Modulation de pH photoinduite : évaluation de la plateforme 2-hydroxyazobenzène

Matthieu Emond

▶ **To cite this version:**

Matthieu Emond. Modulation de pH photoinduite : évaluation de la plateforme 2-hydroxyazobenzène. Chimie analytique. UPMC - Université Paris 6 Pierre et Marie Curie, 2011. Français. NNT : . tel-01470932

HAL Id: tel-01470932
https://theses.hal.science/tel-01470932

Submitted on 17 Feb 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Spécialité

Chimie Physique et Analytique
ED 388

Présentée par

Matthieu ÉMOND

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Modulation de pH photoinduite : évaluation de la plateforme 2-hydroxyazobenzène

Soutenue le mercredi 8 juin 2011

devant le jury composé de :

M. Dr.	Dario	BASSANI	Rapporteur
M. Prof.	Nicolas	GIUSEPPONE	Examinateur
M. Prof.	Bernold	HASENKNOPF	Examinateur
M. Prof.	Ludovic	JULLIEN	Directeur de thèse
M. Dr.	Thomas	LE SAUX	Invité
M. Prof.	Keitaro	NAKATANI	Rapporteur

Université Pierre & Marie Curie - Paris 6
Bureau d'accueil, inscription des doctorants et base de données
Esc G, 2ème étage
15 rue de l'école de médecine
75270-PARIS CEDEX 06

Tél. Secrétariat : 01 42 34 68 35
Fax : 01 42 34 68 40
Tél. pour les étudiants de A à EL : 01 42 34 69 54
Tél. pour les étudiants de EM à MON : 01 42 34 68 41
Tél. pour les étudiants de MOO à Z : 01 42 34 68 51
E-mail : scolarite.doctorat@upmc.fr

La simplicité est la sophistication suprême
Léonard de Vinci

Liste des abbréviations

CMC :	concentration micellaire critique
CTAC :	chlorure d'hexadécyltriméthylammonium
DCM :	4-dicyanométhylène-2-méthyl-6-*p*-diméthylamino-styryl-4H-pyrane
DLS :	diffraction dynamique de la lumière
DMAP :	diméthylaminopyridine
ECS :	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
FCS :	fluorescence correlation spectroscopy
IR :	infra rouge
MOED :	(1-Méthyl-4-[(4'-Oxocyclohexa-2',5'-diénylidène)-Éthylidène]-1,4-Dihydropyridine)
NHS :	*N*-hydroxysuccinimide
OG :	octyl–β–D–glucopyranoside
PDMS :	polydiméthylsiloxane
PEG :	polyéthylèneglycol
RMN :	résonance magnétique nucléaire
TFA :	acide trifluoroacétique
UV :	ultra violet

Table des matières

Introduction générale **13**
La lumière : outil privilégié pour modifier une concentration locale . . . 14
Introduction mécanique d'une espèce chimique . . . 14
Les avantages de l'excitation lumineuse . . . 16
Rôle des protons : de l'importance de contrôler le pH d'un système . . . 17
Un ion fondamental en chimie . . . 17
Un ion fondamental en biologie . . . 17
Objectifs de ce travail de thèse . . . 18
Excitation bi-photonique . . . 19

1 Les modifications de l'acidité photo-induites dans la littérature **21**
1.1 Les groupements protecteurs de protons . . . 22
1.1.1 Présentation générale des groupements protecteurs . . . 22
1.1.2 Plateforme ortho-nitrobenzyle . . . 23
1.1.3 Plateforme (coumarin-4-yl)méthyl ester . . . 26
1.1.4 Avantages et limitations des groupements protecteurs de protons . . . 27
1.2 Les « super acides » à l'état excité . . . 28
1.2.1 Présentation de la plateforme . . . 28
1.2.2 Avantages et limitations des molécules « super acides » à l'état excité . . . 30
1.3 Les photo-acides photochromes . . . 31
1.3.1 Présentation générale des molécules photochromes . . . 31
1.3.2 Plateforme diaryléthène . . . 33
1.3.3 Plateforme triphénylméthane . . . 33
1.3.4 Plateforme azobenzène . . . 36
1.3.5 Autres systèmes . . . 42
1.3.6 Avantages et limitations des photo-acides photochromes . . . 43

2 Identification de la plateforme de travail **45**
2.1 Choix d'une plateforme réversible . . . 45
2.1.1 Intérêt de la réversibilité . . . 45
2.1.2 Réversibilité photochimique . . . 46
2.1.3 Réversibilité thermique . . . 46

2.2 Modèle proposé pour analyser la variation du pH obtenue avec un photo-acide réversible 46
2.2.1 Cadre du modèle . . . 47
2.2.2 Concentration en proton du système non-illuminé . . . 47
2.2.3 Concentration en proton dans l'état photostationnaire . . . 48
2.2.4 Amplitude du saut de pH . . . 48
2.2.5 Identification des paramètres physico-chimiques influents sur la variation du pH sous illumination . . . 49
2.3 Cahier des charges de la plateforme photo-acide recherchée . . . 50
2.3.1 Contraintes synthétiques . . . 50
2.3.2 Contraintes thermodynamiques . . . 50
2.3.3 Contraintes cinétiques . . . 50
2.3.4 Contraintes spectroscopiques . . . 51
2.3.5 Autres contraintes . . . 52
2.4 Études préliminaires de quelques plateformes . . . 52
2.4.1 Présentation de la plateforme ortho-ortho-mérocyanine . . . 53
2.4.2 Évaluation de la plateforme ortho-ortho-mérocyanine . . . 55
2.4.3 Évaluation de la plateforme trichloro-2-hydroxyazobenzène . . . 58
2.A Évaluation de la plateforme salicylidènaniline . . . 63
2.A.1 Présentation de la plateforme . . . 63
2.A.2 Synthèse . . . 63
2.A.3 Conclusions . . . 64

3 Synthèse et études physico-chimiques préliminaires 65
3.1 Synthèse des membres de la plateforme 2-hydroxyazobenzène . . . 65
3.1.1 Voie de synthèse choisie . . . 65
3.1.2 2-hydroxyazobenzènes du type $\mathbf{THXCl_3}$ . . . 66
3.1.3 Autres molécules de la plateforme 2-hydroxyazobenzène . . . 66
3.2 Étude de l'isomère trans de la plateforme 2-hydroxyazobenzène . . . 68
3.2.1 Observations préliminaires . . . 68
3.2.2 Dosage spectrophotométrique et détermination de $\mathrm{pKa}_{\mathbf{TH/T}}$ . . . 69
3.2.3 Discussion des résultats . . . 70
3.3 Étude de l'isomère cis de la plateforme 2-hydroxyazobenzène . . . 73
3.3.1 Observations préliminaires . . . 73
3.3.2 Modèle cinétique . . . 75
3.3.3 Détermination de $\mathrm{pKa}_{\mathbf{CH/C}}$ et des constantes de retour thermique $k^{\Delta}_{\mathbf{C\to T}}$ et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}$ 78
3.3.4 Discussion des résultats . . . 80
3.3.5 Influence de la température sur la constante de retour thermique . . . 85

4 Détermination des paramètres physico-chimiques dans l'UV de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ 89
4.1 Méthode de relaxation utilisant la fluorescence comme observable . . . 90
4.1.1 Principe du protocole expérimental . . . 90

4.1.2 Choix du rapporteur fluorescent : la rhodamine B 90
4.1.3 Expérience de principe 91
4.1.4 Formalisation mathématique de l'utilisation d'un rapporteur fluorescent 92
4.1.5 Validations du protocole expérimental 94
4.1.6 Résultats expérimentaux concernant $\mathbf{TH_2Cl_3}$ 97
4.1.7 Validation du mécanisme simplifié 101
4.2 Méthode de modulation fréquentielle utilisant la fluorescence comme observable . . . 101
4.2.1 Introduction 101
4.2.2 Équations cinétiques adaptées à l'étude en fréquence 102
4.2.3 Système d'étude, système d'éclairage périodique et acquisition des signaux . . . 105
4.2.4 Résultats obtenus 106
4.3 Méthode de relaxation utilisant l'absorbance comme observable 110
4.3.1 Détermination précise des spectres d'absorption de tous les membres de la série $\mathbf{TH_2Cl_3}$ 111
4.3.2 Suivi direct de l'absorbance de la solution en fonction du temps sous irradiation 115
4.4 Comparaison générale des résultats et conclusions 118
4.4.1 Comparaison des coefficients d'absorption molaire 118
4.4.2 Comparaison des paramètres cinétiques des réactions photochimiques 119
4.A Optimisation des conditions opératoires relatives à l'étude en fréquence 123
4.A.1 Mise en forme du facteur R 123
4.A.2 Étude du facteur R 124
4.B Dérivation des données cinétiques du système dans l'UV à partir de J et $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$ 127
4.C Électrophorèse capillaire : mise en évidence du point isobestique à 244 nm. 129
4.D Spectrophotomètre UV-Visible à barrette de diodes 130

5 Sauts et oscillations de pH photo-induits 131
5.1 Sauts de pH : mesure potentiométrique 132
5.1.1 Séquence d'illumination pour obtenir un saut de pH photo-induit 132
5.1.2 Principe de la mesure potentiométrique 132
5.1.3 Système d'éclairage 133
5.1.4 Résultats expérimentaux 133
5.1.5 Avantages et limitations de la technique 138
5.2 Saut de pH : mesure fluorimétrique 139
5.2.1 Les sondes de pH fluorescentes 139
5.2.2 Choix d'un rapporteur de pH fluorescent : la fluorescéine 140
5.2.3 Nécessité d'un autre rapporteur fluorescent insensible au pH : la rhodamine B . 141
5.2.4 Relation entre rapport des intensités de fluorescence et pH 143
5.2.5 Conditions opératoires générales 145
5.2.6 Résultats expérimentaux pour $\mathbf{TH_2Cl_3}$ 146
5.2.7 Modélisation numérique 150
5.2.8 Comparaison des méthodes potentiométrique et optique 154

5.3 Oscillations de pH . . . 155
5.3.1 Les oscillateurs de pH dans la littérature . . . 155
5.3.2 Conditions opératoires . . . 156
5.3.3 Oscillations obtenues . . . 156
5.3.4 Conclusions . . . 161
5.A Rôle du dioxyde de carbone dissous . . . 163
5.B Effet de l'intensité lumineuse sur l'amplitude du saut de pH . . . 164
5.C Excitation triangulaire . . . 166

6 Évolutions de la plateforme 2-hydroxyazobenzène pour moduler le pH dans l'eau pure 169
6.1 Conception d'un système photo-acide efficace dans l'eau . . . 170
6.1.1 Évaluation de la solubilité de $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ dans l'eau . . . 170
6.1.2 Utilisation d'adjuvants amphiphiles . . . 171
6.1.3 Fonctionalisation de la plateforme $\mathbf{THXCl_3}$ . . . 173
6.2 Article : Photo-induced pH Drops in Water . . . 177
6.3 Conclusions et perspectives . . . 205

7 Structuration spatiale du pH 207
7.1 Conditions expérimentales et montage optique . . . 209
7.1.1 L'échantillon . . . 209
7.1.2 Lumière excitatrice : laser UV . . . 210
7.1.3 Source de lumière blanche et récepteur : microscope d'épifluorescence couplé à une caméra CCD . . . 210
7.2 Obtention d'un profil de pH centro-symétrique . . . 211
7.2.1 Collimation du laser UV . . . 211
7.2.2 Profil de pH observé . . . 212
7.2.3 Expériences de contrôle . . . 214
7.2.4 Étude de l'évolution temporelle du profil après extinction . . . 214
7.2.5 Analyse du temps caractéristique de disparition du profil avec les paramètres physico-chimiques du système . . . 214
7.3 Étude de la photochimie de la plateforme 2-hydroxyazobenzène vers 480 nm . . . 216
7.3.1 Observations préliminaires . . . 216
7.3.2 Extraction des paramètres cinétiques à 480 nm . . . 217
7.3.3 Nouvelle estimation du temps caractéristique de relaxation de l'expérience de structuration spatiale du pH . . . 219
7.4 Obtention d'un profil spatial stationnaire de pH 1D hors équilibre . . . 219
7.4.1 Obtention d'une nappe laser . . . 219
7.4.2 Premières observations . . . 220
7.4.3 Traitement de l'image . . . 221
7.4.4 Importance de l'excitation à 480 nm . . . 222
7.4.5 Importance du dioxyde de carbone dissous . . . 223

7.4.6 Conclusions et perspectives . . . 226
7.A Détermination des paramètres cinétiques vers 500 nm par une méthode de modulation fréquentielle . . . 229
7.A.1 Principe de la méthode . . . 229
7.A.2 Montage optique . . . 229
7.A.3 Théorie associée à la réponse à une excitation sinusoïdale . . . 230
7.A.4 Conditions expérimentales . . . 231
7.A.5 Résultats obtenus . . . 232
7.A.6 Discussion des résultats . . . 232
7.A.7 Dérivation des constantes cinétiques à 495 nm . . . 232
7.B Bâti du microscope d'épi-fluorescence et pièces d'optomécanique utilisées. . . . 234
7.C Autres types de structurations spatiales du pH . . . 235
7.C.1 Utilisation d'un système de diffraction . . . 236
7.C.2 Écriture de lettres . . . 236

8 Conclusions et perspectives **237**
8.1 La place des photo-acides de type 2-hydroxyazobenzène dans le paysage scientifique . 237
8.1.1 Variation de l'acidité sous illumination . . . 237
8.1.2 Facilité de synthèse . . . 238
8.1.3 Modification du pH sous illumination . . . 238
8.1.4 Mesure directe de la variation du pH . . . 238
8.1.5 Cinétique des réactions photochimiques et thermiques . . . 238
8.1.6 Modulation périodique de pH photo-induite . . . 239
8.1.7 Adaptabilité de la plateforme au milieu aqueux . . . 239
8.1.8 Structuration spatiale du pH . . . 239
8.2 Perspectives . . . 239
8.2.1 Déplacement vers le rouge de la longueur d'onde d'absorption des molécules . . 239
8.2.2 Catalyse photo-stimulée de réactions organiques . . . 242
8.2.3 Photo-modulation de la charge de nano-particules chargées . . . 246

A Organic Syntheses **249**
A.1 General Information . . . 249
A.2 General procedure for diazoic coupling . . . 249
A.3 Syntheses in the **THXCl$_3$** platform . . . 250
A.4 Syntheses of the naphtalenyle **THXCl$_3$** platform . . . 258
A.5 Functionalization of the **THXCl$_3$** platform . . . 260
A.6 Syntheses of other molecules . . . 263

B Caractéristiques spectrales et photochimiques **269**
B.1 Phenols . . . 269
B.2 2-hydroxyazobenzène platform – **THXCl$_3$** series . . . 273
B.3 Naphthalenyl molecules of the **THXCl$_3$** platform . . . 286

B.4 Other series 289
B.5 Miscellaneous 295

C Calibration des lampes **297**
C.1 Calibration dans l'UV 297
C.2 Calibration à 500 nm 297

D Articles **299**

Introduction générale

Les objets d'étude de la chimie sont de nature et de taille variées : molécules, macromolécules, cristaux, agrégats voire organites, cellules ou organismes biologiques. Dans tous les cas, leur étude passe par l'observation des objets et de leur comportement vis à vis du milieu dans lequel ils se trouvent.

Les concepts d'observation ou de mesure sont intimement liés à ceux de perturbation et de réponse à une perturbation. En effet, dès lors qu'un système d'étude est soumis à une perturbation extérieure, il va modifier son état pour répondre à cette perturbation. Cette réponse peut être analysée par un observateur extérieur qui en déduit des informations relatives au système d'étude. Par exemple, lorsque nous (l'observateur) lisons ces lignes, des photons sont envoyés par la source de lumière qui se trouve au dessus de nos têtes et viennent perturber les molécules de l'encre déposée sur la feuille de papier. En réponse à cette perturbation, certains des électrons de ces molécules vont passer dans un niveau de plus haute énergie. Les molécules ainsi excitées vont revenir à l'état fondamental par relaxation non radiative. L'analyse de cette réponse à la perturbation lumineuse est effectuée par nos yeux qui constatent que les tous photons ayant une longueur d'onde dans le visible ont été absorbés : les lettres nous apparaissent ainsi noires. D'autre part, une analyse fine de l'échauffement thermique de la page nous donnerait aussi des informations.

Cet exemple est général et l'ensemble des systèmes physiques, chimiques et par extension biologiques sont étudiés en suivant la séquence :

i. perturbation de système ;

ii. réponse du système à la perturbation ;

iii. analyse de la réponse par un observateur extérieur.

Les perturbations auxquelles peuvent être soumises les systèmes chimiques ou biologiques sont nombreuses et variées : [1,2]

- température ;
- pression ;
- champ électrique ou magnétique ;

– champ de force ;
– lumière ;
– concentration d'une espèce chimique active ;
– *etc.*

Un des buts des sciences analytiques est de proposer des méthodes de perturbations sélectives. En effet, à l'intérieur d'un système complexe contenant un grand nombre de sous-systèmes, adresser sélectivement un des sous-systèmes permet d'étudier les caractéristiques de ce système tout en perturbant le moins possible tous les autres. De plus, pour étudier des phénomènes rapides ou des objets de petite taille, les méthodes de perturbations doivent être bien résolues temporellement et spatialement.

Dans ce contexte, notre équipe de recherche s'est spécialisée dans l'utilisation de groupements protecteurs photo-activables afin de modifier, sous excitation lumineuse, la concentration d'une espèce chimique active au sein d'un système chimique ou biologique.[3–6] Le principe d'action de cette méthode d'adressage est exposé dans la partie 1 du chapitre suivant. En se basant sur cette expertise et compte tenu des techniques instrumentales à notre disposition, ce travail de thèse a eu pour but d'identifier une plateforme moléculaire capable de perturber la concentration en protons d'une solution en réponse à une excitation lumineuse.

Dans la première partie de ce chapitre introductif nous verrons en quoi la lumière permet d'induire une perturbation sélective et bien résolue spatialement et temporellement. Dans la deuxième partie nous expliquerons pourquoi le contrôle de la concentration en proton a un intérêt important aussi bien en chimie qu'en biologie. Enfin, dans la dernière partie, nous exposerons les objectifs premiers de ce travail de thèse.

La lumière : outil privilégié pour modifier la concentration locale d'une espèce chimique

Introduction mécanique d'une espèce chimique

La méthode la plus commune pour modifier la concentration d'une espèce chimique est d'introduire mécaniquement cette substance dans le système d'étude. Si à l'échelle d'un système de quelques millilitres de volume, cette introduction peut se faire à l'aide d'une pipette, des instruments plus précis doivent être utilisés dès lors que l'extension spatiale caractéristique du système d'étude est inférieure au millimètre.

Des techniques alternatives ont ainsi été développées comme la micro-injection qui utilise des micro-pipettes ou des micro-seringues dont le diamètre d'ouverture peut atteindre 400 nm.[7–9] Il est alors possible d'injecter un substrat à l'échelle d'une unique cellule à condition d'utiliser des méthodes permettant d'immobiliser la cellule et de manipuler adroitement la micro-pipette ou la micro-seringue. La figure 1 montre une photographie prise sous microscope d'une micro-injection dans un ovule.

Cette méthode présente cependant certains inconvénients :

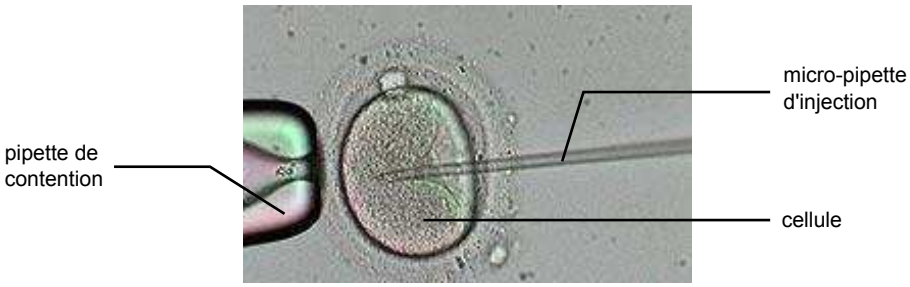


FIGURE 1 – *Photographie sous microscope d'une micro-injection dans un ovule. La pipette de contention permet de maintenir la cellule pendant que la micro-pipette d'injection introduit l'espèce chimique active.*

- elle est invasive : pour introduire une substance dans la cellule, la micro-pipette ou l'aiguille, si petite soit-elle, doit traverser la ou les membranes cellulaires ou nucléaires imposant ainsi à la cellule des contraintes mécaniques pouvant induire des effets biologiques non souhaités ;
- elle est irréversible : une fois la molécule active introduite dans le système, il n'est pas possible de l'en faire sortir ;
- la résolution temporelle d'introduction de l'échantillon est limitée par celle de l'opérateur et peut être estimée au mieux à quelques centaines de millisecondes ; compte tenu que la substance à introduire diffuse à cette échelle de temps, il en résulte une imprécision sur la quantité de substance injectée ;
- la résolution spatiale reste limitée à la dimension d'une cellule soit de 10 à 100 micromètres ;

Pour pallier le problème de la résolution temporelle, il est possible d'utiliser des techniques de mélange rapide. La plus connue d'entre elles utilise un dispositif expérimental appelé *Stopped-flow*. Grâce à cet appareil, deux petits volumes de réactifs sont rapidement envoyés vers une chambre de mélange dans laquelle ils commencent à réagir. Ce mélange est ensuite amené dans une cellule d'observation avec un temps de retard de l'ordre de la milli-seconde (voir figure 2).[10,11] La technique de *Stopped-flow* ne permet cependant pas d'obtenir de fortes résolutions spatiales et n'est pas réversible.

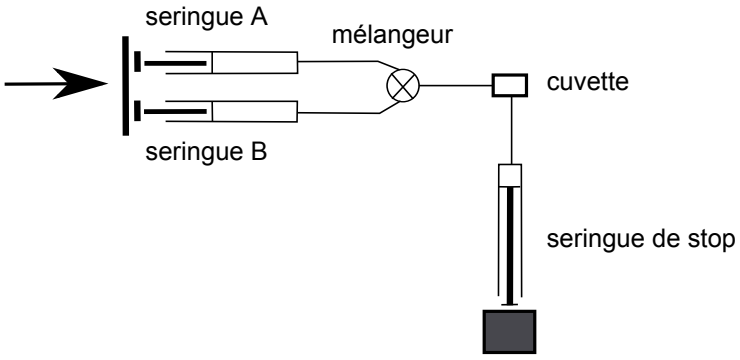


FIGURE 2 – *Schéma du principe de fonctionnement d'un appareil Stopped flow. La seringue de stop permet d'arrêter le flux de solution venant du mélangeur.*

Les avantages de l'excitation lumineuse

La modification de la concentration d'un composé en utilisant la lumière comme déclencheur n'est possible que si elle est médiée par une molécule ou un système moléculaire photosensible. Ainsi, l'absorption d'un photon par ce système moléculaire doit entraîner un ou plusieurs processus finissant ultimement par la libération ou le piégeage de l'espèce chimique active.

Une fois un tel système identifié pour le composé souhaité, l'utilisation de la lumière apporte des solutions à certains des problèmes exposés ci-dessus :

Caractère invasif : la méthode optique n'est pas invasive. En effet, il n'est pas nécessaire d'introduire de pipette ou d'aiguille dans le système que l'on souhaite perturber. En particulier dans une cellule, il est possible de libérer une molécule sans faire de trou dans la membrane à condition d'être capable d'introduire préalablement la molécule photo-sensible dans la cellule sans l'endommager (par perméation trans-membranaire par exemple). On parle alors de « seringue optique ».

Réversibilité : la méthode optique peut être réversible dès lors que le système moléculaire photosensible l'est. Ainsi, il est possible de libérer un pulse transitoire de molécules actives voire de moduler périodiquement sa concentration.

Résolution temporelle : la résolution temporelle des méthodes optiques est l'une des meilleures accessible en chimie.[11] À titre de comparaison, la figure 3 montre les résolutions temporelles de quelques méthodes perturbatives. On remarque que les méthodes optiques ont des résolutions temporelles de l'ordre de la microseconde voire de la picoseconde pour celles basées sur l'utilisation d'un laser pulsé.[12]

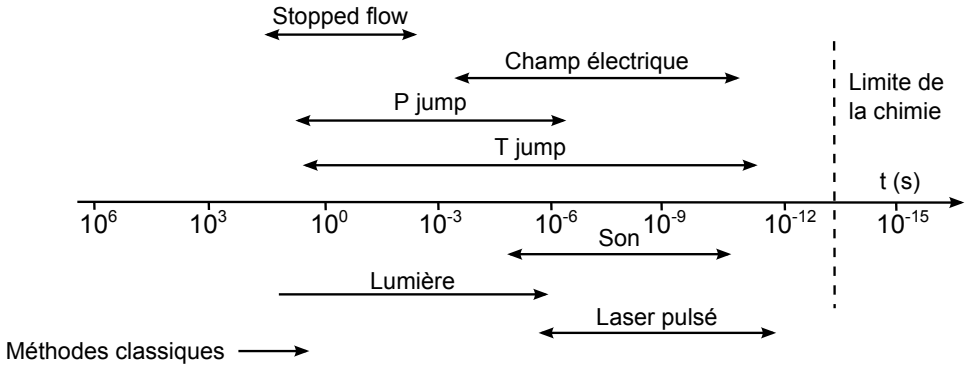


FIGURE 3 – *Correspondance entre les temps de demi-vie des réactions étudiées et les méthodes perturbatives utilisables. Les méthodes classiques correspondent aux cas où les réactifs sont mélangés mécaniquement. Reproduit d'après Mortimer et al.*[11]

Résolution spatiale : la résolution spatiale des méthodes optiques est elle aussi très bonne. En effet, il est possible de collimater un faisceau lumineux jusqu'à la limite de diffraction à la longueur d'onde considérée gagnant ainsi plusieurs ordres de grandeur par rapport à la méthode de micro-injection. Par ailleurs, l'excitation bi-photonique [a] permet d'atteindre une résolution encore plus grande puisque seul un volume limité à la dimension du point focal image de

[a]. Le principe physique de l'excitation bi-photonique est décrit en annexe de cette introduction.

la lentille convergente utilisée est excité : ce volume peut être de l'ordre de 10^{-15} L. Il est ainsi possible de modifier la concentration d'une molécule à une échelle sub-cellulaire. [13]

Rôle des protons : de l'importance de contrôler le pH d'un système

Le proton est la particule échangée lors d'une réaction entre un acide de Brönsted (qui perd un proton) et une base de Brönsted (qui gagne un proton).

Si la base qui récupère un proton est l'eau, un ion H_3O^+ (hydronium) se forme. On définit alors le pH de la solution comme l'opposé du logarithme décimal de l'activité des ions hydronium.

Un ion fondamental en chimie

La grande quantité d'atomes d'hydrogène dans la nature et la faiblesse de la liaison entre un hydrogène et un hétéro-atome font que les protons sont des espèces omniprésentes en chimie. Ils sont en effet impliqués dans une quantité innombrable de phénomènes et de réactions que ce soit en chimie organique ou inorganique aussi bien en tant que réactif ou que catalyseur.

Compte tenu du caractère essentiel des protons en chimie, de nombreuses méthodes de détermination de leur concentration dans un système ont été développées. Elles peuvent reposer sur une détection chimique des protons (*via* des indicateurs colorés ou fluorescents) ou électrochimique (comme lors de l'utilisation d'une électrode spécifique). Ces méthodes sont si communes qu'elles sont généralement enseignées en cours de physique-chimie dès le collège.

De nombreux ouvrages, articles et revues sur les réactions acido-basiques et les transferts de protons peuvent être trouvés dans la littérature. [14–16]

Un ion fondamental en biologie

Le proton joue également un rôle fondamental dans les systèmes biologiques. En effet, outre son implication naturelle dans les réactions bio-chimiques, il est l'un des acteurs principaux de processus aussi importants que la production d'ATP, monnaie énergétique des cellules, ou que la croissance des végétaux. [b]

À titre d'exemple, la production d'ATP dans les cellules eucaryotes repose sur un processus de phosphorylation oxydative qui couple la phosphorylation endergonique de l'ADP par une ATP synthase à l'oxydation exergonique d'un substrat (le NADH ou le $FADH_2$), réalisée au niveau d'une chaîne de transport d'électrons appelée chaîne respiratoire. [17] Ce processus a lieu au niveau de la membrane interne des mitochondries. La succession de réactions d'oxydoréduction au sein de la chaîne respiratoire conduit à l'établissement d'un gradient de protons de part et d'autre de la membrane. Le flux spontané des protons à travers la membrane, imposé par ce gradient, est ensuite utilisé par l'ATP synthase pour effectuer la phosphorylation.

De la même manière, le mouvement de rotation du flagelle de certaines bactéries (type *Escherichia Coli*) est le résultat d'un couplage avec un flux spontané de protons, permis par la présence d'un gradient de protons de part et d'autre de la membrane plasmique. [18]

[b]. D'autres exemples du rôle des protons dans le vivant seront rencontrés au fil de ce travail de thèse.

D'une façon générale, le maintien de concentrations spécifiques en ions (dont les protons) au sein des différents compartiments d'une cellule ou d'un organisme est une condition essentielle à leur survie. Le contrôle du pH est donc primordial au sein des organismes vivants, qui mettent en jeu de nombreux agents tampons (ions carbonates, ions phosphates, acides aminés) pour éviter toute variation.

Si elle est souvent défavorable, la variation du pH dans les systèmes biologiques est parfois utilisée comme signal ou déclencheur d'une série de processus bénéfiques aux êtres vivants. Ainsi, la croissance des cellules végétales, cellules entourées d'une paroi cellulosique rigide, est permise par diminution du pH dans le milieu pariétal. Cette acidification est le résultat d'un export de protons depuis le milieu intracellulaire vers le milieu extra-cellulaire en réponse à une hormone de croissance, l'auxine. La diminution du pH permet l'activation d'enzymes et de protéines non enzymatiques qui rompent les liaisons hydrogène existant entre les différents constituants de la paroi, contribuant ainsi à augmenter son élasticité et permettant la croissance cellulaire. [19]

Objectifs de ce travail de thèse

Compte tenu des parties introductives précédentes, l'objectif premier de ce travail de thèse est d'identifier une plateforme moléculaire capable de moduler la concentration en proton d'une solution sous illumination. Idéalement, cette plateforme doit posséder les caractéristiques suivantes :

- être synthétiquement accessible ;
- être expérimentalement caractérisable ;
- conduire à une modulation du pH aussi forte que possible ;
- conduire à une modification du pH facile à observer à l'échelle d'une solution de quelques millilitres ;
- être applicable à des systèmes biologiques ;
- être modulable de telle sorte à pouvoir contrôler l'amplitude de la variation de pH, le pH initial, le pH final mais aussi la cinétique de la variation d'acidité.

Ce manuscrit se compose de huit chapitres. Le premier recense et compare les systèmes moléculaires de la littérature capables de modifier l'acidité d'un système sous illumination. Le deuxième établit le cahier des charges du photo-acide ou de la photo-base idéal compte tenu des contraintes thématiques et expérimentales de notre équipe de recherche et finit par identifier une plateforme susceptible d'y répondre. Les chapitres trois et quatre étudient les aspects thermodynamiques et cinétiques de cette plateforme. Les chapitres cinq, six et sept montrent qu'elle est capable de moduler le pH sous illumination. Le dernier chapitre conclut ce travail de thèse et propose quelques perspectives.

Annexe de l'introduction

Excitation bi-photonique

Les principes de la spectroscopie classique précisent qu'une molécule peut passer de son état électronique fondamental à un état électronique excité si on lui fournit une quantité d'énergie correspondant à l'écart énergétique entre les deux états. Dans le cadre de la photochimie, cette énergie est d'origine lumineuse et la relation de Planck affirme que, pour un écart énergétique E entre l'état fondamental et le premier état excité, il faut soumettre la molécule à un rayonnement de longueur d'onde λ, telle que $E = \frac{hc}{\lambda}$ pour qu'une transition électronique entre les deux niveaux soit observée. Ce phénomène linéaire est appelé absorption à un photon puisque la molécule n'a absorbé qu'un seul photon de longueur d'onde λ.

Cependant, dans la première moitié du XX$^{\text{ème}}$ siècle, il a été démontré que l'absorption simultanée de deux photons d'énergie $\frac{E}{2}$ conduisait à la même transition électronique que précédemment sans passer par un état électronique intermédiaire.[20] Ce phénomène est appelé excitation bi-photonique (voir figure 4). Il s'agit d'un phénomène non linéaire (dépendant quadratiquement de l'intensité du faisceau incident) mettant en jeu la rencontre de trois partenaires (une molécule et deux photons). De part la très faible probabilité de cette rencontre, l'absorption bi-photonique ne peut avoir lieu que dans une zone de l'espace où la densité de photons est très grande. Dans la pratique, elle n'a lieu qu'au voisinage du point focal de la lentille qui fait converger le faisceau du laser. Le volume excité est de l'ordre de 10^{-15} litre.[21,22]

Les avantages de l'excitation bi-photonique par rapport à l'excitation mono-photonique sont :

- une grande résolution spatiale : l'ordre de grandeur du volume cellulaire étant de 10^{-12} litre, il est possible d'exciter des molécules dans un volume contenu à l'intérieur d'une cellule (voir figure 5) ;
- seules les cellules contenues dans le volume focal risquent d'être altérées par photo-blanchiment ou photo-production de radicaux libres nocifs pour le milieu vivant ;
- la longueur d'onde utilisée pour exciter les molécules est multipliée par deux par rapport à

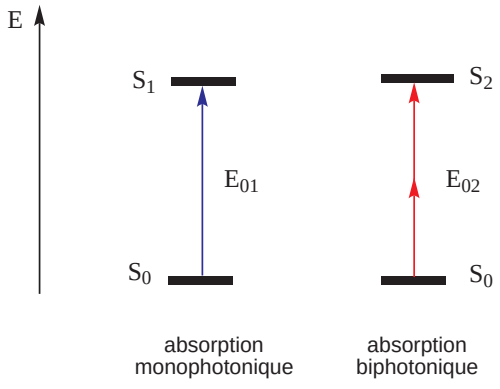


FIGURE 4 – Schéma de principe de l'absorption à un et deux photons. $E_{01} = h\nu$, $E_{02} = 2h\nu'$.

la méthode mono-photonique. Ainsi une molécule habituellement excitable par un rayonnement UV dommageable pour les cellules peut-elle désormais être excitée par un rayonnement IR moins nocif car les chromophores endogènes absorbent moins dans ces longueurs d'onde. Parallèlement, la longueur de pénétration du laser est augmentée dans le cas d'une absorption à deux photons.

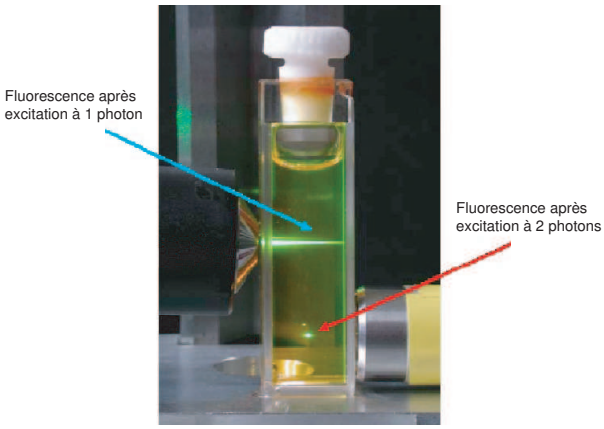


FIGURE 5 – L'absorption bi-photonique. En haut : fluorescence provenant de l'excitation par un laser classique. En bas : fluorescence provenant de l'absorption simultanée de deux photons par l'excitation infrarouge pulsée femtoseconde d'un laser Titane Saphir. (Source : http//ijm2.ijm.jussieu.fr)

Chapitre 1

Les modifications de l'acidité photo-induites dans la littérature

Introduction

Comme nous l'avons expliqué dans l'introduction générale, le photo-contrôle de la concentration en proton peut avoir de nombreuses applications tant en chimie qu'en biologie. Pour cela, un système moléculaire sensible à la lumière est nécessaire. Sous irradiation, ce système est perturbé, ce qui conduit à une modification de ses propriétés physico-chimiques et en particulier de ses propriétés acido-basiques. [a] Un tel système est appelée « photo-acide » si la modification induite par la lumière conduit à une augmentation de la concentration en protons. C'est parallèlement une « photo-base » si c'est la concentration en ions hydroxyde qui est augmentée.

Nous nous proposons donc, dans cette partie, de présenter différentes plateformes moléculaires dont les propriétés acido-basiques sont modifiées sous irradiation lumineuse. N'ayant pas la prétention d'être exhaustif, nous avons essayé de sélectionner les plateformes les plus représentatives. Pour chacune d'elles, une application relevante en chimie ou en biologie est présentée (si elle existe).

Notons enfin que les systèmes introduits dans cette partie bibliographique n'ont pas tous été utilisés *stricto sensu* pour faire varier le pH d'un milieu. Cependant, tous se sont montrés capables de modifier l'acidité du milieu au sens le plus large du terme. Ainsi, quelques systèmes dont la basicité ou l'acidité de Lewis peuvent être photo-modulées sont aussi présentés.

Ce chapitre présente trois types de plateformes photo-acides :

i. les groupements protecteurs de protons ;

ii. les molécules « super-acides » à l'état excité ;

iii. les photo-acides photochromes. [b]

À la fin de chaque partie, les avantages et les limitations les plus significatives de chaque plateforme sont évoqués.

[a]. La modification pouvant être définitive ou transitoire comme on le verra dans la suite.

[b]. Dans la partie sur le photochromisme, la présentation de la plateforme azobenzène – au cœur de ce travail de thèse – est particulièrement développée.

1.1 Les groupements protecteurs de protons

1.1.1 Présentation générale des groupements protecteurs

Depuis les années 60, une large gamme de groupements protecteurs photo-activables (ou photo-labiles) a été élaborée. Ces groupements permettent de protéger la plupart des fonctions de la chimie organique puis de les déprotéger sous excitation lumineuse orthogonalement à toute déprotection chimique traditionnelle.[23–27]

Au delà de leur application en chimie organique de synthèse, le développement de nouveaux groupements protecteurs photo-activables performants couplé à l'apparition du laser a largement contribué à l'étude de la dynamique des systèmes biologiques.[28] De nombreuses applications *in vivo* ont alors été réalisées mettant en œuvre le principe des composés protégés par des groupements protecteurs photo-activables, notamment pour l'étude des voies de signalisation cellulaire[29] ou pour le contrôle de l'expression génétique.[30]

La figure 1.1 présente le principe d'action d'un groupement protecteur photo-labile. Dans cet exemple, un substrat biologique est rendu inactif par liaison covalente avec un tel groupement. Le substrat ainsi protégé (souvent appelé « composé cagé ») est ensuite introduit dans un organisme vivant (par perméation trans-membranaire par exemple). Il est alors irradié, ce qui conduit à la photolyse du composé cagé. Le substrat libéré peut interagir avec un récépteur ce qui induit finalement une réponse biologique.

Une nouvelle dimension est atteinte avec l'apparition de l'excitation biphotonique qui permet de réaliser des activations avec une résolution spatiale de l'ordre du femtolitre. En 1994, Denk est le premier à réaliser la photo-déprotection d'un neurotransmetteur dans une cellule en utilisant l'excitation biphotonique.[21,22]

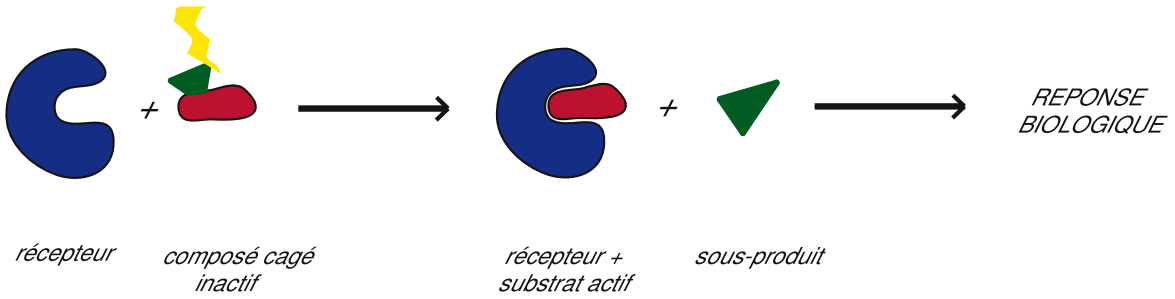


FIGURE 1.1 – *Principe d'action des groupements protecteurs photo-activables.*

De même qu'il existe des groupements protecteurs de molécules biologiques[31] ou d'ions inorganiques,[32] des groupements protecteurs de protons ont aussi été développés. Deux plateformes majeures vont être évoquées :

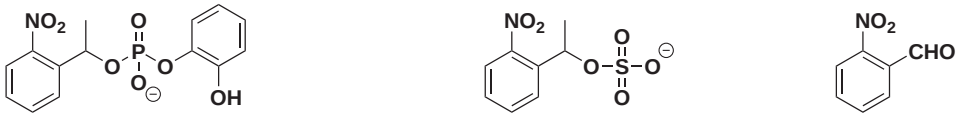
i. la plateforme ortho-nitrobenzyle ;

ii. la plateforme (coumarin-4-yl)méthyl ester. [c]

[c]. Une plateforme moins citée et basée sur la libération d'un carboxylate à partir d'un α-céto-amide a été développée.[33] Elle n'a pour l'instant pas trouvé d'application relevante.

1.1.2 Plateforme ortho-nitrobenzyle

Le groupement protecteur ortho-nitrobenzyle est le groupement protecteur photo-activable le plus étudié et le plus utilisé dans la littérature. La figure 1.2 montre trois groupements protecteurs de protons mettant en jeu le squelette ortho-nitrobenzyle.



2-hydroxyphényl-1-(2-nitrophényl)éthyl phosphate | 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate | 2-nitrobenzaldéhyde

FIGURE 1.2 – *Groupements protecteurs de protons basés sur la plateforme ortho-nitrobenzyle.*

Les deux premières molécules de la figure 1.2 sont des groupements protecteurs de phosphate[27,34] et de sulfate[27,35] respectivement et libérant également un proton. Le mécanisme de photo-déprotection du proton est présenté sur la figure 1.3.[35]

Sous irradiation lumineuse, le 1-(2-nitrophényl)éthyl ester subit le réarrangement ortho-nitrobenzyle largement étudié dans la littérature[36,37] pour donner l'acide nitronique. Ce dernier, en équilibre avec l'anion aci-nitro, peut libérer un proton. L'acide nitronique peut aussi évoluer vers la forme bicyclique qui va finalement se rompre pour libérer une cétone α-méthylée, l'espèce $\mathbf{RO}^-$ et un proton. La valeur du pK_a de l'anion $\mathbf{RO}^-$ détermine la quantité de proton que le 1-(2-nitrophényl)éthyl ester peut relâcher. En effet, si le photo-produit $\mathbf{RO}^-$ est trop basique, il va neutraliser les protons photo-générés. [d] En particulier le 2-hydroxyphényl phosphate libéré par photolyse de la molécule de 2-hydroxyphényl 1-(2-nitrophényl)éthyl phosphate présentée sur la figure 1.2 a un pK_a de 5.3, empêchant l'acidification d'une solution en dessous de pH $\approx$ 5.[34] De même, le sulfate issu de la photolyse du 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate a un pK_a de 1.9 ce qui permet d'acidifier une solution jusqu'à pH $\approx$ 2.

Le rendement quantique de libération du proton est élevé pour cette plateforme (0.47 pour le 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate)[39] et la cinétique de libération du proton (qui dépend aussi des pK_a de l'acide nitronique et du photo-produit libéré) est rapide : par exemple le 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate libère environ 1 mM de protons en 200 μs en partant de pH = 7 en excitant à 355 nm par un flash laser d'une durée d'une nanoseconde avec une énergie de l'ordre d'une centaine de millijoules.[38,39]

La troisième molécule présentée sur la figure 1.2, l'ortho-nitrobenzaldéhyde, a une photochimie légèrement différente de celle des esters de phosphate ou de sulfate protégés.[39,40] La figure 1.4 présente le mécanisme de la libération de protons.

Sous irradiation, l'ortho-nitrobenzaldéhyde subit lui-aussi le réarrangement ortho-nitrobenzyle pour donner un acide nitronique capable de relâcher un proton pour donner l'anion aci-nitro. L'acide peut aussi se refermer sous forme d'une molécule cyclique qui évolue ultimement pour générer un

[d]. L'étude complète du mécanisme est plus complexe puisque deux phénomènes de libération du proton sont en compétition. Le premier vient de la formation de l'acide nitronique puis de son ionisation. Le second émane de la rupture du bicycle. Ces deux phénomènes n'ont d'ailleurs pas la même cinétique. La référence[38] étudie ce mécanisme en détail.

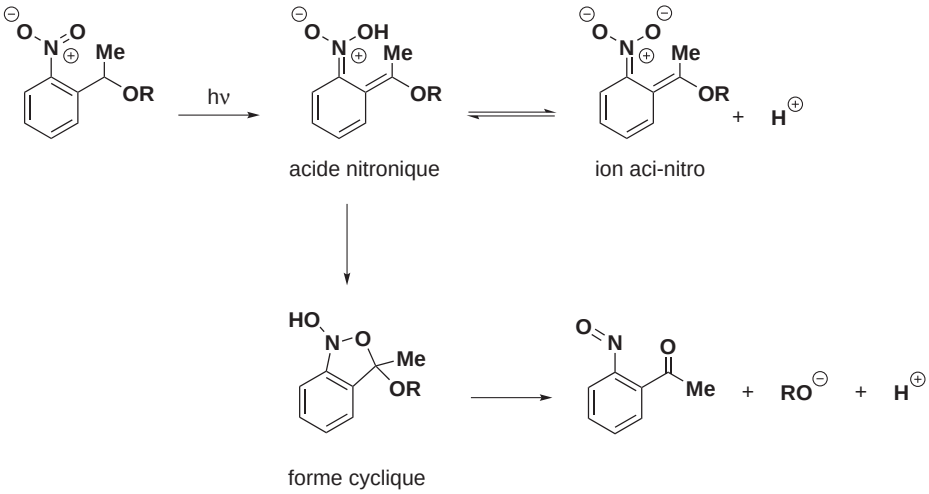


FIGURE 1.3 – *Mécanisme illustrant la libération d'un proton sous illumination d'une molécule de la plateforme 1-(2-nitrophényl)éthyl ester.*

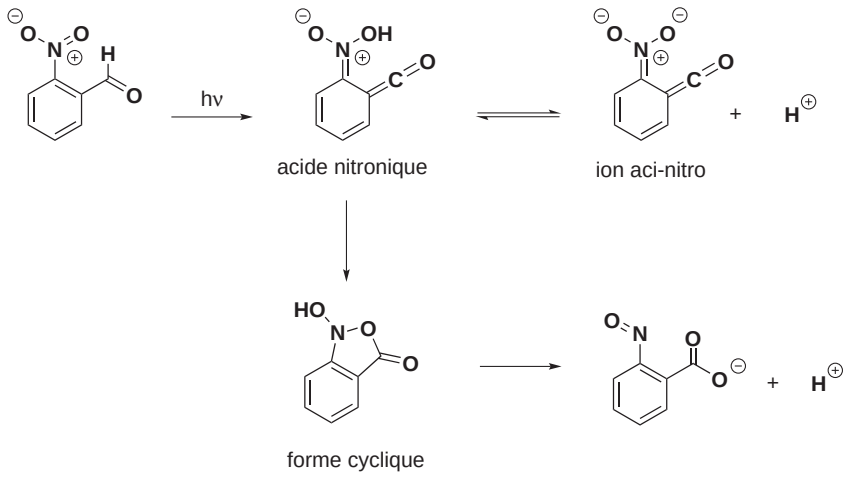


FIGURE 1.4 – *Mécanisme illustrant la libération d'un proton sous illumination d'une molécule de la plateforme ortho-nitrobenzaldéhyde.*

ion carboxylate et un proton.[41]

Comme dans le cas des esters protégés, la valeur du pK_a du photo-produit est cruciale. Dans le cas de la molécule d'ortho-nitrobenzaldéhyde, l'ion carboxylate produit a un pK_a d'environ 3.5[40] ce qui rend cette molécule moins adaptée que le 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate à générer de larges modifications du pH. *A contrario*, Abbruzzetti *et al.* ont montré que la libération des protons est plus rapide avec la plateforme ortho-nitrobenzaldéhyde : par exemple dans les mêmes conditions expérimentales (pH initial de 7, excitation par un flash laser d'une durée d'une nanoseconde à 355 nm et d'une énergie de l'ordre d'une centaine de millijoules) la libération d'environ 1 mM de protons est obtenue en quelques nanosecondes avec la molécule ortho-nitrobenzaldéhyde[39] alors qu'elle prend environ 200 μs avec le 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate. [e]

À titre d'exemple d'utilisation des groupements protecteurs de protons de la plateforme ortho-nitrobenzyle, le 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate a été récemment utilisé pour induire le dépliement de la myoglobine sous excitation lumineuse.[39] En effet, à l'état natif, la myoglobine a une conformation hautement repliée dans laquelle l'hème se trouve dans une poche hydrophobe. En milieu acide (vers pH = 4) la myoglobine subit des modifications conformationnelles qui conduisent à son dépliement provoquant ultimement la libération de l'hème. Abbruzzetti *et al.* ont ainsi montré qu'il était possible d'induire ce dépliement en irradiant la myoglobine en présence de 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate. La cinétique de ce dépliement a été étudiée en suivant l'évolution de l'absorbance de l'hème en fonction du temps. La figure 1.5 montre la variation de l'absorbance de la myoglobine à 633 nm après application de pulses laser d'intensité variable à 355 nm. L'ajustement des courbes a permis de montrer que la cinétique du processus de dépliement dû à l'acidification du milieu était en accord avec les modèles généralement proposés par la littérature.

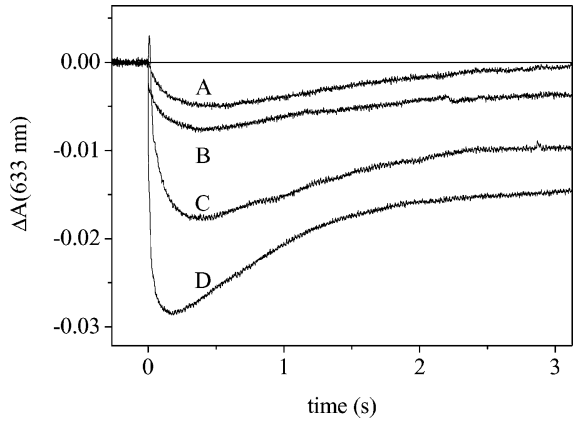


FIGURE 1.5 – *Cinétiques du dépliement en condition acide de la myoglobine après photolyse d'une durée d'une nanoseconde du 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate par un unique pulse laser à 355 nm. Les différentes courbes correspondent à différentes énergies du pulse laser : 40 (A), 60 (B), 80 (C) et 120 mJ (D). T = 20 °C et pH initial 7.05. Reproduit d'après Abbruzzetti et al.*[39]

[e]. Le pK_a de l'acide nitronique joue un rôle important dans la cinétiques de libération et diffère largement entre l'ortho-nitrobenzaldéhyde (2.1[38]) et le 1-(2-nitrophényl)éthyl sulfate (3.7[39]).

1.1.3 Plateforme (coumarin-4-yl)méthyl ester

La protection d'un alcool, d'une amine ou d'un acide carboxylique par une coumarine a été intensément étudiée et appliquée en milieu biologique[42–44] mais ce n'est que depuis le début des années 2000 que l'utilisation de protons cagés par des coumarines a été développée. La figure 1.6 montre quelques structures de groupements protecteurs de protons de la plateforme (coumarin-4-yl)méthyl ester. Par ailleurs, la figure 1.7 présente le mécanisme de photo-déprotection du proton : l'absorption d'un photon génère un état excité de la coumarine qui conduit, *via* un mécanisme de type SN1, à l'ionisation de la molécule puis à l'addition d'une molécule d'eau qui libère finalement un de ses protons. Ainsi, comme expliqué dans le cas des groupements protecteurs précédents, dès lors que l'espèce ionique $\mathbf{X}^-$ n'est pas trop basique, il est possible d'acidifier le milieu. En particulier, l'ion diéthylphosphate, le méthane sulfonate ou le sulfate ont des pK_a respectivement de 0.71, -1.54 et 1.98[45] permettant d'obtenir des solutions de pH proche de 1 sous illumination.

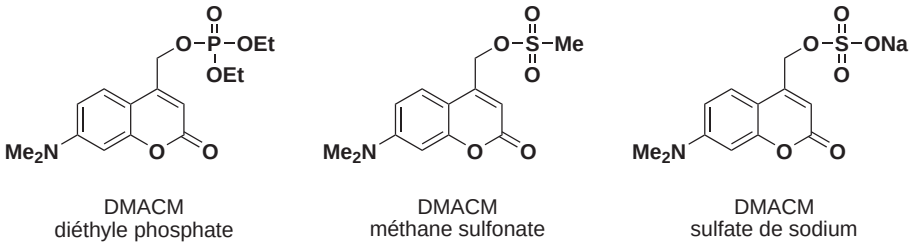


FIGURE 1.6 – *Groupements protecteurs de protons basés sur la plateforme (coumarin-4-yl)méthyl ester. DMACM : (7-(diméthylamino)coumarin-4-yl)méthyl.*

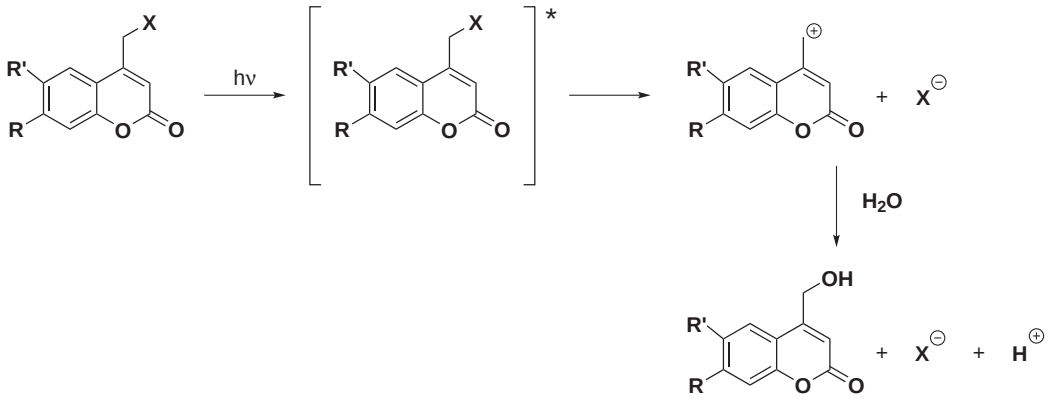


FIGURE 1.7 – *Mécanisme illustrant la libération d'un proton sous illumination d'une molécule de la plateforme (coumarin-4-yl)méthyl ester.*

Les molécules présentées absorbent généralement dans le proche UV (aux alentours de 330–365 nm) et possèdent des sections efficaces de photo-déprotection environ trois fois plus élevées que celles des groupements protecteurs de la série ortho-nitrobenzyle.[45] Ainsi, en appliquant un pulse lumineux d'une durée d'une nanoseconde et d'énergie 200 mJ, le pH d'une solution initialement neutre et contenant 200 μM de DMACM sulfate de sodium chute de 3 unités avec un temps caractéristique

de l'ordre de quelques nanosecondes. De plus les molécules de cette plateforme peuvent subir une déprotection par excitation biphotonique à 728 nm.

La molécule DMACM diéthyle phosphate a été utilisée par Serowy *et al.* pour évaluer le coefficient de diffusion des protons à la surface d'une membrane lipidique.[46] Pour cela les auteurs ont enrichi une membrane lipidique avec des lipides marqués par une fluorescéine dont l'intensité de fluorescence varie avec le pH. Cette membrane ainsi modifiée est mise en contact avec une solution contenant la molécule DMACM diéthyle phosphate. Une petite zone de la membrane a été irradiée par un flash UV pour générer un pulse de protons qui vont diffuser à la surface de la membrane. L'évolution de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine indicatrice du pH a été suivie dans une autre zone distante d'une longueur *s* de la première (voir figure 1.8). Ainsi, le moment où la fluorescence de la fluorescéine commence à évoluer indique l'arrivée des protons dans la zone d'observation. L'étude du temps caractéristique de variation de la fluorescence dans la zone d'observation en fonction de la distance *s* permet ainsi de remonter au coefficient de diffusion des protons à la surface de la membrane.[46]

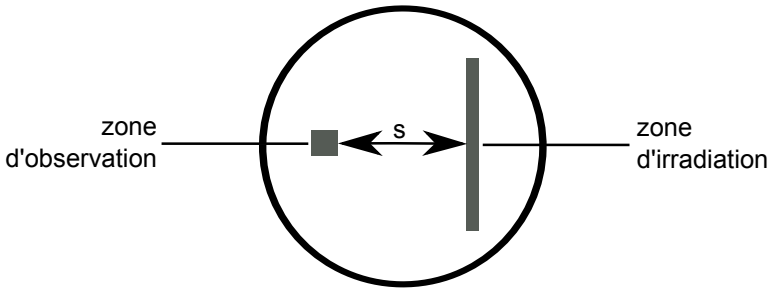


FIGURE 1.8 – *Schéma représentant la surface de la membrane enrichie en lipides fluorescents utilisée par Serowy et al. La zone d'irradiation correspond à la surface sur laquelle un pulse UV a été envoyé pour libérer des protons par photo-excitation du DMACM diéthyle phosphate. La variation de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine a été suivie dans la zone d'observation. Reproduit d'après Serowy et al.*[46]

1.1.4 Avantages et limitations des groupements protecteurs de protons

Bien que nous n'en ayons cité que deux, il existe de nombreuses autres applications des groupements protecteurs de protons tant dans le domaine de la chimie[47] que de la biologie.[31,34,48]

L'attrait pour ce type de système a plusieurs origines :

- de nombreux groupements protecteurs existent et certains d'entre eux – dont le groupement ortho-nitrobenzyle – ont été étudiés de manière extensive et continuent de donner lieu à de nombreuses publications ;
- certains composés comme le 2-hydroxyphényl-1-(2-nitrophényl)éthyl phosphate sont commerciaux ;
- la vitesse de photo-déprotection est rapide (largement au delà des temps accessibles avec les méthodes d'introduction mécaniques) ;

Cependant deux limitations majeures sont à noter :

– la perturbation de la concentration en protons obtenue avec des groupements protecteurs est irréversible. Il n'est donc pas possible d'imaginer une modulation périodique du pH basée sur ce type de plateforme ;
– les sous-produits de la photo-déprotection de type 2-nitrosoarylcarbonyles sont présentés comme des composés très réactifs et potentiellement toxiques pour les systèmes biologiques ce qui limite les applications *in vivo*.[49]

1.2 Les « super acides » à l'état excité

1.2.1 Présentation de la plateforme

Certains composés aromatiques sont connus pour subir une forte modification de leur distribution électronique sous excitation lumineuse les rendant ainsi largement plus acides à l'état excité qu'à l'état fondamental.[50] De manière plus précise, Förster a montré que cet effet se manifeste dès lors que la base conjuguée (notée **A**) de l'acide en question (noté **AH**) présente un déplacement bathochrome de son maximum d'absorption ou d'émission. Il a ainsi démontré que si les réactions acide-base impliquant les espèces à l'état fondamental (**AH** et **A**) et à l'état excité (notées $\mathbf{AH}^*$ et $\mathbf{A}^*$) sont à l'équilibre thermodynamique, alors la différence entre le pK_a du couple à l'état fondamental (noté pK_a) et à l'état excité (noté pK_a^*) est donnée par la relation :

$$\mathrm{p}K_a^* - \mathrm{p}K_a = \frac{h\nu_2 - h\nu_1}{2.3RT} \tag{1.1}$$

où ν_1 et ν_2 sont les fréquences associées aux transitions entre **AH** et $\mathbf{AH}^*$ et **A** et $\mathbf{A}^*$ respectivement.

Le diagramme d'états simplifié de la figure 1.9 permet de justifier ce résultat puisque $\mathrm{p}K_a^* = \Delta G_a^*/2.3RT$ et $\mathrm{p}K_a = \Delta G_a/2.3RT$.

Ainsi, toutes les molécules prototropes qui se colorent lorsqu'elles sont déprotonées sont sensées être de puissants acides à l'état excité. Cependant, pour que la libération d'un proton sous excitation soit efficace, il faut que la vitesse de la rupture de la liaison entre l'hydrogène et le reste de la molécule soit plus rapide que les vitesses des processus de relaxation radiatifs et non-radiatifs. Ainsi seules quelques molécules dont les liaisons avec l'hydrogène sont particulièrement fragiles ou qui ont un état excité particulièrement stable présentent réellement un caractère acide à l'état excité.[51]

Parmi ces molécules, on trouve de nombreux hydroxyarènes comme la pyranine (hydroxypyrènetrisulfonate), les naphtols et les naphtolsulfonates représentés sur la figure 1.10.[f] À l'état fondamental le pK_a de la fonction phénol est de l'ordre de 10. À l'état excité, le pK_a peut chuter à des valeur très faibles, parfois négatives. On parle alors de « super acide » à l'état excité.[51] Ainsi, les molécules de la figure 1.10 présentent une forte variation de leur acidité à l'état excité et leur étude a montré qu'elles ont les caractéristiques cinétiques adaptées pour libérer des protons sous excitation lumineuse.[52–55]

Smith *et al.* ont mis en évidence une variation de la quantité de protons d'un milieu sous excitation lumineuse en irradiant la pyranine à 347 nm avec un laser délivrant des pulses d'environ 50 mJ et d'une durée de 50 ns. Le temps caractéristique d'éjection du proton a été évalué à quelques dizaines

[f]. Ces molécules ont été particulièrement étudiées car elles sont commerciales, stables thermiquement et photochimiquement et présentent une forte fluorescence (ce qui facilite leurs études spectroscopiques).

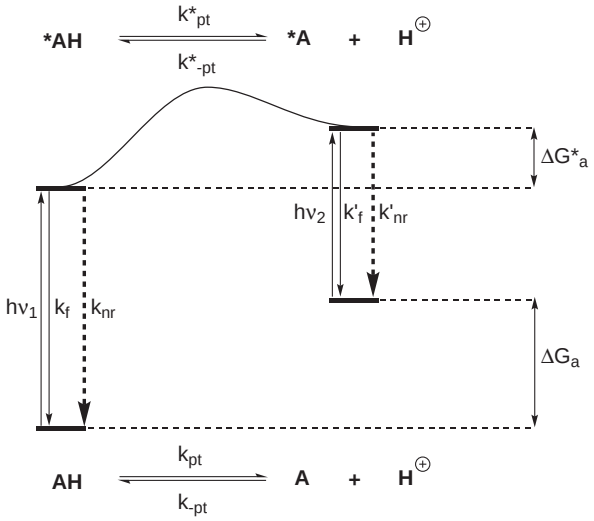


FIGURE 1.9 – *Diagramme d'états simplifié permettant de justifier l'équation 1.1. k_{pt}, k_{-pt}, k^*_{pt} et k^*_{-pt} sont les constantes cinétiques associées aux réactions acido-basiques à l'état fondamental et à l'état excité. k_f, k'_f, k_{nr} et k'_{nr} sont les constantes de vitesse de processus radiatifs et non radiatifs respectivement. Reproduit de Tolbert et al.*[51]

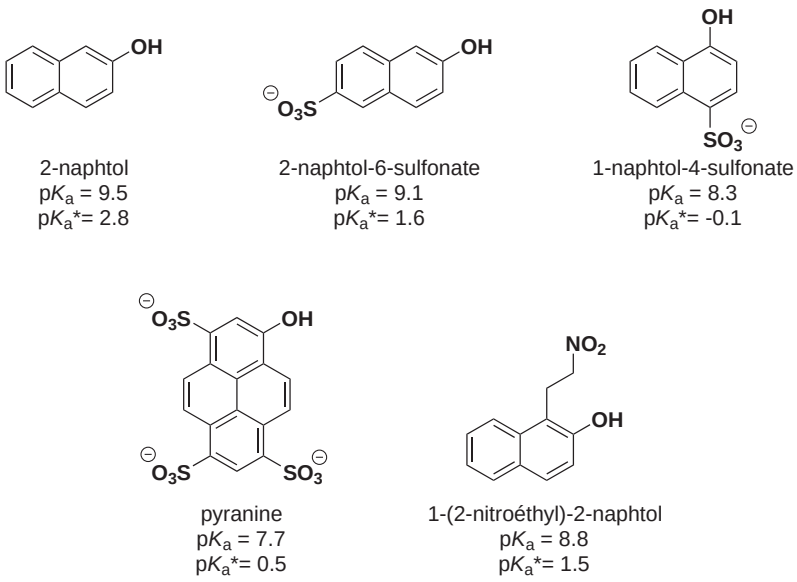


FIGURE 1.10 – *Valeurs des pK_a de l'état fondamental et de l'état excité des molécules 2-naphtol,*[52] *2-naphtol-6-sulfonate,*[55] *1-naphtol-4-sulfonate,*[50] *pyranine*[53] *et 1-(2-nitroéthyl)-2-naphtol.*[54]

de picosecondes.[56] Une fois libérés les protons peuvent réagir avec les bases présentes dans le milieu (dont le solvant).

Ainsi, la protonation d'un indicateur de pH et le suivi de son absorbance ou de sa fluorescence permet de déterminer la quantité de protons relâchés et d'étudier la cinétique de relaxation. En utilisant le vert de bromocrésol dont le pK_a vaut 4.7, Gutman *et al.* ont mis en évidence la libération d'environ 10^{-4} M de proton à partir d'une solution initialement à pH neutre, soit une variation d'environ trois unités de pH dans les mêmes conditions que Smith *et al.*[53]

Le pH revient ensuite à sa valeur initiale environ 1 μs après la fin du pulse laser. Ce temps est largement plus grand que celui de désexcitation du photo-acide (le temps de vie de l'état excité de la pyranine est de l'ordre de quelques nanosecondes[56]). En effet, la déprotonation de l'indicateur coloré (ou de toute base qui a été protonée lors de l'expérience) et le retour du proton sur la base conjuguée du photo-acide est généralement l'étape cinétiquement déterminante.[57] Pour le vert de bromocrésol le temps de déprotonation a été estimé à environ une microseconde.[53]

Les transferts de proton à l'état excité des dérivés du naphtol ont été largement étudiés théoriquement, en particulier dans le contexte de l'analyse de la dynamique des transferts de protons en solution aqueuse.[51,52,58] Par ailleurs, l'utilisation des « super-acides » a donné lieu à quelques applications pour l'étude des transferts de protons en milieu biologique.[59,60]

À titre d'exemple, Nachliel *et al.* ont étudié la réponse de l'enzyme lactose perméase de *Escherichia coli* à une série de pulses de protons générés par irradiation de la pyranine.[61] Pour cela, la protéine a été modifiée par adjonction covalente d'un fluorophore sensible à la présence de protons. Soumise à des pulses de protons à différents pH initiaux, Nachliel *et al.* ont pu montrer que la cinétique de diffusion des protons vers certains résidus de la protéine pouvait varier sur cinq ordres de grandeur. Ils ont ainsi mis en évidence l'existence de deux formes conformères de la protéine dont la stabilité relative est réglée par le pH du milieu.

1.2.2 Avantages et limitations des molécules « super acides » à l'état excité

Les photo-acides à l'état excité ont l'avantage de libérer une quantité importante de protons à une échelle de temps de l'ordre de quelques nanosecondes. De plus, les molécules utilisées sont généralement faciles d'accès et fluorescentes ce qui favorise leurs études physico-chimiques. Contrairement aux groupements protecteurs de proton, aucun sous-produit toxique n'est formé.

Par ailleurs, la réaction de protonation est réversible, ce qui peut permettre de moduler périodiquement la libération des protons à condition d'exciter périodiquement le système (ce qui est aisé avec un laser pulsé).

A contrario, le temps de relaxation des molécules à l'état excité est très court (quelques nanosecondes). Ainsi, la libération d'une quantité notable de protons nécessite l'utilisation d'une excitation lumineuse puissante. On ne peut donc pas imaginer de modifier le pH d'une solution de plusieurs millilitres en utilisant cette plateforme. [g]

[g]. L'intensité des pulses lumineux ne peut pas être augmentée à l'infini sous peine de détruire les molécules, de chauffer intensément le solvant ou d'endommager le dispositif d'étude.

De même, il n'est pas possible d'obtenir une acidification d'une durée plus grande que la microseconde avec des conditions d'éclairement compatibles avec les systèmes d'étude. C'est pourquoi de nouvelles molécules permettant une acidification d'une durée plus longue ont été mises au point. Ainsi, Nunes *et al.* ont montré récemment que le 1-(2-nitroéthyl)-2-naphtol (voir figure 1.10) irradié par un pulse laser de 3 mJ d'une durée de 5-6 ns à 266 nm permet de diminuer le pH d'une solution neutre d'environ une unité.[54] Le temps caractéristique de retour à la neutralité est d'environ une seconde ce qui permet de sonder des systèmes chimiques plus lents que ceux étudiés par Gutman *et al.*

1.3 Les photo-acides photochromes

1.3.1 Présentation générale des molécules photochromes

Le photochromisme est défini comme la transformation réversible d'une espèce chimique **A** sous une excitation lumineuse en une autre espèce chimique **B**, les deux espèces **A** et **B** ayant des spectres d'absorption différents.[62–64] La figure 1.11 donne l'exemple de la transformation **A** $\rightleftharpoons$ **B** dans laquelle la molécule **A** (stable thermiquement), est transformée en **B** par excitation dans l'UV. La réaction inverse peut être activée thermiquement ou photochimiquement en excitant **B** à longueur d'onde plus élevée (ici environ 600 nm).

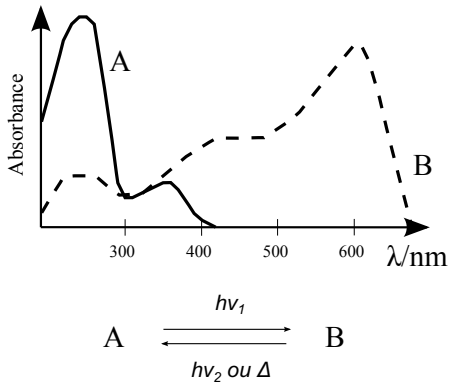


FIGURE 1.11 – *Reproduit de Bouas-Laurent et al.*[62]

S'il existe quelques photochromes naturels comme le rétinal ou le phytochrome Pr,[62] la plupart d'entre eux sont synthétisés à des fins académiques ou industrielles. Quelques exemples de molécules photochromes parmi les plus couramment utilisées sont fournis sur la figure 1.12. Tous ces systèmes ont été particulièrement bien décrits dans la littérature, sont facilement fonctionnalisables et sont connus pour être résistants à la fatigue. [h] Certains systèmes présentent une réversibilité thermique (spiropyranes, spirooxazines[65] et certains azobenzènes[66,67]). Pour d'autres, la réaction de réisomérisation B→A n'est contrôlée que par la lumière (diaryléthènes,[68] fulgides,[69] certains azobenzènes[70,71]). La liste des systèmes photochromes ne se limite pas aux exemples de la figure 1.12 puis-

[h]. La fatigue d'un composé photochrome peut être définie comme la perte de réversibilité due à la photo-dégradation, au photo-blanchiment, à la photo-oxydation ou à toute autre réaction parasite.

qu'on trouve aussi les chalcones, les alcènes, les quinones, de nombreux sels inorganiques *etc.*[62]

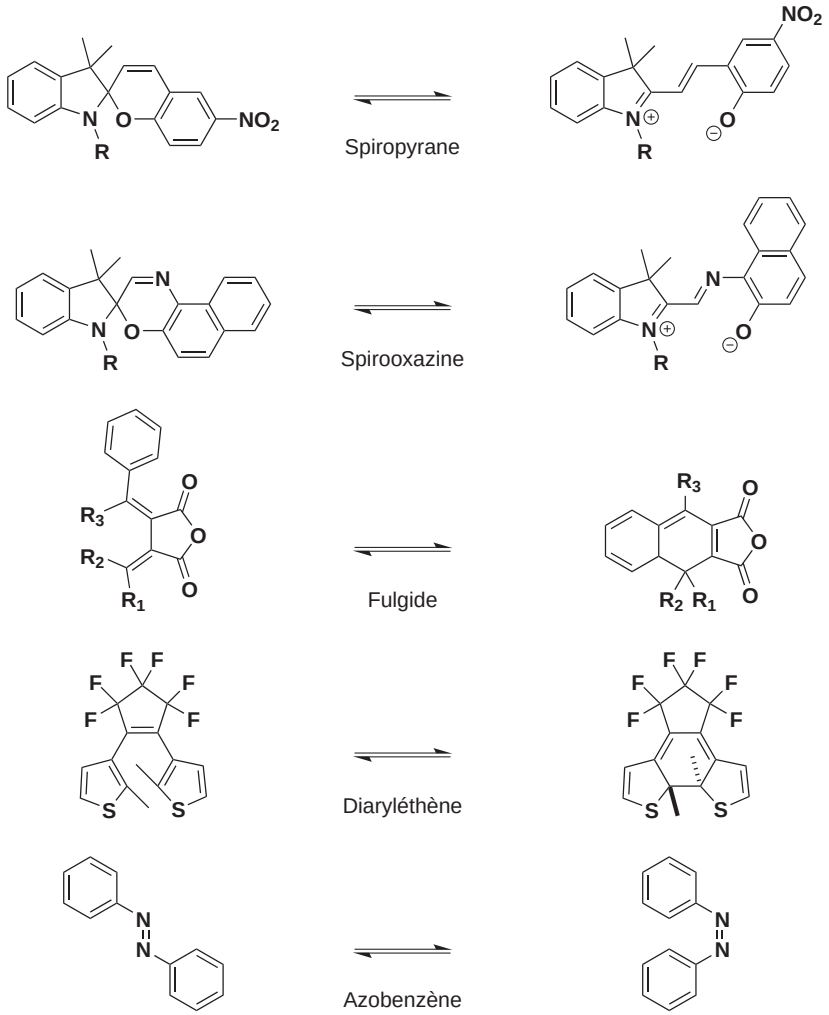


FIGURE 1.12 – *Exemples de plateformes photochromes parmi les plus utilisées.*

En chimie fondamentale, les applications des molécules photochromes sont nombreuses : stockage de données,[72] commutation optique,[69,73,74] optique non linéaire,[75] chimie supramoléculaire,[76] machines moléculaires[77] *etc.*

En chimie industrielle, l'application la plus courante du photochromisme appartient au champ des verres ophtalmiques : des molécules photochromes sont introduites dans le matériau composite des verres de lunette. Les verres s'assombrissent ainsi quand la lumière du soleil est trop forte et redeviennent translucides quand la lumière baisse (voir figure 1.13).[78]

Enfin, le photochromisme est un champ très vaste et aujourd'hui encore en pleine extension. La littérature compte ainsi plus de 10000 références sur le domaine (dont la moitié publiées depuis 20 ans) et plusieurs ouvrages et revues lui sont consacrés.[79,80] Dans cet exposé, nous ne retiendrons donc que les photochromes qui ont été utilisés pour photo-moduler l'acidité d'un milieu.

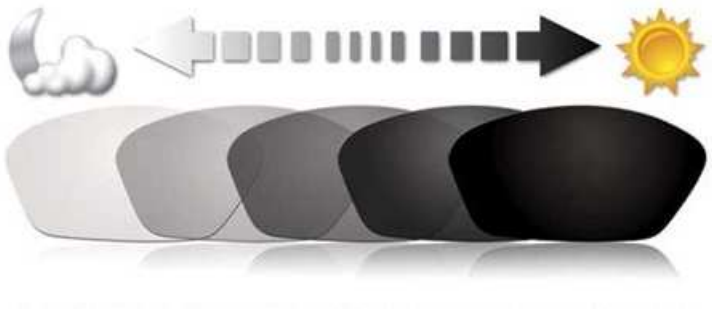


FIGURE 1.13 – *Dessin illustrant le rôle de molécules photochromes dans des verres de lunette : les verres s'assombrissent quand il y a du soleil et redeviennent transparents la nuit ou si le ciel se couvre.*

1.3.2 Plateforme diaryléthène

Les diaryléthènes possédant deux groupements thiophènes reliés à un cyclopentène perfluoré sont les photochromes thermiquement irréversibles les plus utilisés du fait de leur très grande résistance à la fatigue [i] et de leur grande sensibilité. [68,81]

Les équipes de Lehn [82] puis d'Irie, [83] se sont appuyées sur ce type de photochromisme pour construire une plateforme dont le pK_a varie sous excitation lumineuse.

La figure 1.14 montre la structure d'une des molécules synthétisées par Irie *et al.* ainsi que la réaction d'électro-cyclisation photochimique permettant de passer de la forme ouverte (possédant une structure hexatriène) à la forme fermée (possédant une structure cyclohexadiène). Le dosage spectrophotométrique du phénol des formes ouvertes et fermées dans un mélange méthanol / eau (5/2) a montré que la forme ouverte a un pK_a de 10.2 alors que celui de la forme fermée vaut 9.0.

La différence d'acidité entre les deux formes est due à la différence de conjugaison le long du squelette carboné. Dans la forme ouverte, le phénol est conjugué à un groupement **OMe** qui est mésomère donneur alors que dans la forme fermée, il est conjugué à un pyridinium qui est mésomère attracteur. Le phénolate conjugué est déstabilisé dans la forme ouverte et stabilisé dans la forme fermée, d'où une forme ouverte moins acide que la forme fermée.

À notre connaissance, cette molécule n'a pas encore trouvé d'application.

1.3.3 Plateforme triphénylméthane

Les leucohydroxides de triphénylméthane sont connus pour être des molécules photochromes qui subissent une rupture hétérolytique de la liaison C–O sous irradiation UV. [79] La figure 1.15 illustre ce photochromisme sur l'exemple de la base carbinol du vert malachite. Les rendements quantiques de cette réaction sont généralement importants (entre 0.25 et 1 selon la molécule et le solvant [84]) si bien que la rupture de la liaison peut avoir lieu en un temps caractéristique de l'ordre de quelques dizaines de microsecondes. [85]

Irie a ainsi utilisé ce processus pour générer des ions hydroxyde sous irradiation UV. [85] La base car-

[i]. Certains diaryléthènes sont capables de subir 13000 cycles sans se dégrader significativement. [80]

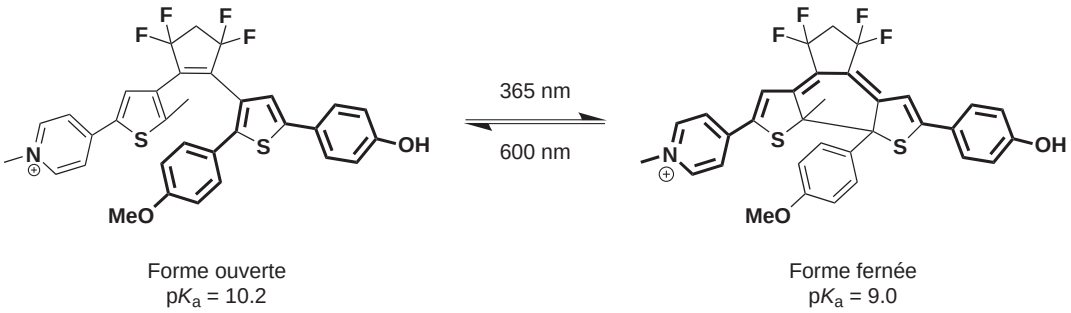


FIGURE 1.14 – *Photo-conversion entre les deux isomères de la molécule synthétisée par Irie et al. dont les valeurs des pK_a (déterminées dans un mélange méthanol / eau (5/2)) diffèrent.*

binol du vert malachite étant peu soluble dans l'eau, il a rajouté un surfactant cationique (le chlorure de dodécyltriméthylammonium) au système.

