. Ces spectres sont présentés aux figures 8-14, et caractérisés dans le tableau 2.

Dans l'eau, il existe une forme ionisée de la tropolone. Nous avons donc enregistré les spectres dans des milieux tamponnés à des pH de 4.0 et 10.0 (fig. 12 et 13) pour observer les formes limites pures. La figure 14 illustre la situation à d'autres pH. Dans certains autres solvants polaires, la faible participation de la forme ionique peut être vue, et la concentration affecte la forme des bandes.

b) α -méthoxy-tropone

Les mêmes solvants qu'en a) ont été employés pour l' α -méthoxy-tropone. Les figures 15-19 montrent les spectres; les coefficients d'extinction et les positions des bandes d'absorption sont fournis au tableau 3. Dans l'hexane, une seule mesure a été faite.

c) Mescaline

Le caractère polaire du sel de mescaline nous a limité à l'emploi de solvants tels l'eau et l'éthanol; de plus, la position des bandes d'absorption, telles qu'illustrées aux figures 20 et 21, est incompatible avec l'utilisation des formamides, qui absorbent à partir de ~ 250 nm.

Le tableau 4 donne les coefficients d'extinction pour les transitions observées.

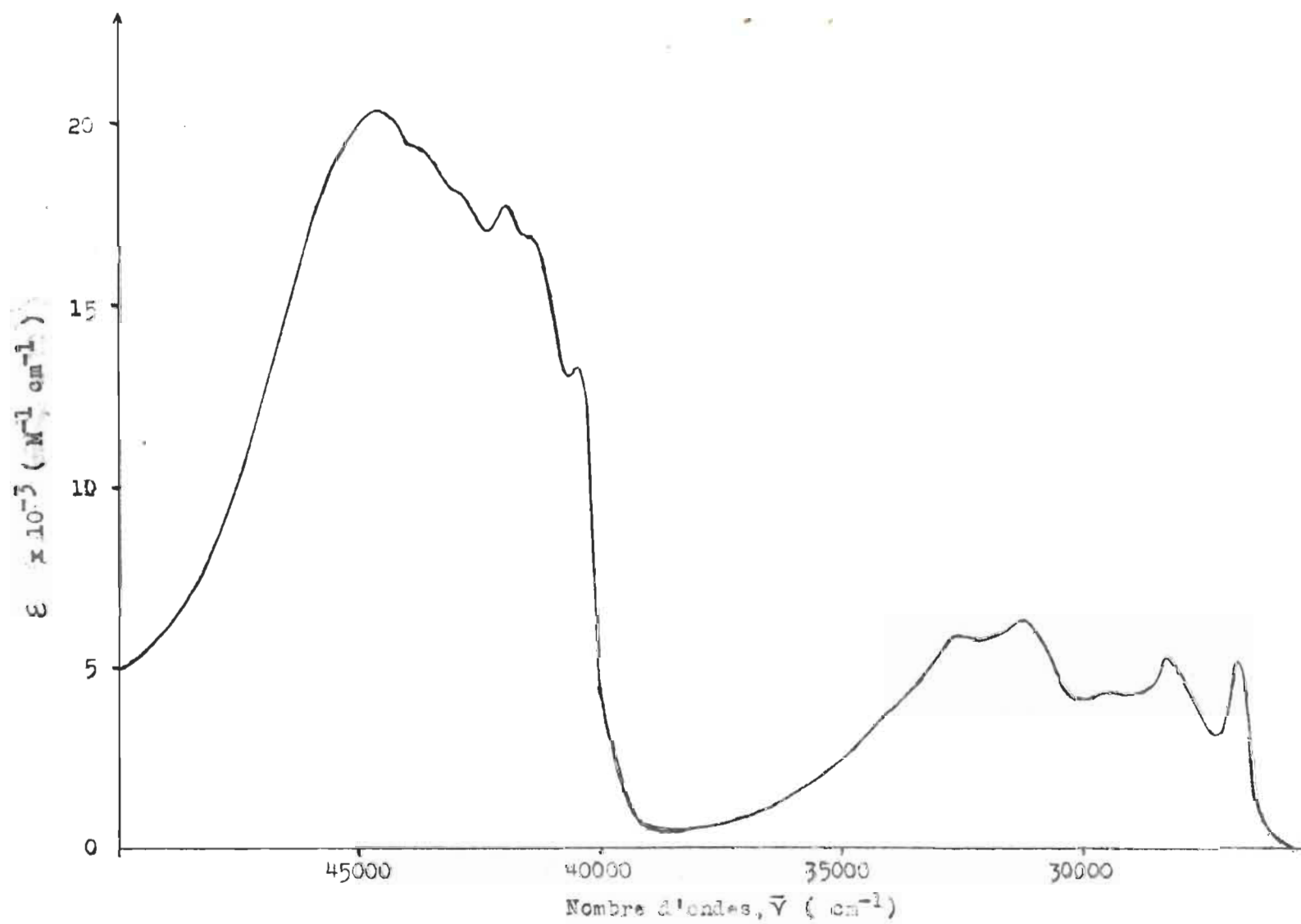


Figure 8. Spectre d'absorption de la tropolone dans l'hexane.

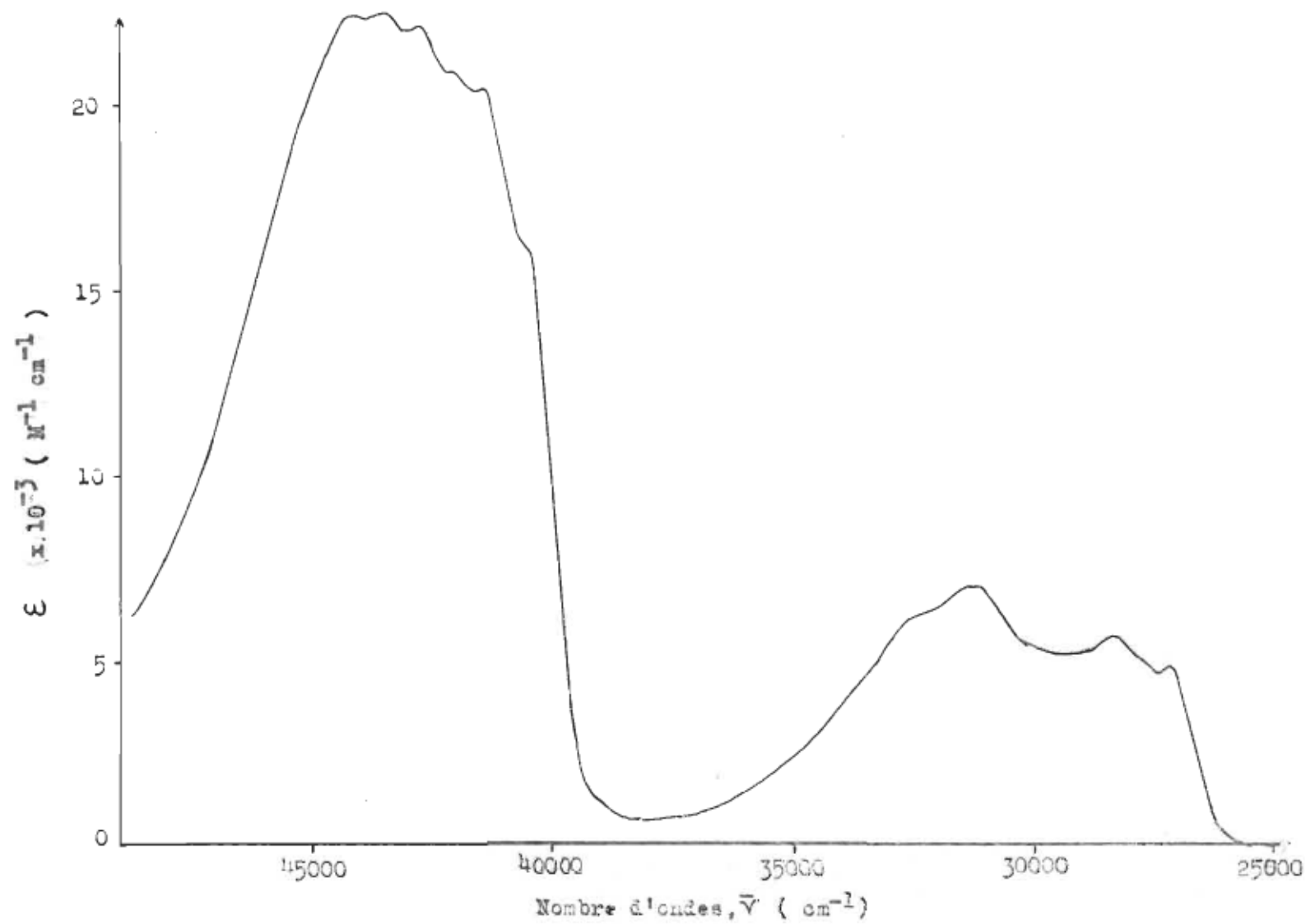


Figure 9. Spectre d'absorption de la tropolone dans l'éthanol (95%).

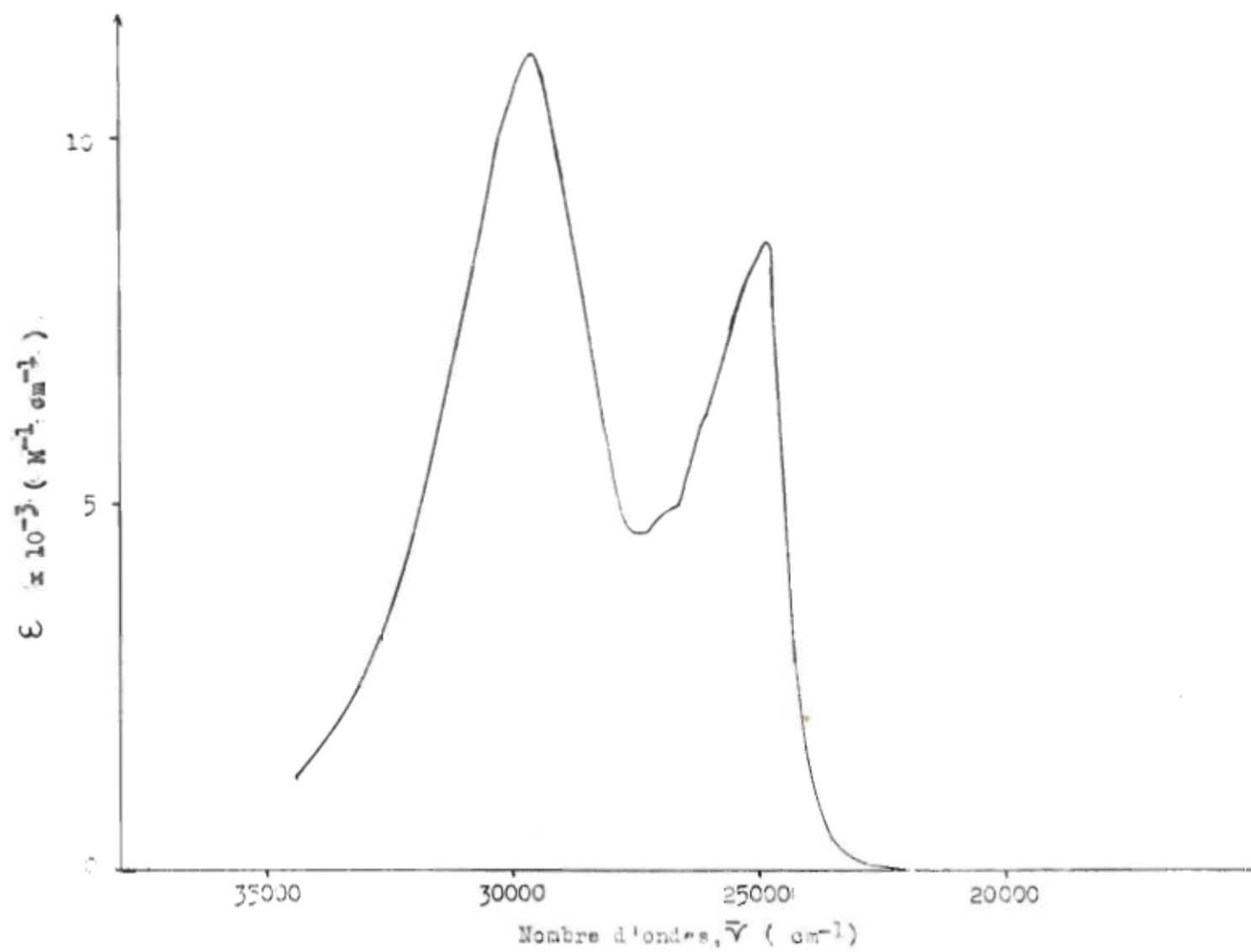


Figure 10. Spectre d'absorption de la tropolone dans la formamide.

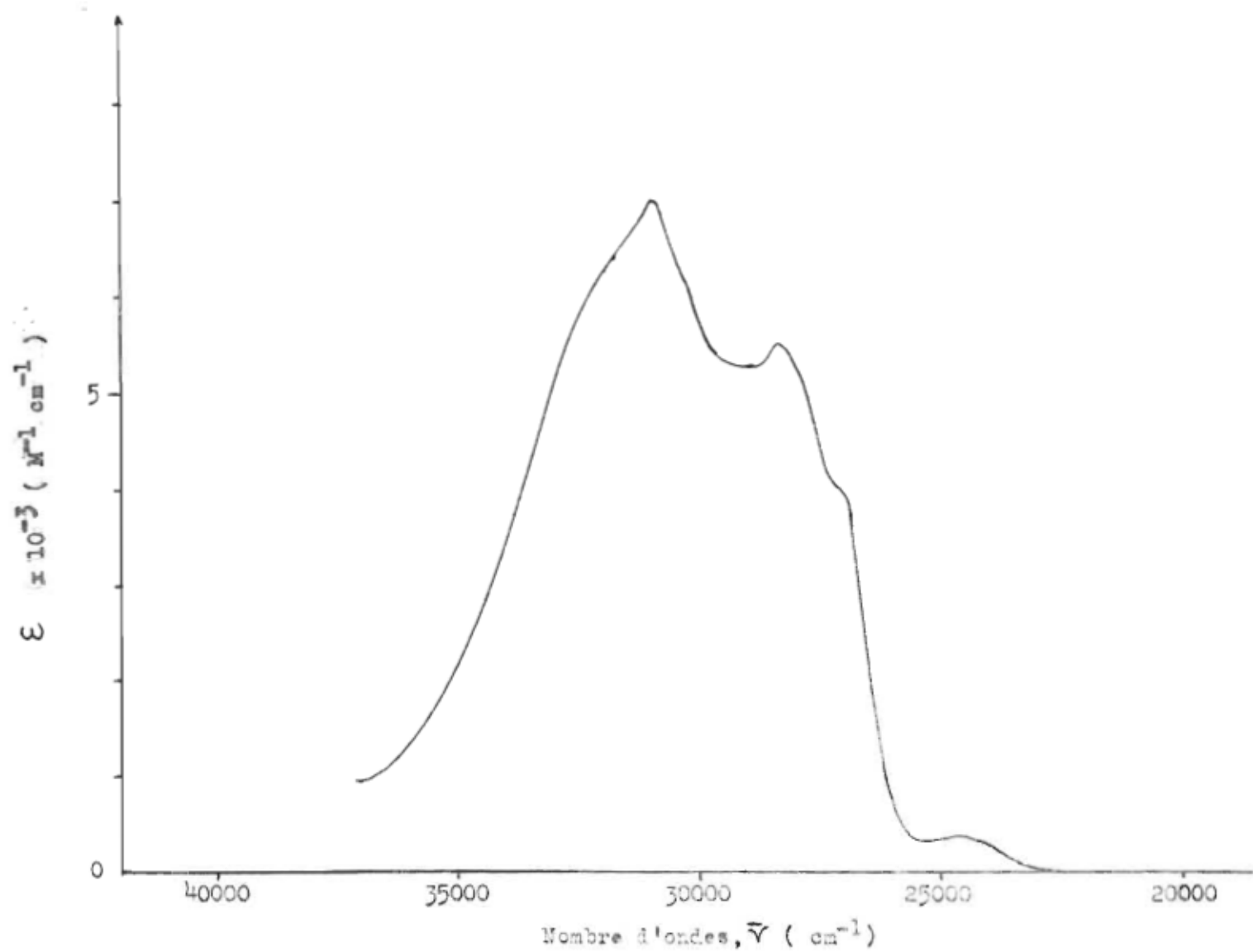


Figure 11. Spectre d'absorption de la tropolone dans la diméthyle-formamide.

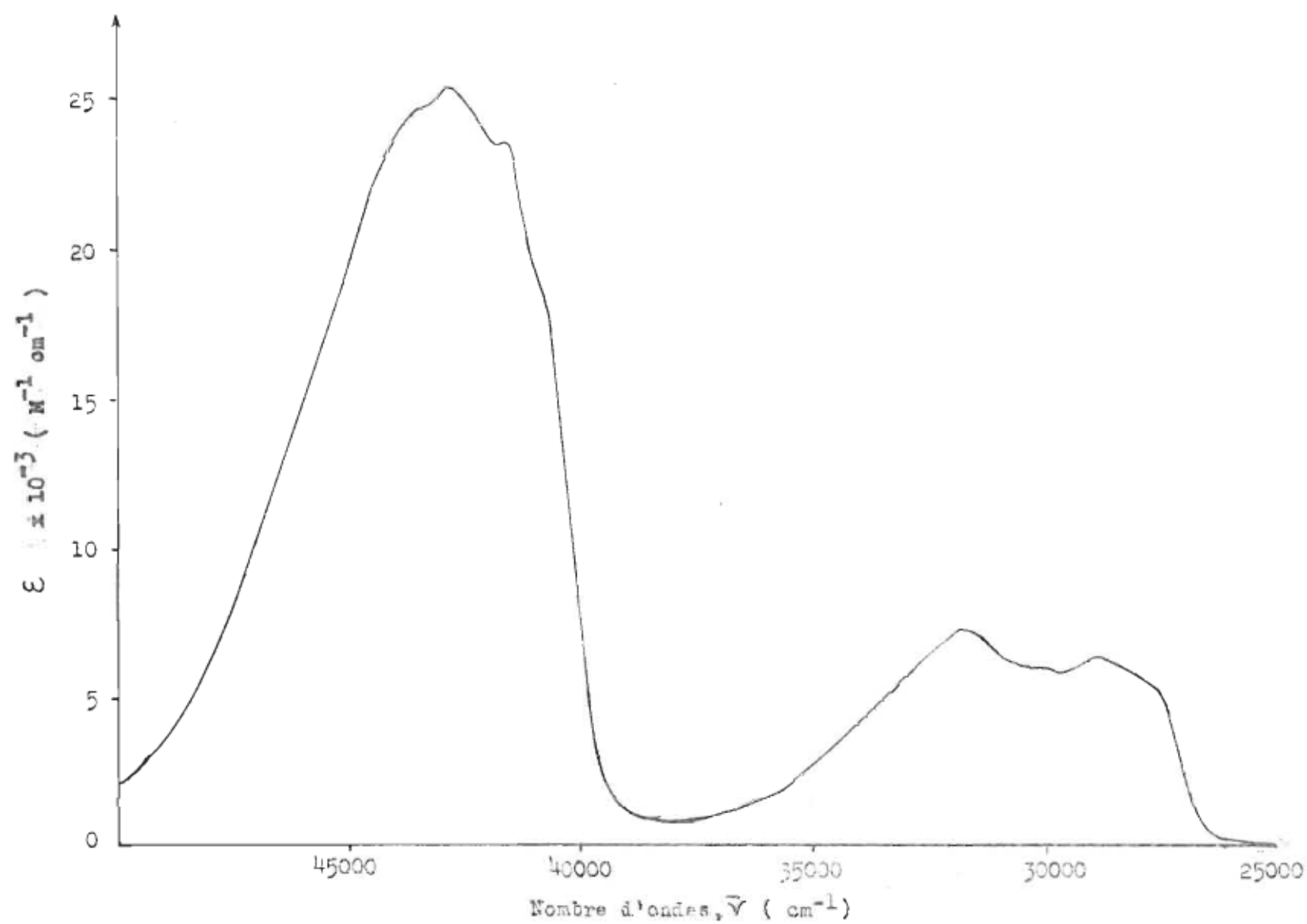


Figure 12. Spectre d'absorption de la tropolone dans l'eau à pH 4.0 .

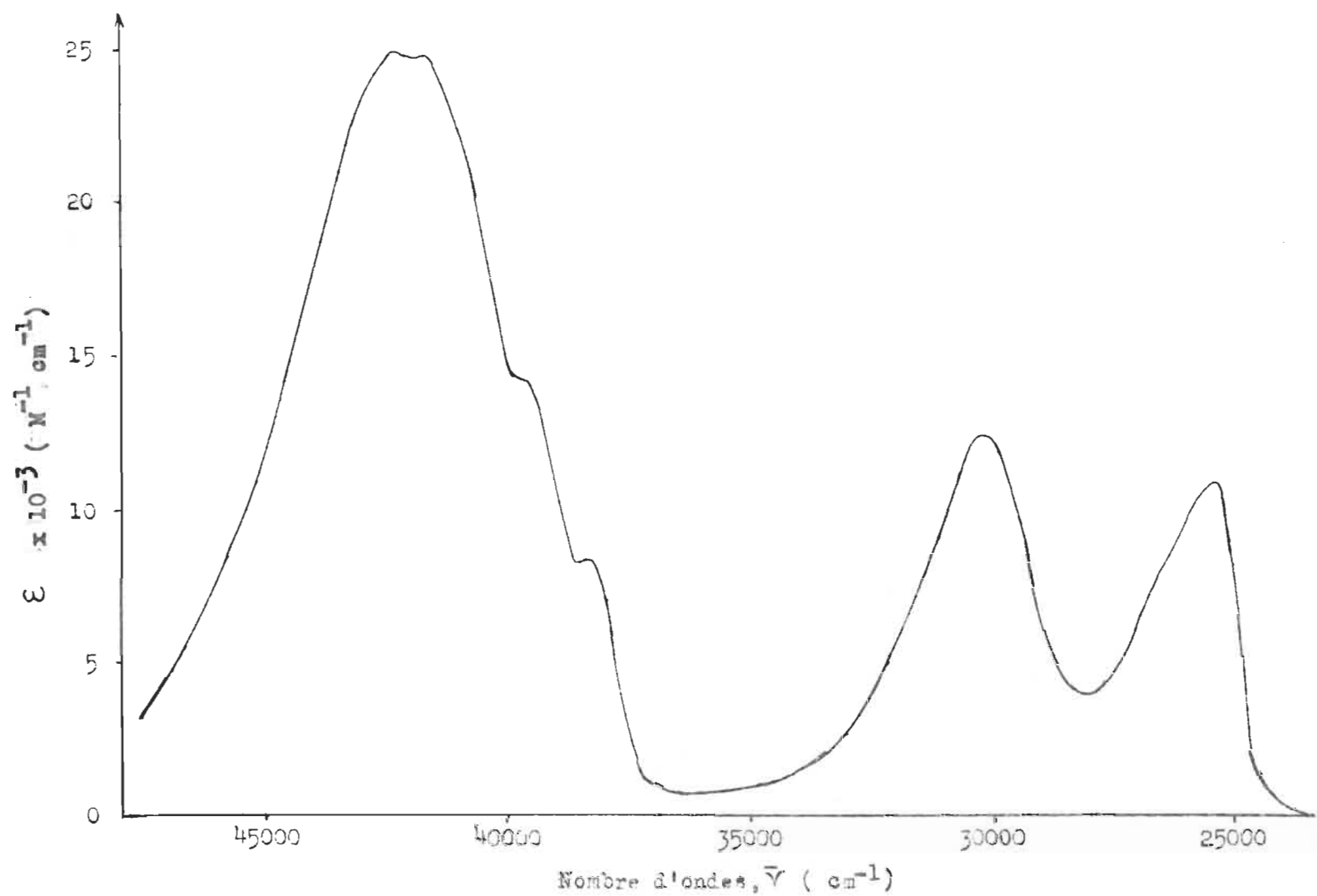


Figure 13. Spectre d'absorption de la tropolone dans l'eau à pH 10.0 .

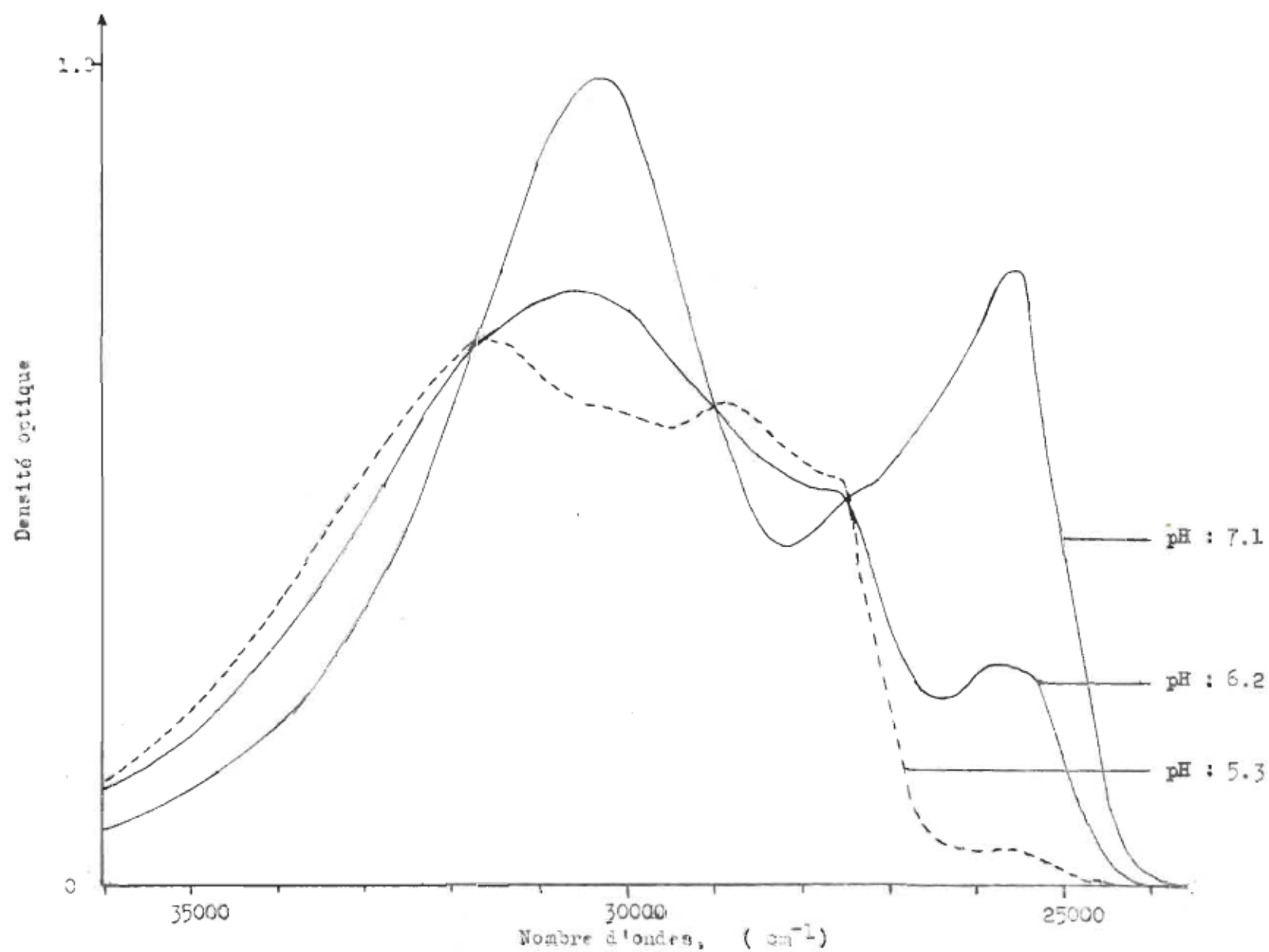


Figure 14. Effet du pH sur la région 35,000-23,000 cm^{-1} du spectre de la tropolone.

Tableau 2. Position et coefficients d'extinction des bandes d'absorption de la tropolone.

Solvant	$\bar{\nu}_1^*$ ϵ_1^{**}	$\bar{\nu}_2$ ϵ_2	$\bar{\nu}_3$ ϵ_3	$\bar{\nu}_4$ ϵ_4	$\bar{\nu}_5$ ϵ_5	$\bar{\nu}_6$ ϵ_6	$\bar{\nu}_7$ ϵ_7	$\bar{\nu}_8$ ϵ_8	$\bar{\nu}_9$ ϵ_9	$\bar{\nu}_{10}$ ϵ_{10}	$\bar{\nu}_{11}$ ϵ_{11}
n-hexane	26.7 5.2	28.1 5.4	29.3 4.4	31.1 6.4	32.5 5.8	40.5 13.4	41.5 17.3	42.0 18.0	42.9 18.6	43.8 19.8	44.6 20.8
éthanol (95%)	27.2 4.8	28.4 5.8	31.4 7.0	(32.7) 6.0	(40.5) 16.2	41.5 20.3	(42.0) 20.9	42.8 22.1	43.5 22.4	44.2 22.4	
formamide***	24.8 8.6	29.6 11.2									
N,N -diméthyle- formamidé***	24.5 ****	27.1 4.0	28.3 5.5	30.9 7.0	(32.2) 6.0						
eau (pH 4.0)	(27.7) 5.5	28.8 6.2	(30.2) 5.9	31.7 7.2	(40.8) 18.3	41.6 23.6	42.9 25.7	(43.5) 25.0			
eau (pH 10)	25.5 11.0	30.3 12.4	38.4 8.3	39.8 14.5	42.0 24.8	42.5 25.1					

* $\bar{\nu}_n \times 10^{-3}$, en cm^{-1} . Les valeurs entre parenthèse désignent des épaulements.

** $\epsilon_n \times 10^{-3}$, en $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, $\pm 3\%$.

*** le solvant absorbe à $\bar{\nu} > 38,500 \text{ cm}^{-1}$.

**** Bande due à l'ionisation partielle; les ϵ sont donc approximatifs.

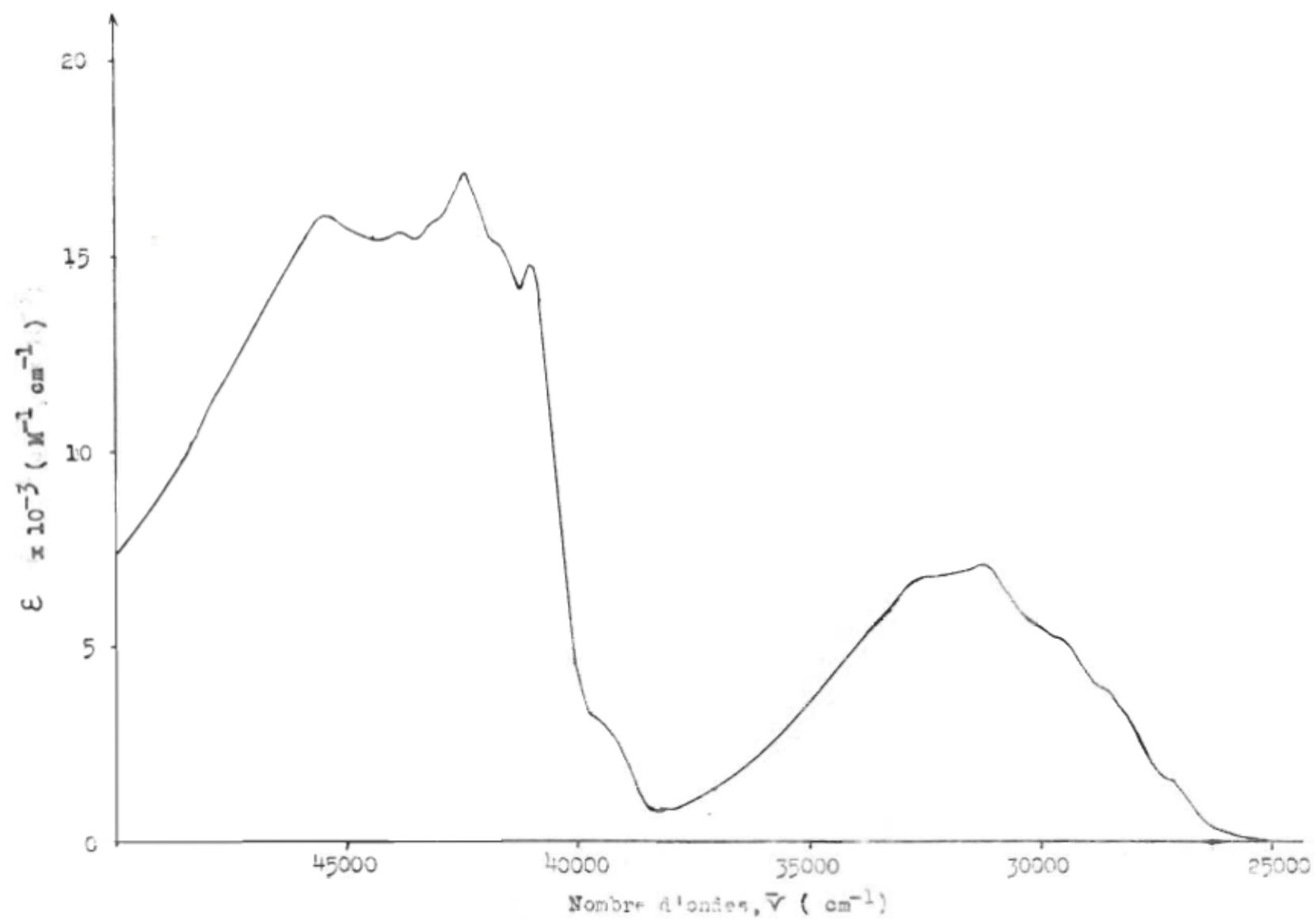


Figure 15. Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans l'hexane.