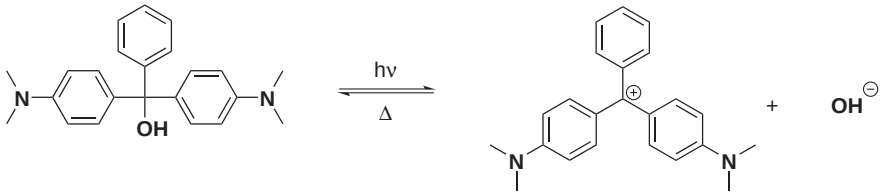


FIGURE 1.15 – *Bilan de la photo-dissociation de la base carbinol du vert malachite.*

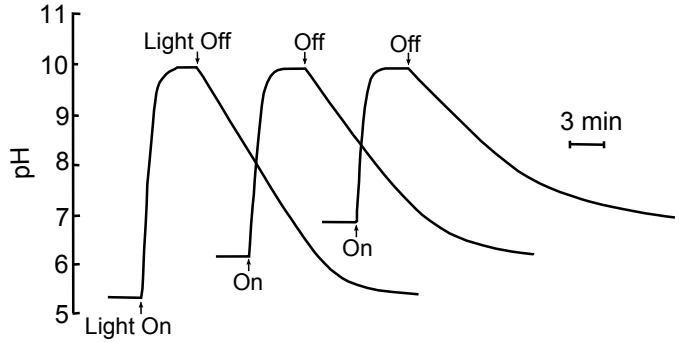


FIGURE 1.16 – *Variation photo-induite du pH d'une solution aqueuse contenant la base carbinol du vert malachite (à la concentration de 4.8 10^{-4} M) et du chlorure de dodécyltriméthylammonium (à la concentration de 10^{-1} M) irradiée dans l'UV. Le pH a été mesuré avec un pHmètre. Le pH initial est contrôlé par ajout de soude. T = 35 °C. Reproduit depuis Irie.*[85]

La figure 1.16 montre l'évolution du pH d'une solution aqueuse contenant la base carbinol du vert malachite et du chlorure de dodécyltriméthylammonium irradiée dans l'UV. [j] L'expérience a été répétée trois fois avec des pH initiaux différents. On voit que dans le meilleur des cas, une variation de près de 5 unités de pH est atteinte. Quand l'excitation UV est coupée, le système relaxe thermiquement vers le pH initial sur une durée d'une quinzaine de minutes : l'ion hydroxyde initialement libéré

[j]. L'intensité de lumineuse utilisée n'est pas précisée dans l'article, pas plus que la valeur exacte de la longueur d'onde.

se ré-additionne sur le cation triphénylméthane pour redonner la base carbinol du vert malachite.

Irie a par ailleurs montré que la dynamique de relaxation thermique du système peut être modulée en changeant les substituants de la molécule. Par exemple, la sulfonation du phényle non substitué de la base carbinol du vert malachite augmente le temps de relaxation thermique d'un facteur 10. [k] Par contre, la transformation d'un des deux substituants diméthylamine de la molécule en triméthylammonium diminue le temps de relaxation thermique d'un facteur environ 5.[85] À cette date, aucune étude systématique de cette dynamique de relaxation thermique n'a cependant été réalisée.

Ce système a été appliqué par Liu *et al.* au photo-contrôle de la conformation d'un brin d'ADN.[86] La littérature explicite plusieurs stratégies pour réaliser un tel photo-contrôle mais toutes ces stratégies utilisent des groupements protecteurs photo-labiles covalemment liés au brin d'ADN : le brin d'ADN utilisé n'est donc pas naturel.[87,88] Liu *et al.* utilisent un 21 mer d'ADN 5'-CCCTAACCCTAACCCTAACCC-3' non modifié connu pour changer de conformation en conditions légèrement acides. En milieu neutre ou basique la séquence d'ADN est sous forme d'un simple brin. En milieu acide, elle se replie sur elle-même pour donner une structure nommée « motif en i »[89] (voir figure 1.17 **a**). Cette organisation particulière du brin est due à une interaction faible de type liaison hydrogène entre une cytosine et une cytosine protonée (voir figure 1.17 **b**). La modification de la conformation entre l'état simple brin et l'état « motifs en i » peut être mise en évidence par spectroscopie de dichroïsme circulaire.

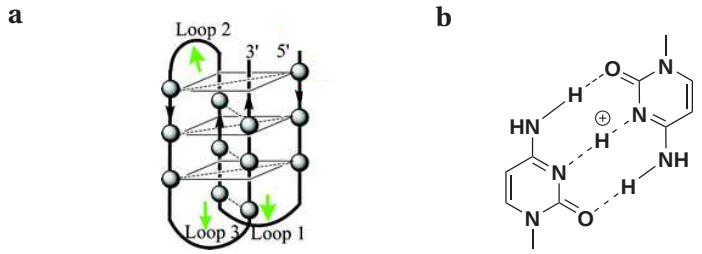


FIGURE 1.17 – ***a*** *: schéma d'un brin d'ADN qui prend une conformation de type « motif en i ».* ***b*** *: interaction faible entre une cytosine et une cytosine protonée responsable de la stabilité de la conformation de type « motif en i » d'un brin d'ADN.*

Le dessin de la figure 1.18 **a** présente le schéma de principe de l'expérience proposée par Liu *et al.* Une solution contenant le brin d'ADN 5'-CCCTAACCCTAACCCTAACCC-3', la base carbinol du vert malachite et du chlorure de dodécyltriméthylammonium est éclairée par une lampe UV. Initialement le système est légèrement acide et l'ADN est donc sous forme de « motif en i ». Sous irradiation, le système photochrome étudié par Irie libère des ions hydroxyde, le pH du milieu augmente, les cytosines sont finalement déprotonées et la forme « motifs en i » devient instable. Quand l'excitation lumineuse est coupée, les ions hydroxyde sont captés par le cation triphénylméthane, le pH diminue, les cytosines se protonent et les « motifs en i » se reforment. La figure 1.18 **b** montre l'évolution de l'ellipticité à 285 nm au cours du temps. [l] Cette évolution temporelle met en évidence le photo-contrôle de la

[k]. Cet effet est dû à l'interaction coulombienne répulsive qui défavorise le retour de l'ion hydroxyde.

[l]. Une expérience préliminaire a montré qu'une valeur élevée de l'ellipticité à 285 nm caractérise la forme « motifs en i » alors qu'une valeur faible caractérise la forme simple brin.[86]

modulation périodique de la conformation de l'ADN. [m]

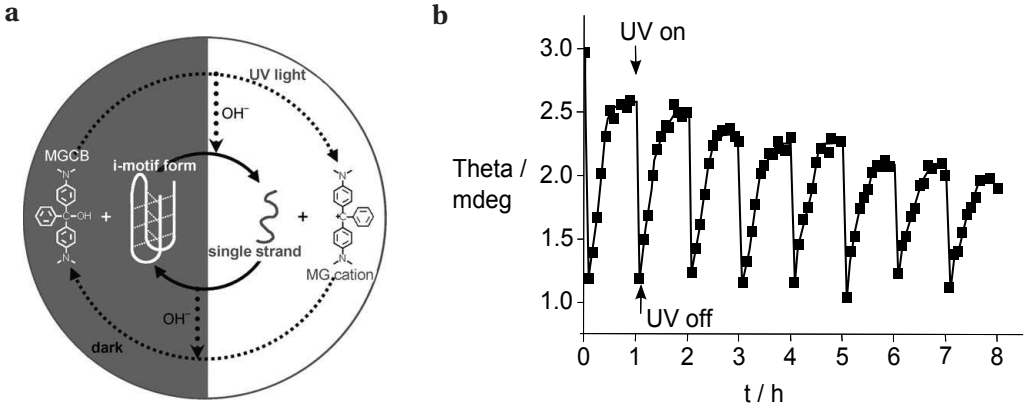


FIGURE 1.18 – ***a*** *: Schéma de principe de l'expérience de photo-modulation de la conformation du brin d'ADN 5'-CCCTAACCCTAACCCTAACCC-3' en présence de la base carbinol du vert malachite et du chlorure de dodécyltriméthylammonium.* ***b*** *: Suivi de l'évolution de l'ellipticité en fonction du temps d'une solution contenant le brin d'ADN 5'-CCCTAACCCTAACCCTAACCC-3', la base carbinol du vert malachite et du chlorure de dodécyltriméthylammonium. Reproduit depuis Liu et al.*[86]

1.3.4 Plateforme azobenzène

La plateforme azobenzène est caractérisée par un squelette moléculaire dans lequel deux noyaux aromatiques sont reliés par une liaison azo **N**=**N**. La molécule la plus simple de la plateforme est l'azobenzène dont la structure est présentée sur la figure 1.21 **a**.

On divise généralement les azobenzènes en trois classes en fonction de l'énergie des transitions $n \rightarrow \pi^*$ et $\pi \rightarrow \pi^*$ comme illustré sur la figure 1.19 :[70]

i. la classe « azobenzène » dont les membres présentent généralement une bande intense dans le proche UV correspondant à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ et une bande plus faible dans la limite inférieure du visible correspondant à la bande $n \rightarrow \pi^*$;

ii. la classe « aminoazobenzène » dont les membres possèdent un groupement électrodonneur en position ortho ou para d'un des noyaux aromatiques (typiquement un groupe dialkylamino ou alkylhydroxyle). La transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est ainsi déplacée vers le rouge par effet bathochrome dû à l'augmentation de la conjugaison. La transition $n \rightarrow \pi^*$ est globalement peu sensible à la modification de structure : la bande reste faible et dans la limite inférieure du visible (elle peut apparaître comme un épaulement à la bande de la transition $\pi \rightarrow \pi^*$).

iii. la classe « pseudostilbène » dont les membres possèdent un effet *push-pull* dû à un substituant électrodonneur en ortho ou para d'un des noyaux aromatiques et à un substituant électroattracteur en ortho ou para de l'autre (typiquement un groupement nitro). Pour ces composés, la bande correspondant à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est encore plus déplacée vers le rouge et elle recouvre intégralement la bande $n \rightarrow \pi^*$ qui n'est généralement pas visible.

[m]. La diminution de de la valeur moyenne de l'ellipticité est attribuée à la photo-dégradation de l'ADN.

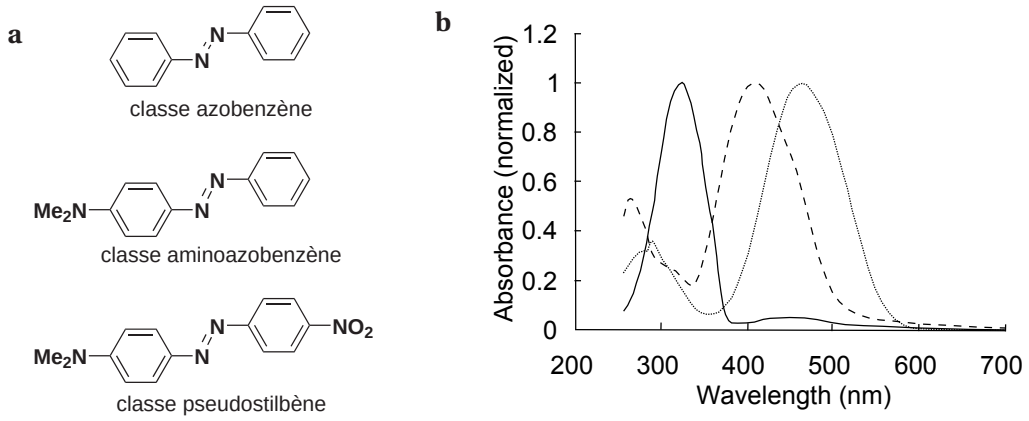


FIGURE 1.19 – ***a*** *: Structures de trois molécules appartenant aux trois différentes classes d'azobenzène : l'azobenzène, le 4-diméthyaminoazobenzène et le 4-diméthylamino-4'-nitroazobenzène.* ***b*** *: Spectres d'absorption dans le n-hexane associés à ces trois molécules. Traits : azobenzène ; tirets : aminoazobenzène ; pointillés : pseudostilbène.*[70] *Reproduit et adapté d'après Deloncle.*[90]

La photoisomérisation modifie considérablement le spectre d'absorption de la molécule comme illustré sur la figure 1.20 pour le 4-diméthylaminoazobenzène. L'intensité de la bande correspondant à la transition $\pi \rightarrow \pi^*$ est réduite et la bande se déplace vers le bleu. *A contrario*, la bande correspondant à la transition $n \rightarrow \pi^*$ subit généralement un effet hyperchrome.

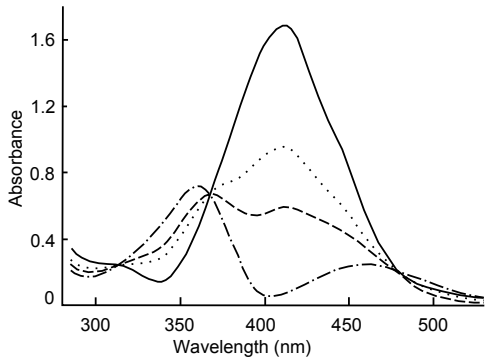


FIGURE 1.20 – *Spectre d'absorption du 4-diméthylaminoazobenzène dans le benzène à la concentration de 30 µM. Ligne : dans l'obscurité ; points : illuminé 10 min avec une lampe « verte » de 100 W ; tirets : illuminé 10 min avec une lampe « blue » de 100 W ; tirets + points : courbe extrapolée pour une solution contenant uniquement l'isomère cis. Reproduit d'après Brode et al.*[91]

L'absorption des azobenzènes à des longueurs d'onde élevées a rendu la plateforme attractive pour l'industrie textile qui l'a largement utilisée comme colorant. Cependant dès le début du siècle, la littérature rapporte que les solutions d'azobenzène ont tendance à perdre leur couleur voire à en changer quand on les abandonne à la lumière du soleil. En 1937 un article dans Nature propose la formation réversible d'un autre isomère de la molécule sous illumination :

> *The phenomenon[The lack of reproducibility when determinating the solubility of azobenzene by photometric method], persisting after repeated recrystallization of the azo-benzene,*

> *seemed consistent only with a reversible formation of a polymer or isomer, both forward and backward reactions being activated by light and the thermal reaction being very slow at ordinary temperatures.*[92]

Il sera ainsi montré que le photochromisme de la plateforme azobenzène est basé sur la photoisomérisation de la double liaison **N**=**N**.[71,93,94] L'isomère trans (thermodynamiquement stable) est converti en isomère cis sous illumination.[n] Cette isomérisation est rapide et propre puisque l'isomère cis est produit de manière univoque (sans sous-produit de dégradation par exemple).[98]

L'isomère cis est métastable et relaxe thermiquement vers l'état trans avec une cinétique qui dépend beaucoup de la structure de la molécule.[99] En effet, un azobenzène de la classe « azobenzène » relaxe à l'échelle de quelques heures (parfois quelques jours) alors que le temps caractéristique de retour thermique des molécules de la classe « aminoazobenzène » est de quelques minutes et celui de ceux de la classe « pseudostilbène » est généralement inférieur à la seconde.[70,100,101]

Par ailleurs, l'isomère cis peut aussi subir une isomérisation photochimique redonnant l'isomère trans (figure 1.21 **a**). Cette photoconversion a généralement lieu à une longueur d'onde plus haute que la réaction trans→cis mais il existe des systèmes pour lesquels les bandes d'absorption des isomères trans et cis se recouvrent. Dans ce cas, l'illumination à une longueur d'onde comprise dans la bande d'absorption conduit à un état photostationnaire où les espèces trans et cis sont conjointement présentes dans des proportions liées aux caractéristiques physico-chimiques du système (coefficient d'absorption molaire, rendements quantiques de photoconversion, constante de vitesse des réaction thermiquement activées). Un diagramme d'état simplifié est présenté sur la figure 1.21 **b** et permet de résumer tous les processus d'interconversion possibles ainsi que les paramètres physico-chimiques caractérisant chacun de ces processus.

Les applications du photochromisme des azobenzènes sont innombrables et appartiennent à des champs variés de la chimie : optique non linéaire,[75] chimie supramoléculaire,[101,102] biochimie,[103] polymère photosensibles,[104] mémoire optique.[105]

En effet, la plateforme azobenzène présente plusieurs propriétés favorables :

- l'isomérisation génère un changement de structure important ce qui entraîne des modifications fortes des propriétés de l'objet dans lequel l'azobenzène est incorporé ;
- les réactions photochimiques sont rapides et univoques et la relaxation thermique est modulable ;
- les molécules sont robustes chimiquement, peu sensibles à la fatigue et facilement fonctionnalisables.

Il n'est donc pas étonnant de trouver au sein de cette plateforme, plusieurs séries de molécules ayant des propriétés de photo-acide. Nous en présentons deux dans cet exposé.

Travaux de Hecht

La photoisomérisation trans/cis du squelette azobenzène a été mise à profit pour modifier la basicité d'une pipéridine par Hecht *et al.*[106,107] Cette pipéridine est reliée covalemment à un noyau

[n]. Cette réaction a été extensivement étudiée dans la littérature même si son mécanisme reste aujourd'hui encore sujet à controverse.[95–97]

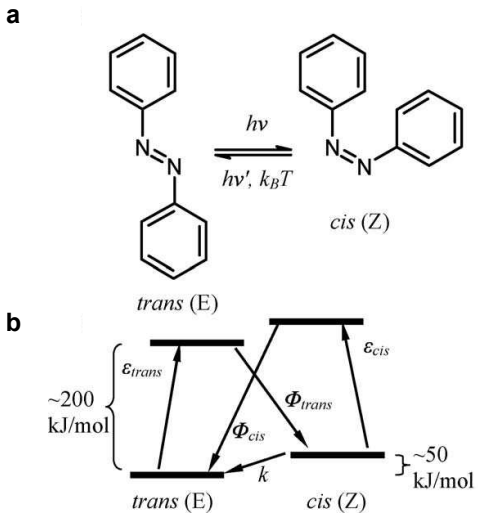


FIGURE 1.21 – ***a*** *: Interconversions entre les état trans et cis de l'azobenzène. La réaction trans→cis est activée photochimiquement et la réaction cis→trans peut être activée photochimiquement ou thermiquement.* ***b*** *: Diagramme d'état simplifié.* ϵ_{trans} *et* ϵ_{cis} *sont les coefficients d'absorption molaire des isomères trans et cis respectivement et* ϕ_{trans} *et* ϕ_{cis} *les rendements quantiques de photoconversion. k est la constante de vitesse de la réaction de relaxation thermique.*

aromatique très volumineux *via* un azobenzène. La figure 1.22 montre que dans l'état trans de l'azobenzène, le noyau benzénique encombré masque le doublet non liant de l'atome d'azote. Sous irradiation UV à 365 nm, l'azobenzène de configuration trans s'isomérise pour donner la molécule de configuration cis dans laquelle l'encombrant cycle benzénique est éloigné du doublet non liant. [o] Un dosage par l'acide trifluorosulfonique dans l'acétonitrile a montré que l'isomère cis est un ordre de grandeur plus basique que le trans. Sous irradiation à plus haute longueur d'onde (> 400 nm), l'isomère cis redonne l'isomère trans alors qu'aucune relaxation thermique n'est observée.

La photo-base a été utilisée pour catalyser une réaction de Henry, [108] réaction proche de la condensation de Knoevenagel dans laquelle la base conjuguée du nitroéthane s'additionne sur un carbonyle (voir figure 1.23).

Ainsi, la photo-base a été ajoutée à un mélange de 4-nitrobenzaldéhyde et de nitroéthane et l'évolution de la concentration en produit a été suivie par RMN. Le graphe de la figure 1.23 montre que dans l'obscurité (c'est-à-dire en présence de l'isomère trans de la photo-base dans lequel le doublet non liant de l'atome d'azote est masqué), la réaction de Henry est très lente. Sous irradiation, on observe une accélération de la vitesse de la réaction dans un rapport 40. Cette accélération est attribuée à la formation de l'isomère cis plus basique qui est alors à même de déprotoner le nitroéthane. [106,107]

Travaux de Haberfield

En 1987, Paul Haberfield propose un système 2-hydroxyazobenzène dont les états trans et cis ne présentent pas le même pK_a [109] et met en œuvre son système pour concevoir une pompe à protons

[o]. L'isomère cis est formé à plus de 90 % et a un temps de demi-vie de l'ordre de 500 h à 20 °C. [106]

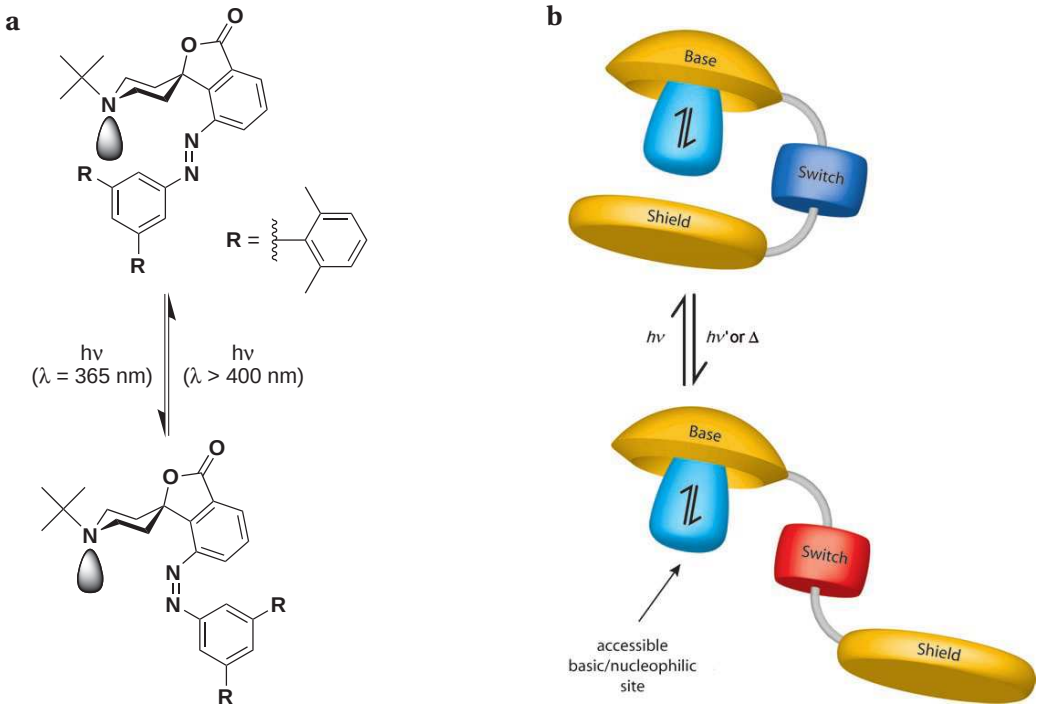


FIGURE 1.22 – ***a*** *: Photoconversion entre les isomères trans et cis de la photo-base de Hecht et al. sous irradiation.* ***b*** *: Schéma de principe illustrant que dans l'isomère cis, le site basique de la pipéridine est disponible alors qu'il est masqué dans l'isomère trans. Reproduit d'après Hecht et al.*[106]

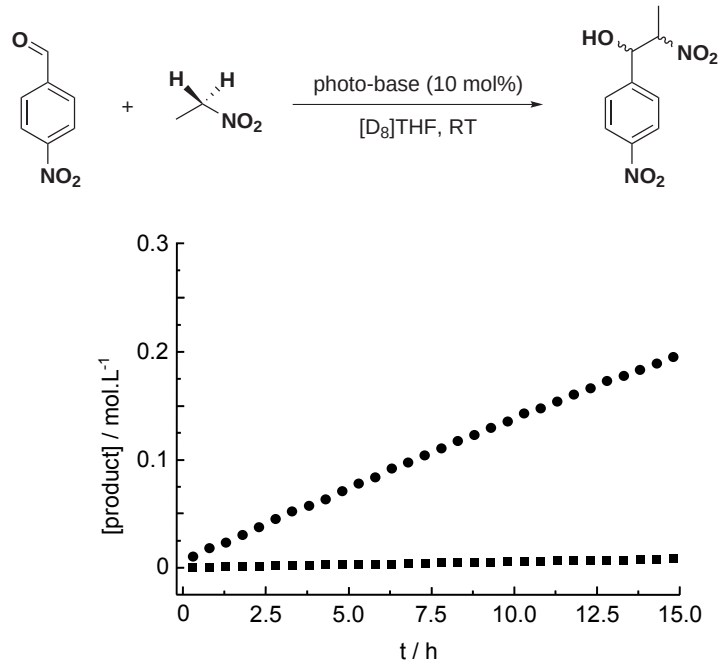


FIGURE 1.23 – *En haut : réaction de Henry entre le 4-nitrobenzaldéhyde et le nitroéthane en présence de la photo-base de Hecht et al. En bas : variation de la concentration en produit de la réaction de Henry suivie par RMN après mélange de 4-nitrobenzaldéhyde (0.4 M, 1 éq.) et de nitroéthane (12 éq.) en présence de la photo-base de Hecht et al. (10 mol%) dans le THF deutéré. Carrés : dans l'obscurité. Ronds : à l'état photostationnaire de l'azobenzène (contenant plus de 90 % de molécules de configuration cis). Reproduit d'après Hecht et al.*[106]

artificielle alimentée par la lumière.[110]

La plateforme utilisée met en œuvre des molécules de type azobenzène appartenant à la série des « aminoazobenzènes ».[66,111] Ces molécules ont la particularité d'avoir un groupement hydroxyle en position 2 pouvant engager une liaison hydrogène intramoléculaire avec un des atomes d'azote de la liaison **N**=**N** (voir figure 1.24).

À l'issue d'un premier criblage de composés, Haberfield identifie une molécule dont le phénol de la forme trans (dont l'acide est noté **TH** et la base conjuguée $\mathbf{T}^-$) a un pK_a de 9.8. Sous irradiation UV à 350 nm, l'isomère trans est converti partiellement en isomère cis (dont l'acide est noté **CH** et la base conjuguée $\mathbf{C}^-$). Le pK_a du phénol de la forme cis est estimé à 7.0 (voir figure 1.24).[p] La liaison hydrogène intramoléculaire qui existe dans la forme trans stabilise le proton et diminue l'acidité du phénol. Dans la forme cis, cette liaison hydrogène est topologiquement impossible : le proton phénolique n'est pas stabilisé et le phénol est donc plus acide.

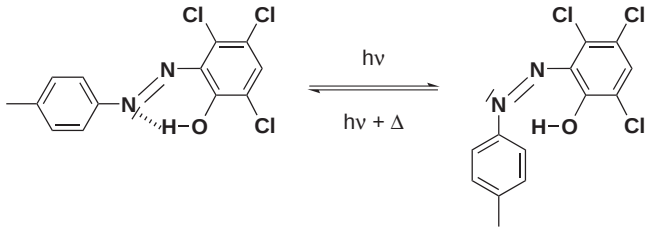


FIGURE 1.24 – *Interconversion entre les isomères trans et cis de la plateforme 2-hydroxyazobenzène utilisée par Haberfield. Les valeurs des pK_a sont rapportées à un milieu aqueux mais ont été déterminées grâce au partage des espèces ioniques $\boldsymbol{C}^-$ et $\boldsymbol{T}^-$ entre la phase aqueuse et la phase organique.*[109]

De plus, Haberfield observe que le temps de relaxation thermique de la plateforme 2-hydroxyazobenzène est court : il estime le temps de demi-vie de la molécule cis à quelques minutes.

Dans le contexte de la conversion d'énergie solaire en énergie chimique, Haberfield a mis en œuvre son photo-acide pour fabriquer une membrane liquide capable de transporter des protons d'un de ses cotés à l'autre sous illumination UV.

Pour cela, il a réalisé le montage illustré sur la figure 1.25 dans lequel le photo-acide est dissous dans un compartiment rempli de toluène entouré de deux autres compartiments contenant des solutions aqueuses de soude. La moitié du dispositif est illuminé à 350 nm tandis que l'autre moitié est maintenue dans l'obscurité. Le dosage de la concentration en contre-ions dans les compartiments aqueux (non explicité ici) permet de montrer que la concentration en ions hydroxyde diminue dans le compartiment aqueux illuminé et augmente dans le comportement aqueux non illuminé. Pour justifier ce phénomène, Haberfield le décompose en plusieurs étapes explicitées schématiquement sur

[p]. Le 2-hydroxyazobenzène étant peu soluble dans l'eau, Haberfield le dissout dans du toluène qui est mis en contact d'une solution aqueuse de soude. Lorsque l'une des formes du 2-hydroxyazobenzène est déprotonée, elle peut passer partiellement de la phase organique vers la phase aqueuse. Les pK_a des isomères trans et cis, sont alors déterminés par dosage spectrophotométrique de la phase aqueuse.

la figure 1.25 :

1. sous illumination, des molécules **TH** du compartiment contenant le toluène s'isomérisent en **CH** ;
2. **CH**, plus acide, est déprotoné par un ion hydroxyde à l'interface eau/toluène de droite pour donner $\mathbf{C}^-$ dans le compartiment organique et de l'eau dans le compartiment aqueux de droite : la concentration en ions hydroxyde diminue donc dans ce compartiment ;
3. les ions $\mathbf{C}^-$ diffusent et arrivent dans la partie non-illuminée du compartiment organique dans lequel ils sont thermiquement ré-isomérisés en $\mathbf{T}^-$;
4. $\mathbf{T}^-$ est plus basique que $\mathbf{C}^-$ et peut déprotoner des molécules d'eau à l'interface eau/toluène de gauche. Des ions hydroxyde sont formés dans le compartiment aqueux de gauche et **TH** est régénéré. Il peut ensuite diffuser vers la zone illuminée du compartiment organique ce qui débute un nouveau cycle.

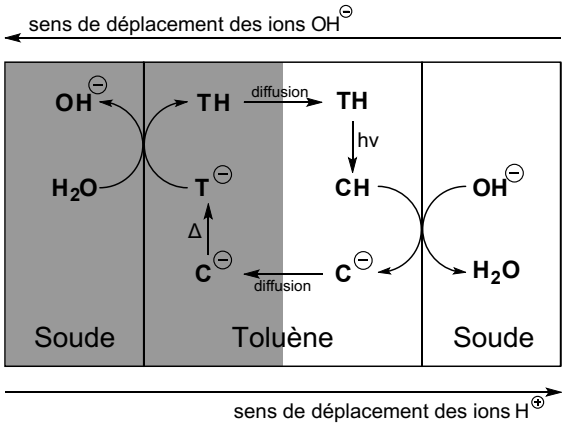


FIGURE 1.25 – *Schéma synthétique de la membrane liquide capable de transporter des protons sous illumination. Reproduit et complété de Haberfield*[109] *et De Silva.*[76]

La zone blanche précise celle qui est irradiée et la grise, celle gardée dans l'obscurité.

1.3.5 Autres systèmes

Quelques autres systèmes photochromes peuvent être trouvés dans la littérature. [q]

Ainsi l'acide ortho-coumarique de Matsuhira *et al.* possède un photochromisme de type éthylène (voir figure 1.26). Le phénol de l'isomère trans est légèrement plus basique ($pK_a = 10.37$) que celui de l'isomère cis ($pK_a = 10.24$) obtenu par irradiation à 313 nm.[112] Une excitation à 405 nm de l'isomère cis permet de reformer la molécule initiale. L'existence d'une liaison hydrogène entre l'oxygène déprotoné du phénolate et l'hydrogène de la fonction amide a été invoquée pour justifier la différence de pK_a.

De même, Jullien *et al.* ont étudié une 2,2'-azopyridine (voir figure 1.27). Le pK_a d'une des fonctions pyridine de la molécule trans a été mesuré par dosage spectrophotométrique et vaut 2.0 ± 0.1.

[q]. La faible modification de l'acidité de ces systèmes sous illumination nous a poussé à ne pas les décrire *in extenso*. De plus, aucune application de leur comportement photo-acide n'a été développée à ce jour.

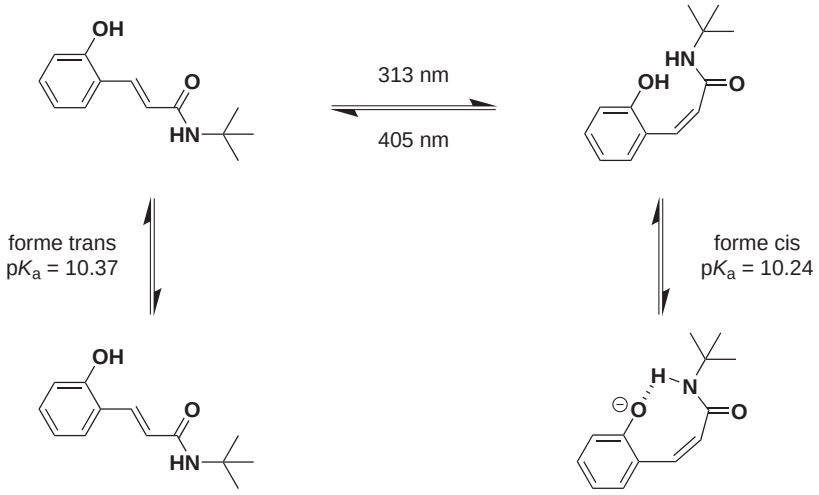


FIGURE 1.26 – *Interconversion photochimique entre les stéréoisomères trans et cis de la plateforme acide ortho-coumarique. Les valeurs des pK_a ont été mesurées en milieu aqueux.* [112]

Sous illumination à 320–330 nm, l'isomère cis se forme. Son pK_a a été mesuré à 1.5 ± 0.1.[113] Pour justifier cette observation, on peut supposer que dans l'isomère cis, les deux cycles pyridines ne sont pas co-planaires. L'ion pyridinium obtenu par protonation d'un des atomes d'azote n'est donc plus stabilisé par l'effet donneur de l'autre cycle comme c'est le cas dans l'isomère trans. L'isomère cis est donc moins basique que l'isomère trans : son pK_a est moins élevé.

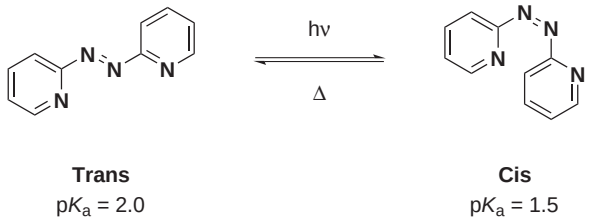


FIGURE 1.27 – *Interconversion photochimique entre les stéréoisomères trans et cis de la plateforme 2,2'-azopyridine. Les valeurs des pK_a ont été mesurées en milieu aqueux.* [113]

1.3.6 Avantages et limitations des photo-acides photochromes

Les photo-acides ou photo-bases photochromes ont l'avantage, par rapport aux groupements protecteurs de protons, d'être tous réversibles. Par ailleurs, le temps caractéristique de relaxation est généralement plus long que celui des molécules « super acides » à l'état excité permettant d'acidifier le milieu avec des échelles spatiales et temporelles plus grandes. De plus, en fonction de la plateforme photochrome utilisée cette réversibilité peut être contrôlée photochimiquement et / ou thermiquement.

Il est ensuite possible de comparer entre eux les différents photo-acides photochromes. [r]

[r]. La photo-base de Hecht *et al.* est laissée de coté dans cette comparaison.

Triphénylméthane d'Irie

Le système présenté par Irie est séduisant puisque :
- les objets utilisés sont synthétiquement faciles d'accès ;
- c'est le seul système photochrome ayant déjà été appliqué pour modifier le pH à l'échelle de plusieurs millilitres de solution ;
- les variations de pH obtenues sont très importantes (plusieurs ordres de grandeurs sur la concentration en protons) ;
- le système est réversible ;
- le système est utilisable dans l'eau et donc compatible avec des applications à des systèmes biologiques comme montré par Liu *et al.*

A contrario la réaction de relaxation thermique est lente et la longueur d'onde d'excitation reste faible.

Diaryléthène d'Irie *et al.*

Le système d'Irie *et al.* a l'avantage de mettre en œuvre une plateforme robuste bien étudiée et facilement fonctionnalisable. De plus, la variation de pK_a obtenue repose sur un principe simple et élégant.

Par contre, cette variation reste faible (seulement un facteur 16 entre les deux constantes d'équilibre des deux états) pour un effort de synthèse lourd (5 étapes et un rendement final inférieur au pourcent). De plus, le système photochrome n'est soluble que dans un mélange de méthanol et d'eau.

2-Hydroxyazobenzène d'Haberfield

La plateforme présentée par Haberfield semble plus attractive que la plateforme diaryléthène d'Irie *et al.* puisque sous irradiation, l'acidité du système augmente d'un facteur 650. De plus, l'effort de synthèse pour obtenir le 2-hydroxyazobenzène d'Haberfield est très largement plus faible que celui engagé par Irie puisqu'une seule étape est nécessaire.

Cependant, la différence majeure entre les deux plateformes réside principalement dans le photochromisme mis en jeu. En effet, la molécule d'Irie étant basée sur le squelette diaryléthène présente deux états qui sont thermiquement stables : seule une excitation lumineuse (à une longueur d'onde adaptée) permet de passer l'un à l'autre. Le système d'Haberfield présente une voie de relaxation thermique à l'échelle de quelques minutes. [s]

Conclusions

Ce chapitre nous a permis de faire un tour d'horizon de ce que la littérature compte en plateformes capables de modifier l'acidité d'un système sous illumination. Nous avons vu que ces plateformes sont structurellement variées et reposent sur des réactivités photochimiques différentes. Cela permet de couvrir un champ d'applications vaste aussi bien en chimie qu'en biologie.

[s]. Les avantages et les inconvénients des relaxations thermiques et photochimiques sont discutés dans la partie 2.1 du chapitre 2.

Chapitre 2

Identification de la plateforme de travail

Introduction

Dans ce chapitre, nous allons rechercher à identifier la plateforme de travail la plus adaptée à la modification du pH d'une solution sous illumination. Comme nous l'avons exposé dans l'introduction de ce travail de thèse, la plateforme photo-acide doit être facilement contrôlable en jouant sur sa structure moléculaire ou sur les paramètres de contrôle extérieurs tels que la température, l'intensité lumineuse ou le solvant.

– Le pH initial et le pH final doivent pouvoir être choisis.
– La cinétique permettant de passer d'un pH à l'autre doit pouvoir être ajustée.

Enfin, la plateforme doit être éventuellement utilisable en milieu biologique ou facilement adaptable à ce type de milieu.

Dans la première partie, nous expliquons pourquoi une plateforme photo-acide réversible est privilégiée par rapport à une plateforme irréversible. Dans la deuxième, nous développons un modèle simple de photo-acide réversible permettant d'identifier les paramètres physico-chimiques pertinents pour évaluer l'efficacité d'une plateforme photo-acide. En s'appuyant sur ces paramètres, la troisième partie établit le cahier des charges du photo-acide le mieux adapté à nos besoins. Dans la dernière partie enfin, nous présentons l'évaluation de deux plateformes et les raisons qui nous ont poussées à choisir l'une des deux.

2.1 Choix d'une plateforme réversible

2.1.1 Intérêt de la réversibilité

Dans le chapitre 1 nous avons mis en évidence différentes plateformes permettant de moduler l'acidité d'un milieu sous illumination. Une des différences marquantes entre ces plateformes est l'existence ou non d'une réversibilité de la modification des propriétés acido-basiques :

– les groupements protecteurs de protons présentés dans la partie 1.1 sont irréversibles ;
– les plateformes « super-acides » à l'état excité de la partie 1.2 sont thermiquement réversibles ;

– les plateformes photochromes évoquées dans la partie 1.3.1 sont thermiquement et / ou photochimiquement réversibles.

Les groupements protecteurs de proton ont déjà été largement étudiés et appliqués aussi bien en chimie qu'en biologie (voir introduction générale). De plus, voulant proposer une méthode de modification du pH originale et motivés par les centres d'intérêt de notre laboratoire de recherche impliqué dans l'étude cinétique des réactions chimiques par des méthodes de modulations perturbatives,[114,115] nous avons privilégié la recherche d'un système réversible thermiquement et / ou photochimiquement.

2.1.2 Réversibilité photochimique

La réversibilité photochimique est facile à contrôler puisque la réaction de relaxation photochimique est déclenchée par une excitation lumineuse qui est généralement à une longueur d'onde différente de l'excitation lumineuse qui a amené le système dans un état excité. La vitesse de la réaction de retour à l'état initial peut donc être ajustée facilement en modifiant l'intensité de la lumière. De plus, comme évoqué dans l'introduction générale, la lumière est un outil dont les résolutions spatiales et temporelles sont élevées. Le contrôle de la réversibilité d'un photo-acide par une voie photochimique présente donc, lui aussi, de bonnes résolutions spatiales et temporelles. Cependant, la réversibilité photochimique nécessite l'utilisation d'une autre source de lumière (ou la modification de la longueur d'onde d'éclairement). Il n'est donc pas aisé de moduler périodiquement l'état d'un photo-acide photochimiquement réversible, en particulier à fréquence élevée. En effet, la commutation entre deux lampes nécessite un montage optique élaboré et un alignement complexe.

2.1.3 Réversibilité thermique

La réversibilité thermique est moins facilement ajustable que la réversibilité photochimique. En effet, il n'y a pas de paramètre de contrôle réglant la vitesse de la relaxation. Cette dernière est souvent uniquement dépendante de la structure de la molécule et de la température du système.

A contrario, l'établissement d'une modulation périodique de l'acidité est facile expérimentalement à condition d'avoir à disposition un photo-acide dont le temps caractéristique de relaxation thermique est en accord avec la fréquence de la modulation souhaitée.

2.2 Modèle proposé pour analyser la variation du pH obtenue avec un photo-acide réversible

Dans cette partie, nous proposons un modèle évaluant la variation du pH attendue sous irradiation d'un photo-acide réversible. Le modèle estime la différence de pH entre le système non illuminé et le système illuminé. Cela permet de mettre en évidence les paramètres physico-chimiques qui influent sur la variation de pH obtenue sous irradiation. [a]

[a]. Dans l'ensemble de cette partie, on ne s'intéresse pas à l'évolution temporelle du système : sous illumination, on considère qu'il est instantanément et à tout instant à l'état photostationnaire.

2.2.1 Cadre du modèle

Considérons un photo-acide réversible noté **AH**, stable thermiquement et dont la base conjuguée est notée **A**. La réaction acido-basique associée au couple acide-base **AH**/**A** est donc :

$$\mathbf{AH} \rightleftharpoons \mathbf{A} + \mathbf{H}^+ \tag{2.1}$$

dont la constante d'équilibre vaut $K_{\mathbf{AH/A}}$.

Considérons ensuite la forme excitée du photo-acide **AH** notée $\mathbf{AH}^*$. La base conjuguée de $\mathbf{AH}^*$ est notée $\mathbf{A}^*$ et l'équilibre associé au couple $\mathbf{AH}^*/\mathbf{A}^*$ est :

$$\mathbf{AH}^* \rightleftharpoons \mathbf{A}^* + \mathbf{H}^+ \tag{2.2}$$

dont la constante d'équilibre vaut $K_{\mathbf{AH}^*/\mathbf{A}^*}$.

Les processus d'interconversion entre les différents états du photo-acide sont représentés sur la figure 2.1.

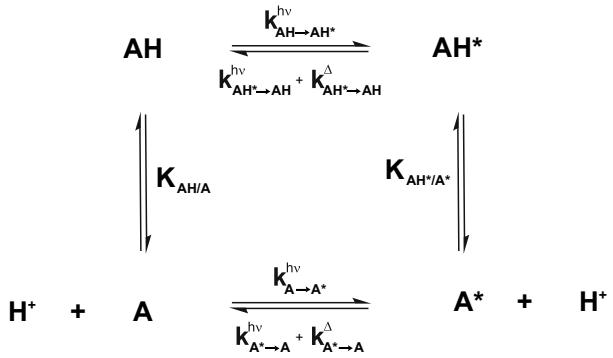


FIGURE 2.1 – *Processus d'interconversion entre les quatre états possibles du photo-acide considéré.*

Ainsi, sous illumination, **AH** est converti (au moins partiellement) en $\mathbf{AH}^*$. La constante de vitesse du processus de photoconversion de **AH** en $\mathbf{AH}^*$ est notée $k^{h\nu}_{\mathbf{AH}\rightarrow\mathbf{AH}^*}$.

Par hypothèse, **AH** est un photo-acide réversible : $\mathbf{AH}^*$ peut se re-transformer en **AH** à la fois photochimiquement (avec une constante de vitesse $k^{h\nu}_{\mathbf{AH}^*\rightarrow\mathbf{AH}}$) et thermiquement (avec une constante de vitesse $k^{\Delta}_{\mathbf{AH}^*\rightarrow\mathbf{AH}}$). [b]

2.2.2 Concentration en proton du système non-illuminé

Supposons qu'au pH initial seule l'espèce **AH** est prépondérante dans le système non-illuminé. En négligeant l'autoprotolyse du solvant, et en supposant que la concentration en **AH** (notée $c_{\mathbf{AH}}$) est

[b]. Le modèle proposé est général et prend en compte les cas où le système est réversible thermiquement et / ou photochimiquement :

- si le système est irréversible thermiquement, alors $k^{\Delta}_{\mathbf{AH}^*\rightarrow\mathbf{AH}}$ est pris égal à zéro ;
- si le système est irréversible photochimiquement (à la longueur d'onde considérée), alors $k^{h\nu}_{\mathbf{AH}^*\rightarrow\mathbf{AH}}$ est pris égal à zéro.

suffisamment grande, la valeur de la concentration en proton dans l'obscurité à l'équilibre thermodynamique est donnée par :

$$[\mathbf{H}^+]_{\text{obscurité}} = \sqrt{K_{\mathbf{AH/A}}\, c_{\mathbf{AH}}} \tag{2.3}$$

2.2.3 Concentration en proton dans l'état photostationnaire

Supposons que l'état photostationnaire contient à la fois **AH** et **AH***. [c] En faisant l'hypothèse favorable que **AH*** est largement plus acide que **AH** (ce qui se traduit par la condition $\mathrm{p}K_{\mathbf{AH}^*/\mathbf{A}^*} < \mathrm{p}K_{\mathbf{AH/A}} - 1$) et que la concentration en **AH*** (notée $c_{\mathbf{AH}^*}$) dans l'état photostationnaire n'est pas négligeable devant celle de **AH**, nous pouvons considérer que le pH du système est imposé par **AH***. La concentration en proton de l'état photostationnaire s'écrit alors :

$$[\mathbf{H}^+]_{\text{photostat}} = \sqrt{K_{\mathbf{AH}^*/\mathbf{A}^*}\, c_{\mathbf{AH}^*}} \tag{2.4}$$

La concentration de **AH*** à l'état photostationnaire peut être obtenue en résolvant le système d'équations suivant :

$$\frac{c_{\mathbf{AH}^*}}{c_{\mathbf{AH}}} = \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}\to\mathbf{AH}^*}}{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}}} \tag{2.5}$$

$$c_{\text{tot}} = c_{\mathbf{AH}} + c_{\mathbf{AH}^*} \tag{2.6}$$

où c_{tot} est la concentration totale en photo-acide. On en déduit :

$$c_{\mathbf{AH}^*} = \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}\to\mathbf{AH}^*}}{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}\to\mathbf{AH}^*} + k^{h\nu}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}}}\, c_{\text{tot}} \tag{2.7}$$

Des équations 2.4 et 2.7, on tire finalement :

$$[\mathbf{H}^+]_{\text{photostat}} = \sqrt{K_{\mathbf{AH}^*/\mathbf{A}^*}\, \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}\to\mathbf{AH}^*}}{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}\to\mathbf{AH}^*} + k^{h\nu}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}}}\, c_{\text{tot}}} \tag{2.8}$$

2.2.4 Amplitude du saut de pH

On déduit des équations 2.3 et 2.8 l'amplitude du saut de pH (notée ΔpH) : [d]

$$\Delta\mathrm{pH} = \mathrm{pH}_{\text{photostat}} - \mathrm{pH}_{\text{obscurité}} \tag{2.9}$$

avec

$$\mathrm{pH}_{\text{photostat}} = -\log[\mathbf{H}^+]_{\text{photostat}} = \frac{1}{2}\left[\mathrm{p}K_{\mathbf{AH}^*/\mathbf{A}^*} + \log\left(1 + \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{AH}^*\to\mathbf{AH}}}{k^{h\nu}_{\mathbf{AH}\to\mathbf{AH}^*}}\right) - \log c_{\text{tot}}\right] \tag{2.10}$$

$$\mathrm{pH}_{\text{obscurité}} = -\log[\mathbf{H}^+]_{\text{obscurité}} = \frac{1}{2}\left[\mathrm{p}K_{\mathbf{AH/A}} - \log c_{\text{tot}}\right] \tag{2.11}$$

[c]. On se place, pour simplifier l'étude, dans le cas particulier où le pH de l'état photostationnaire est situé dans les domaines de prédominance de **AH** et de **AH***.

[d]. La valeur du ΔpH trouvée ici est négative puisqu'on s'attend à une diminution du pH sous éclairement lumineux.

d'où on déduit l'expression de la variation du pH sous illumination :

$$\Delta\mathrm{pH} = \frac{1}{2}\left[\left(\mathrm{p}K_{\mathbf{AH^*/A^*}} - \mathrm{p}K_{\mathbf{AH/A}}\right) + \log\left(1 + \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}}}{k^{h\nu}_{\mathbf{AH\rightarrow AH^*}}}\right)\right] \tag{2.12}$$

De plus, en supposant que la géométrie d'illumination est mono-dimensionnelle, les constantes cinétiques photochimiques $k^{h\nu}_{\mathbf{AH\rightarrow AH^*}}$ et $k^{h\nu}_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}}$ s'écrivent en fonction de l'intensité lumineuse I_0 appliquée sur la solution :[116]

$$k^{h\nu}_{\mathbf{AH\rightarrow AH^*}} = \varepsilon_{\mathbf{AH}}(\lambda_\mathrm{E})\,\phi_{\mathbf{AH\rightarrow AH^*}}(\lambda_\mathrm{E})\,\ell\,I_0(\lambda_\mathrm{E})\,\frac{1-\exp(-2.3\,A_\mathrm{tot}(\lambda_\mathrm{E}))}{A_\mathrm{tot}(\lambda_\mathrm{E})\,V} \tag{2.13}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}} = \varepsilon_{\mathbf{AH^*}}(\lambda_\mathrm{E})\,\phi_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}}(\lambda_\mathrm{E})\,\ell\,I_0(\lambda_\mathrm{E})\,\frac{1-\exp(-2.3\,A_\mathrm{tot}(\lambda_\mathrm{E}))}{A_\mathrm{tot}(\lambda_\mathrm{E})\,V} \tag{2.14}$$

avec

- $\varepsilon_{\mathbf{AH}}(\lambda_\mathrm{E})$ et $\varepsilon_{\mathbf{AH^*}}(\lambda_\mathrm{E})$ les coefficients d'absorption molaire des espèces **AH** et **AH*** à la longueur d'onde d'excitation λ_E ;
- $\phi_{\mathbf{AH\rightarrow AH^*}}(\lambda_\mathrm{E})$ et $\phi_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}}(\lambda_\mathrm{E})$ les rendements quantiques des réactions photochimiques **AH** → **AH*** et **AH*** → **AH** à la longueur d'onde d'excitation λ_E ;
- $A_\mathrm{tot}(\lambda_\mathrm{E})$ l'absorbance totale de la solution à la longueur d'onde d'excitation λ_E ;
- V le volume irradié ;
- ℓ est la longueur du trajet optique.

Toutes choses égales par ailleurs (volume, intensité lumineuse, absorbance), le produit $\varepsilon\,\phi$ du coefficient d'absorption molaire par le rendement quantique de photoconversion (appelé section efficace de la réaction photochimique) renseigne sur la facilité avec laquelle l'espèce va changer d'état sous illumination lumineuse à la longueur d'onde considérée.

2.2.5 Identification des paramètres physico-chimiques influents sur la variation du pH sous illumination

L'équation 2.12 met en évidence les facteurs influençant l'amplitude de la variation du pH générée par un photo-acide réversible sous illumination :

i. La différence entre les pK_a de **AH** et de **AH*** ($\mathrm{p}K_{\mathbf{AH^*/A^*}} - \mathrm{p}K_{\mathbf{AH/A}}$) : l'amplitude de la variation du pH est d'autant plus grande que la variation d'acidité est importante.

ii. Le rapport des constantes de vitesse **AH*** → **AH** et **AH** → **AH*** : $\left(k^{h\nu}_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{AH^*\rightarrow AH}}\right) / k^{h\nu}_{\mathbf{AH\rightarrow AH^*}}$: pour que l'amplitude de la variation de pH soit grande, il faut que la constante de vitesse de la réaction **AH**→**AH*** soit grande devant la somme des constantes de vitesse des réactions **AH***→**AH** thermiques et photochimiques. Pour cela, il faut, en particulier, que la section efficace de photoconversion de la réaction **AH** → **AH*** soit grande devant celle de la réaction **AH*** → **AH** (voir équations 2.13 et 2.14).

iii. La concentration totale en photo-acide (c_tot) : contrairement aux expressions de $\mathrm{pH}_{\text{obscurité}}$ (équation 2.11) et $\mathrm{pH}_{\text{photostat}}$ (équation 2.10), l'expression de ΔpH (équation 2.12) ne dépend pas de la concentration totale en photo-acide. Il faut cependant cette que dernière soit suffisamment grande. Dans le cas contraire, les tampons naturels du milieu (eau, carbonates...) risquent de niveler la variation de pH attendue.

2.3 Cahier des charges de la plateforme photo-acide recherchée

Une fois les paramètres physico-chimiques relevants identifiés, nous allons établir le cahier des charges de la plateforme photo-acide la plus enclin à moduler le pH sous irradiation lumineuse.

2.3.1 Contraintes synthétiques

Synthèse aisée

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, il ne semble pas évident de prédire *a priori* l'efficacité d'un système moléculaire pour moduler l'acidité du milieu sous excitation. Ainsi, il peut être nécessaire de tester plusieurs plateformes moléculaires différentes avant d'identifier une plateforme de travail potentiellement exploitable. Les plateformes recherchées doivent donc être les plus facilement synthétisables possible de sorte à minimiser le temps de synthèse.

Fonctionnalisation facile à partir de la plateforme de base

Une fois que la plateforme de base est identifiée, il peut être nécessaire d'étudier l'influence de modifications de sa structure sur les propriétés cinétiques et thermodynamiques (en particulier sur les propriétés acido-basiques). Il faut pour cela que la plateforme soit facilement fonctionnalisable de sorte à pourvoir obtenir rapidement une petite bibliothèque de molécules au sein de laquelle un criblage pourra être réalisé.

2.3.2 Contraintes thermodynamiques

Propriétés acido-basiques

Comme nous l'avons vu dans la discussion de l'équation 2.12, la différence d'acidité entre l'état fondamental et l'état excité doit être aussi grande que possible.

Par ailleurs la valeur du pK_a de l'état fondamental doit être choisie en fonction de la gamme de pH que l'on souhaite explorer.

Stabilité thermique

Pour faciliter au maximum l'étude et l'application de la plateforme, il est souhaitable qu'elle soit thermiquement stable à une échelle de temps agréable pour l'expérimentateur, c'est-à-dire au moins quelques heures et idéalement beaucoup plus. Ainsi, dans l'obscurité, les molécules doivent être inertes vis à vis du solvant, des gaz dissous et des éventuels adjuvants (rapporteur fluorescent, molécule tampon...)

2.3.3 Contraintes cinétiques

Réactions photochimiques rapides

Comme nous l'avons vu dans la discussion de l'équation 2.12, il faut que la constante de vitesse de la réaction $\mathbf{AH} \rightarrow \mathbf{AH}^*$ soit grande devant les constantes de vitesse des réactions de relaxations

thermique et photochimique. Pour cela, il est donc nécessaire qu'à la longueur d'onde d'excitation, la section efficace de photoconversion $\varepsilon\phi$ de la réaction $\mathbf{AH} \rightarrow \mathbf{AH}^*$ soit aussi grande que possible.

Réactions photochimiques propres

De même qu'on recherche une plateforme à la stabilité thermique avérée dans l'obscurité, il est nécessaire que, sous illumination (même d'une durée prolongée), les molécules ne subissent pas de photo-dégradation au cours de réactions photochimiques parasites. [e] Ainsi, idéalement, seule la réaction photochimique permettant de moduler l'acidité du milieu doit avoir lieu sous illumination.

Réaction de relaxation thermique peu rapide

Comme mis en évidence par l'équation 2.12, la vitesse du processus de relaxation thermique (s'il existe) ne doit pas être trop grande devant la vitesse de la réaction photochimique $\mathbf{AH} \rightarrow \mathbf{AH}^*$.

2.3.4 Contraintes spectroscopiques

Longueur d'onde d'absorption adaptée

Les molécules de la plateforme doivent absorber majoritairement dans un domaine de longueur d'onde où aucune autre espèce n'absorbe particulièrement. Ainsi, tous les photons envoyés sur l'échantillons sont utilisés pour exciter le photo-acide et les pertes de photons dues aux absorptions parasites sont diminuées.

En particulier, il faut que les molécules absorbent suffisamment haut (typiquement au delà de 250 nm) pour sortir du domaine d'absorption des solvants généralement utilisés pour les dissoudre.

De plus, dans la perspective d'applications biologiques, il est souhaitable que la plateforme recherchée absorbe au delà de 400 nm.[117] En effet, en dessous de cette valeur de nombreux chromophores endogènes absorbent la lumière ce qui diminue évidemment l'efficacité de l'illumination mais peut, en plus, générer des réactions parasites (photo-dégradation ou photo-sensibilisation).[118]

Fluorescence

Le caractère fluorescent d'une plateforme moléculaire photo-sensible peut sembler intéressant de prime abord puisque l'étude des caractéristiques physico-chimiques de la plateforme peut être effectuée en s'appuyant sur des techniques fluorimétriques généralement très sensibles.

A contrario, l'existence de processus de relaxation radiatifs conduit nécessairement à la diminution du rendement quantique des réactions photochimiques. La trop forte fluorescence d'une plateforme photo-acide ne peut donc que réduire son efficacité à moduler le pH sous illumination.

[e]. On parle généralement de photo-blanchiment car la dégradation des molécules sous illumination prolongée conduit souvent à la perte de l'absorption à haute longueur d'onde et donc à l'affaiblissement de la couleur des échantillons irradiés.

Applications bi-photoniques potentielles

Comme nous l'avons exposé dans l'introduction générale, l'excitation bi-photonique des molécules photosensibles permet d'obtenir une résolution spatiale sub-cellulaire. Idéalement, la plateforme recherchée doit donc posséder une section efficace d'absorption à deux photons la plus grande possible en particulier dans la perspective d'applications biologiques.

2.3.5 Autres contraintes

Solubilité dans l'eau

Dès lors que l'on veut agir sur le pH d'un système, il est commode de se placer dans un solvant amphiprotique pour lequel la notion de pH a un sens. En particulier, l'eau a l'avantage d'être un milieu dans lequel de nombreuses constantes acido-basiques tant thermodynamiques [119] que cinétiques [120] sont tabulées. De plus, de nombreux processus biologiques n'ont lieu qu'en milieu aqueux, ce qui en fait un solvant de choix dans la perspective d'applications biologiques. Ainsi, la plateforme recherchée doit être raisonnablement soluble dans l'eau. Dans la cas contraire, elle doit être facilement fonctionnalisable par des groupements hydrophiles de sorte à augmenter sa solubilité.

Toxicité et compatibilité avec le milieu biologique

Toujours à des fins biologiques, il est nécessaire que les molécules soient le moins toxiques possible pour les organismes vivant et que leur réactivité chimique soit suffisamment faible pour ne pas perturber le milieu au delà de la modification d'acidité recherchée.

Résistance à la fatigue

La réversibilité thermique du photo-acide doit permettre de moduler de manière périodique l'état du système. Il faut donc rechercher une plateforme qui résiste à la fatigue, c'est-à-dire qui ne se dégrade pas au bout d'un faible nombre de cycles.

2.4 Études préliminaires de quelques plateformes

En s'appuyant sur ce cahier des charges, nous avons choisi d'évaluer deux plateformes : [f]

i. la plateforme ortho-ortho-mérocyanine ; [g]

ii. la plateforme 2-hydroxyazobenzène étudiée par Haberfield [109,110] et présentée dans la partie 1.3.4.

[f]. L'évaluation d'une plateforme salicylidènaniline a été rapidement abandonnée après que des tests préliminaires de stabilité en solution aqueuse aient mis en évidence une hydrolyse de la molécule à l'échelle de la centaine de minutes à température ambiante. Ces tests sont présentés en annexe 2.A.

[g]. Pour cela nous allons commencer par présenter la plateforme mérocyanine classique.

2.4.1 Présentation de la plateforme ortho-ortho-mérocyanine

Les mérocyanines sont des molécules possédant un azote conjugué à un carbonyle *via* une chaîne carbonée de longueur variable comme illustré en haut de la figure 2.2. Elles sont généralement représentées sous deux formes limites comme montré sur l'exemple de la MOED (1-Méthyl-4-[(4'-Oxocyclohexa-2',5'-diénylidène)-Éthylidène]-1,4-Dihydropyridine) en bas de la figure 2.2.

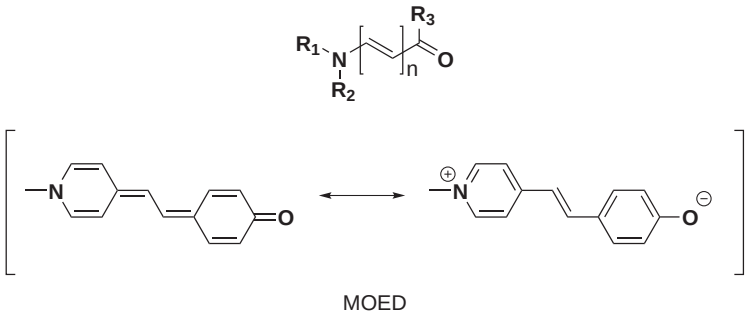


FIGURE 2.2 – *Structure générique des mérocyanines (en haut) et exemple de la molécule MOED dont les deux formes limites ont été représentées.*

Ces molécules ont été développées au milieu du XX^{ème} siècle dans le contexte de la recherche de nouveaux colorants pour la photographie.[121] C'est cependant leur caractère hautement solvatochrome qui a été le plus utilisé notamment pour quantifier la polarité d'un solvant.[122,123] Par ailleurs, leur hyper-polarisabilité a été mise en œuvre en optique non linéaire et certaines mérocyanines (comme la MC 540) ont été utilisées comme marqueurs fluorescents pour mesurer le potentiel membranaire de cellules.

Au delà des propriétés énoncées ci-dessus, les mérocyanines sont des composés prototropes et photochromes. En particulier les réactions de protonation et d'isomérisations photochimiques de la MOED ont été largement étudiées.[124–126]

Ainsi, la MOED existe sous quatre formes comme illustré sur la figure 2.3 :

- une forme trans déprotonée notée $\mathbf{M_{trans}}$;
- une forme trans protonée notée $\mathbf{MH_{trans}}$;
- une forme cis déprotonée notée $\mathbf{M_{cis}}$;
- une forme cis protonée notée $\mathbf{MH_{cis}}$.

Sous excitation lumineuse il s'avère que :

- $\mathbf{MH_{trans}}$ est isomérisé en $\mathbf{MH_{cis}}$ pour conduire à un état photostationnaire contenant les deux espèces ;
- $\mathbf{MH_{cis}}$ peut être re-isomérisé photochimiquement mais est stable thermiquement ;
- $\mathbf{M_{trans}}$ est stable photochimiquement ;
- $\mathbf{M_{cis}}$ (obtenu par déprotonation de $\mathbf{MH_{cis}}$ lui-même généré photochimiquement) peut être ré-isomérisé photochimiquement et / ou thermiquement. [h]

[h]. La cinétique de relaxation thermique de $\mathbf{M_{cis}}$ est lente : le temps de demi-vie du composé à température ambiante est de plus 4 heures.[124]

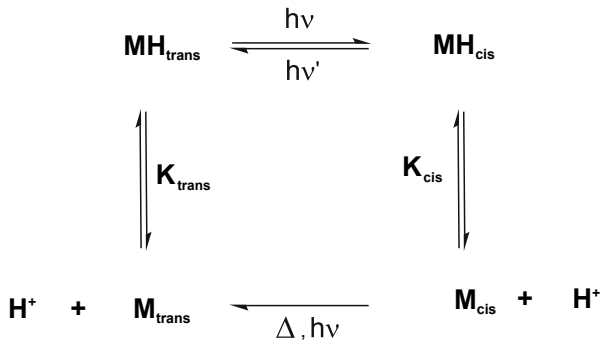


FIGURE 2.3 – *Processus d'interconversion entre les quatre états possibles de la MOED.*

Les sections efficaces de photoconversion ($\varepsilon\phi$) sont fournies dans le tableau 2.1 :

Composé	$\varepsilon\phi$ ($M^{-1}cm^{-1}$)
$\mathbf{M_{trans}}$	0
$\mathbf{MH_{trans}}$	10^4
$\mathbf{M_{cis}}$	$2\ 10^3$
$\mathbf{MH_{cis}}$	$5\ 10^3$

TABLE 2.1 – *Ordre de grandeur des sections efficaces de photoconversion des processus trans→cis et cis→trans des espèces protonées et déprotonées de la molécule de MOED.* [124]

nous pouvons alors confronter la MOED au cahier des charges établi dans la partie 2.3.

Contraintes synthétiques

Les molécules de type MOED sont facilement synthétisables et fonctionnalisables.

Contraintes thermodynamiques

La stabilité thermique des composés est avérée. Par contre, les constantes d'acidité de la MOED ont déjà été évaluées dans la littérature montrant que les deux isomères cis et trans de la MOED possèdent des pK_a proches. [124]

Contraintes cinétiques

Le photochromisme de cette plateforme est efficace puisque les sections efficaces de photoconversion des espèces $\mathbf{MH_{trans}}$ et $\mathbf{MH_{cis}}$ sont élevées et que les réactions de photoisomérisation sont propres.

Cependant deux points d'exploration sont à anticiper :

i. la réversibilité photochimique de l'isomère cis est à évaluer à d'autres longueurs d'onde pour voir s'il existe une plage de longueur d'onde pour laquelle la transformation cis→ trans est plus efficace que la transformation trans→cis ;

ii. une étude structure/propriété est à mener pour voir s'il est possible d'accélérer la réversibilité thermique.

Contraintes spectroscopiques

Les longueurs d'onde d'absorption sont au delà de 300 nm ce qui est en accord avec le cahier des charges établi. Les molécules fluorescent peu (rendement quantiques inférieurs à 0.02 [124]).

Autres contraintes

Les molécules semblent raisonnablement solubles dans l'eau (au moins jusqu'à 5 10^{-5} M).

La toxicité de la plateforme [i] et sa résistance à la fatigue sont à évaluer.

2.4.2 Évaluation de la plateforme ortho-ortho-mérocyanine

Nous avons donc entrepris de nous appuyer sur une autre molécule de la plateforme mérocyanine : l'ortho-ortho-mérocyanine représentée sur la figure 2.4. En effet, dans la molécule ortho-ortho-mérocyanine les charges négatives et positives de la forme déprotonée sont topologiquement plus proches que dans la molécule MOED. On peut donc s'attendre à ce que l'interaction coulombienne stabilisante de la forme déprotonée rende l'acidité de l'isomère trans assez largement différente de celle de l'isomère cis. [j]

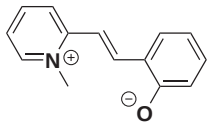


FIGURE 2.4 – *Structure de la molécule d'ortho-ortho-mérocyanine.*

Nous avons ainsi synthétisé puis étudié le photochromisme et les propriétés acido-basiques de la molécule ortho-ortho-mérocyanine. [k]

Synthèse

Le schéma de synthèse de la molécule d'ortho-ortho-mérocyanine est présentée sur la figure 2.5. L'α-picoline est d'abord méthylée par action de l'iodure de méthyle au reflux de l'acétone pour conduire au pyridinium correspondant avec un rendement de 94 %.

Le pyridinium est ensuite mis à réagir avec l'aldéhyde salicylique en présence de pipéridine au reflux du méthanol pour former l'ortho-ortho-mérocyanine avec un rendement de 50 %.

[i]. Des données relatives à la mérocyanine-540 existent dans la littérature. [127]

[j]. Il est difficile de prévoir *ex nihilo* lequel des deux isomères sera le plus acide puisque la conformation la plus stable des molécules cis et trans n'est pas identifiable de manière évidente.

[k]. Les notations des différentes formes de la molécule MOED sont conservées pour la description de la molécule ortho-ortho-mérocyanine.

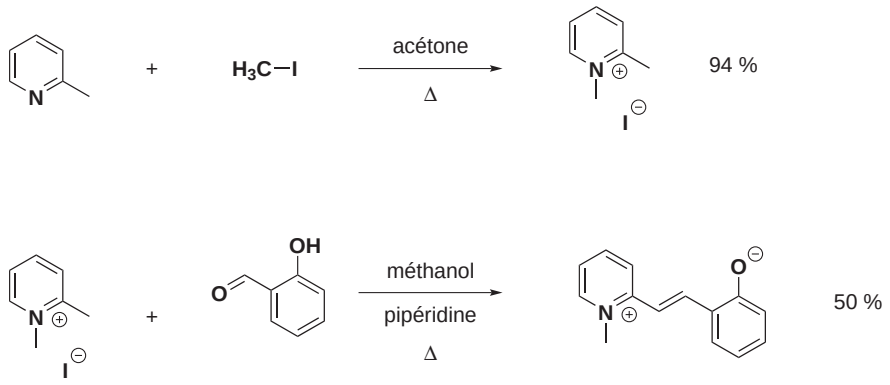


FIGURE 2.5 – *Schéma de synthèse de la molécule d'ortho-ortho-mérocyanine.*[128]

Analyses physico-chimiques

Mise en évidence de l'isomérisation trans→cis Pour vérifier que le composé ortho-ortho-mérocyanine se comporte comme la MOED, nous avons irradié à 365 nm une solution contenant le ortho--ortho-mérocyanine à pH acide : l'espèce prépondérante au départ en solution est donc $\mathbf{MH}_{\mathbf{trans}}$. La figure 2.6 **a** montre l'évolution du spectre d'absorption au cours du temps et met en évidence un fort effet hypochrome sous illumination. Cet effet traduit l'apparition d'une nouvelle espèce identifiée à l'isomère cis $\mathbf{MH}_{\mathbf{cis}}$.[l] En laissant l'échantillon plusieurs heures dans l'obscurité, aucune modification du spectre contenant les isomères cis et trans n'est observée. On en déduit donc que $\mathbf{MH}_{\mathbf{trans}}$ peut être isomérisé en $\mathbf{MH}_{\mathbf{cis}}$ qui est stable thermiquement à l'échelle de plusieurs heures.

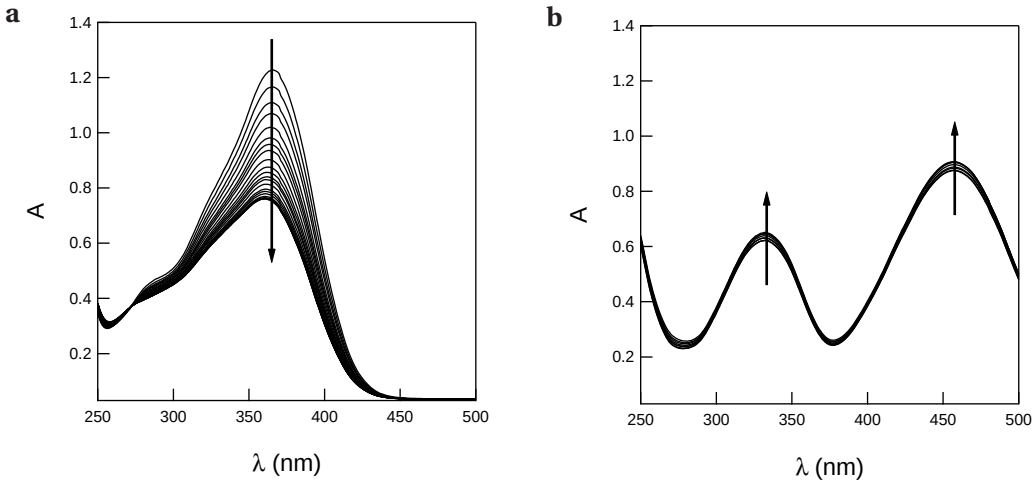


FIGURE 2.6 – *Graphes représentant l'évolution du spectre d'absorption d'une solution d'ortho-ortho-mérocyanine de concentration 90 µM soumise à une irradiation à la longueur d'onde λ_E. **a** : pH = 2.4 ; λ_E = 365 nm ; t = 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 20, 25, 30 min. **b** : pH = 11.4 ; λ_E = 460 nm ; t = 0, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 40 min. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C. Les flèches indiquent le sens d'évolution temporelle de l'absorbance.*

De plus, nous avons irradié à 460 nm la même solution initiale à pH basique : l'espèce prédomi-

[l]. L'identification de cette nouvelle espèce comme étant l'isomère cis $\mathbf{MH}_{\mathbf{cis}}$ s'est appuyée sur une analyse RMN.

nante est alors $\mathbf{M_{trans}}$. La figure 2.6 **b** montre que le spectre d'absorption évolue peu à l'échelle de 40 minutes traduisant la stabilité photochimique de $\mathbf{M_{trans}}$.

Cette série d'expériences a donc permis de montrer que la plateforme ortho-ortho-mérocyanine est sujette au même type de photochromisme que la plateforme MOED. En particulier, sous illumination UV, la molécule $\mathbf{MH_{trans}}$ subit une isomérisation formant la molécule de configuration cis $\mathbf{MH_{cis}}$, cette dernière étant thermiquement stable.

Détermination des pK_a des formes trans et cis Pour évaluer la capacité de la plateforme ortho--ortho-mérocyanine à modifier le pH d'une solution sous illumination, il faut vérifier que les isomères trans $\mathbf{MH_{trans}}$ et cis $\mathbf{MH_{cis}}$ possèdent des acidités différentes. Pour cela nous avons commencé par effectuer le dosage spectrophotométrique de la molécule trans comme présenté sur la figure 2.7 **a**. Le logiciel commercial *SPECFIT/32*[130–133] a été utilisé pour réaliser un ajustement global de l'évolution de l'absorbance en fonction du pH pour extraire de ces courbes la valeur de la constante d'équilibre. On trouve $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\mathbf{MH_{trans}}} = 8.5 \pm 0.1$

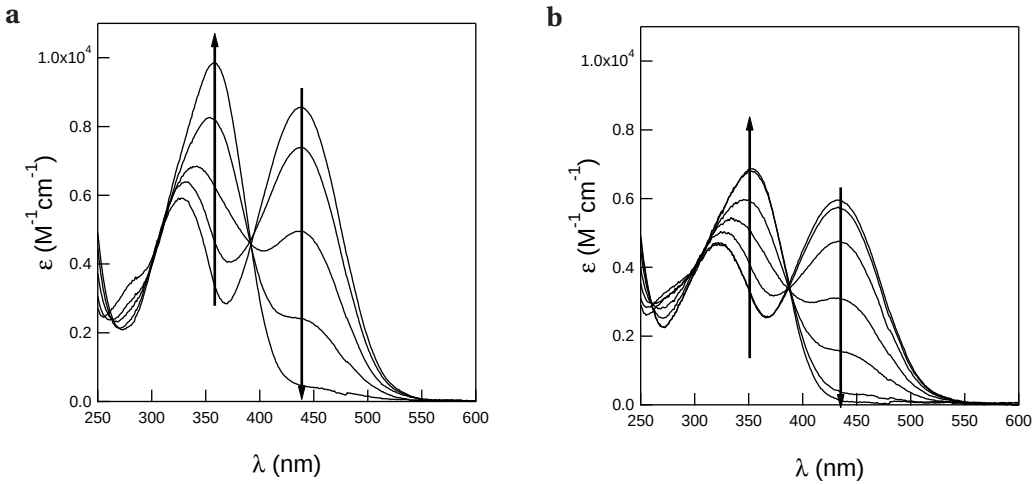


FIGURE 2.7 – *Graphes représentant l'évolution du spectre d'absorption d'une solution de ortho-ortho-mérocyanine de concentration 15 µM à différents pH.* ***a*** *: La solution a été conservée dans l'obscurité ; pH = 10.0, 9.0, 8.5, 8.0, 7.0.* ***b*** *: La solution à pH = 6 a été illuminée à 365 nm pendant 60 min ; pH = 6.0, 7.0, 8.0, 8.5, 9.0, 10.0, 11.0. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C. Les flèches indiquent le sens d'augmentation du pH.*

Pour déterminer si le pK_a de la forme cis est différent, nous avons illuminé un échantillon de $\mathbf{MH_{trans}}$ à 365 nm de sorte à l'amener dans l'état photostationnaire contenant conjointement des molécules de $\mathbf{MH_{trans}}$ et de $\mathbf{MH_{cis}}$. La solution obtenue a ensuite été dosée en relevant le spectre d'absorption à différents pH. La figure 2.7 **b** présente le fuseau de courbes obtenues.

La rétention d'un point isobestique bien défini et la détermination d'un pK_a de 8.4 ± 0.1, identique à celui obtenu avec une solution d'isomère trans seul permet de conclure que la forme $\mathbf{MH_{cis}}$ présente un pK_a très proche de celui de $\mathbf{MH_{trans}}$ comme dans le cas de la molécule MOED.[124]

Conclusions

Il ne semble pas évident de justifier pourquoi la modification de la distance entre la charge positive et la charge négative lors de l'isomérisation trans / cis n'a que peu d'effet sur la stabilité de la molécule et donc sur son acidité.

En effet, pour tenter de comprendre ce résultat, nous avons :

– déterminé la longueur de Debye dans les conditions de force ionique des expériences de la figure 2.7 et on trouve $\lambda_D = 1.5$ nm ;
– estimé les distances entre les charges dans les deux conformations cis et trans à l'aide d'un logiciel de simulation moléculaire (Chem3D). Les structures ajustées présentées sur la figure 2.8 permettent de donner un ordre de grandeur des distances azote / oxygène qui sont de 500 pm dans la forme trans (figure 2.8 **a**) et 200 pm dans la forme cis (figure 2.8 **b**).

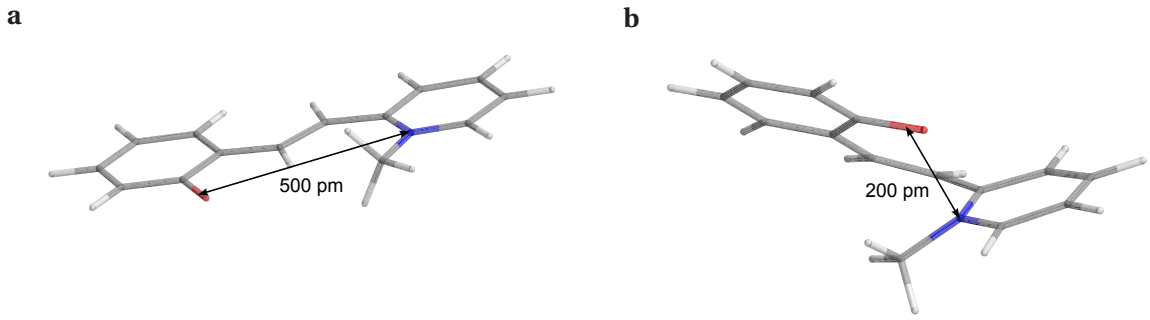


FIGURE 2.8 – *Structures moléculaires ajustées à l'aide du logiciel Chem3D des isomères trans (**a**) et cis (**b**) de la molécule de ortho-orthomérocyanine.*

La distance entre les charges étant ainsi inférieure à la distance de Debye, les effets électroniques devraient avoir un effet sur la stabilité de la molécule lors de l'isomérisation et donc sur son acidité. Cependant, dans notre estimation des distances oxygène / azote, nous avons envisagé des géométries favorables à l'établissement de liaisons ioniques entre ces centres sans avoir aucune preuve expérimentale ou théorique précise quant à leur véracité.

Finalement, si de nombreuses caractéristiques (et en particulier les caractéristiques photochimiques) de la plateforme ortho-ortho-mérocyanine sont adaptées au cahier des charges, la trop faible différence d'acidité entre les deux formes trans et cis élimine naturellement cette plateforme.

2.4.3 Évaluation de la plateforme trichloro-2-hydroxyazobenzène

Une autre plateforme photochrome a retenu notre attention : il s'agit de la plateforme 2-hydroxyazobenzène d'Haberfield (voir figure 1.24).[109,110] Cette plateforme répond en effet à de nombreux points du cahier des charges établi plus haut.

Contraintes synthétiques

La plateforme 2-hydroxyazobenzène est synthétiquement accessible *via* le très classique couplage diazoïque entre un sel de diazonium issu de la diazotation d'une aniline et un phénolate sub-

stitué en para.[134–137] De plus, le commerce fournit une très large gamme d'anilines et de phénols diversement substitués.

Contraintes thermodynamiques

Comme évoqué dans la partie 1.3.4 la différence de pK_a entre les isomères trans et cis de certains des 2-hydroxyazobenzènes étudiés par Haberfield est de plusieurs unités (2.8 pour le dérivé trois fois chloré sur le noyau phénolique[109]).

Par ailleurs, les azobenzènes sont connues pour être très stables thermiquement.

Contraintes cinétiques

La littérature précise que la forme trans des 2-hydroxyazobenzènes subit une isomérisation trans→cis sous illumination pour conduire à un état photostationnaire contenant les formes cis et trans. Des ordres de grandeurs des sections efficaces d'absorption du 2-hydroxyazobenzène non substitué ont été déterminés par Gabor *et al.* et sont fournis dans le tableau 2.2 à deux longueurs d'onde différentes.[111] On constate que ces valeurs sont globalement élevées.

Longueur d'onde (nm)	$\varepsilon_{\text{trans}}\,\phi_{\text{trans}\rightarrow\text{cis}}$ ($M^{-1}cm^{-1}$)	$\varepsilon_{\text{cis}}\,\phi_{\text{cis}\rightarrow\text{trans}}$ ($M^{-1}cm^{-1}$)
313	10^3	$2\ 10^3$
436	$4\ 10^2$	10^3

TABLE 2.2 – *Ordres de grandeur des sections efficaces de photoconversion des processus trans→cis et cis→trans du 2-hydroxyazobenzène non substitué à 178 K.*[111]

Par ailleurs, Haberfield estime le temps de relaxation thermique de sa molécule trois fois chlorée à quelques minutes.[109] Ce temps est globalement court et permet ainsi d'envisager de s'appuyer uniquement sur la réversibilité thermique de la plateforme pour provoquer le retour à l'état initial après la perturbation lumineuse.

Contraintes spectroscopiques

Les 2-hydroxyazobenzènes présentent généralement une bande d'absorption vers 320-350 nm (transition $\pi \rightarrow \pi^*$) et un épaulement vers 360-380 nm (bande $n \rightarrow \pi^*$).[66,111]

Ces molécules fluorescent peu.[70]

De plus des exemples d'isomérisation d'azobenzènes par excitation bi-photonique sont rapportés notamment en chimie des polymères.[138,139]

Autres contraintes

Les molécules de la série 2-hydroxyazobenzène présentées par Haberfield ne sont pas solubles dans l'eau. Cependant, de nombreux hydroxyazobenzènes fonctionnalisés par des groupements polaires possèdent une bonne solubilité aqueuse ou dans des milieux binaires composés d'au moins 50 % d'eau en volume.

Les azobenzènes sont parmi les molécules photochromes dont la résistance à la fatigue est la meilleure.[101]

Cependant, les azobenzènes et leurs dérivés sont connus pour être toxiques. On note en particulier un LD_{50} de 1 $g.kg^{-1}$ chez le rat. [m]

Conclusions

La plateforme 2-hydroxyazobenzène semble donc attractive. Cependant, si Haberfield a mis en évidence un comportement photo-acide intéressant pour l'un de ses composés, son étude ne permet pas d'évaluer pleinement le potentiel de cette plateforme. En effet :

- aucune étude structure / propriété systématique n'a été effectuée permettant de savoir si le composé tri-chloré proposé est le photo-acide le plus adapté ;
- l'étude cinétique des réactions photochimiques ou de la réaction de relaxation thermique n'a pas été réalisée ;
- Haberfield n'a pas cherché à utiliser sa molécule pour moduler l'acidité d'un milieu aqueux. La littérature n'a fait que citer son travail à quelques reprises[76] sans l'appliquer concrètement ;
- aucune application biologique n'a été envisagée.

Conclusions et structuration de la thèse

En se basant sur les premiers résultats encourageants d'Haberfield, ce travail de thèse a consisté en la synthèse, la dérivatisation, l'évaluation physico-chimique et l'application à la variation de pH photoinduite de la plateforme 2-hydroxyazobenzène.

Ce manuscrit va donc se composer des chapitres suivants :

Synthèse et études physico-chimiques préliminaires de la plateforme 2-hydroxyazobenzène
Dans ce chapitre nous développons la synthèse d'un ensemble de molécules de la série 2-hydroxyazobenzène avant d'étudier leurs propriétés physicochimiques et en particulier l'influence de la structure moléculaire sur :

- la différence d'acidité entre les isomères trans et cis ;
- la cinétique de la réaction de relaxation thermique.

Détermination des paramètres photochimiques dans l'UV de TH_2Cl_3
Chapitre dans lequel les caractéristiques cinétiques d'une des molécules de la plateforme 2-hydroxyazobenzène (notée $\mathbf{TH_2Cl_3}$) sont déterminées en utilisant trois méthodes physico-chimiques connexes.

Sauts et oscillations de pH photo-induits
Ce chapitre montre que la plateforme 2-hydroxyazobenzène nous a permis de générer sous illumination UV des modulation du pH d'une solution sous forme de sauts ou d'oscillations de pH. Différentes méthodes de relevé du pH de la solution ont été mises en œuvre.

Évolutions de la plateforme 2-hydroxyazobenzène pour moduler le pH dans l'eau pure
Ce chapitre « article » expose les stratégies que nous avons expérimentées pour pouvoir utiliser les

[m]. Le LD_{50} mesure la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale donnée.

photo-acides de la plateforme 2-hydroxyazobenzène dans une solution purement aqueuse. Trois méthodes ont été fructueuses : l'une basée sur la fonctionnalisation de la plateforme par un substituant ionique, la deuxième en utilisant des agents de solubilisation et la dernière en greffant notre plateforme moléculaire sur un squelette polymérique hydrosoluble.

Structuration spatiale du pH

Dans cette partie, nous montrons que la plateforme photo-acide 2-hydroxyazobenzène permet de générer des profils spatiaux de pH hors équilibre sous illumination lumineuse structurée.

Perspectives et conclusions

Enfin dans cette partie, nous présentons une séries d'applications et de prolongements potentiels à notre travail.

Annexe du chapitre 2

2.A Évaluation de la plateforme salicylidènaniline

2.A.1 Présentation de la plateforme

De manière générale, les imines sont connues pour exister sous forme de deux isomères de configuration appelés trans ou cis en fonction de la position des substituants par rapport à la liaison double **C=N**.[140] Plus particulièrement, les dérivés de la salicylidènaniline sont des photochromes : le composé trans, thermodynamiquement stable, est isomérisé photochimiquement en composé cis qui peut, lui même, se ré-isomériser thermiquement ou photochimiquement (voir figure 2.9). Le temps caractéristique de la réaction de relaxation thermique est de l'ordre de quelques secondes.[141,142]

De plus, l'isomère trans présente une liaison hydrogène entre le proton phénolique et l'atome d'azote de la double liaison **N=C**. Cette liaison n'est pas topologiquement possible dans l'isomère cis. Il est donc raisonnable de supposer que, comme dans le cas des 2-hydroxyazobenzènes d'Haberfield (voir partie 1.3.4), les propriétés acido-basiques des deux isomères de la plateforme salicylidènaniline sont différentes.

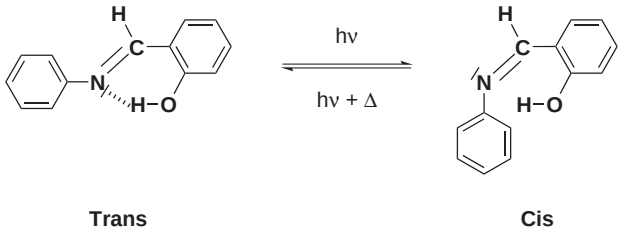


FIGURE 2.9 – *Interconversion entre les formes trans et cis de la salicylidènaniline.*

De plus, la plateforme salicylidènaniline étant globalement adaptée au cahier des charges évoqué dans la partie 2.3 nous avons entrepris de synthétiser puis d'étudier les propriétés physico-chimiques d'un de ses membres. Nous avons choisi le 4-hydroxysalicylidènaniline car le groupement hydroxyle en position 4 augmente la solubilité de la molécule dans l'eau.

2.A.2 Synthèse

La synthèse de la molécule de 4-hydroxysalicylidènaniline a été réalisée en faisant réagir de l'aniline sur le salicylaldéhyde dans l'eau au reflux.[6] Le produit est obtenu avec un rendement de 80 %.

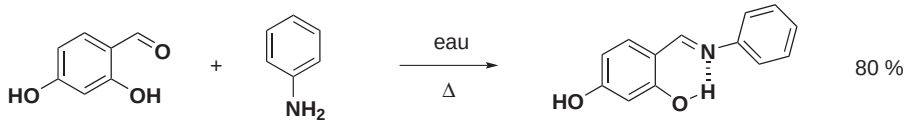


FIGURE 2.10 – *Schéma de synthèse de la 4-hydroxysalicylidènaniline.*[6]

Évaluation de la stabilité thermique

Les imines étant connues pour s'hydrolyser rapidement dans l'eau nous avons commencé par évaluer la stabilité thermique de la molécule de 4-hydroxysalicylidènaniline en milieu aqueux.

Pour cela, une solution de 4-hydroxysalicylidènaniline dans un mélange d'eau et d'acétonitrile à pH = 7 a été abandonnée dans l'obscurité. La figure 2.11 montre l'évolution du spectre d'absorption de la solution au cours du temps à deux températures.

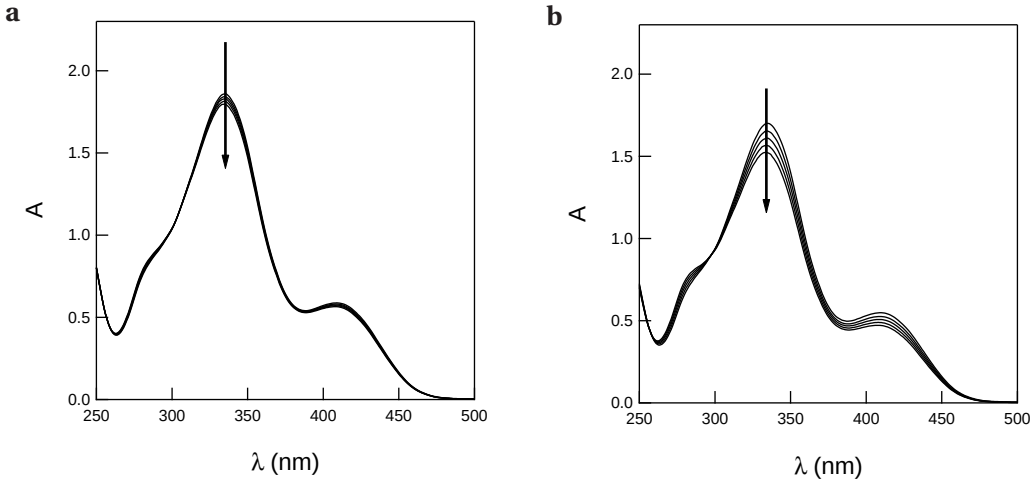


FIGURE 2.11 – *Évolution du spectre d'absorption d'une solution de 4-hydroxysalicylidènaniline de concentration 460 µM abandonnée dans l'obscurité. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) à pH = 7. t = 0, 20, 40, 60, 80 min.* ***a*** *: T = 15 °C ;* ***b*** *: T = 25 °C. Les flèches indiquent le sens d'évolution de l'absorbance.*

Nous observons que l'absorbance varie à température ambiante avec un temps caractéristique de l'ordre de la cinquantaine de minutes. Cette évolution dans l'obscurité est attribuée à l'hydrolyse de la molécule.

2.A.3 Conclusions

Après avoir constaté l'instabilité thermique de la molécule de 4-hydroxysalicylidènaniline dans un mélange d'eau et d'acétonitrile, la plateforme salicylidènaniline a été naturellement abandonnée sans que de plus amples investigations soient menées.

Chapitre 3

Synthèse et études physico-chimiques préliminaires de la plateforme 2-hydroxyazobenzène

Introduction

Au vu des travaux d'Haberfield, nous avons décidé, dans le cadre de ce travail de thèse, de nous intéresser particulièrement à la plateforme 2-hydroxyazobenzène. De manière à avoir une vue exhaustive des possibilités offertes par cette plateforme, nous avons synthétisé plusieurs séries de molécules avant d'en déterminer systématiquement les caractéristiques physico-chimiques pertinentes pour notre étude.

Ce chapitre détaille ainsi la synthèse des composés et présente une partie de l'analyse physico-chimique associée.

3.1 Synthèse des membres de la plateforme 2-hydroxyazobenzène

3.1.1 Voie de synthèse choisie

La méthode de synthèse d'azobenzène de loin la plus fréquemment utilisée dans la littérature [134–137] repose sur le couplage diazoïque entre un dérivé aromatique qui joue le rôle de nucléophile et un sel de diazonium qui joue le rôle d'électrophile. Bien que certains sels de diazonium soient stables et puissent être conservés cristallisés, ils sont généralement formés *in situ* par action de nitrite de sodium **$NaNO_2$** sur une aniline en milieu très acide. Le dérivé aromatique est ensuite ajouté lentement au sel de diazonium. Le processus est réalisé à froid (généralement entre -5 et 5 °C) pour ralentir la dismutation de l'acide nitreux **HNO_2** en acide nitrique **HNO_3** et monoxyde d'azote **NO**. Cette réaction a été d'un intérêt particulier dès le XIX^{ème} siècle, puisqu'elle permet de préparer toute une gamme de colorants de fibres textiles (laine, coton, soie) comme l'orangé II (figure 3.1), l'un des tous premiers colorants commercialisé dès 1876. [143]

Les synthèses de tous les 2-hydroxyazobenzènes de ce travail ont été menées suivant cette mé-

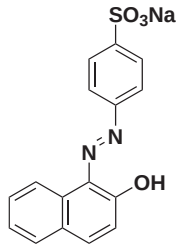


FIGURE 3.1 – *Structure de l'orangé II.*

thode : des anilines diversement substituées en para ont été transformées en sels d'arènediazonium par un excès d'une solution acide de nitrite de sodium. On a ensuite réalisé la copulation diazoïque en faisant réagir ces sels en quantité équimolaire avec des phénolates diversement substitués mais possédant au moins un substituant en para (Figure 3.2). Tous les produits synthétisés ont été purifiés par chromatographie sur colonne et/ou recristallisation à des fins analytiques. Les modes opératoires et les caractérisations sont décrits en annexe A.

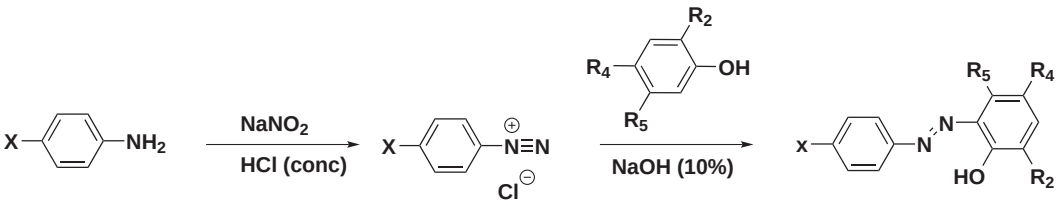


FIGURE 3.2 – *Schéma de synthèse des molécules de la série 2-hydroxyazobenzène.*

3.1.2 2-hydroxyazobenzènes du type $THXCl_3$

Comme nous l'expliquerons plus loin, une attention particulière a été portée à la série $\mathbf{THXCl_3}$. Les membres de cette série ayant été synthétisés avec succès sont présentés sur la figure 3.3 ainsi que les rendements de synthèse associés. [a]

3.1.3 Autres molécules de la plateforme 2-hydroxyazobenzène

Après avoir fait varier le groupement en para du noyau aniline (noté **X** sur la figure 3.2) pour aboutir à la série $\mathbf{THXCl_3}$, d'autres séries de molécules basées sur le motif 2-hydroxyazobenzène ont également été explorées. Il a donc été envisagé de modifier le nombre et la nature des substituants du noyaux phénolique (notés $\mathbf{R_2}$, $\mathbf{R_4}$ et $\mathbf{R_5}$ sur la figure 3.2 conformément à leur position relative au groupement hydroxyle). Les structures des molécules et les rendements associés sont présentés fi-

[a]. Pour compléter la série $\mathbf{THXCl_3}$ la synthèse de la molécule $\mathbf{THNMe_2Cl_3}$ (avec un substituant très électrodonneur en para) a été envisagée. Nous n'avons cependant pas été capables d'isoler le produit de diazotation. Considérant le fort dégagement gazeux observé lors de l'ajout du phénolate, nous avons supposé que le diazonium issu de la 4-diméthylaminoaniline n'est pas stable, même à faible température.

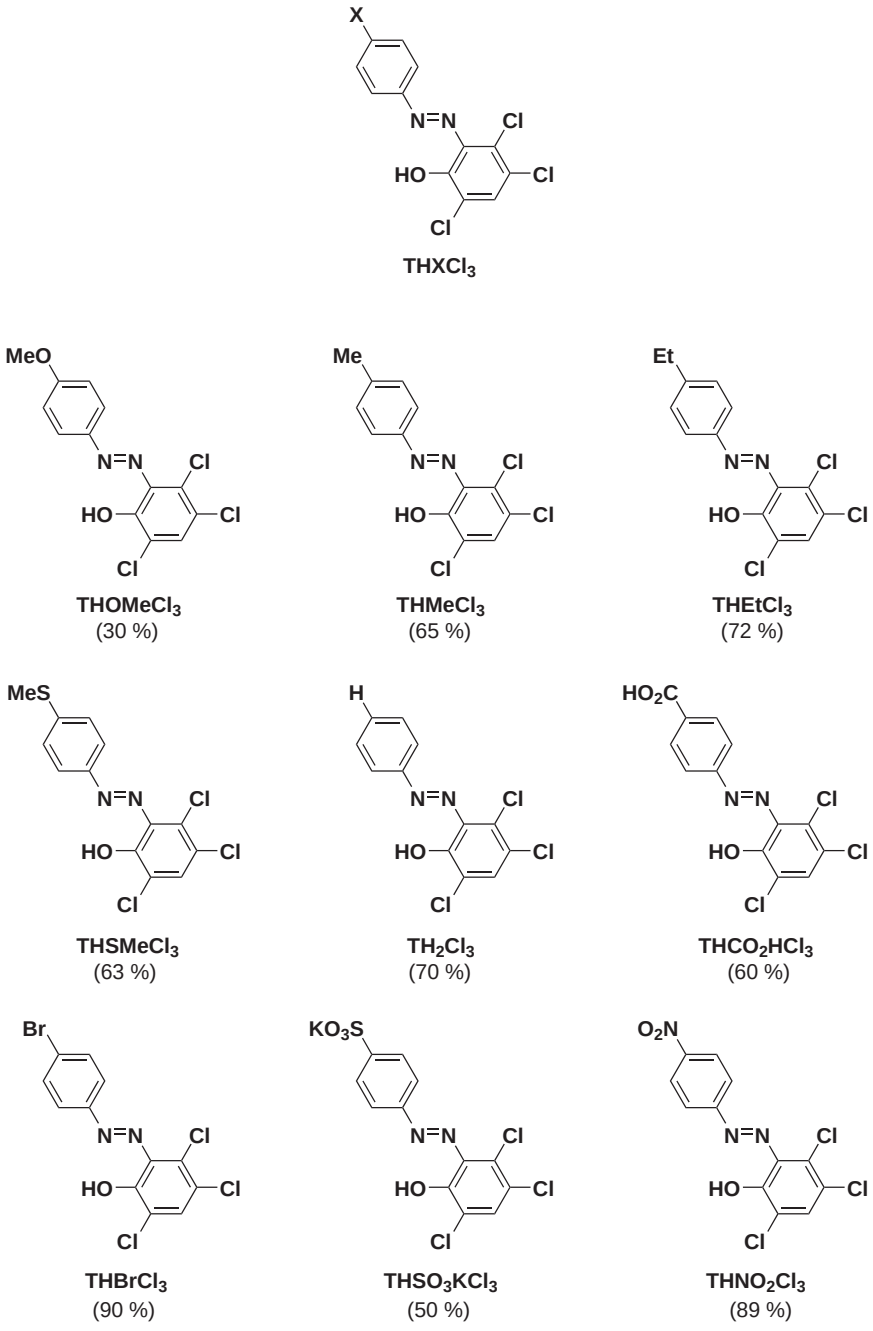


FIGURE 3.3 – *Molécules de la série* ***THXCl$_3$*** *ayant été synthétisées et rendements associés.*

gure 3.4. [b] [c]

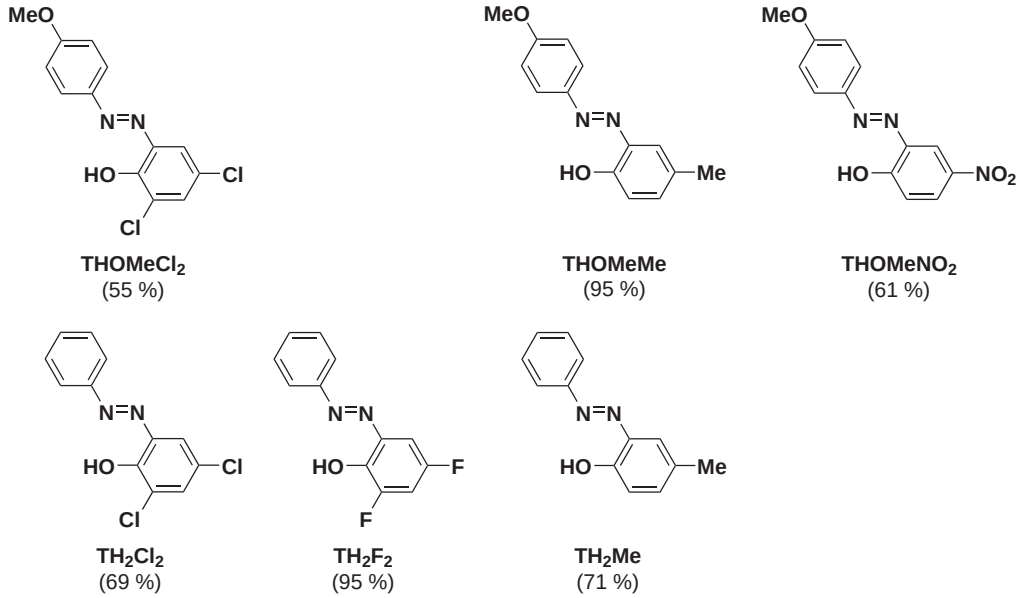


FIGURE 3.4 – *Autres molécules de la plateforme 2-hydroxyazobenzène mais n'appartenant pas à la série* ***THXCl$_3$*** *ayant été synthétisées et rendements associés.*

3.2 Étude de l'isomère trans de la plateforme 2-hydroxyazobenzène

Les résultats présentés de manière détaillée dans la suite de ce chapitre concerne la molécule **TH$_2$Cl$_3$** dont les caractéristiques physico-chimiques sont intermédiaires parmi les molécules étudiées. Les spectres obtenus avec les autres molécules sont reportés en annexe B. La discussion des résultats sur l'ensemble des molécules est effectuée de façon globale en fin de chaque partie.

La quasi-totalité des molécules étudiées n'étant pas solubles dans l'eau, les études physico-chimiques ont été menées dans un mélange d'eau (ou de tampon aqueux) et d'acétonitrile dans des proportions identiques en volume.

3.2.1 Observations préliminaires

La molécule **TH$_2$Cl$_3$** possède un groupement phénol connu pour être un acide faible.[119] La figure 3.5 montre ainsi l'évolution du spectre d'absorption de cette molécule en fonction du pH. [d]

La comparaison des spectres à pH = 7.2 et à pH = 11.1 montre un effet bathochrome marqué lorsque que l'on passe d'un pH acide à un pH basique puisque la longueur d'onde du maximum

[b]. Notons que les molécules de ces nouvelles séries ont toutes en commun de ne pas présenter de substituant en position 5 du phénol initial. Nous verrons dans la suite que cette position semble avoir une importance quant aux caractéristiques physicochimiques des molécules (voir paragraphes 3.2.3 et 3.2.3).

[c]. Comme pour la série **THXCl$_3$** nous avons échoué à synthétiser d'autres membres permettant de compléter ou de prolonger ces séries comme les molécules **TH$_2$NO$_2$**, **TH$_2$Br$_2$** ou **TH$_2$Ph**. Notons qu'après étude de la molécule **TH$_2$F$_2$**, nous avons décidé de ne pas synthétiser **THOMeF$_2$** (voir paragraphe 3.3.4).

[d]. La mesure a été réalisée dans l'obscurité pour éviter toute isomérisation trans → cis (voir paragraphe 3.3.1).

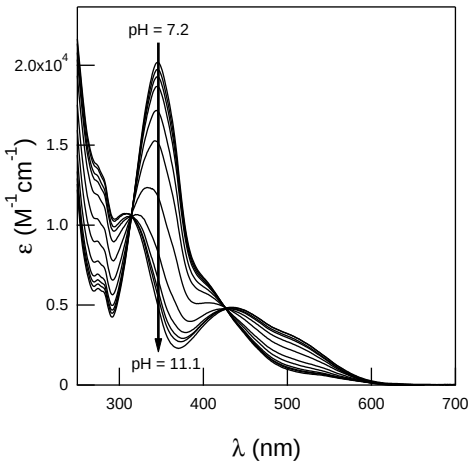


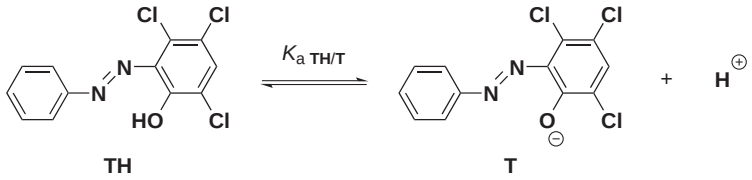
FIGURE 3.5 – *Spectres d'absorption de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *(*$[\boldsymbol{TH_2Cl_3}] = 42\ \mu M$*). – pH = 7.2, 8.0, 8.3, 8.9, 9.1, 9.5, 9.8, 10.1, 10.3, 10.6, 11.1 – Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

d'absorption passe de 345 nm pour le spectre à pH = 7.2 à 435 nm pour le spectre à pH = 11.1. Cet effet bathochrome est en accord avec l'existence de deux formes acido-basiques :

– l'une pour laquelle le phénol est protoné, notée **TH** ;
– l'autre pour laquelle le phénol est déprotoné, notée **T**.

En effet, la conjugaison de la molécule déprotonée **T** est plus importante que celle de la molécule protonée **TH** puisque le groupement $\mathbf{O^-}$ a un effet mésomère donneur plus fort que le groupement **OH**.

Ces deux formes sont impliquées dans un équilibre acido-basique dont la constante thermodynamique est notée $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$ (figure 3.2.1).



3.2.2 Dosage spectrophotométrique et détermination de $\mathrm{pKa_{TH/T}}$

À partir des courbes montrant la variation de l'absorbance de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ en fonction du pH, on a pu déterminer la valeur de $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$. On a ainsi réalisé un dosage spectrophotométrique de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$.

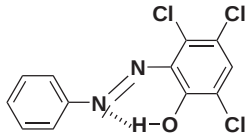
Le logiciel commercial *SPECFIT/32*[130–133] a été utilisé pour réaliser un ajustement global de l'évolution de l'absorbance en fonction du pH pour extraire de ces courbes la valeur de la constante d'équilibre. On trouve $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}} = 9.4 \pm 0.1$.

3.2.3 Discussion des résultats

Pour TH_2Cl_3

La valeur de ce pK_a est supérieure à celle que nous avons mesurée pour la molécule de 2,4,5-trichlorophénol (pK_a = 8.3) malgré le groupement azo **N**=**N** en position ortho du phénol qui devrait stabiliser l'ion phénolate et donc diminuer le pK_a de la molécule.

Cette faible acidité de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ peut ainsi être attribuée à une liaison hydrogène intramoléculaire entre le proton phénolique et un des atomes d'azote de la liaison **N**=**N** (voir figure 3.6). Cette liaison stabilise le proton phénolique plus efficacement que l'effet mésomère attracteur du groupement **N**=**N** ne stabilise l'ion phénolate en ortho. La molécule est ainsi moins acide que le 2,4,5-trichlorophénol ; son pK_a est plus élevé.



TH_2Cl_3

FIGURE 3.6 – *Liaison hydrogène intramoléculaire dans la molécule **TH**.*

L'étude du spectre RMN dans le chloroforme deutéré de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ fournit un autre argument en faveur de l'existence d'une telle liaison hydrogène. En effet la valeur du déplacement chimique du proton phénolique dans la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ est largement supérieure (14.6 ppm) à celle de ce même proton dans le 2,4,5-trichlorophénol (5.5 ppm). Ce déblindage indique que la densité électronique autour du proton dans la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ est plus faible que dans le 2,4,5-trichlorophénol, ce qui est compatible avec l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire.

Pour l'ensemble de la série $\mathbf{THXCl_3}$

Les valeurs des p$K_{a\,\mathbf{TH/T}}$ des autres molécules de la série $\mathbf{THXCl_3}$ sont présentées dans le tableau 3.1.

Pour rendre compte des variations de p$K_{a\,\mathbf{TH/T}}$ selon la nature du substituant en para, les valeurs des p$K_{a\,\mathbf{TH/T}}$ trouvées ont été portées en fonction du coefficient de Hammett σ_p associé à chaque groupement en para (voir tableau 3.2).[144,145] On obtient le graphe de la figure 3.7 pour lequel il est possible d'ajuster les données expérimentales par une droite. On observe une bonne corrélation entre les deux grandeurs et numériquement on obtient :

$$pK_{a\,\mathbf{TH/T}} = 9.4 - 1.3\,\sigma_p \text{ [e]}$$

[e]. Il est donc possible d'extrapoler le p$K_{a\,\mathbf{TH/T}}$ de tout 2-hydroxyazobenzène de la série $\mathbf{THXCl_3}$ connaissant la valeur de la constante de Hammett σ_p associée à **X**.

$THXCl_3$	$pK_{a\,TH/T}$ (±0.1)
$THOMeCl_3$	9.5
$THMeCl_3$	9.7
$THEtCl_3$	9.6
$THSMeCl_3$	9.6
TH_2Cl_3	9.4
$THCOOHCl_3$	9.2
$THBrCl_3$	8.9
$THSO_3KCl_3$	8.9
$THNO_2Cl_3$	8.3

TABLE 3.1 – *Valeurs des $pK_{a\,TH/T}$ des molécules de la série **$THXCl_3$**.*

Substituant X	σ_p
OMe	-0.268
Me	-0.170
Et	-0.151
SMe	-0.047
H	0
COOH	0.132
Br	0.232
SO_3K	0.381
NO_2	0.778

TABLE 3.2 – *Valeurs des coefficients de Hammett σ_p associés à chaque substituant **X** en para.*[144]

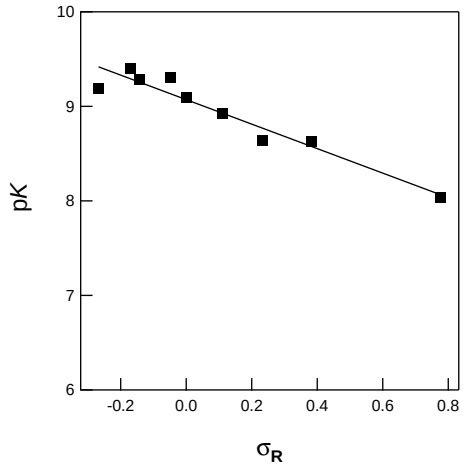


FIGURE 3.7 – *Graphe des $pK_{a\,TH/T}$ des molécules de la série **$THXCl_3$** portés en fonction des coefficients de Hammett σ_p associés à chaque groupement en para. Carrés : données expérimentales. Trait : ajustement par une droite.*

Ainsi, plus le groupement est électroattracteur et plus la fonction phénol présente un caractère acide. Cette tendance peut être expliquée par deux effets agissant dans le même sens :

i. L'effet mésomère du groupement en para agit sur la densité électronique autour de l'atome d'azote impliqué dans la liaison hydrogène intramoléculaire. Pour un groupement donneur, cela stabilise donc d'avantage le proton phénolique et rend la molécule d'autant moins acide.

ii. Ce même effet mésomère agit sur la stabilité de l'ion phénolate issu de la déprotonation de l'acide. Un groupement donneur diminue ainsi le caractère acide du phénol associé.

Pour les autres 2-hydroxyazobenzènes

Les valeurs des $pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$ des molécules des autres séries sont présentées dans le tableau 3.3. Notons que pour la molécule **THOMeMe**, seule une borne inférieure de la valeur de $pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$ a pu être donnée puisqu'au delà de pH=12 l'électrode pHmétrique utilisée n'est plus précise et le tampon Britton-Robinson se met à précipiter.

$\mathbf{THXCl_3}$	$\mathbf{p}K_{\mathbf{a\,TH/T}}$ (±0.1)
THOMeMe	> 12
$\mathbf{TH_2Me}$	11.2
$\mathbf{TH_2F_2}$	8.8
$\mathbf{THOMeCl_2}$	9.2
$\mathbf{TH_2Cl_2}$	8.7
$\mathbf{THOMeNO_2}$	7.8

TABLE 3.3 – *Valeurs des $pK_{a\,TH/T}$ des molécules des séries autres que $\mathbf{THXCl_3}$.*

Phénol	$\mathbf{p}K_{\mathbf{a}}$ (±0.1)
4-méthylphénol	>11.6
2,4-difluorophénol	10.1 [f]
2,4-dichlorophénol	9.4
4-nitrophénol	8.3

TABLE 3.4 – *Valeurs des pK_a des phénol associés.*

Même si le faible nombre de molécules dans chaque série rend leur comparaison plus difficile que dans la série $\mathbf{THXCl_3}$, certaines tendances peuvent être dégagées :

- Les comparaisons des pK_a de **THOMeMe** et $\mathbf{TH_2Me}$ d'une part et de ceux de $\mathbf{THOMeCl_2}$ et $\mathbf{TH_2Cl_2}$ d'autre part montrent que la valeur de $pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$ est d'autant plus grande que le substituant en para est électrodonneur (pour une même structure de la partie phénolique). Cette observation est en accord avec l'effet de substituant observé pour la série $\mathbf{TH_2Cl_3}$ et renforce les justifications évoquées pour l'expliquer.
- La comparaison de $\mathbf{TH_2Me}$, $\mathbf{TH_2Cl_2}$, $\mathbf{TH_2F_2}$ d'une part et de **THOMeMe**, $\mathbf{THOMeCl_2}$ et $\mathbf{THOMeNO_2}$ d'autre part montre que la valeur de $pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$ est d'autant plus grande que le noyau

[f]. La valeur plus élevée du pK_a du 2,4-difluorophénol par rapport au 2,4-dichlorophénol semble étonnante : on s'attend en effet à ce que les forts effets inductifs attracteurs du fluor rendent le 2,4-difluorophénol plus acide. En fait, l'effet mésomère donneur de l'atome de fluor est plus fort que celui du chlore (le recouvrement entre les orbitales 2p du fluor et 2p du carbone est meilleur que le recouvrement 3p du chlore avec le 2p du carbone). Les deux effets antagonistes (mésomère donneur et inductif attracteur) tendent donc à s'annuler dans le cas du dérivé fluoré alors que l'effet inductif attracteur prédomine dans le cas du dérivé chloré, justifiant par là même la plus forte acidité du 2,4-dichlorophénol.

phénolique est substitué par des groupements électrodonneurs (pour une même partie aniline). Comme précédemment, l'augmentation directe de la densité électronique du noyau phénolique déstabilise l'ion phénolate et rend la molécule moins acide.

Comme on l'a fait pour la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$, il est possible de comparer les valeurs des $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$ des molécules étudiées ci-dessus et les $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}}$ des phénols associés (voir tableau 3.4).

Contrairement à ce qui avait été constaté en comparant $\mathbf{TH_2Cl_3}$ ($\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}} = 9.4$) et le 2,4,5-trichlorophénol ($\mathrm{p}K_{\mathrm{a}} = 8.3$), le $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}}$ des 2-hydroxyazobenzènes des autres séries est toujours inférieur à celui du phénol associé. Pour justifier qualitativement cette tendance, on peut supposer que :

i. La liaison hydrogène intramoléculaire est moins efficace que dans la série $\mathbf{THXCl_3}$.

ii. L'effet mésomère attracteur du groupement **N**=**N** est plus efficace que dans la série $\mathbf{THXCl_3}$.

Si la supposition i. n'est pas facile à étayer, on peut justifier la ii. en disant que la moins bonne conjugaison entre l'ion phénolate et la double liaison **N**=**N** dans la série $\mathbf{THXCl_3}$ est due au substituant en position 5 du phénol. En effet, la gène stérique engendrée par ce substituant peut conduire à une légère torsion de la liaison azote–carbone amenant l'ion phénolate et la double liaison **N**=**N** à ne plus être rigoureusement coplanaire. Cette justification est confortée par la comparaison des maxima d'absorption des phénolates pourvus ou non de groupement en position 5 du phénol (toutes choses égales par ailleurs). Ainsi, on observe un déplacement vers le rouge de la longueur d'onde du maximum d'absorption en passant du phénolate de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (435 nm) à celui du $\mathbf{TH_2Cl_2}$ (477 nm) et en passant du phénolate de $\mathbf{THOMeCl_3}$ (426 nm) à celui de $\mathbf{THOMeCl_2}$ (475 nm). [g]

3.3 Étude de l'isomère cis de la plateforme 2-hydroxyazobenzène

3.3.1 Observations préliminaires

La figure 3.8 compare les spectres d'absorption de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à différents pH en présence ou en l'absence d'illumination prolongée à 365 nm. [h]

Quel que soit le pH auquel on se place, on observe que l'illumination d'un échantillon de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ cause un effet hypochrome marqué : la variation relative de l'absorbance est supérieure à 50 % à pH acide (figure 3.8 **a**) et de l'ordre de 50 % à pH basique (figure 3.8 **b**).

Les échantillons illuminés ont ensuite été abandonnés 10 min dans l'obscurité et leurs spectres d'absorption ont été à nouveau enregistrés. Après ces 10 minutes, le spectre d'absorption de l'échantillon à pH = 7.8 se superpose exactement à celui de l'échantillon conservé dans l'obscurité. En revanche, l'échantillon à pH = 11.8 ne montre aucune évolution du spectre d'absorption, même en laissant l'échantillon dans l'obscurité plusieurs heures.

Cette expérience met en évidence que les deux formes acido-basiques de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (**TH** et **T**) ne sont pas stables sous illumination. La littérature sur les 2-hydroxyazobenzènes[111] suggère

[g]. La différence d'agencement spatial entre l'atome d'oxygène et d'azote peut aussi expliquer une différence de stabilisation du proton phénolique par la liaison hydrogène intramoléculaire mais aucune preuve expérimentale ne vient étayer cet argument.

[h]. Toutes les expériences ont été réalisées à basse température (4 °C) pour limiter la vitesse de relaxation thermique vers l'état d'équilibre comme expliqué au paragraphe 3.3.5.

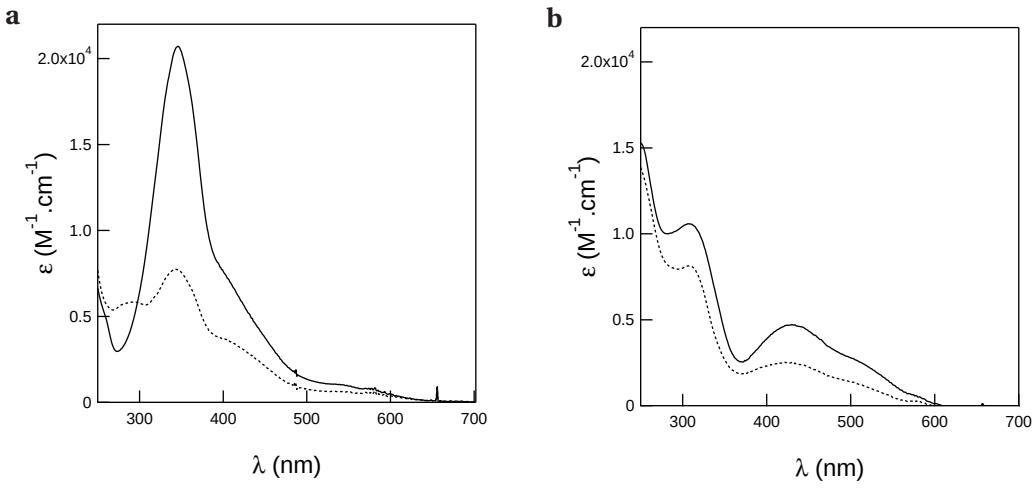


FIGURE 3.8 – *Graphes représentant l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour une solution de* TH_2Cl_3 *(*$[TH_2Cl_3] = 42\ \mu M$*). Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1).* ***a*** *: trait plein pH = 8, obscurité ; pointillés pH = 8 irradié 5 min à 365 nm ;* ***b*** *: trait plein pH = 11.8, obscurité ; pointillés pH = 11.8 irradié 5 min à 365 nm. T = 4 °C.*

que cet effet soit dû à la photoisomérisation du 2-hydroxyazobenzène de configuration trans en son isomère cis (noté **CH** et **C** selon l'état de protonation).

Nos observations sont en accord avec cette interprétation :

i. Dans la littérature, les formes cis et trans possèdent une longueur d'onde du maximum d'absorption approximativement identique ; c'est effectivement ce que nous observons à un pH donné ;

ii. De même, les formes cis sont décrites comme possédant un coefficient d'absorption molaire de l'ordre de la moitié de celui des formes trans, en bon accord avec les réductions d'absorbance observées ici sous illumination.

Cette expérience préliminaire montre aussi que l'isomère cis de la forme protonée (**CH**) est instable thermiquement à l'échelle de quelques minutes puisqu'en abandonnant un échantillon dans l'état photostationnaire (contenant les formes cis et trans), on retrouve le spectre de la forme trans seule à l'échelle de temps de la dizaine de minutes. Ce temps de relaxation thermique de l'ordre de quelques minutes est en accord avec la littérature sur les azobenzènes de la série « aminoazobenzène » comme expliqué au paragraphe 1.3.4.[70,100,101] Parallèlement, l'existence de la liaison hydrogène intramoléculaire dans la forme trans présentée sur la figure 3.6 a aussi été invoquée pour justifier cette relaxation thermique particulièrement rapide.[91]

En revanche, conformément à la littérature,[66,146] l'isomère cis de la forme déprotonée du 2-hydroxyazobenzène (**C**) est cinétiquement stable à la même échelle de temps, puisqu'en abandonnant un échantillon dans l'état photostationnaire, aucune évolution du spectre d'absorption n'est observée. Un mécanisme réactionnel faisant intervenir une catalyse acide générale a été évoqué pour justifier ce résultat.[147]

3.3.2 Modèle cinétique

L'expérience préliminaire précédente nous a incité à proposer un modèle permettant d'interpréter les propriétés photochimiques observées.

Le modèle retenu implique que les 2-hydroxyazobenzènes existent à l'état fondamental sous quatre formes différentes :

- une forme de configuration trans dans laquelle le phénol est protoné **TH** ;
- une forme de configuration trans dans laquelle le phénol est déprotoné **T** ;
- une forme de configuration cis dans laquelle le phénol est protoné **CH** ;
- une forme de configuration cis dans laquelle le phénol est déprotoné **C**.

Tout comme dans le cas des azobenzènes classiques, les formes trans des 2-hydroxyazobenzènes sont thermodynamiquement stables alors que les formes cis évoluent thermiquement vers les formes trans correspondantes. Dans les conditions d'illumination utilisées, on néglige donc la constante cinétique de réaction trans → cis thermique devant la constante cinétique de réaction photochimique. En revanche, on considère que la réaction cis → trans est à la fois thermiquement et photochimiquement activée (quel que soit l'état de protonation de la molécule).

Les états accessibles pour un 2-hydroxyazobenzène ainsi que les processus d'interconversion entre ces états sont finalement représentés dans la figure 3.9 sur l'exemple de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$. [i]

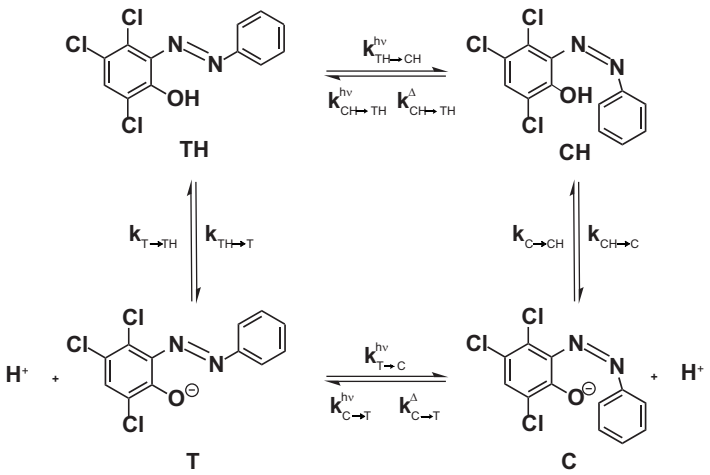


FIGURE 3.9 – *Processus d'interconversion entre les quatre états accessibles pour le 2-hydroxyazobenzène* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$.

Les équations cinétiques correspondant à ce modèle sont :

$$\frac{d\,[\mathbf{TH}]}{d\,t} = -\left(k_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{T}} + k_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}\right)[\mathbf{TH}] + k_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}\,[\mathbf{CH}] + k_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{TH}}\left[\mathbf{H^+}\right][\mathbf{T}] \quad (3.1)$$

[i]. Dans un premier temps, le modèle utilisé privilégie le proton $\mathbf{H^+}$ comme agent de reprotonation des formes basiques. Il pourra ultérieurement être remplacé éventuellement par un autre acide (un acide impliqué dans un tampon par exemple).

$$\frac{d[\mathbf{CH}]}{dt} = k_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}[\mathbf{TH}] - \left(k_{\mathbf{CH}\to\mathbf{C}} + k_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}\right)[\mathbf{CH}] + k_{\mathbf{C}\to\mathbf{CH}}\left[\mathbf{H}^+\right][\mathbf{C}] \tag{3.2}$$

$$\frac{d[\mathbf{T}]}{dt} = k_{\mathbf{TH}\to\mathbf{T}}[\mathbf{TH}] - \left(k_{\mathbf{T}\to\mathbf{TH}}\left[\mathbf{H}^+\right] + k_{\mathbf{T}\to\mathbf{C}}\right)[\mathbf{T}] + k_{\mathbf{C}\to\mathbf{T}}[\mathbf{C}] \tag{3.3}$$

$$\frac{d[\mathbf{C}]}{dt} = k_{\mathbf{CH}\to\mathbf{C}}[\mathbf{CH}] + k_{\mathbf{T}\to\mathbf{C}}[\mathbf{T}] - \left(k_{\mathbf{C}\to\mathbf{T}} + k_{\mathbf{C}\to\mathbf{CH}}\left[\mathbf{H}^+\right]\right)[\mathbf{C}] \tag{3.4}$$

On suppose, conformément au modèle décrit figure 3.9, que $k_{\mathbf{C}\to\mathbf{T}}$ et $k_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}$ possèdent une composante thermique (notée avec Δ en exposant) et une composante photochimique (notée avec $h\nu$ en exposant), alors que $k_{\mathbf{T}\to\mathbf{C}}$ et $k_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}$ possèdent seulement une composante photochimique :

$$k_{\mathbf{C}\to\mathbf{T}} = k^{h\nu}_{\mathbf{C}\to\mathbf{T}} + k^{\Delta}_{\mathbf{C}\to\mathbf{T}} \tag{3.5}$$

$$k_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} = k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} \tag{3.6}$$

$$k_{\mathbf{T}\to\mathbf{C}} = k^{h\nu}_{\mathbf{T}\to\mathbf{C}} \tag{3.7}$$

$$k_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} = k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} \tag{3.8}$$

Dans les conditions expérimentales utilisées pour acquérir les données cinétiques, il est possible de réduire le mécanisme présenté figure 3.9 pour décrire l'évolution temporelle du système.

TH et **T** (respectivement **CH** et **C**) sont en effet impliqués dans des réactions acido-basiques mettant en jeu des constantes cinétiques élevées. En particulier, l'échange de proton entre l'acide le plus fort et la base la plus forte est généralement limité par la diffusion.[120] On suppose ainsi que **TH** (respectivement **CH**) et **T** (respectivement **C**) sont en échange rapide à l'échelle de temps des réactions photochimiques : on introduit alors des espèces moyennes notées $\overline{\mathbf{T}}$ et $\overline{\mathbf{C}}$ et qui vérifient :

$$\left[\overline{\mathbf{T}}\right] = [\mathbf{TH}] + [\mathbf{T}] \tag{3.9}$$

$$\left[\overline{\mathbf{C}}\right] = [\mathbf{CH}] + [\mathbf{C}] \tag{3.10}$$

avec

$$[\mathbf{TH}] = \frac{\left[\overline{\mathbf{T}}\right]}{1 + \frac{K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}}{[\mathbf{H}^+]}} \quad \text{et} \quad [\mathbf{T}] = \frac{\left[\overline{\mathbf{T}}\right]}{1 + \frac{[\mathbf{H}^+]}{K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}}}$$

$$[\mathbf{CH}] = \frac{\left[\overline{\mathbf{C}}\right]}{1 + \frac{K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}}{[\mathbf{H}^+]}} \quad \text{et} \quad [\mathbf{C}] = \frac{\left[\overline{\mathbf{C}}\right]}{1 + \frac{[\mathbf{H}^+]}{K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}}}$$

où $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$ (respectivement $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$) est la constante thermodynamique associée à la réaction acido-basique entre **TH** (respectivement **CH**) et **T** (respectivement **C**) :

$$K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}} = \frac{[\mathbf{T}]\left[\mathbf{H}^+\right]}{[\mathbf{TH}]} = \frac{k_{\mathbf{TH}\to\mathbf{T}}}{k_{\mathbf{T}\to\mathbf{TH}}} \tag{3.11}$$

$$K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} = \frac{[\mathbf{C}]\left[\mathbf{H}^+\right]}{[\mathbf{CH}]} = \frac{k_{\mathbf{CH}\to\mathbf{C}}}{k_{\mathbf{C}\to\mathbf{CH}}} \tag{3.12}$$

Cette hypothèse (qui sera vérifiée à la fin du chapitre suivant) conduit à un mécanisme réactionnel simplifié :

$$\overline{\mathbf{T}} \underset{k_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}}{\overset{k_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}}{\rightleftharpoons}} \overline{\mathbf{C}} \tag{3.13}$$

En utilisant la réduction mécanistique effectuée, le système d'équations 3.1–3.4 devient :

$$\frac{d\left[\overline{\mathbf{T}}\right]}{dt} = -k_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}\left[\overline{\mathbf{T}}\right] + k_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}\left[\overline{\mathbf{C}}\right] \tag{3.14}$$

avec

$$k_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} = \frac{k_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}} + k_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}\left[\mathbf{H}^+\right]}{\left[\mathbf{H}^+\right] + K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}} \tag{3.15}$$

$$k_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} = \frac{k_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} + k_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}\left[\mathbf{H}^+\right]}{\left[\mathbf{H}^+\right] + K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}} \tag{3.16}$$

On a en particulier :

$$k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} = \frac{k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}\left[\mathbf{H}^+\right]}{\left[\mathbf{H}^+\right] + K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}} \tag{3.17}$$

$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} = \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} + k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}\left[\mathbf{H}^+\right]}{\left[\mathbf{H}^+\right] + K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}} \tag{3.18}$$

Dans la géométrie mono-dimensionnelle utilisée pour effectuer l'illumination (voir paragraphe 4.1.4), les constantes cinétiques $k^{h\nu}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}$, $k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$, $k^{h\nu}_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}$ et $k^{h\nu}_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}$ sont par ailleurs liées à l'intensité lumineuse I_0 appliquée sur la solution de 2-hydroxyazobenzène par les relations :[116]

$$k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = \varepsilon_{\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})\,\frac{1-\exp(-2.3\,A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}}))}{A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,V} \tag{3.19}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = \varepsilon_{\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})\,\frac{1-\exp(-2.3\,A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}}))}{A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,V} \tag{3.20}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = \varepsilon_{\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})\,\frac{1-\exp(-2.3\,A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}}))}{A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,V} \tag{3.21}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = \varepsilon_{\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})\,\frac{1-\exp(-2.3\,A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}}))}{A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,V} \tag{3.22}$$

avec

- $\varepsilon_{\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}})$, $\varepsilon_{\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}})$, $\varepsilon_{\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}})$ et $\varepsilon_{\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}})$ les coefficients d'absorption molaire des espèces **T**, **TH**, **C** et **CH** à la longueur d'onde d'excitation λ_{E} ;
- $\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}})$, $\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}})$, $\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}})$ et $\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}})$ les rendements quantiques des photo-réactions **C → T**, **CH → TH**, **T → C** et **TH → CH** à la longueur d'onde d'excitation λ_{E} ;
- $A_{\mathrm{tot}}(\lambda_{\mathrm{E}})$ l'absorbance totale de la solution à la longueur d'onde d'excitation λ_{E} ;
- V le volume irradié ;
- ℓ est la longueur du trajet optique.[116]

Si l'on se place à une absorbance totale suffisamment faible (concentration en molécules $\mathbf{TH_2Cl_3}$ faible), il est possible de développer au premier ordre les équations 3.22, 3.20, 3.21 et 3.19 pour obtenir :

$$k^{h\nu}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = 2.3\,\frac{\varepsilon_{\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})}{V} \tag{3.23}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = 2.3\,\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})}{V} \tag{3.24}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = 2.3\,\frac{\varepsilon_{\mathbf{T}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})}{V} \tag{3.25}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}}) = 2.3\,\frac{\varepsilon_{\mathbf{TH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(\lambda_{\mathrm{E}})\,\ell\,I_0(\lambda_{\mathrm{E}})}{V} \tag{3.26}$$

On déduit ensuite les expressions des concentrations $[\overline{\mathbf{T}}]$ et $\left[\overline{\mathbf{C}}\right]$ en fonction du temps en considérant la condition initiale :

$$[\overline{\mathbf{T}}] + \left[\overline{\mathbf{C}}\right] = [\overline{\mathbf{T}}]_0 \tag{3.27}$$

d'où :

$$[\overline{\mathbf{T}}] = [\overline{\mathbf{T}}]_0 \left[\frac{k_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}}{k} + \left(1 - \frac{k_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}}{k}\right)\exp(-kt)\right] \tag{3.28}$$

$$\left[\overline{\mathbf{C}}\right] = [\overline{\mathbf{T}}]_0 \left[1 - \frac{k_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}}{k}\right]\left[1 - \exp(-kt)\right] \tag{3.29}$$

avec $k = k_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$

La modélisation retenue ici implique deux types de paramètres :

- des paramètres thermodynamiques : les constantes d'équilibre des réactions acide-base $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$ et $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$;
- des paramètres cinétiques : les constantes de vitesse $k^{h\nu}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}$, $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}$, $k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$, $k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$, $k^{h\nu}_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}$ et $k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}$.

La suite de ce chapitre évalue une partie du modèle cinétique présenté ci-dessus et traite de la détermination de la constante thermodynamique acido-basique de l'isomère cis $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ et des constantes cinétiques de retour thermique $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}$ et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$. La détermination des constantes cinétiques photochimiques fera l'objet du chapitre suivant.

3.3.3 Détermination de $\mathrm{pKa}_{\mathbf{CH/C}}$ et des constantes de retour thermique $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}$ et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$

L'isomère cis des azobenzènes ne possédant pas de fonction hydroxyle en ortho est généralement isolable par une technique chromatographique opérée dans l'obscurité.[71] En effet, pour ces composés, le retour thermique cis → trans est généralement lent (de plusieurs dizaines de minutes à plusieurs heures) ce qui donne suffisamment de temps à un opérateur pour isoler la molécule et l'étudier.[70,71] Ainsi, il est possible, après une étape de purification, d'opérer un dosage direct de l'isomère cis pour obtenir son $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}}$.

A contrario, dans le cas particulier des 2-hydroxyazobenzènes, on a vu que l'isomère cis est trop instable pour être isolé en milieu acide. Une détermination directe du $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}}$ de la fonction phénol de l'isomère cis, réalisée selon une approche thermodynamique analogue à celle effectuée avec l'isomère trans – c'est-à-dire par étude de l'absorbance en fonction du pH – n'est donc ici pas possible.

Une approche cinétique est plus favorable pour déterminer la valeur de $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$. On a ainsi utilisé la dépendance de la constante de vitesse $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ avec le pH explicitée dans l'équation 3.16. Pour cela, on a irradié, à un pH contrôlé par un tampon, un échantillon de l'isomère trans pour l'amener dans un état photostationnaire dans lequel les formes cis et trans sont présentes. On étudie ensuite la cinétique du retour thermique cis → trans dans l'obscurité en enregistrant l'évolution de l'absorbance de l'échantillon en fonction du temps.

La figure 3.10 présente cette évolution pour une solution contenant la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à pH = 4.8 après irradiation à 365 nm pendant 5 min à 25 °C. On observe que le retour à l'équilibre (forme trans seule) s'effectue à l'échelle de la vingtaine de secondes.

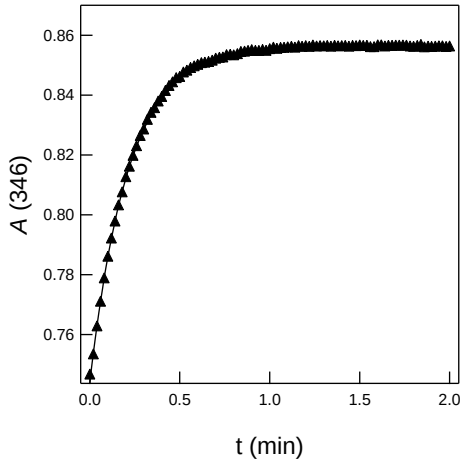


FIGURE 3.10 – *Évolution de l'absorbance à 346 nm en fonction du temps d'une solution contenant* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *(*$[\boldsymbol{TH_2Cl_3}] = 53\ \mu M$*) après irradiation à 365 nm pendant 5 min. pH = 4.8. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

Pour exploiter cette courbe, on modélise le retour thermique vers la forme trans avec la réaction suivante :

$$\overline{\mathbf{C}} \xrightarrow{k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}} \overline{\mathbf{T}}$$

dont la cinétique du premier ordre fournit les concentrations en isomères cis et en trans ($\overline{\mathbf{T}}$ et $\overline{\mathbf{C}}$) en fonction du temps avec des concentrations initiales en forme cis $\left[\overline{\mathbf{C}}\right]_0$ et trans $\left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0$:

$$\left[\overline{\mathbf{T}}\right] = \left[\overline{\mathbf{C}}\right]_0 \left(1 - \exp\left(-k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}\, t\right)\right) + \left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0 \tag{3.30}$$

$$\left[\overline{\mathbf{C}}\right] = \left[\overline{\mathbf{C}}\right]_0 \exp\left(-k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}\, t\right) \tag{3.31}$$

d'où l'expression de l'absorbance :

$$A = \varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}\,\ell\left[\overline{\mathbf{C}}\right] + \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}\,\ell\left[\overline{\mathbf{T}}\right] \tag{3.32}$$

$$= \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}\,\ell\left(\left[\overline{\mathbf{C}}\right]_0 + \left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0\right) + \left[\overline{\mathbf{C}}\right]_0 (\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}} - \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}})\,\ell \exp(-k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}\, t) \tag{3.33}$$

où $\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}$ et $\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}$ sont les coefficients d'absorption molaire de $\overline{\mathbf{C}}$ et $\overline{\mathbf{T}}$ et ℓ la longueur de la cuve.

L'ajustement des données de retour à l'équilibre par l'équation 3.33 donne ainsi accès à la constante de vitesse du retour thermique $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ qui est extraite à différents pH.

L'ajustement de la dépendance de $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ avec le pH par l'équation 3.16 permet finalement d'atteindre la valeur de $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$. La figure 3.11 présente les valeurs de $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ trouvées à différents pH ainsi que l'ajustement par l'équation 3.16.

Le modèle cinétique proposé rend donc compte de façon satisfaisante des données expérimentales. L'ajustement fournit par ailleurs :

$$\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}(\mathbf{TH_2Cl_3}) = 6.6 \pm 0.1$$

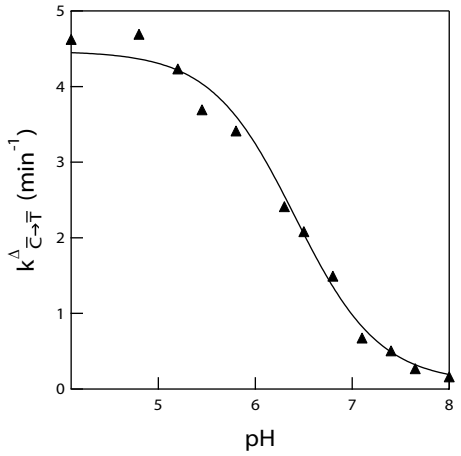


FIGURE 3.11 – *Constantes de vitesse $k^{\Delta}_{\overline{C}\rightarrow\overline{T}}$ du retour thermique cis → trans en fonction du pH. Triangles : données expérimentales. Trait continu : ajustement selon l'expression 3.16. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

ainsi que les valeurs asymptotiques :

$$k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}(\mathbf{TH_2Cl_3}) = 4.5 \pm 0.1 \text{ min}^{-1}$$

$$k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}(\mathbf{TH_2Cl_3}) = 0.09 \pm 0.12 \text{ min}^{-1}$$

L'ajustement des valeurs expérimentales par l'équation 3.16 permet d'accéder avec une bonne précision aux valeurs de p$K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$. La précision sur la valeur de $k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ est quant à elle mauvaise : $k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ est trop proche de 0 min^{-1} pour être déterminée précisément par cette méthode. En fait, pour un pH de l'ordre de 8.5, la variation de l'absorbance au cours du temps est si lente que la courbe $A = \mathrm{f}(t)$ reste linéaire pour une expérience d'une durée de 60 min. De cette observation, on peut déduire une borne supérieure pour la valeur de $k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}(\mathbf{TH_2Cl_3})$:

$$k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}(\mathbf{TH_2Cl_3}) < 1.7\ 10^{-2} \text{ min}^{-1}$$

3.3.4 Discussion des résultats

Pour $\mathbf{TH_2Cl_3}$

La valeur trouvée pour p$K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ appelle deux remarques :

i. $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ est environ trois ordres de grandeur plus grand que $K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$ ($\Delta\mathrm{p}K_{\mathrm{a}} = 2.8$). Cet effet est dû à la perte de la liaison hydrogène intramoléculaire dans l'isomère cis. Le proton phénolique n'est plus stabilisé comme il l'était dans l'isomère trans (voir figure 3.12).

ii. p$K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ est inférieur au pK_{a} du 2,4,5-trichlorophénol (8.3) : la liaison hydrogène intramoléculaire ayant disparue, seul demeure l'effet mésomère attracteur de la double liaison **N**=**N**. Ce dernier stabilise l'ion phénolate et rend la molécule plus acide.

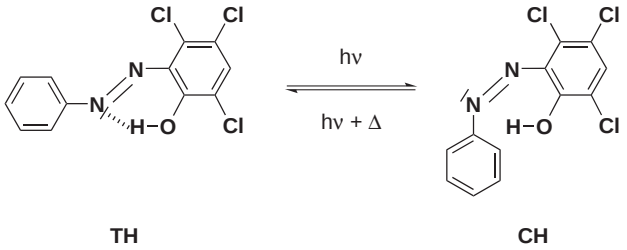


FIGURE 3.12 – *Représentations des isomères trans et cis de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *montrant l'existence ou non d'une liaison hydrogène intramoléculaire.*

Pour l'ensemble de la série $\mathbf{THXCl_3}$

Les données expérimentales obtenues pour certaines des molécules de la série $\mathbf{THXCl_3}$, sont fournies en annexe. Les valeurs des paramètres cinétiques et thermodynamiques extraites de ces résultats sont reportées dans le tableau 3.5.

$\mathbf{THXCl_3}$	$\mathbf{p}K_{\mathbf{a\,CH/C}}$ ±0.1	$k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ ±0.1 (min^{-1})	$10^2\,k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ (min^{-1})
$\mathbf{THOMeCl_3}$	7.0	0.4	3 ± 3
$\mathbf{THMeCl_3}$	6.6	1.2	2 ± 2
$\mathbf{THEtCl_3}$	6.8	1.5	2 ± 2
$\mathbf{THSMeCl_3}$	6.7	2.6	2 ± 2
$\mathbf{TH_2Cl_3}$	6.6	4.5	<2

TABLE 3.5 – *Valeurs des paramètres thermodynamiques (*$pK_{a\,\mathbf{CH/C}}$*) et cinétiques (*$k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ *et* $k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}$*) de certaines molécules de la série* $\mathbf{THXCl_3}$ *obtenues en étudiant la cinétique du retour thermique après illumination continue au maximum d'absorption des formes* **TH** *en fonction du pH.* $T = 25\,^{\circ}C$.

L'expérience décrite ici n'a pas pu être menée avec les 2-hydroxyazobenzènes possédant un groupement électroattracteur en para ($\mathbf{THCO_2HCl_3}$, $\mathbf{THBrCl_3}$, $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ et $\mathbf{THNO_2Cl_3}$). En effet, pour ces molécules, la cinétique du retour thermique est trop rapide pour permettre à l'expérimentateur d'enregistrer l'évolution temporelle de l'absorbance après illumination continue.

On remarque que pour toutes les molécules étudiées, la précision obtenue est très bonne pour $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ et qu'elle est mauvaise pour $k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ comme expliqué ci-dessus pour $\mathbf{TH_2Cl_3}$.

Comme on l'a fait pour les valeurs de $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$, il est possible de corréler les grandeurs $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ aux valeurs des coefficients de Hammett σ_{p} associés à chaque groupement en para.[144,145] On obtient les graphes de la figure 3.13.

Comme pour le couple **TH/T**, la figure 3.13 **a** montre que le $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}}$ du couple **CH/C** a tendance à diminuer d'autant plus que le substituant en para est électroattracteur. Comme expliqué précédemment, un substituant attracteur stabilise la forme phénolate et rend donc la molécule **TH** plus acide. Cependant la faible dispersion des points du graphe tend à montrer que $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ est moins sensible

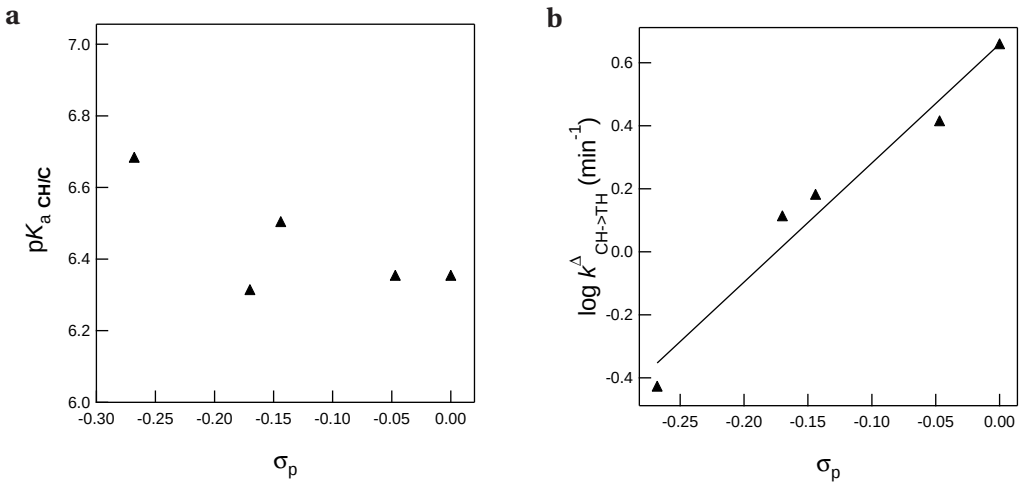


FIGURE 3.13 – ***a*** *: Graphe des valeurs de $pK_{a\,\mathbf{CH/C}}$ des molécules* ***THOMeCl$_3$***, ***THMeCl$_3$***, ***THEtCl$_3$***, ***THSMeCl$_3$*** *et* ***TH$_2$Cl$_3$*** *portées en fonction des coefficients de Hammett σ_p associés au groupement en para de chaque molécule.* ***b*** *: Graphe des valeurs de $\log k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ des molécules* ***THOMeCl$_3$***, ***THMeCl$_3$***, ***THEtCl$_3$***, ***THSMeCl$_3$*** *et* ***TH$_2$Cl$_3$*** *portées en fonction des coefficients de Hammett σ_p associés au groupement en para de chaque molécule. Triangles : données expérimentales. Trait : ajustement par une droite. $T = 25\,^{\circ}C$.*

a cet effet de substituant que $pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$. Pour justifier cette tendance, on peut avancer que la forme cis n'est certainement pas complètement plane en raison d'une gène stérique importante entre les noyaux aromatiques. Cela diminue le recouvrement orbitalaire entre les deux phényles : les effets électroniques des substituants du phényle de l'aniline se propagent d'autant moins bien à la partie phénolique de la molécule.

En ce qui conserne la variation de la constante cinétique de retour thermique $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ avec la nature du substituant en para de l'aniline, l'ajustement des données du graphe **b** de la figure 3.13 par une droite donne :

$$\log k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}} = 0.66 + 3.76\,\sigma_{\mathrm{p}}\ ^{[j]} \tag{3.34}$$

où la constante de vitesse est exprimée en min^{-1}.

Il est clair qu'il y a une corrélation entre le caractère électrodonneur du substituant en para de l'aniline et la constante cinétique du retour thermique de la molécule protonée : plus le substituant est électrodonneur et plus ce retour est lent.

Cet effet peut se justifier par l'augmentation du caractère simple liaison de la liaison **N**=**N** quand le substituant est électroattracteur. Le doublet non liant du phénol ou du phénolate est en effet d'autant mieux délocalisé que le groupement en para est attracteur. La double liaison **N**=**N** ainsi affaiblie entraîne l'instabilité thermique de l'isomère cis. Cette tendance a déjà été observée dans la littérature.[99]

Ce résultat est en accord avec notre observation quant à la rapidité du retour thermique des molécules possédant un groupement électroattracteur. En particulier, s'il est très difficile d'observer un

[j]. En supposant que quel que soit l'effet électronique du groupement fonctionnel en para de l'aniline, il n'y a pas de changement de mécanisme dans le processus de retour thermique, il est possible de déterminer la valeur de la constante de retour thermique $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ de n'importe quel 2-hydroxyazobenzène de la série $\mathbf{Cl_3}$ par extrapolation.

retour thermique à pH acide pour les molécules **THCOOHCl$_3$** (σ_p = 0.132), **THBrCl$_3$** (σ_p = 0.232) ou **THSO$_3$KCl$_3$** (σ_p = 0.381) même à basse température (4 °C), on n'observe aucune variation de l'absorbance pour le molécule **THNO$_2$Cl$_3$** (σ_p = 0.78) quelle que soit la température tant le retour thermique est rapide.

Pour les autres 2-hydroxyazobenzènes

Tout comme les molécules de la série **THXCl$_3$** possédant un groupement électroattracteur en para, quasiment toutes les molécules des autres séries 2-hydroxyazobenzène ont un retour thermique très rapide, même à pH basique. Nous n'avons donc été capables de mesurer les valeurs des constantes de retour thermique que pour des valeurs élevées du pH. La figure 3.14 montre les valeurs de ces constantes cinétiques en fonction du pH pour les molécules **TH$_2$Cl$_3$** (triangles) et **THOMeCl$_2$** (carrés).

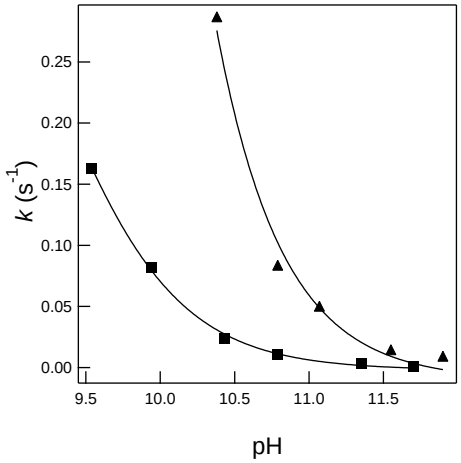


FIGURE 3.14 – *Constantes de vitesse $k^{\Delta}_{\overline{C}\rightarrow\overline{T}}$ du retour thermique cis → trans en fonction du pH pour la molécule **TH$_2$Cl$_2$** : triangles : données expérimentales ; trait continu : ajustement selon l'expression 3.16. Pour la molécule **THOMeCl$_2$** : carrés : données expérimentales ; trait continu : ajustement selon l'expression 3.16. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

On note ainsi que le temps caractéristique de retour thermique à pH = 10.4 est de quelques secondes pour **TH$_2$Cl$_2$** alors qu'il est estimé à plusieurs heures pour **TH$_2$Cl$_3$** ! De plus, l'effet du substituant en para du noyau aniline sur la cinétique de retour thermique est identique à celui déjà observé pour la plateforme **THXCl$_3$** : la figure 3.14 montre en effet qu'à même pH le retour thermique de **THOMeCl$_2$** est plus lent que celui de **TH$_2$Cl$_2$** (par exemple, à pH = 10.4, le temps caractéristique est de l'ordre de quelques dizaines de secondes pour **THOMeCl$_2$**).

La substitution du noyau phénolique est importante aussi. Ainsi le composé fluoré **TH$_2$F$_2$** présente une cinétique de relaxation thermique extrêmement rapide à tous les pH, même les plus basiques. Nous n'avons d'ailleurs été capables d'enregistrer sa cinétique de retour qu'à pH = 11.7 comme présenté sur la figure 3.15. À ce pH, le temps caractéristique de retour thermique est de 10 s pour **TH$_2$F$_2$** alors qu'il est de 420 s pour **TH$_2$Cl$_2$**.

Pour les composés **THOMeMe** et **TH$_2$Me** dont le noyau phénolique est enrichi en électron, aucun

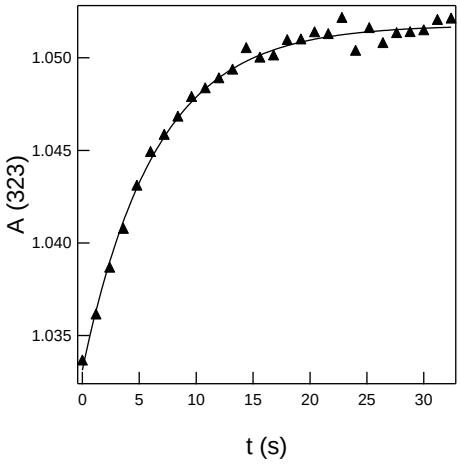


FIGURE 3.15 – *Évolution de l'absorbance à 323 nm en fonction du temps d'une solution contenant* $\boldsymbol{TH_2F_2}$ *(*$\left[\boldsymbol{TH_2F_2}\right]$ = 19 μM*) après irradiation à 323 nm pendant 5 min. pH = 11.7. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

retour thermique n'a pu être enregistré, même à pH = 12.

A contrario, pour le composé **THOMeNO$_2$** la valeur de p$K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ a pu être déterminée puisque le retour thermique de cette molécule est suffisamment lent pour être enregistré à tous les pH comme le montre la figure 3.16. Après le même traitement analytique que celui présenté plus haut, on obtient donc p$K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ = 6.7. Cette valeur est inférieure à celle du 4-nitrophénol associé (8.3) et à celle de l'isomère trans (7.8). Comme précédemment on peut attribuer ces différences de pK_{a} à l'effet de la double liaison **N=N** dans le premier cas et à l'existence de la liaison hydrogène intramoléculaire dans le second (en plus de l'effet de la double liaison).

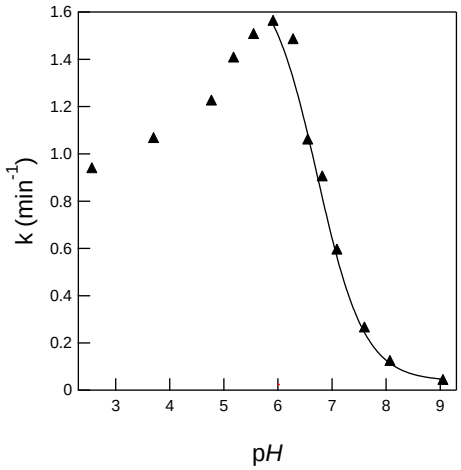


FIGURE 3.16 – *Constantes de vitesse* $k^{\Delta}_{\overline{C}\rightarrow\overline{T}}$ *du retour thermique cis → trans en fonction du pH pour la molécule* $\boldsymbol{THOMeNO_2}$ *: triangles : données expérimentales ; trait continu : ajustement selon l'expression 3.16. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

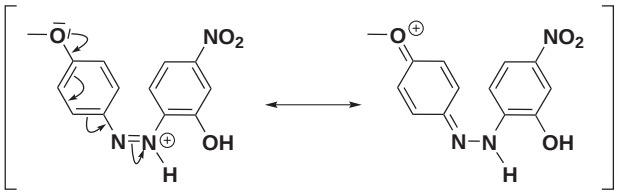
En résumé nous voyons donc que :

i. De manière générale la cinétique de retour thermique pour les séries autres que **THXCl$_3$** est plus rapide que pour la série **THXCl$_3$**. Sans être capables de finaliser une explication, nous pouvons supposer que la position 5 du phénol a une importance déterminante sur cette cinétique de retour thermique, tout comme elle semblait l'avoir sur la valeur des p$K_{\mathrm{a\,TH/T}}$.

ii. Comme précédemment, plus le noyau aniline est enrichi en électrons et plus la cinétique de retour thermique est lente. L'explication évoquée plus haut dans la série **THXCl$_3$** est ici encore valable.

iii. Plus le noyau phénolique est enrichi en électrons et plus la cinétique de retour thermique est rapide [k]. On peut argumenter que des substituants attracteurs diminuent la délocalisation des doublets du phénolate vers le noyau aniline, diminuant par là même le caractère simple liaison de la liaisons **N**=**N**.

Revenons enfin sur le cas particulier de **THOMeNO$_2$**. La diminution de la constante de vitesse de retour thermique pour des faibles valeurs du pH (déjà légèrement observée dans le cas de la molécule **THOMeCl$_3$**) peut être expliquée par la protonation d'un des atomes d'azote [l] de la double liaison en milieu acide comme illustré ci dessous.



Cette protonation (facilitée par l'effet électrodonneur du groupement **OMe**) donne un caractère de simple liaison à la liaison **N**=**N**, ce qui peut justifier l'augmentation de la vitesse de retour thermique.

Finalement, n'étant pas équipé, dans le cadre de ce travail de thèse, pour étudier précisément les molécules dont le retour thermique est trop rapide, nous avons décidé de laisser de côté les molécules n'appartenant pas à la série **THXCl$_3$** pour nous concentrer sur les membres de cette dernière.

3.3.5 Influence de la température sur la constante de retour thermique

Dans la partie 3.3.1 nous nous sommes placés à basse température pour limiter la vitesse du retour thermique cis → trans. Pour étudier l'effet de la température sur la valeur de la constante de vitesse $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$, nous avons reproduit l'expérience de la figure 3.10 à plusieurs températures (de 15.5 à 34.7 °C). La figure 3.17 montre l'évolution du coefficient d'absorption molaire en fonction du temps au même pH et pour les deux températures extrémales testées. Conformément aux lois de la cinétique chimique, la réaction de retour thermique est d'autant plus rapide que la température est élevée. Pour déterminer les paramètres d'activation associés à cette réaction ($\Delta_{\mathrm{r}}H^{\neq\circ}$ et $\Delta_{\mathrm{r}}S^{\neq\circ}$), nous utilisons la relation d'Eyring :[148]

$$k = \frac{k_{\mathrm{B}}\,T}{h}\exp\left(-\frac{\Delta_{\mathrm{r}}H^{\neq\circ} - T\,\Delta_{\mathrm{r}}S^{\neq\circ}}{\mathrm{R}T}\right) \tag{3.35}$$

[k]. Comme évoqué précédemment, on voit ici encore que le fluor a un effet électroattracteur moins fort que le chlore.