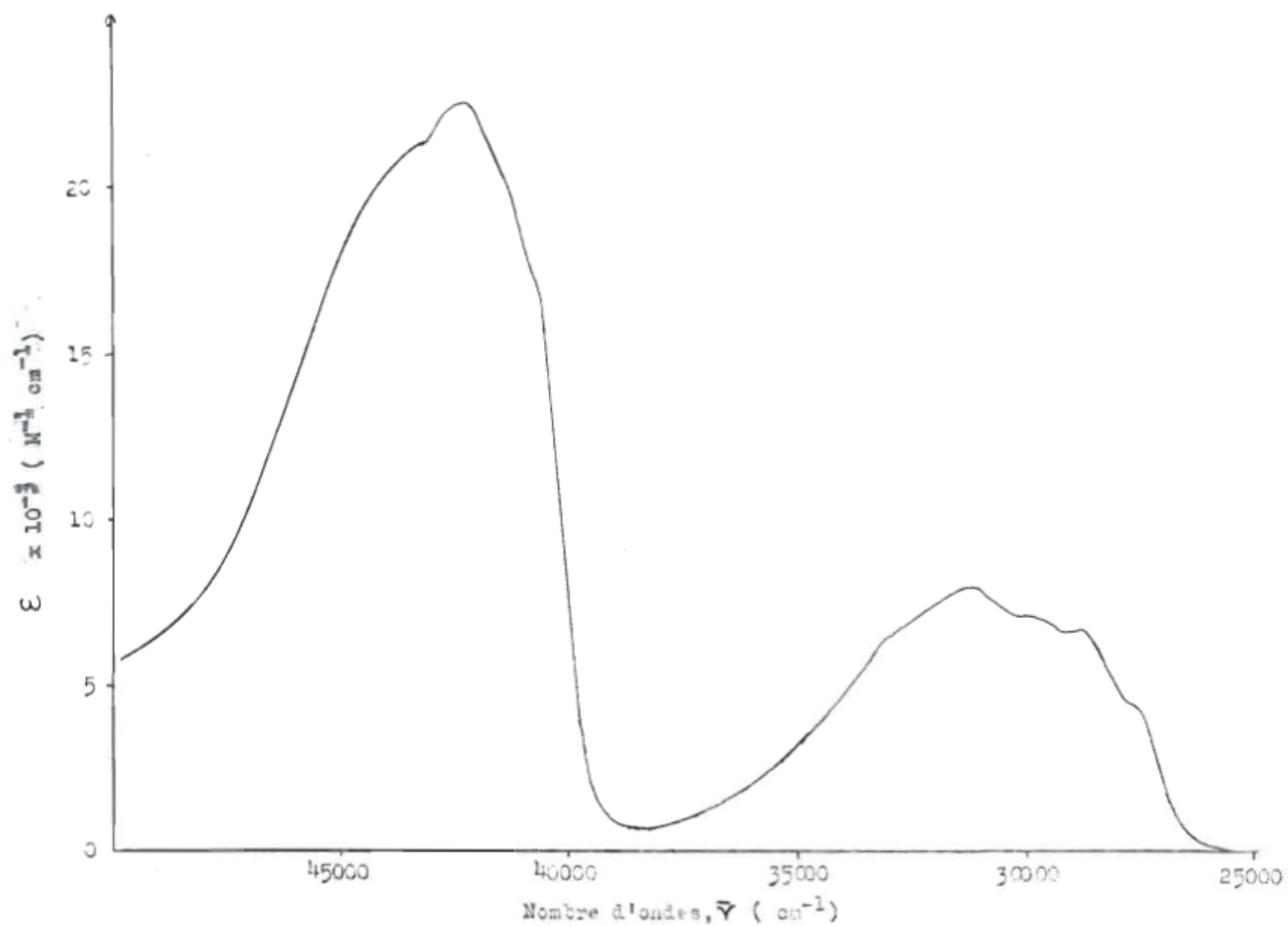


Figure 16. Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans l'éthanol (95%) .

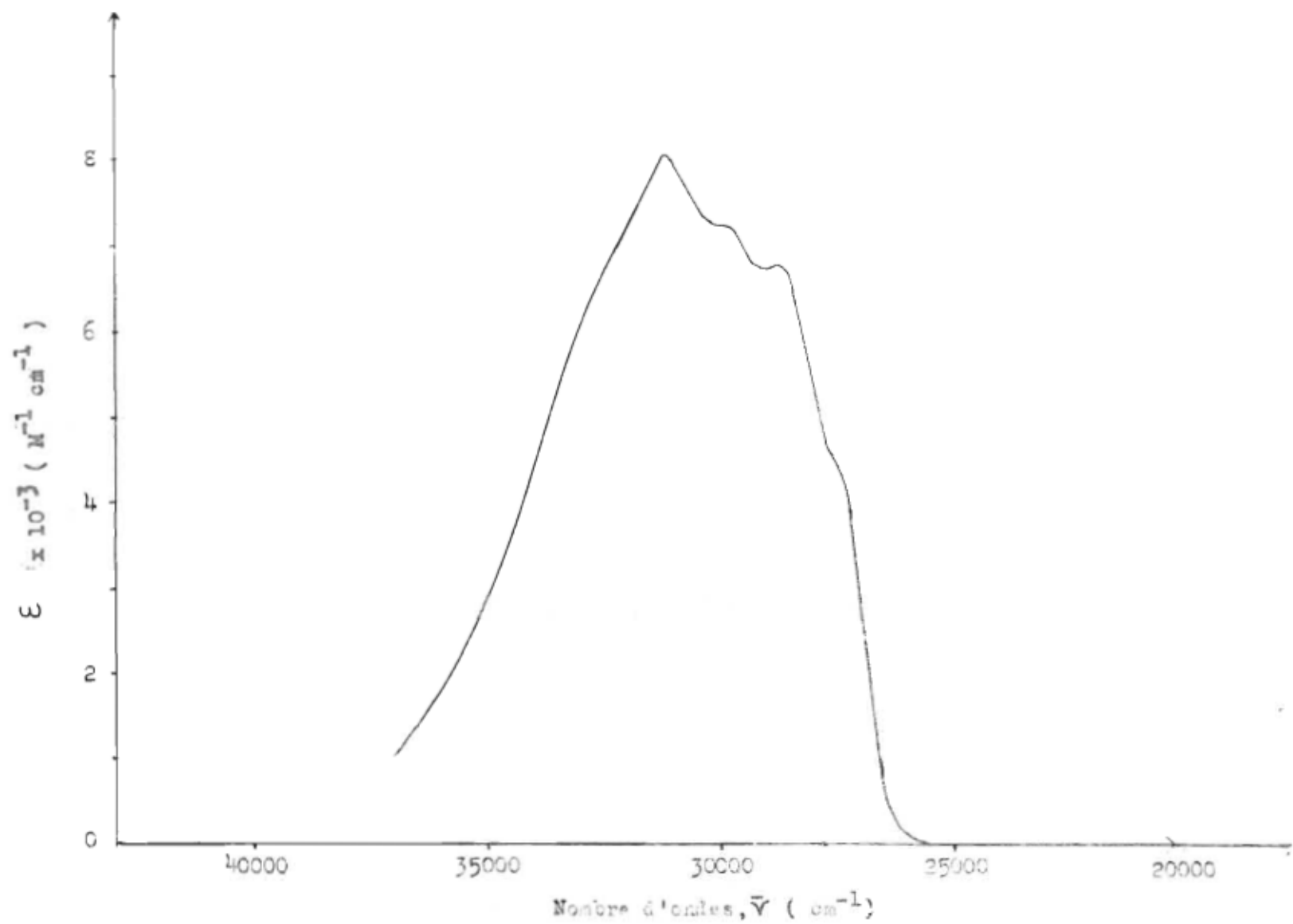


Figure 17. Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans la formamide.

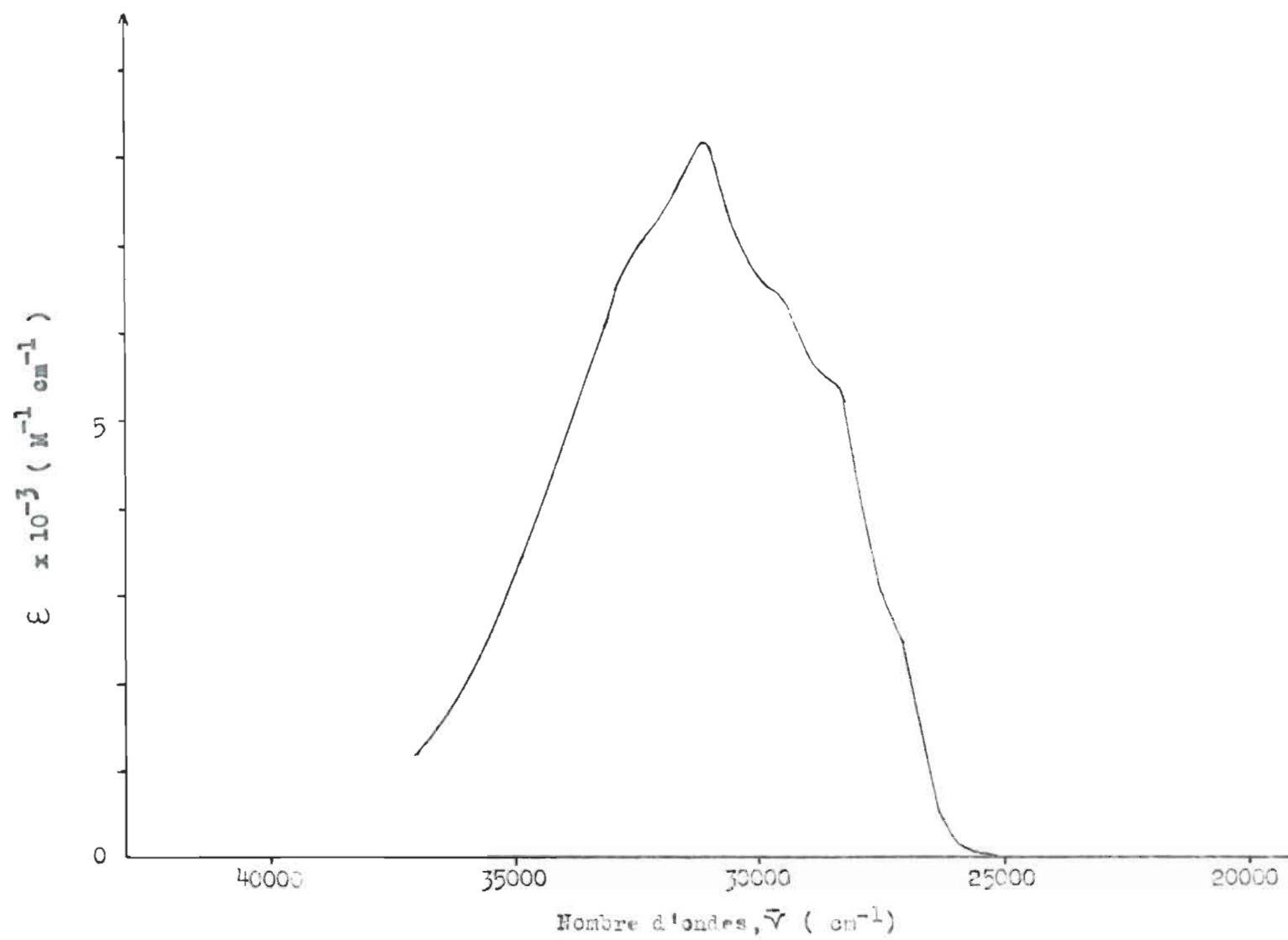


Figure 18. Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans la diméthyle-formamide.

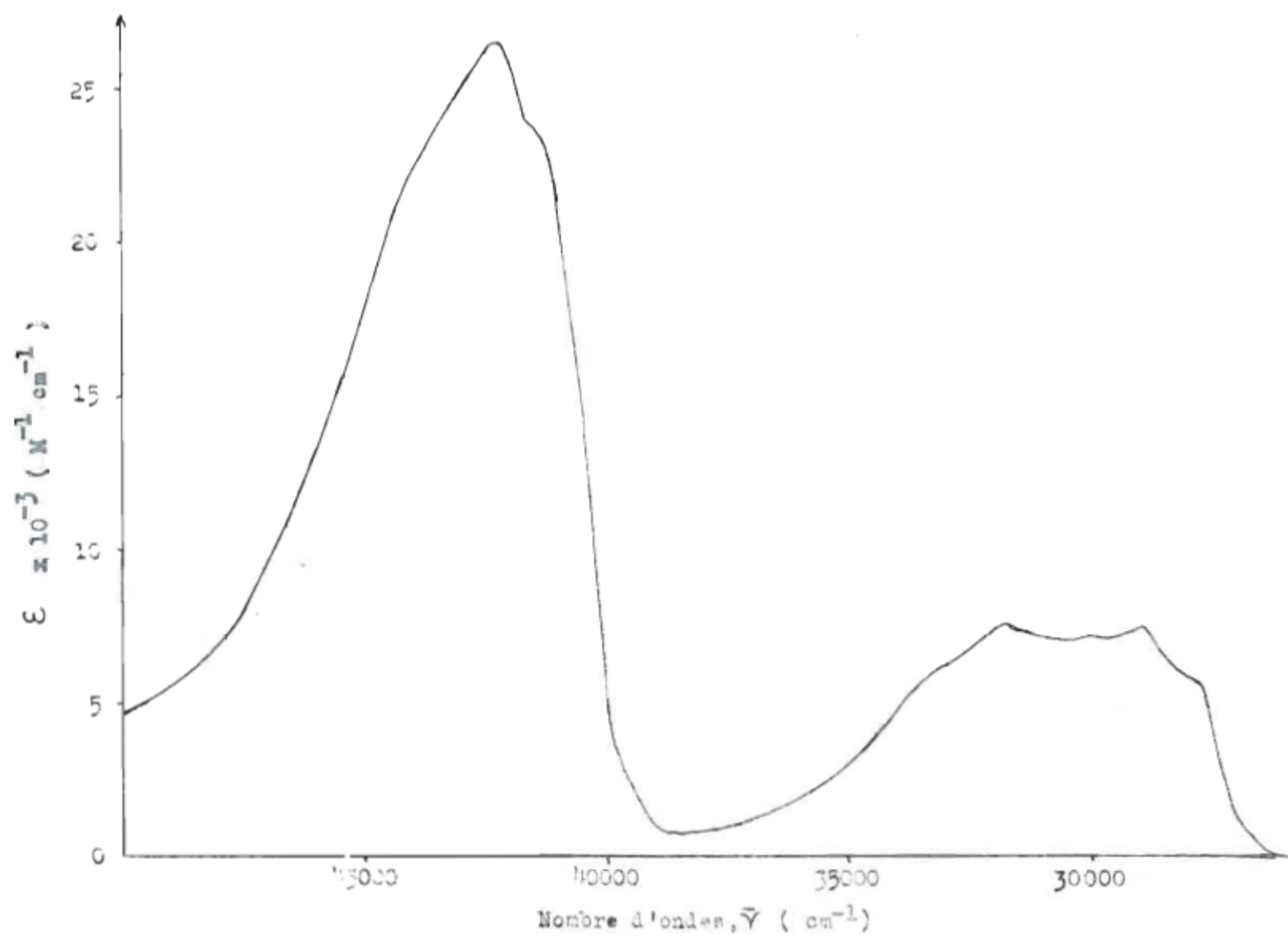


Figure 19. Spectre d'absorption de l' α -méthoxy-tropone dans l'eau.

Tableau 3. Position et coefficients d'extinction des bandes d'absorption de l' α -méthoxy-tropone.

Solvant	$\bar{\nu}_1^*$ ϵ_1^{**}	$\bar{\nu}_2$ ϵ_2	$\bar{\nu}_3$ ϵ_3	$\bar{\nu}_4$ ϵ_4	$\bar{\nu}_5$ ϵ_5	$\bar{\nu}_6$ ϵ_6	$\bar{\nu}_7$ ϵ_7	$\bar{\nu}_8$ ϵ_8	$\bar{\nu}_9$ ϵ_9	$\bar{\nu}_{10}$ ϵ_{10}	$\bar{\nu}_{11}$ ϵ_{11}	$\bar{\nu}_{12}$ ϵ_{12}	$\bar{\nu}_{13}$ ϵ_{13}
n-hexane	(27.2) 1.75	28.2 3.41	(28.6) 4.1	29.6 5.3	31.3 7.1	(32.2) 6.8	(39.5) 3.2	41.0 14.7	41.6 15.4	42.3 17.1	43.1 15.7	43.8 15.4	45.4 15.9
éthanol (95%)	27.5 5.0	28.8 6.7	(30.0) 7.1	31.3 8.0	(32.8) 6.7	(40.6) 16.8	(41.3) 20.0	42.2 22.5	(43.5) 21.1				
formamide***	(27.5) 4.4	(28.8) 6.7	30.0 7.2	31.2 8.1	(32.8) 6.5								
N,N-diméthyle- formamide***	(27.2) 2.6	(28.6) 5.5	29.7 6.5	31.1 8.3	(32.6) 7.0								
eau	(27.8) 5.8	29.0 7.4	30.0 7.1	31.7 7.5	(33.0) 6.3	(41.5) 23.4	42.3 26.4	(43.5) 23.4					

* $\bar{\nu} \times 10^{-3}$, en cm^{-1} . Les valeurs entre parenthèses désignent des épaulements.

** $\epsilon \times 10^{-3}$, en $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$; $\pm 3\%$.

*** le solvant absorbe à $\bar{\nu} \geq 38,500 \text{ cm}^{-1}$.

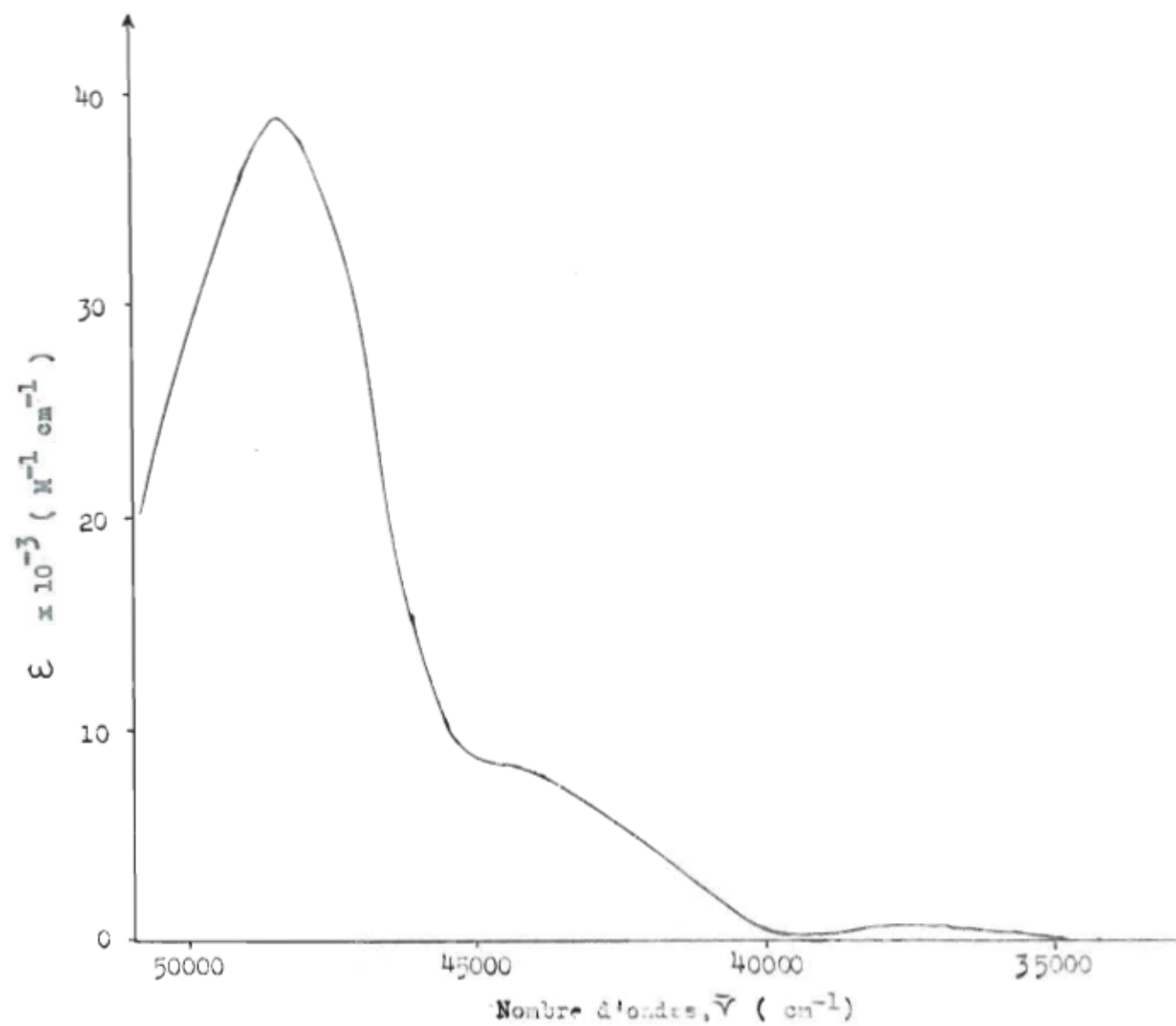


Figure 20. Spectre d'absorption du chlorure de mescaline dans l'éthanol.

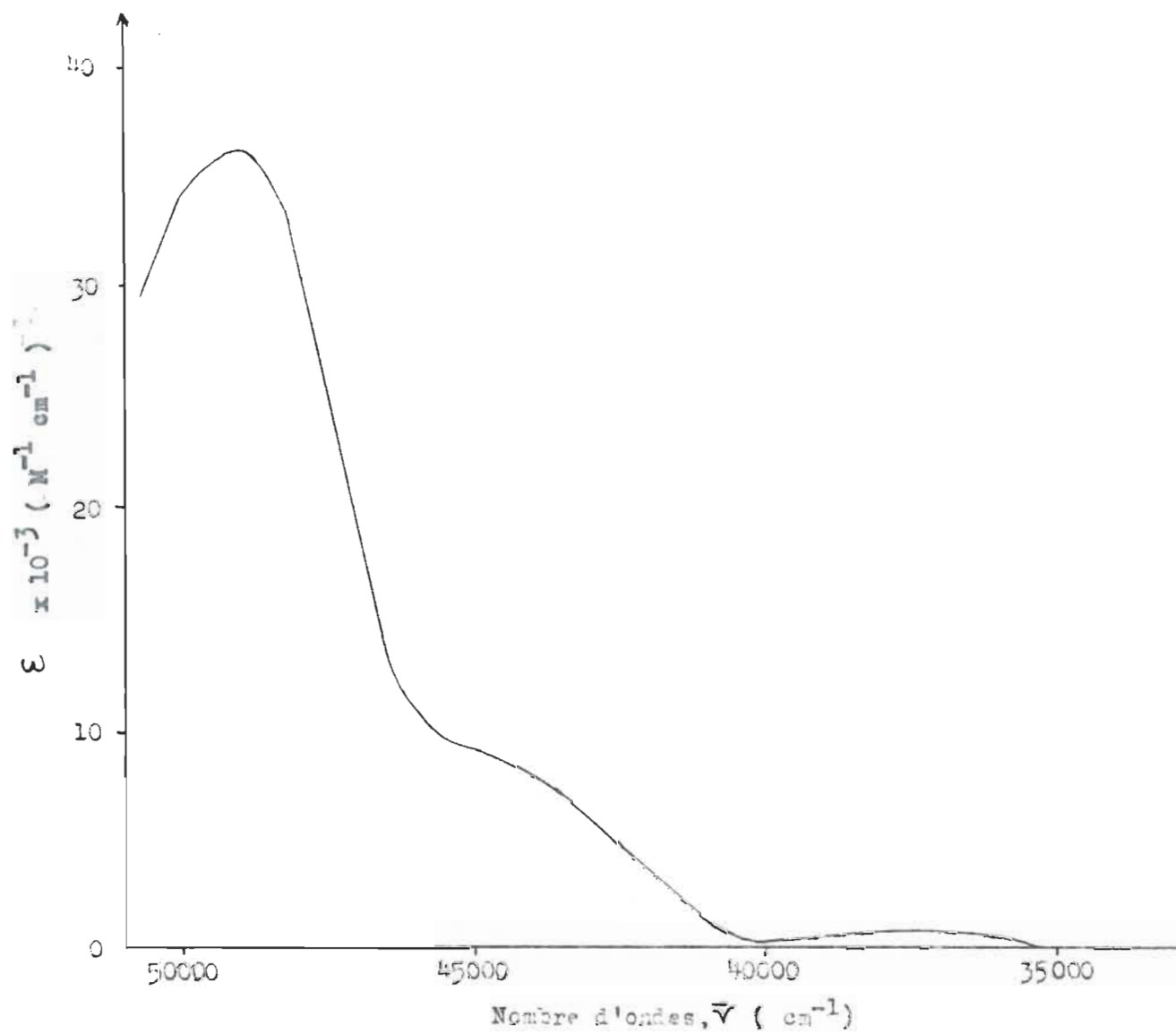


Figure 21. Spectre d'absorption du chlorure de mescaline dans l'eau.

Tableau 4. Position et coefficients d'extinction des bandes d'absorption de l'hydrochlorure de mescaline.

Solvant	$\bar{\nu}_1^*$ ϵ_1^{**}	$\bar{\nu}_2$ ϵ_2	$\bar{\nu}_3$ ϵ_3
eau	37.2 0.74	44.4 8.6	49.0 36.2
éthanol(95%)	37.2 0.73	44.4 8.4	48.4 38.7

* $\bar{\nu}_n \times 10^{-3}$; en cm^{-1} ;

** $\epsilon_n \times 10^{-3}$; en $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$; $\pm 3\%$

2. Spectres d'émission en solutions

a) Spectres observés avec l'appareil MPF-2A (Perkin-Elmer)

Nous avons observé les spectres d'émission et d'excitation (non corrigés) pour la colchicine et la tropolone en solution dans l'eau et l'hexane respectivement; ils constituent les figures 22 et 23.

Pour la tropolone, des spectres d'émission identiques sont observables dans l'eau, à pH 4. Pour la colchicine, quelques tracés préliminaires ont été obtenus dans d'autres solvants. Les positions des maxima d'émission, non corrigés, sont données au tableau 5. Pour enregistrer la luminescence des solutions de colchicine, il a fallu utiliser une géométrie de détection modifiée, illustrée à la figure 22. Il en est ainsi à cause des fortes densités optiques requises pour détecter la luminescence (effet de filtre interne).

Nous n'avons détecté aucune luminescence provenant de la mescaline et nous n'avons pas étudié l' α -méthoxy-tropone.

b) Spectres observés avec le spectrofluorimètre laser

La figure 24 représente les émissions non corrigées provenant de la colchicine, de la tropolone et de l' α -méthoxy-tropone excitées par la raie 325 nm d'un laser He/Cd. Les conditions expérimentales et la position des maxima sont résumées au tableau 6. La mescaline n'absorbe pas à 325 nm et n'a donc pas été employée.

Tableau 5. Spectres d'émission de la colchicine en solution.

Solvant	Maximum d'émission*
Eau	23.3
Méthanol	22.7 - 23.0
Chloroforme	~ 20.4
Dichlorométhane	~ 20.4
Iodure d'éthyle	~ 21.3

* $\bar{\nu} \times 10^{-3}$; non corrigé ; en cm^{-1} .

Tableau 6. Spectres obtenus avec le spectrofluorimètre laser.

Produit	Solvant	Conc.	Position *	Sensibilité du nanoampèremètre
Colchicine	eau	9×10^{-5} M	23.3	10 nA
Tropolone	eau (pH 4)	1×10^{-4} M	25.0	30 "
α -méthoxy-tropone	eau	7×10^{-5} M	24.8	10 "

* $\bar{\nu} \times 10^{-3}$; non corrigée ; en cm^{-1} .

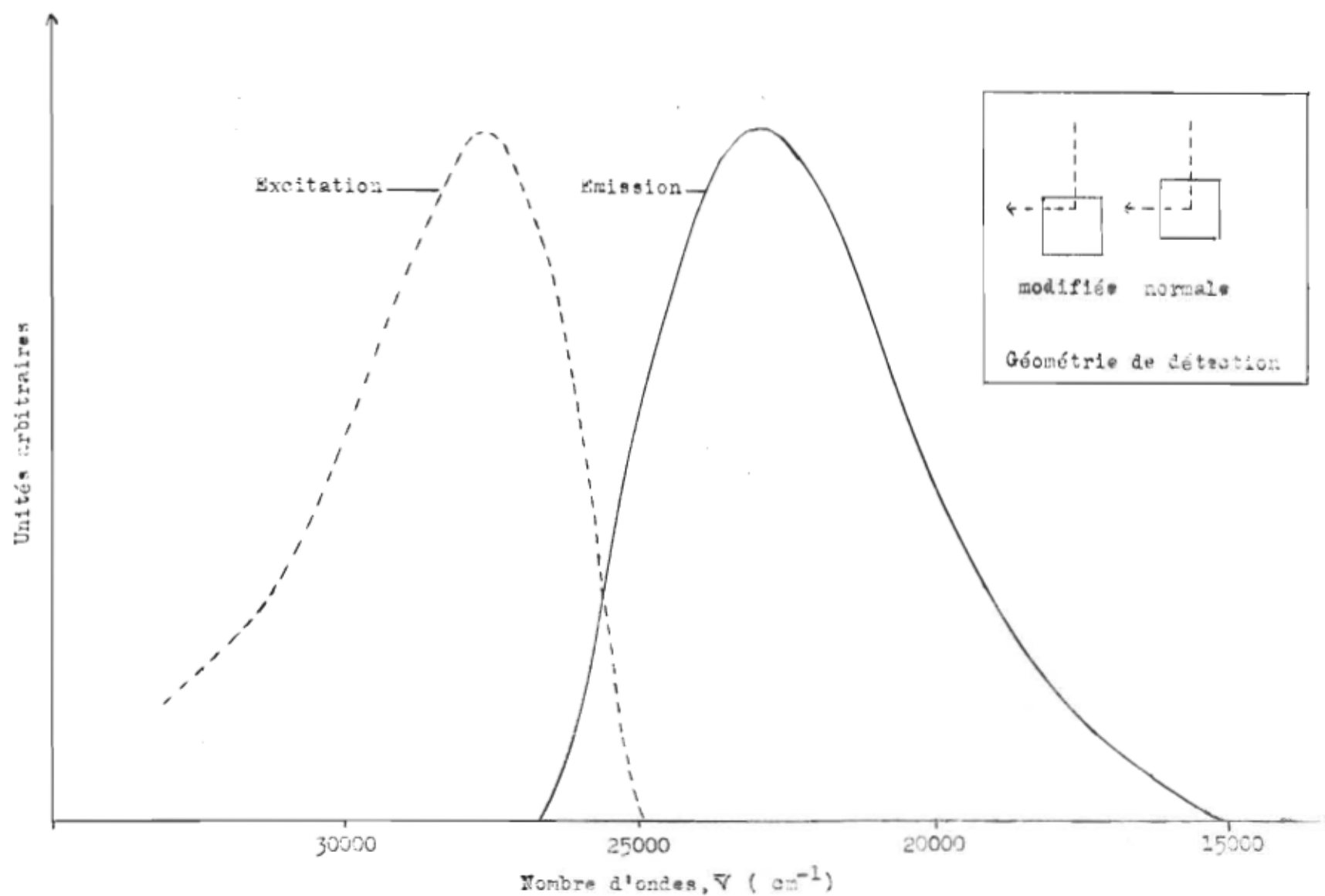


Figure 22. Spectres d'émission et d'excitation de la colchicine dans l'eau.

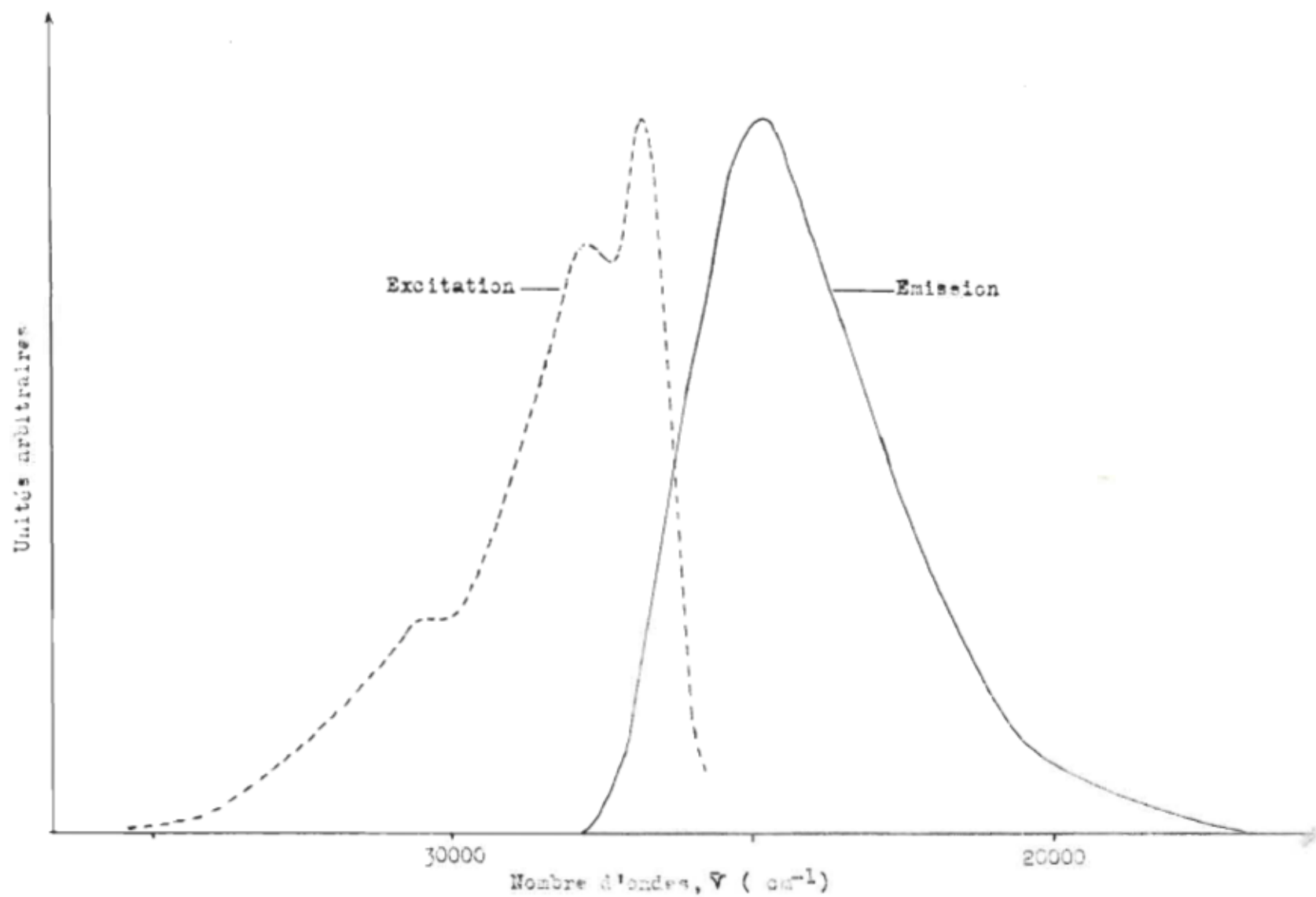


Figure 23. Spectres d'émission et d'excitation pour la tropolone dans le n-hexane.

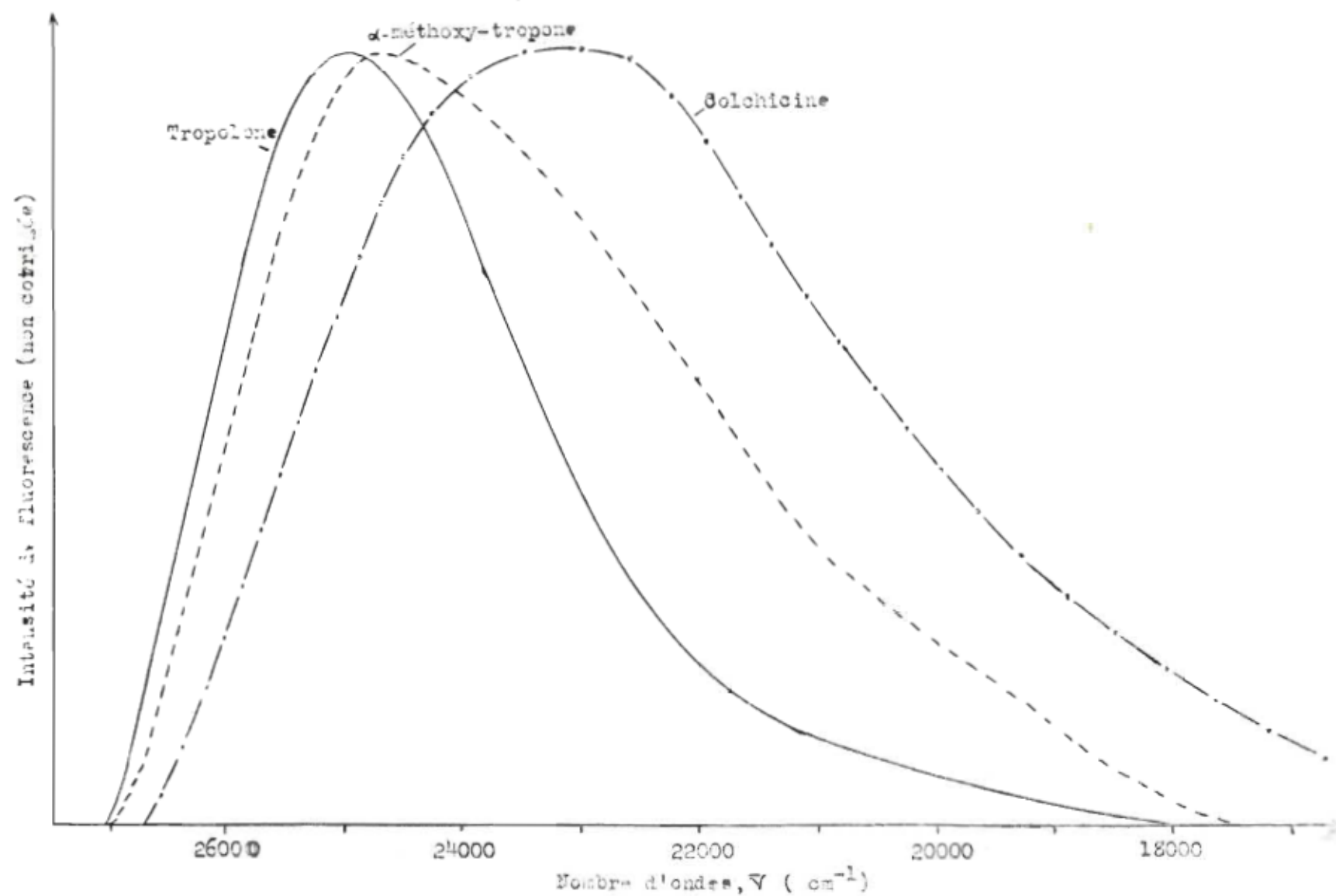


Figure 24. Spectres d'émission observés avec le spectrofluorimètre laser.

3. Spectres d'émission à 77°K

Les molécules étudiées émettent beaucoup plus intensément à la température de l'azote liquide, dans des verres de différentes natures. Nous présentons d'abord, avec l'E.P.A. comme solvant, quelques caractéristiques des émissions: excitation, polarisation, polarisation d'excitation, temps de vie, rendement quantique. Nous verrons ensuite l'effet de solvant sur la position des spectres.

a) Spectres d'excitation et d'émission; polarisation

Les figures 25-28 montrent les spectres d'émission et d'excitation, non corrigés, pour les trois composés étudiés ainsi que pour l'ion tropolone. Nous avons inclus les bandes d'absorption électronique observées en solution dans l'E.P.A. ($\sim 298^\circ\text{K}$). Seuls les tracés d'excitation pour le cas de la tropolone et de son éther varient avec la concentration et ceux illustrés représentent le cas des faibles concentrations.

Les valeurs de la polarisation d'excitation et d'émission en fonction des longueurs d'onde sont aussi signalées dans nos figures.

La mescaline ne semble pas émettre dans ces conditions-ci non plus.

Les résultats sont résumés au tableau 7.

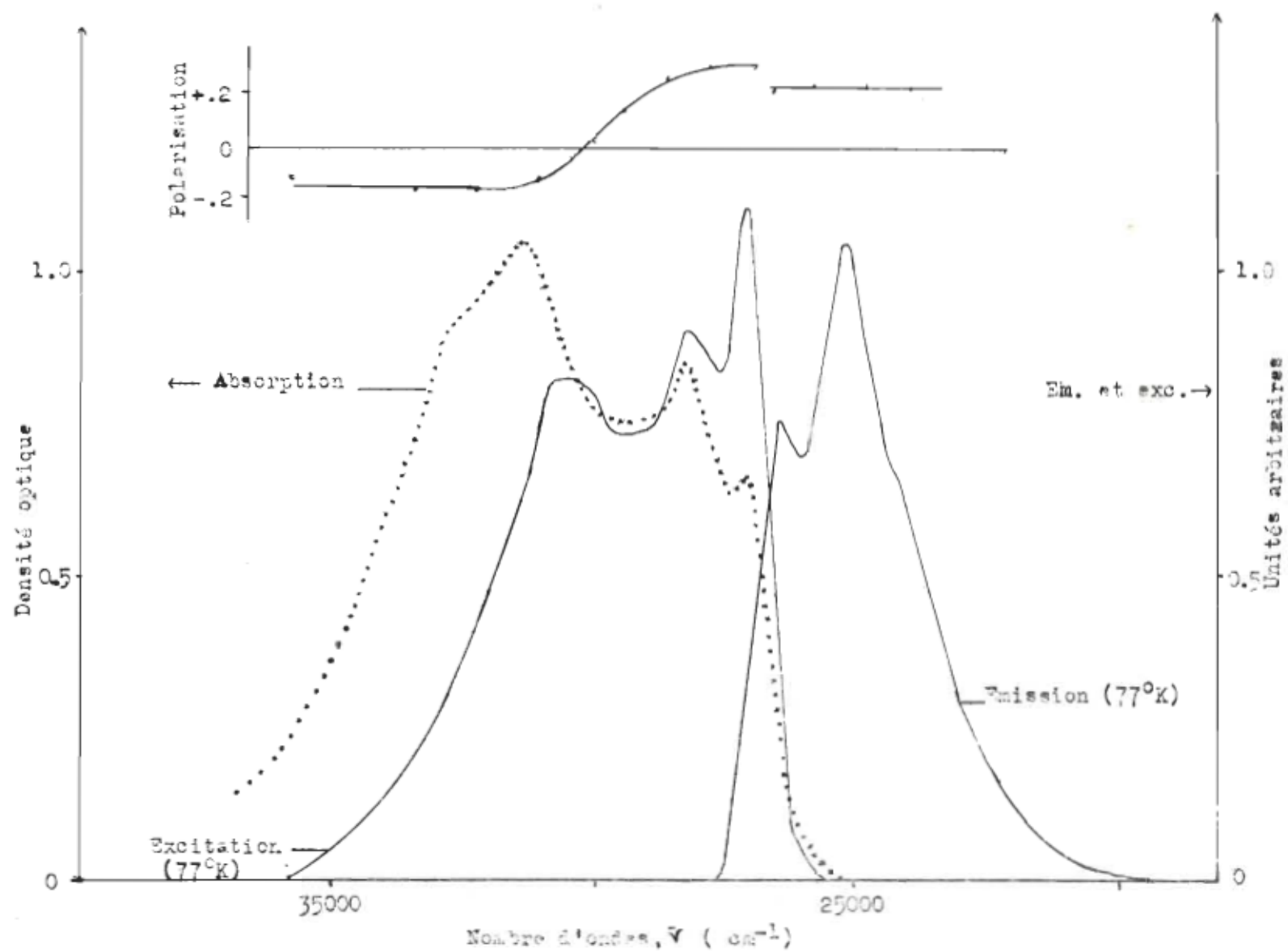


Figure 25. Spectres électroniques de la tropolone dans l'E.P.A.

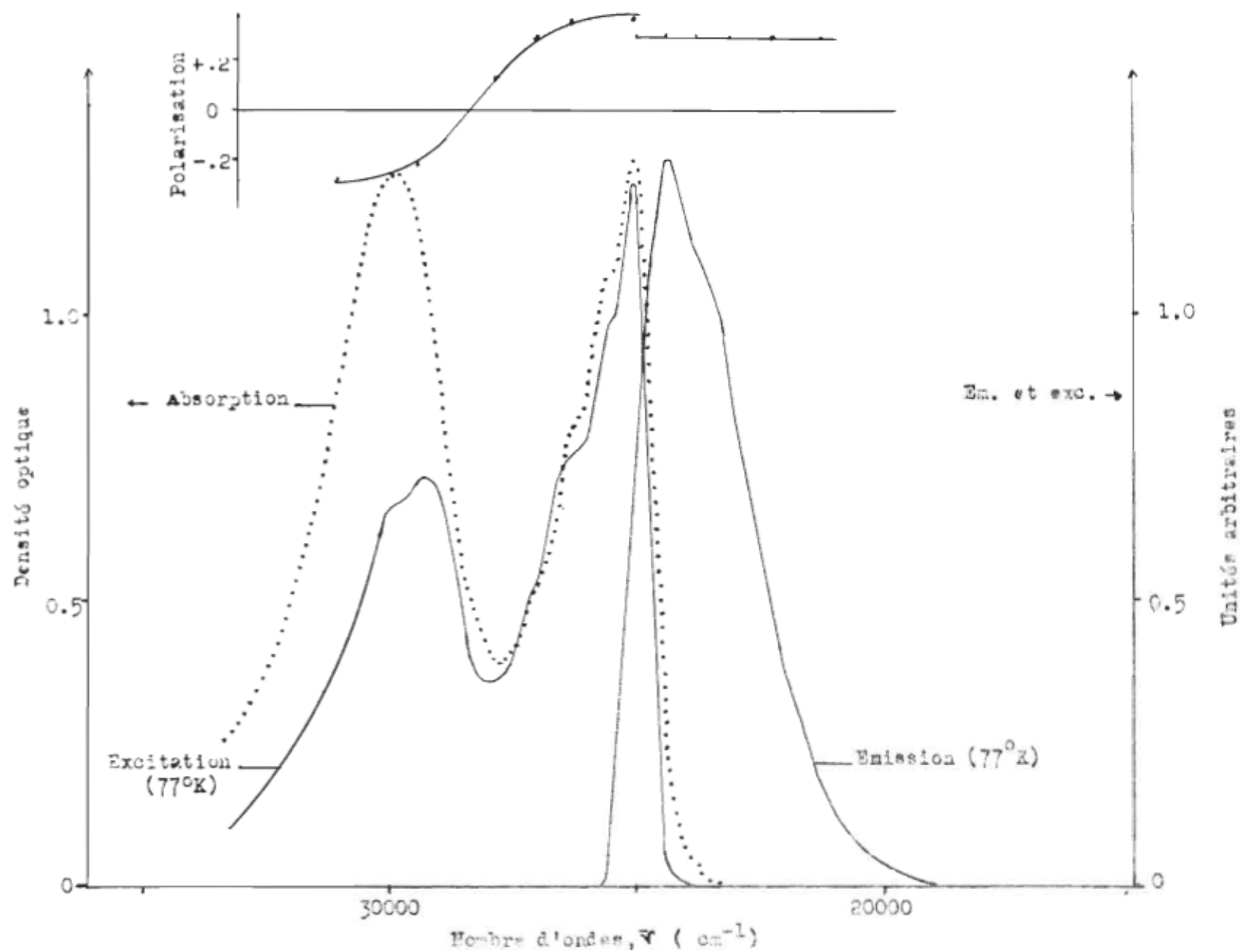


Figure 26. Spectres électroniques de l'ion tropolonate dans l'E.P.A.

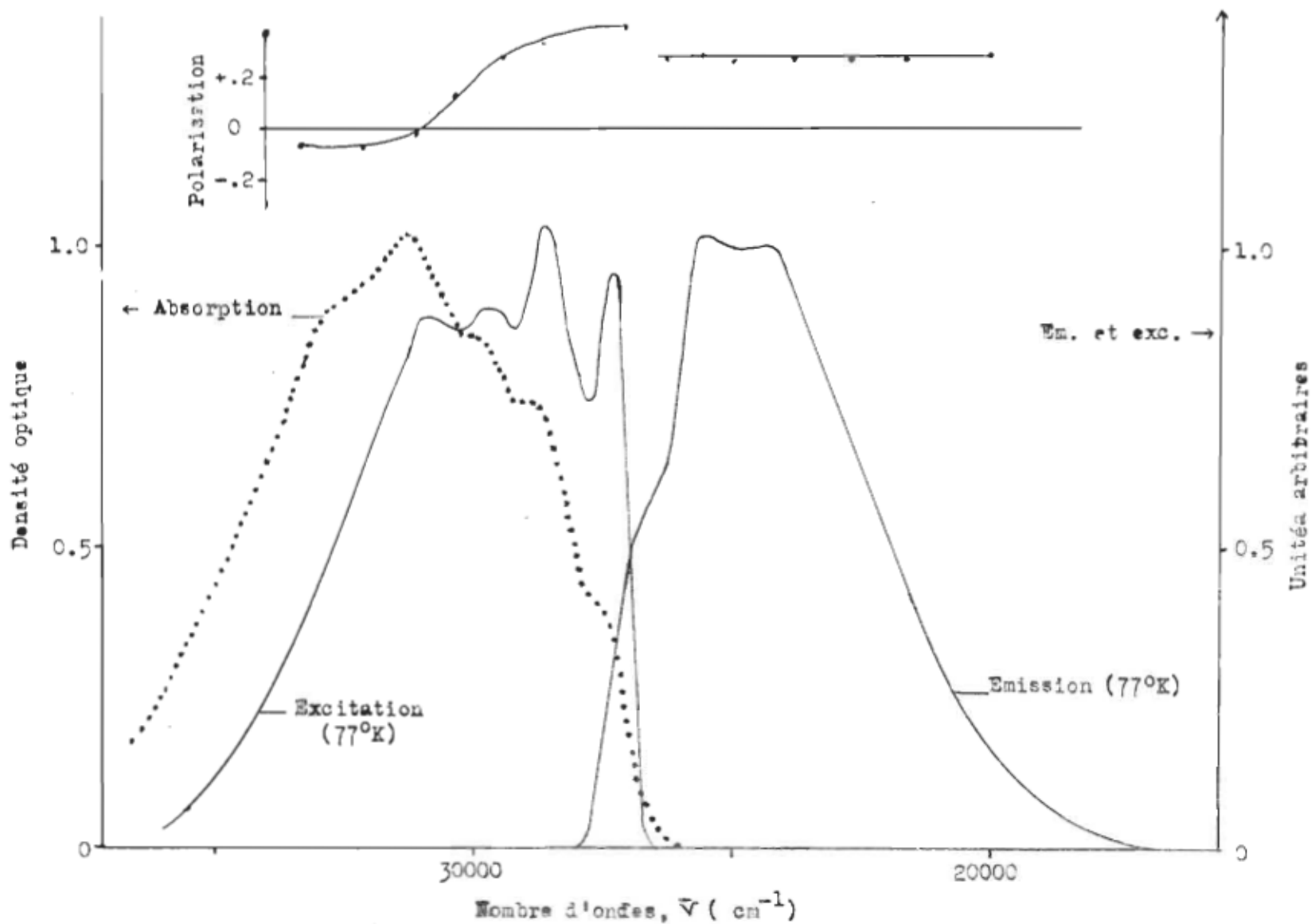


Figure 27. Spectres électroniques de 1'- α -méthoxy-tropone dans 1'E.P.A.

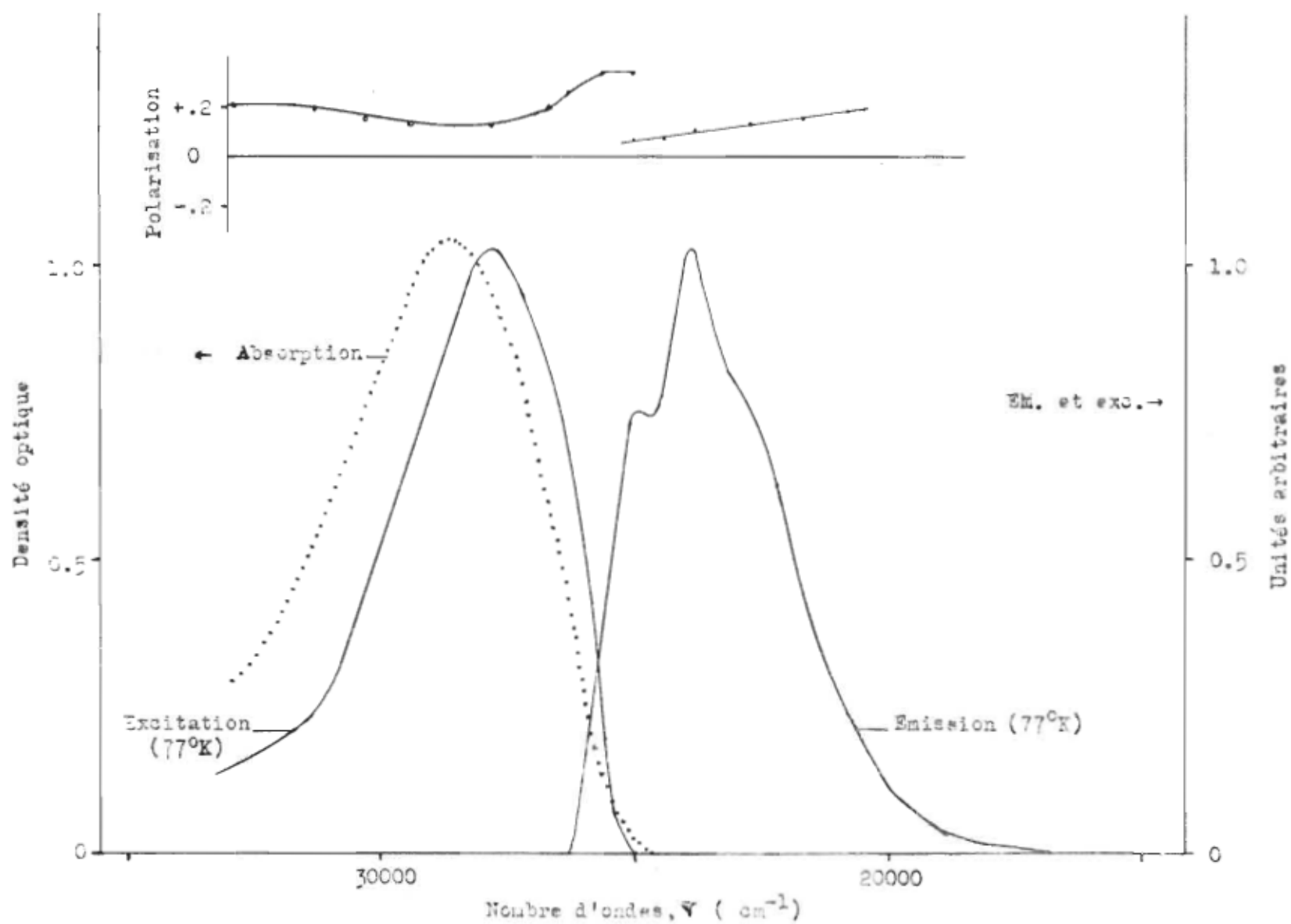


Figure 28. Spectres électroniques de la colchicine dans l'E.P.A.

Tableau 7. Position des bandes d'absorption, d'excitation et d'émission pour les divers composés, dans l'E.P.A.

Composé	Emission *	Excitation *	Absorption **
Colchicine	25.0 23.8 22.9 (e)	27.8	28.6 32.8 (e)
Tropolone	26.5 25.2 24.3 (e)	30.6 28.2 27.0	31.3 28.2 27.0
Ion tropolonate	24.4 23.4 (e)	29.2 25.0	29.8 25.0
α -méthoxy-tropone	26.6 (e) 25.5 24.4	31.0 29.7 28.6 27.3	32.7 (e) 31.2 29.9 (e) 28.9 (e) 27.5 (e)

* 77°K ; non corrigé; $\tilde{\nu} \times 10^{-3}$, en cm^{-1}

** En solution à la température de la pièce; $\tilde{\nu} \times 10^{-3}$, en cm^{-1}

(e) épaulement

b) Temps de vie

i) Technique de l'excitation éclair

La figure 29 montre les courbes de décroissance de la luminescence excitée par une impulsion de courte durée. Ces courbes ont été photographiées à partir des tracés d'un écran d'oscilloscope, pour le cas d'une impulsion seule ($\lambda = 337$ nm) et pour des verres éthanol/méthanol (9:1) et E.P.A. contenant la colchicine et la tropolone. De telles courbes ont été enregistrées en observant la luminescence à 400 nm (tropolone) ($25,000 \text{ cm}^{-1}$) et à plusieurs longueurs d'ondes différentes (colchicine). Dans ce cas, l'intensité relative des signaux (mesurée à leur maximum) a bien reproduit le spectre d'émission en régime stationnaire; ceci indique que le signal était bien la luminescence de la colchicine.

L'élargissement des tracés b, e, et f par rapport au signal de la lampe correspond à l'existence d'un intermédiaire de très courte durée. Il a donc été impossible de tirer une valeur précise des temps de vie, d'autant plus que des bruits oscillatoires affectaient la partie utilisable des courbes.

Nous ne pouvons qu'estimer les temps de vie à une valeur de l'ordre de 5 nsec. Nous avons néanmoins tenté l'application de la méthode de Demas et Adamson (10) à la courbe obtenue sur l'échelle de 5 nsec (la courbe pour l'éclair seul étant construite à partir de celle enregistrée sur 10 nsec). Nous trouvons alors un temps de vie de 1-2 nsec; ceci n'est que descriptif, puisque selon les résultats d'une autre technique, le compte des photons, il semble que la courbe de décroissance soit bi-exponentielle, pour la colchicine du moins.

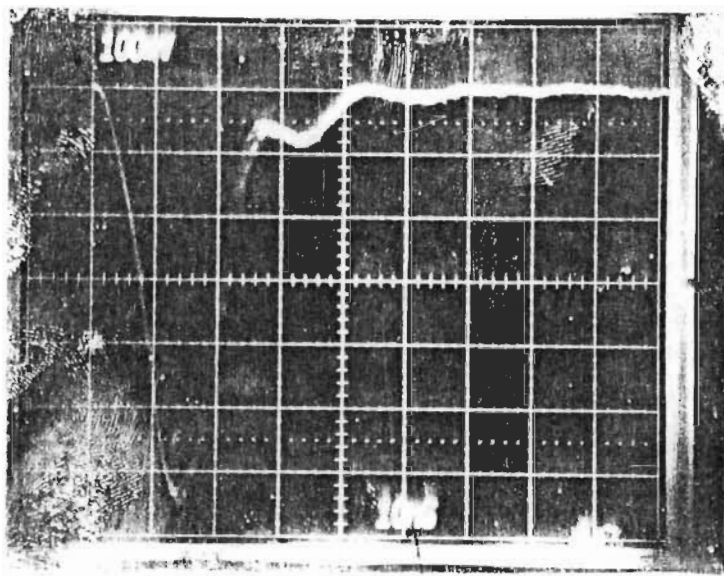
11) Technique du compte de photons

Nous avons pu déterminer des valeurs numériques des temps de vie par la technique du compte de photons. Les résultats obtenus dans l'E.P.A. à 77°K, de même qu'en solution dans l'hexane (pour la tropolone seulement) se trouvent au tableau 8. Les graphes semi-logarithmiques des courbes de décroissance expérimentales et de celles calculées avec les temps de vie déterminés sont présentées aux figures 30-34. On y donne aussi un exemple du recouvrement des courbes de la lampe et d'une solution de tropolone démontrant clairement la nécessité d'effectuer la déconvolution de ces signaux.

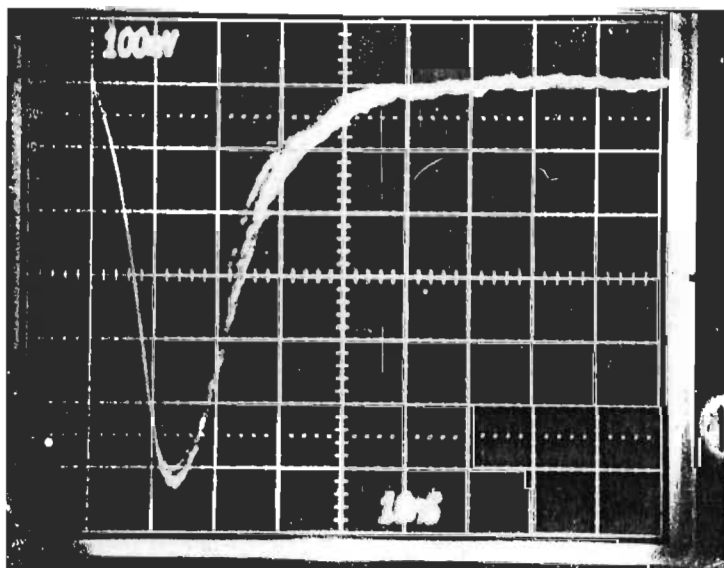
A basse température, pour la colchicine et l' α -méthoxy-tropone, deux composantes exponentielles sont nécessaires pour rendre compte des courbes observées; une seule est suffisante pour la tropolone.

A la température ambiante, seule la tropolone émet suffisamment pour être étudiée. Nous avons procédé à quatre mesures. Deux d'entre elles révélaient l'existence d'une composante de ~ 30 nsec., de très faible intensité ($\sim 6\%$), en plus de celle d'environ 2-3 nsec. Ces résultats ont été attribués à la luminescence de certains filtres, bien que la possibilité de présence d'impureté n'ait pas été complètement rejetée. Les deux autres mesures, faites l'une dans notre solvant, l'autre dans un solvant très pur*, ont mené à la même valeur du temps de vie, soit 0.6 nsec.; nous avons adopté cette valeur.

* Les hexanes, solvant préparé au laboratoire du professeur Ware.