[l]. Wettermark *et al.*[66] reporte un pK_{a} de l'ordre de 2.9 pour cet atome d'azote dans l'eau sur la molécule **TH$_2$Me**.

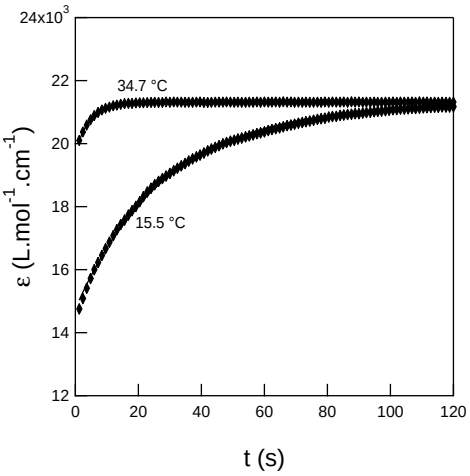


FIGURE 3.17 – *Évolution du coefficient d'absorption molaire à 347 nm en fonction du temps d'une solution contenant* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *(*$[\boldsymbol{TH_2Cl_3}] = 44\ \mu M$*) après irradiation à 347 nm pendant 5 min. pH = 4. T = 15.5 °C et T = 34.7 °C. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1).*

La figure 3.18 montre le tracé de $\ln \frac{k}{T}$ en fonction de $\frac{1}{T}$. L'ajustement des données par une droite permet d'accéder directement à :

$$\Delta_r H^{\neq\circ} = 61.6\ \text{kJ.mol}^{-1} \qquad \Delta_r S^{\neq\circ} = 59.5\ \text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$$

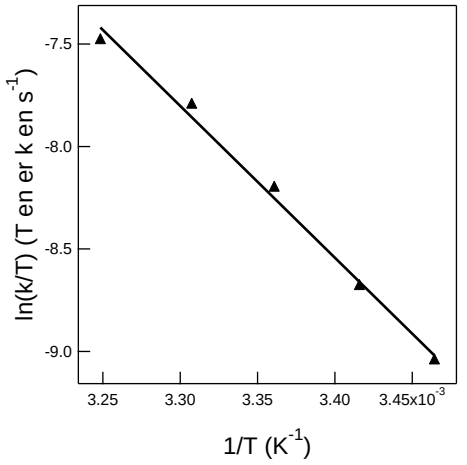


FIGURE 3.18 – *Graphe portant* $\ln \frac{k}{T}$ *en fonction de l'inverse de la température (k en* s^{-1} *et T en K) où k est la constante de vitesse du retour thermique pour une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *(*$[\boldsymbol{TH_2Cl_3}] = 44\ \mu M$*) après irradiation à 347 nm pendant 5 min. pH = 4. T = 15.5 °C, 19.6 °C, 24.4 °C, 29.2 °C et T = 34.7 °C. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1).*

Bien que cette étude en température n'ait été réalisée que sur une seule molécule ($\mathbf{TH_2Cl_3}$) et à un unique pH, deux points sont à souligner :

i. Il est nécessaire pour l'ensemble des analyses physico-chimiques effectuées de thermostater au mieux les échantillons en particulier s'ils sont éclairés par des lampes UV de fortes puissances

qui peuvent entraîner un échauffement de la solution.

ii. Il peut être intéressant de se placer (comme on l'a déjà fait) à faible température pour ralentir le retour thermique.

Conclusions

Dans ce chapitre nous avons montré (quand cela a été possible) que les isomères cis étaient approximativement trois ordres de grandeur plus acides que les isomères trans associés ($\Delta \mathrm{p}K_\mathrm{a}$ compris entre 2.6 et 3.1). Une telle variation d'acidité est singulière dans la littérature et attractive compte-tenu de l'effort de synthèse modeste pour atteindre les molécules de la série **THXCl$_3$**.

De plus, l'étude des effets de substituants nous a montré que la plateforme 2-hydroxyazobenzène est largement adaptable. Il est en effet possible de moduler les $\mathrm{p}K_\mathrm{a}$ des formes trans et cis et la constante de vitesse de la réaction de retour thermique en choisissant correctement la nature électronique des substituants. Notons que les corrélations d'énergie libre effectuées dans la série **THXCl$_3$** permettent de sélectionner une molécule, selon l'application envisagée, en fonction de ses propriétés thermodynamiques et/ou cinétiques. En particulier, la valeur du temps caractéristique de retour thermique peut être choisie dans une gamme allant de la centaine de secondes (pour **THOMeCl$_3$**) à la dizaine de millisecondes (valeur extrapolée pour **THNO$_2$Cl$_3$**). Par ailleurs les molécules des séries autres que **THXCl$_3$** (à l'exception de **THOMeNO$_2$**) peuvent être utilisées pour des applications nécessitant des cinétiques rapides.

Chapitre 4

Détermination des paramètres photochimiques dans l'UV de TH_2Cl_3

Introduction

Le chapitre précédent décrit la synthèse des molécules de la plateforme 2-hydroxyazobenzène puis présente les études physico-chimiques donnant accès aux constantes thermodynamiques des couples **TH/T** ($pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$) et **CH/C** ($pK_{a\,\mathbf{CH/C}}$) et les valeurs des constantes cinétiques d'isomérisation cis→trans thermiques ($k^{\Delta}_{\mathbf{C\to T}}$ et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}$).

Dans ce chapitre, nous allons déterminer les constantes cinétiques des réactions photochimiques décrites dans le mécanisme de la figure 3.9 : $k^{h\nu}_{\mathbf{C\to T}}$, $k^{h\nu}_{\mathbf{CH\to TH}}$, $k^{h\nu}_{\mathbf{T\to C}}$ et $k^{h\nu}_{\mathbf{TH\to CH}}$. Ces constantes cinétiques étant dépendantes de l'intensité lumineuse et du volume de la solution (voir équations 3.19, 3.20, 3.21, 3.22), on détermine *in fine* les paramètres photochimiques intrinsèques du système :

– les rendements quantiques de photo-conversion ($\phi_{\mathbf{TH\to CH}}$, $\phi_{\mathbf{CH\to TH}}$, $\phi_{\mathbf{T\to C}}$ et $\phi_{\mathbf{C\to T}}$) ;

– les sections efficaces de photo-conversion ($\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\to CH}}$, $\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH\to TH}}$, $\varepsilon_{\mathbf{T}}\phi_{\mathbf{T\to C}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{C}}\phi_{\mathbf{C\to T}}$).

La connaissance de ces paramètres est cruciale pour analyser quantitativement les phénomènes de variations de pH photoinduites présentées dans les trois chapitres suivants.

Cependant, si la littérature est prolixe sur la détermination des données photochimiques des azobenzènes,[70,71] elle est beaucoup plus pauvre en ce qui concerne l'étude des molécules de type aminoazobenzène comme les 2-hydroxyazobenzènes (voir la partie 1.3.4). En effet, l'évaluation des paramètres cinétiques des réactions photochimiques pour les azobenzènes a généralement été menée en étudiant la variation de l'absorbance de solutions contenant ces molécules après des illuminations de durée variable. Or, la plateforme 2-hydroxyazobenzène qui est au cœur de notre étude présente des vitesses de l'isomérisation cis→trans thermique trop grandes pour pouvoir être étudiée de la même manière. En effet, comme nous l'avons déjà fait remarquer, le temps nécessaire à l'opérateur pour mesurer l'absorbance d'une solution acide préalablement irradiée est du même ordre de grandeur que le temps caractéristique de l'isomérisation cis→trans thermiques (de quelques secondes à quelques dizaines de secondes selon la molécule). Il est donc nécessaire de trouver des méthodes alternatives.

Toutes les méthodes que nous proposons dans cette partie reposent sur le même principe : le système est perturbé par une excitation lumineuse (potentiellement périodique) et la réponse à cette

perturbation (on parle de « relaxation ») est analysée pour en déduire les caractéristiques photochimiques du système. Dans ce travail de thèse, trois méthodes photochimiques connexes ont été utilisées et seront présentées successivement :

- une méthode de relaxation utilisant la fluorescence comme observable ;
- une méthode de modulation fréquentielle utilisant la fluorescence comme observable ;
- une méthode de relaxation utilisant l'absorbance comme observable.

Dans la dernière partie du chapitre, les différents résultats obtenus seront confrontés. À la différence du chapitre précédent et au vu de la lourdeur expérimentale de certaines des méthodes présentées, seule l'étude de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a été effectuée.

4.1 Méthode de relaxation utilisant la fluorescence comme observable

4.1.1 Principe du protocole expérimental

Dans des travaux antérieurs de notre groupe de recherche portant sur des systèmes photo-actifs rapides, l'évaluation des paramètres cinétiques a reposé sur l'analyse de la variation au cours du temps de l'intensité de fluorescence d'un réactif ou d'un produit sous illumination continue. Cette illumination est responsable à la fois de la réaction photochimique et de l'émission de fluorescence rapportrice de l'évolution temporelle des concentrations.[4–6]

Ici, les 2-hydroxyazobenzènes étudiés ne fluorescent pas, ce qui empêche toute étude directe analogue.

Cependant, l'étude des spectres d'absorption des formes cis et trans des molécules de la série $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (figure 3.8) a mis en évidence un fort effet hypochrome lors du passage trans → cis sans changement significatif de la longueur d'onde du maximum d'absorbance.[111] Ainsi, un échantillon de 2-hydroxyazobenzène soumis à une excitation à la longueur d'onde du maximum d'absorbance de la molécule peut jouer le rôle de « filtre interne dynamique ». Au début de l'illumination, une grande partie du rayonnement est absorbé par l'échantillon, conduisant à l'isomérisation trans → cis. Comme l'isomère cis absorbe moins que le trans et que l'échantillon est enrichi en forme cis au fur et à mesure du temps, l'absorbance totale diminue puis se stabilise une fois l'état photostationnaire atteint.

Ce phénomène nous a donné l'idée d'ajouter au milieu réactionnel un rapporteur fluorescent dont l'intensité de l'émission dépend uniquement de l'absorbance de la solution et qui est ainsi sensible aux réactions photochimiques mises en jeu.

4.1.2 Choix du rapporteur fluorescent : la rhodamine B

Pour être utilisable dans notre étude, ce rapporteur fluorescent doit respecter un cahier des charges :

- être soluble dans le solvant utilisé (eau / acétonitrile (1/1)) ;
- absorber peu à la longueur d'onde du maximum d'absorption de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (*i.e.* vers 350 nm) afin que l'absorbance de la solution soit dominée par l'absorbance de $\mathbf{TH_2Cl_3}$;
- émettre peu à la longueur d'onde du maximum d'absorption de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (*i.e.* vers 350 nm) pour éviter que la lumière émise ne soit réabsorbée par $\mathbf{TH_2Cl_3}$, ce qui compliquerait l'interprétation ;

– émettre le plus possible à une longueur d'onde supérieure à la longueur d'onde du maximum d'absorption de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (*i.e.* largement au dessus de 350 nm), dans un domaine de longueur d'onde où aucune absorption ne se manifeste.

Le rapporteur fluorescent choisi est la rhodamine B. Sa structure est présentée figure 4.1. Les caractéristiques physico-chimiques de cette molécule ont été très largement étudiées en raison de son utilisation comme colorant laser.[149,150] La rhodamine B a un rendement quantique élevé : de 10 à 100 %, dépendant de son environnement (solvant, température).[150] Les spectres d'absorption et d'émission (après excitation à 350 nm) de la molécule sont présentés sur la figure 4.2 et montrent que :

– la rhodamine B absorbe principalement autour de 550 nm et peu autour de 350 nm ;
– elle émet principalement autour de 570 nm et peu vers 350 nm.

De plus, cette molécule est soluble dans le mélange eau / acétonitrile (1/1). La rhodamine B est donc compatible avec le cahier des charges établi plus haut.

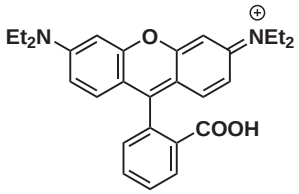


FIGURE 4.1 – *Structure de la molécule de rhodamine B.*

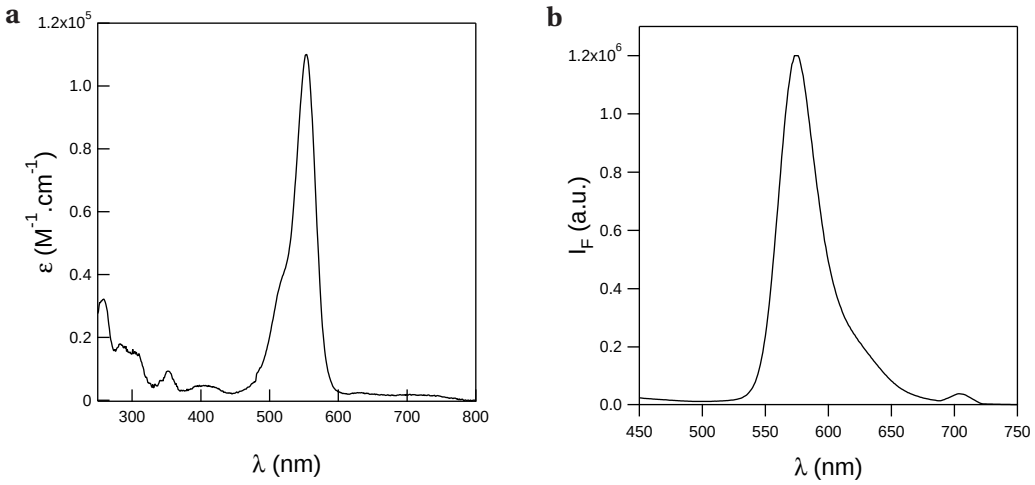


FIGURE 4.2 – ***a*** *: Spectre d'absoption d'une solution de rhodamine B (de concentration* 1 μ*M).* ***b*** *: Spectre de fluorescence d'une solution de rhodamine B (de concentration* 1 μ*M) illuminée à 350 nm. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). pH = 4. T = 25 °C.*

4.1.3 Expérience de principe

La figure 4.3 présente la variation de l'intensité de fluorescence d'une solution contenant $\mathbf{TH_2Cl_3}$ et de la rhodamine B collectée à la longueur d'onde du maximum d'émission de la rhodamine B

(λ_F=574 nm), lorsque l'excitation est réalisée au maximum d'absorption de la forme trans de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (λ_E=374 nm). On observe une augmentation de l'intensité de fluorescence de la rhodamine B à l'échelle de quelques secondes.

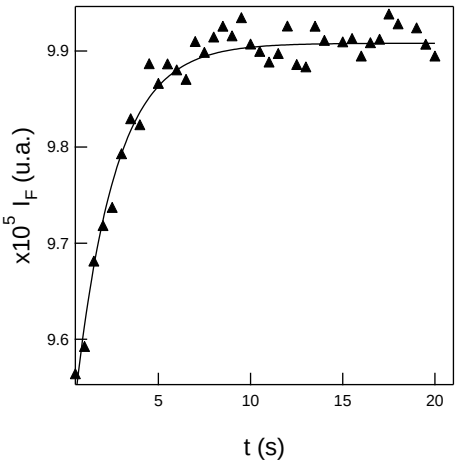


FIGURE 4.3 – *Intensité de fluorescence en fonction du temps d'une solution contenant la molécule* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *(de concentration* 4.8 μM*) et la rhodamine B (de concentration* 1.0 μM*). Tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé à pH = 4.3.* $\lambda_E = 347$ *nm.* $\lambda_F = 574$ *nm. L'expérience a été réalisée à l'aide d'un dispositif stopped-flow.* $T = 25\,°C$.

Cette observation est en accord avec le raisonnement qualitatif suivant : À l'instant $t = 0$ s, le 2-hydroxyazobenzène est uniquement sous la forme trans. Sous illumination, l'isomère trans se transforme en cis : l'absorbance totale de la solution diminue. Les molécules de rhodamine B reçoivent donc de plus en plus de lumière. En conséquence, elles en ré-émettent de plus en plus et l'intensité de fluorescence augmente jusqu'à ce que l'état photostationnaire soit atteint. La variation de l'intensité de fluorescence de la rhodamine B rapporte exactement les variations de l'absorbance de la solution de 2-hydroxyazobenzène.

4.1.4 Formalisation de l'utilisation d'un rapporteur fluorescent pour atteindre l'évolution temporelle de l'absorbance de la solution

Pour rendre compte des résultats observés dans la figure 4.3, on exprime d'abord l'intensité de fluorescence de la solution de rhodamine B en fonction de l'absorbance du 2-hydroxyazobenzène puis on dérive la variation de son intensité de fluorescence en fonction du temps en utilisant le modèle cinétique développé dans le chapitre précédent.

Considérons une cuve de longueur ℓ traversée par un rayonnement incident d'intensité I_0 et de longueur d'onde excitatrice λ_E (figure 4.4).

Cette cuve contient la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (de concentration $c_{\mathbf{TH_2Cl_3}}$ et de coefficient d'absorption molaire $\varepsilon_{\mathbf{TH_2Cl_3}}$) à étudier et la rhodamine B (de concentration $c_{\mathbf{Rhoda}}$ et de coefficient d'absorption molaire $\varepsilon_{\mathbf{Rhoda}}$). La cuve est illuminée à la longueur d'onde du maximum d'absorbance du 2-hydroxyazobenzène ($\lambda_E \approx 350$ nm), pour laquelle l'absorbance de la rhodamine B est faible (voir figure 4.2).

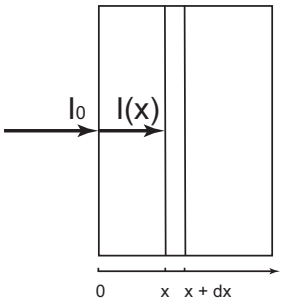


FIGURE 4.4 – *Schéma d'une cuve de longueur ℓ.*

Dans les conditions expérimentales utilisées, les concentrations relatives en $\mathbf{TH_2Cl_3}$ et en rhodamine B sont choisies telles que les absorbances respectives soient dans un rapport de 10 à 1. L'émission de fluorescence est collectée à la longueur d'onde du maximum d'émission de la rhodamine B ($\lambda_F = 574$ nm).

D'après la loi de Beer-Lambert et en négligeant la contribution de la rhodamine B à l'absorbance à λ_E, on dérive l'intensité $I(x, \lambda_E)$ de la lumière atteignant la tranche d'épaisseur dx :

$$I(x, \lambda_E) = I_0(\lambda_E) \exp(-2.3 \varepsilon_{\mathbf{TH_2Cl_3}}(\lambda_E)\, c_{\mathbf{TH_2Cl_3}}\, x) \tag{4.1}$$

L'intensité lumineuse moyenne arrivant sur la longueur de la cuve est alors :

$$\langle I(\lambda_E) \rangle = \frac{1}{\ell} \int_0^{\ell} I(x, \lambda_E) dx = I_0(\lambda_E) \frac{1 - \exp(-2.3\, A_{\mathbf{TH_2Cl_3}}(\lambda_E))}{2.3\, A_{\mathbf{TH_2Cl_3}}(\lambda_E)} \tag{4.2}$$

avec

$$A_{\mathbf{TH_2Cl_3}} = \varepsilon_{\mathbf{TH_2Cl_3}}\, c_{\mathbf{TH_2Cl_3}}\, \ell \tag{4.3}$$

En écrivant que l'intensité de fluorescence recueillie à la longueur d'onde λ_F est proportionnelle à l'intensité lumineuse absorbée par la rhodamine B, on écrit alors : [151]

$$I_F(\lambda_E, \lambda_F) = k\, F_\lambda(\lambda_F) \left(1 - \exp(-2.3\, A_{\mathbf{RhodaB}}(\lambda_E))\right) \langle I(\lambda_E) \rangle \tag{4.4}$$

avec : $A_{\mathbf{RhodaB}} = \varepsilon_{\mathbf{RhodaB}}\, \ell\, c_{\mathbf{RhodaB}}$

et où :

- le facteur de proportionnalité k dépend de plusieurs paramètres dont l'angle solide dans lequel l'appareil collecte la fluorescence, la bande passante des monochromateurs ou la sensibilité de l'appareil ;
- $F(\lambda_F)$ est l'intensité de fluorescence par photon absorbé en fonction de la longueur d'onde des photons émis.

d'où

$$I_F(\lambda_E, \lambda_F) = k\, F_\lambda(\lambda_F) \left(1 - \exp(-2.3\, A_{\mathbf{RhodaB}}(\lambda_E))\right) I_0(\lambda_E) \frac{1 - \exp(-2.3\, A_{\mathbf{TH_2Cl_3}}(\lambda_E))}{2.3\, A_{\mathbf{TH_2Cl_3}}(\lambda_E)} \tag{4.5}$$

À la longueur d'onde λ_E, on considère que seul $\mathbf{TH_2Cl_3}$ absorbe. On identifie donc l'absorbance totale de la solution à l'absorbance de $\mathbf{TH_2Cl_3}$. On a alors, en regroupant tous les termes constants dans une constante globale C :

$$I_F(\lambda_E, \lambda_F) = C \frac{1 - \exp(-2.3\, A_{\mathbf{tot}}(\lambda_E))}{2.3\, A_{\mathbf{tot}}(\lambda_E)} \tag{4.6}$$

où $A_{\mathbf{tot}}(\lambda_E)$ est l'absorbance de la solution à la longueur d'onde λ_E.

Dans l'hypothèse du mécanisme réactionnel 3.13, l'expression de l'absorbance de la solution sous illumination, dominée par le dérivé $\mathbf{TH_2Cl_3}$, est égale à :

$$\begin{aligned} A_{\text{tot}}(\lambda_E) &= \varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)\,\ell\left[\overline{\mathbf{C}}\right] + \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\,\ell\left[\overline{\mathbf{T}}\right] && (4.7)\\ &= \left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0 \ell\left[\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E) + (\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E) - \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E))\frac{k_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}}{k}(1-\exp(-kt))\right] && (4.8)\\ &= A_{\overline{\mathbf{T}}0}(\lambda_E) + \frac{b}{k}(1-\exp(-kt)) && (4.9) \end{aligned}$$

avec $b = \left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0 \ell(\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E) - \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E))k_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}$ et $A_{\overline{\mathbf{T}}0}(\lambda_E) = \left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0 \ell\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)$ absorbance initiale de $\overline{\mathbf{T}}$. On en déduit grâce à la relation 4.6, l'expression de l'intensité de fluorescence en fonction du temps :

$$I_F(t) = C\,\frac{1-\exp(-2.3\,(A_{\overline{\mathbf{T}}0} + \frac{b}{k}(1-\exp(-kt))))}{2.3\,(A_{\overline{\mathbf{T}}0} + \frac{b}{k}(1-\exp(-kt)))} \qquad (4.10)$$

$$b = \left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0 \ell(\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}} - \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}})k_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}$$

$$k = k_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}} + k_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}$$

4.1.5 Validations du protocole expérimental

Première validation

Dans un premier temps, nous avons validé l'équation 4.6 en mesurant les intensités de fluorescence de plusieurs solutions de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ d'absorbance totale variable. Comme, l'absorbance du 2-hydroxyazobenzène évolue au cours du temps (à cause de l'interconversion trans → cis), nous avons corrélé l'intensité de fluorescence avec l'absorbance totale de solutions dans l'état photostationnaire.

Pour ce faire, des solutions de diverses concentrations en $\mathbf{TH_2Cl_3}$ ont été illuminées dans le fluorimétre jusqu'à ce que l'état photostationnaire soit atteint. Par la même occasion, l'intensité de fluorescence correspondant au photostationnaire a été enregistrée. L'absorbance de ces solutions a ensuite été suivie pendant le retour thermique dans l'obscurité et l'absorbance de la solution à l'instant initial, c'est-à-dire, l'absorbance du photostationnaire a été extraite après ajustement avec l'équation 3.33. La figure 4.5 regroupe les résultats obtenus.

L'ajustement de l'intensité de fluorescence en fonction de l'absorbance par la fonction

$$C\,\frac{1-\exp(-\alpha\,A_{\mathbf{tot}}(\lambda_E))}{\alpha\,A_{\mathbf{tot}}(\lambda_E)}$$

est satisfaisant et fournit $\alpha = 2.5 \pm 0.2$ dans la marge d'erreur de la valeur de 2.3 attendue avec l'équation 4.6.

Seconde validation

Dans un second temps, nous avons validé l'expression de l'intensité de fluorescence en fonction du temps donnée par l'équation 4.10. Pour cela, nous avons utilisé un système dont la photophysique est voisine de celle de la plateforme 2-hydroxyazobenzène mais dont la photochimie est

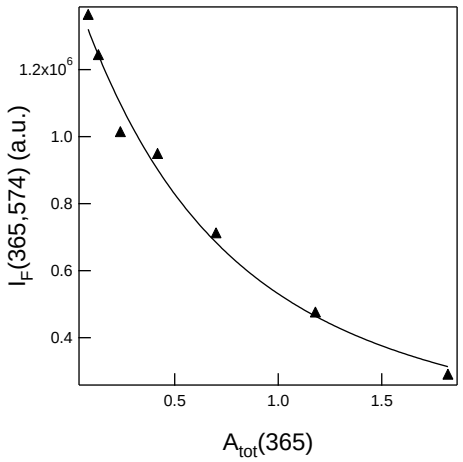


FIGURE 4.5 – *Intensité de fluorescence de solutions contenant la rhodamine B (de concentration* 1.0 *µM) et* TH_2Cl_3 *à des concentrations variables en fonction de l'absorbance de la solution à l'état photostationnaire atteint après illumination durant 5 min.* $\lambda_E = 365$ *nm.* $\lambda_F = 574$ *nm. Tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé à pH = 4. T = 25 °C.*

plus simple et dont la cinétique est plus lente que celles des 2-hydroxyazobenzènes : l'α(*p*-diméthylaminophényl)-*N*-phénylnitrone (**R**, figure 4.6). Cette molécule a été largement utilisée dans notre groupe de recherche à la fois comme sujet d'étude[116] ou comme outil pour calibrer l'intensité de la lampe du fluorimètre.[4,6] Sous irradiation, l'α(*p*-diméthylaminophényl)-*N*-phénylnitrone (**R**) se transforme de manière irréversible pour donner, selon le solvant, la *N*-(*p*-diméthylaminophényl)-formaniline (**P**), la 3-(*p*-diméthylaminophényl)-2-phényloxaziridine (**P'**) ou la 4-*N*,*N*-diméthylbenzaniline (**P"**)[152] (figure 4.6).

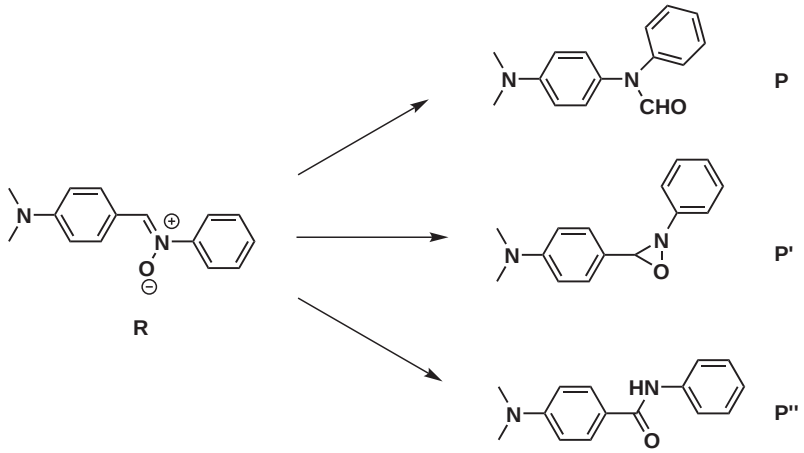


FIGURE 4.6 – *Conversion de la nitrone* ***R*** *en* ***P***, ***P'*** *et* ***P"*** *sous irradiation lumineuse.*[152]

L'évolution du spectre d'absorption de la nitrone **R** est présentée figure 4.7. On observe un effet hypochrome prononcé dans la zone 350–450 nm qui peut mimer celui obtenu pour la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$. Cependant le processus de conversion de la nitrone (**R**) en produits **P**, **P'** et **P"** est irréversible

et peut être représenté par le mécanisme :

$$\mathbf{R} \xrightarrow{k_R} \mathbf{P} + \mathbf{P}' + \mathbf{P}'' \tag{4.11}$$

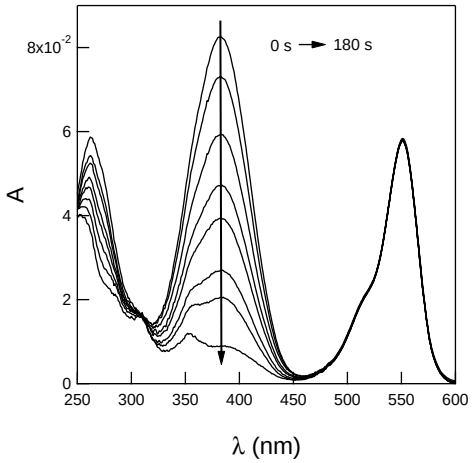


FIGURE 4.7 – *Évolution de l'absorbance d'une solution de nitrone **R** (de concentration* 2.6 *µM) en présence de* 1 *µM de rhodamine B en fonction du temps d'irradiation (t = 0 s, 45 s, 90 s, 135 s, 180 s, 225 s, 270 s, 315 s, 360 s).* λ_E = 383 *nm. Tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé à pH = 4. T = 25 °C.*

L'utilisation de la nitrone **R** pour valider l'expression analytique de la variation de l'intensité de fluorescence en fonction du temps a plusieurs avantages :

i. le mécanisme réactionnel 4.11 est simple puisque la réaction est irréversible ;

ii. la nitrone **R** absorbe dans la même zone spectrale que la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$;

iii. la cinétique de photoconversion est suffisamment lente (à illumination modérée) pour permettre de suivre l'évolution de l'absorbance au cours du temps en irradiant la solution quelques secondes et en mesurant son absorbance.

On peut ainsi comparer les valeurs des constantes cinétiques obtenues par la méthode directe (suivi de l'absorbance de la nitrone) et la méthode indirecte (suivi de l'intensité de fluorescence de la rhodamine B).

Le graphe **a** de la figure 4.8 représente l'évolution en fonction du temps de l'intensité de fluorescence d'une solution contenant la nitrone **R** et la rhodamine B soumise à un échelon d'illumination.

L'ajustement des données du graphe **a** de la figure 4.8 par l'équation 4.10 donne :

$$k_R = 2.54 \pm 0.02\,10^{-2}\ \mathrm{s}^{-1}$$

Cette valeur peut être comparée à celle obtenue par traitement direct de l'évolution de l'absorbance de la nitrone **R** en fonction du temps d'irradiation (graphe **b** de la figure 4.8).

L'ajustement par l'expression $A = a + b\exp(-kt)$ adapté à la décomposition unimoléculaire de **R**, permet d'obtenir $k_R = 2.51 \pm 0.04\,10^{-2}\ \mathrm{s}^{-1}$, en excellent accord avec la valeur obtenue par le suivi de l'intensité de fluorescence de la rhodamine B.

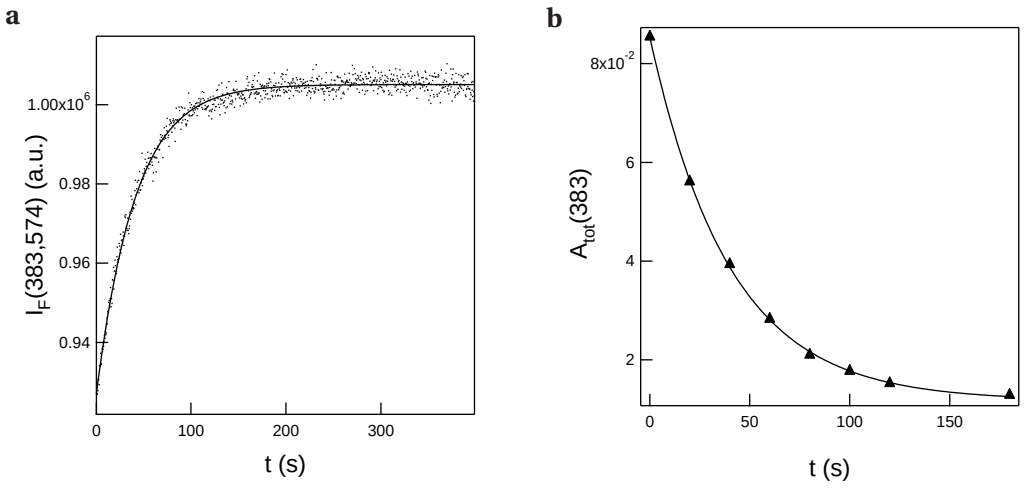


FIGURE 4.8 – ***a*** *: Évolution temporelle de l'intensité de fluorescence d'une solution contenant la nitrone* ***R*** *(de concentration* 5.2 μM*) et la rhodamine B (de concentration* 1.0 μM*).* $\lambda_E = 383$ *nm.* $\lambda_F = 574$ *nm. Points : données expérimentales ; trait plein : ajustement selon la fonction 4.10.* ***b*** *: Absorbance correspondante de la solution dans la bande d'absorption de la nitrone* ***R*** *en fonction du temps d'irradiation.* $\lambda_E = 383$ *nm. Triangles : valeurs expérimentales ; trait continu : ajustement exponentiel. Tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé à pH = 4.3.* $T = 25\,^{\circ}C$.

4.1.6 Résultats expérimentaux concernant TH_2Cl_3

L'expression analytique donnée par l'équation 4.10 permet *a priori* d'accéder à la somme des constantes de vitesses $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}$.

Comme le montrent les équations 3.17, 3.18, 3.19, 3.20, 3.21 et 3.22, $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ et $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}$ sont sensibles au pH et à l'intensité de la lampe I_0, de sorte que pour obtenir les grandeurs intrinsèques au système, il est nécessaire de répéter l'expérience à plusieurs pH et à plusieurs intensités I_0. Nous étudierons d'abord la variation des grandeurs cinétiques avec l'intensité lumineuse à pH fixé pour en tirer des grandeurs intrinsèques par rapport à l'éclairement. Ensuite nous nous placerons à différents pH pour extraire de ces grandeurs les paramètres intrinsèques par rapport à l'éclairement et par rapport au pH.

Les évolutions temporelles de l'intensité de fluorescence d'une solution à pH = 4.3 contenant la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ et la rhodamine B après un échelon d'irradiation à plusieurs intensités lumineuses sont présentées figure 4.9 (par souci de clarté, ne sont représentées que quatre courbes correspondant à quatre intensités lumineuses différentes).

Pour les différentes intensités lumineuses, l'ajustement des données expérimentales par l'équation 4.10 permet d'obtenir les paramètres k et b :

$$k = 2.3\,\frac{\left[\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)\,\phi_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E) + \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\,\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)\right] I_0(\lambda_E)}{V} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} \tag{4.12}$$

$$b = 2.3\left[\overline{\mathbf{T}}\right]_0 \ell\left[\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E) - \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\right]\frac{\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\,\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)\,I_0(\lambda_E)}{V} \tag{4.13}$$

$$= 2.3\,A_{\overline{\mathbf{T}}0}(\lambda_E)\left[\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E) - \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\right]\frac{\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)\,I_0(\lambda_E)}{V} \tag{4.14}$$

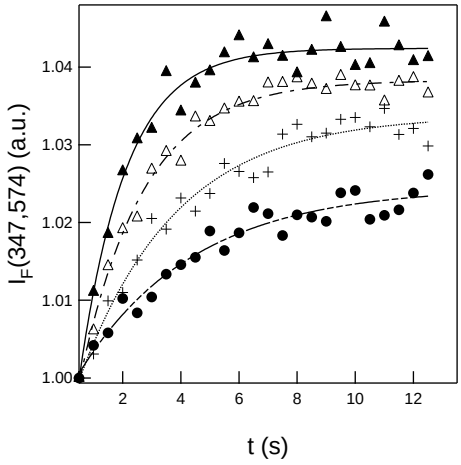


FIGURE 4.9 – *Évolutions temporelles de l'intensité de fluorescence d'un échantillon contenant la molécule* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *(de concentration* 4.9 *µM) et la rhodamine B (de concentration* 1.0 *µM) sous irradiation continue à plusieurs intensités lumineuses* I_0 *(en* 10^{-9} *Einstein.s*$^{-1}$*) : triangles pleins 13.2, triangles vides 9.5, croix 5.7, disques pleins 4.0.* $\lambda_E = 347$ *nm.* $\lambda_F = 574$ *nm. Tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé à pH = 4.3. T = 25 °C. Lignes : ajustements par la fonction 4.10.*

où on a utilisé les équations 3.23 et 3.25.

La figure 4.10 présente la dépendance des paramètres k et b avec l'intensité lumineuse I_0 ainsi que leur ajustement par les équations 4.12 et 4.14.

La dépendance linéaire de k et b avec $I_0(\lambda_E)$ donne accès aux grandeurs $\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)\,\phi_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)+\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\,\phi_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)$ et $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}$ d'une part (dépendance de k) et $\left[\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)-\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\right]\phi_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)$ d'autre part (dépendance de b).

La littérature[67,111] et notre comparaison des spectres d'absorption des solutions contenant la forme trans seule et un mélange de cis et trans (*cf.* figure 3.8) suggèrent que le coefficient d'absorption molaire de la forme trans soit largement plus grand que celui de la forme cis. Afin d'analyser les données photochimiques plus avant, nous avons donc supposé que le coefficient d'absorption molaire de $\overline{\mathbf{C}}$ ($\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)$) était réduit d'un facteur homothétique $1-\alpha$ par rapport à celui de $\overline{\mathbf{T}}$ ($\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)$). Ainsi on a :

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)-\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)=-\alpha\,\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E) \tag{4.15}$$

En utilisant les équations 4.14 et 4.15, on obtient donc :

$$b=-2.3\,\alpha\,A_{\overline{\mathbf{T}}0}(\lambda_E)\,\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_E)\,\frac{\phi_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_E)\,I_0(\lambda_E)}{V} \tag{4.16}$$

En accord avec la littérature[67,111] et avec le support de l'étude numérique détaillée dans la partie 5.2.7 du chapitre 5, nous avons choisi de prendre $\alpha = 0.7$.

Les données de b et k permettent finalement de déterminer les grandeurs cinétiques du système. Pour cela on fixe la valeur de $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}$ à celle obtenue par l'ajustement des données de la figure 3.11.

On prend donc ici :

$$k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}=0.075\ \mathrm{s}^{-1}$$

On en déduit alors par ajustement des données de la figure 4.10 par les équations 4.12 et 4.16 :

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(347)\,\phi_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}(347)=130\ \mathrm{M}^{-1}\mathrm{cm}^{-1}$$

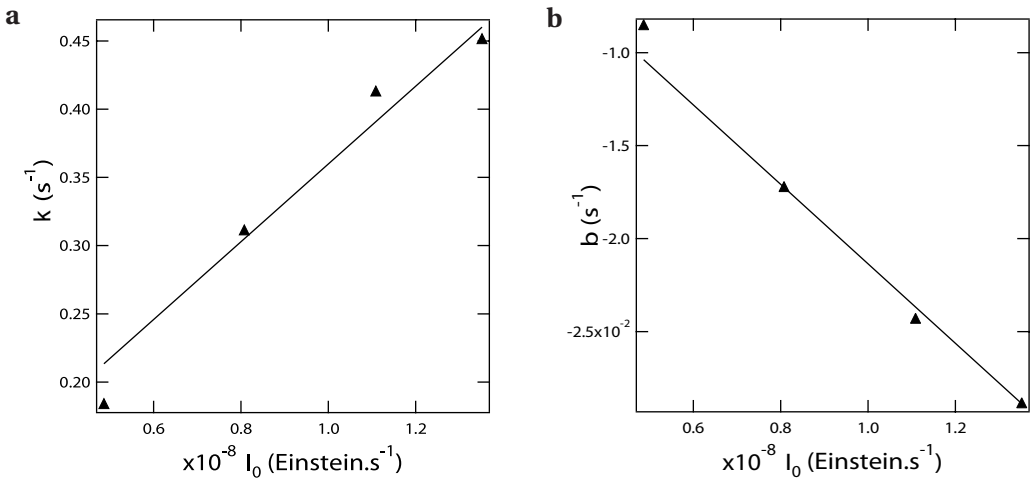


FIGURE 4.10 – *Paramètres k (graphe **a**) et b (graphe **b**) en fonction de l'intensité lumineuse de la source. Échantillon contenant la molécule* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *(de concentration* 4.9 μ*M) et la rhodamine B (de concentration* 1.0 μ*M).* λ_E = 347 *nm.* λ_F = 574 *nm. Tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) à pH = 4.3. T = 25 °C. Triangles : points expérimentaux ; traits continus : ajustements par les fonctions théoriques 4.12 et 4.14.*

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(347)\,\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(347) = 650\ \mathrm{M}^{-1}\mathrm{cm}^{-1}$$

On a ensuite utilisé la valeur de $\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(347) = 20\,000\ \mathrm{L.mol}^{-1}\mathrm{cm}^{-1}$ pour déduire :

$$\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(347) = 3\ \%$$

Il est ensuite possible de reproduire cette expérience à différents pH. La figure 4.11 donne les valeurs des produits $\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_\mathrm{E})\,\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_\mathrm{E})$ et $\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_\mathrm{E})\,\phi_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_\mathrm{E})$ en fonction du pH.

Pour des valeurs du pH supérieures ou égales à 9, la variation d'absorbance de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ est trop faible et la variation de l'intensité de fluorescence de le rhodamine ne peut plus être exploitée.

En utilisant un raisonnement analogue à celui permettant d'obtenir les équations 3.15 et 3.16, on peut montrer que :

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} = \frac{\varepsilon_{\mathbf{T}}\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}} + \varepsilon_{\mathbf{TH}}\,\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}\left[\mathbf{H}^+\right]}{\left[\mathbf{H}^+\right] + K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}} \tag{4.17}$$

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}\phi_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} = \frac{\varepsilon_{\mathbf{C}}\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} + \varepsilon_{\mathbf{CH}}\,\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}\left[\mathbf{H}^+\right]}{\left[\mathbf{H}^+\right] + K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}} \tag{4.18}$$

L'ajustement des données expérimentales de la courbe **a** de la figure 4.11 par l'équation 4.18 en fixant le pK_a à la valeur prouvée précédemment (6.35) permet d'accéder aux valeurs des produits $\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(347)$ et $\varepsilon_{\mathbf{CH}}(347)\,\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(347)$:

$$\varepsilon_{\mathbf{CH}}(347)\,\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(347) = 140 \pm 10\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(347) = 260 \pm 10\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

La courbe **b** de la figure 4.11 ne nous permet que de déterminer le produit $\varepsilon_{\mathbf{TH}}(347)\,\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(347)$ et de donner une borne supérieure au produit $\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347)$:

$$\varepsilon_{\mathbf{TH}}(347)\,\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(347) = 630 \pm 10\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

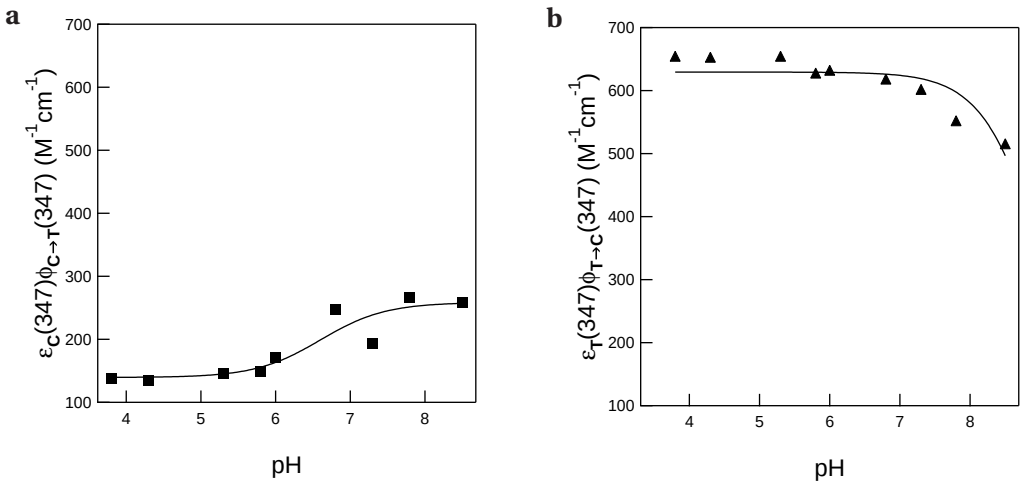


FIGURE 4.11 – *Produits $\varepsilon_{\overline{T}}(\lambda_E)\,\phi_{\overline{T}\rightarrow\overline{C}}(\lambda_E)$ (**a**) et $\varepsilon_{\overline{C}}(\lambda_E)\,\phi_{\overline{C}\rightarrow\overline{T}}(\lambda_E)$ (**b**) en fonction du pH. Échantillon contenant la molécule $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ (de concentration* 4.9 *µM) et la rhodamine B (de concentration* 1.0 *µM). λ_E = 347 *nm.* λ_F = 574 *nm. Tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé à pH = 3.8, 4.3, 5.3, 5.8, 6.0, 6.8, 7.3, 7.8, 8.5. T = 25 °C. Triangles : points expérimentaux ; traits continus : ajustements par la fonction théorique 4.18.*

$$\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347) < 500\ \mathrm{M^{-1}.cm^{-1}}$$

En utilisant les valeurs des coefficients d'absorption molaire mesurés expérimentalement $\varepsilon_{\mathbf{TH}}(347)$ = 2.0 10^4 $\mathrm{M^{-1}.cm^{-1}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)$ = 4.8 10^3 $\mathrm{M^{-1}.cm^{-1}}$ et extrapolés à l'aide de la relation 4.15 $\varepsilon_{\mathbf{CH}}(347)$ = 6.0 10^3 $\mathrm{M^{-1}.cm^{-1}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)$ = 1.4 10^3 $\mathrm{M^{-1}.cm^{-1}}$, on obtient les rendements quantiques suivants :

$$\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(347) = 3\ \%$$

$$\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(347) = 2\ \%$$

$$\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(347) = 18\ \%$$

$$\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347) =< 10\ \%$$

Pour obtenir une détermination plus précise de $\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347)$, nous avons utilisé la valeur précisément connue de $\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(347)$ et les spectres d'absorption de **T** et de l'état photostationnaire obtenu après irradiation de **T** présentés sur la figure 3.8 **b**. À l'aide de l'équation 4.9 on déduit $\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347)$ en fonction de $\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}(347)$, de $\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)$, de $\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)$ et du coefficient d'absorption molaire de l'état photostationnaire $\varepsilon_{\mathrm{Photostat}}(347)$ (donné par la courbe en pointillés de la figure 3.8 **b**) :

$$\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347)\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)\,\phi_{\mathbf{C}}(347)\left[\frac{\varepsilon_{\mathbf{C}}(347)-\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)}{\varepsilon_{\mathrm{Photostat}}(347)-\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)}-1\right] \tag{4.19}$$

D'où numériquement, on tire :

$$\varepsilon_{\mathbf{T}}(347)\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347) = 290\ \mathrm{M.cm^{-1}} \quad \text{et} \quad \phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}(347) = 6\ \%$$

4.1.7 Validation du mécanisme simplifié ne faisant intervenir que les espèces moyennes

Ayant dérivé des ordres de grandeurs des caractéristiques cinétiques de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$, il est possible de valider le modèle cinétique simplifié décrit par le mécanisme 3.13. Pour ce faire, il faut comparer les temps de relaxation des réactions acido-basiques et des réactions photochimiques.

Réactions photochimiques Pour la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à pH = 5 et pour une intensité lumineuse typique de 10^{-7} Einstein.s^{-1}, on a $k^{h\nu}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}} \approx 0.35$ s^{-1} (*cf.* figure 4.10 **a**) et $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}} \approx 0.08$ s^{-1} (*cf.* tableau 3.5). Ces valeurs permettent de déduire un temps caractéristique de relaxation associé au processus de photoisomérisation trans/cis de quelques secondes.

Réactions acide-base On peut supposer que les constantes de vitesse des réactions de protonation des formes **T** et **C** sont semblables à celle de la base conjuguée d'un salicylaldéhyde. Cette hypothèse est raisonnable puisque les structures des sites basiques des deux molécules ($\mathbf{TH_2Cl_3}$ et salicylaldéhyde) sont proches.[153–156] Ainsi, avons nous employé la valeurs des constantes de vitesse des réaction de protonation de bases conjuguées de salicylaldéhyde décrites dans la littérature :[120] $k_{\mathbf{C\rightarrow CH}} \approx k_{\mathbf{T\rightarrow TH}} \approx 5.10^{10}$ M^{-1}.s^{-1}. En utilisant les valeurs des constantes d'équilibre thermodynamique $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$ et $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$, on en déduit :

$$k_{\mathbf{CH\rightarrow C}} = k_{\mathbf{C\rightarrow CH}} \times 10^{-\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}} = 2.10^{4}\ \mathrm{s}^{-1}$$

$$k_{\mathbf{TH\rightarrow T}} = k_{\mathbf{T\rightarrow TH}} \times 10^{-\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}} = 4.10^{1}\ \mathrm{s}^{-1}$$

Dans la gamme de pH étudiée (0-9), les temps caractéristiques de relaxation associés aux processus de protonation des espèces trans $\left[k_{\mathbf{T\rightarrow TH}} \times 10^{-\mathrm{pH}} + k_{\mathbf{TH\rightarrow T}}\right]^{-1}$ et cis $\left[k_{\mathbf{C\rightarrow CH}} \times 10^{-\mathrm{pH}} + k_{\mathbf{CH\rightarrow C}}\right]^{-1}$ par le proton restent toujours inférieurs au dixième de seconde. [a] On peut donc considérer que les espèces **TH** et **T** d'une part et **CH** et **C** d'autre part sont en échange rapide par rapport aux réactions photochimiques d'isomérisation trans/cis.

4.2 Méthode de modulation fréquentielle utilisant la fluorescence comme observable

4.2.1 Introduction

Dans la partie précédente, nous avons présenté comment extraire les paramètres cinétiques des réactions photochimiques à partir de la réponse du système à un échelon d'excitation lumineuse. Dès lors que le phénomène mis en jeu est réversible, il est possible d'extraire cette même information en étudiant la réponse du système à une excitation périodique, généralement sinusoïdale.[1,2] La littérature présente plusieurs exemples dans lesquels les excitations périodiques sont de natures variées : température,[115,157] pression, concentration,[158] champ électrique ou encore intensité lumineuse.[159]

[a]. Notons ici que les études sont effectuées en milieu tamponné, ce qui accélère la cinétique des réactions acido-basiques.

Soumis à une excitation périodique, un système chimique réversible linéaire va générer une réponse périodique a la même fréquence que celle de la perturbation [b]. Tant que la période (l'inverse de la fréquence) de l'excitation sinusoïdale est grande devant le temps de relaxation du système étudié, ce dernier répond en phase et avec une amplitude maximale. Dès lors que la période devient trop faible devant le temps de relaxation du système d'étude, ce dernier n'est plus capable de suivre l'excitation : il y a décrochement, caractérisé par un déphasage entre la réponse et l'excitation et par une amplitude de la réponse d'autant plus faible que la fréquence est élevée. L'étude de la variation de l'amplitude et du déphasage de la réponse avec la fréquence de l'excitation permet de déterminer les caractéristiques cinétiques du système.

Cette méthode fréquentielle ne permet pas d'obtenir plus d'informations que la méthode de relaxation. Cependant, puisque l'excitation est périodique et que le nombre de périodes sur lequel l'étude est menée n'est pas limité, le rapport signal sur bruit est nettement amélioré par rapport à la méthode de relaxation : la sensibilité de la méthode fréquentielle est généralement considérée comme un ordre de grandeur plus grande que celle de la méthode de relaxation.[2] De plus, la méthode fréquentielle permet une validation plus rigoureuse du modèle cinétique envisagé puisque ce dernier est testé à toutes les fréquences étudiées. *A contrario*, la méthode fréquentielle requiert de balayer une gamme de fréquences alors que la méthode de relaxation ne nécessite qu'une unique expérience.

Dans cette partie nous allons donc montrer comment il est possible d'extraire les grandeurs cinétiques des réactions photochimiques de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ par modulation sinusoïdale de l'éclairement lumineux. Les calculs étant parfois assez techniques, une partie d'entre eux est reportée en annexe à la fin de ce chapitre.

4.2.2 Équations cinétiques adaptées à l'étude en fréquence

Pour cette étude, nous nous sommes placés uniquement à pH acide (pH = 2.5). Seules les espèces **TH** et **CH** seront donc prises en compte dans le modèle et les résultats exposés ci-dessous.

Expression de l'évolution des concentrations des espèces en fonction du temps

Considérons un système contenant initialement **TH** à concentration assez faible pour que l'absorbance totale de la solution soit petite devant 1, que l'on soumet à une intensité lumineuse I_0 faiblement modulée (amplitude ε (avec $\varepsilon \ll 1$) et pulsation ω) [c]. L'intensité lumineuse s'exprime alors :

$$I(t) = I_0(1 + \varepsilon \sin(\omega t)) \tag{4.20}$$

Les équations 3.19 et 3.20 montrent que les constantes de vitesse photochimiques sont reliées linéairement à l'intensité lumineuse. En négligeant la contribution de la variation périodique de l'ab-

[b]. Si le système n'est pas linéaire (comme c'est le cas en cinétique chimique pour des réactions qui ne sont pas d'ordre un par exemple), la réponse à l'excitation sinusoïdale contient aussi des harmoniques dont les fréquences sont des multiples de la fréquence de l'excitation périodique.

[c]. En prenant $\varepsilon \ll 1$, on s'assure de rester en régime linéaire.

sorbance à la modulation des constantes de vitesse photochimiques, [d] on peut écrire :

$$k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}(t) = k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}(1+\varepsilon\sin(\omega t)) \tag{4.21}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}(t) = k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}(1+\varepsilon\sin(\omega t)) \tag{4.22}$$

où $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}$ et $k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}$ sont les constantes de vitesse à l'équilibre photostationnaire sous intensité lumineuse I_0.

Les concentrations en **TH** et **CH** peuvent alors être écrites au premier ordre :

$$[\mathbf{TH}](t) = [\mathbf{TH}]^0 - \varepsilon\,[\mathbf{CH}]^1(t) \tag{4.23}$$

$$[\mathbf{CH}](t) = [\mathbf{CH}]^0 + \varepsilon\,[\mathbf{CH}]^1(t) \tag{4.24}$$

où $[\mathbf{TH}]^0$ et $[\mathbf{CH}]^0$ sont les concentrations à l'état photostationnaire sous intensité lumineuse I_0.

La loi de vitesse régissant la concentration en **CH** s'écrit alors conformément à l'équation 3.2 :

$$\frac{d[\mathbf{CH}](t)}{dt} = k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}(t)\,[\mathbf{TH}](t) - (k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}(t) + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}})\,[\mathbf{CH}](t) \tag{4.25}$$

$$\begin{aligned}\Longrightarrow\quad \frac{d[\mathbf{CH}](t)}{dt} &= k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}(1+\varepsilon\sin(\omega t))([\mathbf{TH}]^0 - \varepsilon\,[\mathbf{CH}]^1) \\ &\quad - k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}(1+\varepsilon\sin(\omega t))([\mathbf{CH}]^0 + \varepsilon\,[\mathbf{CH}]^1) - k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}([\mathbf{CH}]^0 + \varepsilon\,[\mathbf{CH}]^1)\end{aligned} \tag{4.26}$$

D'où, au premier ordre en ε,

$$\begin{aligned}\frac{d[\mathbf{CH}](t)}{dt} &= \varepsilon(k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}([\mathbf{TH}]^0\sin(\omega t) - [\mathbf{CH}]^1(t)) \\ &\quad - k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}([\mathbf{CH}]^0\sin(\omega t) + [\mathbf{CH}]^1(t)) - k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}\,[\mathbf{CH}]^1(t))\end{aligned} \tag{4.27}$$

car à l'état photostationnaire, on a

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}\,[\mathbf{TH}]^0 - (k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}})\,[\mathbf{CH}]^0 = 0 \tag{4.28}$$

d'où finalement :

$$\frac{d[\mathbf{CH}]^1}{dt} + (k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}})\,[\mathbf{CH}]^1(t) = (k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}\,[\mathbf{TH}]^0 - k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}\,[\mathbf{CH}]^0)\sin(\omega t) \tag{4.29}$$

Ce qui donne finalement :

$$\frac{d[\mathbf{CH}]^1}{dt} + \frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}}\,[\mathbf{CH}]^1(t) = \rho^0_{\mathbf{THCH}}\sin(\omega t) \tag{4.30}$$

avec :

$$\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} = k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} \tag{4.31}$$

$$\rho^0_{\mathbf{THCH}} = k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}\,[\mathbf{TH}]^0 - k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}\,[\mathbf{CH}]^0 = k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}\,[\mathbf{CH}]^0 \tag{4.32}$$

[d]. Ce point sera établit par la suite.

De plus, les concentration initiales $[\mathbf{TH}]^0$ et $[\mathbf{CH}]^0$ sont obtenues en résolvant le système d'équations formé par l'équation 4.28 et l'équation de conservation de la matière $[\mathbf{TH}]^0 + [\mathbf{CH}]^0 = c$:

$$[\mathbf{TH}]^0 = \frac{c}{1+\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}} \tag{4.33}$$

$$[\mathbf{CH}]^0 = \frac{c}{1+\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}} \tag{4.34}$$

où c désigne la concentration totale en $\mathbf{TH_2Cl_3}$.
La résolution de l'équation 4.30 donne en régime permanent (établi au delà du temps $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$) : [e]

$$[\mathbf{CH}]^1(t) = \frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}\sin(\omega t-\phi)$$

avec

$$\cos(\phi) = \frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} \tag{4.35}$$

$$\sin(\phi) = \frac{\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} \tag{4.36}$$

d'où en reportant dans l'équation 4.24 :

$$[\mathbf{CH}](t) = \frac{c}{1+\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}} + \varepsilon\frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}\sin(\omega t-\phi) \tag{4.37}$$

Expression de l'évolution de l'absorbance et de l'intensité de fluorescence en fonction du temps

L'absorbance de la solution découle des concentrations en **CH** et en **TH** :

$$\begin{aligned} & A(t) = \varepsilon_{\mathbf{CH}}[\mathbf{CH}](t) + \varepsilon_{\mathbf{TH}}[\mathbf{TH}](t) \\ \Longrightarrow \quad & A(t) = c\left(\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}}{1+\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}} + \frac{\varepsilon_{\mathbf{TH}}}{1+\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}}\right) \\ & \quad + \varepsilon\frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}})\sin(\omega t-\phi) \end{aligned} \tag{4.38}$$

qui peut s'écrire sous la forme :

$$A(t) = A^0 + \varepsilon A^1\sin(\omega t-\phi) \tag{4.39}$$

avec

$$A^0 = c\left(\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}}{1+\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}} + \frac{\varepsilon_{\mathbf{TH}}}{1+\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}}\right) \tag{4.40}$$

$$A^1 = \frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}}) \tag{4.41}$$

(4.42)

[e]. Dans cette étude, nous ne nous intéresserons pas au régime transitoire qui précède l'établissement du régime permanent.

Or, l'intensité de fluorescence s'écrit d'après les relations 4.5 et 4.20 sous la forme :

$$I_F(t) = k F_\lambda \left(1 - \exp(-2.3\, A_{\mathbf{RhodaB}})\right) I_0(1 + \varepsilon \sin(\omega t)) \frac{1 - \exp(-2.3\, A(t))}{2.3\, A(t)} \tag{4.43}$$

qui se condense sous la forme :

$$I_F(t) = C(1 + \varepsilon \sin(\omega t)) \frac{1 - \exp(-2.3 A(t))}{2.3 A(t)} \tag{4.44}$$

où C est une grandeur indépendante du temps.

Sans restreindre la généralité sur la valeur de l'absorbance de la solution, on peut faire un développement limité de la fonction $\frac{1-\exp(-2.3A(t))}{2.3A(t)}$ autour de la valeur de l'absorbance de la solution à l'équilibre photostationnaire A^0 [f].

$$I_F(t) = C(1 + \varepsilon \sin(\omega t)) \left(\frac{1 - e^{-2.3A^0}}{2.3A^0} + 2.3\varepsilon A^1 \frac{2.3A^0 e^{-2.3A^0} - 1 + e^{-2.3A^0}}{(2.3A^0)^2} \sin(\omega t - \phi) \right)$$

$$I_F(t) = C(1 + \varepsilon \sin(\omega t)) \frac{1 - e^{-2.3A^0}}{2.3A^0} \left(1 + \varepsilon 2.3 A^1 \frac{e^{-2.3A^0}(2.3A^0 + 1) - 1}{2.3A^0(1 - e^{-2.3A^0})} \sin(\omega t - \phi) \right) \tag{4.45}$$

$$I_F(t) = C \frac{1 - e^{-2.3A^0}}{2.3A^0} (1 + \varepsilon \sin(\omega t)) \left(1 + \varepsilon R \sin(\omega t - \phi)\right) \tag{4.46}$$

avec d'après l'équation 4.41

$$R = 2.3 \frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}} \tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1 + (\omega \tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} (\varepsilon_{\mathbf{CH}} - \varepsilon_{\mathbf{TH}}) \frac{e^{-2.3A^0}(2.3A^0 + 1) - 1}{2.3A^0(1 - e^{-2.3A^0})} \tag{4.47}$$

L'intensité de fluorescence peut donc s'écrire sous la forme d'un produit de deux termes périodiques de pulsation ω : l'un non déphasé et d'amplitude ε et l'autre déphasé de ϕ et d'amplitude εR.

En utilisant la dépendance en fréquence des grandeurs ϕ et R, nous allons déterminer les grandeurs cinétiques associées au système.

4.2.3 Système d'étude, système d'éclairage périodique et acquisition des signaux

Les expériences ont été menées sur la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$, utilisée à la concentration de 61 μM [g] dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique [129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé au pH = 2.5. Le rapporteur fluorescent utilisé est ici encore la Rhodamine B qui a été ajoutée au système à la concentration de 1 μM. Un volume connu (2 mL) de l'échantillon a été placé dans une cuvette en quartz au sein du fluorimètre.

[f]. Un développement limité en x^0 de $f(x)$ à l'ordre 1 donne :

$$f(x) = f(x^0) + (x - x^0) \frac{x^0 e^{-x^0} - 1 + e^{-x^0}}{x^{0\,2}}$$

.

[g]. Ce qui donne une solution d'absorbance initiale proche de 1 *cf.* annexe 4.A.

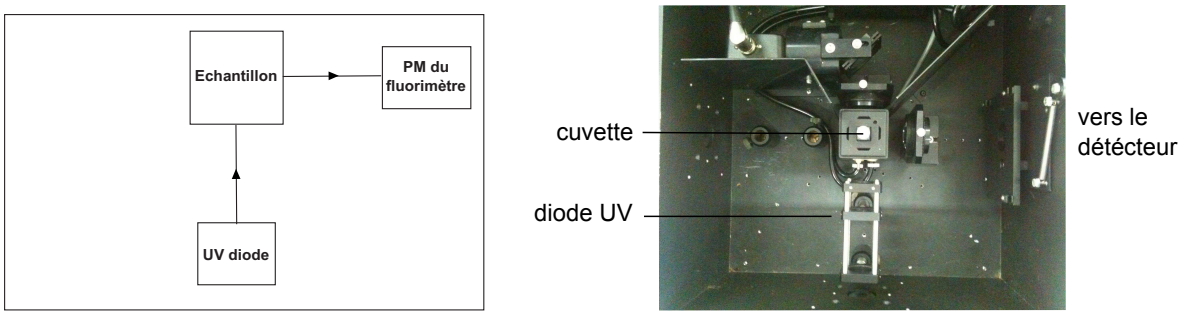


FIGURE 4.12 – *Gauche : Schéma du montage optique réalisé au sein du fluorimètre de sorte à exciter l'échantillon à 365 nm avec une diode UV alimentée par un générateur de courant sinusoïdal. Droite : Photo de l'intérieur du fluorimètre correspondant au schéma. L'intensité de fluorescence a été enregistrée à 574 nm par le photo-multiplicateur (PM) du fluorimètre relié à une carte d'acquisition externe EuroSmart SYSAM-SP. L'excitation lumineuse a été générée par une diode UV Nichia NSU033A émettant à 365 nm. Cette diode est alimentée par un générateur de signaux Agilent 33220A pouvant délivrer un signal sinusoïdal dans une gamme de fréquence allant de 1 mHz à 20 MHz. Elle est placée dans la direction perpendiculaire au photo-multiplicateur comme indiqué sur le schéma de la figure 4.12. L'intensité du signal électrique délivrée par le générateur sinusoïdal a été enregistrée soit directement grâce à la carte d'acquisition du fluorimètre, soit via la carte d'acquisition externe.* [h] *L'intensité lumineuse utilisée est de la forme* $I(t) = I_0(1+\varepsilon\sin(\omega t))$ *avec* $I = 9.5\ 10^{-8}$ *Ei.s*$^{-1}$ *et* $\varepsilon = 7$ *%. L'expérience a été réalisée à différentes valeurs de la pulsation* $\omega = 32$ *mHz,* 42 *mHz,* 55 *mHz,* 72 *mHz,* 94 *mHz,* 126 *mHz,* 164 *mHz,* 220 *mHz,* 287 *mHz. La longueur d'onde d'excitation est* $\lambda_E = 365$ *nm.*

4.2.4 Résultats obtenus

Résultats bruts

La figure 4.13 montre la variation de l'intensité de fluorescence de la solution suivie à $\lambda_F = 574$ nm (trait plein) ainsi que la variation de l'intensité lumineuse (pointillés).

Étude directe du déphasage

La figure 4.13 ne montre pas de déphasage net entre l'intensité lumineuse et la variation de l'intensité de fluorescence du système. Cette observation suggère que l'amplitude du terme responsable de l'introduction du déphasage ($\varepsilon R\sin(\omega t-\phi)$) est petite devant celle du terme en phase ($\varepsilon\sin(\omega t)$). Ce phénomène observé à toutes les fréquences et prévu par l'évaluation théorique (*cf.* annexe 4.A) permet de justifier l'approximation ayant abouti à l'écriture des équations 4.21 et 4.22. [i]

[h]. Il est important de noter que dans tous les cas, l'intensité du courant électrique d'alimentation de la diode luminescente et l'intensité de fluorescence du système sont enregistrées grâce au même système d'acquisition. Cela permet de connaître la relation de phase entre les deux signaux.

[i]. En effet, en ré-injectant l'expression de l'absorbance sinusoïdalement modulée donnée par l'expression 4.39 dans les expressions des constantes de vitesse données par les formules 3.19 et 3.20, et en développant l'expression obtenue au premier ordre autour de la valeur de l'absorbance à l'état photostationnaire, on obtient :

$$k_i^{h\nu}(t) = \frac{\varepsilon_i\phi_i\ell}{V}(1+\varepsilon\sin(\omega t))\left(1+\varepsilon R\sin(\omega t-\phi)\right) \approx \frac{\varepsilon_i\phi_i\ell}{V}\left[1+\varepsilon\left(\sin(\omega t)+R\sin(\omega t-\phi)\right)\right] \tag{4.48}$$

au premier ordre en ε. Ainsi, dès lors que R est petit devant 1 (*cf.* annexe 4.A), on peut négliger la contribution de la variation périodique de l'absorbance.

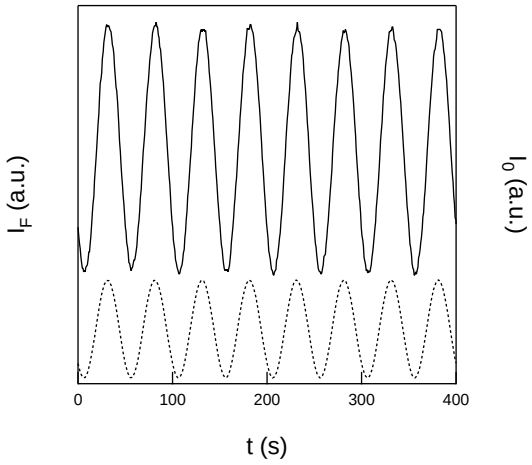


FIGURE 4.13 – *Trait plein : variation de l'intensité de fluorescence suivie à $\lambda_F = 574$ nm pour une solution de* ***TH_2Cl_3*** *à la concentration de 61 µM et de Rhodamine B à la concentration de 1 µM dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé au pH = 2.5. Pointillés : variation sinusoïdale de l'intensité lumineuse délivrée par le générateur à la pulsation de 126 mHz.*

Pour analyser plus en avant les résultats expérimentaux, il est possible de diviser l'intensité de fluorescence du système par le terme $1+\varepsilon\sin(\omega t)$. On crée ainsi la nouvelle fonction D dont l'expression découle de 4.46 :

$$D(t) = \frac{I_{\mathrm{F}}(t)}{1+\varepsilon\sin(\omega t)} = C\frac{1-e^{-2.3A^0}}{2.3A^0}\left(1+\varepsilon R\sin(\omega t-\phi)\right) \tag{4.49}$$

et pour plus de commodité, on normalise D en la divisant par sa valeur moyenne. On obtient une fonction D^{Norm} qui s'écrit :

$$D^{\mathrm{Norm}} = \frac{D}{<D>} = 1+\varepsilon R\sin(\omega t-\phi) \tag{4.50}$$

La figure 4.14 montre le tracé de la fonction D^{Norm} pour deux valeurs différentes de ω. Le déphasage entre la réponse et l'excitation est maintenant bien visible et on constate clairement qu'il est d'autant plus grand que la pulsation est élevée, comme prévu par les équations 4.35 et 4.36.

Cependant, l'ajustement sinusoïdal des courbes expérimentales n'a pas permis de corréler les valeurs de R ou de ϕ extraites à plusieurs pulsations avec les expressions théoriques 4.35, 4.36 et 4.47. On peut supposer que la très faible valeur de $\varepsilon \times R$ (qui n'excède pas 10^{-2}, voir annexe 4.A) rend le rapport signal sur bruit trop faible pour observer plus que des tendances entre les hautes et les basses pulsations.

Un mode de traitement alternatif des données expérimentales moyennant la variation de l'intensité de fluorescence sur plusieurs périodes et visant à améliorer le rapport signal sur bruit a donc été développé.

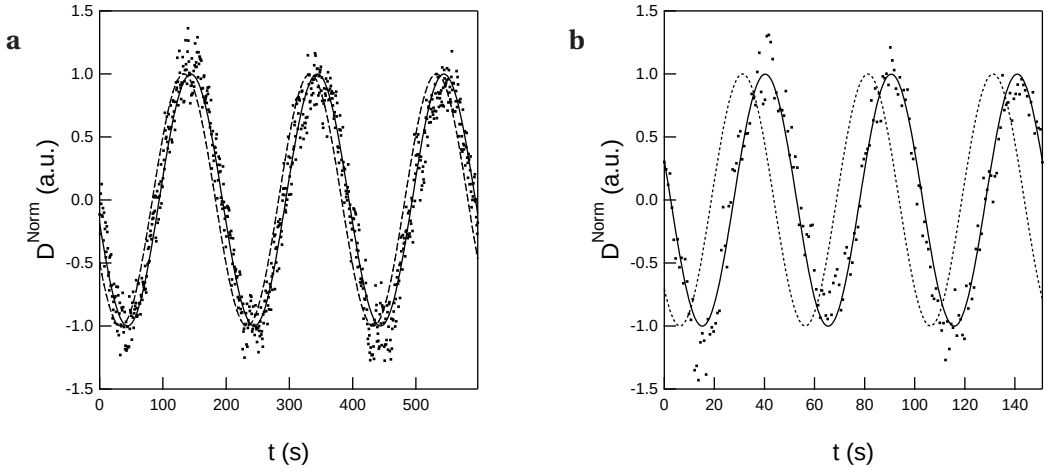


FIGURE 4.14 – *Variation de la fonction D^{Norm} pour une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *à la concentration de 61 µM et de Rhodamine B à la concentration de 1 µM dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé au pH = 2.5. Carrés noirs : données expérimentales ; trait plein : ajustement par une fonction sinus ; pointillés : variation de l'intensité lumineuse à $\lambda_E = 365$ nm normalisée.* ***a*** *: $\omega = 32$ mHz ;* ***b*** *: $\omega = 126$ mHz.*

Traitement alternatif

Par commodité, la fonction $I_F(t)$ est normalisée sous la forme d'une nouvelle fonction $Y(t)$ dont l'expression théorique attendue s'écrit :

$$Y(t) = \frac{I_F(t) - < I_F >}{< I_F >} = \varepsilon \left[\sin(\omega t) + 2.3A^1 \frac{2.3A^0 e^{-2.3A^0} - 1 + e^{-2.3A^0}}{2.3A^0(1 - e^{-2.3A^0})} \sin(\omega t - \phi) \right] \tag{4.51}$$

où $< I_F >= C\frac{1-e^{-2.3A^0}}{2.3A^0}$ d'où[160]

$$Y(t) = \varepsilon(\sin(\omega t) + R\sin(\omega t - \phi)) \tag{4.52}$$

Retenant le principe de la détection synchrone,[160] on définit ensuite les projections a et b selon :

$$a = \frac{2}{n\varepsilon T} \int_0^{nT} Y(t)\cos(\omega t)\,dt \tag{4.53}$$

$$b = \frac{2}{n\varepsilon T} \int_0^{nT} Y(t)\sin(\omega t)\,dt \tag{4.54}$$

où n est le nombre de périodes sur lequel est effectuée la moyenne (une dizaine dans la pratique). On définit alors la fonction Int(ω) telle que :

$$\mathrm{Int}(\omega) = a^2 + b^2 = (R\sin\phi)^2 + (1 + R\cos\phi)^2 = 1 + 2R\cos\phi + R^2 \tag{4.55}$$

On peut négliger le terme R^2 d'ordre 2 vue la faible valeur de R (*cf.* figure 4.13 et annexe 4.A).
Ainsi,

$$\mathrm{Int}(\omega) \approx 1 + 2R\cos(\phi) \tag{4.56}$$

En utilisant les expressions de $\cos\phi$ (4.35) et de R (4.47), on obtient ainsi finalement :

$$\mathrm{Int}(\omega) = 1+2\left[2.3\,\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}(\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}})\,\frac{e^{-2.3A^0}(2.3A^0+1)-1}{2.3A^0(1-e^{-2.3A^0})}\right]\frac{1}{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2} \tag{4.57}$$

$$\mathrm{Int}(\omega) = 1+\frac{J}{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2} \tag{4.58}$$

où le terme J est indépendant de la pulsation ω.

La figure 4.15 présente les valeurs expérimentalement obtenues pour Int à différentes valeurs de ω ainsi que l'ajustement théorique selon l'équation 4.58.

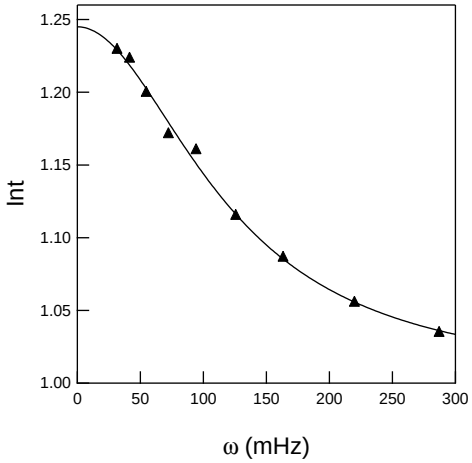


FIGURE 4.15 – *Valeurs de la fonction Int pour* $\omega = 32$ *mHz,* 42 *mHz,* 55 *mHz,* 72 *mHz,* 94 *mHz,* 126 *mHz,* 164 *mHz,* 220 *mHz,* 287 *mHz. Triangles : données expérimentales ; trait plein : ajustement par l'équation 4.58.*

L'ajustement des données expérimentales par l'équation 4.58 est satisfaisant, démontrant l'efficacité du traitement des données pour améliorer le rapport signal sur bruit. Il a permis d'obtenir :

$$J = 0.245 \pm 0.004$$

$$\tau^0_{\mathbf{THCH}} = 8.38 \pm 0.26 \text{ s}$$

À partir des valeurs de J et de $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$, il est possible de déterminer $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}$ et $k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}}$. Les calculs nécessaires pour obtenir ces grandeurs sont reportés en annexe 4.B et donnent finalement :

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}} = 3.4\ 10^{-2}\ \text{s}^{-1}$$

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} = 1.1\ 10^{-2}\ \text{s}^{-1}$$

Enfin, les valeurs des sections efficaces $\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\to CH}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH\to TH}}$ sont déduites à partir des équations :

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}} = \frac{\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\to CH}}\ell}{V}\,\frac{1-e^{-2.3A^0}}{A^0}\,I_0 \tag{4.59}$$

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} = \frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH\to TH}}\ell}{V}\,\frac{1-e^{-2.3A^0}}{A^0}\,I_0 \tag{4.60}$$

On obtient donc finalement :

$$\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}} = 850 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}} = 290 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

En utilisant les valeurs des coefficients d'absorption molaire à 365 nm de **TH** ($\varepsilon_{\mathbf{TH}}(365) = 1.7\ 10^4\ \text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et **CH** ($\varepsilon_{\mathbf{CH}}(365) = 5.1\ 10^3\ \text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) mesuré sur la figure 3.5 et estimé grâce à l'équation 4.15 respectivement, on obtient les rendements quantiques de photoconversion :

$$\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}} = 5\ \%$$

$$\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}} = 6\ \%$$

La méthode de modulation fréquentielle utilisant la fluorescence comme observable a donc permis ici de retrouver les valeurs des paramètres photochimiques à 365 nm associées à la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$. Cette même méthode sera ré-utilisée ultérieurement dans le chapitre 7 pour déterminer ces mêmes paramètres à une autre longueur d'onde.

4.3 Méthode de relaxation utilisant l'absorbance comme observable

Dans les deux méthodes précédentes, la détermination des paramètres cinétiques de la plateforme $\mathbf{TH_2Cl_3}$ repose sur une estimation grossière du rapport entre les coefficients d'absorption molaire de l'isomère trans par rapport au cis à tous les pH. Comme exposé au paragraphe 4.1.6, nous avons supposé que le coefficient d'absorption molaire de $\overline{\mathbf{C}}$ ($\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_\text{E})$) était réduit d'un facteur homothétique $1-\alpha$ par rapport à celui de $\overline{\mathbf{T}}$ ($\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_\text{E})$) pour toutes les longueurs d'onde, amenant ainsi à écrire l'équation 4.15 :

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}(\lambda_\text{E}) - \varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_\text{E}) = -\alpha\,\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}(\lambda_\text{E})$$

Cependant, les paramètres photochimiques du système sont sensibles au rapport entre les deux coefficients d'absorption molaire. Nous avons donc été amenés à rechercher des méthodes pour déterminer avec une meilleure précision les spectres d'absorption de toutes les formes impliquées dans la plateforme *i.e.* **TH**, **T**, **CH** et **C**.

Dans cette partie, nous allons donc d'abord présenter une méthode permettant d'obtenir avec une bonne précision les spectres d'absorption de toutes les formes de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ et en particulier le spectre de **CH** sur lequel la précision est la plus faible. Cette méthode utilise un spectrophotomètre à barrette de diodes « ouvert » récemment acquis par notre équipe et qui permet d'enregistrer l'absorbance d'une solution sous illumination continue au moyen d'une seconde source lumineuse.

Nous avons ensuite employé ce spectrophotomètre à barrette de diodes pour déterminer les paramètres cinétiques des réactions photochimiques de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$. [j]

[j]. Nous aurions évidemment pu uniquement corriger les valeurs trouvées par les méthodes précédentes et ne pas rechercher à déterminer une nouvelle fois les paramètres cinétiques *ex nihilo* mais la méthode présentée est à la fois plus rapide expérimentalement, plus simple mathématiquement et nécessite moins d'approximations que les précédents.