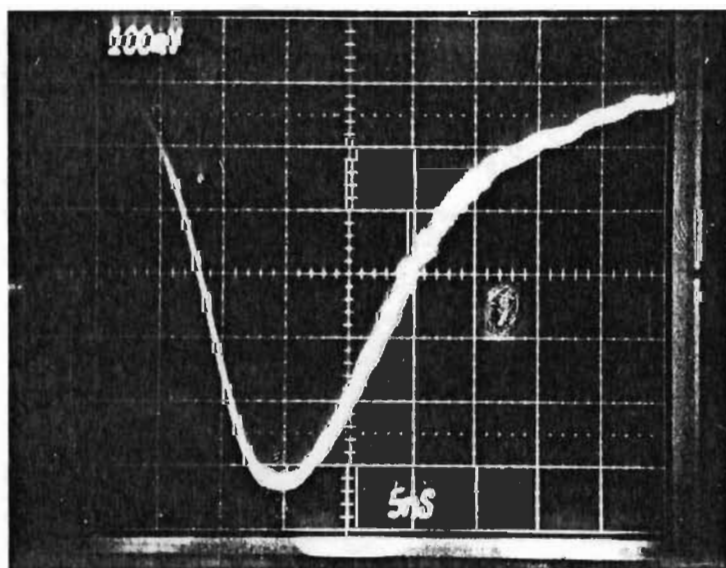


a) Eclair d'excitation, $\lambda = 337 \text{ nm}$.

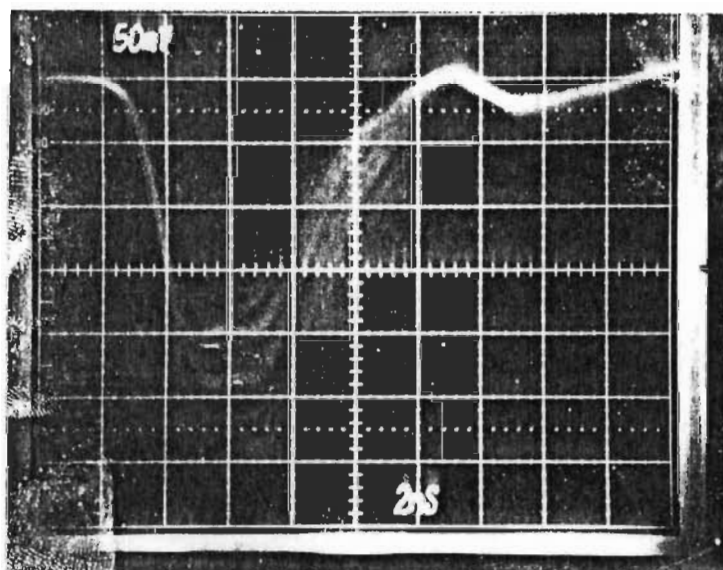


b) Colchicine dans EtOH/MeOH (9:1) à $\lambda = 420 \text{ nm}$.

Figure 29. Courbes de décroissance des luminescences à 77° K . (traces d'oscilloscope).

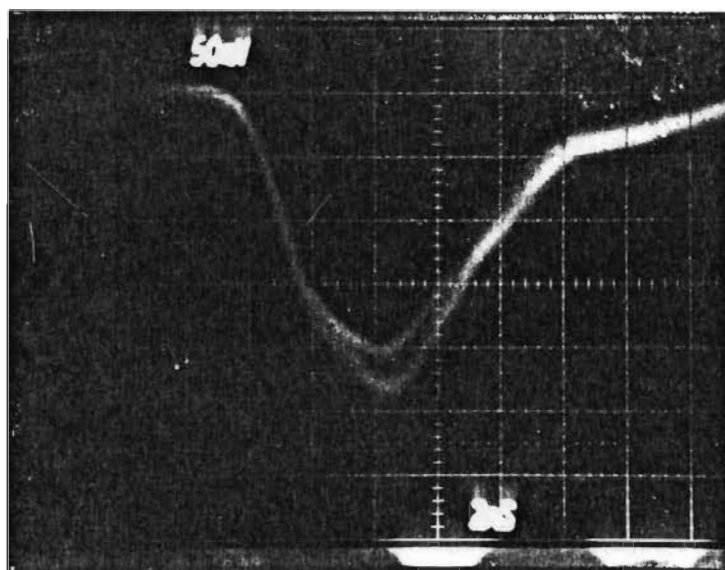


c) idem

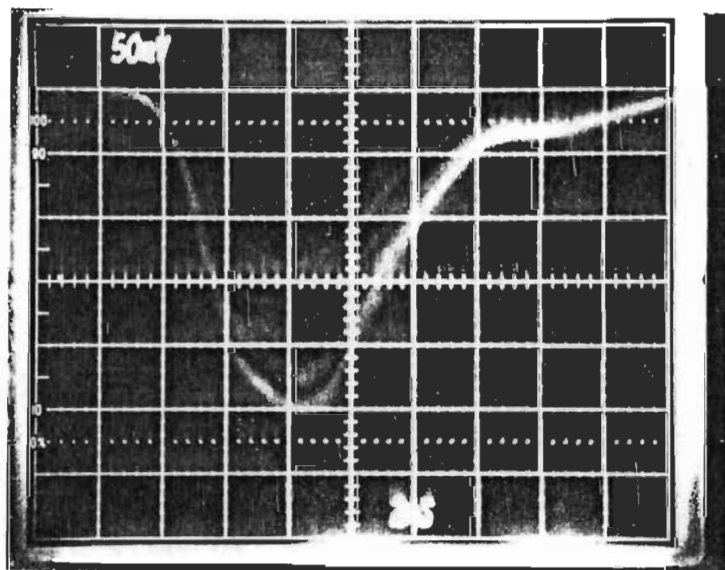


d) Eclair d'excitation, $\lambda = 337 \text{ nm}$.

Figure 29. Courbes de décroissance des luminescences à 77° K .
(traces d'oscilloscope). (suite)



e) Tropolone dans l'E.P.A.
à $\lambda = 400$ nm.



f) Colchicine dans l'E.P.A.
à $\lambda = 420$ nm.

Figure 29. Courbes de décroissance des luminescences à 77° K.
(traces d'oscilloscope). (suite)

Figure 30. Courbes types de l'éclair d'excitation et de la luminescence des échantillons.

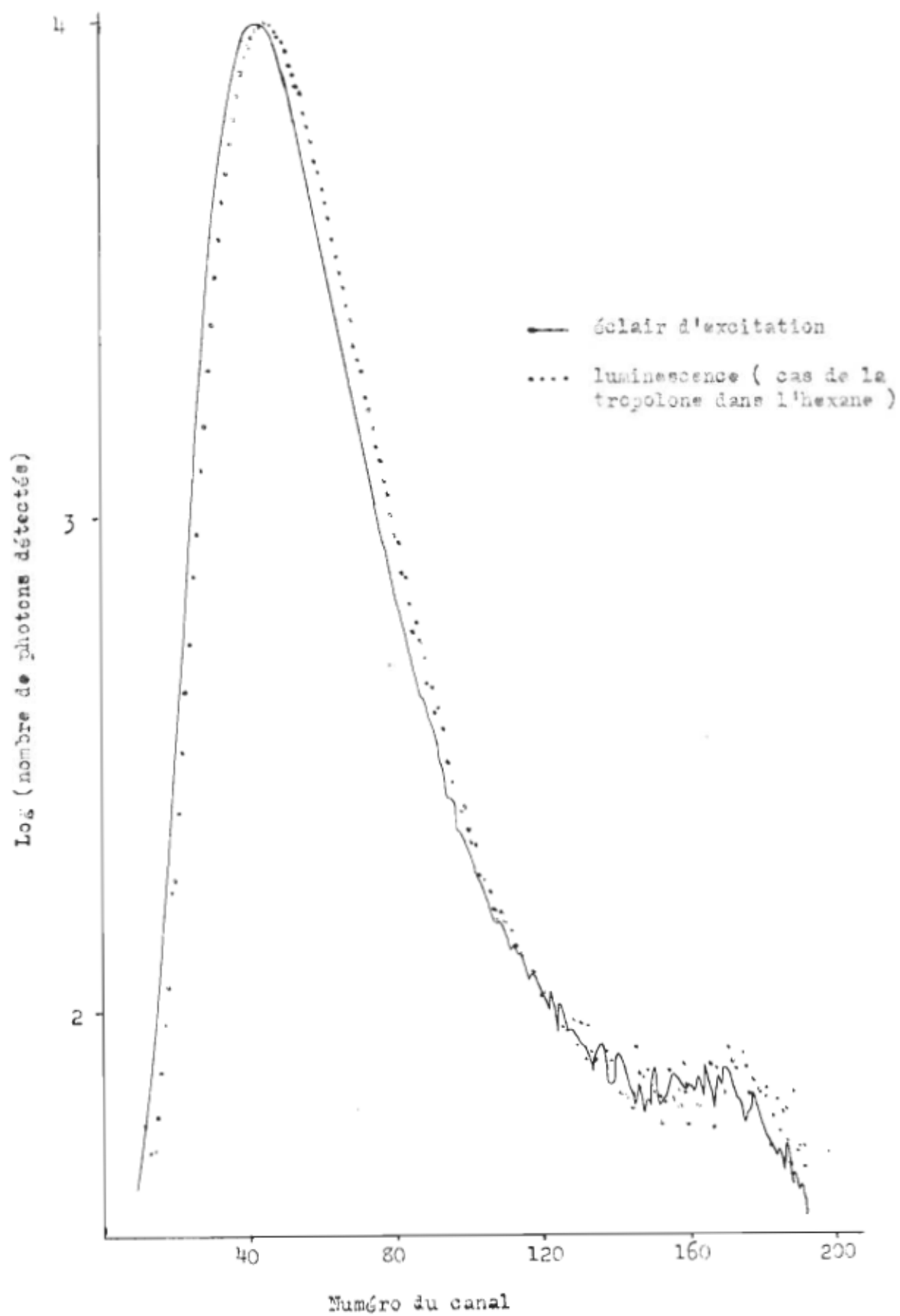


Figure 31. Courbe de décroissance de la luminescence de la tropolone dans le n-hexane.

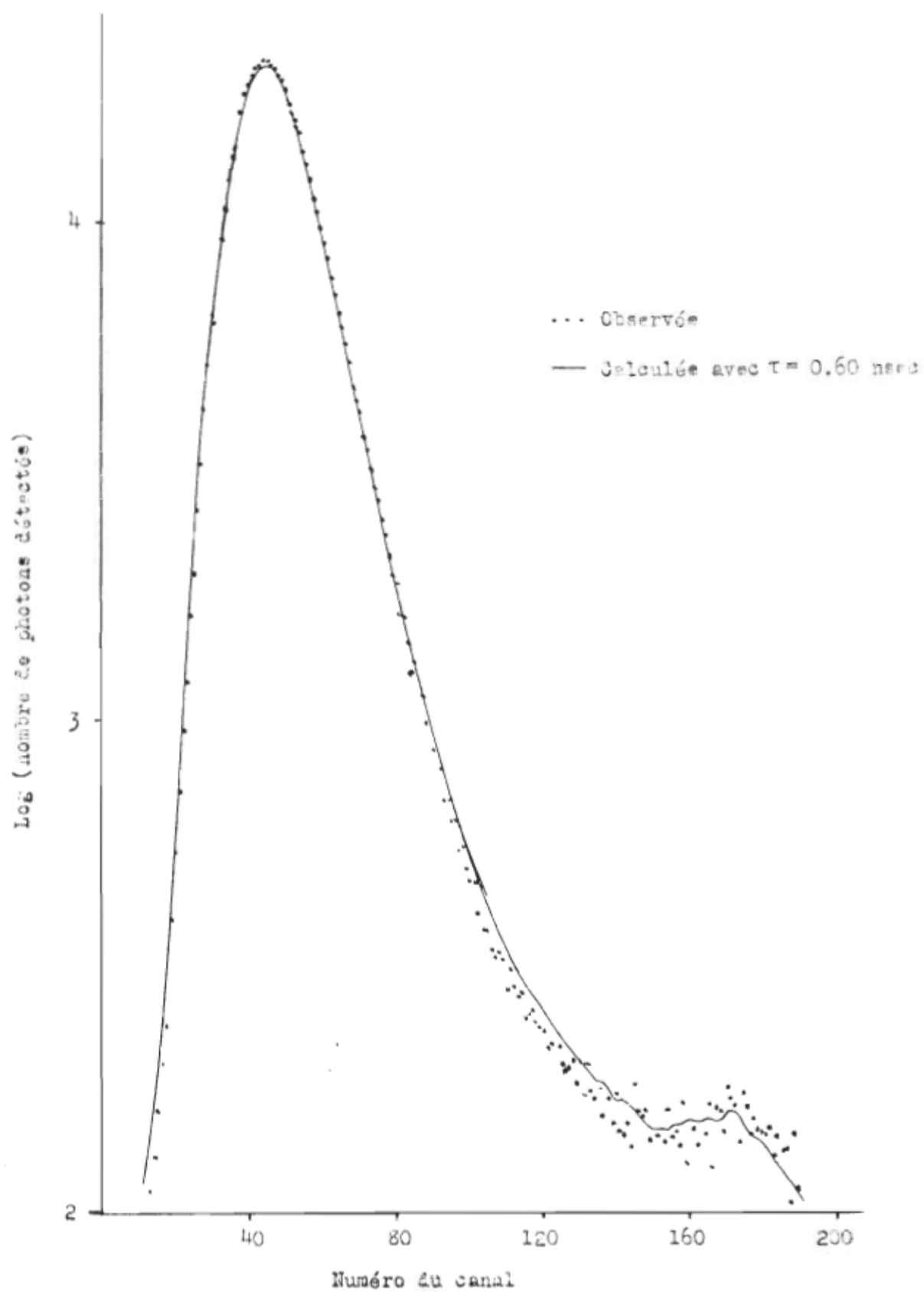


Figure 32. Courbe de décroissance de la luminescence de la tropolone dans l'E.P.A. à 77°K.

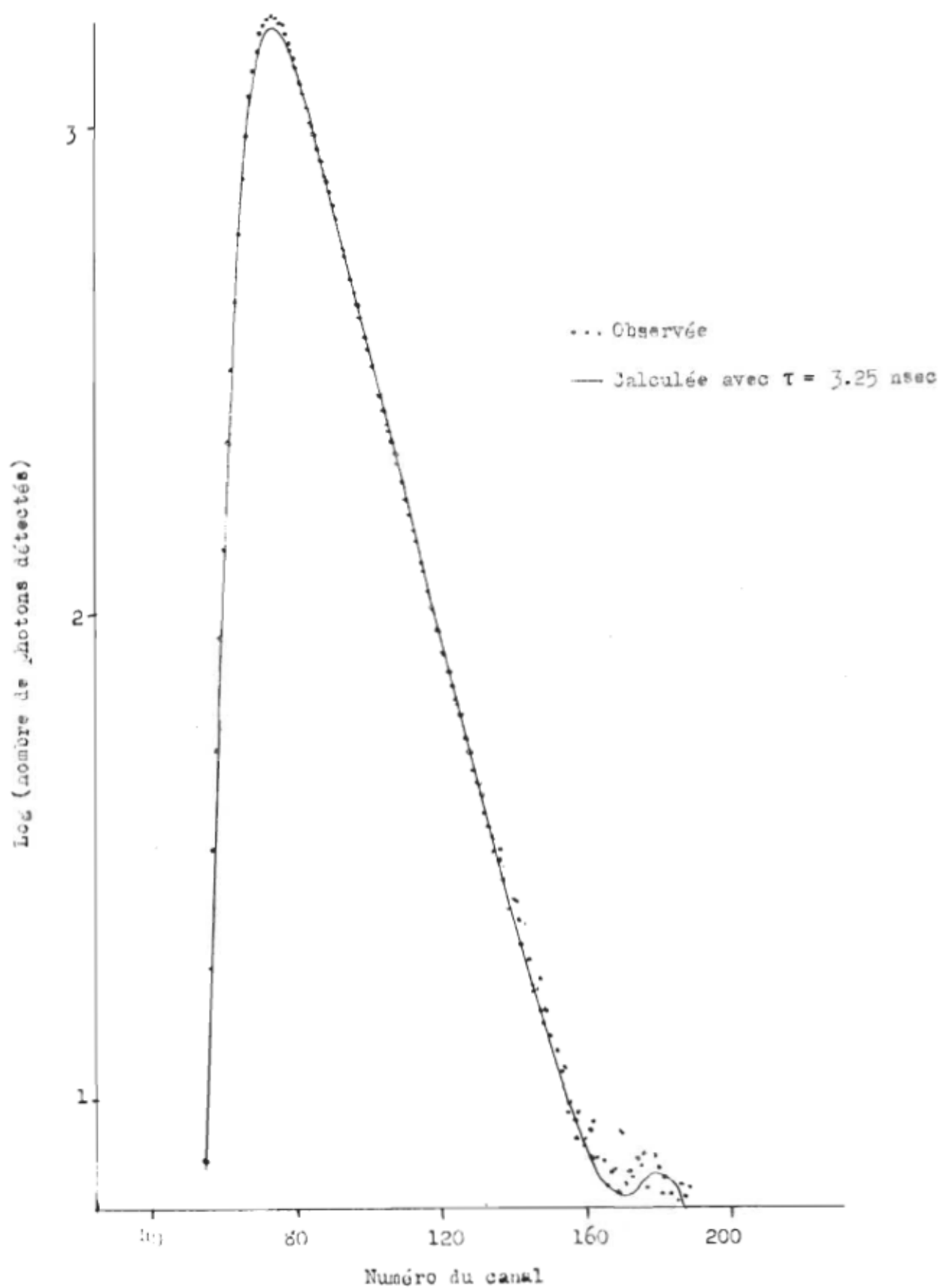


Figure 33. Courbe de décroissance de la luminescence de l' α -méthoxy-tropone dans l'E.P.A. à 77° K.

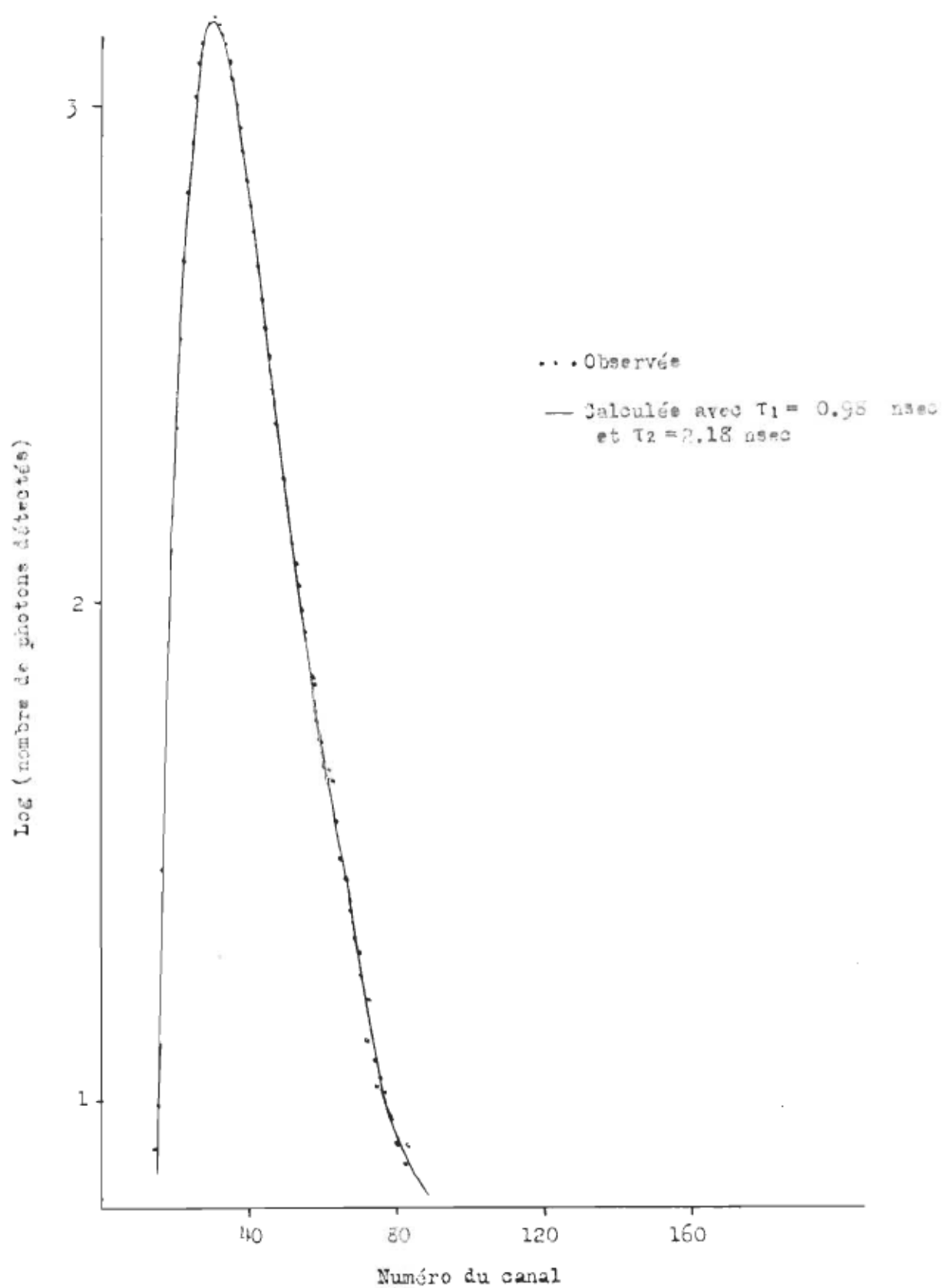


Figure 34. Courbe de décroissance de la luminescence de la colchicine dans l'E.P.A. à 77°K.

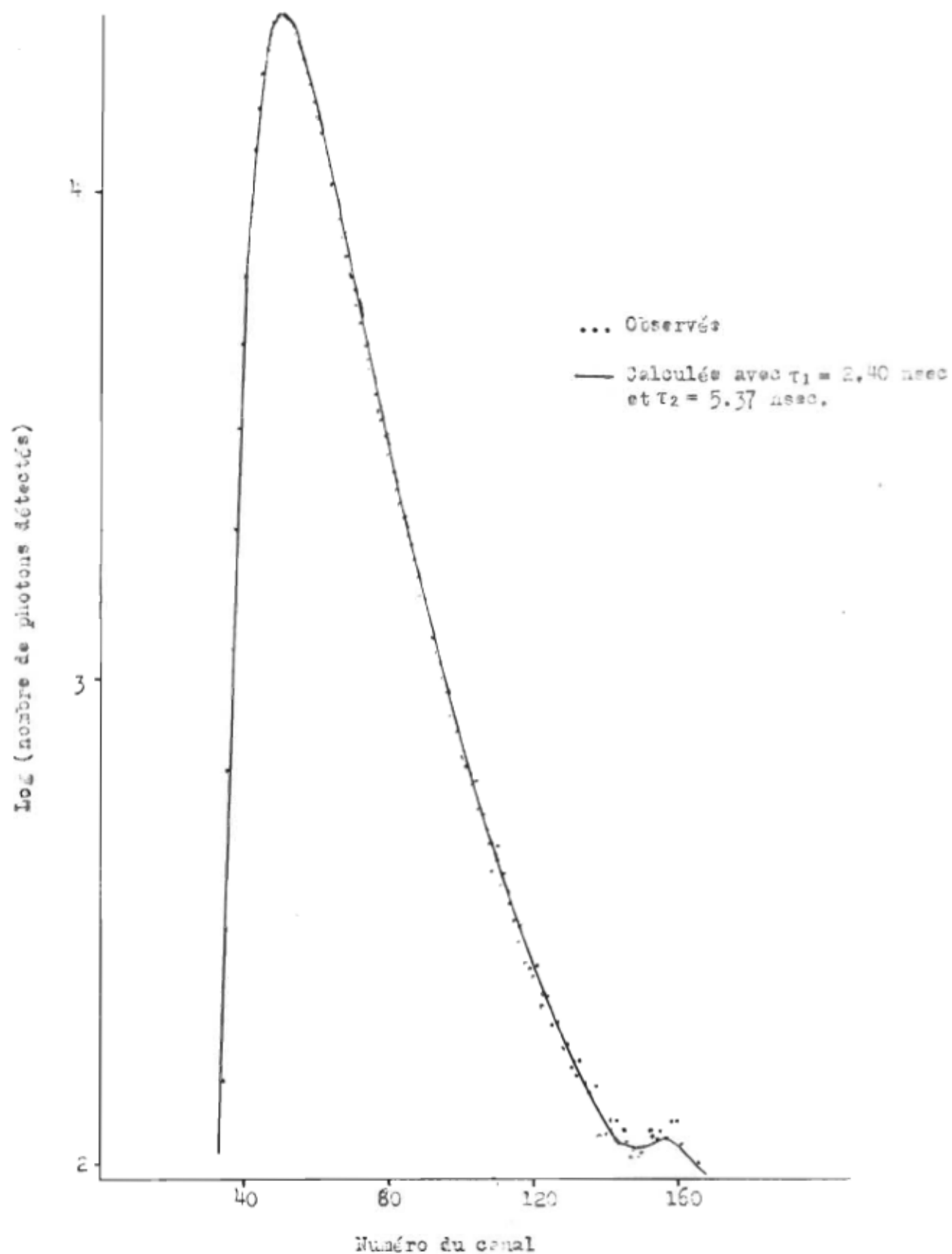


Tableau 8. Temps de vie des luminescences.

Produit	Conditions	λ (nm)	τ_1 (α_1^*) (nsec)	τ_2 (α_2) (nsec)
Colchicine	8×10^{-6} M 77°K; E.P.A.	440	2.40 (.35)	5.37 (.031)
Tropolone	1×10^{-5} M 77°K; E.P.A.	400	3.25	—
α -méthoxy-tropone	1×10^{-5} M 77°K; E.P.A.	410	.98 (.048)	2.18 (.012)
Tropolone	7×10^{-5} M 298°K; hexane	420	0.6	—

* α_i : coefficient d'intensité dans la fonction $\alpha_1 e^{-t/\tau_1} + \alpha_2 e^{-t/\tau_2}$ reproduisant la courbe expérimentale.

c) Rendements quantiques d'émission (à 77°K).

Les rendements quantiques d'émission (à 77°K) ont été mesurés par comparaison avec la benzophénone. Les densités optiques des solutions ont été mesurées à la température de la pièce et ajustées pour être à peu près égales pour des longueurs d'onde de 338-340 nm. Les valeurs trouvées en adoptant 0.74 comme rendement de la benzophénone (11) sont données au tableau 9.

Les valeurs ont été obtenues ainsi:

- les surfaces des spectres d'émission, A, enregistrés avec l'appareil Perkin-Elmer sont mesurées, à l'aide d'un planimètre.
- on transpose un spectre sur une échelle de fréquence ($\bar{\nu}$) et on mesure la surface. Ceci donne un facteur de transformation $\lambda \leftrightarrow \bar{\nu}$, $F_{\bar{\nu}}$, pour chaque molécule.
- on corrige ce spectre pour obtenir le spectre réel; ceci donne un dernier facteur de correction de la surface, F_c , pour chaque molécule.

Les rendements quantiques, ϕ , s'obtiennent alors à partir des aires des spectres enregistrés et des densités optiques lues en solution, par l'expression:

$$\frac{A_i \cdot (F_{\bar{\nu}})_i \cdot F_{c_i}}{A_s \cdot (F_{\bar{\nu}})_s \cdot F_{c_s}} = \frac{(D.O.)_i \cdot \phi_i}{(D.O.)_s \cdot \phi_s}$$

où i réfère à la molécule étudiée, et s, à la benzophénone.

La courbe de correction des spectres, $S_{\bar{\nu}}$, employée pour obtenir les spectres réels est décrite sur la figure 35. Elle a été obtenue à partir de l'équation:

$$S_{\bar{\nu}} = \frac{R_{\bar{\nu}}}{(dQ/d\bar{\nu})_S}$$

$$= \frac{R_{\lambda}}{(dQ/d\lambda)_S \lambda^2}$$

où - R est la réponse du photomultiplicateur à une source S

- $(dQ/d\bar{\nu})_S$ et $(dQ/d\lambda)_S$ sont les spectres corrigés, réels, de la source S .

La "source" employée est la fluorescence de solutions de sulfate de quinine et d'anthracène, dont les spectres corrigés ont été puisés dans la notice technique #61 de la compagnie Perkin-Elmer, où ils sont présentés après correction par un instrument conçu à cette fin (12). Le spectre de la benzophénone, corrigé à l'aide de la courbe $S_{\bar{\nu}}$, a été comparé avec quelques spectres de référence (13-14) et l'accord est bon. La région $25-27 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$ de la courbe est un peu moins précise que le reste. Le spectre de la tropolone est le plus affecté par cette incertitude. On trouve les spectres corrigés aux figures 36-41.

Pour vérifier que la méthode décrite plus haut donne des résultats valables, nous avons mesuré les rendements quantiques de l'acétophénone et du chrysène. Les résultats, inclus au tableau 9, semblent satisfaisants.

La marge d'erreur sur les rendements est d'environ $\pm 25\%$.

Tableau 9. Rendements quantiques de luminescence, ϕ , à 77° K.

Composé	ϕ expérimental	ϕ de référence
Benzophénone	—	0.74 [11]
Acétophénone	0.45	0.56 [15]
Chrysène	0.21	0.17 [16]; 0.23 [17]
Colchicine	0.25	—
Tropolone	0.18	—
α -méthoxy-tropone	0.043	—

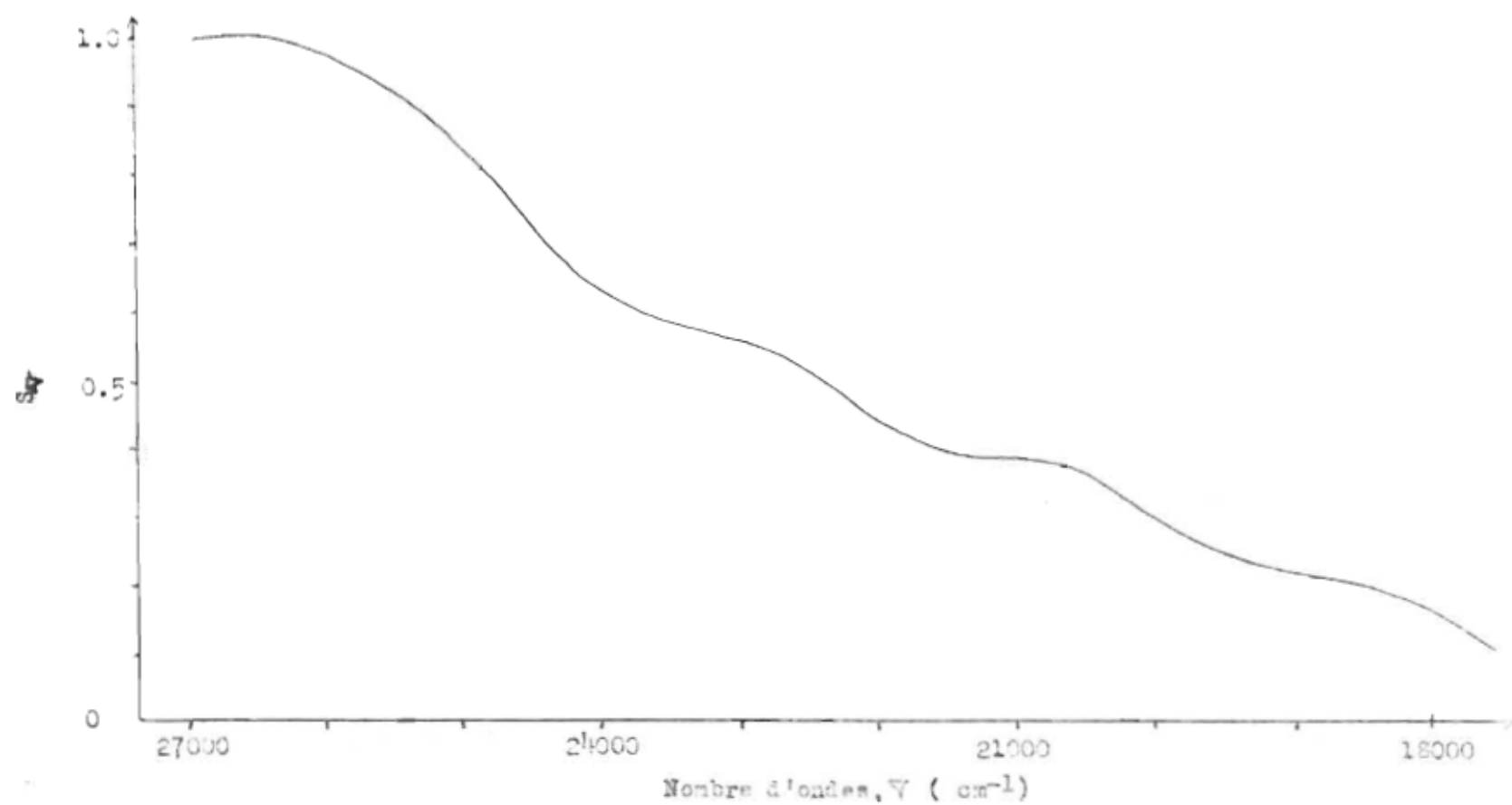


Figure 35. Courbe de correction des spectres pour la sensibilité de l'ensemble détecteur-monochromateur. 2

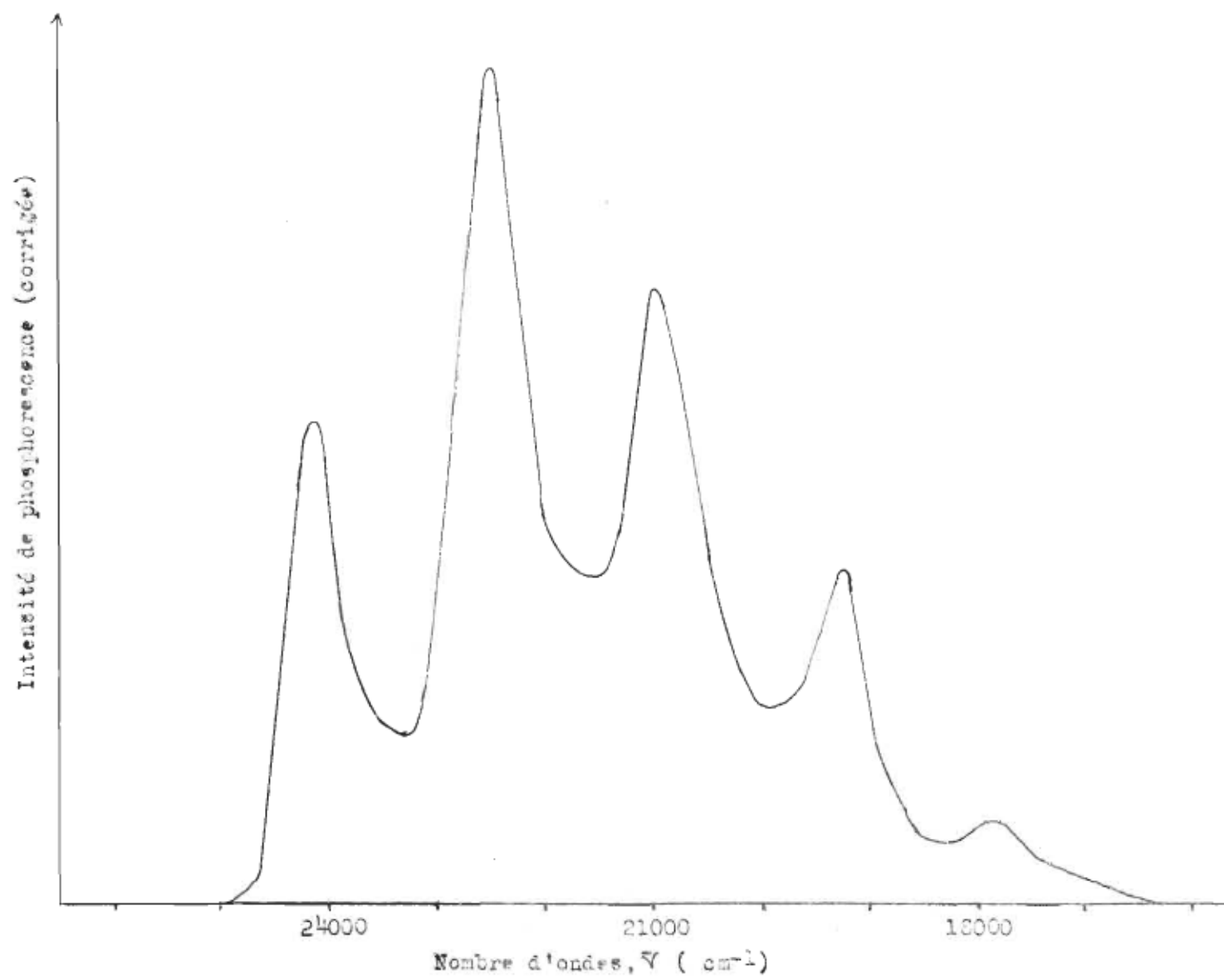


Figure 36. Spectre de phosphorescence corrigé pour la benzophénone, dans l'E.F.A. à 77° K.

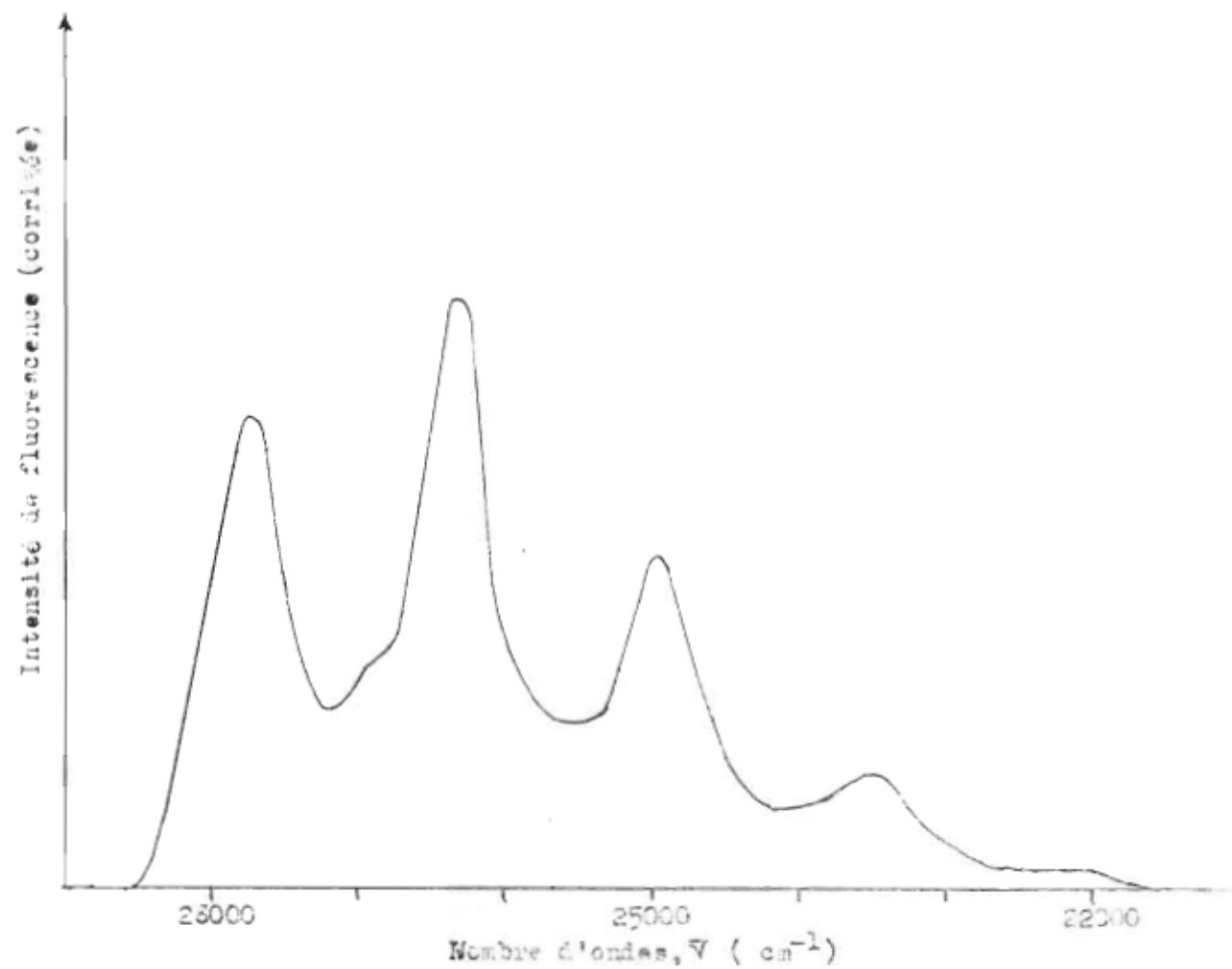


Figure 37. Spectre de fluorescence corrigé pour le chrysène, dans l'E.P.A. à 77° K.

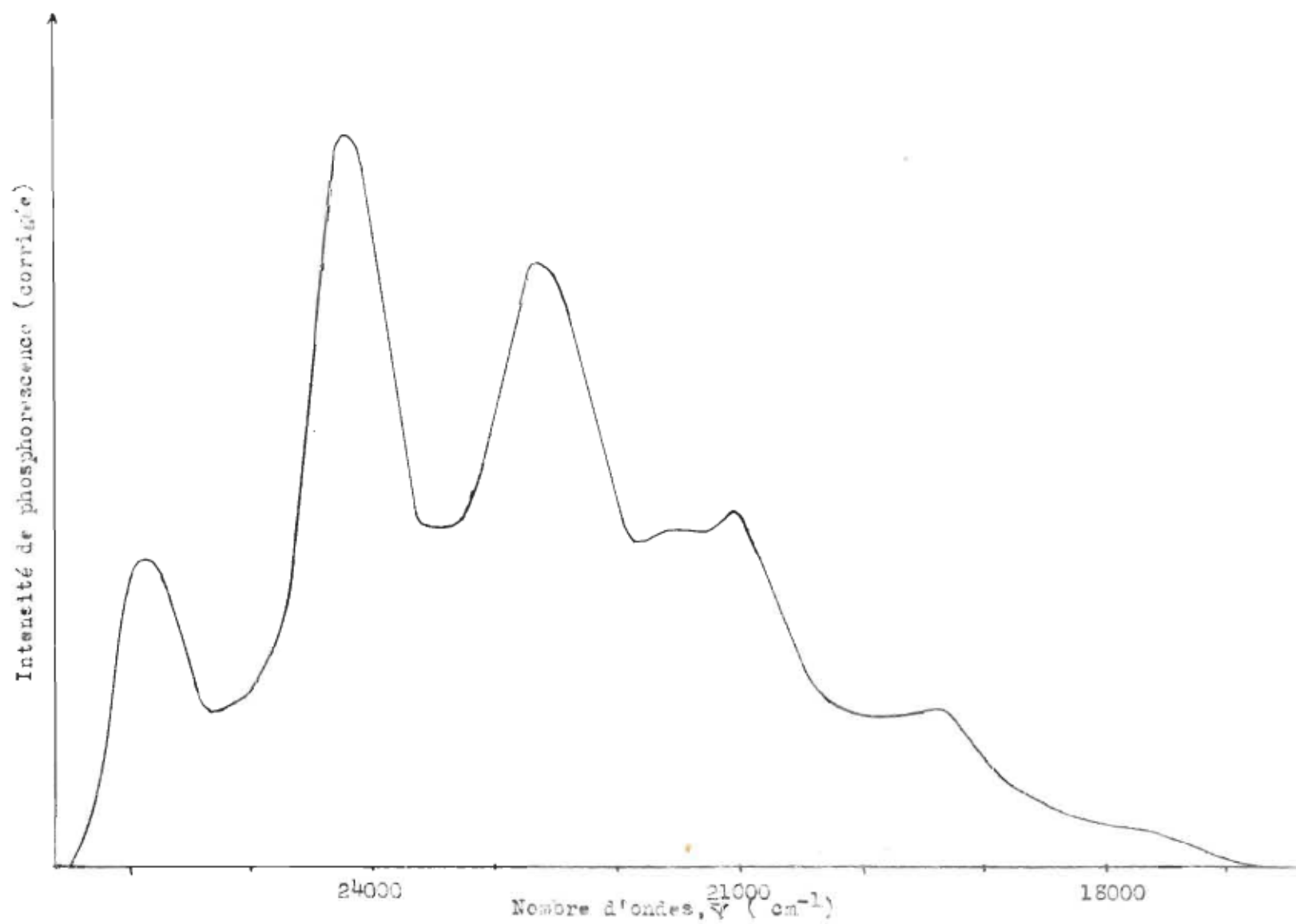


Figure 38. Spectre de phosphorescence corrigé pour l'acétophénone, dans l'E.P.A. à 77° K.

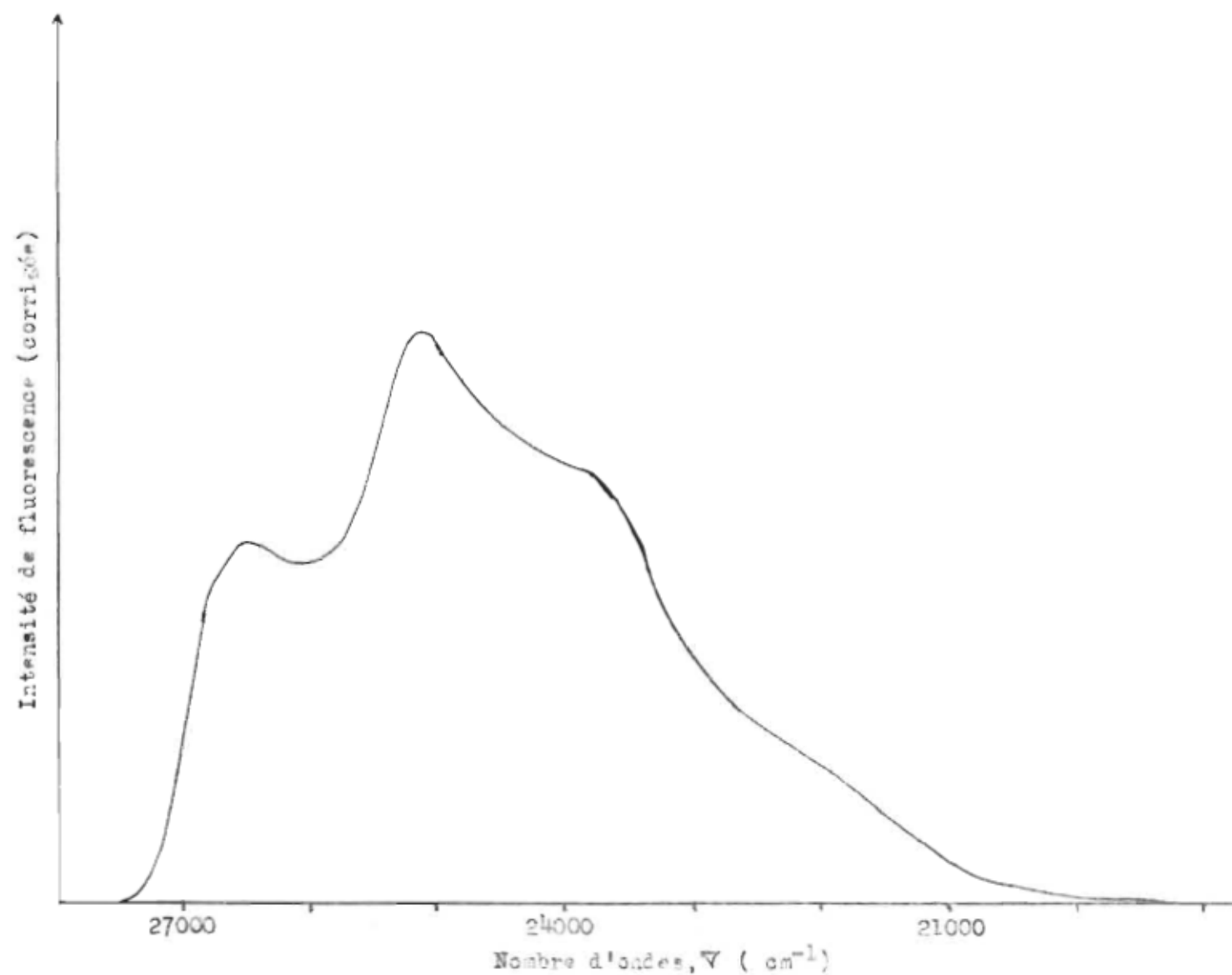


Figure 39. Spectre de fluorescence corrigé pour la tropolone, dans l'E.P.A. à 77° K.

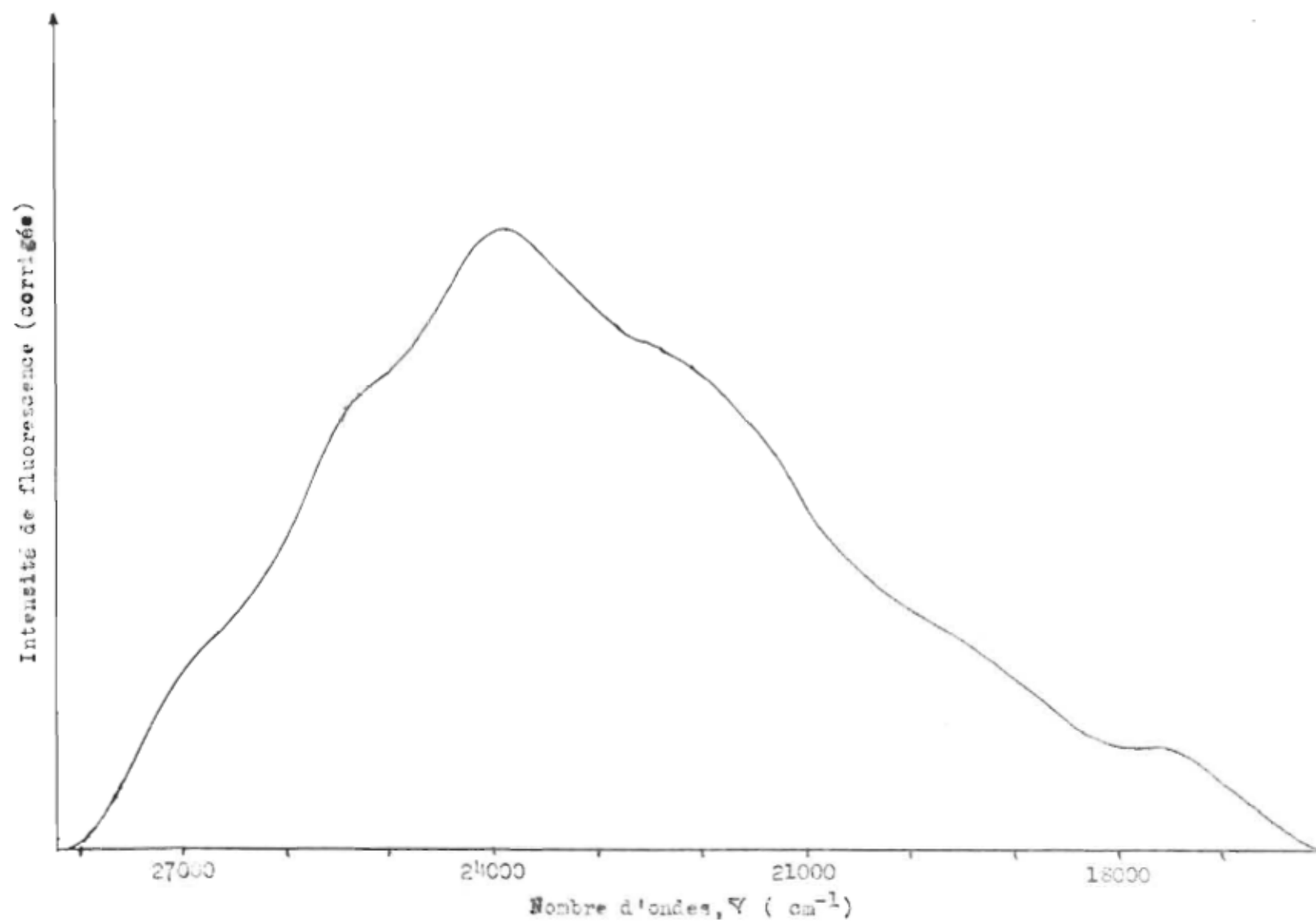


Figure 40. Spectre de fluorescence corrigé pour l' α -méthoxy-tropone, dans l'E.P.A. à 77° K.

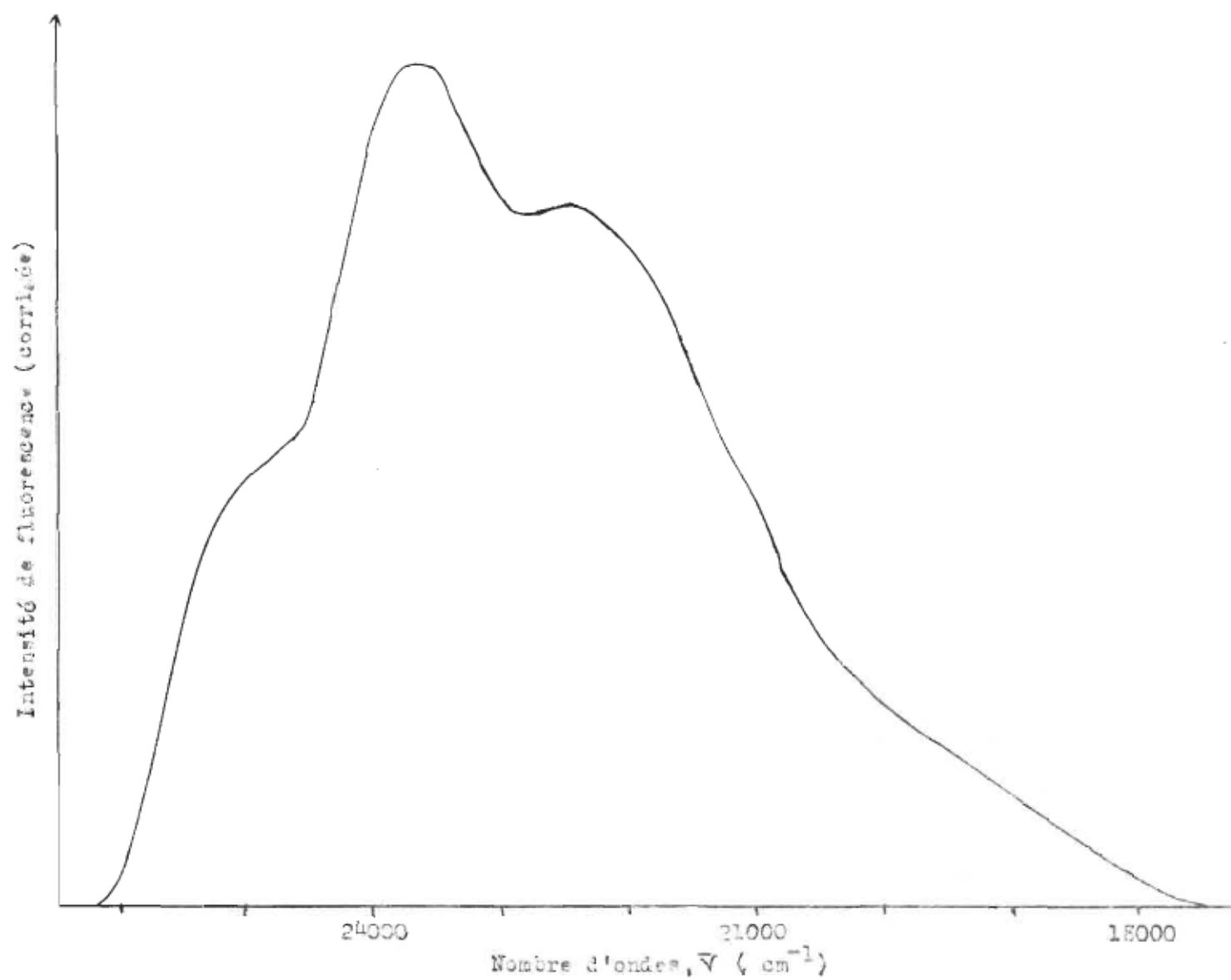


Figure 41. Spectre de fluorescence corrigé pour la colchicine, dans l'E.P.A. à 77° K.

d) Effet des solvants

Les spectres d'émission observés dans l'éthanol et le 2-méthyle-tetrahydrofurane font l'objet des figures 42-48. Pour la tropolone on a aussi employé le 3-méthyle-pentane (fig. 44).

Les positions des émissions sont données au tableau 10. On pourra référer au tableau 7 pour l'E.P.A. La précision est d'environ $\pm 100 \text{ cm}^{-1}$.

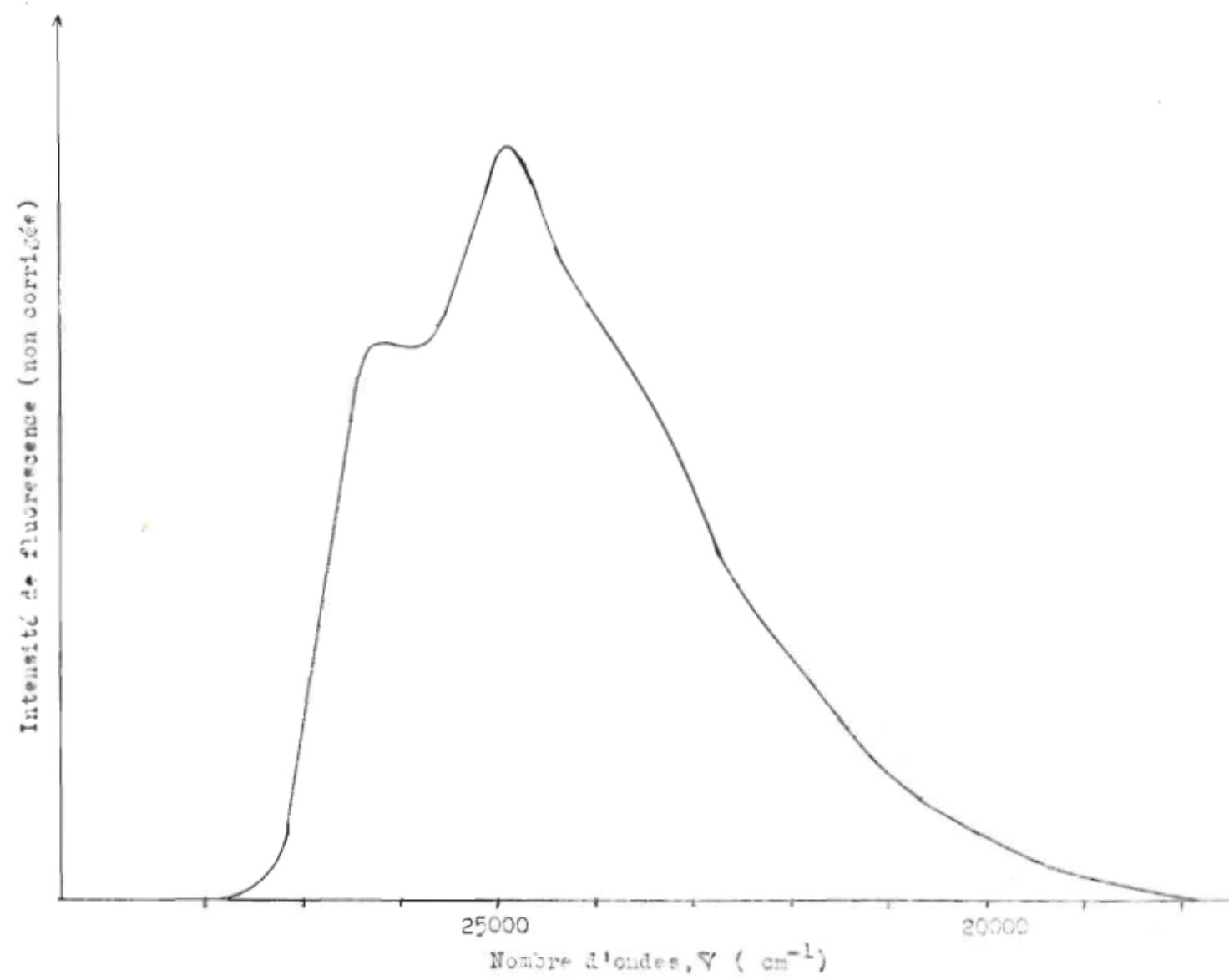


Figure 42. Spectre de fluorescence de la tropolone dans l'éthanol à 77° K.

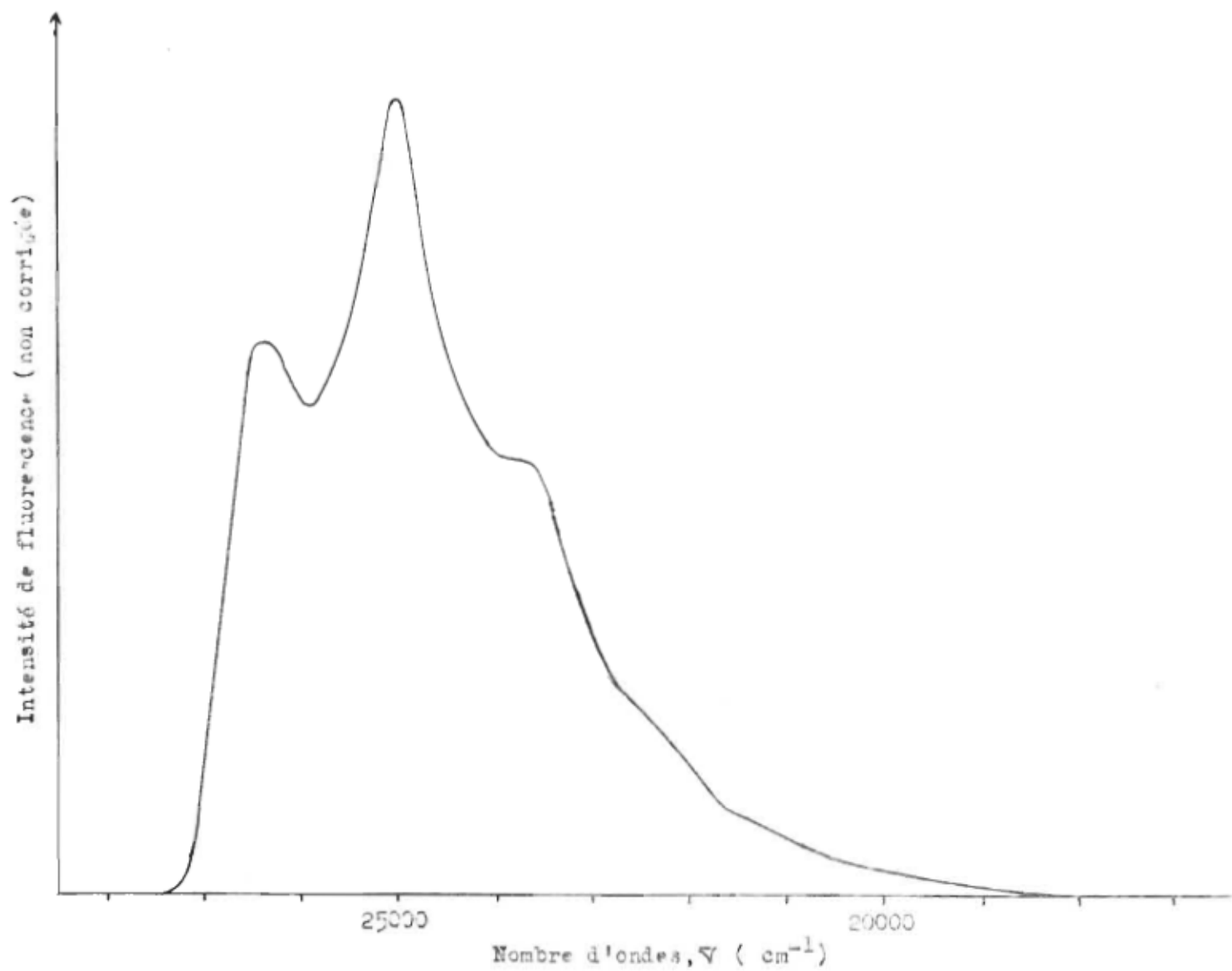


Figure 43. Spectre de fluorescence de la tropolone dans le 2-méthyle-tétrahydrofurane à 77° K.