4.3.1 Détermination précise des spectres d'absorption de tous les membres de la série TH_2Cl_3

Détermination des spectres d'absorption des formes TH et T

On a vu dans le chapitre 3 que les spectres d'absorption des formes **TH** et **T** sont aisés à obtenir puisque ces espèces sont stables cinétiquement dès lors que les solutions dans lesquelles elles sont dissoutes sont conservées à l'obscurité. Ces spectres sont rappelés figure 4.16 en traits pleins.

Détermination du spectre d'absorption de la forme C

Nous avons déjà insisté sur le fait que la forme **C** était thermiquement stable (le temps caractéristique d'isomérisation cis→trans à l'obscurité est de plusieurs heures à température ambiante). Il est donc possible, en irradiant à 365 nm une solution à pH = 11 contenant uniquement **T**, d'obtenir un mélange photostationnaire de **T** et **C** stable dans le temps, même une fois l'irradiation coupée. Le spectre d'absorption de cet état photostationnaire a donc été enregistré et est présenté figure 4.16 **b**. On a ensuite déterminé le rapport molaire des deux isomères présents dans cet état photostationnaire par analyse du spectre RMN du proton du mélange comme présenté figure 4.17. La comparaison des intégrations des signaux attribués à **T** et **C** permet de conclure que l'état photostationnaire contient 47% de **T** pour 53% de **C**.

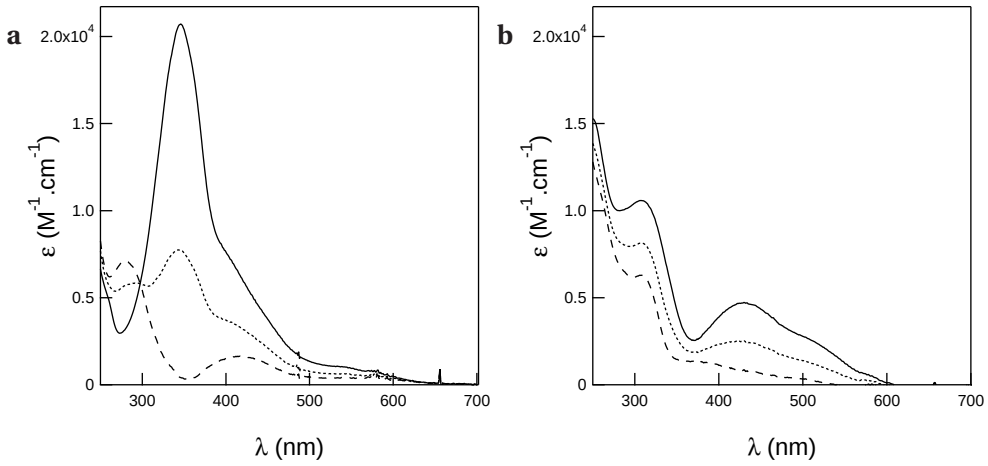


FIGURE 4.16 – a : Spectres d'absorption de **TH** (trait plein), de l'état photostationnaire de **TH** et **CH** (pointillés) et de **CH** (tirets), tampon de Britton-Robinson [129] (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v), pH = 4. **b :** Spectres d'absorption de **T** (trait plein), de l'état photostationnaire de **T** et **C** (pointillés) et de **C** (tirets), tampon de Britton-Robinson [129] (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M)- acétonitrile 1-1 (v/v), pH = 11. T = 25 °C.

Pour confirmer les valeurs des proportions obtenues par RMN du proton, une analyse complémentaire a été effectuée par électrophorèse capillaire. La figure 4.18 présente les électrophérogrammes obtenus. Le premier, noté « **T** » correspond à une solution de **T** dans un mélange tampon de Britton-Robinson [129] (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v) ajusté à pH = 11. La solution a été préparée et conservée dans l'obscurité pour éviter toute isomérisation

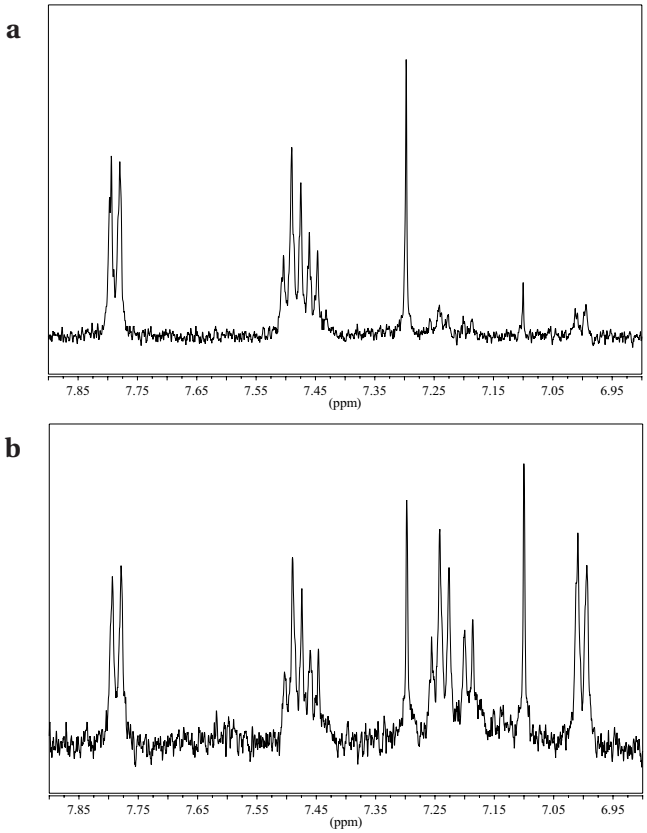


FIGURE 4.17 – ***a :*** *Spectre RMN ^1H d'une solution de **T** à 8 10^{-5} M dans le tampon deutéré de Britton-Robinson [129] (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile deutérée 1-1 (v/v) à pH = 11 préparée et conservée dans l'obscurité ;* [k] ***b :*** *Spectre RMN ^1H du mélange photostationnaire de **T** et **C** après irradiation pendant 5 min à 365 nm de la solution précédente. La solution aqueuse de tampon deutéré a été préparée en lyophilisant 5 mL de tampon de Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) puis en dissolvant la poudre obtenue dans 5 mL d'eau lourde. Ce processus a été répété deux fois. L'acétonitrile deutérée à été utilisée comme solvant de référence interne (^1H, 1.94 ppm). Les spectres ont été analysés avec le logiciel MestReNova LITE 5.5.0 © 2007 Mestrelab Research S.L.*

photo-induite. Il ne présente qu'un seul pic, caractéristique de l'isomère trans seul. Le troisième interphérogramme noté « **T/C** » montre le signal de la solution précédente irradiée 5 min à 365 nm (dans les mêmes conditions que pour l'expérience RMN). Les deux pics visibles démontrent qu'une nouvelle espèce est apparue : c'est l'isomère **C**. La comparaison des aires des deux signaux permet de déterminer la composition du mélange photostationnaire qui contient ici 43% de **T** pour 57% de **C** [l].

Les deux méthodes de détermination du rapport **T/C** présentées ci-dessus aboutissent à des résultats du même ordre de grandeur. La méthode électrophorétique étant plus rapide (quelques mi-

[k]. On remarque que le spectre RMN de la solution de **T** contient initialement un peu de **C** (environ 5 %) qui provient certainement de l'isomérisation de **T** à la lumière ambiante. En effet, même si l'échantillon est préparé à l'obscurité autant que faire se peut, on ne peut pas éviter de courtes expositions à la lumière naturelle.

[l]. La longueur d'onde du détecteur de l'électrophorèse capillaire est réglé à 244 nm, qui correspond à un point isobestique (voir annexe 4.C). Il est donc inutile de corriger les aires des signaux par les valeurs des coefficients d'absorption molaire (qui sont identiques à la longueur d'onde d'observation).

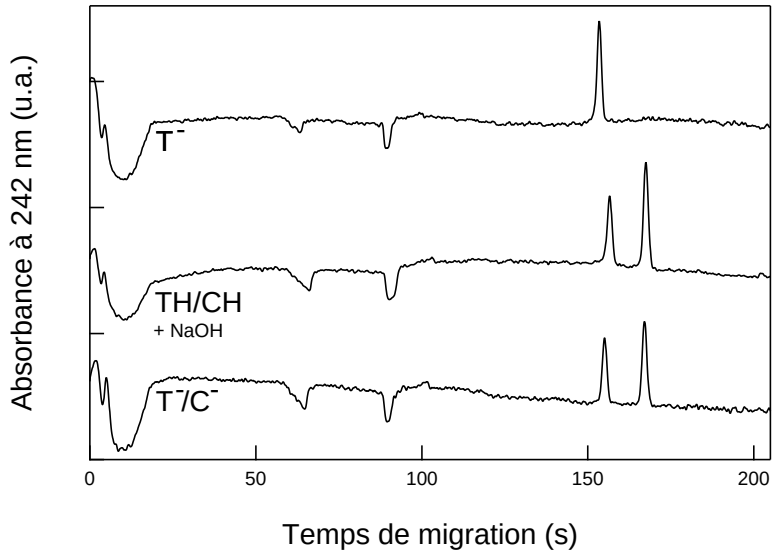


FIGURE 4.18 – *Électrophérogrammes d'une solution de 1 mL de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 8* 10^{-5} *M dans un mélange tampon de Britton-Robinson*[129] *(acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v). L'électrophérogramme noté «* $\boldsymbol{T^-}$ *» correspond à un échantillon à pH = 11 conservé dans l'obscurité ; celui noté «* $\boldsymbol{TH/CH + NaOH}$ *» correspond à une solution irradiée à pH = 4 par une lampe à 365 nm pendant 5 min à laquelle on a rajouté au moment de l'extinction de la lampe UV 2 µL de soude 9 M pour amener la solution à pH = 11 de sorte à bloquer le retour thermique ; l'électrophérogramme noté «* $\boldsymbol{T^-/C^-}$ *» correspond à un échantillon à pH = 11 irradié par une lampe à 365 nm pendant 5 min. L'électrolyte support est constitué par une solution hydroorganique (eau - acétonitrile 1-1 (v/v)) contenant 35 mM d'acide 3-(cyclohexylamino)-1-propanesulfonique (CAPS), 25 mM de NaOH et 10 mM de triéthylamine. L'échantillon est injecté en mode hydrodynamique (13.8 mbar, 2s). T = 25 °C.*

nutes) que la méthode RMN (le temps d'acquisition est proche de 10 h [m] sur un appareil RMN 200 MHz), nous avons privilégié l'obtention du rapport **T**/**C** par électrophorèse capillaire. En effet, même si le temps de retour thermique de **C** est très long (plusieurs heures, voir paragraphe 3.3.3), il est possible qu'à l'échelle de 10 h, une partie des molécules **C** se soient ré-isomérisés en **T**, ce qui justifie de trouver un rapport qui contient légèrement plus **T** dans l'expérience RMN que dans l'étude électrophorétique.

Connaissant maintenant le spectre d'absorption de **T**, du mélange photostationnaire et les proportions relatives de **T** et de **C** dans ce mélange, il est facile de retrouver le spectre d'absorption de **C** puisqu'à toutes les longueurs d'onde, on a l'expression du coefficient d'absorption molaire de **C** ($\varepsilon_{\mathbf{C}}$) en fonction du coefficient d'absorption molaire de **T** ($\varepsilon_{\mathbf{T}}$), du coefficient d'absorption molaire de l'état photostationnaire ($\varepsilon_{\mathbf{photostat}}$) et des proportions relatives de **T** ($p_{\mathbf{T}}$) et de **C** ($p_{\mathbf{C}}$) :

$$\varepsilon_{\mathbf{C}} = \frac{\varepsilon_{\mathbf{photostat}} - p_{\mathbf{T}}\,\varepsilon_{\mathbf{T}}}{p_{\mathbf{C}}} \tag{4.61}$$

[m]. Pour diminuer le temps d'acquisition, on pourrait augmenter la concentration de l'analyse. Cependant, une concentration maximale est imposée par l'absorbance de la solution qui ne peut pas dépasser environ 1 (pour rester dans la zone de linéarité de la loi de Beer-Lambert).

On en déduit ainsi le spectre d'absorption de **C** présenté figure 4.16 **b**.

L'effet hypochrome déjà évoqué lors des analyses qualitatives du système est bien retrouvé ici.

Détermination du spectre d'absorption de la forme CH

La grande instabilité thermique de **CH** (qui évolue à pH acide en **TH** avec un temps caractéristique de l'ordre de la trentaine de secondes) rend caduque la méthode utilisée précédemment. En effet, il n'est pas possible après irradiation de l'échantillon pour l'amener à l'état photostationnaire, de le transporter dans le spectrophotomètre pour enregistrer le spectre UV-Visible de l'état photostationnaire et encore moins de l'emmener ensuite dans l'appareil RMN pour déterminer le rapport de **CH** sur **TH**. En effet, tout cela prend trop de temps et les molécules **CH** ont été entièrement ré-isomérisées. La méthode utilisant directement l'électrophorèse capillaire n'est pas mieux adaptée.

Ayant le même type de problématique, l'équipe de Gaston Vermeersch a récemment déterminé les constantes cinétiques des processus d'échanges entre les différents états de diverses plateformes photochromes[161–163] en utilisant une méthode combinant la spectroscopie UV-Visible et la RMN. L'irradiation des échantillons est effectuée dans des tubes RMN refroidis à très basse température (jusqu'à -50 °C environ) de sorte à bloquer les processus de relaxation thermique. La mesure de l'absorbance est réalisée *in situ* grâce à une micro-cuve UV suffisamment petite pour rentrer dans le tube RMN. La sonde de l'appareil RMN 600 MHz est, elle aussi, refroidie à basse température.
Une collaboration avec Stéphanie Delbaere a donc été mise en place pour tenter d'appliquer ce mode opératoire à notre système. Cette collaboration n'a malheureusement pas permis d'aboutir à des résultats satisfaisants puisque nous avons été incapables de refroidir l'échantillon de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ dans un mélange tampon de Britton-Robinson[129] (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v), ce dernier démixant vers 0 °C et gelant vers -10 °C.

La méthode que nous avons finalement utilisée pour déterminer le rapport **CH** sur **TH** met à profit la très lente ré-isomérisation de l'isomère cis déprotoné **C**. L'idée est d'irradier à 365 nm un échantillon à pH = 4 et refroidi à 4 °C pour ralentir au maximum le retour thermique. [n] Le spectre d'absorption est alors enregistré aussi vite que faire se peut. Ensuite, pour obtenir un système suffisamment persistant pour être analysable par RMN ou électrophorèse capillaire, nous avons effectué une trempe en agissant chimiquement sur le mélange photostationnaire de **CH** et **TH** en injectant quelques micro-litres de soude concentrée (9 M) en même temps que nous avons stoppé l'irradiation à 365 nm. Après une rapide homogénéisation, toutes les molécules sous la forme **TH** (respectivement **CH**) ont été déprotonées pour donner **T** (respectivement **C**) aboutissant à un mélange de **T** et de **C** dans les mêmes proportions que l'état photostationnaire de **CH** et **TH** précédent. Il est alors possible de déterminer le rapport de **T** et de **C** comme expliqué ci-dessus et donc d'accéder à celui de **TH** et de

[n]. Dans un régime d'illumination intense, la composition de l'état photostationnaire ne dépend pas de la valeur de la constante cinétique de l'isomérisation cis→trans sous contrôle thermique (*cf.* paragraphe 5.B). Elle est donc peu dépendante de la température.

CH dans l'état photostationnaire.

Cette méthode a été employée une première fois comme décrit ci-dessus pour fournir un ordre de grandeur grossier du spectre d'absorption de la molécule **CH**.[164] Cependant, une importante source d'erreur réside dans la détermination du spectre d'absorption de l'état photostationnaire. En effet, même en refroidissant la solution à 4 °C, le temps nécessaire pour transporter la solution depuis la lampe UV, jusqu'au spectrophotomètre mais aussi le temps d'acquisition du spectre d'absorption font que le spectre de l'état photostationnaire obtenu est assez imprécis. L'achat d'un nouveau spectrophotomètre à barrette de diodes « ouvert » a résolu notre problème. Dans cet appareil le faisceau lumineux est collimaté de sorte à nous permettre d'acquérir un spectre UV-Visible en même temps que l'échantillon analysé est soumis à une excitation lumineuse même de forte intensité. Il nous a donc été possible de mesurer le spectre d'absorption de l'état photostationnaire *in situ* sans même couper la source d'excitation UV. [o]

Équipé de cette technique et en appliquant le protocole consistant à ajouter de la soude concentrée au système pour « geler » la relaxation thermique, nous avons été capables d'obtenir le spectre d'absorption de l'état photostationnaire **TH**/**CH** (figure 4.16 **a**) puis de déterminer le rapport de **TH** par rapport à **CH** par électrophorèse capillaire comme évoqué ci-dessus. Ainsi, l'électrophérogramme noté « **TH**/**CH** + **NaOH** » sur la figure 4.18 permet par intégration de déduire que l'état photostationnaire contient 36% de **TH** pour 64% de **C** [p].

Finalement, l'équation 4.61 permet de déterminer pour chaque longueur d'onde la valeur du coefficient d'absorption molaire de **CH** et de déduire ainsi le spectre d'absorption de la molécule présenté sur la figure 4.16 **a**.

La comparaison des valeurs des coefficients d'absorption molaire obtenue dans cette partie avec celles grossièrement évaluées dans les parties précédentes sera effectuée à la fin de ce chapitre.

4.3.2 Suivi direct de l'absorbance de la solution en fonction du temps sous irradiation

Comme déjà évoqué plus haut, l'utilisation d'un spectrophotomètre à barrette de diodes permet d'enregistrer des spectres UV-Visible tout en illuminant continuellement la solution que l'on étudie à l'aide d'une fibre optique (*cf.* figure 4.19). Cela nous a permis de suivre directement l'absorbance de la solution lors de son illumination à 365 nm et d'en déduire facilement les paramètres cinétiques des réactions photochimiques à ces deux longueurs d'onde.

[o]. Une explication du mode de fonctionnement d'un spectrophotomètre à barrette de diodes est présentée en annexe 4.D

[p]. Nous avons, pour faire cette estimation, pris en compte la ré-isomérisation ayant lieu pendant la phase d'ajout de la solution de soude au mélange **TH**/**CH** et d'homogénéisation du milieu. Le temps nécessaire pour réaliser ces opérations a été estimé et en utilisant la valeur du retour thermique à 4 °C (voir paragraphe 3.3.5) et les équations 3.30 et 3.31, on a extrapolé les proportions de **TH** et **CH** initiales.

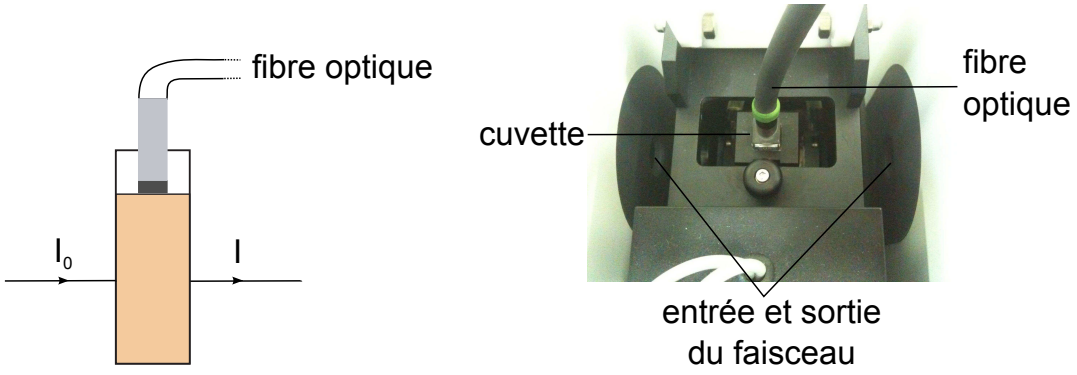


FIGURE 4.19 – *Gauche : Schéma du montage réalisé à l'intérieur du spectrophotomètre à barrette de diodes. Une fibre optique permet d'éclairer la solution à 365 nm en passant par le dessus de la cuve. Droite : Photo de la cuve à l'intérieur du spectrophotomètre avec la fibre optique correspondant au schéma.*

Rappel de l'expression analytique de la variation de l'absorbance avec le temps

Le système initial, préalablement gardé à l'obscurité, est uniquement constitué de la molécule sous forme trans, qui sans restreindre la généralité est notée $\overline{\mathbf{T}}$. Sous illumination a lieu la réaction 3.13 où les concentrations des espèces moyennes $\left[\overline{\mathbf{T}}\right]$ et $\left[\overline{\mathbf{C}}\right]$ sont données par les équations 3.28 et 3.29 du paragraphe 3.3.2.

D'où l'expression de l'absorbance par unité de longueur de trajet optique au cours du temps :

$$A = A_0 \left[1 + \frac{k_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}}{k}\left(\frac{\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}}{\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}} - 1\right)\left(1 - e^{-k\,t}\right)\right] \tag{4.62}$$

avec $k = k_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} = k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ et où A_0 est l'absorbance initiale du système qui ne contient que $\overline{\mathbf{T}}$.

Résultats obtenus

On prépare une solution de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à 5.8 10^{-5} M dans un mélange de tampon de Britton-Robinson [129] (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v) et on se place à pH = 4. La concentration de la solution est choisie de sorte à ce que l'absorbance soit inférieure à 0.15 : on peut ainsi développer l'expression des constantes de vitesse photochimiques à l'ordre 1 et ainsi négliger l'effet de l'absorbance comme montré par les équations 3.23, 3.24, 3.25 et 3.26.
Cette solution est ensuite illuminée à 365 nm avec une puissance de 3.5 10^{-7} Ei.s^{-1}. L'absorbance est suivie à 347 nm (maximum d'absorption). La courbe de la figure 4.20 montre l'évolution de l'absorbance de la solution en fonction du temps. Cette dernière commence par descendre de manière exponentielle avant de se stabiliser à un pallier qui correspond au mélange photostationnaire.
Les données expérimentales sont ajustées par l'équation 4.62, ce qui permet d'obtenir les valeurs de $k_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}$ et $k_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$:

$$k_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(3.5\ 10^{-7}\ \text{Ei.s}^{-1}) = 0.22\ \text{s}^{-1} \qquad k_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(3.5\ 10^{-7}\ \text{Ei.s}^{-1}) = 0.17\ \text{s}^{-1} \tag{4.63}$$

L'opération a été répétée plusieurs fois :

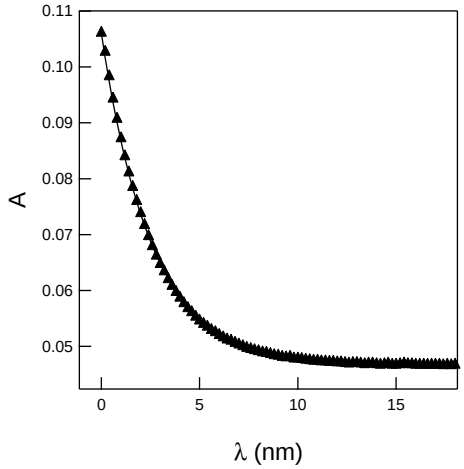


FIGURE 4.20 – *Évolution temporelle de l'absorbance à 347 nm de 1 mL d'une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *à 5.8* 10^{-5} *M dans un mélange de tampon de Britton-Robinson*[129] *(acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v) à pH = 4, et irradiée à 365 nm avec une puissance de 3.5* 10^{-7} *Ei.s*$^{-1}$*. Triangles : données expérimentales ; ligne : ajustement par l'équation 4.62. T = 25 °C.*

- en faisant varier la puissance de la lampe entre 4.8 10^{-8} et 3.5 10^{-7} Ei.s^{-1} ;
- en changeant le pH de la solution : les pH 4 et 11 situés respectivement aux pH supérieurs et inférieurs aux pK_a des espèces **TH** et **CH** ont été étudiés car ils permettent de déduire tous les paramètres photochimiques associés aux espèces **TH**, **T**, **CH** et **C**.

Pour chaque expérience, on extrait les valeurs des constantes de vitesse que l'on trace en fonction de la puissance d'illumination aux pH 4 et 11 comme présenté sur la figure 4.21.

Les données expérimentales sont ajustées linéairement par les équations 3.23, 3.24, 3.25, 3.26.

Pour l'excitation à 365 nm, on observe de très bonnes corrélations. En particulier les ordonnées à l'origine pour les courbes **a**, **c** et **d** sont respectivement de 0.00 ± 0.01 s^{-1}, -0.01 ± 0.01 s^{-1} et 0.01 ± 0.01 s^{-1}, en bon accord avec les valeurs nulles attendues. L'ordonnée à l'origine pour la courbe **b** vaut 0.07 ± 0.01 s^{-1} en très bon accord avec la valeur de la constante cinétique d'isomérisation cis→trans thermique 0.075 s^{-1} attendue.

On déduit ensuite des coefficients directeurs les sections efficaces d'absorption et les rendements quantiques de photo-conversion recherchés :

$$\varepsilon_{\mathbf{TH}}\,\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}} = 290\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\mathbf{CH}}\,\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}} = 130\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\mathbf{T}}\,\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}} = 250\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\mathbf{C}}\,\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}} = 240\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}} = 2\ \%$$

$$\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}} = 26\%$$

$$\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}} = 10\%$$

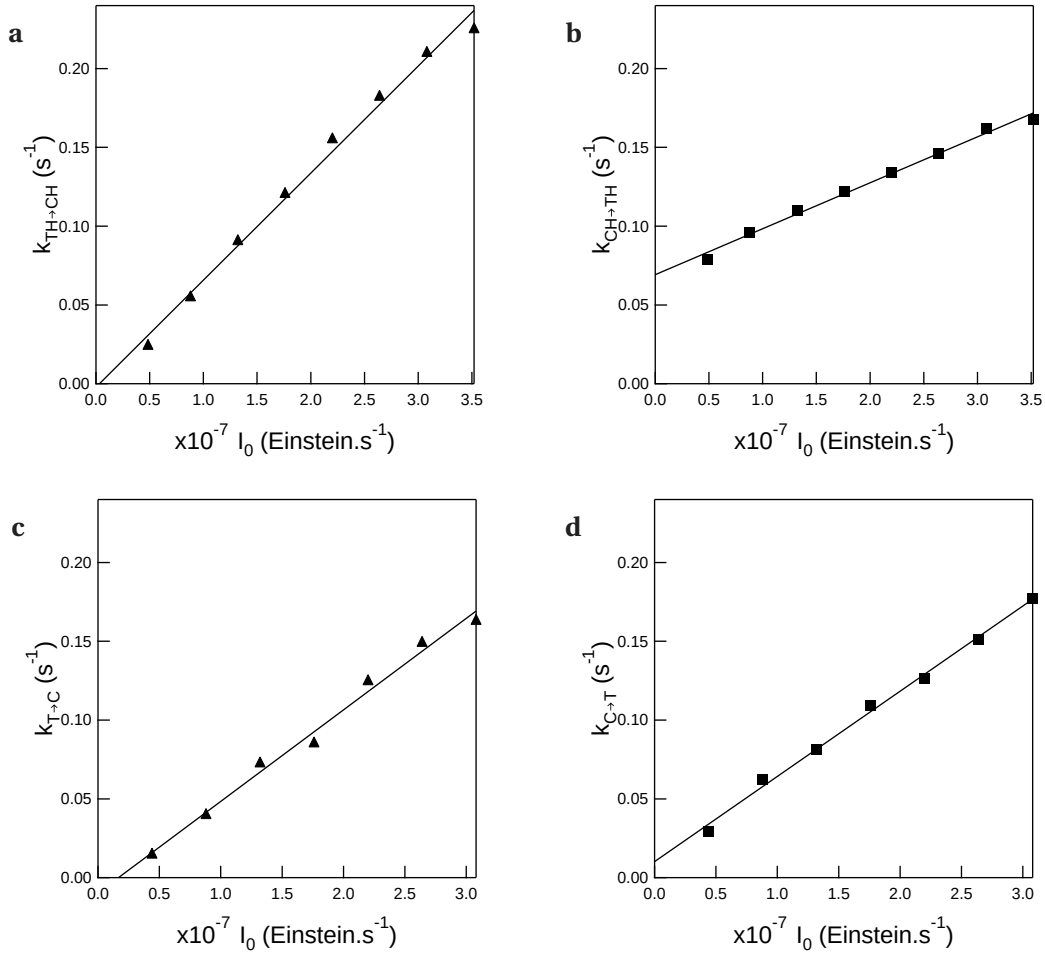


FIGURE 4.21 – *Dépendance des constantes de vitesse avec l'intensité lumineuse à 365 nm à pH = 4 (**a :** $k_{TH\rightarrow CH}$ et **b :** $k_{CH\rightarrow TH}$) ; à pH = 11 (**c :** $k_{T\rightarrow C}$ et **d :** $k_{C\rightarrow T}$). Triangles et carrés : données expérimentales, lignes : ajustements linéaires. T = 25 °C.*

$$\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}} = 19\%$$

Cette méthode rapide de détermination des paramètres photochimiques sera réutilisée à une autre longueur d'onde dans l'annexe 7.A du chapitre 7.

4.4 Comparaison générale des résultats et conclusions

4.4.1 Comparaison des coefficients d'absorption molaire

Le tableau 4.1 présente deux jeux de valeurs des coefficients d'absorption molaire des formes **TH**, **CH**, **T** et **C**. Le premier jeu a été utilisé dans les parties 1 et 2 de ce chapitre. Le second jeu a été utilisé dans la partie 3.

Les coefficients associés aux espèces trans **TH** et **T** sont identiques puisqu'ils sont obtenus par simple enregistrement de l'absorbance. Les coefficients des espèces photo-générées **CH** et **C** sont différents. Dans la colonne 1, ils sont obtenus grossièrement en considérant que les spectres des formes cis subissent un effet hypochrome homothétique à toutes les longueurs d'onde et quel que

soit l'état de protonation. Le rapport d'homothétie a été évalué au mieux d'après la littérature[111] et notre connaissance expérimentale du système. *A contrario*, dans la colonne 2, les coefficients d'absorption molaire ont été déterminés expérimentalement aussi rigoureusement que possible (voir paragraphe 4.3.1). Ces derniers peuvent donc être considérés comme beaucoup plus précis.

	Colonne 1	**Colonne 2**
	Estimation grossière	Détermination précise
λ_E (nm)	365	365
$\varepsilon_{\mathbf{TH}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	$1.7\ 10^4$	$1.7\ 10^4$
$\varepsilon_{\mathbf{CH}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	$5.1\ 10^3$	$5.0\ 10^2$
$\varepsilon_{\mathbf{T}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	$2.6\ 10^3$	$2.6\ 10^3$
$\varepsilon_{\mathbf{C}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	$7.8\ 10^2$	$1.3\ 10^3$

TABLE 4.1 – *Valeurs des coefficients d'absorption molaire à 365 nm obtenues grossièrement à partir de la figure 3.8 (colonne 1) et déterminés précisément dans le paragraphe 4.3.1 (colonne 2).*

En comparant les valeurs des deux colonnes pour **CH** et **C** on se rend compte que :

i. Les valeurs de $\varepsilon_{\mathbf{C}}$ obtenues par les deux méthodes sont du même ordre de grandeur. Cela est attendu en considérant que la détermination du spectre d'absorption de l'espèce **C** est aisée puisque la molécule est cinétiquement stable à l'obscurité. La différence entre les deux valeurs émane de l'estimation peu précise de la quantité de chacune des espèces **T** et **C** dans l'état photostationnaire.

ii. Par contre, les valeurs de $\varepsilon_{\mathbf{CH}}$ ne sont pas du même ordre de grandeur. La valeur du coefficient d'absorption molaire de **CH** obtenue par la méthode la plus précise est beaucoup plus faible que ce qui a été considéré initialement. Cette erreur provient, comme pour $\varepsilon_{\mathbf{C}}$, de l'estimation peu précise de la quantité de chacune des espèces **TH** et **CH** dans l'état photostationnaire mais surtout de notre incapacité à enregistrer un spectre précis de l'état photostationnaire à cause de la relaxation thermique rapide à pH acide.

4.4.2 Comparaison des paramètres cinétiques des réactions photochimiques

Le tableau 4.2 résume les valeurs des paramètres cinétiques des réactions photochimiques obtenues dans ce chapitre pour la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$. Chaque colonne correspond à une des méthodes successivement décrites.

Il n'est cependant pas possible de comparer directement ces trois jeux de valeurs. En effet, comme la présentation successive des trois méthodes suit le déroulement chronologique du travail de thèse, les valeurs précises des coefficients d'absorption molaire de l'ensemble des formes de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ n'ont été exploitées que lors de la détermination des paramètres cinétiques basée sur la méthode de relaxation utilisant l'absorbance comme observable. Dans les deux autres méthodes, la détermination des paramètres cinétiques repose sur un estimation grossière du rapport des coefficients d'absorption molaire.

	Colonne 1	**Colonne 2**	**Colonne 3**
	Relaxation suivie par fluorimétrie	Modulation fréquentielle suivie par fluorimétrie	Relaxation suivie par UV
λ_E (nm)	347	365	365
$\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	630	850	290
$\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	140	290	130
$\varepsilon_{\mathbf{T}}\phi_{\mathbf{T\rightarrow C}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	290	X	250
$\varepsilon_{\mathbf{C}}\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	260	X	240
$\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$	3 %	5 %	2 %
$\phi_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$	2 %	6 %	26 %
$\phi_{\mathbf{T\rightarrow C}}$	6 %	X	10 %
$\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}}$	18 %	X	19 %

TABLE 4.2 – *Données relatives aux paramètres photo-chimiques de la plateforme* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$*. X désigne une quantité qui n'a pas été évaluée.*

De plus, la méthode de relaxation utilisant la fluorescence comme observable a été menée à 347 nm, longueur d'onde maximum d'absorption de **TH**, alors que les deux autres méthodes ont été menées à 365 nm, longueur d'onde imposée par les sources lumineuses utilisées.

Pour comparer rigoureusement les données issues des trois méthodes, il est donc nécessaire de corriger les résultats des deux premières méthodes en prenant en compte :

i. la modification de longueur d'onde et les valeurs précises des coefficients d'absorption molaire dans la méthode de relaxation utilisant la fluorescence comme observable ;

ii. uniquement les valeurs précises des coefficients d'absorption molaire dans la méthode de modulation fréquentielle utilisant la fluorescence comme observable.

Les données des colonnes 1 et 2 ont donc été corrigées selon le démarche suivante :

i. Le paramètre α a été re-calculé en utilisant les valeurs des coefficients d'absorption molaire déterminées de manière précise. On obtient alors une valeur de α égale à 1 pour un pH inférieur à $pK_{a\,\mathbf{CH/C}}$ et une valeur de α égale à 0.7 pour une valeur du pH supérieure à $pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$. [q]

ii. La correction des sections efficaces avec la longueur d'onde est faite en échangeant la valeur des coefficients d'absorption molaire à 347 nm par les valeurs précises à 365 nm. Le rendement quantique de photoconversion est supposé peu dépendant de la longueur d'onde sur cette plage.

Les données corrigées sont reportées dans le tableau 4.3.

[q]. La valeur de α pour un pH supérieur à $pK_{a\,\mathbf{TH/T}}$ calculée avec les valeurs précises des coefficients d'absorption molaire est identique à celle déterminée par estimation grossière alors que la valeur pour un pH inférieur à $pK_{a\,\mathbf{CH/C}}$ est largement différente. Il nous était en effet plus facile d'estimer cette valeur en milieu basique où les espèces **T** et **C** sont thermiquement stables, ce qui n'est pas le cas en milieu acide pour les espèces **TH** et **CH**.

	Colonne 1	**Colonne 2**	**Colonne 3**
	Relaxation suivie par fluorimétrie	Modulation fréquentielle suivie par fluorimétrie	Relaxation suivie par UV
λ_E (nm)	365	365	365
$\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	460	530	290
$\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	320	640	130
$\varepsilon_{\mathbf{T}}\phi_{\mathbf{T\rightarrow C}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	290	X	250
$\varepsilon_{\mathbf{C}}\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ ($M^{-1}.cm^{-1}$)	260	X	240
$\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$	2 %	3 %	2 %
$\phi_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$	80 %	128 %	26 %
$\phi_{\mathbf{T\rightarrow C}}$	6 %	X	10 %
$\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}}$	17 %	X	19 %

TABLE 4.3 – *Données corrigées relatives aux paramètres photo-chimiques de la plateforme* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$*. X désigne une quantité qui n'a pas été évaluée.*

En commençant par comparer les valeurs des sections efficaces de photoconversion obtenues par les trois méthodes, on observe que :

i. les valeurs obtenues pour les espèces déprotonées sont en très bon accord. On constate en particulier que les valeurs de $\varepsilon_{\mathbf{T}}\phi_{\mathbf{T\rightarrow C}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{C}}\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ sont proches, la grandeur $\varepsilon_{\mathbf{T}}\phi_{\mathbf{T\rightarrow C}}$ étant légèrement supérieure à $\varepsilon_{\mathbf{C}}\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}}$.

ii. les valeurs obtenues pour $\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ par les trois méthodes sont du même ordre de grandeur bien que plus dispersées. La valeur de $\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ est supérieure à celle de $\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ pour les méthodes relaxatives. Cette tendance est inversée pour la méthode fréquentielle.

En ce qui concerne la comparaison des rendements quantiques de photoconversion, on remarque que :

i. de même que précédemment, les valeurs obtenues pour les formes déprotonées sont en bon accord. Les rendements quantiques de la réaction cis→trans sont généralement supérieurs à ceux de la réaction trans→cis comme évoqué dans la littérature.[70,71]

ii. les valeurs obtenues pour $\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ sont proches et très faibles alors que les valeurs de $\phi_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ sont plus grandes et dispersées. Cela est dû à la division du terme de section efficace par le coefficient d'absorption molaire $\varepsilon_{\mathbf{C}}$ qui a une valeur faible. On retient cependant que de manière semblable aux formes déprotonées et conformément à la littérature,[70,71] le rendement quantique de la réaction cis→trans est supérieur à celui de la réaction trans→cis.

Les variations observées particulièrement pour les formes protonées peuvent être attribuées au fait que les approximations effectuées dans les trois méthodes ne sont pas toujours de même nature. Par exemple dans la méthode fréquentielle, on n'a pas eu besoin de développer les expressions des constantes de vitesse au premier ordre en se plaçant à absorbance faible.

Conclusions

Dans cette partie nous avons développé trois méthodes parallèles pour déterminer les paramètres cinétiques des réactions photochimiques de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$. Comme évoqué ci-dessus, les paramètres obtenus par des méthodes différentes sont proches – ou au moins du même ordre de grandeur – ce qui conforte notre confiance dans la pertinence de ces trois méthodes d'analyse.

La méthode de relaxation suivie par fluorimétrie est expérimentalement la plus lourde des trois présentées et repose sur de nombreuses approximations.

La méthode fréquentielle est certainement la plus sensible des trois car, en plus de permettre de moyenner le signal sur plusieurs périodes, elle ne nécessite pas de travailler à absorbance faible. Elle est cependant très lourde mathématiquement et demande pour des systèmes lents, des temps d'acquisitions de plusieurs heures pour certaines fréquences. Elle ne pourrait donc pas être employée pour étudier un système qui se dégrade thermiquement ou photochimiquement.

Enfin, la méthode de relaxation suivie par UV a l'avantage d'être rapide, de mettre en jeu peu d'approximations et de conduire à des résultats convaincants. Dans la suite de ce manuscrit, nous utiliserons donc (sauf mention contraire) les paramètres cinétiques obtenus par la méthode de relaxation utilisant l'absorbance comme observable.

Annexes du chapitre 4

4.A Optimisation des conditions opératoires relatives à l'étude en fréquence

Conformément à l'équation 4.46, il est nécessaire de se placer dans des conditions opératoires pour lesquelles la valeur de R est aussi grande que possible pour maximiser le rapport signal sur bruit. Dans cette partie, on va donc étudier la fonction R et déterminer des conditions opératoires optimales pour maximiser sa valeur. Pour cela on propose de séparer la fonction R en un produit de trois fonctions dont les variables peuvent être ajustées en jouant sur les paramètres de contrôle du système (absorbance et intensité lumineuse).

4.A.1 Mise en forme du facteur R

On rappelle que l'équation 4.47 donne :

$$R = 2.3\frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}})\,\frac{e^{-2.3A^0}(2.3A^0+1)-1}{2.3A^0(1-e^{-2.3A^0})} \tag{4.64}$$

d'où en utilisant les définitions de $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$ et $\rho^0_{\mathbf{THCH}}$ (équations 4.31 et 4.32) :

$$R = \frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}})\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{(k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}})^2}\,\frac{2.3A^0e^{-2.3A^0}-1+e^{-2.3A^0}}{2.3A^0(1-e^{-2.3A^0})}2.3c \tag{4.65}$$

Or, si $p^0_{\mathbf{TH}}$ et $p^0_{\mathbf{CH}}$ sont les proportions de **TH** et de **CH** à l'état photostationnaire, on a :

$$c = A^0/(\varepsilon_{\mathbf{TH}}p^0_{\mathbf{TH}}+\varepsilon_{\mathbf{CH}}p^0_{\mathbf{CH}})$$

d'où

$$R = \frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}\,\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}}p^0_{\mathbf{TH}}+\varepsilon_{\mathbf{CH}}p^0_{\mathbf{CH}}}\,\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{(k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}+k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}})^2}\,\frac{2.3A^0e^{-2.3A^0}-1+e^{-2.3A^0}}{(1-e^{-2.3A^0})} \tag{4.66}$$

si on pose ensuite $x = 2.3A^0$, on peut définir la fonction h telle que :

$$h(x) = \frac{1-e^{-x}(x+1)}{1-e^{-x}} \tag{4.67}$$

De plus en posant $y = \frac{k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}$, on peut définir la fonction i telle que :

$$i(y) = \frac{y}{(1+y)^2} \tag{4.68}$$

On en déduit alors :

$$R = -\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}}p^0_{\mathbf{TH}}+\varepsilon_{\mathbf{CH}}p^0_{\mathbf{CH}}}\,\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}h(x)\,i(y)\,\frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} \tag{4.69}$$

puis en posant

$$K = -\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}-\varepsilon_{\mathbf{TH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}}p^0_{\mathbf{TH}}+\varepsilon_{\mathbf{CH}}p^0_{\mathbf{CH}}}\,\frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}+k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}} \tag{4.70}$$

on obtient finalement :

$$R = Kh(x)i(y)\frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} \tag{4.71}$$

On a donc écrit R comme un produit de trois termes ajustables :

i. x dépend de A^0 qui peut être ajusté avec la concentration du photo-acide :

ii. y est ajustable par le choix de I_0 car il mesure l'importance relative des processus d'interconversion thermique et photochimique ;

iii. K dépend de y et des proportions de forme cis et trans, il est ajustable par choix de I_0 mais on va montrer qu'il est borné.

4.A.2 Étude du facteur R

Nous allons étudier successivement les différentes fonctions définies ci-dessus.

Étude de la fonction $h(x)$

On rappelle que $x = 2.3A^0$

$$h(x) = \frac{1-e^{-x}(1+x)}{1-e^{-x}}$$

On trace sur la figure 4.22 la fonction h en prenant des valeurs de l'absorbance à l'état photostationnaire allant de 0 à 5.

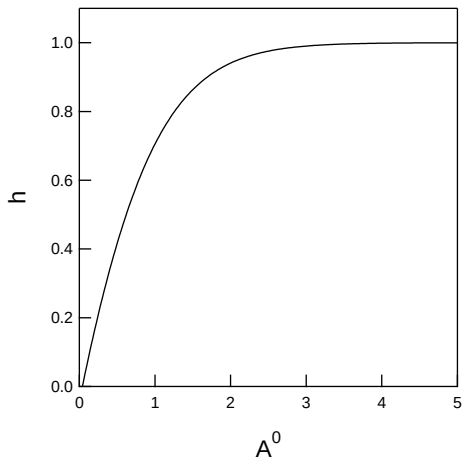


FIGURE 4.22 – *Graphe de la fonction h en fonction de l'absorbance à l'état photostationnaire A^0.*

L'étude de la fonction h montre que mener l'expérience à une faible absorbance n'est pas souhaitable pour obtenir une valeur importante pour R ; l'extraction des constantes cinétiques ne pourra pas être effectuée en solution diluée. Par contre, avec une absorbance de l'ordre de l'unité, $h(x)$ vaut environ 0.8 et est déjà quasiment à sa valeur maximale qui est 1. On va donc se placer à une absorbance forte pour effectuer l'expérience.

Étude de la fonction $i(y)$

On rappelle que $y = \frac{k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}}{k^{h\nu}_{\mathbf{C\to T}} + k^{h\nu}_{\mathbf{T\to C}}}$

$$i(y) = \frac{y}{(1+y)^2}$$

On trace la fonction i en prenant des valeurs de y en échelle logarithmique sur la figure 4.23.

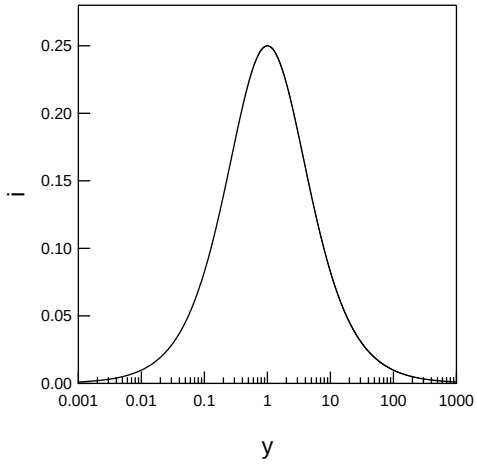


FIGURE 4.23 – *Graphe de la fonction i en fonction de y en échelle logarithmique.*

La fonction i est maximale pour une valeur de y égale à 1. Ainsi on peut maximiser la valeur de R en se plaçant à une intensité lumineuse I_0 telle que $k^{h\nu}_{\mathbf{C\to T}} + k^{h\nu}_{\mathbf{T\to C}}$ soit du même ordre de grandeur que $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}$.

Étude de la fonction K

La constante K, dépendant des proportions de **TH** et de **CH** dépend donc également de l'intensité lumineuse. Cependant, K est bornée entre sa limite à intensité lumineuse nulle ($\left(1 - \frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}}}\right)\left(\frac{\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\to CH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{CH\to TH}} + \varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\to CH}}}\right)$), et sa limite à intensité lumineuse infinie ($\left(1 - \frac{\varepsilon_{\mathbf{TH}}}{\varepsilon_{\mathbf{CH}}}\right)\left(\frac{\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\to CH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{CH\to TH}} + \varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH\to CH}}}\right)$). Ces deux limites ne sont pas très éloignées et K varie sur moins d'un ordre de grandeur quand I_0 varie des 0 à l'infini.

Conditions optimales pour maximiser R

On a donc vu ci-dessus que les conditions optimales pour maximiser la valeur de R sont :

- Une grande valeur de A_0 : dans la pratique, on choisit une valeur proche de 1 pour rester dans le domaine de linéarité de la loi de Beer-Lambert.
- Une valeur de l'intensité lumineuse I_0 adaptée pour que la somme des constantes de vitesse photochimiques et la constante de vitesse thermique restent du même ordre de grandeur. Dans la pratique, l'étude des constantes cinétiques photochimiques par la méthode de relaxation présentée dans la partie 4.1 de ce chapitre nous a aidé à choisir la valeur de I_0.

Évaluation de R dans les conditions optimales

L'approximation effectuée pour dériver l'équation 4.56 nécessite d'avoir un ordre de grandeur de la valeur de R. Ainsi, si l'on se place en conditions optimales, c'est-à-dire $x \to \infty$, $y = 1$ et en se mettant à une fréquence très inférieure à $\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}}$ (de sorte à avoir $\frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} \approx 1$), on aura $R_{\max} = \frac{K}{4}$:

$$R_{\max} = -\frac{1}{4}\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}} - \varepsilon_{\mathbf{TH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}} p^0_{\mathbf{TH}} + \varepsilon_{\mathbf{CH}} p^0_{\mathbf{CH}}} \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}} \tag{4.72}$$

Pour estimer $R_{\max}$, on néglige le coefficient d'absorption molaire de **CH** devant celui de **TH**, et l'absorbance de **CH** devant celle de **TH**. Les proportions relatives ($p^0_{\mathbf{TH}}$ et $p^0_{\mathbf{CH}}$) sont quant à elles calculables en utilisant $y = 1$.

Pour l'application numérique, prenons des ordres de grandeurs raisonnables pour $\varepsilon_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}(365)$ et $\varepsilon_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}(365)$ de l'ordre de 100 $\mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$ respectivement. On obtient alors comme valeur maximale pour R :

$$R_{\max} \approx 0.2$$

4.B Dérivation des données cinétiques du système dans l'UV à partir de J et $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$

À partir des valeurs de J et $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$ extraites de l'ajustement des données de la figure 4.15, il est possible de remonter aux grandeurs cinétiques intrinsèques au système au pH considéré. D'après l'annexe 4.A, la grandeur J vaut :

$$J = 2Kh(x)i(y) \tag{4.73}$$

On commence par tirer la valeur de $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}$ de $2Kh(x)i(y)$ en utilisant la valeur extraite de $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$. Pour cela on rappelle que (voir annexe 4.A) :

$$h(x) = \frac{1-e^{-x}(x+1)}{1-e^{-x}} \qquad x = 2.3A^0$$

$$i(y) = \frac{y}{(1+y)^2} \qquad y = \frac{k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{C\to T}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{T\to C}}}$$

$$K = -\frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}} - \varepsilon_{\mathbf{TH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}} p^0_{\mathbf{TH}} + \varepsilon_{\mathbf{CH}} p^0_{\mathbf{CH}}} \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{T\to C}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{C\to T}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{T\to C}}}$$

où $p^0_{\mathbf{TH}}$ et $p^0_{\mathbf{CH}}$ sont les proportions en **TH** et **CH**. De plus, on a

$$x = 2.3A^0 = 2.3c(\varepsilon_{\mathbf{TH}} p^0_{\mathbf{TH}} + \varepsilon_{\mathbf{CH}} p^0_{\mathbf{CH}})$$

Ne connaissant pas précisément la valeur de $\varepsilon_{\mathbf{CH}}$, on introduit comme dans la partie précédente le paramètre α tel que $\varepsilon_{\mathbf{CH}} - \varepsilon_{\mathbf{TH}} = -\alpha\,\varepsilon_{\mathbf{TH}}$, on obtient donc pour x :

$$\begin{aligned} x &= 2.3c\varepsilon_{\mathbf{TH}} \left[\frac{1}{1 + \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}} + \frac{1-\alpha}{1 + \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}}} \right] \\ &= 2.3A_0 \left[\frac{1}{1 + \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}} + \frac{1-\alpha}{1 + \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}}} \right] \end{aligned}$$

En faisant apparaître $\tau^0_{\mathbf{THCH}}$, on obtient finalement :

$$x = 2.3A_0 \left[\frac{1}{1 + \frac{\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} - k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}} + \frac{1-\alpha}{1 + \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} - k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}} \right] \tag{4.74}$$

Ensuite pour y on a :

$$y = \frac{k^{\Delta}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}} = \frac{k^{\Delta}}{\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} - k^{\Delta}} \tag{4.75}$$

Enfin pour K :

$$\begin{aligned} K &= -\frac{1}{2} \frac{\varepsilon_{\mathbf{CH}} - \varepsilon_{\mathbf{TH}}}{\varepsilon_{\mathbf{TH}} p^0_{\mathbf{TH}} + \varepsilon_{\mathbf{CH}} p^0_{\mathbf{CH}}} \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}} \\ &= \frac{1}{2} \frac{\alpha}{\frac{1}{1 + \frac{\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} - k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}} + \frac{1-\alpha}{1 + \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} - k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}}} \frac{k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}}{\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} - k^{\Delta}} \end{aligned} \tag{4.76}$$

Finalement, une fois connus $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ et $\tau^{0}_{\mathbf{THCH}}$, l'expression de $2Kh(x)i(y)$ est uniquement déterminée par $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$. L'inversion de la fonction afin de tirer $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ de la valeur obtenue de $2Kh(x)i(y)$ n'étant pas aisée, on procède de manière graphique. Ainsi, on trace la fonction $2Kh(x)i(y)$ en fonction de $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ et on détermine graphiquement pour quelle valeur de $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$, la fonction atteint la valeur de $2Kh(x)i(y) = 0.245$ déduite de l'ajustement des données de la figure 4.15. [r] Cette opération est présentée sur la figure 4.24 pour $\alpha = 0.7$. On note que la valeur de $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ utilisée est celle obtenue précédemment égale à 0.075 s^{-1} à pH=2.5.

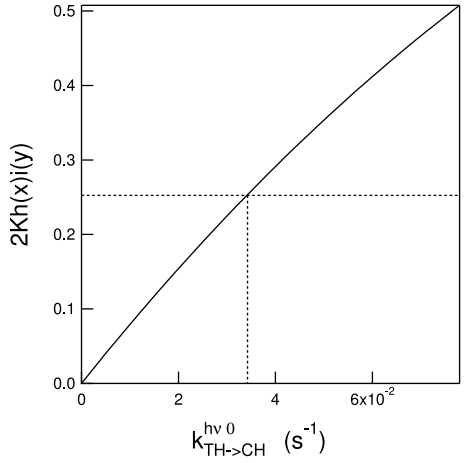


FIGURE 4.24 – *Graphe de la fonction $2Kh(x)i(y)$ en fonction de $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$. L'intersection avec la valeur de $2Kh(x)i(y)$ déterminée par ajustement des données de la figure 4.15 permet de déduire la valeur de $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ pour le système étudié (lignes pointillées).*

On obtient :

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}} = 3.4\ 10^{-2}\ s^{-1}$$

Enfin, la valeur de la constante photochimique $k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ est déduite de la valeur de $\tau^{0}_{\mathbf{THCH}}$ et de $k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$:

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}} = 1.1\ 10^{-2}\ s^{-1}$$

[r]. La fonction considérée est bijective.

4.C Électrophorèse capillaire : mise en évidence du point isobestique à 244 nm.

La figure 4.25 met en évidence le point isobestique à 244 nm et justifie que l'analyse par électrophorèse capillaire présentée figure 4.18 ait été réalisée à cette longueur d'onde où les espèces **T** et **C** absorbent de façon identique.

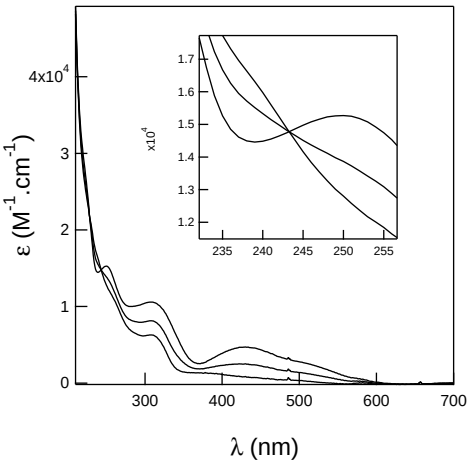


FIGURE 4.25 – *Spectre d'absorption d'une solution de* TH_2Cl_3 *(*$[TH_2Cl_3]$ *= 42 µM) dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) à pH = 11 et irradiée à 365 nm successivement pendant 0 s, 5 s et 10 s avec une puissance de 3* 10^{-7} *Ei.*s^{-1}*. T = 25 °C. L'encadré met en évidence le point isobestique à 244 nm.*

4.D Spectrophotomètre UV-Visible à barrette de diodes

Un spectrophotomètre à barrette de diodes permet une mesure quasi instantanée d'un spectre d'absorption UV-Visible.

Contrairement à un spectrophotomètre classique équipé d'un monochromateur qui sélectionne la longueur d'onde de la lumière traversant l'échantillon, le rayon incident d'un spectrophotomètre UV-Visible à barrette de diodes contient toutes les longueurs d'onde. Les longueurs d'onde qui ne sont pas absorbées par l'échantillon sont transmises vers le système de détection. Le faisceau transmis est dispersé par un réseau avant de venir frapper la barrette de diodes composée d'autant de détecteurs qu'il y a de longueurs d'onde (voir figure 4.26). La détection de l'absorbance se fait donc simultanément à toutes les longueurs d'onde. La vitesse d'acquisition est donc beaucoup plus grande qu'avec un spectrophotomètre classique qui mesure l'absorbance à une seule longueur d'onde avant que le monochromateur ne soit déplacé et l'absorbance à la longueur d'onde suivante évaluée.

Le spectrophotomètre UV-Visible à barrette de diodes à notre disposition possède en plus, une optique particulièrement bien collimatée, permettant d'enregistrer un spectre d'absorption sans placer l'échantillon dans une boite noire voire même en illuminant ce dernier.

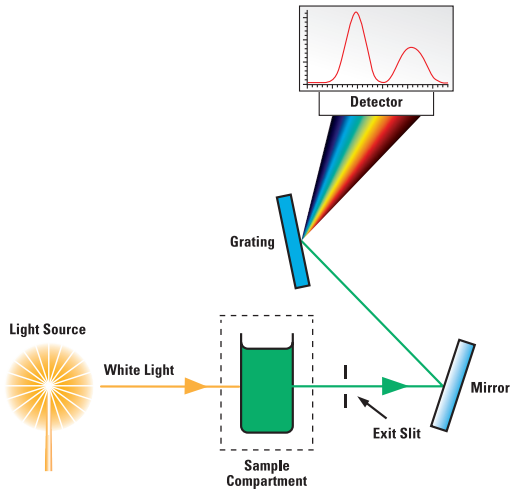


FIGURE 4.26 – Schéma de principe d'un spectrophotomètre UV-Visible à barrette de diodes.

Chapitre 5

Sauts et oscillations de pH photo-induits

Introduction

Dans les chapitres précédents, nous avons étudié les molécules de la série **$THXCl_3$**. Nous avons en particulier montré dans le chapitre 3 que, sous illumination, l'isomère trans de ces molécules évolue vers un isomère cis environ 1000 fois plus acide.

Dans ce chapitre, nous allons utiliser cette propriété remarquable pour induire des modifications globales du pH d'une solution sous illumination UV.

Pour cela, deux molécules de la série **$THXCl_3$** ont été sélectionnées :

• La molécule **TH_2Cl_3** car :
  – c'est la molécule dont les paramètres photochimiques ont été étudiés intégralement ;
  – la solubilité de la molécule dans le mélange eau / acétonitrile (1/1) est satisfaisante (jusqu'à environ 300 μM) alors que certains membres de la plateforme sont beaucoup moins solubles dans ce mélange (**$THBrCl_3$** par exemple) ;
  – la différence de pK_a entre les formes trans et cis est une des plus grandes observées (2.8 unités de pH) ;
  – le temps caractéristique de retour thermique à pH = 7 [a] est assez court (environ 1 min contre 10 min pour un composé comme **$THOMeCl_3$**) : les expériences peuvent ainsi être réalisées sur une durée caractéristique de quelques minutes à quelques heures ; [b]
  – la synthèse et la purification de la molécule sont faciles et rapides et les réactifs utilisés peu coûteux.

• La molécule **$THSO_3KCl_3$** car :
  – la solubilité de la molécule dans le mélange eau / acétonitrile (1/1) est très bonne (jusqu'à environ 500 μM) ; [c]
  – la différence de pK_a entre les stéréoisomères trans et cis peut être estimée à environ 2.4, ce qui

[a]. La valeur 7 est prise comme ordre de grandeur de la valeur moyenne du pH des expériences réalisées en milieu non tamponné. C'est donc à ce pH que la comparaison des temps de relaxation thermique a le plus de sens.

[b]. Des temps de manipulation trop longs peuvent être préjudiciables en particulier lors de l'utilisation de sondes fluorescentes qui peuvent se dégrader en cas d'excitation lumineuse prolongée.

[c]. La solubilité de la molécule **$THSO_3KCl_3$** dans l'eau (environ 300 μM) est largement plus élevée que celle de toutes les autres molécules de la plateforme **$THXCl_3$**, ce qui sera mis à profit dans le chapitre suivant.

reste élevé ;
– le temps caractéristique de relaxation thermique est court (il est estimé à quelques secondes à pH = 7). La molécule **$THSO_3KCl_3$** est ainsi choisie pour réaliser des variations de pH avec une dynamique rapide. Elle sera en particulier utilisée dans les expériences de modulation périodique du pH présentées dans la partie 5.3 ;

Ce chapitre évalue la capacité de chacune de ces deux molécules à modifier le pH global d'une solution sous illumination. Il se découpe en trois parties. Les deux premières mettent en évidence l'obtention de sauts de pH suivis par potentiométrie (partie 5.1) et par fluorimétrie (partie 5.2). La dernière partie montre qu'il est aussi possible de photo-générer des oscillations de pH (mises en évidence par fluorimétrie).

5.1 Sauts de pH : mesure potentiométrique

Dès lors que l'on imagine de fabriquer une petite molécule capable de faire varier le pH d'une solution seulement grâce à la lumière, pourquoi ne pas rêver d'une expérience presque « simpliste » dans laquelle on dissoudrait ladite molécule dans un petit bécher qu'on illuminerait avec une lampe UV de paillasse pour voir sur l'écran d'un pHmètre, le pH monter ou descendre selon que la lampe est allumée ou éteinte.

Dans cette partie, on démontre que les rêves deviennent parfois réalité...

5.1.1 Séquence d'illumination pour obtenir un saut de pH photo-induit

Un saut de pH photo-induit est une brusque variation du pH sous excitation lumineuse. Si le système est réversible, l'extinction de la source lumineuse entraîne le retour au pH initial. La figure 5.1 représente la variation de l'intensité lumineuse nécessaire à l'obtention d'un tel saut suivi d'une relaxation. Nous voyons que ce graphe se décompose en trois phases séparées par deux évènements :

– **Phase 1** : la lumière est initialement éteinte. Le système est à l'état d'équilibre thermique.
– **Allumage de la source lumineuse** : l'intensité lumineuse passe instantanément de la valeur 0 à la valeur I_0.
– **Phase 2** : l'échantillon est irradié de manière continue pendant une durée τ. Le système évolue jusqu'à atteindre un état photostationnaire (qu'il atteindra si la durée τ est suffisamment grande par rapport au temps caractéristique d'évolution du système sous I_0).
– **Extinction de la source lumineuse** : l'intensité lumineuse passe instantanément de la valeur I_0 à la valeur 0.
– **Phase 3** : privé de lumière, le système (s'il est réversible) relaxe vers l'état d'équilibre thermique initial.

5.1.2 Principe de la mesure potentiométrique

La première mise en évidence expérimentale de la variation du pH sous excitation lumineuse d'une solution de **TH_2Cl_3** dissoute dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) a été effectuée en utilisant

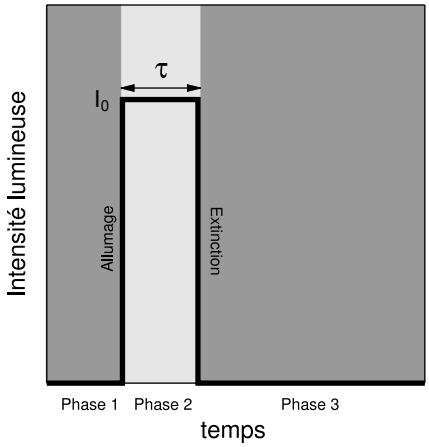


FIGURE 5.1 – *Représentation graphique de la variation temporelle de l'excitation lumineuse nécessaire à l'obtention d'un saut de pH suivi d'une relaxation.*

un simple pHmètre.

Le pHmètre utilisé est un pHM210 (Radiometer Analytical) relié d'une part à une électrode spécifique aux ions hydronium $\mathbf{H_3O^+}$ communément appelée « électrode de verre » et d'autre part à une électrode de référence. Dans la pratique, nous avons utilisé une électrode combinée qui contient à la fois une électrode de verre et une électrode de référence (Radiometer Analytical). Dans certains cas, une micro-électrode combinée a aussi été utilisée (pour mesurer le pH directement à l'intérieur d'une cuvette de fluorimétrie).

La variation du pH a été enregistrée en reliant le pHmètre au port série (COM) d'un PC et le traitement du signal a été réalisé avec le logiciel Igor Pro 6 (WaveMetrics, Lake Oswego, OR) équipé du module Data Logger téléchargeable depuis internet.[165]

5.1.3 Système d'éclairage

Un des intérêts de la mesure du pH avec un simple pHmètre est de pouvoir utiliser presque n'importe quel type de système d'éclairage à la condition de pouvoir introduire l'électrode combinée dans le récipient éclairé.

Plusieurs systèmes d'éclairage sont à notre disposition :

– la lampe à arc du fluorimètre (75 W Xénon LPS220 Photon Technology International) ;
– une diode UV (Nichia chip UV LED NCSU033A(T), 0–700 mA) ;
– une lampe à arc de forte puissance (Hamamatsu LC8 L9588 UV Lamp).

Le tableau 5.1 présente les caractéristiques propres à chacun de ces systèmes d'éclairage.

5.1.4 Résultats expérimentaux

Pour chaque expérience, une quantité connue de photo-acide est dissoute dans un mélange d'eau purifiée par un système Direct-Q 5 (Millipore, Billerica, MA) et d'acétonitrile (1/1). Cette solution est ensuite soumise à la série obscurité / lumière / obscurité décrite sur la figure 5.1

	Lampe à arc du fluorimètre	**diode UV**	**Lampe Hamamatsu**
Longueur d'onde (nm)	Modulable entre 200 et 800	365	365
Puissance lumineuse (Ei.s^{-1})	5 10^{-10}–5 10^{-7}	10^{-9}–3 10^{-7}	10^{-6}–10^{-5}
Illumination périodique possible	non	oui	non

TABLE 5.1 – *Comparaison des différents systèmes d'éclairage à notre disposition pour générer un saut de pH.*

Système à cinétique de relaxation thermique lente : TH_2Cl_3

Une solution d'un volume de 6 mL de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à la concentration de 220 μM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) est illuminée selon la séquence proposée sur la figure 5.1. Pratiquement, la solution a été placée dans un petit bécher de 25 mL (et de diamètre 6 cm) qui a été irradié par la lampe Hamamatsu avec une intensité lumineuse de $I_0 = 1.2\ 10^{-5}$ Ei.s^{-1} pendant une durée $\tau = 30$ s. La solution est dégazée en continu par barbotage de diazote pour se débarrasser du dioxyde de carbone dissous qui peut tamponner le milieu et donc niveler l'amplitude du saut de pH. [d]

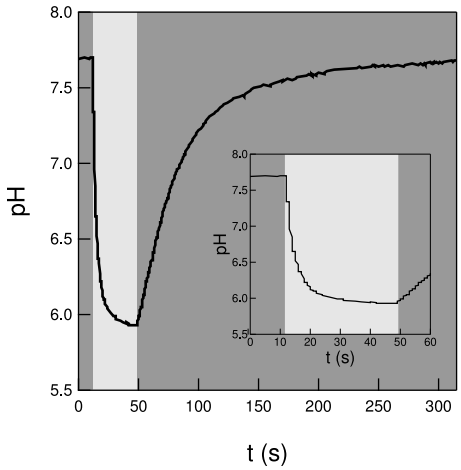


FIGURE 5.2 – *Évolution du pH mesuré à l'aide d'un pHmètre et d'une électrode combinée plongeant dans une solution de 6 mL de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à la concentration de 220 µM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La solution est soumise à un pulse lumineux à 365 nm d'une durée de $\tau = 30$ s et d'une puissance de $I_0 = 1.2\ 10^{-5}$ Ei.s^{-1}. La solution est dégazée en continu par barbotage de diazote. T = 25 °C. La zone claire indique la durée pendant laquelle l'excitation à 365 nm a lieu. La zone foncée signale les durées pendant lesquelles l'échantillon n'est pas illuminé. L'encadré montre un zoom sur les 60 premières secondes.*

La variation du pH obtenue est représentée figure 5.2. Dans ces conditions, nous obtenons un saut de pH d'une amplitude de près de 2 unités. Ce saut peut être divisé en trois phases :

– **Phase 1** : le pH est stable puisque l'échantillon n'est pas illuminé. Seul l'isomère trans de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ est présent en solution.

– **Allumage de la lampe**

[d]. On rappelle que le dioxyde de carbone $\mathbf{CO_2}$ est un diacide faible présentant deux couples acide-base : le couple $\mathbf{H_2CO_3/HCO_3^-}$ de pK_a égal à 6.3 dans l'eau et le couple $\mathbf{HCO_3^-/CO_3^{2-}}$ de pK_a égal à 10.3 dans l'eau.[166] Une étude de l'influence du $\mathbf{CO_2}$ dissous sera réalisée au paragraphe 5.A.

– **Phase 2** : le pH diminue et tend vers un plateau (clairement visible sur le zoom). L'illumination à 365 nm provoque l'isomérisation trans→cis. L'isomère cis est plus acide que le trans : la quantité de protons présents dans le milieu augmente et finit par se stabiliser. Le système est alors à l'état photostationnaire.
– **Extinction de la lampe**
– **Phase 3** : le pH remonte et tend vers un plateau correspondant au pH initial. Privé de lumière, le système relaxe thermiquement. L'isomère cis est re-transformé en isomère trans moins acide puis finit par disparaître complètement. Le système est revenu à l'état d'équilibre thermique.

La variation du pH observé dans la figure 5.2 met en évidence deux temps caractéristiques : [e]
– le temps caractéristique de variation du pH lors de la phase 2 : on parle de « temps de descente » ;
– le temps caractéristique de variation du pH lors de la phase 3 : on parle de « temps de remontée ».

Ces deux temps ont été comparés avec ceux que l'on peut dériver à l'aide des ordres de grandeurs des paramètres cinétiques déterminés dans les chapitres précédents. [f]

Temps de remontée : estimé à environ 40 s sur la figure 5.2.
Ce temps est lié au temps caractéristique de la réaction de relaxation thermique cis→trans au pH considéré. En considérant un pH moyen de 6.7, [g] la figure 3.11 nous indique que la constante de vitesse du processus de retour thermique ($k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$(pH = 6.7)) est de l'ordre de 1.5 min^{-1} (soit 2.5 10^{-2} s^{-1}). Le temps caractéristique du processus de retour thermique est donc de l'ordre de 45 s, en bon accord avec le temps caractéristique de remontée du pH observé sur la figure 5.2.

Temps de descente : estimé à environ 3 s sur la figure 5.2.
Ce temps est lié au temps caractéristique de variation de la concentration des espèces moyenne $\overline{\mathbf{T}}$ et $\overline{\mathbf{C}}$. [h] Les équations 3.28 et 3.29 montrent que ce temps est l'inverse de la somme des constantes de vitesse thermiques et photochimiques : $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$. En considérant un pH moyen de 6.7 comme précédemment, les équations 4.17 et 4.18 permettent d'obtenir des estimations des sections efficaces pour les processus photochimiques à partir des valeurs de $\text{p}K_{\text{a}\,\mathbf{TH/T}}$, $\text{p}K_{\text{a}\,\mathbf{CH/C}}$, $\varepsilon_{\mathbf{TH}}\,\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}$,

[e]. Ces temps caractéristiques sont évalués comme le temps au bout duquel l'amplitude du phénomène observé a atteint environ 65 % de son amplitude maximale.

[f]. Nous commençons systématiquement par étudier le temps de remontée dont l'ordre de grandeur est plus facile à dériver à partir des paramètres cinétiques connus.

[g]. Nous avons fait le choix de dériver des ordres de grandeurs des temps caractéristiques uniquement à une valeur moyenne du pH. Cette démarche, qui peut sembler peu rigoureuse, est justifiée par la dépendance des constantes de vitesse avec le pH. Dans notre exemple, la constante de vitesse du processus cis→trans évolue pendant la remontée puisque le pH varie dans une zone proche de la valeur de $\text{p}K_{\text{a}\,\mathbf{CH/C}}$ (on ne peut d'ailleurs pas ajuster correctement les données avec une fonction exponentielle comme on l'a fait à pH fixé dans la figure 3.10).

[h]. Cela est vrai seulement si les réactions acido-basiques et le temps de réponse de l'électrode de verre sont rapides à l'échelle du temps d'évolution des concentrations en $\overline{\mathbf{T}}$ et $\overline{\mathbf{C}}$. Dans la partie 4.1.7, on a montré que les temps caractéristiques de relaxation associés au processus des espèces trans et cis par le proton sont inférieurs au dixième seconde ce qui est inférieur au temps caractéristique de descente estimé. Par contre, le temps de réponse de l'électrode de verre est estimé à quelques secondes par le constructeur, qui est donc du même ordre de grandeur que le temps de descente. L'exploitation de ce temps de descente mesuré par une électrode de verre doit donc être faite avec précaution.

$\varepsilon_{\mathbf{T}}\phi_{\mathbf{T}\to\mathbf{C}}$, $\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{C}}\phi_{\mathbf{C}\to\mathbf{T}}$:

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}\phi_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}}(\text{pH} = 6.7, \lambda_{\text{E}} = 365 \text{ nm}) = 290 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}\phi_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}(\text{pH} = 6.7, \lambda_{\text{E}} = 365 \text{ nm}) = 190 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

En utilisant ensuite les équations 3.19 à 3.22 et en estimant que l'absorbance moyenne à 365 nm est environ la moitié de l'absorbance totale de la solution (≈ 1.8, déterminée avec la loi de Beer-Lambert), on obtient :

$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}} \approx 3\ 10^{-1}\ \text{s}^{-1}$$
$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}} \approx 2\ 10^{-1}\ \text{s}^{-1}$$

La somme des constantes de vitesses thermiques et photochimiques $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\to\overline{\mathbf{C}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\to\overline{\mathbf{T}}}$ vaut donc approximativement $3\ 10^{-1} + 2\ 10^{-1} + 2.5\ 10^{-2} = 5.25\ 10^{-1}\ \text{s}^{-1}$ soit un temps caractéristique de 2 s. Même si les approximations opérées pour dériver cette valeur sont nombreuses, le temps caractéristique obtenu est en bon accord avec celui estimé sur la figure 5.2.

Amplitude du saut de pH

Il est possible de comparer le pH dans l'obscurité et à l'état photostationnaire obtenus expérimentalement avec les valeurs dérivées du modèle présenté dans la partie 2.2.

La valeur du pH initial observé expérimentalement (7.7) est très différente de celle dérivée de l'équation 2.11 (6.5). De même, la valeur du pH à l'état photostationnaire (5.9) est éloignée de la valeur tirée de l'équation 2.10 (5.3). [i] Le ΔpH obtenu est donc de 1.8 alors que celui qui est estimé par le modèle théorique est à 1.3.

Pour justifier que la solution est globalement moins acide que ce que prévoit la théorie et que le saut de pH est plus élevé que ce qui peut être anticipé, nous pouvons supposer que :

- des impuretés basiques sont présentes dans le milieu ;
- le modèle mis en place dans la partie 2.2 n'est pas satisfaisant. En particulier, ce modèle considère que **CH** seul fixe le pH et néglige donc le rôle de toutes les autres formes de $\mathbf{TH_2Cl_3}$. De plus, les réactions acide-base mettant en jeu les éventuelles impuretés basiques ne sont pas prises en compte.

Il n'a pas été possible de détecter et encore moins d'identifier les impuretés basiques éventuellement présentes. Seule une étude numérique a été réalisée pour tenter d'identifier ces espèces et d'estimer leurs concentrations. Cette étude est présentée en détail dans la partie 5.2.7

Système à cinétique de relaxation thermique rapide : $\mathbf{THSO_3KCl_3}$

La même expérience de saut de pH a été réalisée en remplaçant la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ par la molécule $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ dont le retour thermique est plus rapide. Une solution d'un volume de 6 mL de $\mathbf{THS_3KCl_3}$ à la concentration de 330 μM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) a donc été illuminée selon la séquence proposée sur la figure 5.1 avec une intensité de $1.2\ 10^{-5}$ Ei.s^{-1}. La solution est dégazée en continu par barbotage de diazote.

[i]. Pour obtenir cette valeur à partir de l'équation 2.10, on a fait l'hypothèse qu'à pH 5.9, tous les isomères cis sont sous forme **CH**. On est donc ramené à un système à deux état : **TH** (qui fixe le pH à l'obscurité) et **CH** (qui fixe le pH sous illumination). De plus, on a réutilisé les paramètres cinétiques dérivés ci-dessus à la valeur moyenne du pH (6.7).

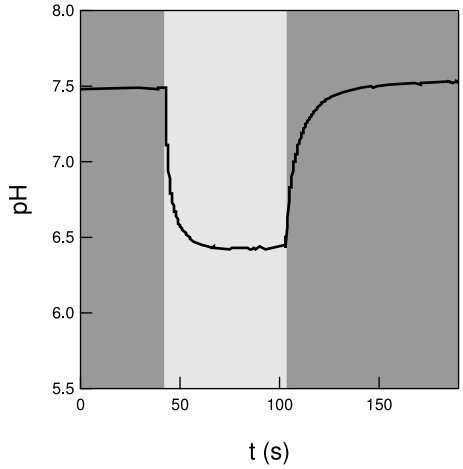


FIGURE 5.3 – *Évolution du pH mesuré à l'aide d'un pHmètre et d'une électrode combinée plongeant dans une solution de 6 mL de* $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ *à la concentration de 330 µM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La solution est soumise à un pulse lumineux de 50 s à la longueur d'onde de 365 nm et d'une puissance de* $1.2\ 10^{-5}$ *Ei.s*$^{-1}$*. La solution a été dégazée en continu par barbotage de diazote. T = 25 °C. La zone claire indique la durée pendant laquelle l'excitation à 365 nm a lieu. La zone foncée signale les durées pendant lesquelles l'échantillon n'est pas illuminé.*

La figure 5.3 met ici encore en évidence un saut de pH. Les temps caractéristiques de montée et de descente sont cependant différents de ceux obtenus avec $\mathbf{TH_2Cl_3}$. Comme précédemment, on peut comparer ces temps avec ceux dérivés des paramètres cinétiques connus.

Temps de remontée : estimé à environ 7 s sur la figure 5.3.
La constante cinétique du retour thermique cis→trans est évaluée à la valeur moyenne du pH mesurée à 7. La valeur de la constante thermique $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ peut être extrapolée à l'aide de l'équation 3.34 obtenue dans le paragraphe 3.3.4 :

$$\log k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}} = 0.66 + 3.76\,\sigma_{\mathrm{p}} \quad \text{où la constante de vitesse est exprimée en min}^{-1}.$$

On trouve alors $k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}} = 2\ \mathrm{s}^{-1}$. La valeur de $k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ est considérée nulle (voir tableau 3.5). Ainsi, de l'équation 3.16 (en estimant $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$ à 6.0, *cf.* figure 3.13 **b**), on peut déduire la valeur de la constante cinétique du retour thermique cis→trans à pH = 7 qui vaut environ $2\ 10^{-1}\ \mathrm{s}^{-1}$. Le temps caractéristique associé est donc d'environ 6 s ce qui est en bon accord avec le temps caractéristique de remontée du pH observé sur la figure 5.3.

Temps de descente : estimé à environ 2 s sur la figure 5.3.
La détermination des paramètres photochimiques de $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ n'ayant pas été effectuée, on prend comme ordre de grandeur de ces paramètres les valeurs trouvées pour $\mathbf{TH_2Cl_3}$ en supposant que la variation du substituant en position para du noyau aniline a peu d'influence sur ces paramètres. On a donc :

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\mathrm{pH} = 7, \lambda_{\mathrm{E}} = 365\ \mathrm{nm}) = 290\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}\phi_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}(\mathrm{pH} = 7, \lambda_{\mathrm{E}} = 365\ \mathrm{nm}) = 230\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

En considérant une absorbance moyenne de 3.5, on en déduit :

$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} \approx 2\ 10^{-1}\ \mathrm{s}^{-1}$$

$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} \approx 1\ 10^{-1}\ \mathrm{s}^{-1}$$

La somme des constantes de vitesses thermiques et photochimiques $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ vaut alors approximativement $2\ 10^{-1} + 1\ 10^{-1} + 2\ 10^{-1} = 5\ 10^{-1}\ \mathrm{s}^{-1}$ soit un temps caractéristique de 2 s. Ce temps est en accord avec le temps caractéristique mesuré expérimentalement sur la figure 5.3.