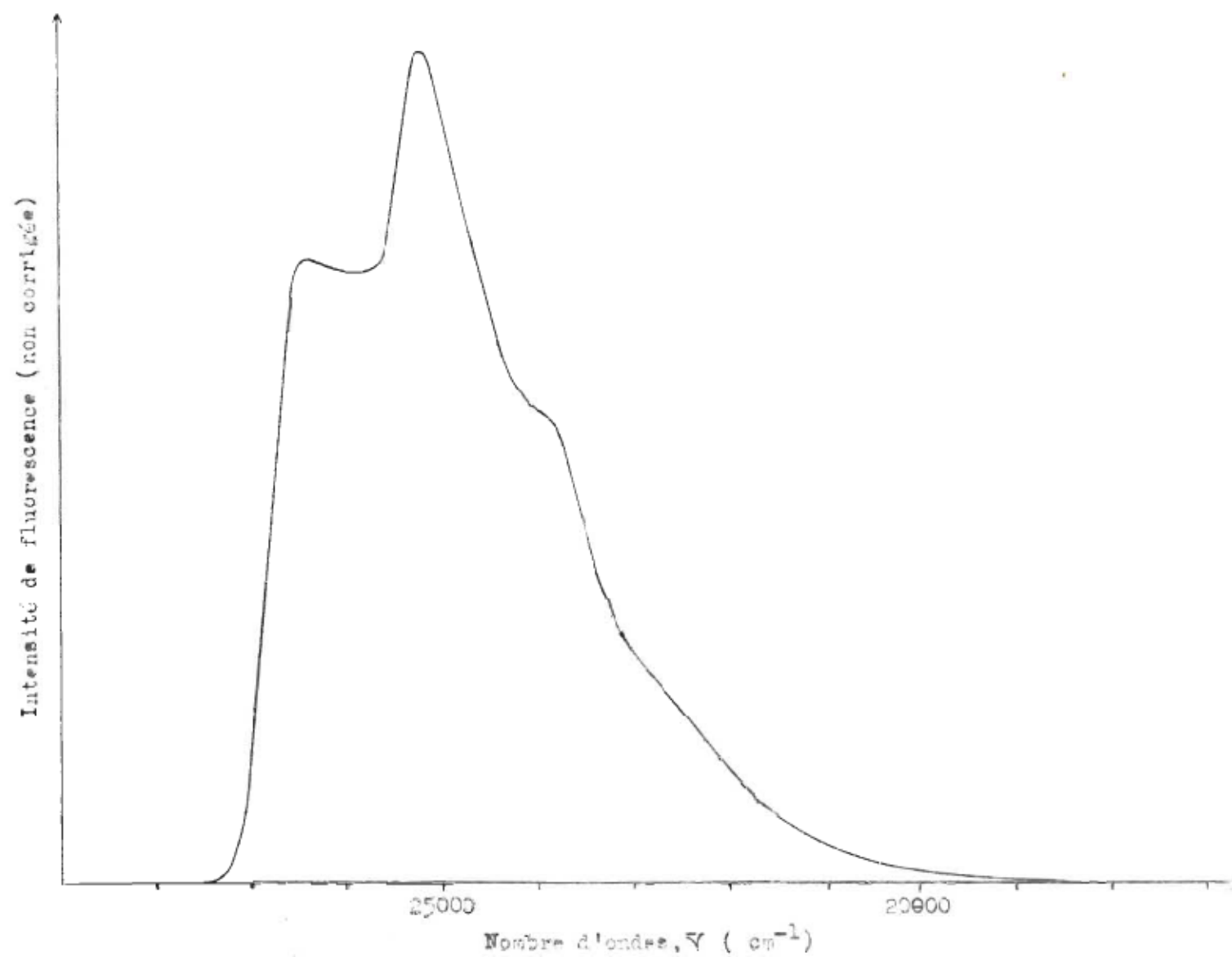


Figure 44. Spectre de fluorescence de la tropolone dans le 3-méthyle-pentane à 77° K.

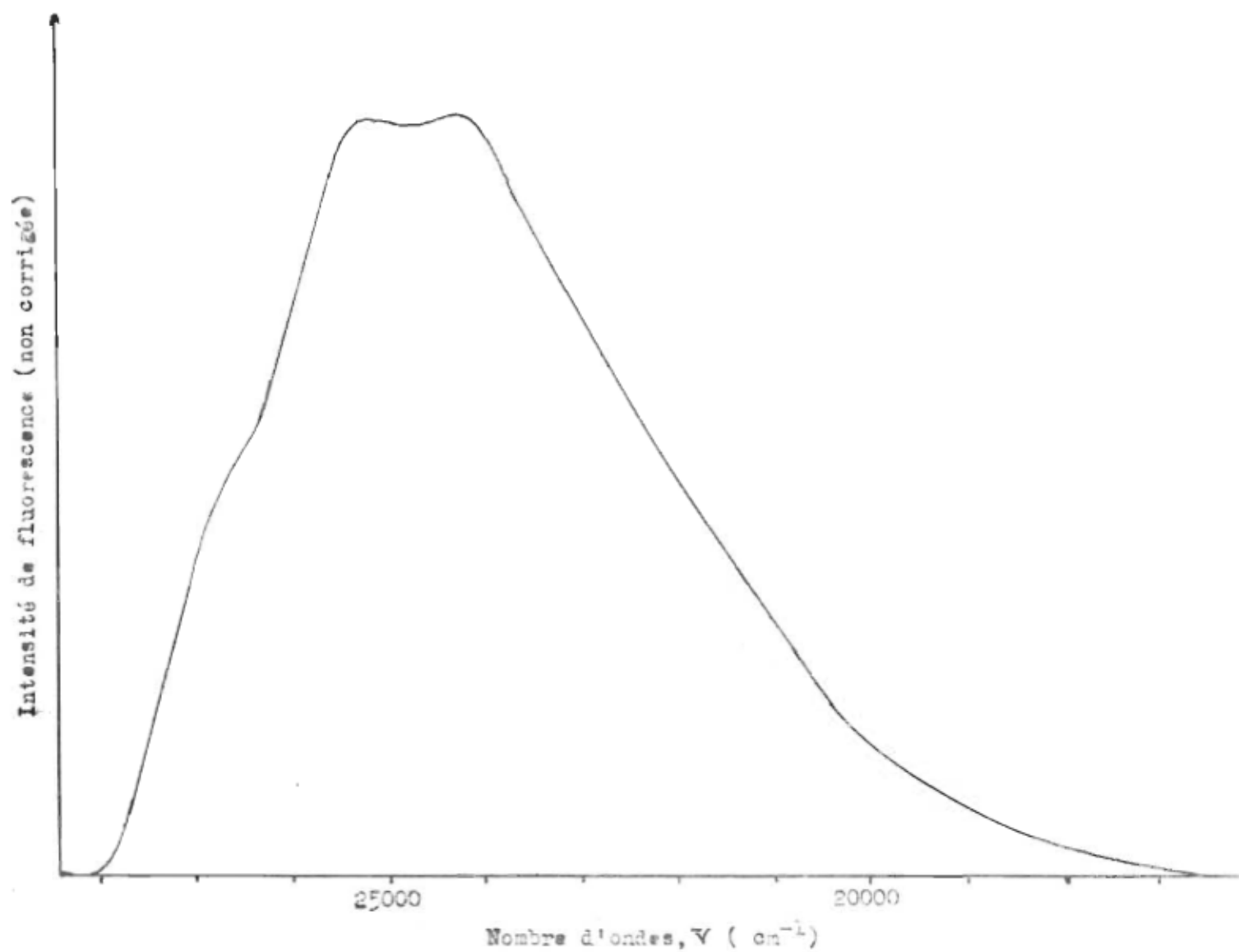


Figure 45. Spectre de fluorescence de l' α -méthoxy-tropone dans l'éthanol à 77°K.

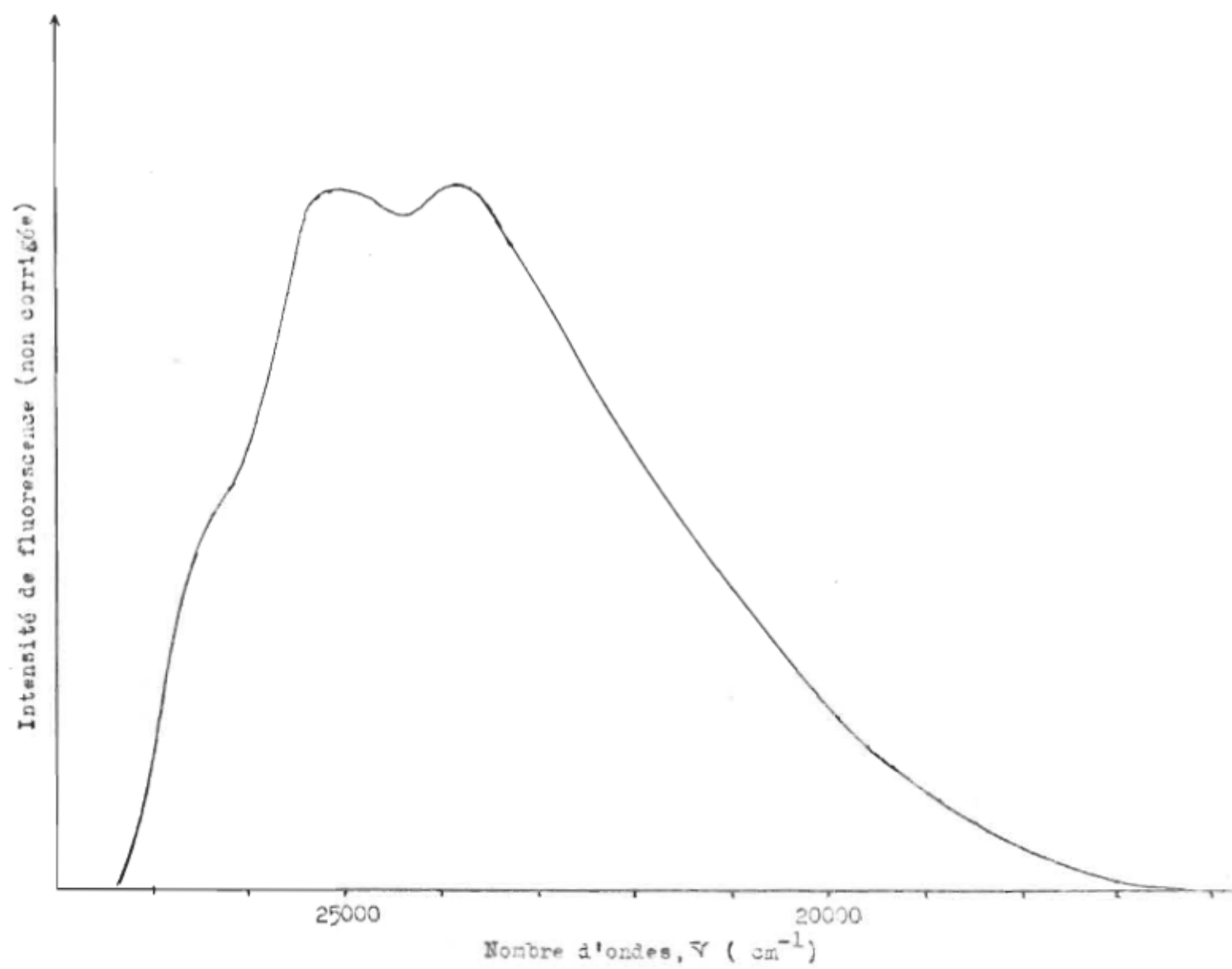


Figure 46. Spectre de fluorescence de l' α -méthoxy-tropone dans le 2-méthyle-tétrahydrofurane à 77° K.

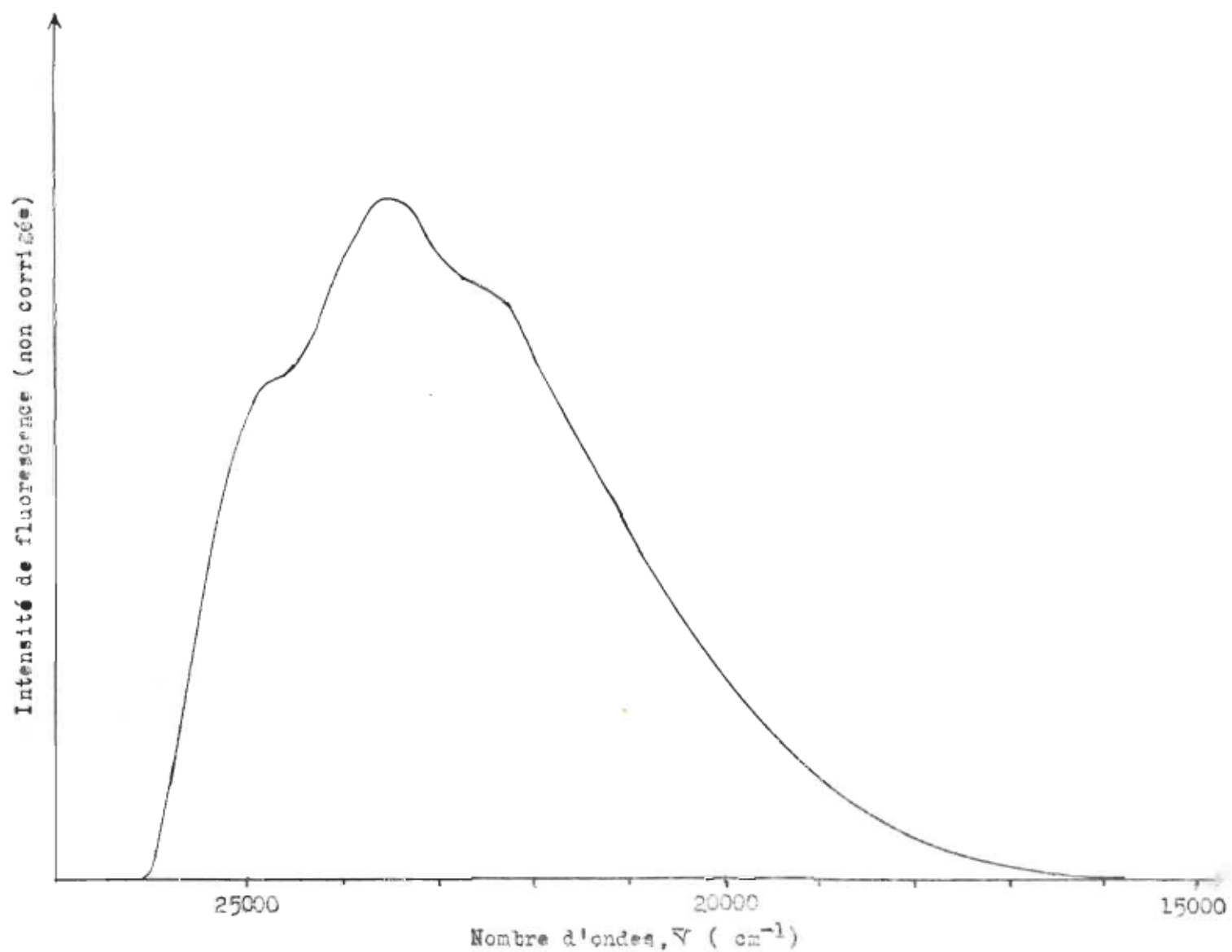


Figure 47. Spectre de fluorescence de la colchicine dans l'éthanol à 77° K.

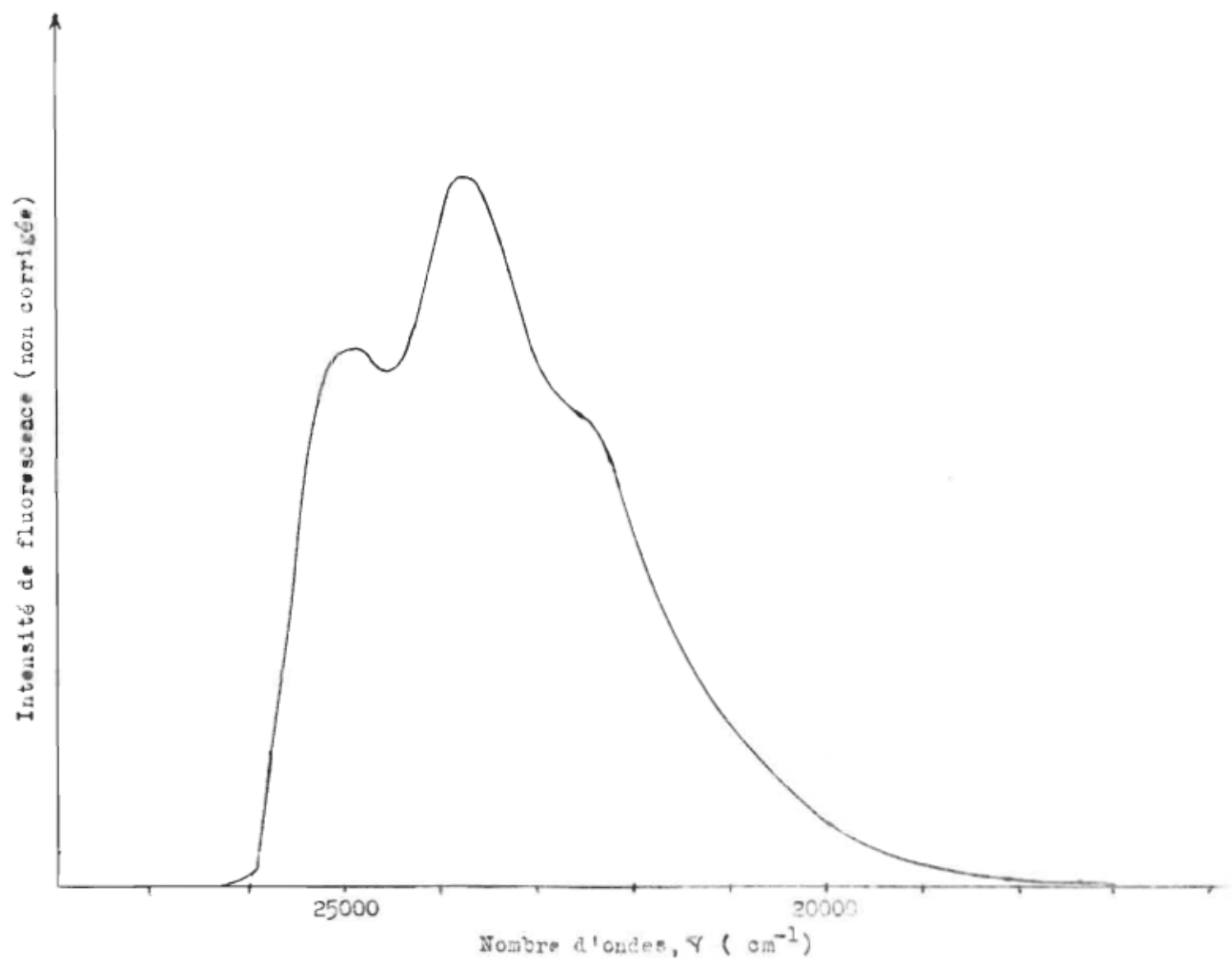


Figure 48. Spectre de fluorescence de la colchicine dans le 2-méthyle-tétrahydrofurane à 77° K.

Tableau 10. Position des bandes d'émission de la colchicine, de la tropolone et de l' α -méthoxy-tropone dans divers solvants à 77°K.

Produit \ Solvant			
	Ethanol	2-méthyle-tétra-hydrofurane	3-méthyle-pentane
Colchicine	24.7* (e) 23.5 22.3 (e)	24.9 23.7 22.5 (e)	
Tropolone	26.4 25.2 23.8 (e) ~ 22.5 (e)	26.4 25.0 23.6 ~ 22.3 (e)	26.2 24.9 ~ 23.5 (e) ~ 22.0 (e)
α -méthoxy-tropone	26.7 (e) 25.2 24.2	~ 26.5 (e) 25.1 23.8	

* $\bar{\nu} \times 10^{-3}$, en cm^{-1} ; non corrigé

(e) : épaulement

4. Situation des états triplets

Comme les molécules étudiées ne semblent pas émettre de phosphorescence à 77°K, nous avons tenté de situer (énergétiquement) leur état triplet le plus bas, T_1 , par des expériences de transfert d'énergie entre triplets (mécanisme d'échange). (41).

Ces expériences consistent à vérifier si la phosphorescence de certains donneurs est affaiblie par un accepteur (ici, nos molécules). Une extinction de la phosphorescence implique (en l'absence d'interaction dans les états fondamentaux) que l'état triplet de l'accepteur possède une énergie comparable ou inférieure à celle de l'état triplet du donneur. On peut ainsi cerner peu à peu l'état triplet de l'accepteur en prenant divers donneurs.

Les résultats obtenus pour nos composés sont présentés au tableau 11. Les mesures ont été faites dans des verres d'éthanol ou d'E.P.A. (à 77°K), et un exemple de spectres est illustré à la figure 49. Dans ces expériences, l'accepteur a été porté à une concentration typique de 0.1 M. Les valeurs des énergies des donneurs proviennent des références (18) et (19). Pour les accepteurs, on trouve alors que les états triplets ont une énergie commune d'environ 48-49 kcal/ mole.

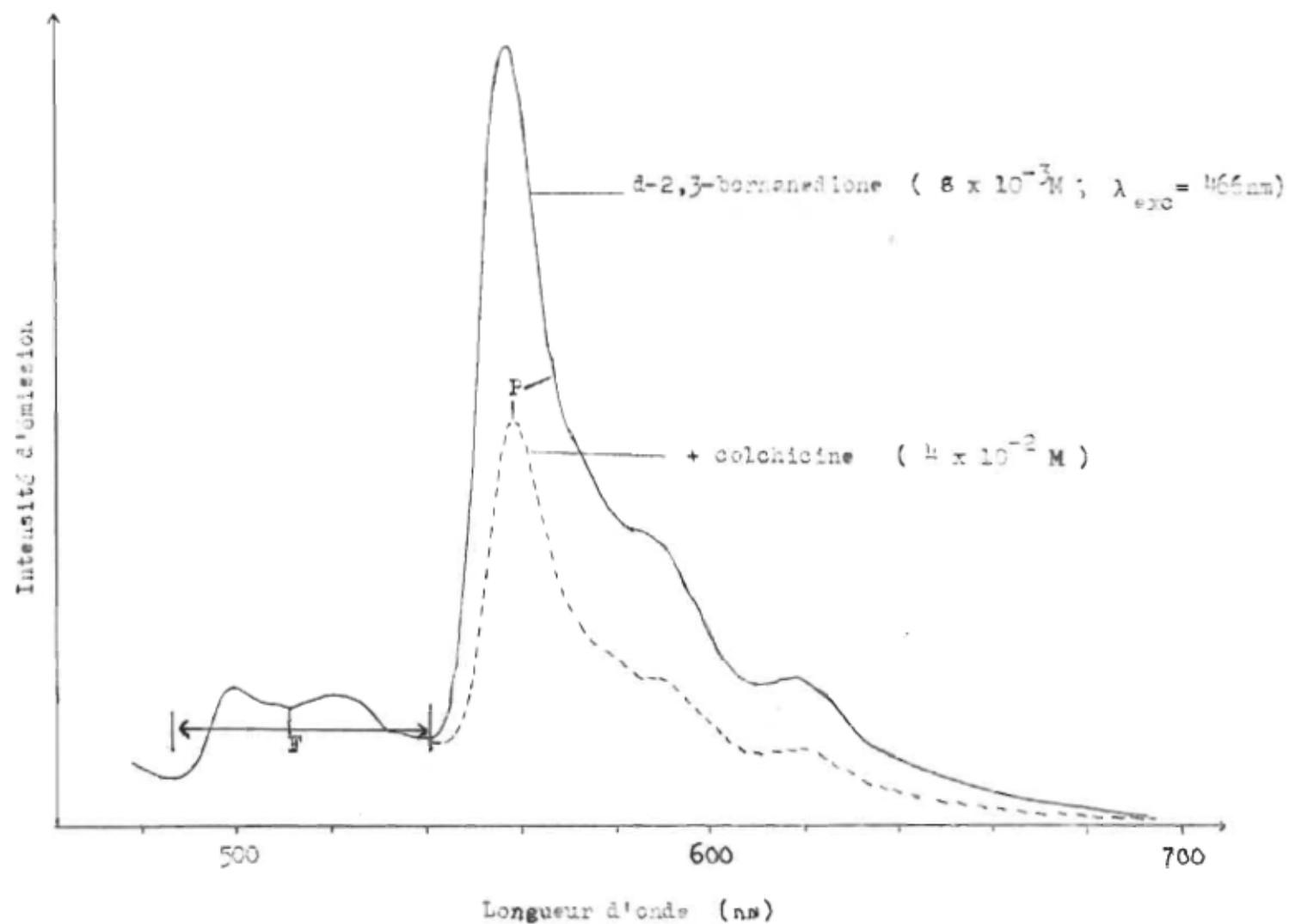


Figure 49. Effet de la colchicine sur la luminescence du d-2,3-bornanediol dans l'éthanol à 77°K.
F : fluorescence ; P : phosphorescence .

Tableau 11. Extinction de diverses phosphorescences par la colchicine, la tropolone et l' α -méthoxy-tropone, à 77°K.

Accepteur Donneur	Colchicine	Tropolone	α -méthoxy-tropone
d-2,3-bornanedione ($E_T^* = 51$)	positif**	positif	positif
Riboflavine ($E_T = 50$)	positif	positif	—
Fluorescéine (dianion) ($E_T = 47$)	positif(?)	—	négatif
Eosine Y ($E_T = 45$)	négatif	négatif	—
E_T déduit	$\sim 48-49$	$\sim 47-49$	~ 49

* En kilocalories / mole

** Positif: extinction est observée; négatif: pas d'extinction.
 —: pas mesuré.

B) Spectres électroniques de solutions de colchicine et de tryptophane

1. Spectres d'absorption

Nous avons tenté quelques mesures de spectres de différence pour la colchicine en présence de tryptophane, et nous n'avons rien décelé.

2. Spectres d'émission

Par fluorométrie, nous avons observé que le spectre d'émission du tryptophane est modifié par l'addition de colchicine dans la solution. La figure 50 illustre ce phénomène, pour une solution aqueuse de pH 6.8

Ces résultats préliminaires sont discutés à la section "Discussion".

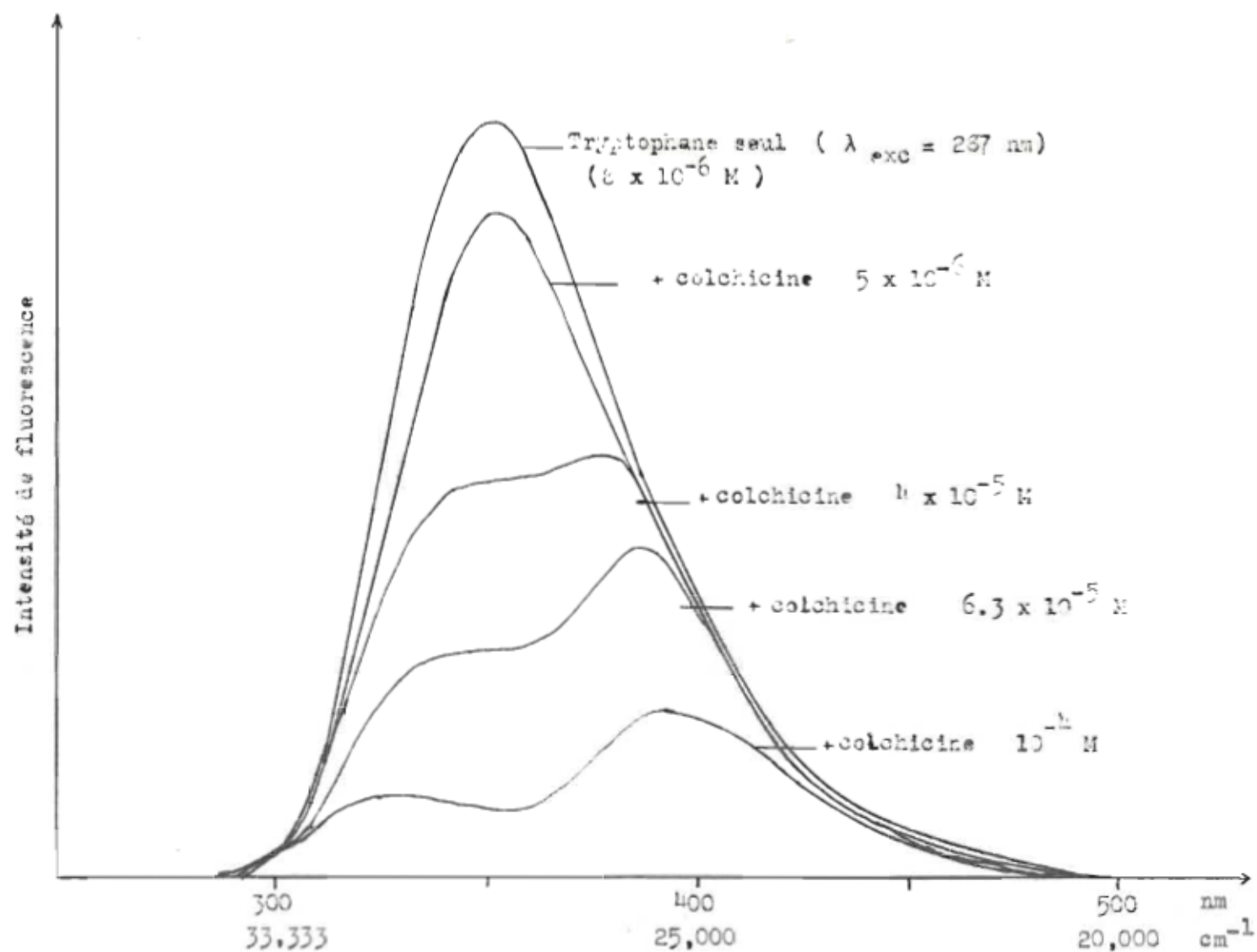


Figure 50. Effet de la colchicine sur la fluorescence du tryptophane (eau, pH 6.8).

IV

DISCUSSION

A. Spectroscopie d'absorption

Nous allons commenter les résultats présentés à la section III, en portant un intérêt particulier à la région $25,000 - 38,000 \text{ cm}^{-1}$ des spectres, c'est-à-dire celle des transitions de faible énergie responsables des processus photophysiques étudiés (règle de Kasha). Nous ferons donc peu de remarques sur la mescaline, qui n'absorbe presque pas dans cette région. Nous discuterons des bandes d'absorption de la tropolone et de son éther méthylique plus en détails. A la lumière de cette discussion, nous ferons quelques remarques au sujet des spectres de la colchicine.

Peu de données existent concernant les spectres du chlorure de mescaline. Nous pouvons utiliser pour références celles se rapportant à la mescaline ou à d'autres de ses sels puisque les spectres ne sont pas modifiés par la nature du groupement terminal de la chaîne aliphatique (cf. p. 20). Ainsi, Farmillo et al. (20) donnent, pour la mescaline dans l'éthanol, des valeurs doubles des nôtres pour les coefficients

d'extinction. Pour le sulfate de mescaline, Salomon et Bina (21) trouvent une valeur identique à la nôtre pour la bande à 270 nm (37000cm^{-1}) dans l'éthanol. Ces valeurs sont très voisines de celles fournies par Zweig et al. (22) pour le triméthoxybenzène dans le cyclohexane. Il semble improbable que la seule addition d'un substituant supplémentaire pour passer à la structure de la mescaline puisse amener ces valeurs des coefficients d'extinction à celles suggérées par Famillo et al. . Nous estimons donc que nos résultats sont adéquats (tableau 4).

La nature des **transitions** dans ce système aromatique ne peut être que $\pi \rightarrow \pi^*$. Il y a probablement une part de migration des électrons des groupes méthoxy vers le cycle.

La tropolone, pour sa part, a fait l'objet d'études expérimentales et théoriques en tant que dérivé de la tropone. Son spectre se compose de deux régions: entre 38,000 et 50,000 cm^{-1} se trouvent deux bandes intenses ($\epsilon_{\text{max}} \sim 23,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) apparaissant souvent fondues en une seule selon le solvant; entre 25,000 et 38,000 cm^{-1} existe aussi une bande large d'intensité moyenne ($\epsilon_{\text{max}} \sim 8,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) et de structure variable selon le solvant. Les résultats de divers chercheurs (6, 23-26) sont en bon accord avec les nôtres pour la position des bandes et leurs coefficients d'extinction (cf. tableau 12).