Amplitude du saut de pH

Ici encore les valeurs du pH initial et du pH à l'état photostationnaire déterminées expérimentalement (7.5 et 6.4 respectivement) sont très différentes de celles dérivées des l'équations 2.11 et 2.10 (6.2 et 4.9 respectivement). Comme pour $\mathbf{TH_2Cl_3}$ la présence d'impuretés basiques est suspectée.

5.1.5 Avantages et limitations de la technique

Grâce au suivi potentiométrique du pH de la solution, on a réussi à mettre en évidence pour la première fois une variation du pH induite par la lumière avec des molécules de la plateforme 2-hydroxyazobenzène. Des sauts de pH avec deux régimes de relaxation thermique différents ont ainsi pu être facilement réalisés. Le principal avantage de la mesure potentiométrique réside donc dans la simplicité de sa mise en pratique : [j]

- la lecture et l'enregistrement du pH sont simples et immédiats ;
- l'utilisation de tout type de contenant permet de dégazer aisément la solution par un barbotage continu de diazote ;
- n'importe quel type de lampe UV peut être employé. En particulier, des lampes de forte puissance (qui sont nécessairement encombrantes) peuvent permettre d'obtenir de forts sauts de pH, même pour des grands volumes irradiés.

Cependant cette méthode présente aussi plusieurs inconvénients :

- les systèmes étudiés doivent nécessairement être d'une dimension caractéristique au moins aussi importante que celle de l'électrode de mesure. La résolution spatiale d'une telle mesure est donc faible ;
- le temps de réponse d'une électrode de verre est de l'ordre de la seconde : la résolution temporelle de la mesure est donc médiocre en dessous de quelques secondes ;
- l'utilisation d'une sonde physique a un caractère invasif qui peut perturber le système d'étude (en particulier dans les systèmes biologiques).

Compte tenu de ces inconvénients, nous allons montrer dans la partie suivante qu'une méthode optique de mesure du pH est aussi envisageable et qu'elle peut pallier certains défauts inhérents à l'utilisation d'un pHmètre.

[j]. Notons qu'une telle méthode, si simple et par la même si démonstrative n'a cependant que peu été mise à profit dans la littérature pour quantifier des sauts de pH photo-induits. [85]

5.2 Saut de pH : mesure fluorimétrique

Les inconvénients cités ci-dessus sont du même ordre que ceux évoqués dans l'introduction générale pour justifier l'intérêt des molécules photosensibles au regard des modifications mécaniques de la concentration d'un analyte.

En s'inspirant de cette comparaison, nous avons donc utilisé une méthode fluorimétrique pour mettre en évidence les sauts de pH présentés dans la première partie de ce chapitre.

5.2.1 Les sondes de pH fluorescentes

La méthode fluorimétrique de détermination du pH est basée sur l'utilisation d'un rapporteur de pH fluorescent (on parle aussi de sonde de pH fluorescente) dont l'intensité de fluorescence varie en fonction du pH.

Un rapporteur de pH fluorescent est un acide ou une base dont les formes acide et basique ne présentent pas la même émission de fluorescence. La littérature compte un très grand nombre de ces molécules [151,167–169] et la figure 5.4 en donne quelques exemples parmi les plus utilisés en chimie [151] et en biochimie. [169]

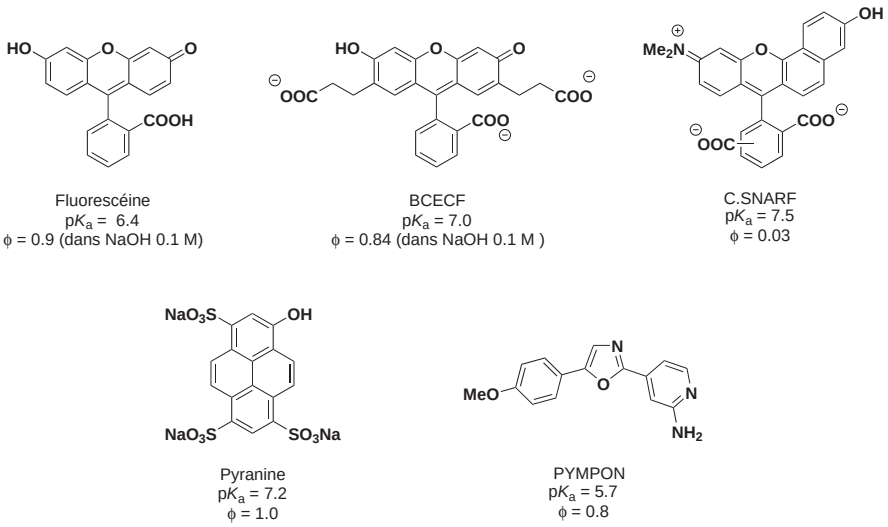


FIGURE 5.4 – *Exemples de sondes de pH fluorescentes. Les valeurs de pK_a et des rendements quantiques sont donnés dans l'eau (à 25 °C et en solution diluée). BCECF : 2',7'-Bis-(2-carboxyéthyl)-5,6-carboxyfluorescéine ; SNARF = semi-naphtofluorescéine ; PYMPON = 2-(4-(2-aminopyridyl))-5-(4-méthyoxyphényl)oxazole.* [151,169–171]

En notant **FH** et **F** les formes acide et basique du rapporteur et $pK_{a\,\mathbf{FH/F}}$ le pK_a du couple associé, on a :

$$\mathrm{pH} = pK_{a\,\mathbf{FH/F}} + \log\frac{[\mathbf{F}]}{[\mathbf{FH}]} = pK_{a\,\mathbf{FH/F}} + \log\frac{I_F - I_{\mathbf{FH}}}{I_{\mathbf{F}} - I_F} \tag{5.1}$$

où I_F est l'intensité de fluorescence à une longueur d'onde donnée et $I_{\mathbf{FH}}$ et $I_{\mathbf{F}}$ sont les intensités de fluorescence à la même longueur d'onde quand l'indicateur est entièrement sous forme acide et entièrement sous forme basique respectivement. La mesure de l'intensité de fluorescence I donne donc accès au pH.

Cependant, l'équation 5.1 montre que la zone de pH que peut sonder un rapporteur fluorescent donné n'est pas infiniment large. Elle est globalement limitée à un segment délimité par $pK_{a\,\mathbf{FH/F}} - 1$ et $pK_{a\,\mathbf{FH/F}} + 1$.

Muni d'une telle molécule, on peut suivre la variation du pH provoquée par un photo-acide. La lumière est alors utilisée à la fois pour exciter le photo-acide provoquant ainsi la variation du pH de la solution mais aussi pour mesurer cette variation.

Devant le nombre très important de rapporteurs de pH fluorescents disponibles, il est nécessaire d'établir un cahier des charges pour choisir le rapporteur de pH fluorescent le mieux adapté à l'étude des variations de pH photoinduites par les molécules $\mathbf{TH_2Cl_3}$ ou $\mathbf{THSO_3KCl_3}$.

i. La sonde doit être soluble dans le mélange eau / acétonitrile (1/1).

ii. Elle doit absorber dans une gamme de longueurs d'onde où le photo-acide n'absorbe pas. On peut ainsi mesurer le pH sans exciter le photo-acide (et donc sans faire varier le pH). Cela permet, par exemple, de mesurer le pH initial de la solution (avant excitation dans l'UV) ou encore de suivre la variation du pH lors du retour thermique (après l'extinction de la lampe UV).

iii. Elle doit fluorescer à une longueur d'onde largement supérieure à la longueur d'onde de la lampe excitatrice (365 nm) de sorte à enregistrer son intensité de fluorescence sans être perturbée par la forte excitation dans l'UV.

iv. Elle doit avoir un rendement quantique de fluorescence aussi grand que possible. Cela permet de l'introduire en petite quantité. Cette condition est essentielle puisque comme précisé plus haut, la sonde fluorescente de pH est elle-même une espèce acido-basique. Si elle est introduite en trop grande quantité, elle peut interférer avec le photo-acide que l'on souhaite étudier (elle va tamponner le milieu).

v. Elle doit être capable de sonder le pH dans la gamme de pH d'intérêt. Son pK_a doit être choisi proche du pH moyen de la variation de pH que l'on souhaite mesurer.

5.2.2 Choix d'un rapporteur de pH fluorescent : la fluorescéine

L'une des sondes fluorescentes de pH les plus utilisées est la fluorescéine. Découverte en 1871 par Baeyer, c'est un dérivé du xanthène qui existe sous différents états de protonation. La figure 5.5 présente les équilibres acido-basiques mis en jeu entre ces différents états et les valeurs associées des constantes d'acidité (dans l'eau).

La figure 5.6 montre l'évolution des spectres d'absorption et de fluorescence d'une solution de fluorescéine dans un milieu eau / acétonitrile (1/1) quand le pH passe de 5.5 à 9.3. On observe que la bande d'absorption vers 500 nm (λ_{max} d'absorption = 495 nm) croît quand le pH augmente. Il en est de même pour l'intensité de fluorescence vers 520 nm (λ_{max} d'émission = 517 nm).

À partir de ces spectres on a déterminé la constante de l'équilibre entre l'état mono-anionique (noté **FH**) et l'état di-anionique (noté **F**). [k] Le pK_a associé vaut :

$$pk_{a\,\mathbf{FH/F}} = 7.6 \pm 0.1$$

[k]. Les autres pK_a ne se situant pas dans la gamme de pH qui nous intéresse n'ont pas été explorés.

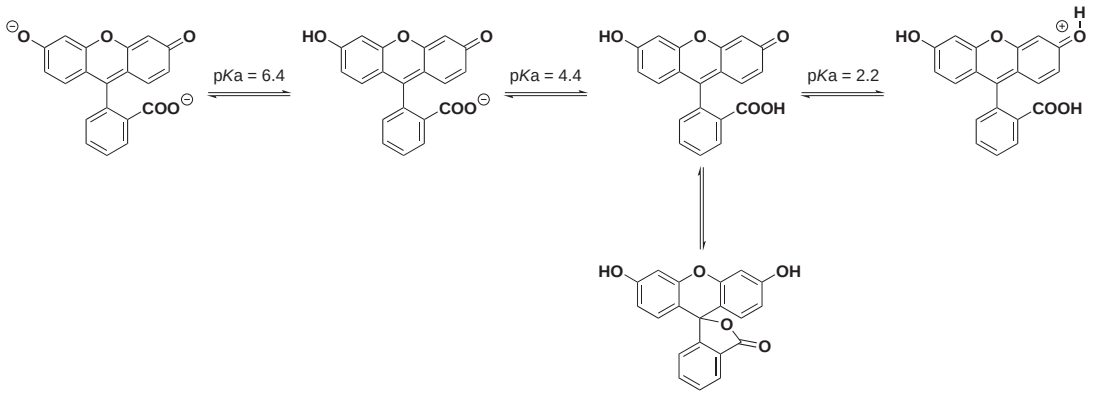


FIGURE 5.5 – *Les différentes formes acido-basiques de la fluorescéine. Les pK_a des équilibres acido-basiques sont donnés dans l'eau.*[151]

La fluorescéine est ainsi une sonde de pH adaptée qui suit le cahier des charges établi plus haut :

i. Elle est soluble dans un mélange eau / acétonitrile (1/1).

ii. Elle absorbe peu vers 350 nm et beaucoup vers 500 nm.

iii. Elle fluoresce à longueur d'onde élevée (λ_{max} = 517 nm), soit largement au dessus de la longueur d'onde de l'excitation UV (365 nm).

iv. Elle a un rendement quantique de fluorescence élevé (environ 0.9 à 500 nm dans une solution de soude 0.1 M).[170]

v. Elle a un pK_a (7.6) adapté à l'étude des variations de pH induites par les molécules $\mathbf{TH_2Cl_3}$ et $\mathbf{THSO_3KCl_3}$. En effet, l'étude potentiométrique des sauts de pH montre que le pH varie dans la gamme 5–8, dans laquelle la variation de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine est forte (*cf.* voir figure 5.6).

vi. Elle est, de plus, commerciale, très bon marché et peu toxique.

5.2.3 Nécessité d'un autre rapporteur fluorescent insensible au pH : la rhodamine B

On a vu dans le paragraphe 4.1.2 que la variation de l'absorbance de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ lors de l'isomérisation trans → cis induit une modification de l'effet de filtre interne : la lumière UV traversant l'échantillon est de moins en moins absorbée au fur et à mesure que les molécules de configuration trans sont transformées en molécules cis. [l]

Ainsi, pour faire un suivi temporel du pH d'une solution de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ illuminée à 365 nm, il n'est pas possible d'utiliser uniquement la fluorescéine comme rapporteur de pH. En effet la variation du signal de fluorescence est une composition de deux contributions :

– la variation de la quantité de protons présents dans la solution ;

– la modification de l'absorbance de la solution à 365 nm.

[l]. On rappelle que cet effet a d'ailleurs été utilisé pour déterminer les paramètres cinétiques des réactions photochimiques de la plateforme en suivant la variation de l'intensité de fluorescence de la rhodamine B.

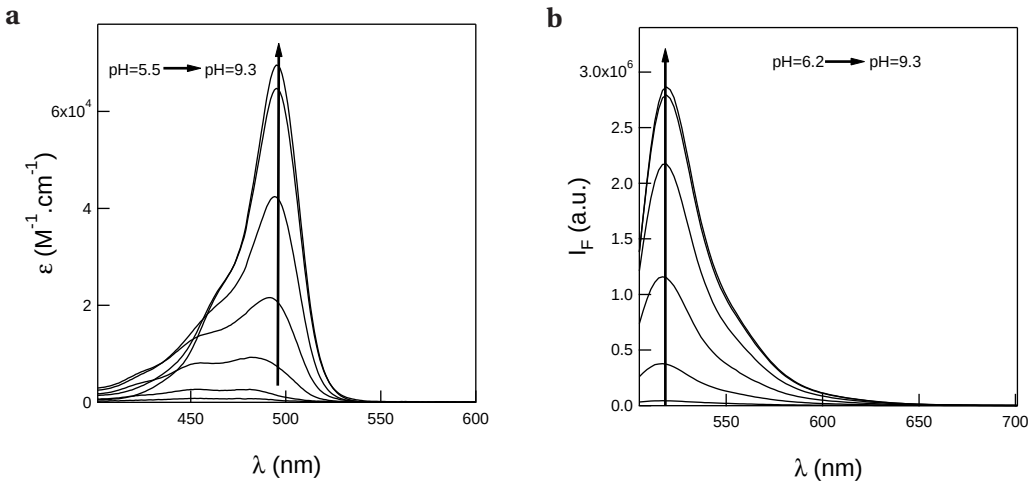


FIGURE 5.6 – ***a*** *Évolution du spectre d'absorption d'une solution de fluorescéine à 10 µM en fonction du pH. pH = 5.5, 6.2, 6.9, 7.3, 7.8, 8.5, 9.3.* ***b*** *Évolution du spectre de fluorescence de la même solution excitée à 500 nm en fonction du pH. pH = 6.2, 6.9, 7.3, 7.8, 8.5, 9.3. – Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

Il est donc nécessaire de rajouter à la solution un autre indicateur fluorescent dont le suivi de l'intensité de fluorescence nous renseigne uniquement sur la variation de l'intensité lumineuse au sein de la solution due à la modification de l'absorbance lors de l'isomérisation. Cet indicateur doit donc respecter un cahier des charges proche de celui établi pour la fluorescéine :

i. Être soluble dans le mélange eau / acétonitrile (1/1).

ii. Absorber dans une gamme de longueurs d'onde où le photo-acide n'absorbe pas.

iii. Fluorescer à une longueur d'onde largement supérieure à la longueur d'onde de la lampe excitatrice (365 nm) mais aussi fluorescer à une longueur d'onde différente de la fluorescéine pour pouvoir acquérir les intensités de fluorescence des deux fluorophores sans changer d'échantillon.

iv. Avoir un rendement quantique de fluorescence aussi grand que possible. Cela nous permettra de l'introduire en petite quantité. [m]

v. Ne pas être sensible au pH dans la gamme considérée.

La molécule choisie est la rhodamine B déjà utilisée précédemment (*cf.* paragraphe 4.1.2). Elle répond en effet au cahier des charges pré-cité :

i. Elle est soluble dans le mélange eau / acétonitrile (1/1).

ii. Elle absorbe surtout autour de 550 nm et peu autour de 350 nm (voir figure 4.2 **a**).

iii. Elle émet principalement autour de 570 nm et peu vers 350 nm (voir figure 4.2 **b**).

iv. Elle a un rendement quantique généralement élevé (70 % dans l'éthanol à 25 °C).[150]

[m]. Cette condition est moins stricte que dans le cas du rapporteur de pH qui, introduit en trop grande quantité peut niveler la variation de pH photo-induite. En effet, le rapporteur de l'intensité lumineuse n'est logiquement pas prototrope au pH d'étude (voir dernier point du cahier des charges). Cependant pour simplifier l'exploitation des résultats, son absorbance doit être petite devant 1 et on doit en conséquence l'introduire en petite quantité.

v. Son intensité de fluorescence est peu sensible au pH. La figure 5.7 montre la variation du spectre de fluorescence de la rhodamine B dans un mélange acétonitrile / eau (1/1) à différents pH. En comparant les figures 5.6 **b** et 5.7, on mesure que l'intensité de fluorescence de la fluorescéine à λ_{max} = 517 nm est multipliée d'un facteur 70 entre pH = 6.2 et pH = 9.3 alors que l'intensité de fluorescence de rhodamine B à λ_{max} = 574 nm est quasiment inchangée entre pH = 6.5 et pH = 9.6.

La rhodamine B semble donc particulièrement adaptée à la mesure de la variation de l'absorbance de la solution à 365 nm. [n] On montre dans le paragraphe suivant que le rapport des intensités de fluorescence de la fluorescéine et de la rhodamine B donne accès au pH du milieu.

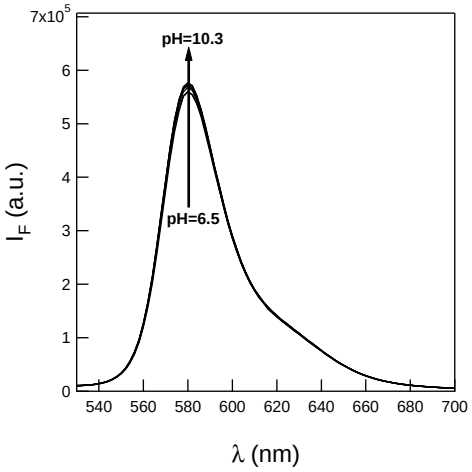


FIGURE 5.7 – *Évolution du spectre de fluorescence d'une solution de rhodamine B à 10 µM excitée à 500 nm en fonction du pH. pH = 6.5, 7.2, 8.0, 8.7, 9.0, 9.6. – Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1). T = 25 °C.*

5.2.4 Relation entre le rapport des intensités de fluorescence de la fluorescéine et de la rhodamine B et le pH du milieu

On considère une solution contenant le photo-acide et les deux rapporteurs fluorescents :

– la fluorescéine (notée **FH** ou **F** selon l'état de protonation) ;

– la rhodamine B (notée **Rh**).

D'après l'équation 4.5, l'intensité de fluorescence de la rhodamine B ($I_{\mathbf{Rh}}$) excitée à la longueur d'onde d'excitation λ_E et enregistrée à la longueur d'onde d'émission $\lambda_{\mathbf{Rh}}$ est donnée par :

$$I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}}) = k_{\mathbf{Rh}}\, F_\lambda(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}}) \left(1 - \exp(-2.3\, A_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E))\right) I_0(\lambda_E) \frac{1 - \exp(-2.3\, A_{tot}(\lambda_E))}{2.3\, A_{tot}(\lambda_E)} \qquad (5.2)$$

– le facteur de proportionnalité $k_{\mathbf{Rh}}$ dépend de plusieurs paramètres dont l'angle solide à travers lequel l'appareil collecte la fluorescence, la bande passante des monochromateurs ou la sensibilité de l'appareil ;

[n]. Notons cependant que l'intensité de fluorescence de la rhodamine B est fortement dépendante de la température (environ 2 % par Kelvin).[172] Il est donc nécessaire de thermostater l'échantillon efficacement.

– $F(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})$ est l'intensité de fluorescence par photon absorbé à la longueur d'onde choisie de fluorescence de la rhodamine B.

L'absorbance de la rhodamine B étant faible à la longueur d'onde d'excitation (365 nm) et la molécule étant introduite en petite quantité, on peut développer l'expression 5.2 au premier ordre pour obtenir :

$$I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}}) = 2.3\, k_{\mathbf{Rh}}\, F_\lambda(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})\, A_{\mathbf{Rh}}\, I_0(\lambda_E) \frac{1-\exp(-2.3\, A_{\text{tot}}(\lambda_E))}{2.3\, A_{\text{tot}}(\lambda_E)} \tag{5.3}$$

qui peut se ré-écrire sous la forme :

$$I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}}) = 2.3\, k_{\mathbf{Rh}}\, Q_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})\, [\mathbf{Rh}]\, I_0(\lambda_E) \frac{1-\exp(-2.3\, A_{\text{tot}}(\lambda_E))}{2.3\, A_{\text{tot}}(\lambda_E)} \tag{5.4}$$

où $Q_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})$ désigne la brillance de la rhodamine B à la longueur d'onde $\lambda_{\mathbf{Rh}}$ et $[\mathbf{Rh}]$ est la concentration en rhodamine B.

De même, pour la fluorescéine, on peut écrire l'expression de l'intensité de fluorescence à la longueur d'onde $\lambda_{\mathbf{F}}$ en fonction des concentrations en forme **FH** (de brillance $Q_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})$ à la longueur d'onde $\lambda_{\mathbf{F}}$) et en forme **F** (de brillance $Q_{\mathbf{F}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})$ à la longueur d'onde $\lambda_{\mathbf{F}}$) : [o]

$$I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}}) = 2.3\, k_{\mathbf{F}}\, (Q_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})\, [\mathbf{FH}] + Q_{\mathbf{F}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})\, [\mathbf{F}])\, I_0(\lambda_E) \frac{1-\exp(-2.3\, A_{\text{tot}}(\lambda_E))}{2.3\, A_{\text{tot}}(\lambda_E)} \tag{5.5}$$

Le rapport des intensités de fluorescence aux deux longueurs d'onde donne alors :

$$\frac{I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})}{I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})} = \frac{k_{\mathbf{F}}}{k_{\mathbf{Rh}}} \frac{Q_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})\, [\mathbf{FH}] + Q_{\mathbf{F}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})\, [\mathbf{F}]}{Q_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})\, [\mathbf{Rh}]} \tag{5.6}$$

En notant $c_{\mathbf{FH}}$ la concentration totale en fluorescéine on a :

$$[\mathbf{FH}] = c_{\mathbf{FH}} \frac{[\mathbf{H}^+]}{[\mathbf{H}^+] + K_{\text{a}\mathbf{FH/F}}} \qquad [\mathbf{F}] = c_{\mathbf{FH}} \frac{K_{\text{a}\mathbf{FH/F}}}{[\mathbf{H}^+] + K_{\text{a}\mathbf{FH/F}}} \tag{5.7}$$

Ce qui donne alors :

$$\frac{I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})}{I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})} = \zeta \left(\frac{[\mathbf{H}^+]}{[\mathbf{H}^+] + K_{\text{a}\mathbf{FH/F}}} + Q \frac{[\mathbf{H}^+]_{\mathbf{FH}}}{[\mathbf{H}^+] + K_{\text{a}\mathbf{FH/F}}} \right) \tag{5.8}$$

où $Q = Q_{\mathbf{F}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}}) / Q_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}})$ et ζ est une constante qui ne dépend que des conditions expérimentales et non de la concentration en protons. Il ne reste plus qu'à inverser l'expression 5.8 pour obtenir le pH en fonction du rapport $I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}}) / I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})$:

$$\text{pH} = \text{p}K_{\text{a}\mathbf{FH/F}} - \log \frac{\zeta Q - I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}}) / I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})}{I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}}) / I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}}) - \zeta} \tag{5.9}$$

Les grandeurs ζ et Q sont déterminées par calibration à pH fixé en milieu tamponné. Pour cela on prépare une solution contenant le photo-acide et les rapporteurs fluorescents dans un mélange de tampon aqueux et d'acétonitrile (1/1) à différents pH. Sous illumination à λ_E, on enregistre les intensités de fluorescence à $\lambda_{\mathbf{F}}$ puis à $\lambda_{\mathbf{Rh}}$. Le rapport de ces deux intensités est ensuite porté en fonction du pH et les données sont ensuite ajustées par l'équation 5.8.

[o]. On suppose ici que la solution est excitée à la longueur d'onde λ_E déjà utilisée pour l'irradiation de la rhodamine B. Cela n'est pas obligatoire mais correspond au protocole expérimental qui sera détaillé plus bas.

5.2.5 Conditions opératoires générales

Choix des longueurs d'onde

On a montré ci-dessus que pour mesurer le pH de la solution par une méthode fluorimétrique, il est nécessaire d'exciter les fluorophores à une longueur d'onde λ_E et de relever l'intensité de fluorescence à deux longueurs d'ondes différentes, l'une correspondant au signal de la rhodamine B ($\lambda_{\mathbf{Rh}}$) et l'autre à la longueur d'onde de la forme déprotonée de la fluorescéine ($\lambda_{\mathbf{F}}$).

La longueur d'onde d'excitation $\lambda_{\mathbf{E}}$ D'une part, elle est choisie aussi éloignée que possible de la longueur d'onde de la source lumineuse UV servant à isomériser le 2-hydroxyazobenzène. En effet, on souhaite comme dans la première partie, être capable d'enregistrer la variation du pH de la solution sans illumination UV (en particulier pour mesurer le pH initial ou le pH lors de la relaxation thermique consécutive à l'irradiation UV). D'autre part, il faut choisir λ_E au plus proche des longueurs d'onde des maxima d'absorption de la fluorescéine (495 nm) et de la rhodamine B (540 nm). La valeur de 500 nm est retenue.

La longueur d'onde d'émission $\lambda_{\mathbf{F}}$ Elle est prise simplement au maximum d'émission de la forme **F** c'est-à-dire à 517 nm.

La longueur d'onde d'émission $\lambda_{\mathbf{Rh}}$ Elle est prise simplement au maximum d'émission de rhodamine B c'est-à-dire à 574 nm.

Notons que l'intensité lumineuse de l'excitation à 500 nm a été choisie la plus faible possible ($\approx 5\ 10^{-10}$ Ei.s^{-1} soit au moins deux ordres de grandeur plus faible que celle de la lampe UV) pour éviter de perturber le système. [p] Comme on le verra dans le chapitre 7, l'absorption des 2-hydroxyazobenzène n'est pas complètement négligeable à 500 nm et une trop forte excitation lumineuse à cette longueur d'onde complique les phénomènes observés.

A contrario l'intensité lumineuse de la diode UV doit être grande ($1.9\ 10^{-7}$ Ei.s^{-1}) pour obtenir un saut de pH d'amplitude maximal.

Montage optique

Le suivi optique de la variation du pH impose de se placer dans un fluorimètre. [q] Le montage optique utilisé est quasiment le même que celui mis en œuvre lors de l'étude des paramètres cinétiques de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ par la méthode de modulation fréquentielle utilisant la fluorescence comme observable (*cf.* paragraphe 4.2). L'excitation du 2-hydroxyazobenzène dans l'UV est obtenue grâce à la diode UV Nichia précédemment utilisée (mais ici alimentée par un courant continu). La fluorescéine et la rhodamine B sont illuminées à $\lambda_E = 500$ nm par la lampe à arc du fluorimètre. Les intensités de fluorescence à $\lambda_{\mathbf{F}} = 517$ nm et $\lambda_{\mathbf{Rh}} = 574$ nm sont enregistrées par le photo-multiplicateur de l'appareil. N'étant pas équipé d'un dispositif nous permettant d'acquérir les intensités de fluorescence sur

[p]. Cette remarque renforce l'intérêt d'utiliser des rapporteurs fluorescents ayant les rendements quantiques les plus élevés possibles.

[q]. Il n'est donc pas ici possible de réaliser une expérience à l'échelle d'un bécher comme on l'a fait précédemment. La solution de photo-acide doit être placée dans une cuvette en quartz de quelques millilitres de volume.

deux canaux simultanément, deux acquisitions successives aux deux longueurs d'onde ont donc été effectuées lors de deux expériences identiques.

La figure 5.8 montre le schéma du montage ainsi qu'une photographie légendée de l'intérieur du fluorimètre.

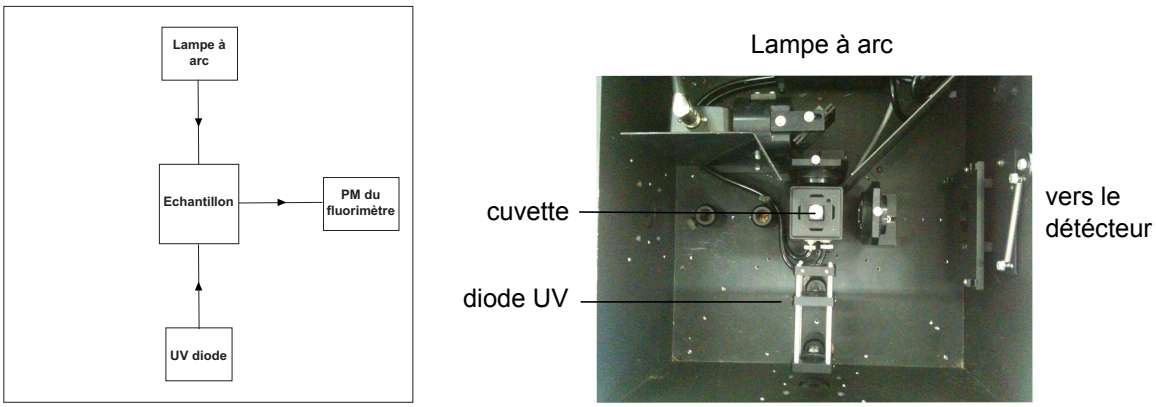


FIGURE 5.8 – *Gauche : schéma du montage optique réalisé au sein du fluorimètre de sorte à exciter le 2-hydroxyazobenzène à 365 nm avec une diode UV et les fluorophores à 500 nm avec la lampe à arc du fluorimètre. Les intensités de fluorescence sont recueillies à 517 nm et 574 nm par le photo-multiplicateur (PM). Droite : photographie de l'intérieur du fluorimètre correspondant au schéma.*

5.2.6 Résultats expérimentaux pour TH_2Cl_3

Les résultats présentés ci-dessous ont été obtenus avec une solution de 2 mL de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à 105 μM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange de solvant aqueux (tamponné lors de la calibration et non tamponné lors de l'expérience de saut de pH) et d'acétonitrile (1/1). L'échantillon est irradié en continu à 500 nm et soumis à un échelon lumineux délivré par la diode UV à 365 nm comme présenté sur la figure 5.1. Les intensités lumineuses sont enregistrées à 517 et 574 nm comme précisé ci-dessus.

Calibration

La calibration a pour but de déterminer les valeurs de Q et de ζ. Ces grandeurs étant dépendantes de la longueur d'onde de la lumière excitatrice (λ_E), la calibration doit être réalisée à la fois à 500 nm (pour déterminer le pH lors des phases 1 et 3 de la figure 5.1) mais aussi sous illumination conjointe à 500 nm et à 365 nm (pour déterminer l'évolution du pH pendant la phase 2).

La figure 5.9 montre les tracés du rapport $I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E,\lambda_{\mathbf{F}})/I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E,\lambda_{\mathbf{Rh}})$ d'une solution contenant le 2-hydroxyazobenzène et les deux rapporteurs fluorescents dissous dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1) en fonction du pH. La solution est illuminée soit uniquement à 500 nm (courbe **a**) soit illuminée conjointement à 500 nm et 365 nm (courbe **b**). L'ajustement des deux courbes par l'équation 5.9 donne une valeur de $pK_{a\,\mathbf{FH/F}} = 7.6 \pm 0.1$ en accord avec la valeur trouvée lors des dosages spectrophotométriques et fluorimétriques présentés sur la figure 5.6.

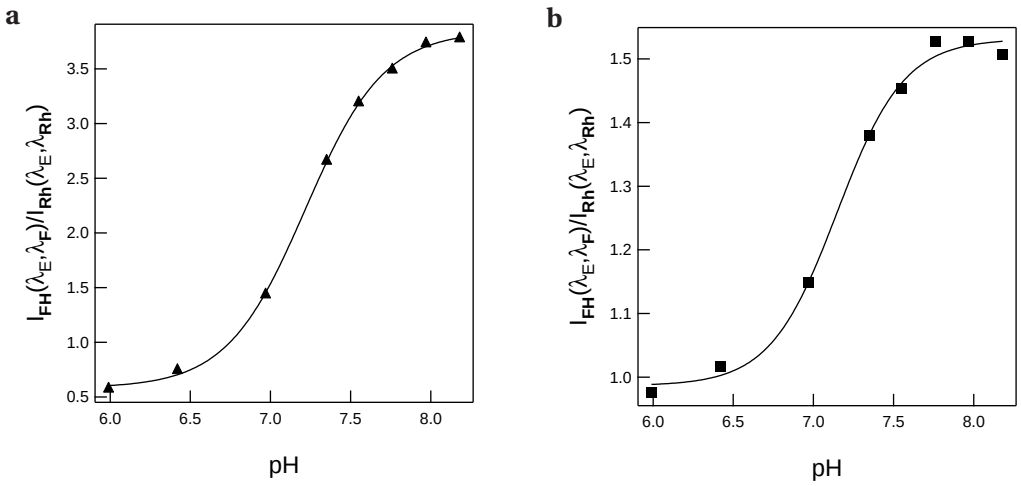


FIGURE 5.9 – *Courbes de calibration : rapport des intensités de fluorescence à 517 nm et 574 nm en fonction du pH d'une solution de 2 mL de* $\mathbf{TH_2Cl_3}$ *à 105 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM – Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1).* ***a*** *: Illumination à 500 nm seulement (d'intensité* $\approx 5\ 10^{-10}$ *Ei.s*$^{-1}$*).* ***b*** *: Illumination conjointe à 365 nm (d'intensité* $1.9\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$*) et 500 nm (d'intensité* $\approx 5\ 10^{-10}$ *Ei.s*$^{-1}$*). Carrés et triangles noirs : données expérimentales ; trait plein : ajustement par l'équation 5.9. T = 25 °C.*

Obtention d'un saut de pH

Un échantillon contenant $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à 105 μM, de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dissous dans un mélange d'eau (non tamponnée) et d'acétonitrile (1/1) a ensuite été placé dans le fluorimètre. Il est soumis à l'échelon lumineux à 365 nm (d'intensité $1.9\ 10^{-7}$ Ei.s^{-1}) décrit sur la figure 5.1 tout en étant continuellement éclairé à 500 nm (avec une intensité $\approx 5\ 10^{-10}$ Ei.s^{-1}).

La figure 5.10 montre les variations temporelles des intensités de fluorescence de la fluorescéine à 517 nm ($I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E,\lambda_{\mathbf{F}})$, courbe **a**) et de la rhodamine B à 574 nm ($I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E,\lambda_{\mathbf{Rh}})$, courbe **b**).

- **Phase 1** : les deux intensités de fluorescence restent constantes car l'éclairement est homogène et le pH invariant.
- **Allumage de la diode** : les deux intensités de fluorescence augmentent très fortement immédiatement après l'allumage de la diode UV. En effet, même si les rapporteurs fluorescents absorbent peu vers 365 nm, la diode UV est environ 500 fois plus puissante que la lampe à arc ainsi réglée ce qui génère une fluorescence de très forte intensité.
- **Phase 2** : l'intensité de fluorescence de la rhodamine B augmente de manière monotone jusqu'à un plateau. Cette évolution est liée à la diminution de l'absorbance totale de la solution lors de l'isomérisation cis→trans du 2-hydroxyazobenzène (voir équation 5.2 et le paragraphe 4.1.3). *A contrario*, la variation de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine n'est pas monotone : elle commence par diminuer pour remonter ensuite et atteindre un plateau. Elle dépend d'une part, de l'absorbance totale de la solution comme c'est le cas de la rhodamine B et d'autre part, de la diminution du pH de la solution. Ainsi, on voit dans l'équation 5.6 que le terme $\frac{1-\exp(-2.3\,A_{tot}(\lambda_E))}{2.3\,A_{tot}(\lambda_E)}$ croît avec le temps (puisque l'absorbance diminue avec le temps) mais que le terme $Q_{\mathbf{FH}}(\lambda_E,\lambda_{\mathbf{F}})\ [\mathbf{FH}] + Q_{\mathbf{F}}(\lambda_E,\lambda_{\mathbf{F}})\ [\mathbf{F}]$ décroît puisque l'acidification du milieu augmente la

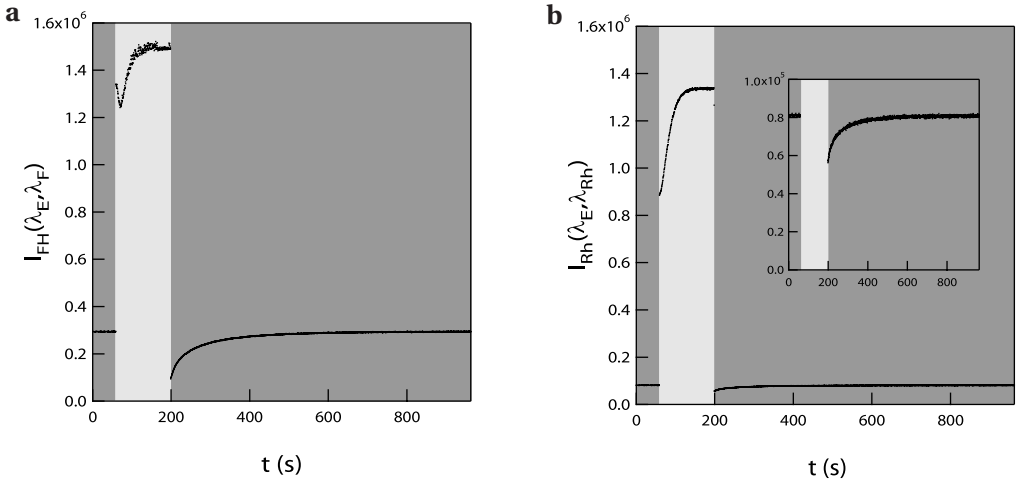


FIGURE 5.10 – *Évolution temporelle des intensités de fluorescence enregistrées à 517 nm ($I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_F)$, courbe **a**) et à 574 nm ($I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})$, courbe **b**). Solution de 2 mL de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à 105 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. Les zones sombres indiquent les durées pendant lesquelles l'excitation lumineuse est due uniquement à la lampe à arc du fluorimètre à 500 nm (d'intensité* $\approx 5\ 10^{-10}$ *Ei.s*$^{-1}$*). La zone claire indique la durée pendant laquelle l'excitation à 365 nm (d'intensité* $1.9\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$*) a lieu (se superposant ainsi à l'excitation à 500 nm). L'encadré le la figure **b** est un zoom. T = 25 °C.*

quantité de **FH** non fluorescent au détriment de **F** très fluorescent. L'évolution de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine est donc une combinaison non triviale de ces deux phénomènes.

– **Extinction de la diode UV** : les intensités de fluorescence chutent brutalement à des valeurs inférieures aux valeurs initiales. Maintenant que seule l'excitation à 500 nm demeure, l'effet de l'absorbance totale de la solution sur les intensités de fluorescence est faible et seul la variation du pH a un effet. Compte tenu du fait que l'intensité de fluorescence de la fluorescéine est plus faible que sa valeur initiale, on en déduit que le pH du milieu est plus faible que le pH initial. L'intensité de fluorescence de la rhodamine B est aussi plus basse que la valeur initiale, ce qui peut s'expliquer par une absorbance à 500 nm légèrement plus forte dans l'état photostationnaire que dans l'état initial due à la présence d'isomère **C** (voir figure 4.16).
– **Phase 3** : les deux intensités de fluorescence remontent jusqu'à leurs valeurs initiales. En effet, le système relaxe thermiquement jusqu'à l'état d'équilibre thermique. L'augmentation du signal de fluorescence de la fluorescéine est principalement due à l'augmentation du pH du milieu. La légère remontée du signal de la rhodamine B est la conséquence de la légère diminution de l'absorbance totale de la solution lors de la conversion **C→TH** (voir figure 4.16).

Les intensités de fluorescence des deux rapporteurs sont ensuite divisées l'une par l'autre. La figure 5.11 **a** montre l'évolution temporelle de la fonction $I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}}) / I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})$. En accord avec l'équation 5.8, ce rapport ne dépend que de la concentration en protons (et non plus de l'absorbance de la solution ou de l'intensité d'éclairement). Les variations de cette fonction sont donc logiquement monotones dans chaque phase :

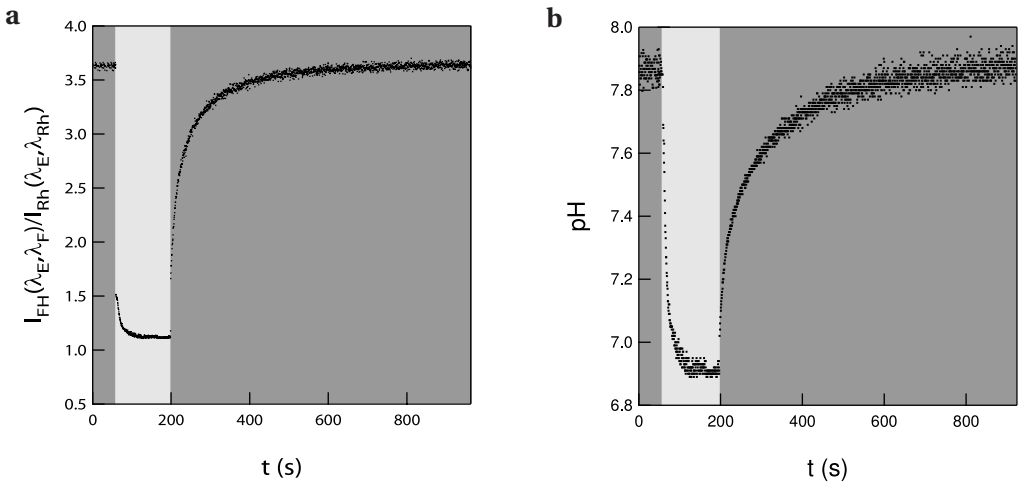


FIGURE 5.11 – ***a*** *: Évolution temporelle du rapport des intensités de fluorescence à 517 nm et à 574 nm* ($I_{FH}(\lambda_E,\lambda_F)/I_{Rh}(\lambda_E,\lambda_{Rh})$)*.* ***b*** *: Évolution temporelle du pH après conversion en utilisant l'équation 5.9 et les calibrations présentées figure 5.9. Solution de 2 mL de* TH_2Cl_3 *à 105 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. Les zones sombres indiquent les durées pendant lesquelles l'excitation lumineuse est due uniquement à la lampe à arc du fluorimètre à 500 nm (d'intensité* $\approx 5\ 10^{-10}$ *Ei.s*$^{-1}$*). La zone claire indique la durée pendant laquelle l'excitation à 365 nm (d'intensité* $1.9\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$*) a lieu (se superposant ainsi à l'excitation à 500 nm). T = 25 °C.*

- **Phase 1** : le rapport des intensités est constant puisque le pH du milieu est constant.
- **Allumage de la diode** : juste après l'allumage, la fonction varie brutalement. Cela est dû, comme précédemment, à la modification brutale de l'éclairement.
- **Phase 2** : le rapport décroît de manière monotone. Grâce à la division par l'intensité de fluorescence de la rhodamine B, on s'est affranchi de l'effet de l'absorbance de la solution. La diminution observée n'est due qu'à la baisse du pH du milieu (relayée ici par la baisse de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine).
- **Extinction de la diode UV** : L'éclairement de la solution est à nouveau brutalement modifié, ce qui entraîne une nouvelle discontinuité.
- **Phase 3** : l'évolution est croissante monotone puisque le pH remonte jusqu'à sa valeur initiale.

Le rapport des intensités de fluorescence est ensuite converti en pH par l'intermédiaire des calibrations dans l'UV et dans le visible présentées sur la figure 5.9. La figure 5.11 **b** montre ainsi le tracé de l'évolution du pH en fonction du temps.

Contrairement à la courbe d'évolution des rapports d'intensités de fluorescence, on note que le pH est une fonction continue du temps. L'effet des changements brutaux d'éclairement est donc gommé par les calibrations.

Analyse du saut de pH

Comme précédemment, on peut comparer les temps de descente et de remontée avec ceux dérivés des paramètres cinétiques connus.

Temps de remontée : estimé à environ 80 s sur la figure 5.2.
Ce temps est lié au temps caractéristique de la réaction thermique cis→trans au pH considéré. En considérant un pH moyen de 7.4, la figure 3.11 nous indique que la constante de vitesse du processus de retour thermique ($k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$(pH = 7.4)) est de l'ordre de 0.6 min^{-1} (soit 1.0 10^{-2} s^{-1}). Le temps caractéristique associé est donc de l'ordre de 100 s, en assez bon accord avec le temps caractéristique de remontée du pH observé sur la figure 5.11 **b**.

Temps de descente : estimé à environ 12 s sur la figure 5.2.
En considérant un pH moyen de 7.4 comme précédemment, les équations 4.17 et 4.18 permettent d'obtenir des estimations des sections efficaces :

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\text{pH} = 7.4, 365\text{ nm}) = 290\ \text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}\phi_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}(\text{pH} = 7.4, 365\text{ nm}) = 225\ \text{M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

En utilisant ensuite les équations 3.19 à 3.22 et en considérant une absorbance moyenne à 365 nm de ≈ 0.9, on obtient :

$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} \approx 2.7\ 10^{-2}\ \text{s}^{-1}$$
$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} \approx 2.1\ 10^{-2}\ \text{s}^{-1}$$

La somme des constantes de vitesses thermiques et photochimiques $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ vaut donc approximativement $2.7\ 10^{-2} + 2.1\ 10^{-2} + 1.0\ 10^{-2} = 5.8\ 10^{-2}\ \text{s}^{-1}$ soit un temps caractéristique de 17 s en bon accord avec le temps caractéristique estimé sur la figure 5.11.

Comme lors du suivi potentiométrique, les valeurs du pH initial et du pH à l'état photostationnaire (7.9 et 6.9 respectivement) ne correspondent pas aux valeurs attendues expérimentalement (6.7 et 5.5 respectivement). Le paragraphe suivant présente une simulation numérique permettant de proposer des pistes pour justifier cette déviation. [r]

5.2.7 Modélisation numérique

Les temps caractéristiques de variation du pH extraits de l'expérience de saut de pH présentée dans les figures 5.2 (mesure potentiométrique avec $\mathbf{TH_2Cl_3}$), 5.3 (mesure potentiométrique avec $\mathbf{THSO_3KCl_3}$) et 5.11 (mesure fluorimétrique avec $\mathbf{TH_2Cl_3}$) sont en bon accord avec les ordres de grandeur obtenus à partir des paramètres cinétiques déterminés dans les chapitres précédents. Cependant, dans aucun de ces exemples nous n'avons été capables de justifier précisément pourquoi les valeurs extrémales de pH obtenues expérimentalement sont toujours plus basiques que les valeurs attendues théoriquement. Dans cette partie, on se propose donc d'étudier numériquement la variation théorique du pH sous illumination en utilisant tous les paramètres physicochimiques à notre disposition. [s]

[r]. L'annexe 5.B montre que l'amplitude du saut de pH peut être ajustée par le choix de l'intensité lumineuse appliquée à l'échantillon.

[s]. Cette étude est menée uniquement sur la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ car les données relatives à $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ ne sont pas toutes connues avec précision.

Toutes les simulations numériques ont été réalisées par Raphaël PLASSON, à l'époque post-doctorant à Nordita (Suède). La description précise des méthodes de calcul utilisées, la liste des réactions considérées et les valeurs des paramètres physico-chimiques utilisés peuvent être trouvées dans l'article *2-Hydroxyazobenzenes to Tailor pH Pulses and Oscillations with light*[164] fourni dans l'annexe D (page S26 à S28). Dans ce manuscrit, nous relatons uniquement les résultats obtenus.

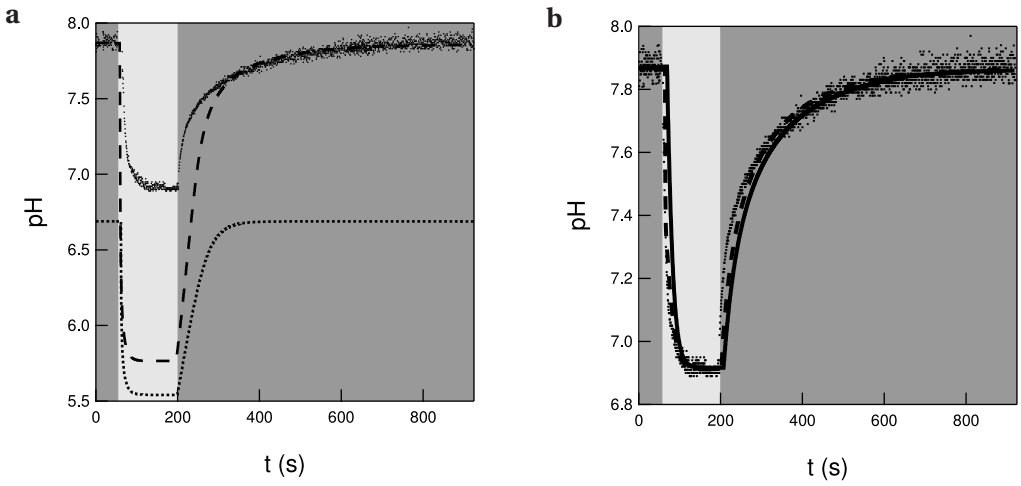


FIGURE 5.12 – *Données expérimentales : évolution temporelle du pH relevée par étude fluorimétrique d'une solution de 2 mL de* $\mathbf{TH_2Cl_3}$ *à 105 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. Les zones sombres indiquent les durées pendant lesquelles l'excitation lumineuse est due uniquement à la lampe à arc du fluorimètre à 500 nm (d'intensité* $\approx 5\ 10^{-10}$ *Ei.s*$^{-1}$*). La zone claire indique la durée pendant laquelle l'excitation à 365 nm (d'intensité* $1.9\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$*) a lieu (se superposant ainsi à l'excitation à 500 nm). T = 25 °C.* ***a*** *: Pointillés : ajustement 1 ; tirets : ajustement 2.* ***b*** *: Ligne : ajustement 3 ; tirets : ajustement 4.*

Les simulations numériques effectuées ont pris en compte de nombreux paramètres :

- les paramètres thermodynamiques et cinétiques associés aux processus d'interconversion entre les différents états de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (expérimentalement déterminés dans les chapitres 3 et 4) ;
- les paramètres thermodynamiques et cinétiques associés aux réactions mettant en jeu le dioxyde de carbone (dérivés de la littérature[173] ou ajustés numériquement) ;
- l'existence éventuelle d'impuretés qui peuvent modifier, d'une part, les valeurs du pH initial et du pH final attendus théoriquement et, d'autre part, la cinétique des réactions thermiques et photochimiques.

Simulation de l'expérience de la figure 5.11

La première expérience de saut de pH a avoir été simulée numériquement est celle qui est suivie par fluorimétrie. En effet, on a vu que cette méthode de mesure du pH est plus précise que la méthode potentiométrique car sa résolution temporelle est largement supérieure.

Plusieurs expériences numériques ont donc été réalisées en corrigeant itérativement les paramètres de sorte à reproduire au mieux les données expérimentales de la figure 5.11.

1. On a d'abord considéré une solution contenant uniquement $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (à la concentration de 105 μM), la fluorescéine (à la concentration de 10 nM) et la rhodamine B (à la concentration de 10 nM). En utilisant les paramètres thermodynamiques et cinétiques de $\mathbf{TH_2Cl_3}$, les valeurs expérimentales du volume de la solution et de l'intensité d'éclairement, nous avons tracé l'évolution du pH théorique en fonction du temps (ajustement 1 (pointillés) sur la figure 5.12 **a**). [t] Le pH théorique initial est de 6.7 et le pH théorique à l'état photostationnaire vaut 5.5 (en accord avec notre évaluation du paragraphe 5.2.6). Comme on l'a déjà fait remarquer, ces valeurs sont trop acides par rapport à ce qui est expérimentalement observé. Nous avons donc supposé que des impuretés basiques pouvaient être présentes en faible quantité dans le milieu.

2. Pour vérifier la pertinence de cette hypothèse, nous avons ajouté 3 μM d'ions hydroxyde à la simulation de sorte à ajuster le pH initial théorique à la valeur initiale expérimentale. L'ajustement 2 (tirets) de la figure 5.12 **a** montre le résultat obtenu. La simulation prédit maintenant un saut de pH de plus de 2 unités alors que le pH de l'expérience ne varie que d'une unité. En effet, les ions hydroxydes sont des bases fortes et la variation de leur concentration par échange de proton avec les **CH** photo-générés induit logiquement une forte variation du pH du milieu.

3. Pour corriger la simulation, nous avons donc abandonné les ions hydroxydes au profit d'une base faible non déterminée qui peut agir comme un tampon et diminuer ainsi l'amplitude du saut de pH. L'ajustement 3 (ligne) de la figure 5.12 **b** montre l'évolution du pH simulée en considérant que le pK_a de la base faible vaut 7.5 et qu'elle est introduite à la concentration totale de 71 μM (20 μM pour l'acide et 51 μM pour la base conjuguée). Plus spécifiquement, ce résultat est compatible avec la présence de traces d'ions $\mathbf{H_2CO_3}$ et $\mathbf{HCO_3^-}$. Ces deux espèces peuvent être des reliquats issus du dégazage incomplet de la solution (*cf.* annexe 5.A).

4. Même si l'ajustement 3 (ligne) reproduit globalement bien les données expérimentales, il est possible de se rapprocher encore plus de la réalité. En effet, lors de l'illumination UV, le pH expérimental commence par varier très vite puis cette variation ralentit rapidement après. Ce retard peut être expliqué par la lenteur de la réaction entre $\mathbf{CO_2}$ dissous et $\mathbf{H_2CO_3}$. [166,174] En ajoutant au modèle les réactions relatives aux espèces carbonatées [u], on obtient une meilleure corrélation avec les données expérimentales comme le montre l'ajustement 4 (tirets) de la figure 5.12 **b**. Nous avons pu extraire les valeurs des constantes des réactions $\mathbf{CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+}$ et $\mathbf{H_2CO_3 \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+}$ et nous trouvons 4.2 et 7.2 respectivement. Ces valeurs sont une unité plus hautes que les données dans l'eau, ce qui est en accord avec la formation d'espèces chargées lors de la réaction d'ionisation, rendue plus difficile dans le mélange eau / acétonitrile qui est moins polaire que l'eau. [166]

[t]. Une éventuelle perturbation par l'acidité de la fluorescéine a été envisagée. Après avoir vérifié que les résultats étaient inchangés, l'acidité de la fluorescéine a finalement été négligée.

[u]. et en ne considérant pas que les réactions sont à l'équilibre thermodynamique (en particulier celle entre $\mathbf{CO_2}$ dissous et $\mathbf{H_2CO_3}$).

Simulation de l'expérience de la figure 5.2

Nous avons ensuite tenté de reproduire numériquement la variation de pH obtenue par suivi potentiométrique (figure 5.2). Les paramètres issus de la simulation précédente ont été ré-employés et les conditions opératoires (volume, concentration, intensité lumineuse) modifiées en conséquence.

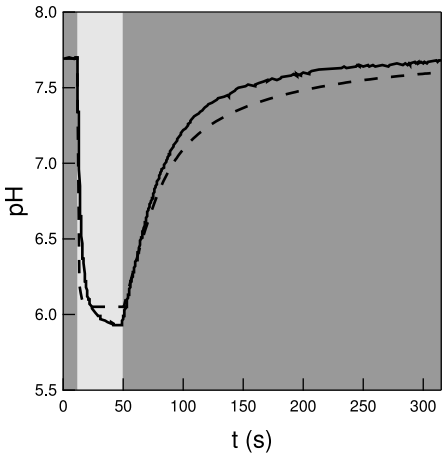


FIGURE 5.13 – *Évolution temporelle du pH mesuré à l'aide d'un pHmètre et d'une électrode combinée plongeant dans une solution de 6 mL de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *à la concentration de 220 µM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La solution est soumise à un pulse lumineux à 365 nm d'une durée de* $\tau = 30$ *s et d'une puissance de* $I_0 = 1.2\,10^{-5}$ *Ei.s*$^{-1}$*. La solution a été dégazée en continu par barbotage de diazote.* $T = 25\,°C$*. La zone claire indique la durée pendant laquelle l'excitation à 365 nm a lieu. La zone foncée signale les durées pendant lesquelles l'échantillon n'est pas illuminé. Ligne : données expérimentales ; tirets : ajustement numérique.*

L'ajustement de la figure 5.13 montre que l'amplitude du saut de pH calculée numériquement est satisfaisante (la simulation donne 1.6 unité de pH alors qu'on observe 1.8). Cependant, l'évolution temporelle du pH est moins bien simulée dans ces mêmes conditions (en particulier sous illumination). Deux arguments peuvent venir justifier l'écart entre les données simulées et les données expérimentales :

i. l'expérience n'a pas lieu dans les mêmes conditions de dégazage (qui sont difficilement reproductibles). Il est donc possible que la quantité d'espèces carbonatées soit différente dans les deux expériences ;

ii. la réponse temporelle de l'électrode de verre est trop lente pour reproduire parfaitement l'évolution du pH. Ceci est particulièrement vrai pendant l'irradiation UV, où le temps de variation du pH est de l'ordre de grandeur du temps de réponse de l'électrode (quelques secondes). *A contrario*, la phase de relaxation thermique est logiquement mieux reproduite par les données simulées.

5.2.8 Comparaison de la méthode potentiométrique et de la méthode optique de mesure du pH

On a vu dans cette partie qu'il est possible de suivre le pH d'une solution par une méthode optique basée sur l'enregistrement de l'intensité de fluorescence d'une sonde de pH fluorescente. Cette méthode peut répondre à plusieurs inconvénients de la méthode potentiométrique évoqués à la fin de la partie 5.1 :

- La méthode n'est pas invasive. Aucune sonde physique (comme une électrode) ne doit être introduite au cœur du système pour accéder au pH.
- La résolution spatiale de cette technique est largement plus grande que celle de la méthode potentiométrique. On verra dans le chapitre 7 qu'il est possible de suivre le pH d'une solution d'un volume de l'ordre de la centaine de nano-litres. [v]
- La résolution temporelle est largement meilleure que celle de la méthode pHmétrique. En effet, la vitesse de réponse de la sonde fluorescente n'est limitée que par le temps de diffusion des espèces chimiques. [w]

A contrario la méthode fluorimétrique que l'on a utilisée présente aussi quelques inconvénients :

- Il est nécessaire de faire le suivi de l'intensité de fluorescente à 517 et à 574 nm lors de deux expériences identiques alors qu'une seule expérience suffit avec la méthode potentiométrique. Pour pallier ce problème, il pourrait être intéressant de concevoir un dispositif optique permettant d'acquérir les deux signaux simultanément.
- L'utilisation d'une sonde pour déterminer le pH et d'une autre pour corriger de l'intensité d'excitation n'est pas pratique. En particulier, il est nécessaire de travailler avec exactement le même rapport de concentrations entre les deux sondes lors des expériences de calibration et lors des expériences en milieu non tamponné. Il pourrait donc être plus pratique d'utiliser un indicateur de pH fluorescent ratiométrique (comme le C.SNARF ou la molécule PYMPON de la figure 5.4). Les deux formes acido-basiques de ce type de rapporteur émettent à des longueur d'onde différentes. Le rapport des intensités de fluorescence aux deux longueurs d'onde est indépendant de l'éclairement lumineux et de la concentration en sonde, rendant ainsi l'exploitation des résultats plus aisée.
- On introduit d'autres espèces que le photo-acide dans le milieu qui peuvent perturber le système (en milieu biologique cela pose des problèmes de co-localisation des sondes fluorescentes et du photo-acide). Pour pallier ce problème, il faudrait concevoir un photo-acide lui-même fluorescent (et dont l'intensité de fluorescence dépende du pH). [x]

Dans la partie suivante la résolution temporelle de la méthode optique va être mise en œuvre pour étudier des modulation périodiques du pH d'une solution.

[v]. En utilisant une excitation bi-photonique, il est même possible d'explorer des volumes de l'ordre du femtolitre. [43]

[w]. Les sondes de pH fluorescentes sont choisies de sorte à ce que toutes les réactions acido-basiques mises en jeu soient limitées par la diffusion.

[x]. Avec une telle molécule, la modification du pH peut cependant être nivelée par la présence d'une espèce acido-basique (la partie « rapporteur fluorescent ») nécessairement à la même concentration que la partie « photo-acide ».

5.3 Oscillations de pH

Comme on l'a expliqué dans la partie 4.2, il est possible de déterminer les paramètres cinétiques d'un système en étudiant sa réponse à une perturbation périodique. En particulier, une modulation périodique du pH peut permettre d'étudier un système sensible à la concentration en protons. Dans la littérature, ce type d'expérience a été réalisée soit en introduisant des solutions acides et basiques dans un réacteur ouvert de sorte à faire osciller le pH du milieu,[2] soit, plus couramment, en utilisant des oscillateurs de pH (voir ci-dessous).

Après avoir identifié les limites de ces oscillateurs, on se propose, dans cette partie, de montrer que la molécule $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ permet de réaliser des oscillations périodiques de pH photoinduites permettant de dépasser ces limites.

5.3.1 Les oscillateurs de pH dans la littérature

Un oscillateur de pH est un système siège d'un ensemble de réactions chimiques conduisant à des modifications périodiques et spontanées du pH. Si la découverte du premier système capable de faire osciller spontanément le pH est récente (1985[175]), le nombre de nouveaux systèmes s'est rapidement accru.[176] L'oscillateur de pH de loin le plus étudié et le plus utilisé est basé sur la réaction de Landolt impliquant les ions bromate, sulfite et ferrocyanure en système ouvert. Le mécanisme du processus est complexe mais peut être simplifié en considérant séparément les deux phénomènes les plus importants :[177]

- L'oxydation des ions hydrogénosulfites par les ions bromates : $\mathbf{BrO_3^- + 3\,HSO_3^- \longrightarrow Br^- + 3\,SO_4^{2-} + 4\,H^+}$ qui est un processus auto-catalytique de production de protons.
- L'oxydation des ions ferrocyanures par les ions bromates : $\mathbf{BrO_3^- + 6\,Fe(CN)_6^{4-} \longrightarrow Br^- + 6\,Fe(CN)_6^{3-} + 3\,H_2O}$ qui consomme les protons. [y]

Cette réaction (et quelques autres apparentées) a trouvé des applications très variées dans la littérature. Ainsi une réaction d'oscillation de pH a été utilisée pour modifier spontanément la conformation d'un brin d'ADN[178] ou pour produire, en combinaison avec des réactions de complexation et de précipitation, des sauts de concentration en ions calcium et aluminium.[179] Des applications bio-mimétiques ont aussi été développées dans lesquelles les oscillateurs de pH jouent le rôle de source de protons pour commander le mouvement d'un muscle synthétique à base de co-polymère à blocs[180] ou pour délivrer périodiquement un principe actif à travers une membrane.[181]

Cependant, ces oscillateurs de pH basés sur des systèmes rédox présentent plusieurs défauts :

- Les périodes des oscillations sont généralement très grandes (souvent plusieurs milliers de secondes) même si des systèmes moins lents commencent à faire leur apparition.[182] Il n'est donc pas possible d'utiliser ces systèmes pour des applications rapides.
- Les molécules utilisées sont souvent des espèces réactives ($\mathbf{BrO_3^-}$ est un oxydant puissant) qui sont peu adaptées aux systèmes chimiques fragiles ou aux systèmes biologiques. Ici encore, de nouveaux oscillateurs basés sur des molécules organiques moins agressives émergent.[182,183]

[y]. Les cinétiques des réactions mises en jeu sont telles que le premier phénomène a le temps de se terminer avant que le second ne commence.

– Il est nécessaire de travailler en système ouvert, ce qui diminue les résolutions temporelle et spatiale.
– Il n'est pas possible de contrôler facilement la phase des oscillations.

5.3.2 Conditions opératoires

Système d'étude

Seule la molécule **$THSO_3KCl_3$** a été étudiée dans cette partie. C'est en effet, la molécule de la série **$THXCl_3$** la mieux adaptée à la modulation périodique du pH à fréquence élevée puisque sa cinétique de retour thermique est parmi les plus rapides. Elle est, de plus, soluble dans le mélange eau / acétonitrile (1/1) [a].

Montage optique et acquisition

La réalisation d'une modulation périodique du pH à fréquence élevée impose d'être capable de suivre l'évolution du pH avec une méthode de mesure possédant une résolution temporelle élevée. La méthode optique est donc logiquement privilégiée par rapport à la méthode potentiométrique (voir 5.2.8). Elle impose de se placer dans un fluorimètre avec lequel on enregistre les intensités de fluorescence de la fluorescéine et de la rhodamine B au cours de deux expériences identiques successives.

Le montage est globalement le même que celui de la figure 4.2.3 dans la partie 4.2. L'excitation lumineuse UV est générée par la diode UV alimentée par une source périodique de courant (provenant du générateur de signaux utilisé dans la partie 4.2). Cependant, comme l'échantillon est continuellement illuminé par la lumière UV (variable mais jamais nulle), il n'est pas nécessaire de l'irradier à 500 nm conjointement.

5.3.3 Oscillations obtenues

Excitation sinusoïdale

L'échantillon contenant le photo-acide est initialement irradié à l'intensité moyenne I_0 constante. Une fois qu'il a atteint l'état photostationnaire, [b] la modulation sinusoïdale (de la forme $I = I_0(1 + \beta \sin \omega t)$) est déclenchée. La figure 5.14 **a** présente l'évolution des intensités de fluorescence de la fluorescéine et de la rhodamine B pour une solution de **$THSO_3KCl_3$** à 300 μM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La pulsation de la modulation est de ω = 210 mHz et son amplitude vaut β = 0.9 autour d'une intensité moyenne de $I_0 = 1.6\ 10^{-7}$ Ei.s^{-1}.

On observe que :

i. le signal de la rhodamine B est sinusoïdal et est en phase avec l'intensité lumineuse. En effet, la valeur de l'intensité de fluorescence de la rhodamine B est linéairement reliée à l'intensité lumineuse (en négligeant au premier ordre la contribution de la variation de l'absorbance).

[a]. Contrairement au composé **$THNO_2Cl_3$**, plus rapide mais dont la solubilité dans ce même milieu est médiocre.
[b]. Ce qui est vérifié par le contrôle de l'intensité de fluorescence à 517 nm.

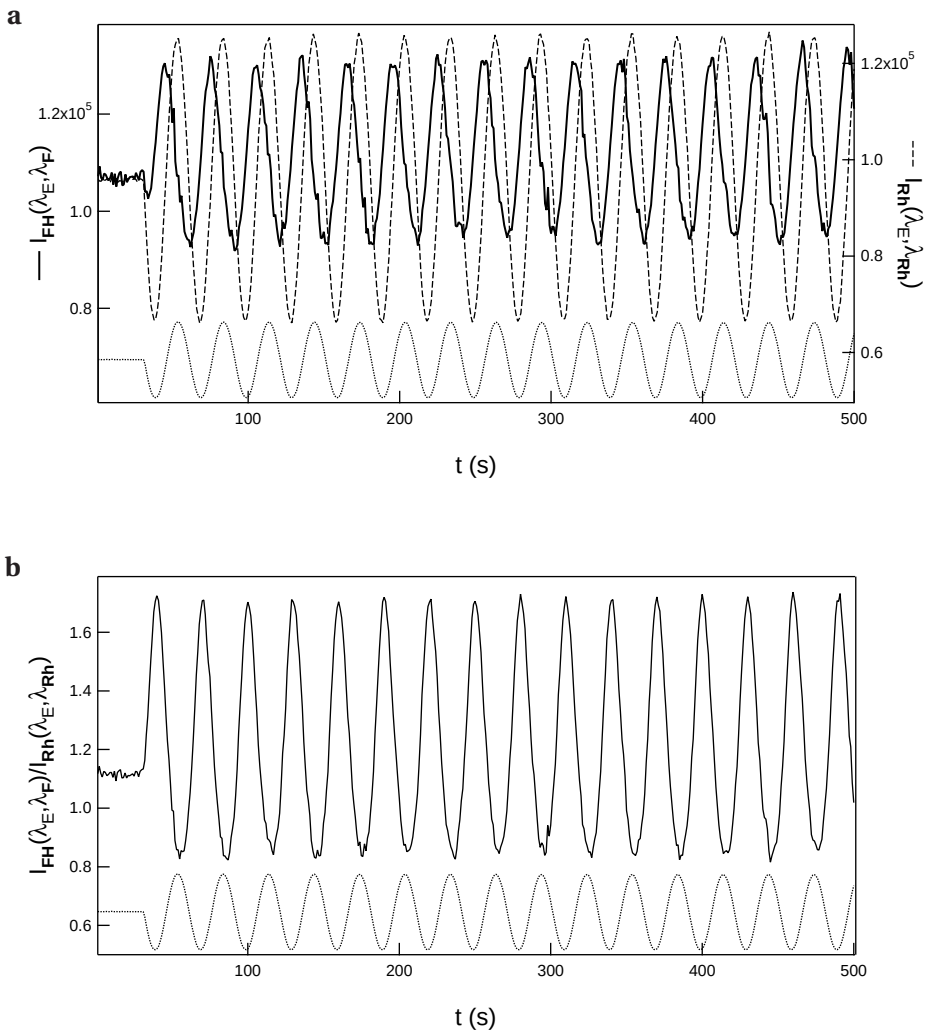


FIGURE 5.14 – ***a*** *Évolution temporelle des intensités de fluorescence enregistrées à 517 nm ($I_{\boldsymbol{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{F}})$, ligne) et à 574 nm ($I_{\boldsymbol{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{Rh}})$, tirets).* ***b*** *: Évolution temporelle du rapport des intensités de fluorescence à 517 nm et à 574 nm ($I_{\boldsymbol{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{F}})/I_{\boldsymbol{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{Rh}})$). Solution de* $\boldsymbol{THSO_3KCl_3}$ *à 300 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La solution a été dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. L'excitation lumineuse à 365 nm (pointillés) est de la forme* $I = I_0(1 + \beta \sin \omega t)$ *avec* $I_0 = 1.6\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$, $\beta = 0.9$ *et* $\omega = 210$ *mHz. T* $= 25\,°C$.

ii. le signal de la fluorescéine est périodique mais pas sinusoïdal. On observe de plus un déphasage net avec le signal de l'intensité lumineuse. Comme dans la partie 5.2.6, la variation de l'intensité de fluorescence de la sonde de pH dépend conjointement du pH du milieu (qui tend à diminuer l'intensité de fluorescence de la fluorescéine quand l'intensité lumineuse augmente) et de l'éclairement (qui tend à augmenter l'intensité de fluorescence de la fluorescéine quand l'intensité lumineuse augmente). L'étude de la variation de cette intensité de fluorescence est donc non triviale.

La figure 5.14 **b** montre le rapport entre les deux intensités de fluorescence. Grâce à la correction par le signal de la rhodamine B, ce rapport est une fonction périodique de même période que l'excitation et en phase avec elle.

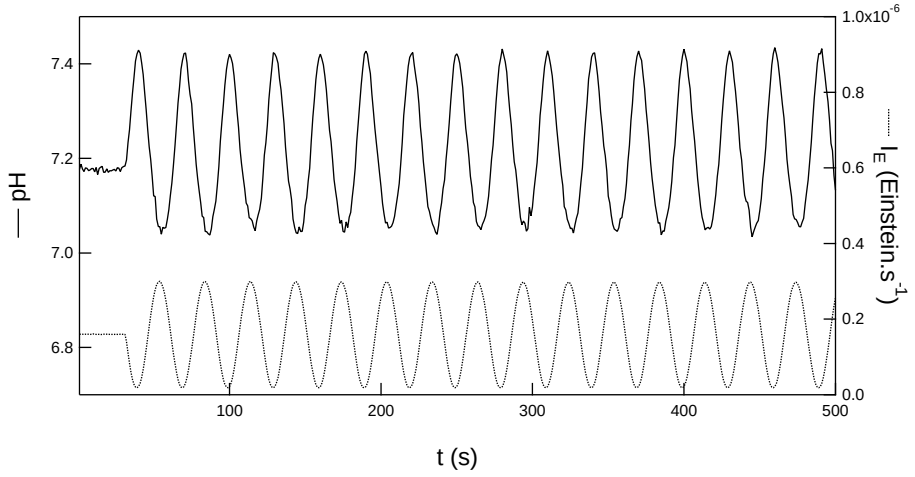


FIGURE 5.15 – *Évolution temporelle du pH (ligne) obtenue (après calibration) à partir de l'évolution du rapport des intensités de fluorescence à 517 nm et à 574 nm ($I_{\mathbf{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{F}}) / I_{\mathbf{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\mathbf{Rh}})$). Solution de* $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ *à 300 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La solution a été dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. L'excitation lumineuse à 365 nm (pointillés) est de la forme* $I = I_0(1 + \beta \sin \omega t)$ *avec* $I_0 = 1.6\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$, $\beta = 0.9$ *et* $\omega = 210$ *mHz. T = 25 °C.*

Le pH de la solution est ensuite extrait par calibration à 365 nm (reliant le pH au rapport des intensités de fluorescence). La figure 5.15 montre l'évolution du pH en fonction du temps.

On remarque que la variation du pH est périodique à la même période que l'excitation mais pas sinusoïdale. Son amplitude est d'environ 0.4 unités de pH et elle est globalement en phase avec le signal de l'intensité lumineuse. Une quinzaine d'oscillations de même amplitude ont été obtenues, ce qui montre la robustesse de la plateforme 2-hydroxyazobenzène.

Cependant, cette modulation de pH est difficile à analyser plus en avant car le modèle de variation sinusoïdale proposé dans la partie 4.2.2 n'est pas adapté à une modulation lumineuse de forte amplitude. On se propose donc de reproduire l'expérience en se plaçant dans le cas d'une faible perturbation lumineuse. [c]

[c]. D'autres types d'illuminations périodiques non sinusoïdales ont été expérimentées comme l'excitation triangulaire présentée en annexe 5.C.

Cas d'une faible perturbation lumineuse

L'échantillon irradié est identique à celui utilisé dans le paragraphe précédent (solution de $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ à 300 μM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) ayant été dégazée par barbotage de diazote).

L'intensité lumineuse appliquée est toujours de la forme $I = I_0(1+\beta\sin\omega t)$. La pulsation de la modulation est inchangée ($\omega = 210$ mHz) mais son amplitude été diminuée à $\beta = 0.4$ [d] autour d'une intensité moyenne de $I_0 = 7.2\ 10^{-8}$ Ei.s^{-1}.

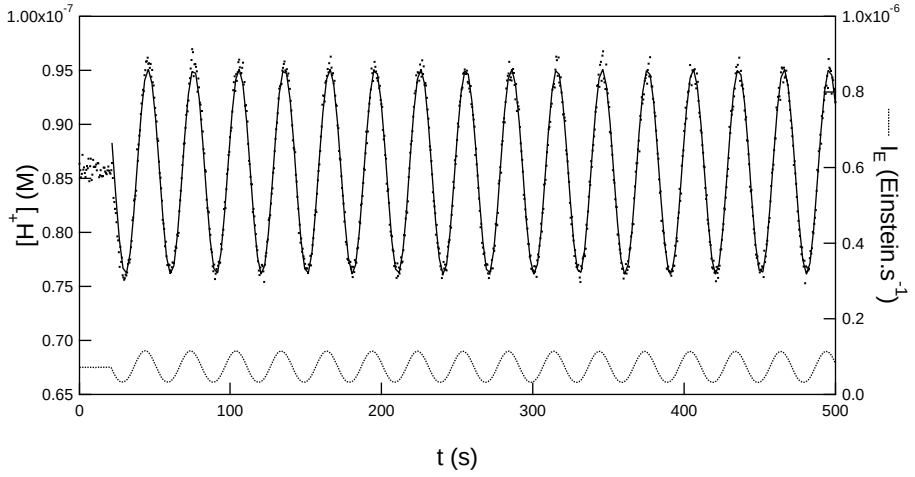


FIGURE 5.16 – *Évolution temporelle de la concentration en protons (points) obtenue par suivi fluorimétrique d'une solution de* $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ *à 300 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La solution a été dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. L'excitation lumineuse à 365 nm (pointillés) est de la forme* $I = I_0(1+\beta\sin\omega t)$ *avec* $I_0 = 7.2\ 10^{-8}$ *Ei.s*$^{-1}$, $\beta = 0.4$ *et* $\omega = 210$ *mHz. T = 25 °C.*

La figure 5.16 présente l'évolution de la concentration en protons au cours du temps. [e] Elle varie entre 0.76 10^{-7} mol.L^{-1} (pH = 7) et 0.94 10^{-7} mol.L^{-1} (pH = 7.2) avec un déphasage de 0.4 rad par rapport au signal de l'intensité lumineuse.

Pour établir un modèle théorique permettant d'analyser ces données plus en avant, on va considérer que dans la gamme de pH (7 – 7.2) les espèces majoritairement présentes sont **TH** et **CH**.

Dans le cadre d'une faible perturbation lumineuse, on peut considérer, comme dans le paragraphe 4.2.2, que les constantes de vitesse des réactions photochimiques s'écrivent comme précisé par les équations 4.21 et 4.22 :

$$k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(t) = k^{h\nu\,0}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}(1+\varepsilon\sin(\omega t)) \tag{5.10}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(t) = k^{h\nu\,0}_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}(1+\varepsilon\sin(\omega t)) \tag{5.11}$$

[d]. Cette amplitude de perturbation est supérieure à la valeur de 0.1 habituellement envisagée pour se placer dans un régime de faible perturbation. Cependant, en choisissant une amplitude plus petite, nous n'avons pas été capables d'observer de variations significatives du pH.

[e]. On a choisi de tracer l'évolution de $[\mathbf{H^+}]$ plutôt que celle du pH car le modèle théorique présenté ci-dessous rend plus facilement compte de la variation de $[\mathbf{H^+}]$ que de celle du pH.

où ε est donc pris ici égal à $\beta = 0.4$ et $\omega = 210$ mHz.

La concentration en **CH** au cours du temps est alors donnée par l'équation 4.37.

En supposant que **CH** est en quantité suffisante pour imposer le pH du milieu, on a l'expression de la concentration en protons :

$$\left[\mathbf{H^+}\right] = \sqrt{K_{\mathbf{CH/C}}\,[\mathbf{CH}]} \tag{5.12}$$

D'où, en introduisant l'expression de [**CH**] :

$$\left[\mathbf{H^+}\right] = \sqrt{K_{\mathbf{CH/C}}}\sqrt{[\mathbf{CH}]^0 + \varepsilon\frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}\sin(\omega t-\phi)} \tag{5.13}$$

où $[\mathbf{CH}]^0$ est la concentration en **CH** à l'état photostationnaire. En développant cette équation au premier ordre en ε, on obtient :

$$\left[\mathbf{H^+}\right] = \sqrt{K_{\mathbf{CH/C}}}\left([\mathbf{CH}]^0 + \frac{1}{2}\varepsilon\frac{\rho^0_{\mathbf{THCH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}\sin(\omega t-\phi)\right) \tag{5.14}$$

où comme au paragraphe 4.2.2, on a :

$$\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THCH}}} = k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}} \tag{5.15}$$

$$\rho^0_{\mathbf{THCH}} = k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}}[\mathbf{TH}]^0 - k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}}[\mathbf{CH}]^0 = k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}[\mathbf{CH}]^0 \tag{5.16}$$

et

$$\cos(\phi) = \frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} \tag{5.17}$$

$$\sin(\phi) = \frac{\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}} \tag{5.18}$$

Enfin, l'équation 5.14 peut se condenser en :

$$\left[\mathbf{H^+}\right] = \left[\mathbf{H^+}\right]^0\left(1 + \frac{1}{2}\varepsilon\frac{k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}}\tau^0_{\mathbf{THCH}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THCH}})^2}}\sin(\omega t-\phi)\right) \tag{5.19}$$

où $\left[\mathbf{H^+}\right]^0$ est la concentration en protons à l'état photostationnaire.

Connaissant la valeur du déphasage entre la variation de pH et la modulation lumineuse (0.4 rad), on peut tirer de l'équation 5.17 ou 5.18 la valeur de la somme des constantes de vitesse des réactions d'isomérisation trans→cis et cis→trans de la molécule $\mathbf{THSO_3KCl_3}$.

$$k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH\to CH}} + k^{h\nu 0}_{\mathbf{CH\to TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH\to TH}} = 0.5\ \mathrm{s}^{-1}$$

Ce résultat est identique à la valeur déduite des paramètres cinétiques effectuée dans le paragraphe 5.1.4 pour une valeur moyenne du pH de 7.

On aurait aimé mettre en évidence un déphasage notable en excitant à une plus haute fréquence de modulation. Cependant pour voir un déphasage de $\pi/4$, il faut exciter le système avec une intensité modulée de pulsation de 700 mHz. À cette pulsation, l'amplitude des oscillations est trop faible et nous n'avons pas réussi à les détecter expérimentalement

5.3.4 Conclusions

Le système $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ permet ainsi d'obtenir des oscillations périodiques de pH sous illumination. Les intérêts de cette méthode optique par rapport aux systèmes rédox présentés dans le paragraphe 5.3.1 sont nombreux :

- Elle est non invasive et bien résolue dans le temps et dans l'espace comme toutes les méthodes optiques.
- Toutes les espèces chimiques introduites sont régénérées : on peut donc travailler dans un système fermé qui peut être d'échelle microscopique.
- La fréquence des oscillations obtenues est très supérieure aux fréquences accessibles avec les systèmes rédox.
- Une seule espèce chimique est nécessaire. De plus, elle est complètement organique et globalement peu réactive chimiquement. Elle ne perturbe donc que peu le système étudié.
- Le début et la fin des oscillations sont commandés par le déclenchement ou l'arrêt de la modulation lumineuse. On peut donc imaginer de soumettre un système à plusieurs trains d'onde de pH successifs.

Par contre, l'amplitude des oscillations obtenues est largement inférieure à celle que présente la majorité des oscillateurs de pH chimiques. Notre oscillateur de pH photo-contrôlé ne convient donc pas à des applications pour lesquelles des fortes variations de pH sont nécessaires.

Conclusions générales

Dans ce chapitre, on a montré à plusieurs reprises que les molécules de la série $\mathbf{THXCl_3}$ peuvent être utilisées pour créer des modulations de pH induites sous illumination UV. La dynamique de la modulation peut être réglée en changeant l'intensité lumineuse de l'excitation ou la nature électronique des substituants de la molécule. Sa forme (et sa périodicité) peut être choisie en irradiant l'échantillon avec une excitation adéquate.

Annexes du chapitre 5

5.A Rôle du dioxyde de carbone dissous

Dans les expériences de variation du pH présentées dans cette partie, on précise toujours que la solution de photo-acide a été dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote (ou bien qu'elle est dégazée en continu quand c'est possible). Ce dégazage permet d'éliminer au mieux le dioxyde de carbone dissous.

En effet, le dioxyde de carbone est un des gaz atmosphériques les plus solubles dans l'eau [f] où il existe sous forme de molécules de dioxyde de carbone solvatées ($\mathbf{CO_{2\,(aq)}}$) mais aussi sous forme hydratée ($\mathbf{H_2CO_{3\,(aq)}}$) et sous les formes une fois et deux fois déprotonées (ion hydrogénocarbonate $\mathbf{HCO^-_{3(aq)}}$ et carbonate $\mathbf{CO^{2-}_{3(aq)}}$ respectivement). Ces espèces chimiques ont des propriétés acido-basiques de Brönsted comme présenté ci-dessous :

$$\mathbf{CO_{2\,(g)}} \rightleftharpoons \mathbf{CO_{2\,(aq)}} \rightleftharpoons \mathbf{H_2CO_{3\,(aq)}}$$
$$\mathbf{H_2CO_{3\,(aq)}} + \mathbf{H_2O_{(\ell)}} \rightleftharpoons \mathbf{HCO^-_{3(aq)}} + \mathbf{H_3O^+_{(aq)}} \quad \mathrm{p}K_\mathrm{a} = 6.3 \text{ dans l'eau}$$
$$\mathbf{HCO^-_{3(aq)}} + \mathbf{H_2O_{(\ell)}} \rightleftharpoons \mathbf{CO^{2-}_{3(aq)}} + \mathbf{H_3O^+_{(aq)}} \quad \mathrm{p}K_\mathrm{a} = 10.3 \text{ dans l'eau}$$

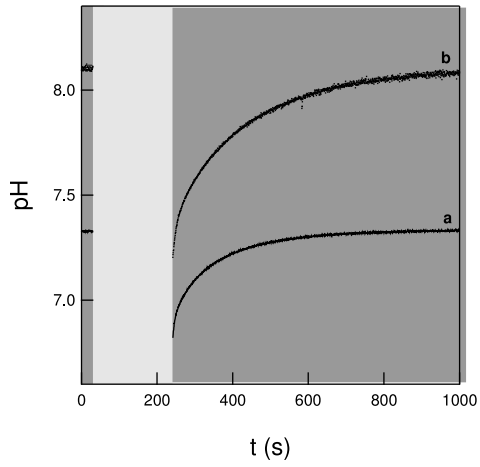


FIGURE 5.17 – *Variation du pH d'une solution de 2 mL de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *à 105 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). Les zones sombres indiquent les durées pendant lesquelles l'excitation lumineuse est due uniquement à la lampe à arc du fluorimètre à 500 nm (d'intensité* $\approx 5\ 10^{-10}$ *Ei.s*$^{-1}$*). La zone claire indique la durée pendant laquelle l'excitation à 365 nm (d'intensité* $1.9\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$*) a lieu (se superposant ainsi à l'excitation à 500 nm). La valeur du pH a été mesurée par la méthode fluorimétrique dans les zones sombres et n'a pas été mesurée dans la zone claire.* ***a*** *: solution non dégazée.* ***b*** *: solution dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote.* $T = 25\,°C$.

La figure 5.17 présente les pH initiaux et les relaxations thermiques associées à deux sauts de pH générés par une illumination de 220 s à 365 nm et d'intensité $1.9\ 10^{-7}$ Ei.s^{-1} d'une solution de 2 mL

[f]. À 25 °C, la solubilité du dioxyde de carbone sous un bar est de 0.76 litre de gaz par litre d'eau alors que les solubilités du dioxygène et du diazote sont respectivement de 0.03 et 0.02.

de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à 105 μM (contenant de la fluorescéine et de la rhodamine B pour mesurer le pH). [g] La courbe **a** montre l'évolution du pH pour une solution d'eau et d'acétonitrile (1/1) non dégazée. Pour obtenir la courbe **b**, la même solution a été dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. En comparant ces deux courbes, on remarque que :

i. le pH initial de la courbe **a** (7.3) est plus faible que celui de la courbe **b** (8.1) en accord avec le fait que la solution **a** contient plus de carbonates dissous que la solution **b** ce qui tend à acidifier le milieu.

ii. l'amplitude du saut de pH mesurée sur la courbe **a** (0.5) est plus faible que celle de la courbe **b** (0.9) [h] Les ions carbonates et hydrogénocarbonates tamponnent en effet le milieu d'autant plus qu'ils sont concentrés.

iii. le temps caractéristique de remontée de la courbe **a** (environ 90 s) est plus court que celui de la courbe **b** (environ 160 s) en accord avec le pH moyen moins élevé de l'expérience **a** ($\approx$ 7.1) par rapport à l'expérience **b** ($\approx$ 7.7). Ces temps caractéristiques peuvent être comparés avec les ordres de grandeurs des constantes cinétiques de la réaction cis→trans thermique que l'on peut tirer de la figure 3.11 au pH moyen considéré : on relève les valeurs de 0.75 min^{-1} et 0.35 min^{-1} (ce qui correspond à des temps de 80 s et 170 s respectivement en bon accord avec les valeurs expérimentales).

Cette étude met en évidence le rôle nivelant du tampon carbonate naturel de l'eau utilisée et justifie l'intérêt de dégazer précautionneusement le mélange de solvants pour obtenir une amplitude de saut de pH maximale.

5.B Effet de l'intensité lumineuse sur l'amplitude du saut de pH

Il est possible d'étudier l'influence de l'intensité de l'excitation lumineuse sur l'amplitude du saut de pH. Pour cela, une solution de 2 mL de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à 105 μM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) (contenant de la fluorescéine et de la rhodamine B pour mesurer le pH) a été excitée à 365 nm à plusieurs intensités lumineuses. Comme dans l'étude du rôle des carbonates dissous présentée dans l'annexe 5.A, la valeur du pH de l'état photostationnaire a été déterminée en enregistrant l'évolution du pH lors de la relaxation thermique et en mesurant la valeur du pH immédiatement après extinction de la lampe UV. La figure 5.18 montre ainsi l'évolution du pH de l'état photostationnaire en fonction de l'intensité d'excitation à 365 nm I_0. La valeur du pH à l'état photostationnaire décroît donc d'autant plus que l'intensité d'illumination est forte avant d'atteindre un pallier.

Pour justifier ce résultat, on va considérer la réaction :

$$\mathbf{TH} \underset{k_{\mathbf{CH\to TH}}}{\overset{k_{\mathbf{TH\to CH}}}{\rightleftharpoons}} \mathbf{CH} \tag{5.20}$$

[g]. La variation du pH pendant l'excitation n'a pas été relevée par gain de temps puisque dans cette série d'expériences nous nous sommes principalement intéressés aux valeurs du pH initial et du pH final ainsi qu'à l'amplitude du saut de pH.

[h]. La valeur du pH mesuré immédiatement après l'extinction de la lampe UV correspond au pH de l'état photostationnaire. Pour s'en assurer, on a vérifié lors de l'irradiation UV que l'intensité de fluorescence à 517 nm était constante.

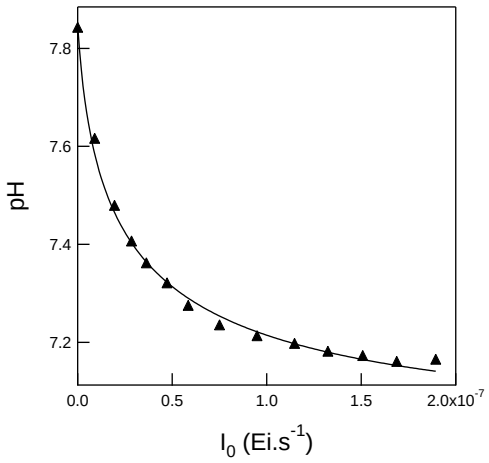


FIGURE 5.18 – *Évolution du pH de l'état photostationnaire d'une solution de 2 mL de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *à 105 µM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) (contenant de la fluorescéine et de la rhodamine B pour mesurer le pH par fluorimétrie comme explicité au paragraphe 5.2.4) en fonction de l'intensité lumineuse à 365 nm.* $I_0 \times 10^9$ *= 0, 9, 20, 29, 36, 47, 59, 75, 95, 115, 132, 151, 169, 189 Ei.s*$^{-1}$*. Triangles : données expérimentales ; ligne : ajustement par l'équation 5.25.* $T = 25\,°C$.

avec $k_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} = k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}$ et $k_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} = k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}$. L'état photostationnaire est donc composé de **TH** et **CH** dont les concentrations sont données par les équations 3.28 et 3.29 (en remplaçant $\overline{\mathbf{T}}$ par **TH** et $\overline{\mathbf{C}}$ par **CH** et en faisant tendre le temps vers $+\infty$) :

$$[\mathbf{TH}] = [\mathbf{TH}]_0 \, \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}{k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} + k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}} \tag{5.21}$$

$$[\mathbf{CH}] = [\mathbf{TH}]_0 \, \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} + k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}} \tag{5.22}$$

En supposant que l'espèce la plus acide (ici **CH**) est présente en suffisamment grande quantité pour imposer le pH du milieu quelle que soit l'intensité lumineuse imposée, [i] on en déduit que :

$$\mathrm{pH} = \frac{1}{2}\left(\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} + \log[\mathbf{CH}]\right) \tag{5.23}$$

d'où

$$\mathrm{pH} = \frac{1}{2}\left(\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} + \log\left[[\mathbf{TH}]_0 \, \frac{k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}}}{k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{CH}} + k^{h\nu}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}} + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}\right]\right) \tag{5.24}$$

En utilisant ensuite les équations 3.19 et 3.20, le pH s'écrit sous la forme :

$$\mathrm{pH} = \frac{1}{2}\left(\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}} + \log\left[\frac{A\,I_0}{B\,I_0 + k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\to\mathbf{TH}}}\right]\right) \tag{5.25}$$

où A et B seront considérées comme des fonctions peu dépendantes de l'intensité I_0. [j]

[i]. à condition qu'elle ne soit pas trop proche de zéro.

[j]. En toute rigueur, le terme $\frac{1-exp(-2.3\,A_{\mathrm{tot}})}{A_{\mathrm{tot}}\,V}$ dépend de I_0 *via* l'absorbance totale de la solution.

L'ajustement des données expérimentales de la figure 5.18 par l'équation 5.25 est satisfaisant, ce qui tend à valider le modèle présenté.

Ainsi, on voit que pour de faibles intensités lumineuses, la constante de vitesse de la réaction thermique joue un rôle important sur l'amplitude du saut de pH : intuitivement, plus la réaction de retour thermique est rapide et plus le saut de pH est faible.

Par contre, dans un régime d'illumination forte, le terme en $B\,I_0$ prédomine sur $k^{\Delta}_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$, le pH du photostationnaire devient indépendant de l'intensité d'éclairement.

5.C Excitation triangulaire

Le générateur de signaux utilisé dans la partie 5.3 étant muni d'une fonction « triangle », nous avons soumis l'échantillon décrit dans le paragraphe 5.3.3 à une excitation trangulaire. La figure 5.19 montre l'évolution des intensités de fluorescence de la fluorescéine et de la rhodamine B en fonction du temps (courbe **a**) et la variation du pH obtenue (courbe **b**).

Cette expérience montre que des oscillations de pH de formes variées peuvent être crées en choisissant une excitation lumineuse adaptée

La réponse en pH observée est ici aussi périodique et peu déphasée par rapport au signal de l'intensité lumineuse.

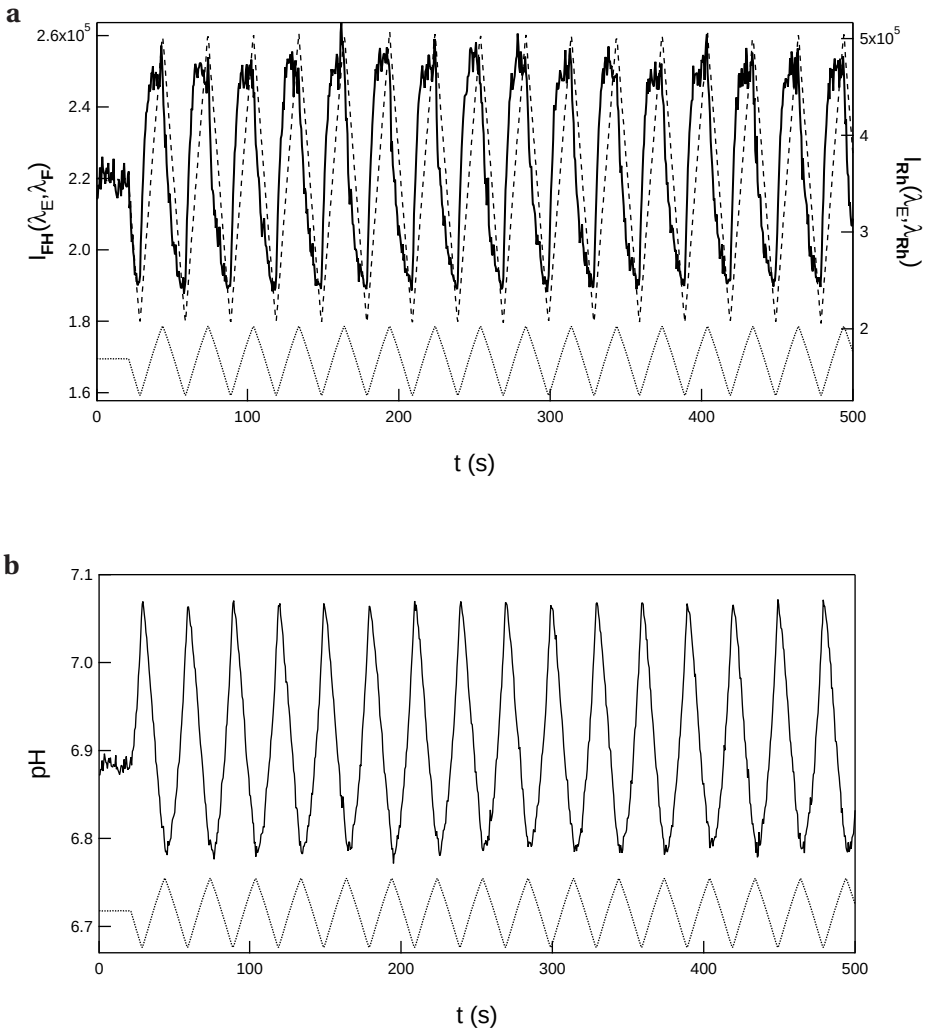


FIGURE 5.19 – ***a*** *Évolution temporelle des intensités de fluorescence enregistrées à 517 nm ($I_{\boldsymbol{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{F}})$, ligne) et à 574 nm ($I_{\boldsymbol{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{Rh}})$, tirets).* ***b*** *: Évolution temporelle du pH (ligne) obtenue (après calibration) à partir de l'évolution du rapport des intensités de fluorescence à 517 nm et à 574 nm ($I_{\boldsymbol{FH}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{F}}) / I_{\boldsymbol{Rh}}(\lambda_E, \lambda_{\boldsymbol{Rh}})$, courbe non représentée). Solution de* $\boldsymbol{THSO_3KCl_3}$ *à 300 µM contenant de la fluorescéine à 10 nM et de la rhodamine B à 10 nM dans un mélange eau / acétonitrile (1/1). La solution a été dégazée pendant 5 min par barbotage de diazote. L'excitation lumineuse à 365 nm (pointillés) est triangle de valeur moyenne* $I_0 = 1.6\ 10^{-7}$ *Ei.s*$^{-1}$*, d'amplitude* $\beta = 0.9$ *et de pulsation* $\omega = 210$ *mHz. T = 25 °C.*

Chapitre 6

Évolutions de la plateforme 2-hydroxyazobenzène pour moduler le pH dans l'eau pure

Introduction

Dans les parties précédentes nous avons étudié la plateforme 2-hydroxyazobenzène et nous avons plus particulièrement montré que les molécules $\mathbf{TH_2Cl_3}$ et $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ pouvaient générer des variations de pH de l'ordre d'une unité sous illumination UV. L'ensemble des résultats présentés ont été obtenus dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (1/1) puisque la plupart des molécules de la série $\mathbf{THXCl_3}$ ne sont pas solubles dans l'eau pure.

L'utilisation d'un mélange binaire contenant une part importante de solvant organique n'est cependant pas sans inconvénient :

- L'immense majorité des données thermodynamiques et cinétiques relatives aux échanges de protons sont tabulées dans l'eau pure et l'extrapolation des grandeurs thermodynamiques et cinétiques dans un autre solvant n'est pas aisée ; [123]
- L'acétonitrile n'est pas un solvant adapté aux organismes vivants. [184] Il n'est donc pas possible de concevoir des applications biologiques basées sur un photo-acide qui n'est efficace que dans un mélange composé à 50 % d'acétonitrile. [a] Par exemple, des expériences visant à moduler le pH d'un milieu dans lequel évoluent des bactéries ne peuvent être réalisées que dans de l'eau. [b]
- Certains systèmes chimiques macro-moléculaires ne sont pas stables en présence de solvants organiques. Par exemple, il n'est pas possible de former des micelles ou des vésicules dans un

[a]. Cependant des objets biologiques tels que des protéines peuvent conserver une activité biologique en solvant organique. [185,186]

[b]. S'il est clair que peu d'organismes vivants peuvent vivre dans un milieu qui contient un solvant organique en quantité importante, cela ne signifie pas que les données physico-chimiques obtenues dans un milieu en partie organique ne sont pas valables en milieu biologique. Par exemple, le voisinage (ou l'intérieur) d'une protéine ne peut pas être considéré comme un milieu purement aqueux et les données physico-chimiques déterminées en milieu semi-organique peuvent alors être considérées comme des ordres de grandeur relevants.

milieu dont la tension de surface est trop faible. [c]

– L'utilisation de micro-systèmes en polydiméthylsiloxane (PDMS) n'est pas optimale en présence de solvants organiques qui font gonfler le polymère comme précisé dans la littérature [187,188] et observé expérimentalement par nos soins.

Compte tenu de ces remarques, nous avons cherché à faire évoluer la plateforme photo-acide présentée dans les chapitres précédent pour être capables de photo-moduler le pH d'une solution aqueuse sans qu'il soit nécessaire d'ajouter un co-solvant organique.

Ce chapitre se compose de deux parties :

1. La présentation des démarches suivies pour tenter d'obtenir un système opérationnel dans l'eau.
2. L'article *Photo-Induced pH Drops in Water* qui présente d'abord les développements synthétiques et instrumentaux nécessaires à l'élaboration d'un tel système, puis qui fournit et analyse les résultats expérimentaux obtenus.

6.1 Conception d'un système photo-acide efficace dans l'eau

La première condition pour qu'un système chimique soit efficace dans l'eau est qu'il y soit soluble. Nous avons donc étudié diverses stratégies pour solubiliser dans l'eau et sans utiliser de co-solvant organique, des molécules de la série **$THXCl_3$** (dont on sait qu'elles ont permis d'obtenir de fortes variations de pH photo-induites dans un mélange eau / acétonitrile).

Trois stratégies ont ainsi été envisagées :

i. l'évaluation de la solubilité de la molécule **$THSO_3KCl_3$** (précédemment étudiée et mise en œuvre dans le mélange binaire eau / acétonitrile (1/1)) dans un solvant purement aqueux ;

ii. l'utilisation d'adjuvants amphiphiles pour solubiliser dans l'eau la molécule **TH_2Cl_3** (précédemment étudiée et mise en œuvre dans le mélange binaire eau / acétonitrile (1/1)) ;

iii. la fonctionnalisation de la série **$THXCl_3$** pour créer de nouvelles molécules ayant un caractère hydrosoluble.

6.1.1 Évaluation de la solubilité de $THSO_3KCl_3$ dans l'eau

Avant d'envisager des démarches demandant un effort de synthèse pour obtenir des variations de pH sous illumination UV dans un système uniquement aqueux, nous avons d'abord testé la solubilité dans l'eau de chacune des molécules de la série **$THXCl_3$** (présentées dans la partie 3.1). Elles se sont toutes montrées hautement insolubles dans l'eau sauf deux d'entre elles : la molécule **$THCO_2HCl_3$** et la molécule **$THSO_3KCl_3$**.

L'étude de la première molécule n'a pas été poussée plus en avant. En effet, elle possède un groupement acide carboxylique qui est un acide faible pouvant jouer un rôle de tampon et perturber la variation de pH.

[c]. De même, nous avons vérifié dans le cadre de ce travail de thèse que l'agarose ne gélifiait pas dans un mélange eau / acétonitrile (1/1) ;

Ainsi, seule la capacité de $\mathbf{THSO_3KCl_3}$ à photo-moduler le pH dans l'eau a été évaluée. Les résultats relatifs à cette étude sont entièrement décrits dans la partie **« 2.1 Sulfonated 2-hydroxyazobenzene »** à la page 1 de l'article proposé dans la deuxième partie de ce chapitre.

6.1.2 Utilisation d'adjuvants amphiphiles

Dans son article évaluant la capacité de la base carbinol du vert malachite à basifier un milieu sous irradiation[85] (voir la description du système dans la partie 1.3.3), Irie est lui aussi confronté à la faible solubilité de sa photo-base dans l'eau. Pour pallier ce problème, il a ajouté à son système un adjuvant de type tensio-actif : le chlorure de dodecyltrimethylammonium. Les tensio-actifs peuvent s'auto-organiser en structure supramoléculaire autour de la molécule hydrophobe (en formant des micelles par exemple) et favoriser ainsi sa solubilisation dans l'eau. La photo-base d'Irie ainsi solubilisée en milieu aqueux s'est montrée hautement efficace à libérer sous irradiation UV des ions hydroxydes et basifier ainsi le milieu.

En suivant la même démarche, nous avons tenté d'augmenter la solubilité dans l'eau de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ en ajoutant des espèces amphiphiles au système.

Utilisation de surfactants

Nous avons d'abord étudié la solubilité de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ dans des solutions contenant des surfactants neutres (octyl–β–D–glucopyranoside noté OG) ou des surfactants cationiques (chlorure d'hexadécyltriméthylammonium noté CTAC [d]) à des concentrations supérieures à leur concentration micellaire critique (CMC) de sorte à former des micelles capables d'entourer et donc de solubiliser le photo-acide hydrophobe.[189,190] Les structures des deux types de surfactants utilisés sont présentées sur la figure 6.1.

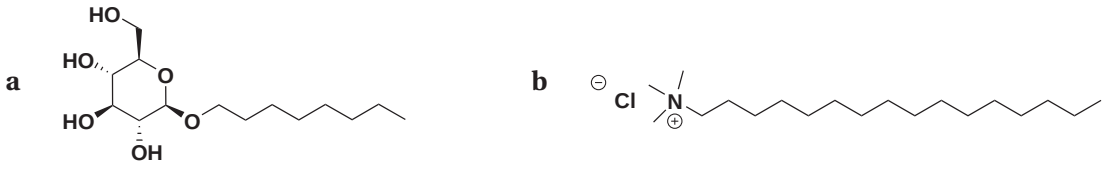


FIGURE 6.1 – Structures des surfactants utilisés. **a** : Octyl–β–D–glucopyranoside ;**b** : Chlorure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAC).

Les résultats obtenus avec les deux types de surfactants sont présentés intégralement dans la partie **« 2.2 The supramolecular approach »** à la page 2 de l'article proposé dans la deuxième partie de ce chapitre.

[d]. Nous avons utilisé le chlorure et pas le bromure (pourtant plus courant et moins cher) dans la perspective d'enregistrer la variation du pH par une méthode fluorimétrique. L'utilisation d'un bromure peut en effet provoquer l'atténuation de la fluorescence des rapporteurs de pH par effet d'atomes lourds.[151]

Utilisation de cyclodextrines

Parallèlement à l'utilisation des surfactants présentés ci-dessus, nous avons tenté d'employer différents types de cyclodextrines pour améliorer la solubilité de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ dans l'eau.

Les cyclodextrines sont des molécules cycliques naturelles composées de sous-unités glucopyranosides reliées entre elles en position α-(1,4) (voir figure 6.2). Trois séries de composés existent (notés α, β et γ). Ils diffèrent par le nombre d'unités glucopyranosides constitutives : la figure 6.3 donne la structure du composé le plus simple de chaque série.

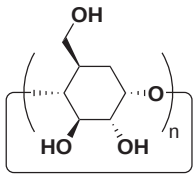


FIGURE 6.2 – *Structure générale d'une cyclodextrine. n = 6, 7 ou 8.*

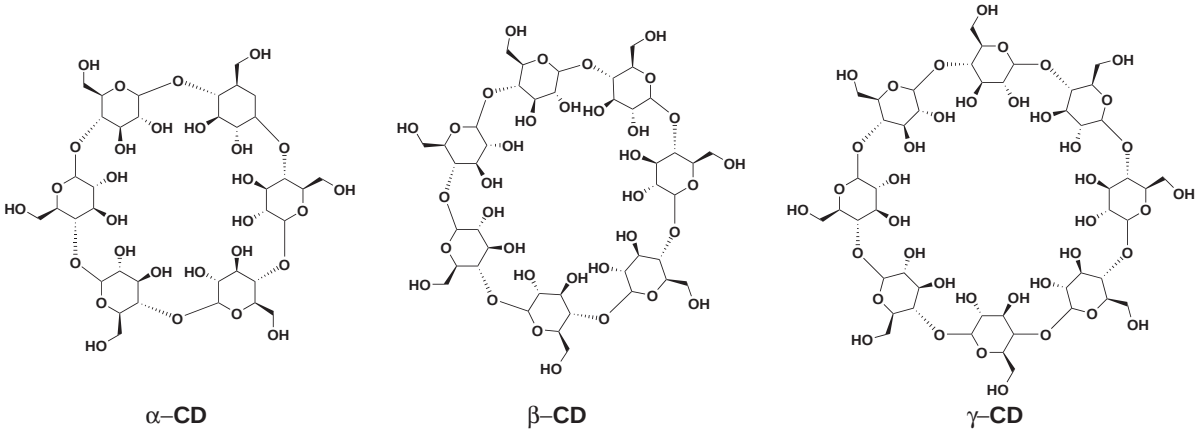


FIGURE 6.3 – *Les structures des cyclodextrines α ($n = 6$), β ($n = 7$) et γ ($n = 8$).*

De part leur topologie particulière, les cyclodextrines ont une forme de cône tronqué : les groupements hydroxyles sont majoritairement répartis sur la face extérieure du cône rendant ainsi la macromolécule soluble dans l'eau. La face intérieure est quant à elle plutôt hydrophobe créant ainsi une cavité dans laquelle des molécules organiques peu solubles dans l'eau et de taille adaptée peuvent être piégées. La cyclodextrine joue ainsi le rôle d'agent solubilisant de nombreuses molécules ou principes actifs hydrophobes.[191–193]

Pour mettre en œuvre les propriétés photo-acides de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ dans l'eau, nous avons essayé de la solubiliser dans une solution aqueuse contenant des cyclodextrines. Plusieurs types de macrocycles disponibles au laboratoire ont été essayées :

– l'α-cyclodextrine ;
– la β-cyclodextrine ;
– l'heptakis(2,6-di-O-methyl)-β-cyclodextrine.

Des solutions aqueuses de concentrations de l'ordre de 10 mM pour les α et β-cyclodextrines et de l'ordre de 100 mM pour l'heptakis(2,6-di-O-methyl)-β-cyclodextrine plus soluble[194] ont été réalisées. La molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a ensuite été introduite en poudre pour obtenir une concentration de l'ordre de 300 μM et le mélange a été agité pendant une nuit à température ambiante.

La solubilisation complète du 2-hydroxyazobenzène n'a été observée que dans le cas de l'heptakis(2,6-di-O-methyl)-β-cyclodextrine. La solution obtenue a ensuite été dégazée par barbotage de diazote puis irradiée dans l'UV (avec une intensité de 1.2 10^{-5} Ei.s^{-1}) et la variation du pH a été enregistrée par la méthode potentiométrique. Un saut de pH d'une amplitude de 0.2 unité de pH a été observé.

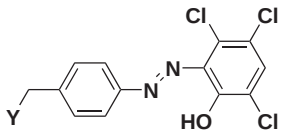
L'amplitude du saut obtenue étant beaucoup plus faible que celle observée avec des solutions de tensio-actifs présentée dans l'article *Photo-Induced pH Drops in Water*, nous n'avons pas poussé plus en avant l'étude des solutions de cyclodextrines pour se concentrer sur les solutions de surfacants.

6.1.3 Fonctionalisation de la plateforme $\mathbf{THXCl_3}$

Pour augmenter la solubilité des molécules de la série $\mathbf{THXCl_3}$ dans l'eau, nous avons envisagé des modifications du squelette carboné pour pouvoir lier à la molécule un groupement hydrosoluble comme un sucre, un PEG (polyethylèneglycol) ou un polymère hydrosoluble comme présenté dans l'article *Photo-Induced pH Drops in Water*.

Conformément aux résultats du chapitre 3, nous avons décidé de conserver un squelette de base du type $\mathbf{TH(CH_2Y)Cl_3}$ représenté sur la figure 6.4. En effet :

- le groupement $\mathbf{CH_2Y}$ en para du noyau aniline a un comportement électronique proche de celui de $\mathbf{THEtCl_3}$ ce qui confère à la molécule une cinétique de relaxation suffisamment lente pour rendre son étude aisée ;
- la partie phénolique de la plateforme 2-hydroxyazobenzène ne peut pas être modifiée sans se confronter à de profonds changements de la cinétique de la relaxation thermique (*cf.* partie 3.3.4).



$\mathbf{TH(CH_2Y)Cl_3}$

FIGURE 6.4 – *Structure générale des molécules ciblées par fonctionnalisation chimique.*

Différentes voies de fonctionalisation (aboutissant à des molécules dont la nature du groupement **Y** varie) ont été menées.

Synthèse de dérivés d'alcool et fonctionalisation

La première méthode de fonctionnalisation envisagée a été de synthétiser un 2-hydroxyazobenzène de la série $\mathbf{THXCl_3}$ possédant un alcool au bout d'une chaîne carbonée située en para du noyau

aniline.

Nous avons donc d'abord essayé d'obtenir la molécule **TH(CH$_2$OH)Cl$_3$** représentée sur la figure 6.5. Pour cela, nous avons condensé le 2,4,5-trichlorophénolate sur le sel de diazonium de l'alcool 4-aminobenzylique.[135,136] Après plusieurs essais, il n'a pas été possible d'isoler la molécule désirée, les différentes analyses effectuées mettent en évidence de nombreux produits de dégradation.

FIGURE 6.5 – *Molécules cibles possédant une fonction alcool sur une chaîne carbonée de longueur variable et située en para du noyau aniline dans la série* ***THXCl$_3$****.*

Nous avons ensuite tenté de synthétiser un dérivé similaire possédant un **CH$_2$** supplémentaire entre le phényl et l'hydroxyle. Comme précédemment, nous avons condensé le 2,4,5-trichlorophénolate sur le sel de diazonium du 2-(4-aminophényl)éthanol.[135,136] Cette synthèse a conduit à la molécule **TH(CH$_2$CH$_2$OH)Cl$_3$** représentée figure 6.5 avec un bon rendement (75 %).

Dans l'idée de greffer un sucre ou un polyéthylèneglycol sur cette molécule, nous avons voulu remplacer la fonction hydroxyle par un chlore en utilisant de la triphénylphosphine et de l'imidazole dans le tétrachlorocarbone.[195] Après plusieurs tentatives, nous ne sommes pas parvenus à isoler le produit désiré. Nous avons finalement laissé de côté cette voie de fonctionnalisation pour nous concentrer sur la fonctionnalisation par une amine présentée plus bas.

Synthèse d'un dérivé d'acide carboxylique

Parallèlement à la tentative de synthèse d'un dérivé hydroxylé, nous avons essayé de synthétiser un dérivé carboxylé (**Y** = **CO$_2$H**) qui peut ensuite être fonctionnalisé en condensant une amine pour former un amide ou un alcool pour faire un ester. [e]

Encore une fois, nous avons tenté de faire réagir le 2,4,5-trichlorophénolate sur le sel de diazonium issu de la diazotation de l'acide aminophénylacétique.[135,136] Nous avons pu isoler et purifier un produit (avec un rendement de 60 %) que nous avons d'abord entrepris d'étudier par spectrophotométrie dans un mélange de tampon aqueux et d'acétonitrile. L'évolution des spectres d'absoption en fonction du pH (voir figure 6.6) montre que le comportement de la molécule obtenue est radicalement différent du comportement générique des molécules de la série **THXCl$_3$** :

- la forme basique absorbe plus que la forme acide ;
- la longueur d'onde du maximum d'absorption de la forme acide est environ 50 nm plus bas que celui de la molécule **TH$_2$Cl$_3$** et celui de la forme basique plus de 100 nm plus bas ;

[e]. Le molécule **THCO$_2$HCl$_3$** possédant un groupement carboxyle directement relié au noyau aromatique a déjà été synthétisée. Cependant, comme nous l'avons vu dans le chapitre 3, la présence d'un groupement électroattracteur dans cette position augmente la vitesse de la réaction de relaxation thermique ce qui n'était pas recherché ici.

– les coefficients d'absorption molaire sont environ deux fois plus faibles que ceux de la molécule **TH_2Cl_3** ;
– la valeur du pK_a mesurée par dosage spectrophotométrique (8.4±0.1) est plus faible que prévue par la corrélation de Hammet de la figure 3.7.

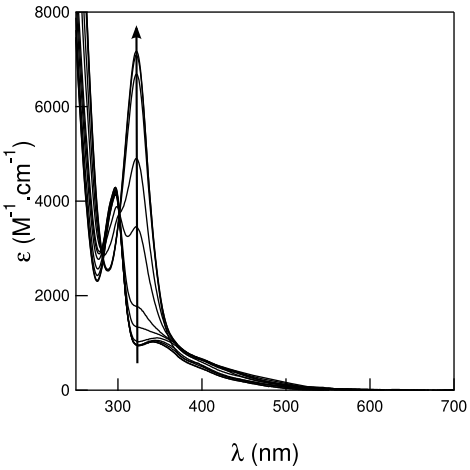


FIGURE 6.6 – *Spectres d'absorption de 100 µM de la molécule obtenue par couplage diazoïque entre le 2,4,5-trichlorophénolate et le sel de diazonium issu de la diazotation de l'acide aminophénylacétique.*[135,136] *Solvant : Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1). pH = 5.0, 5.7, 6.6, 7.2, 7.6, 8.2, 8.6, 9.3, 9.9, 10.4. T = 25 °C. La flèche indique dans quel sens le pH augmente.*

Le spectre de masse nous a finalement confirmé que le molécule obtenue n'était pas le 2-hydroxy-azobenzène attendu mais le produit de couplage direct entre les deux noyaux aromatiques comme illustré sur la figure 6.7. La structure de la molécule obtenue est en accord avec la valeur du pK_a mesurée expérimentalement qui est proche de celle du 2,4,5-trichlorophénolate (8.3). [f]

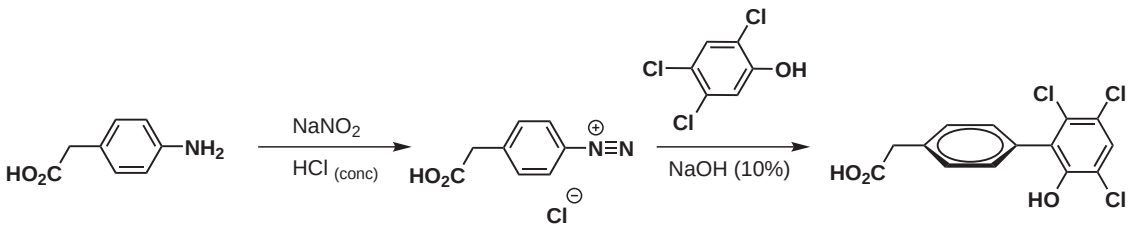


FIGURE 6.7 – *Schéma réactionnel de la réaction de couplage diazoïque entre l'acide aminophénylacétique et le 2,4,5-trichlorophénolate.*[135,136]

Le mécanisme de ce couplage n'a pas été étudié plus en avant et la voie de synthèse d'un dérivé carboxyle a finalement été abandonnée au profit de la fonctionnalisation par une amine développée ci-dessous.

[f]. Le pK_a du phénol n'est que peu modifié par l'autre noyau aromatique qui est dans le plan orthogonal au plan du premier cycle.

Synthèse d'un dérivé d'amine

Après les échecs des deux premières voies nous avons entrepris de fonctionnaliser la plateforme avec un groupement amine. Pour cela nous avons eu recourt à une synthèse de Gabriel comme illustré sur le schéma de synthèse de la figure 5 de l'article *Photo-Induced pH Drops in Water*. Du phthalimide de potassium a été condensé sur le 1-chlorométhyl-4-nitro-benzène[196] avec un excellent rendement (96 %). Le produit obtenu a été hydrogéné sur palladium pour réduire la fonction nitro[197] avec un excellent rendement (98 %). L'aniline obtenue a été convertie en sel de diazonium sur lequel le 2,4,5-trichlorophénolate a été condensé[135,136] pour conduire à un 2-hydroxyazobenzène protégé avec un rendement de 60 %.

La dernière étape consiste en l'ouverture du phthalimide pour libérer l'amine. La méthode la plus couramment décrite est celle de Ing-Manske[198–200] qui utilise de l'hydrazine $\mathbf{NH_2NH_2}$ dans l'éthanol. Dans notre cas, cette procédure a conduit au clivage réducteur de la double liaison azote-azote.

Conformément à la littérature,[201] nous avons remplacé l'hydrazine par la méthylhydrazine qui est décrite comme solution secondaire en cas de réduction d'une partie de la molécule lors de l'ajout d'hydrazine. Ici encore seul le clivage réducteur est observé. [g]

L'hydrolyse acide (HCl et AcOH ou TFA)[203,204] a laissé le produit inchangé tandis que l'hydrolyse basique (avec de la soude ou de la potasse) n'a pas permis d'aller plus loin que la mono-ouverture.

Des méthodes de transimidification ont alors été essayées, soit en utilisant une solution de méthylamine dans du THF,[205] soit en utilisant la butylamine comme solvant. Dans les deux cas, la réaction de mono-ouverture (formation d'un diamide) est d'abord observée à froid. En chauffant, le produit se dégrade.

Finalement la molécule protégée par le phthalimide a été mise à réagir dans l'éthylènediamine et a été soniquée pendant 3h. La réaction a été suivie par RMN jusqu'à disparition du produit de départ. Après extraction avec du DCM et lavage de la phase organique avec de la saumure, l'amine délivrée de la phthalimide a été isolée. La double addition sur la phthalimide conduit à un sous-produit soluble en phase aqueuse qui a été identifié comme étant la (*N*, *N*')-bis-(2-amino-ethyl)-phthalamide. Cette méthode de déprotection est finalement réalisée avec un très bon rendement (90 %).

Le 2-hydroxyazobenzène ainsi fonctionnalisé a ensuite été condensé sur un polymère hydrosoluble et utilisé pour générer des sauts de pH photo-induits dans l'eau comme présenté dans la partie **« 2.3 The polymer approach »** à la page 3 de l'article proposé dans la deuxième partie de ce chapitre.

[g]. Aux vues du caractère oxydant du motif azo de notre molécule, la méthode d'ouverture réductrice de la phthalimide par $\mathbf{NaBH_4}$ dans un alcool[202] n'a pas été tentée.

6.2 Article : Photo-induced pH Drops in Water

Cet article a été réalisé en collaboration avec Jing Sun, post-doctorante de l'équipe qui a condensé la molécule $\mathbf{TH(CH_2NH_2)Cl_3}$ sur un polymère hydrosoluble et mené l'étude physico-chimique de la macromolécule ainsi obtenue. Elle a en particulier réalisé les études relatives à la taille des macromolécules par diffusion dynamique de la lumière (DLS).

6.3 Conclusions et perspectives

Dans ce chapitre nous avons montré que la plateforme 2-hydroxyazobenzène est adaptée pour photo-moduler le pH d'une solution purement aqueuse. Trois stratégies complémentaires ont été utilisées.

Ainsi, pour faire varier le pH aux alentours de la neutralité, il est possible d'utiliser directement la molécule **$THSO_3KCl_3$** qui a une dynamique de relaxation rapide mais qui conduit à des sauts de pH de faible amplitude. *A contrario*, le polymère hydrosoluble auquel nous avons greffé le photo-acide permet d'obtenir des sauts de pH plus importants au prix d'une dynamique de relaxation plus lente.

Parallèlement, l'utilisation de tensio-actifs cationiques comme le CTAC pour dissoudre le photo-acide **TH_2Cl_3** permet d'obtenir des sauts de pH d'une forte amplitude dans la zone acide de l'échelle de pH.

Nous continuons à rechercher des moyens efficaces pour solubiliser la plateforme 2-hydroxyazobenzène dans l'eau à des concentrations encore plus hautes. À ce titre, une molécule très soluble (jusqu'à environ 10 mM) a récemment été synthétisée par la méthode de couplage diazoïque classique : elle présente un noyau naphtalène deux fois substitué par des groupements sulfonates (voir figure 6.8).

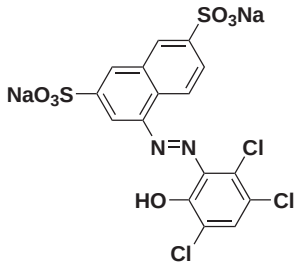


FIGURE 6.8 – *Molécule α–**Napht(SO$_3$Na)$_2$TH$_2$Cl$_3$**.*

L'évolution de son spectre d'absorption en fonction du pH peut être trouvée en annexe B. Ses caractéristiques spectrales sont proches de celle de **$THSO_3KCl_3$** dans l'eau (λ_{max}(**TH**) = 349 nm et λ_{max}(**T**) = 466 nm). Le pK_a du phénol de l'isomère trans vaut 7.4±0.1, valeur sensiblement égale à celle de **$THSO_3KCl_3$** dans l'eau (7.3 ± 0.1). Pour l'instant, le pK_a de la forme cis n'a pas été mesuré. En effet, la cinétique de la réaction de relaxation thermique de cette molécule est trop rapide pour pouvoir le déterminer avec une bonne précision. Une mesure de ce pK_a basée sur une méthode fréquentielle analogue à celle présentée dans la partie 4.2 est à l'étude.

Chapitre 7

Structuration spatiale du pH

Introduction

Le contrôle spatial de la concentration de molécules actives connaît un essor important depuis les trente dernières années en particulier grâce au développement de systèmes optiques permettant un éclairage puissant avec une résolution spatiale élevée.

Des irradiations lumineuses structurées par des masques opaques ou générées par des systèmes optiques proprement collimatés ont ainsi été mises à profit dans l'élaboration de systèmes artificiels complexes dont la concentration d'au moins une espèce constitutive présente une forte anisotropie spatiale. Ces systèmes trouvent des applications dans des champs variés allant de la micro-électronique à l'encapsulation cellulaire[206] en passant par la synthèse multi-étape photochimiquement dirigée[207] ou la micro-fluidique.[208]

Si le contrôle tridimensionnel reste encore difficile à mettre en œuvre,[209] de nombreuses techniques conduisant à une structuration bi-dimensionnelle de l'espace sont disponibles. Trois méthodes ont été majoritairement utilisées :

la photo-lithographie dont le principe repose sur la déposition préalable d'une résine photo-sensible sur un substrat semi-conducteur. Une irradiation structurée modifie chimiquement la résine de sorte à mettre à nu le semi-conducteur dans les zones irradiées (ou partout ailleurs, selon le type de résine employée).[210]

le greffage qui nécessite une surface préalablement fonctionnalisée mise en contact avec une solution contenant des molécules photo-sensibles. Sous irradiation lumineuse structurée, les molécules réagissent avec les groupements fonctionnels de la surface uniquement dans les zones éclairées.[211]

la photo-déposition qui met à profit la synthèse photo-induite d'objets solides ou gélifiés à partir d'une solution en contact avec une surface inerte. Dans les zones irradiées les objets se déposent simplement sur la surface.[212,213]

À titre d'exemple, la figure 7.1 montre un champ de vue microscopique recouvert par endroits par un hydrogel. Cette structuration est obtenue en soumettant à une irradiation structurée spatialement une solution contenant d'une part des monomères de type PEG fonctionnalisés par des groupements

azides et d'autre par des agents réticulants fonctionnalisés par des alcynes vrais. La solution contient aussi du cuivre (II) et un agent réducteur photo-activable qui réduit le cuivre (II) en cuivre (I) dans les zones irradiées. S'en suit une réaction de *click-chemistry* qui conduit à la synthèse de l'hydrogel dans les zones illuminées seulement. Un masque opaque permet de structurer l'excitation lumineuse.[212]

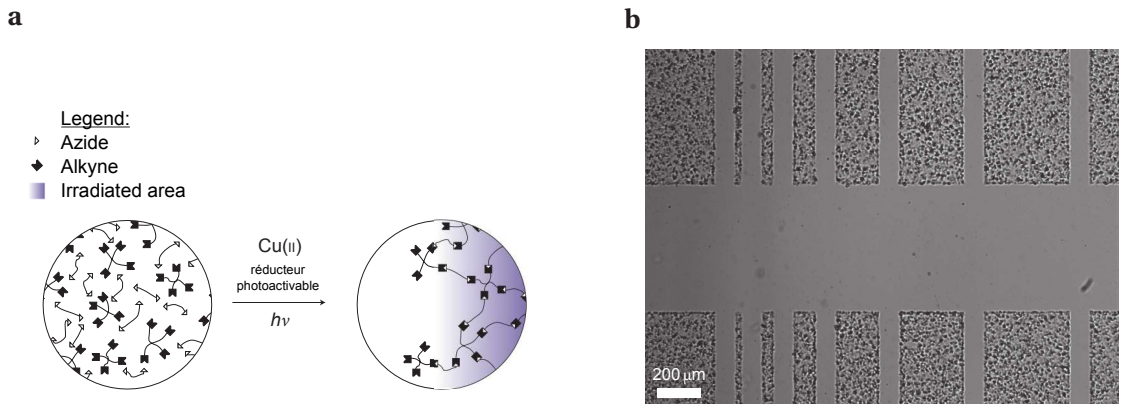


FIGURE 7.1 – *Synthèse spatialement structurée d'un hydrogel par click chemistry.* ***a*** *: Schéma de principe.* ***b*** *: Champ de vue obtenu. Le masque opaque utilisé est constitué de barres de 25, 50, 100, 200, 300 et 400 µm séparées par des espaces de 100 µm. Reproduit de Adzima et al.*[212]

L'ensemble des méthodes présentées ci-dessus ont en commun leur caractère irréversible qui permet *in fine* d'obtenir un objet stable dans le temps. Cette irréversibilité se manifeste à la fois au niveau de la réaction photochimique mais aussi de part le caractère fixe de l'objet formé. En effet, la réaction photochimique conduit soit à des objets sous forme de solide ou de gel qui se déposent sur une surface, soit à des espèces qui se lient covalemment à la surface.

Ces différentes méthodes nous ont donné l'idée d'utiliser la plateforme 2-hydroxyazobenzène pour réaliser une structuration spatiale de la concentration en proton d'une solution en utilisant une excitation lumineuse elle-même spatialement structurée. Cependant, contrairement aux systèmes évoqués ci-dessus, les photo-acides présentés dans ce travail de thèse sont intrinsèquement réversibles, puisque si l'excitation lumineuse est coupée, le système relaxe vers l'état initial. De plus, aucune modification de l'état physique des molécules ne leur permet de conduire à des objet immobilisés sur une surface.

Nous avons donc entrepris de générer des structurations spatiales du pH sous illumination continue. Ces structures hors équilibre disparaissent une fois l'excitation lumineuse coupée par des processus relaxatifs et diffusionnels.

Ce chapitre présente dans une première partie les conditions expérimentales (et en particulier le montage optique) utilisées pour obtenir une structuration spatiale du pH sous illumination UV. Dans la deuxième partie, des résultats préliminaires sont exposés, validant le montage optique réalisé et nous amenant vers une troisième partie dans laquelle nous revenons sur l'étude photochimique de la plateforme 2-hydroxyazobenzène à plus haute longueur d'onde. Dans la quatrième partie, des expériences d'illumination structurée à une dimension, théoriquement plus facilement modélisables, sont proposées.

7.1 Conditions expérimentales et montage optique

L'obtention d'un profil spatial de pH fait intervenir quatre éléments principaux :

i. l'échantillon contenant d'une part le photo-acide qui va libérer des protons sous illumination UV et d'autre part un rapporteur de pH fluorescent ;

ii. une source de lumière UV spatialement structurée permettant d'exciter le photo-acide en certains points de l'espace et pas en d'autres ;

iii. une source de lumière de longueur d'onde plus élevée permettant d'exciter le rapporteur de pH fluorescent ;

iv. un système d'acquisition de l'intensité lumineuse.

Nous allons détailler la nature de ces éléments constitutifs dans les paragraphes suivants.

7.1.1 L'échantillon

Compte tenu des difficultés instrumentales inhérentes à l'obtention de structurations tridimensionnelles de l'excitation lumineuse, nous avons d'abord entrepris d'observer un profil spatial de pH en deux dimensions. Ainsi, l'échantillon utilisé est placé entre une lame et une lamelle et son volume est choisi de sorte à ce que la hauteur caractéristique soit très petite devant la largeur et la hauteur. Nous avons typiquement utilisé un dispositif ayant une longueur et une largeur de 1 cm pour une hauteur comprise selon les expériences entre 10 et 200 μm. Le schéma du dispositif utilisé est représenté sur la figure 7.2.

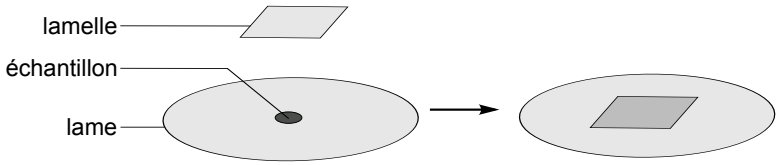


FIGURE 7.2 – *Schéma du dispositif utilisé pour préparer l'échantillon contenant le photo-acide et un rapporteur fluorescent.*

Comme dans la partie 5.2, nous souhaitons suivre l'évolution du pH du système par une méthode optique. [a] Pour cela, nous avons ajouté à l'échantillon un rapporteur de pH fluorescent. Nous utilisons ici encore la fluorescéine. Contrairement à ce qui a été fait dans la partie 5.2 nous n'avons pas ajouté d'autre indicateur fluorescent pour corriger l'intensité de fluorescence du terme d'absorbance de la solution (voir paragraphe 5.2.3). En effet, le trajet optique de la lumière dans l'échantillon est très court (inférieur à quelques centaines de micromètres) et la concentration en photo-acide reste de l'ordre de celle utilisée dans la partie 5.2 (*i.e.* environ 200 μM), ce qui donne une absorbance maximale de l'ordre de 10^{-2}. Il est alors possible de développer l'équation 5.5 au premier ordre pour se rendre compte que l'intensité de fluorescence ne dépend plus de l'absorbance totale de la solution.

[a]. La structuration spatiale du pH recherchée est à l'échelle de quelques millimètres, il n'est donc pas aisé de relever le pH du milieu à l'aide d'un dispositif potentiométrique comme réalisé dans la partie 5.1.

Par ailleurs, l'échantillon peut être thermostaté à l'aide d'un module Peltier pour éviter l'échauffement dû aux diverses irradiations auxquelles il est soumis.

7.1.2 Lumière excitatrice : laser UV

L'excitation UV a été réalisée avec un laser UV émettant à 375 nm et ayant une puissance de 12 mW. Il a été monté sur une table optique de sorte à pouvoir faire arriver le rayon laser à la verticale de l'échantillon. Des miroirs optiques (Broadband Dielectric Mirror, 350–400 nm) spécialement conçus pour réfléchir les UV ont été utilisés pour modifier la direction du faisceau. De plus, le laser a été collimaté sur l'échantillon à l'aide de lentilles convergentes de focale 100 mm n'absorbant pas dans l'UV. La partie supérieure de la figure 7.3 schématise le montage du laser UV utilisé.

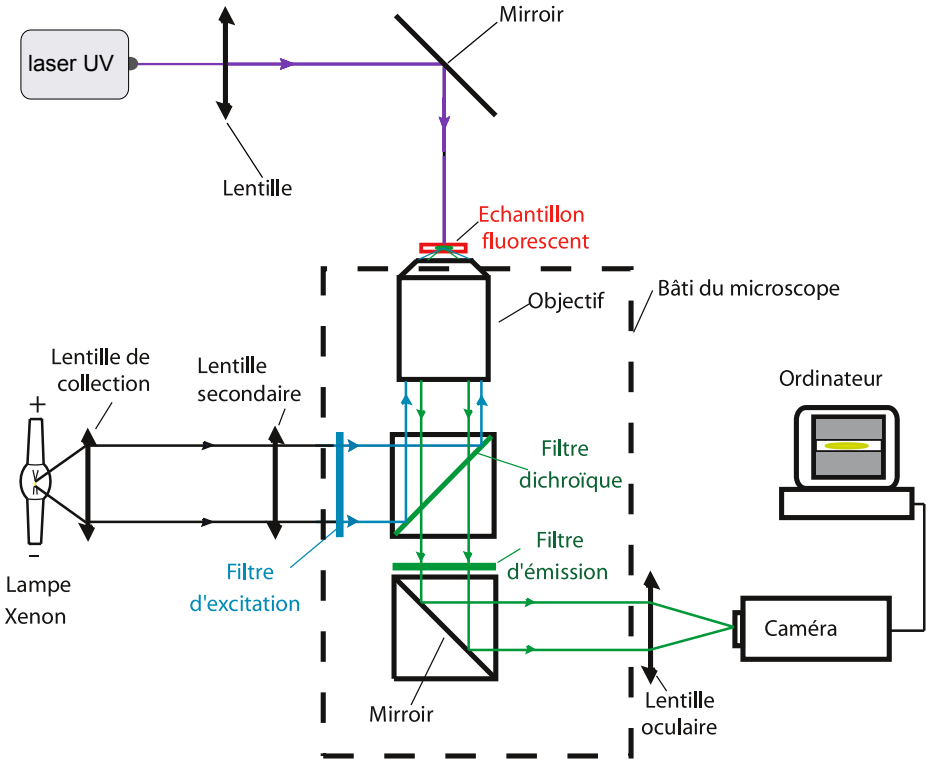


FIGURE 7.3 – *Schéma du microscope d'épifluorescence utilisé. Le rectangle pointillé est le bâti du microscope qui supporte le cube contenant le filtre dichroïque, le filtre d'excitation et le filtre d'émission, le miroir inférieur, l'objectif et la platine. Reproduit et modifié d'après Estévez-Torres.*[214]

Les méthodes permettant d'obtenir un éclairement UV structuré spatialement sont décrites dans les parties suivantes de ce chapitre.

7.1.3 Source de lumière blanche et récepteur : microscope d'épifluorescence couplé à une caméra CCD

L'observation des différents profils de pH a été réalisée par microscopie de fluorescence. Pour ce faire, nous avons modifié un microscope d'épifluorescence construit dans un travail de thèse précédent.[214]

Un montage d'épi-fluorescence se caractérise par le fait que la même lentille (un objectif de microscope de grossissement 4 en l'occurrence) est utilisée pour focaliser la lumière servant à l'excitation du rapporteur fluorescent et pour récupérer le signal d'émission de fluorescence. Pour distinguer les deux signaux, on profite du décalage spectral entre la bande d'absorption et d'émission d'un fluorophore (d'environ 20 nm pour la fluorescéine) et d'un jeu de filtres.

La partie basse de la figure 7.3 décrit le montage réalisé. Il est constitué d'une source lumineuse blanche (100 W xenon ozone free), d'un jeu de filtres, d'un objectif de microscope et d'une série de lentilles. Une caméra CCD permet d'imager l'intensité de fluorescence de l'échantillon. La lumière blanche est d'abord focalisée convenablement avec deux lentilles, puis filtrée avec un filtre passe-bande (filtre d'excitation centré sur 480 nm [b] et de bande passante de 25 nm) et renvoyée à 90 ° vers l'objectif, par un filtre dichroïque (Dual Band Dichroic FF505/606-Di01). L'échantillon est ainsi excité dans une plage de longueur d'ondes délimitée par le filtre d'excitation. La fluorescence émise est collectée par le même objectif, puis traverse le miroir dichroïque et un deuxième filtre passe bande (filtre d'émission centré sur 525 nm et de bande passante 30 nm) qui a un recouvrement quasi nul avec le filtre d'excitation pour bloquer les réflections parasites de la lumière d'excitation, beaucoup plus puissantes que le signal de fluorescence. La lumière de fluorescence est finalement focalisée sur la partie sensible de la caméra à l'aide d'une lentille placée à la focale.

La caméra CCD permet d'obtenir une « image » de la fluorescence de l'échantillon. Naturellement, les zones brillantes correspondent aux domaines de l'espace où la fluorescence est forte et les zones sombres où elle est faible. Avec un objectif d'un grossissement de 4, le champ de vue observé par la caméra est un carré de 2,4 mm de coté.

Un logiciel d'acquisition (Solis Imaging Software) puis un logiciel de traitement de données (Solwin, programmé en C par des membres de l'équipe) ont été successivement utilisés pour exploiter les images.

7.2 Obtention d'un profil de pH centro-symétrique

7.2.1 Collimation du laser UV

La première expérience réalisée pour obtenir une structuration spatiale du pH de l'échantillon a été de collimater simplement le faisceau laser à l'aide d'une lentille convergente de sorte à ce que seule une portion du champ de vue soit soumise à l'excitation UV.

L'image de la figure 7.5 montre le champ de vue observé lorsqu'une solution ne contenant que de la fluorescéine est irradiée par le faisceau laser ainsi collimaté. [c]

Nous observons un disque lumineux approximativement centro-symétrique et dont le diamètre est évalué à 220 μm dans le champ de vue de 2.4 mm.

[b]. La longueur d'onde de la lumière excitatrice a été choisie suffisamment haute pour ne pas exciter les molécules de photo-acide.

[c]. Pour ne pas aveugler la caméra, des densités optiques fortes (3 ou 4) ont été placées sur le trajet du rayon laser pour en diminuer la puissance. Ces densités ont été retirées pour les manipulations de modifications de pH photoinduites présentées ci-dessous.

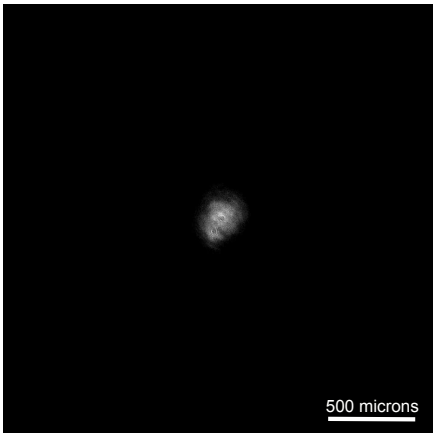


FIGURE 7.4 – *Image du laser dans une solution de fluorescéine seule à la concentration de 1 µM dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (1/1).*

7.2.2 Profil de pH observé

Nous avons ensuite substitué la solution de fluorescéine seule par une solution de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ de concentration 2 10^{-4} M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle nous avons ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2 10^{-6} M. Le volume de solution introduit entre lame et lamelle est tel que l'épaisseur de liquide soit de 20 μm. L'échantillon a ensuite été irradié par le laser UV collimaté comme précisé plus haut. [d]

Bien que nous cherchions à obtenir un profil spatial de pH stationnaire sous illumination, il ne nous a pas été possible d'imager le profil de pH en laissant le laser UV allumé. En effet, la très forte puissance du laser génère une intensité de fluorescence importante qui aveugle la caméra, rendant impossible l'observation conjointe du signal de fluorescence dû à l'éventuelle variation de pH et celui résultant de l'excitation laser.

Pour pallier ce problème, nous avons enregistré un film dont la première image correspond à la situation initiale (avant d'allumer le laser) et montre un champ de vue homogène. Le laser est ensuite allumé pendant 30 s puis éteint tout en laissant la caméra enregistrer les images avec une fréquence d'acquisition de plusieurs images par seconde. [e] La figure 7.5 montre ainsi la succession des images obtenues après extinction du laser. [f]

Le première image (correspondant à l'état du système au moment de l'extinction du laser) montre au centre une zone sombre d'un diamètre caractéristique d'environ 400 μm. La couleur sombre de la zone signale que la fluorescéine brille moins que dans la périphérie. Nous pouvons faire l'hypothèse que cela traduit une diminution du pH de la solution dans la zone soumise à l'excitation UV.

[d]. Le pH initial est mesuré à 7.7, valeur adaptée à notre objectif puisque le temps caractéristique de la relaxation thermique est de l'ordre de 180 s, ce qui est suffisamment lent pour espérer observer un phénomène.

[e]. Nous verrons dans la partie 7.2.4 que la première image après extinction du laser donne une bonne approximation de l'état photostationnaire du système puisque le temps caractéristique de relaxation du système est très grand devant la durée séparant deux images.

[f]. Ne voulant pas surcharger trop la figure nous avons seulement gardé une image toutes les secondes.

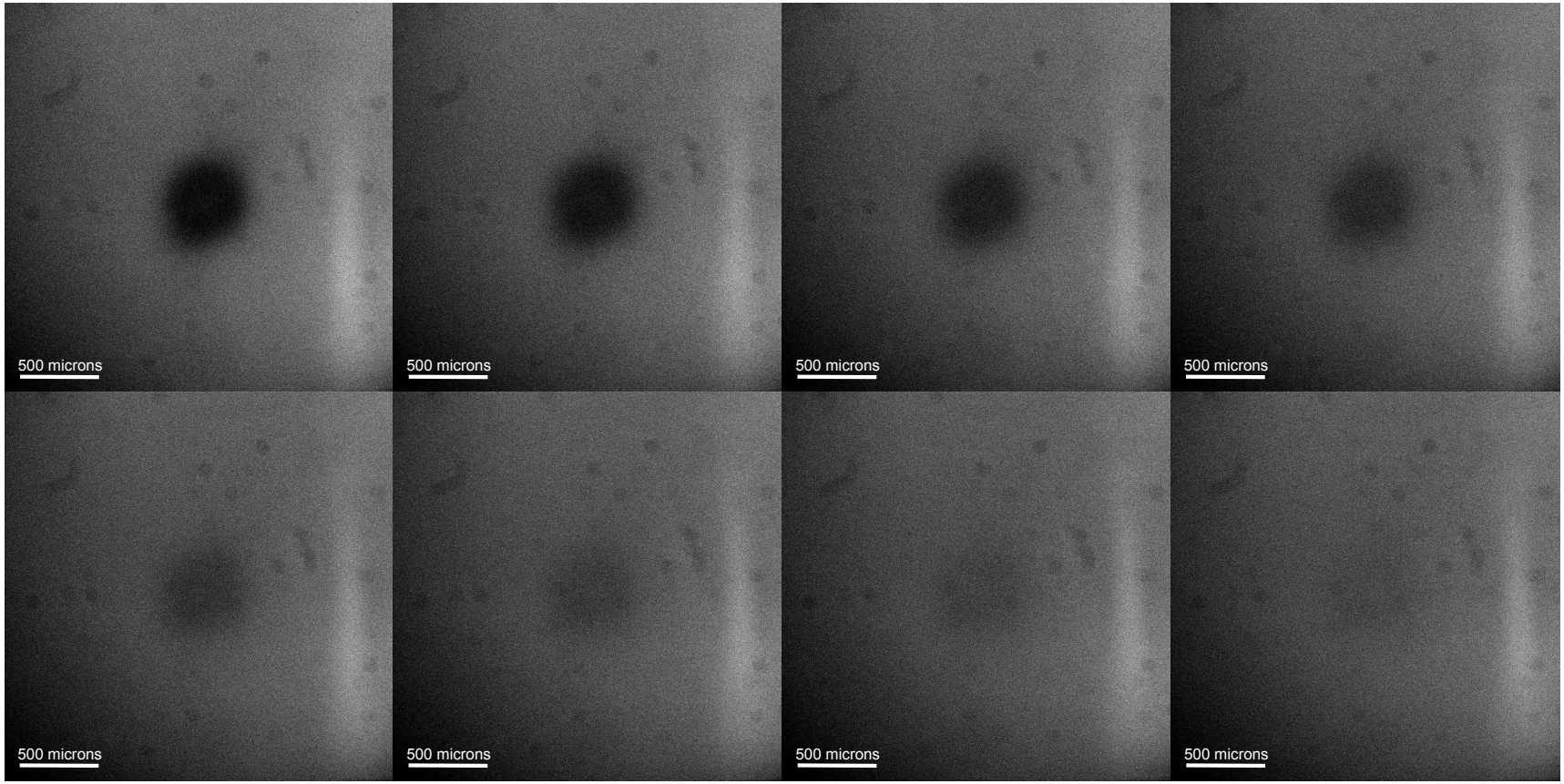


FIGURE 7.5 – *Succession d'images du profil spatial de pH obtenu avec une solution de* TH_2Cl_3 *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M. Le laser émet à 375 nm avec une puissance de 10 mW (mesuré au powermètre placé juste avant l'échantillon) ce qui correspond à 3.1* 10^{-8} $Ei.s^{-1}$ *et le spot a un diamètre de 200 µm (soit une intensité surfacique de* $1\ 10^{-4}$ $Ei.s^{-1}.cm^{-2}$*). Le pH initial de la solution est de 7.7. T = 25 °C.* Images espacées de 1 s.

7.2.3 Expériences de contrôle

Pour confirmer cette hypothèse, plusieurs expériences de contrôle ont alors été réalisées :

i. Nous avons montré que la variation du pH est localisée uniquement dans la zone irradiée. Pour cela, nous avons vérifié que l'intensité de fluorescence loin de la zone éclairée garde la même valeur avant allumage du laser, pendant l'irradiation et après l'extinction du laser. Ce résultat montre que l'acidification du milieu est uniquement locale.

ii. La stationnarité du profil spatial observé a ensuite été établie. Nous avons ainsi irradié l'échantillon pendant des durées croissantes allant de 5 s à 60 s. Nous avons ensuite vérifié que d'une part, la taille caractéristique de la zone sombre et que, d'une part, l'intensité de fluorescence moyennée au centre de cette zone sont indépendantes du temps d'excitation. Il s'avère qu'au delà de 30 s de temps d'exposition, le profil peut être considéré comme stationnaire.

iii. Enfin nous avons vérifié que la variation de l'intensité de fluorescence dans la zone irradiée par le laser est due à la présence du photo-acide. Cela a été réalisé en irradiant une solution de fluorescéine seule à la même composition et dans le même solvant. Dans ce cas, le profil d'éclairement reste homogène ce qui traduit le fait que le photo-acide joue un rôle crucial dans la structuration du champ de vue. [g]

Ces expériences de contrôle confirment que la plateforme 2-hydroxyazobenzène est adaptée pour moduler spatialement le pH d'une solution. De plus, l'annexe 7.C montre que d'autres types des profils spatiaux de pH ont pu être obtenus en utilisant des géométries d'excitation lumineuse différentes, mettant ainsi en évidence la robustesse du système pour moduler spatialement le pH d'un milieu.

7.2.4 Étude de l'évolution temporelle du profil après extinction

Les images de la figure 7.5 montrent qu'une fois l'excitation UV coupée, le profil disparaît peu à peu. *In fine*, l'ensemble du champ de vue est à nouveau complètement homogène montrant que le pH revient à la même valeur que celle du reste du champ de vue. Cette relaxation est assurée *a priori* par la relaxation thermique du 2-hydroxyazobenzène mais aussi par la diffusion.

Quantitativement, la figure 7.6 montre l'évolution temporelle de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine au centre de la zone illuminée en fonction du temps une fois le laser UV coupé. La courbe montre que l'intensité de fluorescence revient à la valeur initiale avec un temps caractéristique de l'ordre de 15 s.

7.2.5 Analyse du temps caractéristique de disparition du profil avec les paramètres physico-chimiques du système

Il est possible de dériver des ordres de grandeur des temps caractéristiques de diffusion et de relaxation thermique du système au pH considéré et de comparer ces temps au temps caractéristique de disparition du profil de pH estimé sur la figure 7.6.

[g]. En particulier, nous avons ainsi vérifié qu'aucun photo-blanchiment du rapporteur fluorescent n'était observé sous excitation du laser.

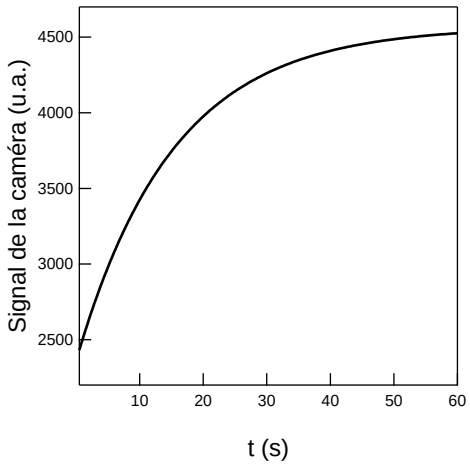


FIGURE 7.6 – *Évolution de l'intensité de fluorescence de la fluorescéine au centre de la zone irradiée pendant 30 s avec le laser UV. L'instant initial correspond à la date de l'extinction du laser UV. Solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle nous avons ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M. Le pH initial de la solution est de 7.7. T = 25 °C.*

Temps caractéristique de relaxation thermique

Comme on l'a fait dans le chapitre 5 en utilisant la figure 3.11, ce temps caractéristique peut être évalué pour la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à environ 180 s à pH = 7.7.

Temps caractéristique de diffusion

En considérant un coefficient de diffusion de l'ordre de 10^{-9} m^2s^{-1} pour les molécules de 2-hydroxyazobenzène ou de fluorescéine,[215] le temps caractéristique nécessaire à une molécule pour sortir de la zone de faible pH (dont la dimension caractéristique est estimée à environ 400 μm) est de l'ordre de 160 s.

Bilan

La combinaison de la diffusion et de la relaxation thermique n'est pas triviale à modéliser analytiquement. Cependant, l'estimation des temps caractéristiques des deux processus réalisée ci-dessus permet de déduire que la combinaison des deux phénomènes se fait sur une durée au moins de l'ordre de 180 secondes. Ce temps est trop long par rapport à celui déterminé sur la figure 7.6 (15 s).

Pour comprendre pourquoi le temps de relaxation du système est plus court que celui prévu par la théorie basée sur les valeurs des grandeurs cinétiques déterminées dans les chapitres 3 et 4, nous avons émis plusieurs hypothèses :

i. La réaction de relaxation thermique est plus rapide que la théorie ne le prévoit car le système chauffe sous irradiation à 480 nm. Pour tester cette hypothèse, nous avons thermostaté le système à l'aide d'un module Peltier dont les caractéristiques techniques sont bien connues dans notre équipe de recherche.[115,216] Finalement, les temps caractéristiques de relaxation se sont révélés identiques dans les expériences thermostatées ou non thermostatées.

ii. Les coefficients de diffusion des espèces chimiques impliquées sont beaucoup plus grands que ceux que nous avons anticipés. Cependant, en dérivant l'ordre de grandeur du coefficient de diffusion nécessaire pour que les molécules sortent de la zone éclairée en 15 s, on trouve une valeur d'environ $3\,10^{-9}$ m^2s^{-1} trop élevée pour des molécules de la taille de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ ou de la fluorescéine. [h]

iii. L'illumination à 480 nm nécessaire pour exciter la fluorescéine joue un rôle sur le temps caractéristique de la réaction d'isomérisation cis→trans. Pour tester cette hypothèse nous avons augmenté l'intensité lumineuse de la lumière excitatrice à 480 nm en retirant un filtre neutre et enregistré la variation de l'intensité de fluorescence de la zone illuminée 30 s par le laser après extinction de ce dernier. On observe alors qu'en augmentant l'intensité d'un facteur 10, le temps caractéristique de disparition de la zone sombre est divisé par deux.

Nous avons finalement mis en évidence que l'excitation lumineuse à 480 nm qui a pour but initial d'exciter la fluorescéine sans exciter le 2-hydroxyazobenzène a un effet sur la cinétique des réactions photochimiques. Pour avoir un rapport signal sur bruit correct, il ne nous est pas possible de réduire fortement l'intensité lumineuse de cette lumière excitatrice. Nous avons donc décidé d'étudier précisément son influence sur les réactions photochimiques dans la partie suivante.

7.3 Étude de la photochimie de la plateforme 2-hydroxyazobenzène vers 480 nm

Pour évaluer les effets d'une irradiation vers 480 nm sur les réactions photochimiques de la plateforme 2-hydroxyazobenzène, nous avons ré-employé les démarches expérimentales utilisées dans les chapitres 3 et 4. En particulier, nous avons temporairement abandonné l'illumination structurée à deux dimensions pour revenir à des manipulations en cuvette avec un éclairement homogène.

7.3.1 Observations préliminaires

Pour mettre en évidence l'éventuel effet d'une excitation à 480 nm sur la cinétique des réactions photochimiques de la plateforme 2-hydroxyazobenzène , nous avons repris le protocole décrit dans la partie 4.3 du chapitre 4 à 480 nm en utilisant la méthode de relaxation avec l'absorbance comme observable. Pour cela nous avons utilisé le spectrophotomètre « ouvert » à barrette de diodes permettant d'enregistrer la variation de l'absorbance d'une solution tout en l'irradiant continûment avec des puissances d'excitation variables.

La figure 7.7 montre l'évolution de l'absorbance à 347 nm (maximum d'absorbance) d'une solution de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ à la concentration de $5.8\,10^{-5}$ M dans un mélange de tampon de Britton-Robinson [129] (acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v) à pH = 4, irradiée à 480 nm avec des puissances comprises entre $4.8\ 10^{-8}$ et $3.5\ 10^{-7}$ $Ei.s^{-1}$. [i]

[h]. La valeur de 10^{-9} m^2s^{-1} concerne d'ailleurs des molécules comme l'acide salicylique, plus petites que $\mathbf{TH_2Cl_3}$ ou que la fluorescéine. [215]

[i]. La détermination de l'intensité lumineuse moyenne à 480 nm est explicitée dans la partie C.2 de l'annexe C.

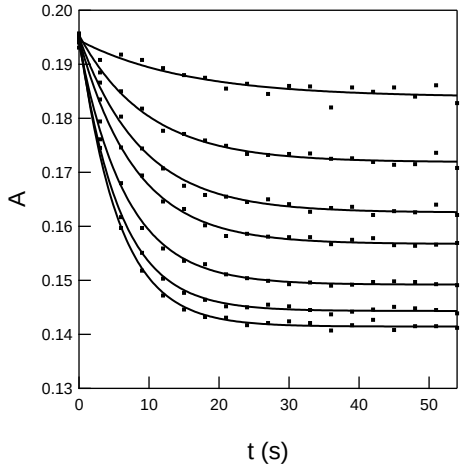


FIGURE 7.7 – *Évolutions de l'absorbance à 347 nm de 1 mL d'une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *à la concentration de* $5.8\,10^{-5}$ *M dans un mélange de tampon de Britton-Robinson*[129] *(acide acétique, acide borique, acide phosphorique ; 0.04 M) - acétonitrile 1-1 (v/v) à pH = 4 irradiée à 480 nm avec des puissances de 0.32, 0.96, 1.6, 2.2, 3.2, 4.2*10^{-7} *Ei.s*$^{-1}$*. T = 25 °C. Points : données expérimentales. Lignes : ajustements par l'équation 4.62.*

Nous observons donc clairement qu'une excitation à 480 nm permet de photo-isomériser la molécule à pH acide selon la réaction **TH→CH**. Nous avons vérifié qu'après extinction de la lumière, une relaxation thermique permettait de régénérer l'isomère trans. Les phénomènes mis en jeu sont donc les mêmes que ceux observés lors de l'excitation UV de la plateforme. L'absorbance faible mais non nulle des molécules au delà de 450 nm permet de justifier l'existence de ces réactions chimiques.

7.3.2 Extraction des paramètres cinétiques à 480 nm

Pour obtenir les valeurs des paramètres cinétiques à 480 nm, nous avons extrait les valeurs de $k_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}$ et $k_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ de la figure 7.7 en ajustant les courbes par l'équation 4.62. Nous avons ensuite tracé ces valeurs en fonction de l'intensité lumineuse pour obtenir les courbes des figure 7.8 **a** et **b**. Les données expérimentales sont ajustées linéairement par les équations 3.24 et 3.26.

Cette même méthode a été utilisée pour extraire les paramètres cinétiques en milieu basique à p$H = 11$ ce qui conduit aux courbes des figures 7.8 **c** ($k_{\mathbf{T\rightarrow C}}$ en fonction de l'intensité lumineuse) et **d** ($k_{\mathbf{C\rightarrow T}}$ en fonction de l'intensité lumineuse) ajustées *in fine* par les équations 3.25 et 3.23. [j]

De très bonnes corrélations sont obtenues aussi bien en milieu acide que basique. En particulier les ordonnées à l'origine pour les courbes **a**, **c** et **d** sont respectivement de 0.00 ± 0.01 s^{-1}, 0.01 ± 0.01 s^{-1} et 0.01 ± 0.01 s^{-1}, en bon accord avec la valeur nulle attendue. L'ordonnée à l'origine pour la courbe **b** vaut 0.08 ± 0.01 s^{-1} en très bon accord avec la valeur de 0.075 s^{-1} espérée.