L'interprétation des transitions de la région 25 - 38,000 cm^{-1} a donné lieu à quelques différences d'opinion. Tsuboi (26), à partir du spectre dans l'hexane, reconnaît l'existence de deux transitions et les attribue au système conjugué du cycle puisque, selon leur coefficient d'extinction élevé et leur déplacement sous l'effet de substitution,

Tableau 12. Données utilisées comme références pour les spectres de nos composés.

	Solvant (réf.)	ν_1 * (ϵ_1)	ν_2 (ϵ_2)	ν_3 (ϵ_3)	ν_4 (ϵ_4)	ν_5 (ϵ_5)	ν_6 (ϵ_6)	ν_7 (ϵ_7)
Tropolone	cyclohexane (25)	26.7 (5.8)	27.8 (6.2)	31.0 (7.2)	45.5 (23.6)			
	cyclohexane (6)	26.8 (5.5)	28.1 (5.4)	29.4 (4.4)	31.1 (6.9)	42.0 (21.9)	43.2 (22.9)	45.0 (23.4)
	n-heptane (24)	26.9 (5)	28.0 (5.2)	31.1 (6.0)	44.5 (20.7)			
	iso-octane (26)	26.9 (4.1)	28.2 (4.5)	31.2 (5.3)	32.5 (4.8)			
	EtOH (23)	28.5 (5.0)	31.2 (7.1)	42.3 (21.4)	42.7 (22.4)	43.6 (22.4)		
	éthanol (6)	28.0 (4.8)	28.5 (5.8)	31.2 (6.7)	33.1 (5.0)	42.2 (22.9)	43.9 (22.9)	
	H ₂ O (6)	27.6 (5.6)	28.8 (6.2)	31.6 (7.3)	42.0 (30.2)			
	NaOH (0.4N) (6)	25.5 (11.2)	30.4 (13.2)	38.6 (11.0)	41.7 (50.0)			
	NaOH (26)	25.8 (11)	30.3 (12)					
	HCl (26)	27.4 (4.5)	28.9 (5.4)	31.8 (6.9)				
α -méthoxy-tropone	iso-octane (31)	27.0 (0.85)	28.3 (2.4)	29.4 (3.1)	31.2 (4.6)	40.0 (2.6)	41.2 (9.4)	42.4 (11.2)
	iso-octane (26)	27.4 (3.5)	28.6 (8.9)	29.4 (12)	31.2 (16)	42.5 (31.8)		
	éthanol (6)	27.5 (4.4)	28.6 (6.5)	29.8 (6.8)	31.4 (7.6)	31.8 (6.6)	32.7 (6.8)	42.5 (28.9)
	éthanol (20)	37.0 (1.6)	44.4 (15.9)					
	éthanol (80%) (21)	37.2 (0.72)	36.9 (7.6)					
TMB	Cyclohexane (22)	36.4 (0.48)	37.4 (0.66)	45.0 (8.5)				

* $\bar{\nu} \times 10^3$, en cm^{-1} et $\epsilon \times 10^3$, en $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$

M: mescaline MS: sulphate de mescaline TMB: 1,2,3-triméthoxy-benzène

elles sont de types $\pi \rightarrow \pi^*$. Hosoya et al. (24) ont montré par polarisation d'absorption avec un cristal de tropolone qu'il y a bien deux transitions électroniques et qu'elles sont orientées parallèlement ($31,000 \text{ cm}^{-1}$) et perpendiculairement ($27,000 \text{ cm}^{-1}$) à l'axe du groupe OH. Ils associent la première à un transfert de charge du groupe OH vers le cycle et la seconde à une transition $\pi \rightarrow \pi^*$ correspondant à celle observée dans la tropone, mais déplacée. Cette interprétation a été mise en doute par les calculs théoriques de Kuroda et Kunii (27) et de Yoshida et Kobayashi (28) qui montrent que les deux transitions sont de type $\pi \rightarrow \pi^*$ simple. D'après divers calculs (25, 27, 29) et expériences (29, 30), il y aurait aussi deux transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ dans la tropone et celles de la tropolone pourraient y correspondre une à une.

Les spectres d'absorption de l' α -méthoxy-tropone n'ont pas, à notre connaissance, été étudiés en détails. Cook et al. (6) et Von Doering et Knox (31) en ont présenté lors de travaux de synthèse; nos résultats sont en accord avec les leurs (Tab. 12). Le spectre se divise en deux régions tout à fait similaires à celles observées pour la tropolone. Tsuboi (26) l'a classifié dans la catégorie qu'il appelle "tropone substituée" il n'y voit qu'une transition de type $\pi \rightarrow \pi^*$ dans le domaine de $30,000 \text{ cm}^{-1}$.

Dans toutes ces études, aucune transition $n \rightarrow \pi^*$, attendue à cause de la présence du carbonyle, n'a été décelée. Les calculs et expériences la concernant ont été faits pour la tropone. Yamaguchi et al. (29) n'ont pu prédire par calculs la transition dans la région $33,000 \text{ cm}^{-1}$; ils ne l'ont pas décelée expérimentalement non plus. Leurs calculs l'annoncent plutôt vers $38,000 \text{ cm}^{-1}$ et ceux de Julg et

Bonnet (32), vers $35,000\text{ cm}^{-1}$. Hosoya et Nagakura (33) croient, d'après calculs et expériences, que la transition $n\rightarrow\pi^*$ est celle qui accompagne la transition principale à $33,000\text{ cm}^{-1}$ et cause sa structure. Perben et al. (34) placent aussi la transition $n\rightarrow\pi^*$ aux grandes longueurs d'ondes, soit à 435 nm ($23,000\text{ cm}^{-1}$), mais ils ne peuvent la déceler. Leurs calculs s'appliquent également à la tropolone et indiquent une position de $24,700\text{ cm}^{-1}$. Il semble donc que l'état $n\rightarrow\pi^*$ soit encore à découvrir dans les composés troponoïdes...

Nous pouvons discuter nos propres résultats pour l' α -méthoxy-tropone à l'aide de ceux de la tropolone. Pour ces derniers, nous adoptons l'interprétation de Tsuboi: deux transitions de type $\pi\rightarrow\pi^*$. L'effet des solvants nous suggère alors qu'il y a aussi deux transitions électroniques dans la région $25\text{-}38,000\text{ cm}^{-1}$ pour l' α -méthoxy-tropone. Les spectres des deux molécules sont en effet très semblables dans les divers solvants, sauf l'hexane^{*}. Dans ce dernier, la tropolone possède un lien hydrogène intramoléculaire qui perturbe sa dynamique et sa structure. Si on brisait ce lien, on obtiendrait sans doute un spectre semblable à celui de l' α -méthoxy-tropone. Pour le faire cependant, il faut établir un lien hydrogène entre la tropolone et une autre molécule. Cette situation existe quand on emploie le N, N-diméthyle-formamide comme solvant. On observe alors une diminution d'intensité des éléments structuraux à $26,700$ et $28,200\text{ cm}^{-1}$ (en plus d'un effet dû à la polarité); le spectre obtenu ressemble à celui de l' α -méthoxy-tropone avec un peu plus de structure. Il est possible qu'il reste une fraction des molécules ayant un lien intramoléculaire de sorte que la structure fine du spectre ne disparaît pas complètement.

^{*}Et la formamide; mais le spectre indique l'ionisation de la tropolone en ion tropolonate (fig.10,13) que l'on ne peut comparer à l' α -méthoxy-tropone.

Considérons donc l'effet de solvant à partir du spectre de l' α -méthoxy-tropone dans l'hexane. Lorsque la polarité augmente et/ou lorsque l'on emploie un solvant hydroxylique, on assiste à une augmentation de l'intensité de la bande dans sa région de 25,000 à 30,000 cm^{-1} .

Il est difficile de dire si les éléments de la structure se déplacent vraiment vers le côté bleu ou si ce n'est qu'un effet de la variation d'intensité dû au recouvrement des bandes. Si nous examinons les spectres de la tropolone, nous notons un comportement semblable, si bien que dans l'eau, les spectres des deux molécules deviennent presque identiques (figures 12 et 19).

Il découle de ceci que les états électroniques se ressemblent énormément. Comme dans les études citées plus haut* on reconnaît aisément la présence de deux transitions électroniques dans la tropolone, il doit y avoir ces mêmes transitions dans son éther méthylique. La transition vers 31,000 cm^{-1} est sûrement de type $\pi \rightarrow \pi^*$, avec $\epsilon \sim 8,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. L'autre transition semble de plus faible intensité. Pour l' α -méthoxy-tropone dans l'hexane, le coefficient ϵ de la composante 0-0 est $\sim 1,500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$; pour la tropolone, il est de $\sim 5,200 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, à cause du lien hydrogène. La transition paraît avoir une intensité moyenne, $\epsilon \sim 3,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, dans les solvants polaires (on peut en juger en soustrayant approximativement le massif à 31,000 cm^{-1} des spectres dans l'hexane de ceux dans l'éthanol). Elle devrait donc posséder une nature $\pi \rightarrow \pi^*$.

* Ces études ont été faites uniquement dans des solvants non polaires et avec un cristal. L'effet des solvants n'a pas été considéré.

Nos résultats en spectroscopie d'émission à basse température semblent confirmer toutes ces propositions (voir plus loin). Mentionnons en particulier que les spectres d'excitation de fluorescence de la tropolone montrent une nette ressemblance au spectre d'absorption en solution dans l'hexane, et que le spectre d'excitation pour l' α -méthoxytropone lui est très similaire. Dans ces spectres, on distingue très bien les deux transitions électroniques. Ceci semble indiquer un effet de rigidité sur les spectres des molécules. Pour la tropolone dans l'hexane en solution, le lien hydrogène intramoléculaire assure une rigidité analogue à celle obtenue à 77°K, de sorte que l'on peut là aussi distinguer les deux transitions électroniques, alors que l'absence du lien hydrogène intramoléculaire chez l' α -méthoxy-tropone donne un spectre peu structuré, où il est difficile de voir les deux transitions. Ces points appuient la discussion faite auparavant à propos de ces molécules.

Donc, en résumé, nos résultats montrent que l'absorption électronique de la région 25-38,000 cm^{-1} provient de deux transitions de type $\pi \rightarrow \pi^*$ dans la tropolone et son éther. On ne peut distinguer de transition $n \rightarrow \pi^*$; s'il y en a une, elle est sans doute submergée sous les autres.

Les spectres des molécules discutés jusqu'ici doivent, rappelons-le, aider à comprendre ceux de la colchicine. Ces derniers ont été étudiés par Roigt (5) et le spectre dans l'E.P.A., illustré à la figure 28, est représentatif de leur aspect dans la région 25-38,000 cm^{-1} : une bande large, sans structure, avec $\epsilon_{\text{max}} \sim 16,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. La position du maximum d'absorption passe de 29,100 cm^{-1} dans le benzène à 28,200 cm^{-1} dans l'eau. On peut discerner quelques épaulements du côté "rouge" de la bande dans les solvants peu polaires. Roigt a attribué cette bande à une transition $\pi \rightarrow \pi^*$ cachant une absorption $n \rightarrow \pi^*$ dans l'extrémité "rouge".

D'après les spectres de nos modèles, il est fort possible qu'il y ait plus d'un oscillateur $\pi \rightarrow \pi^*$ dans la bande décrite plus haut. En effet, la colchicine résulte de la conjugaison entre l' α -méthoxy-tropone et un analogue de la mescaline (cf. figure 7). L'addition simple des spectres des deux composantes ne donne pas celui de la colchicine, comme le montre la figure 51. Ceci souligne l'effet de la conjugaison entre les cycles. Lors de telles conjugaisons, la position et l'intensité des transitions électroniques de chaque fragment changent; le nombre total de transitions est conservé. Il se peut donc que les deux oscillateurs du groupe troponoïde soient conservés dans la même région, quoique modifiés. D'autre part, selon la répartition énergétique des niveaux électroniques des fragments, il peut y avoir formation d'une transition ayant un caractère de transfert de charge entre ces fragments. Un tel transfert conduit souvent à un changement important du dipôle de la molécule lors de l'absorption. Ceci se traduit par des effets prononcés des solvants sur les spectres. L'intensité de la transition est plus forte parce que le moment de transition est plus important (le dipôle est plus "long"). Ces deux effets se retrouvent chez la colchicine. Nous devons alors considérer la possibilité que la région $25-38,000\text{ cm}^{-1}$ se compose d'une transition du type transfert de charge; celle-ci pourrait recouvrir une transition "locale" conservée dans le cycle à sept carbones.

Il semble donc que l'on ne puisse obtenir plus de détails définitifs concernant la colchicine à partir de nos modèles. Des calculs théoriques seraient certainement utiles pour discuter les deux hypothèses mises de l'avant au paragraphe précédent. L'existence et la situation d'une transition de type $n \rightarrow \pi^*$ restent toujours à découvrir.

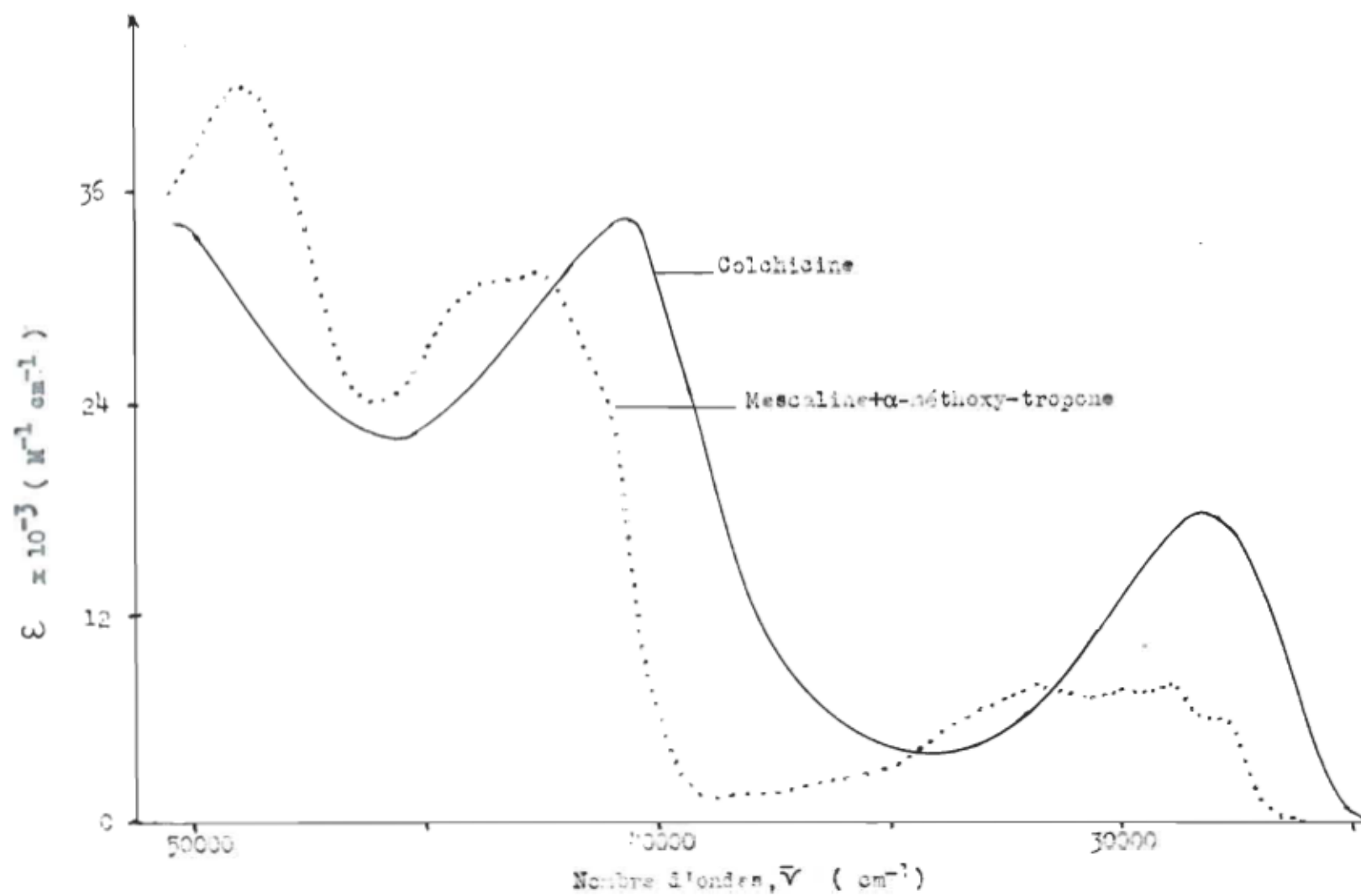


Figure 51. Spectre réel et spectre construit à partir des modèles, pour la colchicine.

B. Spectroscopie d'émission

Nous avons tenté d'obtenir plus de détails au sujet des états électroniques de la colchicine et des molécules modèles en observant leurs spectres d'émission. La mescaline n'émet pas dans les conditions utilisées et nous n'en parlerons pas. L'existence d'une fluorescence pour la tropolone en solution a été soulignée déjà par Bhattacharyya et Wolff (35) sans trop de détails. Ces auteurs mentionnent aussi la non-fluorescence de l' α -méthoxy-tropone en solution; aucun autre travail ne semble avoir porté sur cette molécule. Au sujet de la colchicine, Roigt (5) rapporte l'existence d'une émission seulement à 77°K et l'attribue à une phosphorescence de type $n \leftarrow \pi^*$. Récemment, Arai et Okuyama (36) ont décrit une luminescence pour des solutions de colchicine; ils ont aussi montré que cette molécule fluoresce plus intensément lorsque liée à la tubuline (Cf. Introduction). D'après ces données, il semble qu'il y ait place pour de plus amples études et notre travail veut aider dans ce sens. L'interprétation des résultats est importante en rapport avec les phénomènes observés pour la colchicine, mais nous verrons que nous n'avons pas encore toutes les données nécessaires pour bien connaître les molécules étudiées.

1) Emission à 77°K

Nous allons d'abord considérer l'émission à 77°K. La tropolone est le cas le plus simple à discuter. La caractéristique principale de l'émission est son temps de vie. La valeur mesurée dans l'E.P.A. (p. 62), 3.25 nsec., indique nettement une fluorescence. Combinée au rendement quantique, elle permet d'évaluer le temps de vie radiatif de la

transition comme étant:

$$\tau_{FM} = \frac{\tau_M}{\phi_M} = \frac{3.25 \times 10^{-9}}{0.18} \text{ sec} = 18 \text{ nsec.}$$

Ceci correspond nécessairement à une fluorescence de type $\pi \leftarrow \pi^*$. Quand on compare le spectre d'émission avec le spectre d'excitation, on voit qu'il y a approximativement symétrie de forme avec la deuxième bande (située à $25\text{-}30,000 \text{ cm}^{-1}$) dans la mesure où on peut estimer cette dernière. Le recouvrement des transitions 0-0 est aussi très bon, et la polarisation d'excitation est fortement positive à ces longueurs d'onde. Tout ceci implique que l'émission provient de l'oscillateur observé par absorption et attribué, dans la section A, à une bande $\pi \pi^*$. On peut alors tenter d'estimer le temps de vie radiatif devant correspondre à cette transition. Pour le faire, nous remarquons que le spectre d'excitation dans l'E.P.A. à 77°K ressemble beaucoup à celui d'absorption dans l'hexane en solution. Nous allons donc utiliser ce spectre pour calculer l'intégrale requise pour estimer le temps de vie radiatif à l'aide de la formule de Birks et Dyson (37):

$$\frac{1}{\tau_{FM}} = 2.88 \times 10^{-9} \frac{\eta_f^3}{\eta_a} \frac{\int \frac{F(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}^3} d\tilde{\nu}}{\int \frac{\epsilon(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}} d\tilde{\nu}}$$

où: τ_{FM} : temps de vie radiatif

η_f, η_a : indice de réfraction du solvant dans la région de fluorescence ou d'absorption

$\epsilon(\tilde{\nu})$: coefficient d'extinction molaire

$\tilde{\nu}$: nombre d'ondes pour l'absorption ou l'émission

$F(\tilde{\nu})$: spectre de fluorescence

Ayant tracé les spectres modifiés (voir Appendice), $\frac{\epsilon(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}}$, $F(\tilde{\nu})$, $\frac{F(\tilde{\nu})}{\tilde{\nu}^3}$,

on les intègre et on place les résultats dans l'équation. Il résulte, avec $\eta_a=1.36$ (38) et $\eta_f=1.43$ (39), que:

$$\tau^{-1} = 5.9 \times 10^7 \text{ sec}^{-1} \text{ ou } \tau_{FM} = 16.8 \text{ nsec.}$$

L'accord avec le 18 nsec obtenu plus haut est très bon.

Remarquons enfin que l'effet des solvants sur les spectres d'émission est très faible, ce qui est propre aux émissions $\pi \leftarrow \pi^*$ surtout.

Pour la tropolone donc, l'émission observée à 77°K est la fluorescence provenant de l'état $\pi \leftarrow \pi^*$ le plus bas.

La situation paraît plus complexe pour l' α -méthoxy-tropone. Notre mesure de temps de vie indique qu'il y a deux composantes dans le spectre d'émission. L'une est de .98 nsec., l'autre de 2.18 nsec., à 410 nm ($24,400 \text{ cm}^{-1}$).

L'existence de fluorescence "double" est peu fréquente et il est possible qu'une des composantes observées lors de la mesure soit attribuable à une impureté ou à un autre phénomène expérimental. Dans ce cas, nous pouvons quand même conserver l'ordre de grandeur des valeurs de temps de vie, soit 1-2 nsec. La luminescence serait alors une fluorescence simple, de type $\pi \leftarrow \pi^*$. La transition vibronique 0-0 du spectre d'émission recoupe bien celle du spectre d'excitation et d'absorption et la polarisation d'excitation est positive entre $26\text{-}30,000 \text{ cm}^{-1}$. C'est donc l'état singulet $\pi \leftarrow \pi^*$ le plus bas qui émet. Comme nous l'avons dit auparavant, cet oscillateur est difficile à observer par absorption, mais nous avons ici la preuve de sa présence. La différence de structure du spectre de la tropolone et de son éther indiquerait que les états électroniques de ces molécules sont légèrement différents, ou que dans la tropolone

l'oscillateur qui émet est plus (ou moins) perturbé par un état voisin ou par l'environnement.

D'autre part, nous devons aussi envisager que les deux composantes déterminées par l'expérience proviennent bien de nos molécules. Il faut examiner leur origine. La polarisation d'émission est constante et positive à toutes les longueurs d'onde où nous l'avons mesurée. Ceci indique que les deux "émetteurs" ont une orientation semblable et presque parallèle à celle de l'oscillateur d'absorption, sinon la polarisation varierait beaucoup plus. La polarisation d'excitation montre, elle, que les deux états $\pi-\pi^*$ les plus bas sont orientés perpendiculairement l'un à l'autre et sont assez bien séparés. La forme du spectre reste presque inchangée dans les divers solvants, hydroxyliques ou non. L'excitation à la limite du spectre d'absorption donne la même luminescence. Tout ceci rend impossible une explication en termes d'une double fluorescence des états $\pi-\pi^*$ ou d'une émission $n\leftarrow\pi^*$ superposée à une fluorescence $\pi\leftarrow\pi^*$. Il reste alors une dernière voie d'explication: un troisième état $\pi-\pi^*$, de faible absorptivité et presque isoénergétique à l'état $\pi-\pi^*$ considéré jusqu'ici comme le plus bas. Si on utilise les temps de vie des deux émissions et leur proportion relative à 410 nm ($\alpha_1 \approx 4\alpha_2$), on peut estimer qu'elles se partagent le rendement quantique environ 20-80 et que leur temps de vie radiatif est de 28 nsec. et 240 nsec. La première valeur est assez compatible, compte tenu des approximations, avec l'intensité intégrée de la bande d'excitation de 25-30,000 cm^{-1} , qui est semblable, du moins à 77°K, à celle de la tropolone (18 nsec.). Une émission viendrait donc de cet oscillateur. La seconde valeur pourrait traduire l'existence d'un état $\pi-\pi^*$ ayant un coefficient ϵ environ 5 fois plus faible que celui de l'état $\pi-\pi^*$ déjà connu.

Cette idée d'un troisième état électronique peut s'envisager de deux façons: un état réel, dans la molécule, qu'il faudrait peut-être chercher dans la tropolone aussi (et qu'on aurait peut-être dû voir par absorption); une forme géométrique différente de la molécule, qui n'est que l'état $\pi-\pi^*$ connu, perturbé, et dont l'existence chez une fraction des molécules donne lieu à la pseudo double émission. (Si cet état est "perturbé" avant l'excitation, les calculs des τ_{FM} ne tiennent plus car les valeurs des ϕ de chaque émission deviennent inconnues). Nous croyons que la seconde alternative est plus raisonnable. Il reste curieux que ceci n'ait pas été observé pour la tropolone.

Avec nos résultats, nous pouvons donc établir la nature de l'émission observée à 77°K: une fluorescence, et son origine: le premier état $\pi-\pi^*$. Si nous acceptons qu'il y a deux émissions superposées, nous les attribuons alors à des formes différentes de la molécule dans la solution à 77°K. Nous ne pouvons rien dire au sujet d'un état $n-\pi^*$, sinon qu'il soit d'énergie supérieure à l'état S_1 ($\pi-\pi^*$); il pourrait cependant en être suffisamment rapproché pour le perturber et causer la faible efficacité de la fluorescence ($\phi \sim 0.04$).

Passons maintenant à la colchicine. Ici encore, notre mesure de temps de vie montre qu'il y a deux composantes dans le spectre, à 440 nm. Des considérations semblables à celles faites pour l' α -méthoxy-tropone s'imposent.

Si nous acceptons qu'un seul des temps de vie, soit celui de 2.4 nsec., soit attribuable à une émission de la colchicine, nous obtenons pour celle-ci un temps de vie radiatif de 10 nsec. (22 nsec. avec l'autre τ). Par conséquent la luminescence est une fluorescence $\pi-\pi^*$,

contrairement à l'interprétation antérieure de Roigt (5). La polarisation d'excitation positive dans la région 23-33,000 cm^{-1} , et le faible effet des solvants supportent cette attribution.

Par ailleurs, les deux temps de vie peuvent caractériser une réelle double émission. Nous avons déjà suggéré l'existence de deux états électroniques dont la séparation énergétique est méconnue. Les mesures de polarisation et les temps de vie ne sont pas incompatibles avec une double fluorescence provenant de ces états. Nous conservons donc cette explication, en plus de celle référant, comme pour l' α -méthoxy-tropone, à la coexistence de deux "types" de molécules fluorescentes. Nous ne sommes pas en mesure de confirmer l'une ou l'autre éventualité.

D'après la mesure des temps de vie et l'allure générale des spectres, la "seconde" émission est peu intense; négligeons donc son effet sur les paramètres du spectre. (ceci devient exact s'il n'y a qu'une émission simple). Nous notons alors ceci: dans le spectre d'excitation il y a un très léger épaulement vers 26,300 cm^{-1} , et la polarisation d'excitation augmente à cet endroit; le spectre d'émission (et surtout celui de la colchicine) ressemble beaucoup à celui de la tropolone, et possède une structure absente dans le spectre d'excitation et d'absorption. Selon nous, cela indique que ce n'est pas la transition large vue en absorption qui émet, mais un autre oscillateur caché sous celle-ci et semblable à celui des cycles tropoloniques. Nous retrouvons ainsi l'hypothèse émise lors de la discussion des spectres d'absorption.

Nous voyons que le cas de la colchicine n'est pas encore clair. On sait qu'elle fluoresce, mais des mesures de temps de vie précises et faites à plusieurs longueurs d'onde et dans des solvants différents

seront essentielles à la résolution du spectre. Des spectres résolus dans le temps présenteraient aussi un intérêt pour la bonne compréhension des processus photophysiques dans la colchicine. Ces remarques tiennent aussi pour l' α -méthoxy-tropone.

Pour le moment, avec nos résultats, nous pouvons tirer quelques conclusions partielles complétées d'hypothèses; elles donnent une image de base des processus dans les molécules étudiées. Mais avant de présenter ces conclusions, il faut obtenir quelques renseignements sur les états triplets, jusqu'ici négligés.

Lors de nos différentes mesures des émissions à basse température, nous n'avons jamais pu déceler d'émission de longue durée, c'est-à-dire de phosphorescence, pour les molécules étudiées. Nous avons donc tenté de situer leur état triplet par transfert d'énergie (cf. p. 82) et nos expériences ont indiqué une valeur commune d'environ 48-49 kilocalories. (590 nm). Vu la grande séparation d'avec les états singulets, cet état triplet est de nature π - π^* . Des calculs théoriques donnent les résultats suivants pour la tropolone et la tropone:

Tropolone	Tropone	Référence
T_1^* : 25.6	T_1 : 28.6	Kuroda et Kunii (27)
	T_1 : 43.8 - 50.3	Yamaguchi <u>et al.</u> (29)
	T_2 : 60.5 - 64.5	

et des expériences de sensibilisation de réaction photochimique avec la tropone (38) situent son état triplet entre 42 et 53 kilocalories. Nos valeurs semblent bien supportées par cet ensemble de résultats. Il est

* En kilocalories/mole

intéressant de noter que l'un des ouvrages cités situe T_2 plus bas que le singulet excité le plus bas.

La position des états triplets peut expliquer leur non-phosphorescence. Ainsi, ils sont suffisamment séparés de l'état S_1 pour ne pas en prendre le caractère radiatif et leur proximité avec S_0 augmente leur caractère non-radiatif (en diminuant la séparation énergétique, $E - E_0$, entrant dans les facteurs de Franck-Condon). Il est aussi possible que les états triplets ne soient pas très peuplés. On ne sait rien à ce sujet. Cependant, les valeurs des constantes de désactivation non-radiative de S_1 , k_{nr} , sont de l'ordre de $10^8 - 10^9 \text{ sec.}^{-1}$ pour nos molécules. Pour les hydrocarbures aromatiques, Birks donne des valeurs de $10^6 - 10^8 \text{ sec.}^{-1}$ pour k_{isc} et $10^4 - 10^6 \text{ sec.}^{-1}$ pour k_{gm}^* (39). Il semblerait alors que le peuplement des états triplets (k_{isc}) soit le processus le plus efficace dans nos composés. Sa grande efficacité impliquerait aussi que l'état triplet atteint est voisin de S_1 . Il peut être de type $n-\pi^*$ ou $\pi-\pi^*$. Généralement, le processus $S(\pi-\pi^*) \rightarrow T(n-\pi^*)$ est beaucoup plus efficace que $S(\pi-\pi^*) \rightarrow T(\pi-\pi^*)$ et ce point peut suggérer la présence de la fameuse transition $n-\pi^*$ dans cette région.

2) Emission en solutions

En dernier lieu, nous commenterons les quelques résultats concernant les émissions en solution.

La tropolone émet faiblement dans divers solvants vers 400-410 nm. Le temps de vie très court, 0.6 nsec., et la coïncidence avec l'émission à basse température suggèrent que c'est une fluorescence de l'état $\pi-\pi^*$, comme à 77°K.

* Constante de conversion interne, $S_1 \rightarrow S_0$.

L' α -méthoxy-tropone émet très faiblement; la position du spectre est la même dans l'eau que dans le chloroforme, et coïncide bien avec celle à 77°K. Ici encore nous avons sans doute ~~émission~~ de fluorescence $\pi \leftarrow \pi^*$.

La colchicine possède un rendement d'émission estimé à $\sim 10^{-3}$ dans l'eau. Ceci rend sa détection difficile et c'est pourquoi nous avons eu recours à une géométrie de détection modifiée pour réduire l'effet de filtre interne dû aux fortes concentrations utilisées. L'emploi d'un spectrofluorimètre laser permet aussi une détection plus facile. Bhattacharyya et Wolff (35) n'ont pas décelé cette émission dans divers solvants; Arai et Okuyama (36) observent des spectres semblables aux nôtres.

Le maximum des spectres se déplace vers le rouge lorsque la polarité et le caractère hydroxylique du solvant diminuent. On pourrait penser à une fluorescence $n \leftarrow \pi^*$, mais en raison des résultats à basse température, cela semble discutable. L'interprétation reste incertaine, mais nous suggérons qu'il faille considérer la relaxation de la molécule excitée avec sa "cage" de solvant.

Il est intéressant de noter que l'émission provenant de la colchicine dans un film d'alcool polyvinilique est beaucoup plus intense que celle des solutions. Nous pouvons relier cette capacité de fluorescer dans un film et à basse température à la rigidité du milieu entourant la colchicine. L' α -méthoxy-tropone ne montre pas cet effet dans un film solide; son rendement à 77°K aussi est faible. Une situation parallèle existe lorsque ces composés sont liés à la tubuline: la colchicine émet fortement, mais pas l' α -méthoxy-tropone (35).

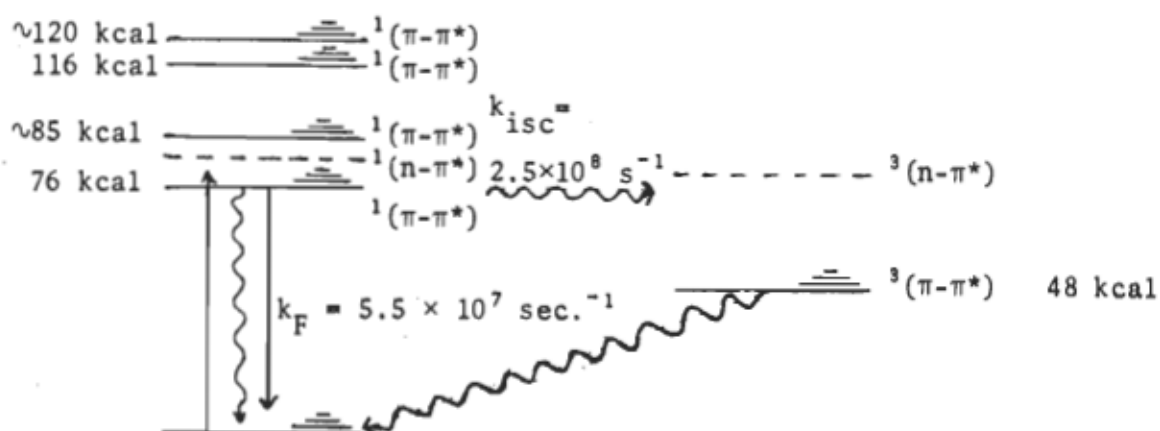
On voit la complexité des processus photophysiques dans la colchicine, et l'intérêt de les bien connaître. A cette fin, nous croyons qu'il y a encore du travail à faire..., surtout en termes de l'interaction de la colchicine avec son environnement.

C. Diagrammes de Jablonski

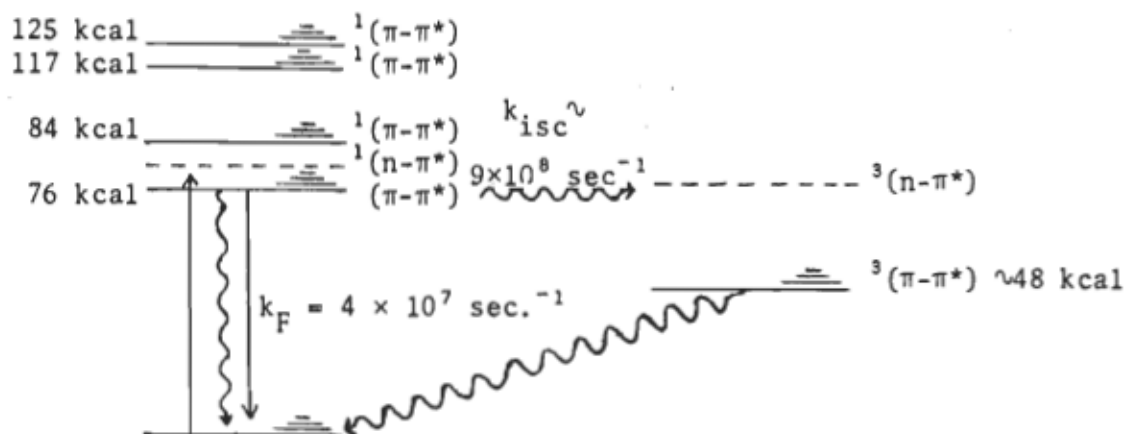
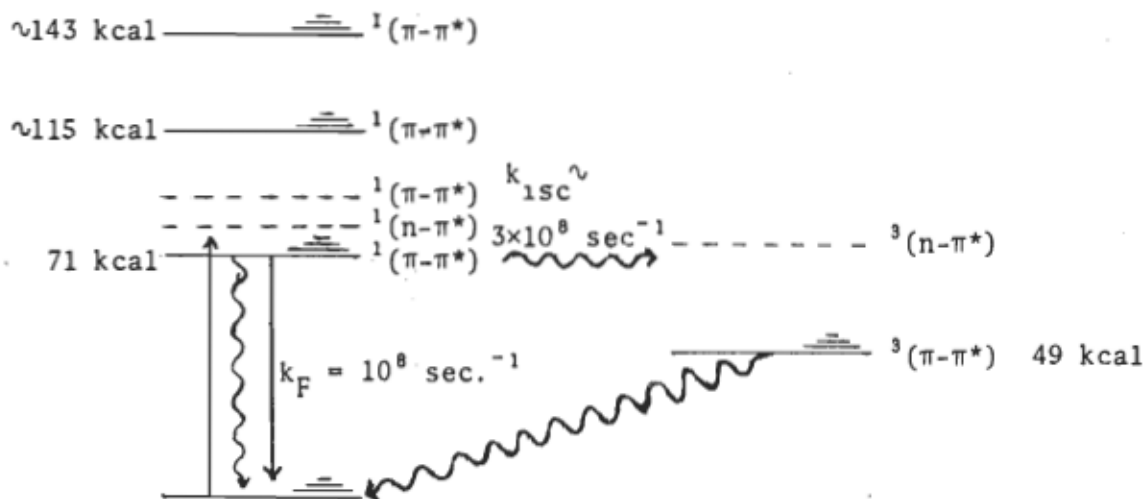
Nous devons maintenant présenter les diagrammes de Jablonski pour nos molécules, en combinant les résultats obtenus par absorption et émission. Les seules constantes que nous puissions y introduire avec assez de certitude sont les énergies des états $\pi-\pi^*$ (celles des états singulets viennent des spectres dans l'hexane pour la tropolone et son éther, et dans l'eau pour la colchicine) et les valeurs des constantes de vitesse de fluorescence, $1/\tau_{FM}$.

Les états représentés en traits pointillés sont postulés. On n'a représenté que l'état $n-\pi^*$ le plus bas. Les symboles $\longrightarrow$ et $\rightsquigarrow$ indiquent des processus radiatifs et non-radiatifs respectivement. La valeur de k_{isc} est calculée en supposant qu'il n'y a pas d'autres modes de désactivation des états S_1 . La relaxation des états singulets avant la fluorescence n'est pas indiquée sur les diagrammes car elle est très faible. De même, la possibilité d'émission à partir d'une molécule "perturbée" (cf. plus haut) pour l' α -méthoxy-tropone n'est pas représentée.

On trouvera les diagrammes résultants à la figure 52.



a) Tropolone

b) α -méthoxy-tropone

c) Colchicine

Figure 52. Diagrammes de Jablonski.

D. Système colchicine-acide aminé

Les quelques expériences faites avec des solutions de colchicine en présence de tryptophane pour tenter de déceler une interaction n'ont pas donné de résultats positifs. En absorption, nous n'avons pas fait d'expériences très précises; celles faites antérieurement par d'autres personnes (40) ne donnent pas lieu de croire qu'il y ait interaction entre les molécules, et nos quelques spectres de différence appuient ce résultat.

Par contre l'étude de la fluorescence du tryptophane en présence de colchicine, en solution, montre que cette fluorescence diminue et change de forme avec l'augmentation de la concentration de la colchicine. Cet effet résulte de l'absorption de l'émission par cette dernière, comme la figure 53 le fait comprendre. Lorsque l'on applique la loi de Beer pour estimer quelle fraction de la luminescence est transmise le long du trajet allant vers le détecteur, et cela pour toutes les longueurs d'onde de la fluorescence, on obtient la distribution illustrée à la figure 53, pour une concentration de 10^{-4} M en colchicine. L'identification avec le spectre expérimental est immédiate.

Nos mesures à basse concentration de colchicine indiquent aucune interaction apparente. A haute concentration, nous avons le phénomène décrit au paragraphe précédent. Il semble donc que la méthode ne soit pas très utile. On pourrait travailler par excitation à la surface, avec des solutions concentrées, mais les corrections de filtre interne existent encore et sont délicates à apporter. De plus, à très haute concentration en colchicine, on obtient la possibilité de transfert non-radiatif à partir des molécules de tryptophane, ce qui est un phénomène général.

Il faudrait peut-être alors se tourner vers des mesures de temps de vie du tryptophane dans une gamme intermédiaire de concentrations.

Par ailleurs, une nouvelle possibilité consiste à observer la fluorescence de la colchicine qui ne peut être modifiée que par des interactions moléculaires avec le tryptophane. Il serait intéressant de faire ces études dans des films plastiques inertes, en vue de la plus forte luminescence et de sa sensibilité à l'environnement. Un parallèle avec la colchicine liée à la tubuline pourrait peut-être émerger...

Enfin, d'autres méthodes spectroscopiques pourraient renseigner sur la possibilité des interactions colchicine-acides aminés: R.M.N. des atomes ^{13}C ou ^{17}O ; E.S.R., ...

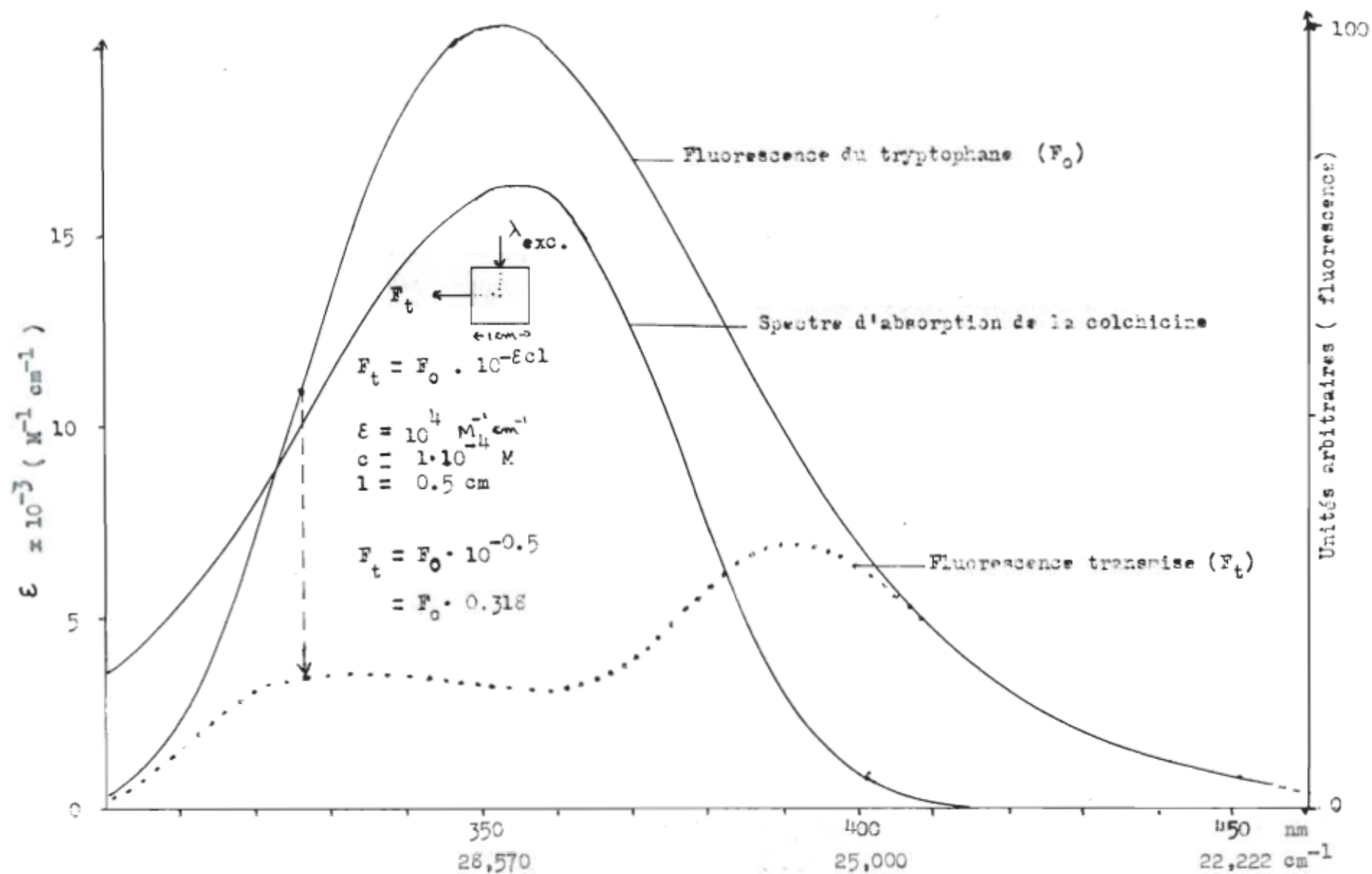


Figure 53. Absorption de la fluorescence du tryptophane par la colchicine le long du parcours de détection. (eau, pH 6.8).

CONCLUSION

La conclusion de notre travail est contenue, en grande partie, dans les diagrammes de Jablonski présentés dans la discussion. Ils indiquent bien ce que nous connaissons et ce que nous ignorons au sujet des molécules étudiées.

L'apport de notre étude de la colchicine à l'aide de composés modèles est double.

D'une part, nos résultats indiquent que le cycle conjugué à sept atomes de carbone est le lieu des processus d'émission dans la colchicine, à 77°K du moins. Ils révèlent aussi une complication possible dans le spectre d'absorption de la colchicine. Le comportement de l'émission en solution est peut-être relié à cette situation. Nous constatons qu'il reste des points à élucider afin d'atteindre notre objectif initial, soit la connaissance détaillée de la photophysique de la colchicine.

Les résultats concernant les molécules modèles constituent, d'autre part, une contribution importante en elle-même. Nous avons en effet bien établi la nature et la position des états excités singulet et triplet les

plus bas. Ces données sont utiles à l'étude de la photochimie des dérivés de la tropone.

Quant à l'étude spectroscopique de l'interaction colchicine-acide aminé telle qu'envisagée initialement, elle nous semble peu prometteuse. Nous croyons qu'il faudrait procéder à une étude des effets de l'environnement (solvants, rigidité, présence d'autres molécules...) sur la luminescence de la colchicine à la température de la pièce. La compréhension de l'interaction colchicine-tubuline, but ultime de ces recherches, pourrait en bénéficier.

Dans cette voie, nous estimons qu'un travail important demeure encore à faire.

Ad augusta per angusta

APPENDICE

A. Temps de vie radiatif de fluorescence. (p. 97)

Nous avons fait le calcul du temps de vie radiatif de fluorescence pour la tropolone à l'aide de l'équation donnée dans le texte. Le calcul consiste à évaluer les intégrales qui y apparaissent.

Pour ce faire, nous avons d'abord arbitrairement fixé la valeur de $F(\bar{\nu}_{\max})$ de la fonction $F(\bar{\nu})$, qui est le spectre de fluorescence corrigé, à 18 unités, sur une échelle de 2 unités par cm. Nous avons ensuite employé cette fonction $F(\bar{\nu})$ pour tracer la courbe $\frac{F(\bar{\nu})}{\bar{\nu}^3}$, avec une ordonnée de 10^{-13} unité par cm. Les abscisses de ces deux spectres sont de même échelle.

Les courbes sont données à la figure A.1. Le rapport des surfaces qu'elles délimitent est égal au rapport:

$$\frac{\int \frac{F(\bar{\nu})}{\bar{\nu}^3} d(\bar{\nu})}{\int F(\bar{\nu}) d(\bar{\nu})}$$

soit, dans notre cas:

$$\begin{aligned} & \frac{88.2}{61.0} \times \text{rapport d'échelle} \\ & = 7.23 \cdot 10^{-14} \text{ (en cm}^3\text{)} \end{aligned}$$

Dans l'équation du texte, c'est l'inverse de ce terme qui apparaît :

$$1.38 \times 10^{13} \text{ cm}^{-3}$$

La fonction $\frac{\epsilon(\bar{\nu})}{\bar{\nu}}$ est tracée à partir de la courbe $\epsilon(\bar{\nu})$ décrivant le spectre d'absorption dans l'hexane. On obtient le tracé illustré à la figure A.1, dont l'intégrale est $1.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. Cependant, l'intégrale $\int \frac{\epsilon(\bar{\nu})}{\bar{\nu}} d\bar{\nu}$ doit être évaluée seulement sur la transition électronique 0-1 ; en consultant la figure, il ressort qu'une division de la surface par deux donnerait une bonne valeur pour cette intégrale.

Les valeurs d'indices de réfraction proviennent de références mentionnées dans le texte.

Nous pouvons donc calculer le temps de vie:

$$\frac{1}{\tau_{\text{FM}}} = 2.88 \cdot 10^{-9} \times \frac{(1.43)^3}{(1.36)} \times 1.38 \cdot 10^{13} \times 7 \cdot 10^2 \text{ sec.}^{-1}$$

$$\text{soit : } \tau_{\text{FM}} = 16.8 \text{ nsec.}$$

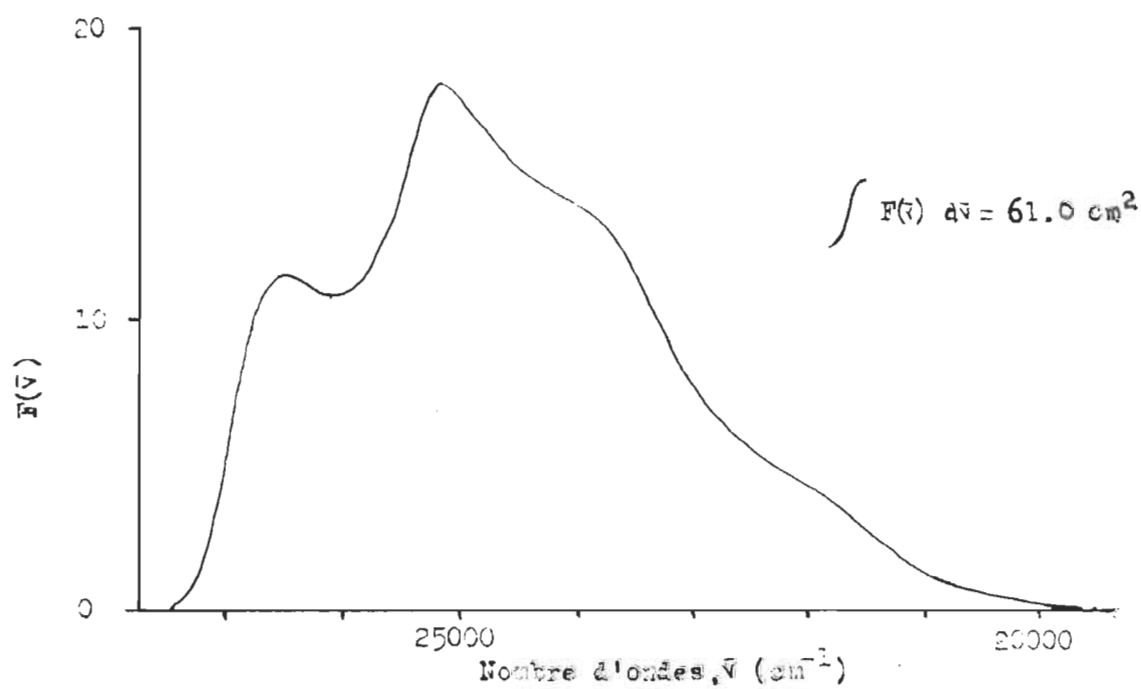
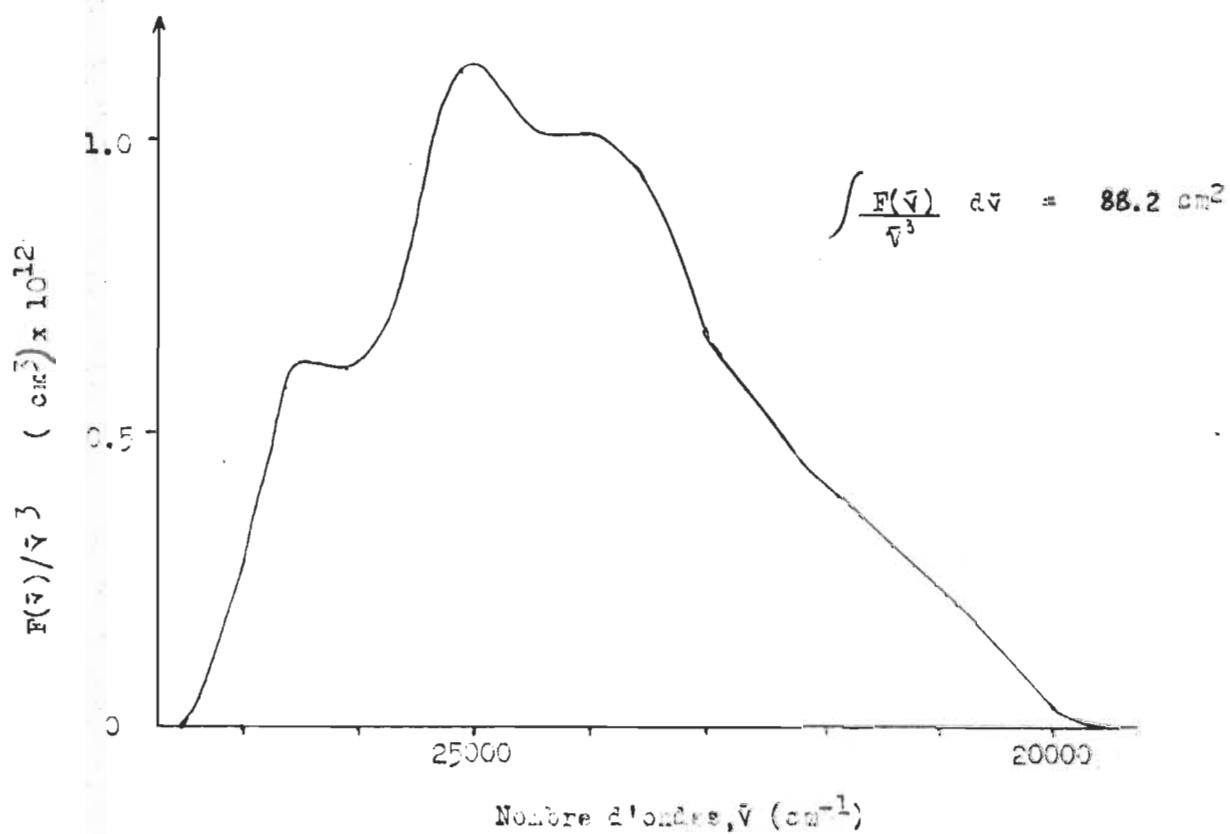


Figure A.1 Calcul des intégrales de l'équation du temps de vie radiatif.

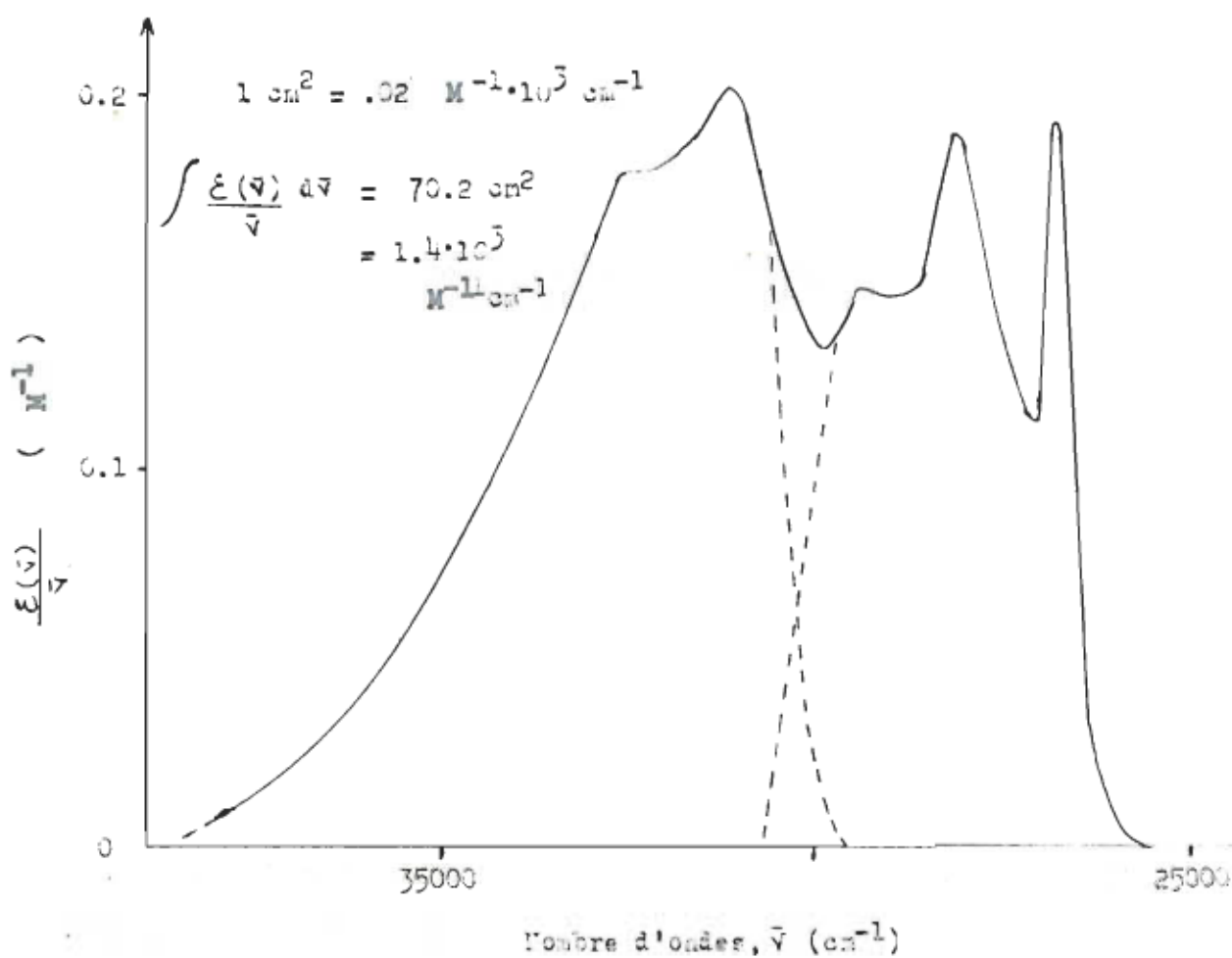


Figure A.1 Calcul des intégrales de l'équation du temps de vie radiatif. (suite)

LISTE DES OUVRAGES CITES

- (1) Cook, J.W.; Loudon, J.D.; Colchicine, dans The Alkaloids, vol. II, Manske et Holmes, éd.; Academic Press, New York, 1952
- (2) Eigsti, O.J.; Dustin, P.; Colchicine- In Agriculture, Medicine, Biology, and Chemistry. Iowa State College Press, Ames, (1955)
- (3) Borisy, G.G.; Taylor, E.W.; J. Cell. Biol. 34, 525;535 (1967)
- (4) Taylor, E.W.; J. Cell. Biol. 25, 145 (1965)
- (5) Roigt, H.; Thèse, Université du Québec à Trois-Rivières
- (6) Cook, J.W.; Gibb, A.R.; Raphael, R.A.; Somerville, A.R.; J. Chem. Soc. 503 (1951)
- (7) Vogel, A.I.; A text-book of practical organic chemistry including qualitative organic analysis, 3e éd.; Wiley, New York, (1956)
- (8) Kuratani, K.; Tsuboi, M.; Shimanouchi, T.; Bull. Chem. Soc. Jap. 25(4), 250 (1952)
- (9) Leblanc, R.M.; Galinier, G.; Tessier, A.; Lemieux, L.; Can. J. Chem. 52, 3723 (1974)
- (10) Demas, J.N.; Adamson, A.W.; J. Phys. Chem. 75, 2463 (1971)
- (11) Gilmore, E.H.; Gibson, G.E.; McClure, D.S.; J. Chem. Phys. 23, 399 (1955)
- (12) Technical Memo Number 61, Instrument Division, Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, March 1 1971
- (13) Parker, C.A.; Hatchard, C.G.; Analyst 87, 664 (1962)
- (14) Gilmore, E.H.; Gibson, G.E.; McClure, D.S.; J. Chem. Phys. 20, 829 (1952)
- (15) Wilkinson, F.; Dubois, J.T.; J. Chem. Phys. 39, 899 (1963)
- (16) Parker, C.A.; Photoluminescence of solutions; Elsevier, Amsterdam, (1968)
- (17) Li, R.; Lim, E.C.; J. Chem. Phys. 57, 605 (1962)
- (18) Chambers, R.W.; Kearns, D.R.; Photochem. Photobiol. 10, 215 (1969)
- (19) Larson, D.B.; Arnett, J.F.; Wahlborg, A.; Mc Glynn, S.P.; J. Am. Chem. Soc. 96, 6507 (1974)
- (20) Farmillo, C.G.; Oestreicher, P.M.; Levi, L.; Appl. Spectrosc. 10, 15 (1956)

- (21) Salomon, K.; Bina, A.F.; J. Am. Chem. Soc. 68, 2403 (1946)
- (22) Zweig, A.; Lehnsen, J.E.; Murray, M.A.; J. Am. Chem. Soc. 85, 3933 (1963)
- (23) Chapman, O.L.; Fitton, P.; J. Am. Chem. Soc. 85, 41 (1963)
- (24) Hosoya, H.; Tanaka, J.; Nagakura, S.; Tetrahedron 18, 859 (1962)
- (25) Hoshi, T.; Tanizaki, Y.; Zeitschrift für Phys. Chem. 71(4-6), 230 (1970)
- (26) Tsuboi, M.; Bull. Chem. Soc. Jap. 25, 369 (1952)
- (27) Kuroda, H.; Kunii, T.; Theoret. Chim. Acta (berl.) 7, 220 (1967)
- (28) Yoshida, Z.; Kobayashi, T.; Theoret. Chim. Acta (berl.) 20, 216 (1971)
- (29) Yamaguchi, H.; Amako, Y.; Azumi, H.; Tetrahedron 24, 267 (1968)
- (30) Weltin, E.; Heilbronner, E.; Labhart, H.; Helv. Chim. Acta 46, 2041 (1963)
- (31) von E. Doering, W.; Knox, L.H.; J. Am. Chem. Soc. 74, 5683 (1952)
- (32) Julg, A.; Bonnet, M.; Tetrahedron 20, 2243 (1964)
- (33) Hosoya, H.; Nagakura, S.; Theoret. Chim. Acta (berl.) 8, 319 (1967)
- (34) Perben, R.; Marey, T.; Arriau, J.; J. Heterocyclic Chem. 12(5), 913(1975)
- (35) Bhattacharyya, B.; Wolff, J.; Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71, 2627(1974)
- (36) Arai, T.; Okuyama, T.; Anal. Biochem. 69, 443 (1975)
- (37) Birks, J.B.; Dyson, D.J.; Proc. Roy. Soc. A275, 135(1963)
- (38) Cité par Turro, N.J.; Dalton, J.C.; Weiss, D.S.; Photosensitization by Energy Transfer, dans Organic Photochemistry, vol. 2, O.L. Chapman, éd., Marcel Dekker, 1969
- (39) Birks, J.B. Photophysics of aromatic molecules. Wiley Interscience, New York (1970)
- (40) Leblanc, R.M., et collaborateurs; non publié.
- (41) Terenin, A.N.; Ermolaev, V.L.; Trans. Faraday Soc. 52, 1042 (1956)