On déduit ensuite des coefficients directeurs les sections efficaces d'absorption et les rendements quantiques de photo-conversion recherchés :

$$\varepsilon_{\mathbf{TH}}\,\phi_{\mathbf{TH\rightarrow CH}}(480) = 60\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

[j]. La variation de l'absorbance en milieu basique a été enregistrée à 435 nm, longueur d'onde du maximum d'absorption.

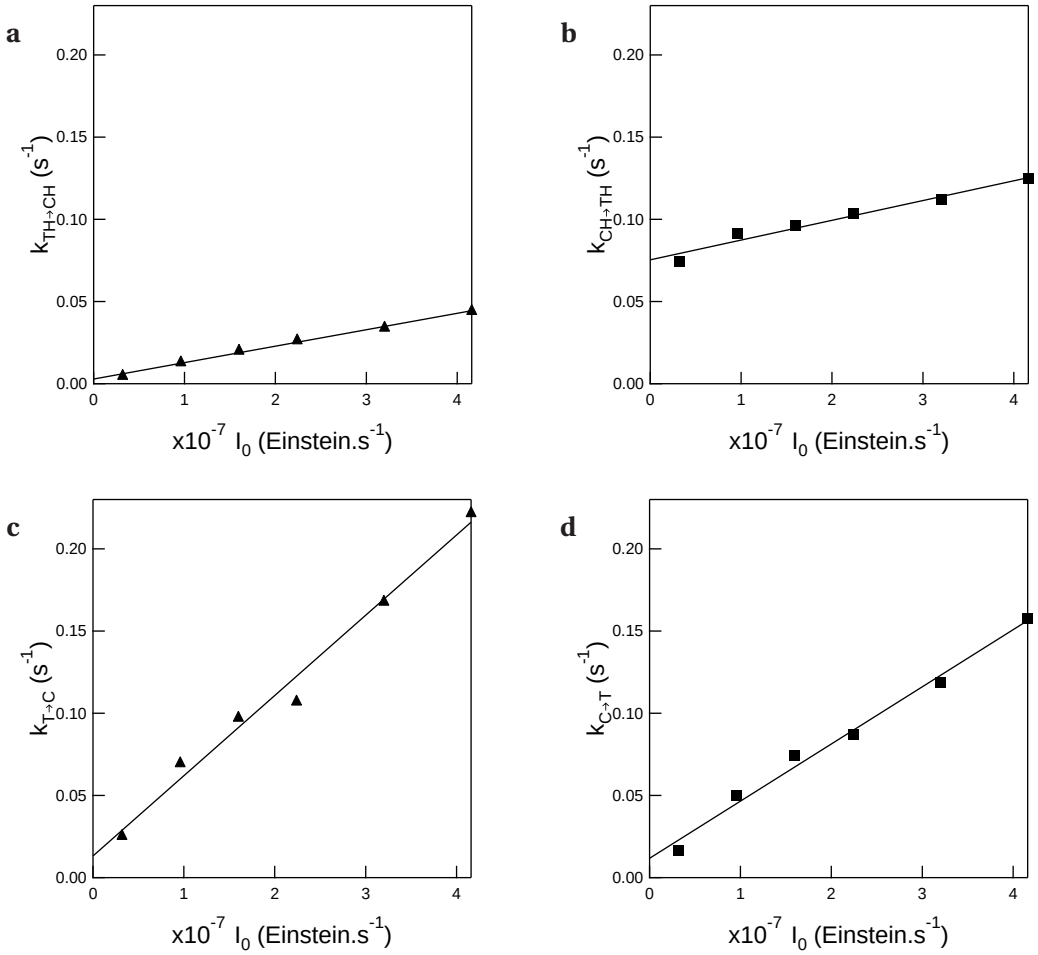


FIGURE 7.8 – Dépendance des constantes de vitesse avec l'intensité lumineuse à 480 nm à pH = 4 (**a :** $k_{\mathbf{TH\to CH}}$ et **b :** $k_{\mathbf{CH\to TH}}$) ; à pH= 11 (**c :** $k_{\mathbf{T\to C}}$ et **d :** $k_{\mathbf{C\to T}}$). Triangles et carrés : données expérimentales, lignes : ajustements linéaires. T = 25 °C.

$$\varepsilon_{\mathbf{CH}}\,\phi_{\mathbf{CH\to TH}}(480) = 50\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\mathbf{T}}\,\phi_{\mathbf{T\to C}}(480) = 240\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\mathbf{C}}\,\phi_{\mathbf{C\to T}}(480) = 150\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\phi_{\mathbf{TH\to CH}}(480) = 3\ \%$$

$$\phi_{\mathbf{CH\to TH}}(480) = 7\%$$

$$\phi_{\mathbf{T\to C}}(480) = 7\%$$

$$\phi_{\mathbf{C\to T}}(480) = 30\%$$

La détermination de ces mêmes paramètres cinétiques a aussi été réalisée par une méthode de modulation fréquentielle légèrement différente de celle utilisée dans la partie 4.2 du chapitre 4. En effet, l'observable est ici l'absorbance et pas la fluorescence d'un adjuvant fluorescent. L'annexe 7.A présente en détails la méthode utilisée ainsi que les développements théoriques et calculatoires associés et les résultats obtenus.

7.3.3 Nouvelle estimation du temps caractéristique de relaxation de l'expérience de structuration spatiale du pH

Connaissant les valeurs des paramètres cinétiques à 480 nm, il nous est alors possible de dériver les ordres de grandeur associés à la réaction **CH→TH** photochimique et thermique responsable de la disparition du profil de pH spatialement structuré après extinction du laser.

Ce temps est lié au temps caractéristique de variation de la concentration des espèces moyennes $\overline{\mathbf{T}}$ et $\overline{\mathbf{C}}$. Les équations 3.28 et 3.29 montrent que ce temps est l'inverse de la somme des constantes de vitesse thermiques et photochimiques : $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$. En considérant un pH initial de 7.7 comme précédemment, les équations 4.17 et 4.18 permettent d'obtenir des estimations des sections efficaces pour les processus photochimiques à partir des valeurs de $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{TH/T}}$, $\mathrm{p}K_{\mathrm{a}\,\mathbf{CH/C}}$, $\varepsilon_{\mathbf{TH}}\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{CH}}$, $\varepsilon_{\mathbf{T}}\phi_{\mathbf{T}\rightarrow\mathbf{C}}$, $\varepsilon_{\mathbf{CH}}\phi_{\mathbf{CH}\rightarrow\mathbf{TH}}$ et $\varepsilon_{\mathbf{C}}\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{T}}$:

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{T}}}\phi_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\mathrm{pH}=7.7,\lambda_{\mathrm{E}}=480\text{ nm}) = 64\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

$$\varepsilon_{\overline{\mathbf{C}}}\phi_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}(\mathrm{pH}=7.7,\lambda_{\mathrm{E}}=480\text{ nm}) = 143\ \mathrm{M}^{-1}.\mathrm{cm}^{-1}$$

En utilisant ensuite les équations 3.19 à 3.22 on obtient : [k]

$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}}(\mathrm{pH}=7.7,\lambda_{\mathrm{E}}=480\text{ nm}) \approx 3.4\ 10^{-2}\ \mathrm{s}^{-1}$$

$$k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}(\mathrm{pH}=7.7,\lambda_{\mathrm{E}}=480\text{ nm}) \approx 7.6\ 10^{-2}\ \mathrm{s}^{-1}$$

La somme des constantes de vitesses thermiques et photochimiques $k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{T}}\rightarrow\overline{\mathbf{C}}} + k^{h\nu}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}} + k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ vaut donc approximativement $3.4\ 10^{-2} + 7.6\ 10^{-2} + 5.6\ 10^{-3} = 1.2\ 10^{-1}\ \mathrm{s}^{-1}$ soit un temps caractéristique de 9 s.

Ce temps est nettement plus en accord avec le temps caractéristique extrait de la figure 7.6 ce qui valide l'effet de l'excitation à 480 nm sur la cinétique de la disparition du profil de pH.

7.4 Obtention d'un profil spatial stationnaire de pH 1D hors équilibre

Dans les deux premières parties de ce chapitre, nous avons montré qu'il est possible de moduler spatialement le pH d'un milieu à deux dimensions en utilisant une lumière spatialement structurée.

Cependant, l'étude théorique du problème dans la géométrie d'éclairement centro-symétrique proposée ci-dessus n'est pas la plus aisée. Nous avons donc simplifié la géométrie du système en utilisant un éclairement structuré selon une seule dimension. Pour cela nous avons généré une nappe laser dont l'extension latérale est négligeable devant son extension longitudinale.

7.4.1 Obtention d'une nappe laser

Une nappe laser a été obtenue en intercalant deux lentilles cylindriques plano-convexes de focales 50 et 150 mm (lentilles cylindriques UV Fused Silica Plano Convex Lens) sur le trajet optique du laser UV. La figure 7.9 représente schématiquement une lentille de ce type.

[k]. Il n'est pas nécessaire de prendre ici en compte l'absorbance de la solution puisqu'elle est très faible devant 1 (évaluée à environ 10^{-2}). Cela est dû à la très faible épaisseur de l'échantillon (20 μm).

FIGURE 7.9 – *Représentation schématique d'une lentille plano-convexe.*

Pour déterminer l'extension spatiale du profil d'illumination obtenu, nous avons, comme précédemment, imagé la nappe laser dans une solution de fluorescéine de concentration 1 μM. L'image observée est présentée sur la figure 7.10 **a**.

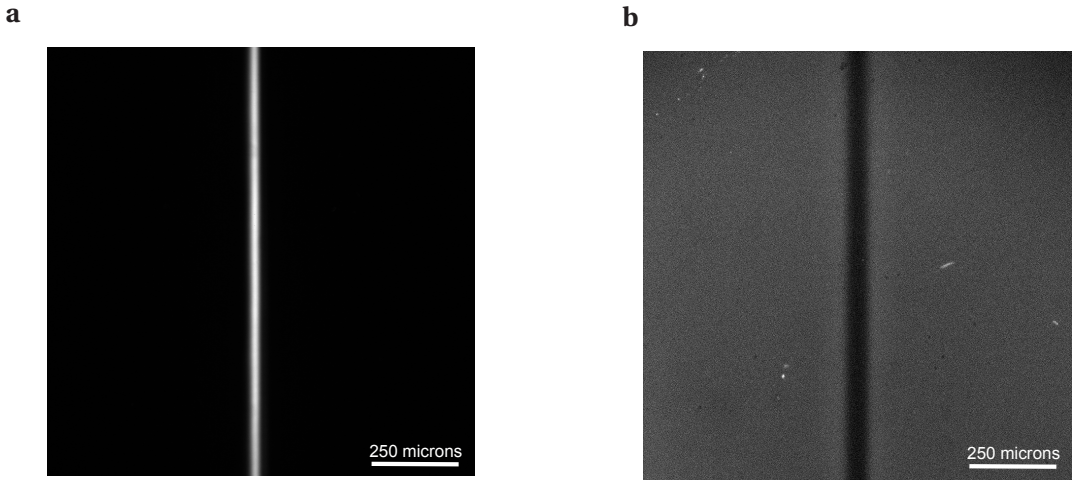


FIGURE 7.10 – ***a*** *: Image de la nappe laser dans une solution de fluorescéine à la concentration de 1 μM dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (1/1).* ***b*** *: Image du champ de vue observé après irradiation pendant 30 s par une nappe laser de 40 μm de largeur caractéristique d'une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M. La solution est déposée entre lame et lamelle de sorte à obtenir une épaisseur de 20 μm. T = 25 °C.*

L'extension latérale caractéristique du profil d'éclairement peut être évaluée à une quarantaine de micromètres. Parallèlement, une mesure de puissance lumineuse effectuée à l'aide d'un powermètre placé juste avant l'échantillon a permis d'estimer l'intensité lumineuse de la nappe à 3.1 10^{-8} Ei.s^{-1} (soit une intensité surfacique de 3.5 10^{-6} Ei.s^{-1}.cm^{-2}).

7.4.2 Premières observations

Une solution de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ de concentration 2 10^{-4} M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2 10^{-6} M déposée entre lame et lamelle de sorte à obtenir une épaisseur de 100 μm a été irradiée par la nappe laser obtenue comme décrit ci-dessus pendant 30 s. L'image de la figure 7.10 **b** montre le champ de vue observé immédiatement après extinction du laser UV.

Comme dans l'expérience avec éclairement centro-symétrique, nous observons une zone dans laquelle l'intensité de fluorescence de la fluorescéine est affaiblie. Une fois l'excitation coupée, le profil disparaît peu à peu avec un temps caractéristique de l'ordre de la centaine de secondes.

7.4.3 Traitement de l'image

Les images obtenues permettent de montrer que le pH du système n'est pas uniforme. Nous avons traduit la mesure d'intensité de fluorescence en valeur du pH pour chacun des points du champ de vue. Cette opération nécessite plusieurs étapes :

i. L'image brute de la figure 7.10 **a** est d'abord divisée par une image obtenue avec la même solution sans illumination UV. Cela permet de corriger le profil de l'hétérogénéité spatiale de l'intensité lumineuse de la lumière excitatrice conformément à l'équation 5.5.

ii. Une corrélation entre le pH et l'intensité de fluorescence a ensuite été établie en utilisant une solution tamponnée contenant uniquement de la fluorescéine à la même concentration que dans l'expérience en présence de photo-acide. Une courbe de calibration est ainsi obtenue : elle permet de relier l'intensité de fluorescence en chaque point de la figure 7.10 **b** au pH.

Après avoir ainsi corrigé puis converti chaque point de la figure 7.10 **a** en unité de pH, nous obtenons la surface présentée sur la figure 7.11 **a**. L'abscisse et l'ordonnée représentent les coordonnées spatiales et l'échelle de fausses couleurs permet de quantifier le pH.

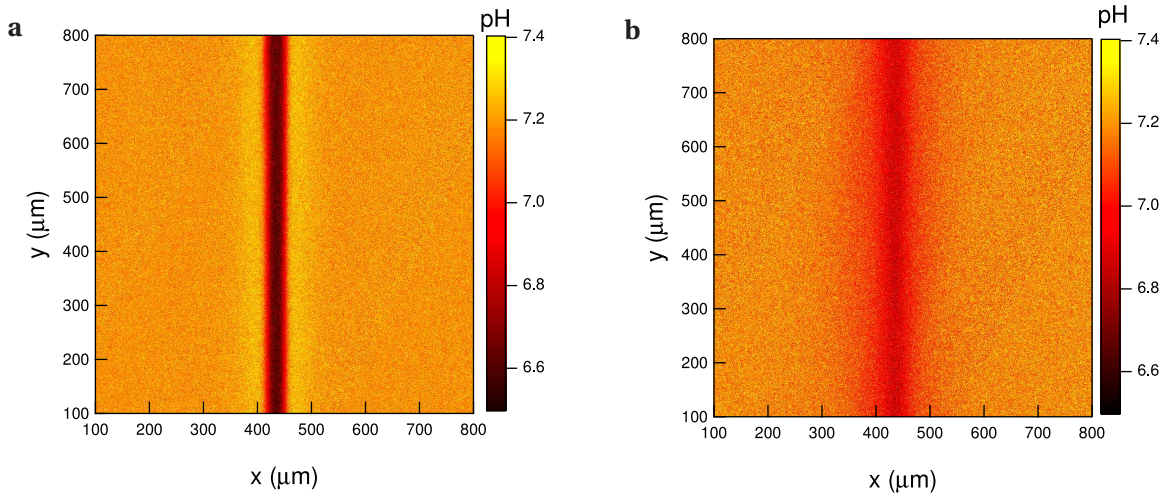


FIGURE 7.11 – *Surface de pH observée après irradiation pendant 30 s par une nappe laser de puissance 3.1* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 3.5 10^{-6} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) d'une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M déposée entre lame et lamelle de sorte à obtenir une épaisseur de 100 µm.* ***a*** *: Une irradiation à 480 nm d'une puissance de 3.2* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 1.6 10^{-7} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) est appliquée à l'ensemble du champ de vue pendant toute la durée de l'expérience.* ***b*** *: L'irradiation à 480 nm n'est appliquée qu'après extinction du laser UV. T = 25 °C.*

Cette image met clairement en évidence une structuration spatiale du pH du milieu. En effet, dans la zone irradiée, le pH est environ 0.5 unité plus faible que dans le reste du champ de vue formant ainsi un puits d'une dimension caractéristique de l'ordre de 40 μm. Cependant, nous observons nettement deux épaulements de chaque coté de la zone irradiée dans lesquelles le milieu semble plus basique que dans la zone non irradiée. Ce résultat est surprenant mais reproductible. Pour mieux le mettre en évidence, nous avons moyenné le profil dans la direction parallèle à l'axe de la nappe pour obtenir la

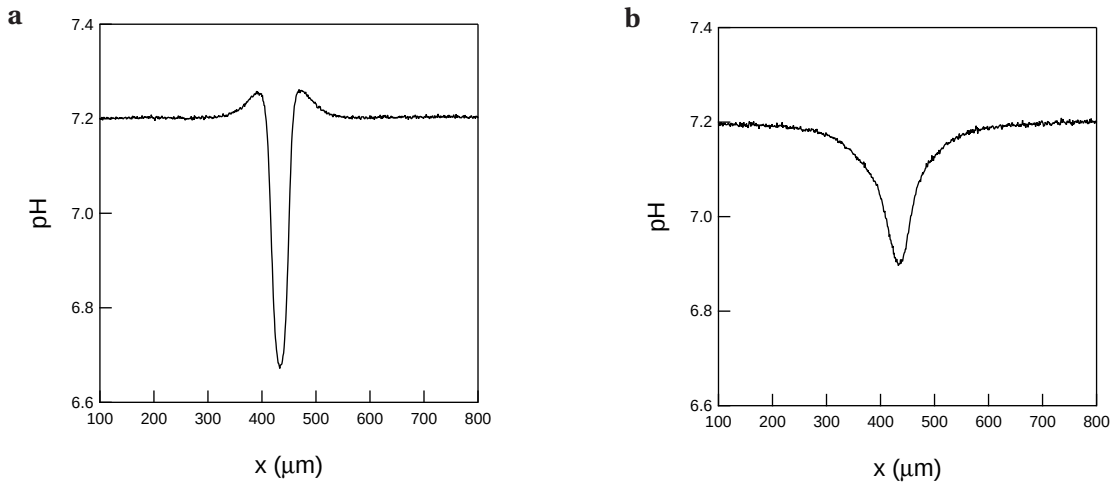


FIGURE 7.12 – *Profil spatial de pH intégré selon la direction parallèle à l'axe de la nappe UV de puissance 3.1* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 3.5 10^{-6} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) après irradiation pendant 30 s d'une solution* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M déposée entre lame et lamelle de sorte à obtenir une épaisseur de 100* μ*m.* ***a*** *: Une irradiation à 480 nm d'une puissance de 3.2* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 1.6 10^{-7} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) est appliquée à l'ensemble du champ de vue pendant toute la durée de l'expérience.* ***b*** *: L'irradiation à 480 nm n'est appliquée qu'après extinction du laser UV. T = 25 °C.*

figure 7.12 **a** qui montre une augmentation du pH d'environ 0.1 unité pour chaque épaulement sur une distance caractéristique de l'ordre de 70 μm.

Pour tenter de comprendre l'origine de ce profil spatial stationnaire non trivial nous avons entrepris plusieurs expériences complémentaires en modifiant certains des paramètres de la manipulation.

7.4.4 Importance de l'excitation à 480 nm

Forts des résultats présentés dans la partie 7.3, nous avons essayé de voir si l'intensité de la lumière à 480 nm permettant d'exciter la fluorescéine joue un rôle sur l'allure du profil de pH.

Ainsi, un ensemble d'expériences préliminaires dans lesquelles l'intensité de la lumière à 480 nm est modifiée ont été réalisées. Devant la lourdeur expérimentale de chaque manipulation, nous n'avons pas traité entièrement toutes les expériences. Nous avons cependant pu montrer que plus l'intensité lumineuse à 480 nm est faible et plus la hauteur des épaulements observés est atténuée.

Nous avons donc réalisé une expérience définitive dans laquelle l'échantillon n'est pas illuminé à 480 nm pendant les 30 s d'excitation laser. L'excitation à 480 nm est alors appliquée simultanément à l'extinction du laser UV. La figure 7.11 **a** montre la variation du pH dans le champ de vue et la figure 7.12 **b** représente la moyenne de ce profil dans la direction parallèle à l'axe de la nappe laser.

Nous voyons alors très clairement que le champ de vue a la forme d'un puits d'une largeur caractéristique d'environ 150 μm. Ce puits correspond à une bande de l'espace dans laquelle le pH est diminué par rapport au reste du champ de vue. Aucun épaulement n'est observé.

Nous avons vu dans la partie 7.3 que l'excitation à 480 nm est responsable de l'accélération de la relaxation du profil par rapport aux cas de relaxation thermique pure. Nous venons de montrer ici, qu'elle détermine aussi la forme de la structuration spatiale du pH.

7.4.5 Importance du dioxyde de carbone dissous

Dans l'annexe 5.A du chapitre 5 nous avons mis en évidence l'influence du dioxyde de carbone dissous à la fois sur l'amplitude et sur la cinétique de la variation de pH sous illumination. Nous avons donc évalué si la modification de la quantité de carbonate dissous (toutes espèces confondues) a un effet sur le profil spatial de pH obtenu sous illumination UV par une nappe laser. Deux types d'expériences ont été réalisées : l'une dans laquelle, on fixe artificiellement la quantité d'espèces carbonatées dissoutes dans l'échantillon et l'autre dans laquelle on tente de les éliminer autant que faire se peut.

Modification de la concentration en espèces carbonatées

Dans un premier temps nous avons modifié la quantité des espèces carbonatées dissoutes dans l'échantillon. Cette opération est délicate puisqu'à l'équilibre thermodynamique sous une pression en dioxyde de carbone atmosphérique donnée et à pH donné, la concentration en ions carbonate, hydrogénocarbonate et en dioxyde de carbone dissous est fixe. [l]

Ainsi, pour modifier la quantité totale d'espèces carbonatées dans le milieu tout en restant à l'équilibre thermodynamique, il est nécessaire de modifier soit le pH soit la pression partielle de dioxyde de carbone gazeux.

Nous avons décidé de contrôler la pression partielle en dioxyde de carbone dans l'échantillon. Pour cela, nous avons ajouté à un échantillon initialement en équilibre avec le dioxyde de carbone atmosphérique, une solution d'hydrogénocarbonate de sodium ($\mathbf{NaHCO_3}$) de concentration connue. Pour pallier la variation de pH résultante, nous avons introduit des petits volumes de soude ou d'acide sulfurique pour ajuster le pH à la même valeur dans toutes les expériences (ici 7.2). Nous avons ainsi obtenu des solutions de concentrations initiales apportées en $\mathbf{HCO_3^-}$ de 0 [m], 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2} et 10^{-1} M. Ces solutions ont alors été placées aussi vite que possible [n] entre lame et lamelle de

[l]. En effet à l'équilibre thermodynamique, on peut écrire les quatre équations suivantes :

$$
\begin{aligned}
K_1 &= \frac{P_{\mathbf{CO_2}}}{[\mathbf{CO_2}]} \\
K_2 &= \frac{[\mathbf{H_2CO_3}]}{[\mathbf{CO_2}]} \\
K_3 &= \frac{[\mathbf{HCO_3^-}][\mathbf{H_3O^+}]}{[\mathbf{H_2CO_3}]} \\
K_4 &= \frac{[\mathbf{CO_3^{2-}}][\mathbf{H_3O^+}]}{[\mathbf{HCO_3^-}]}
\end{aligned}
$$

dans lequel la pression en $\mathbf{CO_2}$ et la concentration en $\mathbf{H_3O^+}$ sont fixés. On obtient donc un système de 4 équations à 4 inconnues qui a une unique solution. Le système est donc invariant à la température considérée.

[m]. Correspondant à la solution en équilibre avec l'atmosphère.

[n]. La réaction hétérogène de carbonatation de la solution par le dioxyde de carbone atmosphérique et la réaction d'aquation des molécules de $\mathbf{CO_2}$ dissoutes pour former $\mathbf{H_2CO_3}$ sont lentes.[166] Cela nous permet de transférer la solu-

sorte à éviter de trop fortes variations de la concentration en espèces carbonatées dissoutes par ré-équilibrage naturel du milieu avec l'atmosphère et le système a été scellé pour éviter les échanges gazeux en utilisant de l'huile de silicone. [o]

Le dispositif a ensuite été soumis à l'excitation UV structurée sous forme d'une nappe laser. La figure 7.13 montre l'ensemble des courbes obtenues pour chacune des solutions testées.

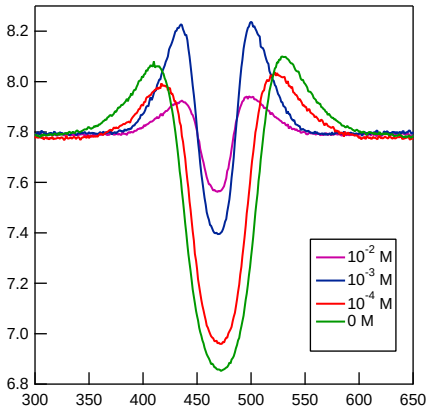


FIGURE 7.13 – *Agrandissement des profils spatiaux de pH intégrés selon la direction parallèle à l'axe de la nappe UV de puissance 3.1* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 3.5 10^{-6} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) après irradiation pendant 30 s de solutions* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) auxquelles on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M. Les différentes solutions ont des concentrations apportées en hydrogénocarbonate de sodium de 0,* 10^{-4}*,* 10^{-3} *et* 10^{-2} *M et le pH a été ajusté à 7.2 par ajout de soude ou d'acide sulfurique. La solution est déposée entre lame et lamelle de sorte à obtenir une épaisseur de 100 µm.* ***a*** *: Une irradiation à 480 nm d'une puissance de 3.2* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 1.6 10^{-7} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) est appliquée à l'ensemble du champ de vue pendant toute la durée de l'expérience.* ***b*** *: L'irradiation à 480 nm n'est appliquée qu'après extinction du laser UV. T = 25 °C.*

Même si le contrôle de la quantité d'espèces carbonatées effectivement présentes dans l'échantillon est difficile à cause du caractère hors équilibre du système, la figure 7.13 met en évidence que la quantité d'ions carbonatés présents en solution influe sur l'allure du profil de pH aussi bien au niveau de la profondeur et de la largeur du puits que de la hauteur des épaulements.

Ainsi, quand la concentration en espèces carbonatées est très grande (cas de l'échantillon à 10^{-1} M par exemple), la diminution du pH dans la zone irradiée par la nappe UV est négligeable. Parallèlement, elle est d'autant plus importante que la concentration en espèces carbonatées est faible. Cet effet peut être attribué au caractère tampon des espèces carbonatées. Les solutions concentrées nivèlent la variation de pH due à l'irradiation UV.

A contrario, la hauteur des épaulements ne suit pas la même tendance. En effet, si aucune variation de pH n'est observée à forte concentration en espèces carbonatées apportées, il apparaît qu'à des concentrations intermédiaires en ions hydrogénocarbonate (typiquement 10^{-3} M), les épaulements sont grands alors que la variation de pH au centre de la zone illuminée reste peu importante. Cette

tion sans ré-équilibration instantanée des concentrations des espèces carbonatées.

[o]. De nombreuses méthodes ont été utilisées pour tenter de sceller le système, en particulier l'usage de vernis à ongle (malheureusement solubilisé par l'acétonitrile), de colles, de para-film. La solution basée sur l'huile de silicone a finalement semblé la plus efficace.

observation met en évidence le rôle des espèces carbonatées sur la structuration non triviale du pH obtenue.

Dégazage de la solution

Après avoir fait varié la concentration en espèces carbonatées en ajoutant des ions hydrogénocarbonate à une solution initialement en équilibre avec l'atmosphère, nous avons tenté, à l'inverse, d'éliminer les espèces carbonatées par dégazage. Cette opération est délicate puisque l'observation nécessite de transférer la solution dégazée sur une lame de microscope par pipetage. Pour limiter au maximum les risques de contamination par le dioxyde de carbone atmosphérique, nous avons commencé par dégazer par barbotage d'argon isolément l'eau et la solution d'acétonitrile dans laquelle est dissous le photo-acide. Nous avons parallèlement dégazé la solution de soude permettant de fixer le pH. Nous avons ensuite réalisé le mélange, l'ajustement du pH à la valeur souhaitée, le pipetage et le transfert entre lame et lamelle sous atmosphère d'argon en utilisant un cristallisoir surmonté d'un entonnoir renversé et alimenté continûment en argon. Enfin, les bords de la lamelle ont été recouverts d'huile de silicone pour éviter au maximum les transferts de gaz entre la solution emprisonnée et l'extérieur.

La figure 7.14 montre les surfaces de pH observées après irradiation pendant 30 s par la nappe laser UV et irradiation continue à 480 nm pour une solution non dégazée (**a**) et pour une solution dégazée selon la méthode décrite ci-dessus (**b**). Parallèlement la figure 7.15 montre les profils spatiaux correspondants intégrés selon la direction parallèle à l'axe de la nappe UV.

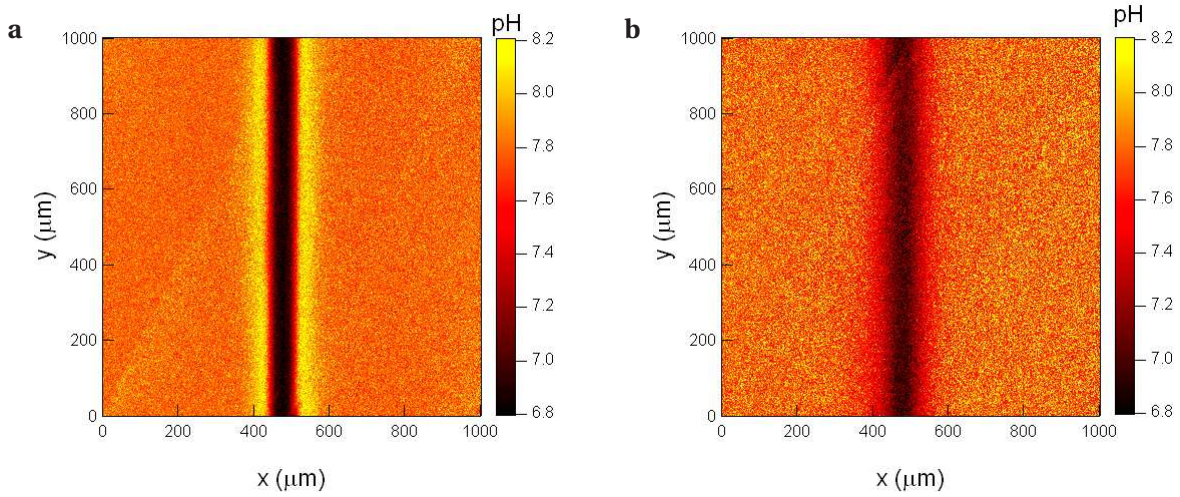


FIGURE 7.14 – *Surface de pH observée après irradiation pendant 30 s par une nappe laser de puissance 3.1* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 3.5 10^{-6} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) d'une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M déposée entre lame et lamelle de sorte à obtenir une épaisseur de 100 µm. Une irradiation à 480 nm d'une puissance de 3.2* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 1.6 10^{-7} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) est appliquée à l'ensemble du champ de vue pendant toute la durée de l'expérience.* ***a*** *: solution en équilibre avec l'atmosphère dont le pH a été ajusté à 7.8.* ***b*** *: Solution dégazée et dont le pH a été ajusté à 7.8. T = 25 °C.*

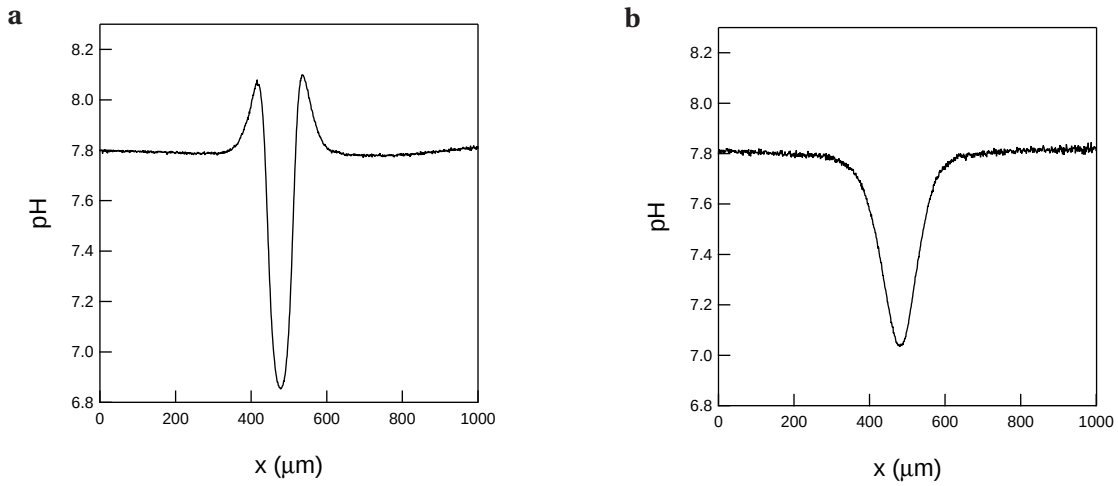


FIGURE 7.15 – *Profil spatial de pH intégré selon la direction parallèle à l'axe de la nappe UV de puissance 3.1* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 3.5 10^{-6} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) après irradiation pendant 30 s d'une solution* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M déposée entre lame et lamelle de sorte à obtenir une épaisseur de 100 µm. Une irradiation à 480 nm d'une puissance de 3.2* 10^{-8} *Ei.s*$^{-1}$ *(soit une intensité surfacique de* 1.6 10^{-7} *Ei.s*$^{-1}$*.cm*$^{-2}$*) est appliquée à l'ensemble du champ de vue pendant toute la durée de l'expérience.* ***a*** *: solution en équilibre avec l'atmosphère dont le pH a été ajusté à 7.8.* ***b*** *: Solution dégazée et dont le pH a été ajusté à 7.8. T = 25 °C.*

Les résultats présentés sur ces deux figures confirment l'influence des espèces carbonatées sur l'allure du profil de pH. En effet, pour la solution en équilibre avec l'atmosphère (images **a**), on observe un profil de pH très proche de celui présenté dans la figure 7.11 **a** avec un puits étroit dans lequel le pH est plus faible que dans le reste du champ et deux bordures dans lesquelles ils est plus élevé. [p] *A contrario*, les images **b** montrent un puits de pH plus large et sans épaulement ressemblant fortement à celui de l'expérience sans irradiation continue à 480 nm des figures 7.12 **b** et 7.11 **b**.

7.4.6 Conclusions et perspectives

Nous venons de montrer que l'allure du profil de pH obtenue sous illumination structurée à une dimension est dépendante à la fois de l'intensité de l'illumination à 480 nm et de la quantité d'espèces carbonatées dans le milieu. En particulier, la combinaison des deux facteurs semble nécessaire à l'apparition des épaulements allant de paire avec le rétrécissement du puits de pH attendu.

Il apparaît ainsi que les phénomènes mis en jeux sont variés, complexes et interdépendants :

– cinétique de relaxation thermique, qui dépend du pH donc de la position ;
– cinétique des réactions photochimiques, qui dépendent du pH et de l'intensité lumineuse de laser UV et de l'excitation à 480 nm ;

[p]. Le profil n'est pas exactement le même que celui de la figure 7.11 **a**. En particulier , la largeur du puits de la figure 7.15 **a** est légèrement plus importante que celle de la figure 7.12 **a** (40 et 60 μm respectivement). En effet les conditions opératoires sont légèrement différentes : le pH initial n'est pas le même et la nappe est plus fine dans les expériences présentées sur les figure 7.11 et 7.12.

– cinétique des réactions avec les espèces carbonatées ;
– coefficients diffusion de l'ensemble des espèces (y compris des espèces carbonatées et du rapporteur fluorescent).

Nous n'avons pour l'instant pas de modèle théorique permettant de rendre compte de l'ensemble des phénomènes observés. En particulier, nous n'avons pas encore compris quantitativement l'origine des épaulements observés. Nous supposons actuellement que le profil de pH stationnaire non trivial obtenu résulte de la combinaison entre des phénomènes photochimiques et diffusifs impliquant des espèces carbonatées.

Nous avons ainsi entrepris comme dans la partie 5.2.7 des simulations numériques réalisées par Raphaël PLASSON. Au moment de la rédaction de ce manuscrit, nous n'avons pas encore obtenu de résultats totalement consistants.

Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons montré que la plateforme 2-hydroxyazobenzène est capable de générer des profils spatiaux de pH hors équilibre à condition d'éclairer la solution de photo-acide avec une lumière UV elle-même spatialement modulée. Différents profils possédant des géométries variées ont ainsi pu être observés. Ce type de profil stationnaire n'a, à notre connaissance, jamais été décrit dans la littérature.

De nombreuses applications en lien avec le rôle important des protons aussi bien en chimie qu'en biologie peuvent être envisagées comme le contrôle local d'une réaction catalysée par les protons. De telles applications nécessitent cependant de comprendre pleinement l'origine des phénomènes conduisant à l'obtention de structurations non triviales dans certaines conditions d'illumination et de concentration en espèces acido-basiques dissoutes et en espèces carbonatées. Les études numériques en cours apporteront bientôt des réponses aux questions posées.

Annexes du chapitre 7

7.A Détermination des paramètres cinétiques vers 500 nm par une méthode de modulation fréquentielle

Dans cette partie, nous ré-employons la méthode basée sur l'analyse de la réponse du système à une modulation sinusoïdale de l'éclairement exposée dans la partie 4.2 pour déterminer les valeurs des paramètres cinétiques vers 500 nm de la molécule $\mathbf{TH_2Cl_3}$.

7.A.1 Principe de la méthode

Dans la partie 4.2 nous avons suivi l'évolution de l'intensité de fluorescence d'un échantillon soumis à une excitation UV sinusoïdale. En effet, sous excitation UV, l'isomérisation de la molécule trans génère une variation de l'absorbance de la solution qui entraîne une altération de la quantité de lumière reçue par le rapporteur fluorescent et donc modifie la quantité de lumière émise par ce dernier.

Pour déterminer les caractéristiques photochimiques de la plateforme vers 500 nm, il est difficile de transposer exactement ce protocole. En effet, la variation du spectre d'absorption entre l'isomère trans et l'isomère cis est relativement faible vers 500 nm (voir figure 4.16) ce qui ne permet pas d'enregistrer une modification suffisamment grande de l'intensité de fluorescence du rapporteur fluorescent.

Pour pallier ce problème nous avons entrepris de suivre directement l'évolution de l'absorbance de la solution à 365 nm sous irradiation vers 500 nm. En effet, c'est vers le maximum d'absorption de l'isomère trans que la variation de l'absorbance sous irradiation est la plus grande.

7.A.2 Montage optique

Pour suivre l'absorbance dans l'UV en même temps qu'on irradie dans le visible, nous avons réemployé le montage optique décrit dans le Supporting Information de l'article *pH drops in water* qui nous a permis de suivre l'absorbance d'une solution de $\mathbf{THSO_3KCl_3}$. Dans l'article, nous avons utilisé la lampe à arc du fluorimètre pour irradier l'échantillon à la longueur d'onde de son maximum d'absorption. L'utilisation d'une diode UV de faible puissance alignée avec l'échantillon et le photo-multiplicateur permet ensuite de relever l'intensité de la lumière transmise et de la relier à l'absorbance de la solution (voir pages 10–12) selon :

$$A(365) = \log \frac{I_0(365)}{I(365)} \tag{7.1}$$

où I_0 (I respectivement) est l'intensité émise par la diode UV à 365 nm (faible intensité) avant de traverser l'échantillon (après avoir traversé l'échantillon respectivement).

Le photo-multiplicateur recueille l'intensité $I(365)$ qui est donc égale à :

$$I(365)(t) = I_0(365)\exp(-2.3A(365)) \text{ avec} \tag{7.2}$$

Or, il n'est pas possible de moduler l'intensité lumineuse de la lampe à arc. Nous avons donc remplacé la lampe à arc par une diode cyan (ayant un spectre d'émission centré à 495 nm) montée comme la diode UV de la partie 7.A et alimentée avec un générateur de courant modulable sinusoïdalement. Le schéma de la figure 7.16 permet de se rendre compte de principe de fonctionnement d'un tel système.

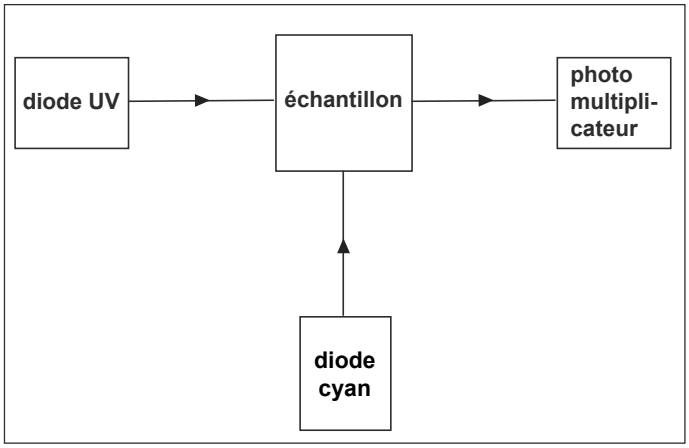


FIGURE 7.16 – *Schéma du montage optique réalisé au sein du fluorimètre pour suivre l'évolution temporelle de l'absorbance (via la variation de l'intensité lumineuse transmise) tout en irradiant l'échantillon dans le visible avec une intensité sinusoïdalement modulée.*

7.A.3 Théorie associée à la réponse à une excitation sinusoïdale

Le principe du calcul est strictement le même que celui employé lors de l'étude des caractéristiques photochimiques de la plateforme dans l'UV par une méthode de variation fréquentielle (voir partie 4.2) : l'échantillon est soumis à une excitation à 495 nm ($I(495)$) périodique sinusoïdale de faible amplitude (de sorte à rester en régime linéaire) et on enregistre la variation de l'absorbance à 365 nm ($A(365)$) ou plus précisément de l'intensité transmise ($I(365)$) en fonction du temps. L'expression de l'intensité lumineuse de la diode cyan centrée à 495 nm s'écrit :

$$I(495)(t) = I_0(495)(1+\varepsilon\sin(\omega t)) \tag{7.3}$$

On va se placer à pH = 7.8 où les seules espèces présentes sont **TH** et **C**, de concentration [**TH**] et [**C**] respectivement. Les constantes cinétiques associées sont donc au premier ordre en ε :

$$k^{h\nu}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{TH}}(495)(t) = k^{h\nu\,0}_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{TH}}(495)(1+\varepsilon\sin(\omega t)) \tag{7.4}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{C}}(495)(t) = k^{h\nu\,0}_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{C}}(495)(1+\varepsilon\sin(\omega t)) \tag{7.5}$$

Nous avons ici encore :

$$A(365)(t) = A^0(365) + \varepsilon A^1(365)(t) \tag{7.6}$$

avec

$$A^1(365)(t) = \frac{\rho^0_{\mathbf{THC}}\tau^0_{\mathbf{THC}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THC}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{C}}(365) - \varepsilon_{\mathbf{TH}}(365))\sin(\omega t - \phi) \tag{7.7}$$

avec

$$\frac{1}{\tau^0_{\mathbf{THC}}} = k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{C}}(495) + k^{h\nu 0}_{\mathbf{C}\to\mathbf{TH}}(495) + k^{\Delta}_{\mathbf{C}\to\mathbf{TH}} \tag{7.8}$$

$$\rho^0_{\mathbf{THC}} = k^{h\nu 0}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{C}}(495)\,[\mathbf{TH}]^0 - k^{h\nu 0}_{\mathbf{C}\to\mathbf{TH}}(495)\,[\mathbf{C}]^0 = k^{\Delta}_{\mathbf{C}\to\mathbf{TH}}\,[\mathbf{C}]^0 \tag{7.9}$$

où $[\mathbf{TH}]^0$ et $[\mathbf{C}]^0$ sont les concentrations en **TH** et **C** à l'état photostationnaire.
On en déduit que l'observable $I(365)$ vaut pour le système considéré :

$$I(365)(t) = I_0(365)\exp(-2.3A_0(365))\exp(-2.3\varepsilon A^1(365)(t)) \tag{7.10}$$

D'où au premier ordre en ε :

$$I(365)(t) = I_0(365)\exp(-2.3A_0(365))(1-2.3\varepsilon A^1(365)(t)) \tag{7.11}$$

$$= < I(365) > \left(1 - 2.3\varepsilon \frac{\rho^0_{\mathbf{THC}}\tau^0_{\mathbf{THC}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THC}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{C}} - \varepsilon_{\mathbf{TH}})\sin(\omega t - \phi)\right) \tag{7.12}$$

où $< I(365) >$ représente la valeur moyenne temporelle de $I(365)(t)$.
On peut donc exprimer une grandeur normalisée :

$$Z(t) = \frac{I(365)(t) - < I(365) >}{< I(365) >} = 2.3\varepsilon \frac{\rho^0_{\mathbf{THC}}\tau^0_{\mathbf{THC}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THC}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{C}}(365) - \varepsilon_{\mathbf{TH}}(365))\sin(\omega t - \phi) \tag{7.13}$$

où ϕ s'exprime comme précédemment :

$$\cos(\phi) = \frac{1}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THC}})^2}} \tag{7.14}$$

$$\sin(\phi) = \frac{\omega\tau^0_{\mathbf{THC}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THC}})^2}} \tag{7.15}$$

On peut donc mettre l'expression de $Z(t)$ sous la forme :

$$Z(t) = R\sin(\omega t - \phi) \tag{7.16}$$

avec

$$R = 2.3\varepsilon \frac{\rho^0_{\mathbf{THC}}\tau^0_{\mathbf{THC}}}{\sqrt{1+(\omega\tau^0_{\mathbf{THC}})^2}}(\varepsilon_{\mathbf{C}}(365) - \varepsilon_{\mathbf{TH}}(365)) \tag{7.17}$$

7.A.4 Conditions expérimentales

Considérons un échantillon de 2 mL sous agitation continue d'une solution de $\mathbf{TH_2Cl_3}$ de concentration 3.9 10^{-5} M dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé au pH = 7.8.

Cet échantillon est placé dans le fluorimètre sous excitation UV de faible intensité et sous une excitation sinusoïdale à 495 nm de forte intensité modulée sinusoïdalement avec une amplitude ε faible. [q]

[q]. Il faut cependant que la valeur de l'amplitude ne soit pas trop petite pour avoir un rapport signal sur bruit pas trop faible à toutes les pulsations. Une étude préliminaire a permis de montrer qu'une valeur de ε de 0.2 était acceptable.

7.A.5 Résultats obtenus

La figure 7.17 montre l'évolution de Z en fonction du temps pour trois pulsations différentes de l'excitation lumineuse (ω = 25.1 ; 6.3 ; 1.6 mHz). La courbe en pointillés représente l'intensité lumineuse délivrée par la diode aux alentours de 495 nm. Les données expérimentales de $Z(t)$ ont été ajustées selon l'équation 7.16 ce qui fournit directement les valeurs de R et de ϕ à la pulsation considérée.

La figure 7.18 **a** (respectivement 7.18 **b**) montre la variation de R (respectivement $\cos\phi$) en fonction de ω.

7.A.6 Discussion des résultats

Il apparaît clairement dans les résultats présentés ci-dessus que la valeur de la pulsation influe fortement sur la réponse du système à une excitation sinusoïdale de faible amplitude.

En effet si la pulsation est faible devant la pulsation caractéristique du système (qui est le rapport de 2π sur le temps caractéristique d'évolution du système), alors, à tout instant le système est à l'équilibre photochimique. Il s'adapte donc à la perturbation : l'amplitude de la réponse est donc forte et le déphasage par rapport à l'excitation tend vers zéro.

Cependant si la pulsation de l'excitation sinusoïdale devient trop grande, le système n'est plus capable de s'adapter instantanément. Sa réponse à la perturbation intervient donc avec un retard d'autant plus grand que la pulsation est grande. Il en résulte :

- une faible amplitude de la réponse (à la limite quand la pulsation devient trop élevée, le système n'évolue plus du tout et l'amplitude de la réponse tend vers zéro) ;
- un déphasage de plus en plus grand (à la limite quand la pulsation devient trop élevée, le système répond en quadrature de phase avec l'excitation).

7.A.7 Dérivation des constantes cinétiques à 495 nm

L'ajustement des données de la figure 7.18 par l'équation 7.17 permet de déterminer :

$$\tau^0_{\mathbf{THC}} = 142 \pm 3 \text{ s} \tag{7.18}$$

$$2.3\varepsilon\rho^0_{\mathbf{THC}}\tau^0_{\mathbf{THC}}(\varepsilon_{\mathbf{C}} - \varepsilon_{\mathbf{TH}}) = 1.017\ 10^{-2} \pm 8\ 10^{-5} \tag{7.19}$$

Sachant qu'au pH considéré on a : $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\to\mathbf{TH}} = 6.53\ 10^{-3}\ \text{s}^{-1}$, on déduit de l'équation 7.9 la valeur de $[\mathbf{C}]^0$, d'où celle de $[\mathbf{TH}]^0$. Puis connaissant $\varepsilon_{\mathbf{TH}}(365) = 17000\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ et $\varepsilon_{\mathbf{C}}(365) = 1300\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ on utilise le système de deux équations 7.8 et 7.9 pour déduire :

$$k^{h\nu}_{\mathbf{TH}\to\mathbf{C}}(495) = 3.05\ 10^{-4}\ \text{s}^{-1} \tag{7.20}$$

$$k^{h\nu}_{\mathbf{C}\to\mathbf{TH}}(495) = 2.05\ 10^{-4}\ \text{s}^{-1} \tag{7.21}$$

On s'est placé en milieu dilué de sorte à ce qu'on ait :

$$k^{h\nu}_{\text{A}\to\text{B}}(495) \approx \frac{2.3\varepsilon_{\text{A}}(495)\phi_{\text{A}\to\text{B}}(495)I_0(495)}{V} \tag{7.22}$$

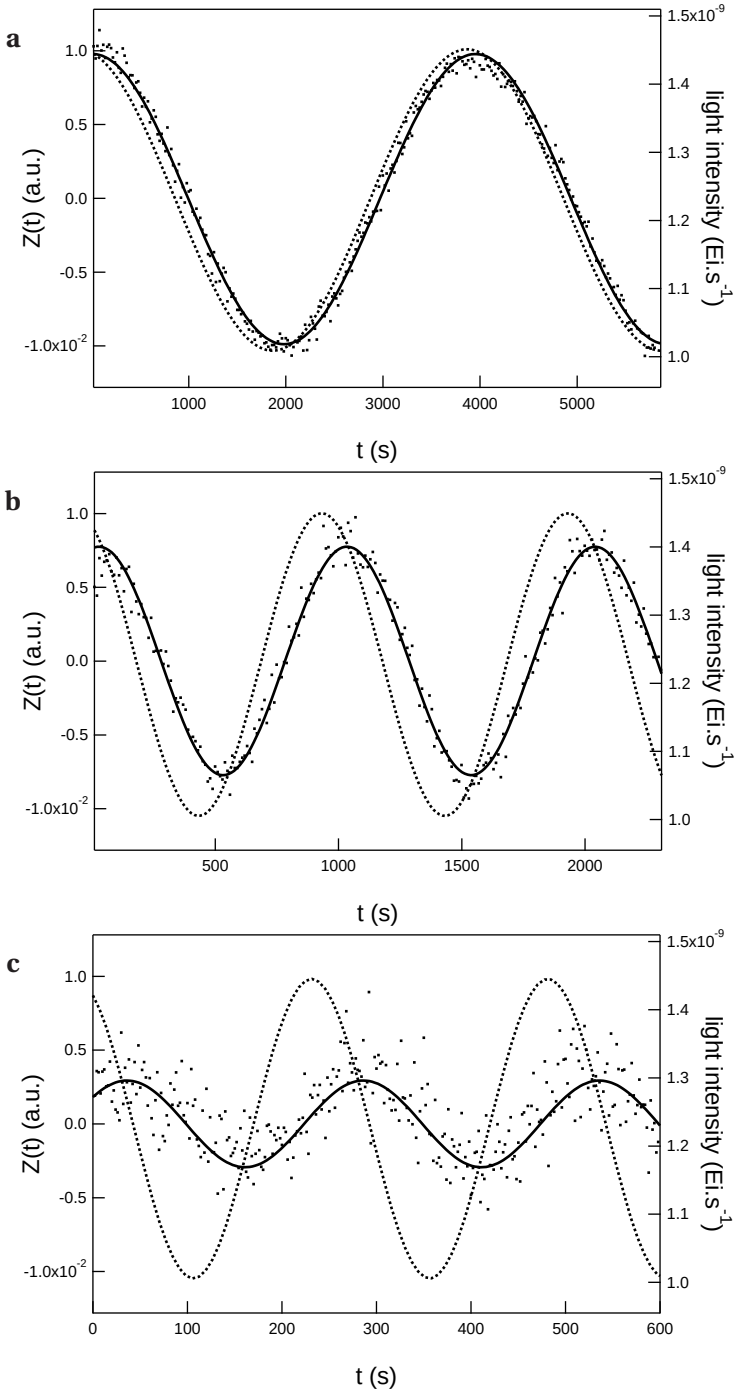


FIGURE 7.17 – *Évolution de la fonction $Z(t)$. L'intensité transmise est enregistrée à 365 nm pour une solution de* TH_2Cl_3 *de concentration* $3.9\ 10^{-5}$ *M dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé au pH = 7.8. L'illumination à 495 nm délivrée par la diode cyan est de la forme* $I(495)(t) = I_0(495)(1+\varepsilon\sin(\omega t))$ *avec* $\varepsilon = 0.2$ *et* $I_0(495) = 1.23\ 10^{-9}$ *Ei.s*$^{-1}$. ***a*** *:* $\omega = 25.1$ *mHz ;* ***b*** *:* $\omega = 6.3$ *mHz ;* ***c*** *:* $\omega = 1.6$ *mHz. Trait plein : ajustement des données expérimentales selon l'équation 7.16 ; pointillés : variation de l'intensité lumineuse de l'excitation à 495 nm.* $T = 25\,°C$.

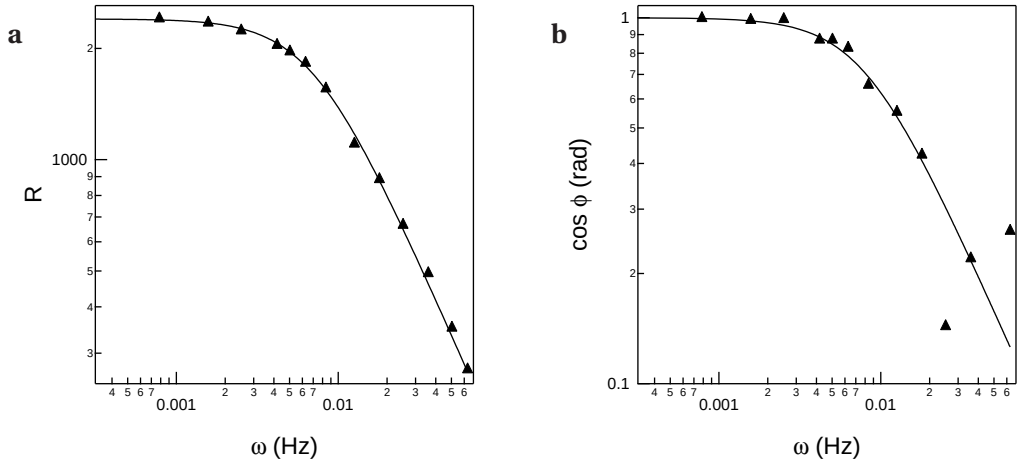


FIGURE 7.18 – *Évolution en échelle logarithmique de l'amplitude R (**a**) et du cosinus de la phase ϕ (**b**) de la fonction $Z(t)$ en fonction de la pulsation pour une solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration* $3.9\ 10^{-5}$ *M dans un mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique*[129] *(0.04 M)) / acétonitrile (1/1) fixé au pH=7.8. Triangles noirs : données expérimentales ; trait plein : ajustement selon les équations 7.17 (pour **a**) et 7.14 (pour **b**).*

La détermination de l'intensité lumineuse moyenne $I_0(495)$ est explicitée dans la partie C.2 de l'annexe C. De cette valeur et de celles des coefficients d'absorption molaire à 495 nm de **TH** (= 1400 $M^{-1}cm^{-1}$) et **C** (= 400 $M^{-1}cm^{-1}$) on déduit les rendements quantiques :

$$\phi_{\mathbf{TH}\rightarrow\mathbf{C}}(495) = 15\ \% \tag{7.23}$$

$$\phi_{\mathbf{C}\rightarrow\mathbf{TH}}(495) = 38\ \% \tag{7.24}$$

Les valeurs obtenues en utilisant la méthode relaxative décrite dans la partie 7.3 en tenant compte du pH du milieu grâce aux équations 3.19 à 3.22 sont respectivement 5 % et 36 % (à 480 nm). Compte tenu de la modification de la longueur d'onde d'excitation, ces valeurs peuvent être considérées en accord raisonnable avec celles obtenues par la méthode de modulation fréquentielle.

7.B Bâti du microscope d'épi-fluorescence et pièces d'optomécanique utilisées.

Les éléments optiques ont été alignés avec des pièces d'optomécanique Thorlabs, placées dans le bâti du microscope présenté à la Figure 7.19. Le détail des parties est :

- Source d'illumination : Lampe Xe 100 W (LOT-Oriel, Palaiseau, France).
- Lentille de collection : plane-concave $f = 40$ mm.
- Miroir chaud Thorlabs. Bande passante 400-700 nm. Bloque les IR et protège les éléments optiques.
- Lentille secondaire : plane-concave $f = 200$ mm.
- Jeu de filtres : filtre dichroïque (Dual Band Dichroic FF505/606-Di01) ; filtre d'excitation centré sur 480±20 nm ; filtre d'émission centré sur 525±30 nm.

– Miroir d'argent Thorlabs.
– Lentille oculaire plane-concave $f = 100$ mm.
– Caméra CCD Andor Luca-R.
– Objectifs. 4× Fluar Olympus.
– Platine de microscope Olympus U-SVRM.

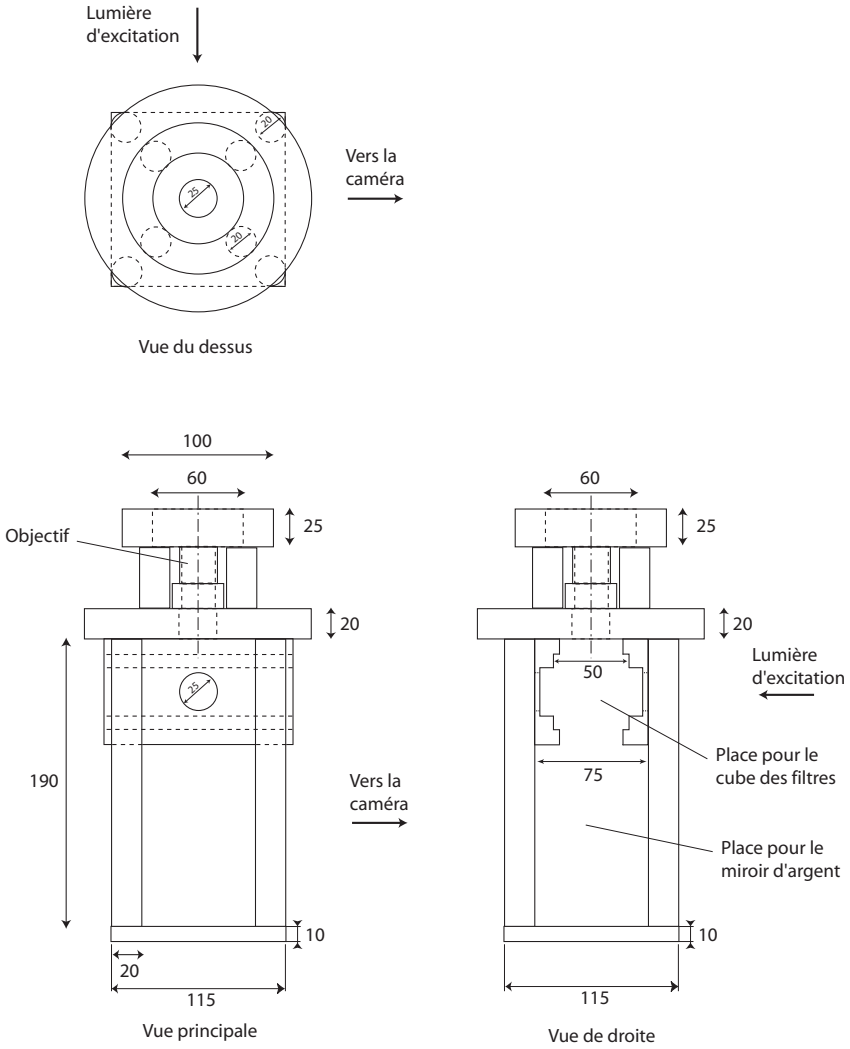


FIGURE 7.19 – *Vue du dessus (haut), vue principale et vue de droite (droite) du bâti du microscope. Toutes les pièces sont usinées en duraluminum et reliées par des vis M6. Reproduit d'après Estévez-Torres.*[214]

7.C Autres types de structurations spatiales du pH

Pour montrer la robustesse du système, nous avons vérifié que d'autres structurations spatiales du pH possédant des géométries moins triviales que celle du paragraphe 7.2 pouvaient être obtenues.

7.C.1 Utilisation d'un système de diffraction

Ainsi, dans un premier temps, nous avons placé sur le trajet du rayon laser une fente de sorte à faire diffracter faisceau laser UV. Au moment de l'extinction du laser, nous avons débuté l'acquisition. La première image correspondant au profil de pH photostationnaire est présenté sur la figure 7.20 **a**. On voit clairement que le pH du champ de vue est structuré en deux bandes d'environ 1.3 mm de longueur et 0.7 mm de large, séparées d'environ 0.4 mm dans lesquelles le pH a diminué.

Nous ne nous sommes pas attardés plus longtemps sur cette géométrie d'éclairement qui nous a juste permis de montrer que d'autres types de structuration du pH sont envisageables.

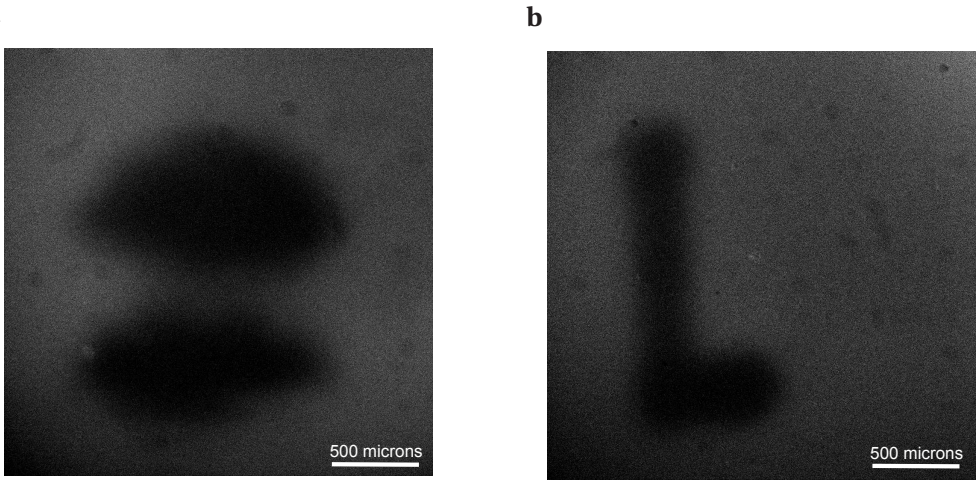


FIGURE 7.20 – *Images obtenues en faisant diffracter le rayon lumineux grâce à une fente (**a**) ou en déplaçant la platine du microscope de sorte à faire tracer un « L« au rayon laser. Solution de* $\boldsymbol{TH_2Cl_3}$ *de concentration 2* 10^{-4} *M dans un mélange d'eau et d'acétonitrile (50/50, v/v) à laquelle on a ajouté de la fluorescéine à une concentration de 2* 10^{-6} *M. Le laser émet à 375 nm avec une puissance de 10 mW (mesuré au powermètre placé juste avant l'échantillon) ce qui correspond à 3.1* 10^{-8} $Ei.s^{-1}$ *et le spot a un diamètre de 200 µm (soit une intensité surfacique de* $1\ 10^{-4}$ $Ei.s^{-1}.cm^{-2}$*). Le pH initial de la solution est de 7.7. T = 25 °C*

7.C.2 Écriture de lettres

Nous avons ensuite tenté une expérience amusante consistant à jouer sur la lenteur de la relaxation thermique pour dessiner une lettre dans le champ de vue. Pour cela nous avons déplacé la platine de sorte à tracer un « L » avec le laser UV. La figure 7.20 **b** montre l'image obtenue immédiatement après extinction du laser sur laquelle on peut voir une zone sombre en forme de « L » dans laquelle le pH est plus faible qu'ailleurs.

Par ailleurs la taille caractéristique de la zone sombre, plus étendue que la zone d'irradiation, est justifiée par la diffusion des espèces photo-acides hors de la zone d'irradiation. En effet, en considérant que le coefficient de diffusion des molécules est de l'ordre de 10^{-9} m^2s^{-1},[215] la distance caractéristique parcourue en 70 s peut être évaluée à environ 120 μm

Chapitre 8

Conclusions et perspectives

Ce travail de thèse a permis d'identifier, de synthétiser, d'étudier et d'appliquer à plusieurs reprises une nouvelle plateforme photo-acide basée sur le squelette 2-hydroxyazobenzène.

Dans ce chapitre final, nous nous proposons d'abord de comparer ce système avec les systèmes photo-acides et photo-bases décrits dans la littérature et présentés dans le chapitre 1. Cela permet de mettre en évidence l'originalité de notre système dans le paysage actuel.

Dans une deuxième partie, plusieurs perspectives et applications potentielles de la plateforme 2-hydroxyazobenzène sont proposées et discutées. Certaines d'entre elles ont déjà donné lieu à des expériences préparatoires permettant de jauger de leur pertinence.

8.1 La place des photo-acides de type 2-hydroxyazobenzène dans le paysage scientifique

Nous nous proposons de comparer la plateforme 2-hydroxyazobenzène à la littérature à travers plusieurs éléments descriptifs pertinents inspirés des contraintes énoncées dans le cahier des charges de la partie 2.3.

8.1.1 Variation de l'acidité sous illumination

Comme précisé dans l'étude du modèle de photo-acide réversible de la partie 2.2, la variation du pK_a entre les deux états de la plateforme étudiée est une donnée fondamentale. Dans le cas de la plateforme 2-hydroxyazobenzène , cette variation de pK_a entre les isomères trans et cis est de l'ordre de 3 unités de pH : c'est l'une des plus importantes rapportées dans la littérature relative aux photo-acides photochromes. En effet, la plateforme diaryléthène de Irie *et al.*[83] présente un ΔpK_a de seulement 1.2 unité et le ΔpK_a de la plateforme acide ortho-coumarique de Ueyama *et al.*[112] ne dépasse pas 0.1 unité. *A contrario*, la variation d'acidité entre l'état fondamental et l'état excité d'un « super acide » est évidement largement plus grande (parfois 10 unités de différence) mais comme nous l'avons fait remarquer dans la partie 1.2 ces systèmes se sont pas adaptés pour modifier le pH à l'échelle de plusieurs millilitres.

De plus, l'étude structure / propriété menée dans le chapitre 3 à montré que la variation du pK_a

entre les formes trans et cis de la plateforme 2-hydroxyazobenzène peut être ajustée en choisissant précautionneusement la nature électronique des substituants de la molécule.

8.1.2 Facilité de synthèse

Outre la forte variation de l'acidité entre les stéréoisomères trans et cis, un des intérêts majeurs de la plateforme 2-hydroxyazobenzène est sa facilité de synthèse : le chapitre 3 a montré qu'une seule étape est nécessaire et que les rendements associés sont généralement bons. Ainsi, le rapport entre le temps de synthèse des composés et la variation d'acidité qu'ils génèrent est très favorable à la plateforme 2-hydroxyazobenzène par rapport à toutes les autres plateformes photochromes de la littérature.

8.1.3 Modification du pH sous illumination

Le premier objectif de ce travail de thèse était de proposer une plateforme capable de modifier efficacement le pH d'une solution à l'échelle de quelques millilitres. Le chapitre 5 a permis de montrer que la plateforme 2-hydroxyazobenzène répond parfaitement à cet objectif. En effet, des variations de pH d'une amplitude d'environ 2 unités de pH ont ainsi pu être enregistrées.

Cette valeur est cependant inférieure à celle obtenue avec les groupements protecteurs de protons (environ 5 unités de pH)[35] ou par Irie avec la base carbinol du vert malachite (environ 4 unités de pH).[85] Comme nous le montrons ci-dessous, ces plateformes ne sont cependant soit pas réversibles soit peu adaptables.

8.1.4 Mesure directe de la variation du pH

Dans le chapitre 5 de ce travail de thèse nous avons également montré que la variation de pH induite par la plateforme 2-hydroxyazobenzène peut être mesurée en utilisant des méthodes parfois très simples (comme dans le cas de la méthode potentiométrique basée sur l'usage d'une électrode de verre). En parallèle, nous avons vu que la mesure optique du pH est également compatible avec le système 2-hydroxyazobenzène (comme dans le cas de la mesure fluorimétrique basée sur l'usage d'un rapporteur de pH fluorescent). À notre connaissance, aucune mise en évidence directe de la modulation de pH photoinduite par un photo-acide sous illumination n'a été effectuée dans la littérature à l'exception des travaux de Irie sur la base carbinol du vert malachite.[85]

8.1.5 Cinétique des réactions photochimiques et thermiques

Comme évoqué dans la partie 2.2, la cinétique des réactions d'inter-conversions entre les deux états du système est un facteur déterminant sur la variation du pH potentiellement accessible. Nous avons montré dans le chapitre 4 que la plateforme 2-hydroxyazobenzène possède des caractéristiques cinétiques adaptées (tant photochimiques que thermiques) qui ont permis de modifier le pH d'une solution sous illumination comme illustré dans le point précédent.

Cependant, forts de l'étude générale que nous avons menée sur plusieurs des membres la plateforme 2-hydroxyazobenzène nous avons mis en évidence que l'une des forces de la plateforme réside

dans l'adaptabilité de la cinétique de ses réactions d'interconversion. En effet, si la modification de l'intensité lumineuse d'éclairement permet de contrôler la cinétique des réactions photochimiques, nous avons montré que la modification de la structure des molécules permet de régler finement la cinétique de la réaction de relaxation thermique, et cela sur plusieurs ordres de grandeur. Ainsi, le choix d'une structure moléculaire combinée au réglage d'une intensité d'excitation adaptée permet de contrôler la forme de la modulation de pH désirée.

La littérature propose peu de systèmes permettant une adaptabilité aussi grande et trop rares sont les plateformes présentées avec assez de données physico-chimiques pour pouvoir prévoir *ab initio* le comportement sous illumination. Encore une fois, seul Irie a étudié la variation de la cinétique de relaxation de sa plateforme triphénylméthylène en fonction de la nature électronique des substituants engagés.[85]

8.1.6 Modulation périodique de pH photo-induite

Compte tenue de l'adaptabilité cinétique de la plateforme photo-acide 2-hydroxyazobenzène exposée ci-dessus, il a été possible de combiner une molécule dont le temps de relaxation thermique est court avec une excitation lumineuse sinusoïdalement modulée pour obtenir une variation périodique du pH de la solution avec une période de quelques dizaines de secondes comme exposé dans le chapitre 5. Une telle modulation de la concentration en protons a déjà été réalisée une unique fois dans la littérature avec la base carbinol du vert malachite d'Irie[86] mais la période des oscillations est d'environ une heure.

8.1.7 Adaptabilité de la plateforme au milieu aqueux

La plateforme 2-hydroxyazobenzène ne s'est pas montrée initialement soluble en milieu aqueux. Cependant des aménagements fonctionnels ou l'utilisation d'adjuvants solubilisants ont permis de la rendre opérationnelle dans l'eau pure comme illustré dans le chapitre 6.

8.1.8 Structuration spatiale du pH

Enfin, la forte résolution spatiale de la perturbation lumineuse nous a permis de réaliser des profils spatiaux de pH hors équilibre dans des géométries non triviales. L'obtention de tels profils stationnaires n'a encore jamais été décrite dans la littérature à notre connaissance.

8.2 Perspectives

8.2.1 Déplacement vers le rouge de la longueur d'onde d'absorption des molécules

Intérêt de se déplacer vers les hautes longueurs d'onde

Comme évoqué dans la partie 2.3.4, les applications biologiques éventuelles d'une plateforme photo-acide nécessitent que les composés absorbent à des longueurs d'onde aussi hautes que possible de sorte à ce que la lumière ne soit pas majoritairement absorbée par les chromophores endogènes et puisse y induire des photo-réactions parasites.[117,118]

L'ensemble des molécules étudiées dans ce travail de thèse absorbent globalement en dessous de 400 nm pour la forme **TH**. Pour augmenter la longueur d'onde du maximum d'absorption en gardant le motif « trichloro » sur le noyau phénolique, nous avons donc entrepris d'augmenter la conjugaison de la partie aniline de la molécule. Nous avons ainsi choisi de substituer l'aniline par une naphthylamine naturellement plus conjuguée. Les précurseurs α-naphthylamine et β-naphthylamine ont été utilisés pour conduire aux 2-hydroxyazobenzènes $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** et $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** par couplage diazoïque classique.[135,136] Les molécules obtenues sont présentées sur la figure 8.1.

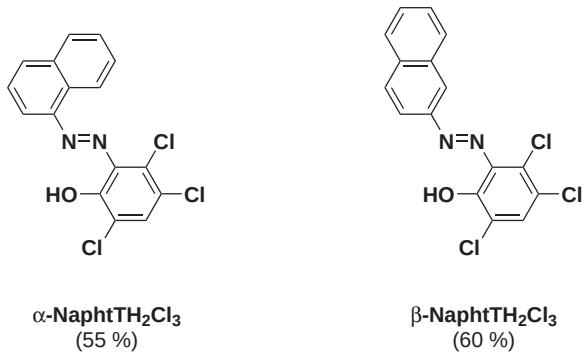


FIGURE 8.1 – *Molécules de $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** et $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** et rendements associés.*

Étude physico-chimique des molécules

L'étude physico-chimique préliminaire des molécules $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** et $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** a été effectuée comme décrit dans le chapitre 3. En particulier les spectres d'absorption associés sont présentés en annexe B de ce manuscrit. Nous avons ainsi déterminé les longueurs d'onde des maxima d'absorption des formes **TH** et **T**. Le tableau 8.1 rapporte les valeurs obtenues. On observe ainsi que $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** subit un réel effet bathochrome par rapport à la molécule **TH$_2$Cl$_3$** : on passe d'une longueur d'onde du maximum d'absorption de 347 nm pour **TH$_2$Cl$_3$** à 422 nm pour $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$**. *A contrario*, l'effet est quasi nul dans le cas de $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** dont la longueur d'onde du maximum d'absorption est de seulement 354 nm.

	λ_{max}(**TH**) (nm)	λ_{max}(**T**) (nm)	$\epsilon_{\mathbf{TH}}(\lambda_{max})$ ($M^{-1}s^{-1}$)	$\epsilon_{\mathbf{T}}(\lambda_{max})$ ($M^{-1}s^{-1}$)
$\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$**	422	444	10000	4500
$\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$**	354	445	23000	7000

TABLE 8.1 – *Caractéristiques photo-physiques de $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** et $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$**. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1). $T = 25\,°C$.*

Ce résultat est en accord avec la littérature[217,218] qui rapporte que la longueur d'onde du maximum d'absorption du α-naphtalènyldiazobenzène vaut 372 nm (dans l'éthanol) alors que celui du β-naphtalènyldiazobenzène est de 328 nm.

Nous avons ensuite déterminé les valeurs des constantes thermodynamiques des équilibres **TH**/**T**

et **CH**/**C** ainsi que la constante de la vitesse du processus de relaxation thermique **CH**→**TH**. Ces valeurs sont présentées dans le tableau 8.2.

	$\mathbf{p}K_{\mathbf{a\,TH/T}}$ ±0.1	$\mathbf{p}K_{\mathbf{a\,CH/C}}$ ±0.1	$k^{\Delta}_{\mathbf{CH\rightarrow TH}}$ ±0.1 (min^{-1})
$\alpha-\mathbf{NaphtTH_2Cl_3}$	9.3	7.0	3.9
$\beta-\mathbf{NaphtTH_2Cl_3}$	9.2	6.8	9.8

TABLE 8.2 – *Valeurs des constantes thermodynamiques et cinétiques de $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** et $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$**. Mélange tampon Britton-Robinson (acide acétique, acide borique, acide phosphorique[129] (0.04 M)) / acétonitrile (1/1). $T = 25\,°C$.*

Les pK_a des formes trans et cis sont proches de ceux trouvés pour **TH$_2$Cl$_3$** (9.4 et 6.6 respectivement). Pour le $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** la valeur trouvée est également en accord avec l'équation 3.2.3 issue de la corrélation d'énergie libre (on trouve une valeur de 9.2 en utilisant 0.170 comme constante de Hammett[144] pour le substituant β-naphthyle). [a]

Les valeurs des constantes de vitesse de la réaction de relaxation thermique sont globalement élevées. Pour $\beta-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$**, la corrélation d'énergie libre de l'équation 3.34 donne une valeur d'environ 20 min^{-1} deux fois plus grande que la valeur obtenue expérimentalement sans que d'explications claires de ce phénomène soient avancées.

Perspectives

Pour l'instant, nous avons montré qu'il est possible de synthétiser des composés de la plateforme 2-hydroxyazobenzène dont la conjugaison est augmentée par rapport à celle des molécules présentées dans le chapitre 3. Une étude spectroscopique a mis en évidence que seul le composé $\alpha-$**NaphtTH$_2$Cl$_3$** est sujet à un déplacement vers le rouge de son maximum d'absorption par rapport à la molécule **TH$_2$Cl$_3$**. Les études physico-chimiques menées ensuite ont permis de confirmer que cette molécule a des caractéristiques thermodynamiques et cinétiques (quant à la relaxation thermique) adaptées à l'obtention de variations de pH photoinduites dans les conditions exposées dans ce travail de thèse.

Des développements synthétiques et analytiques supplémentaires sont néanmoins nécessaires pour augmenter la solubilité de ces composés dans l'eau. Une molécule deux fois sulfonées (représentée sur la figure 6.8 à la fin du chapitre 6) présentant un motif α-naphthyle a été synthétisée dans cet objectif. Si sa solubilité aqueuse est très forte (jusqu'à environ 10 mM), la longueur d'onde de son maximum d'absorption n'est pas augmentée par rapport à **TH$_2$Cl$_3$** (λ_{max}(**TH**) = 349 nm).

[a]. La valeur de la constante de Hammett pour le substituant α-naphthyle n'a pas été trouvée.

8.2.2 Catalyse photo-stimulée de réactions organiques

Réactions organiques catalysées par les protons

Un grand nombre de réactions en chimie organique sont catalysées par des acides ou des bases. Le contrôle de la cinétique de telles réactions par la lumière en utilisant un photo-acide ou une photo-base peut donc être envisagé.

Ainsi, nous avons montré dans la partie 1.3.4 qu'une photo-base s'appuyant sur le photochromisme de la plateforme azobenzène a été utilisée par Hecht *et al.* pour photo-catalyser une réaction de condensation de Henry.[106]

Voulant vérifier si la plateforme 2-hydroxyazobenzène peut réaliser le même type de contrôle, nous avons cherché une réaction organique catalysée par un acide et adaptée à notre système. La figure 8.2 présente plusieurs de ces réactions. Dans chaque cas, un acide (noté **AH**) échange un proton avec l'oxygène de la fonction carbonyle ou acide carboxylique pour conduire à un ion acyloxonium procédant ainsi à une activation électrophile de l'atome de carbone.

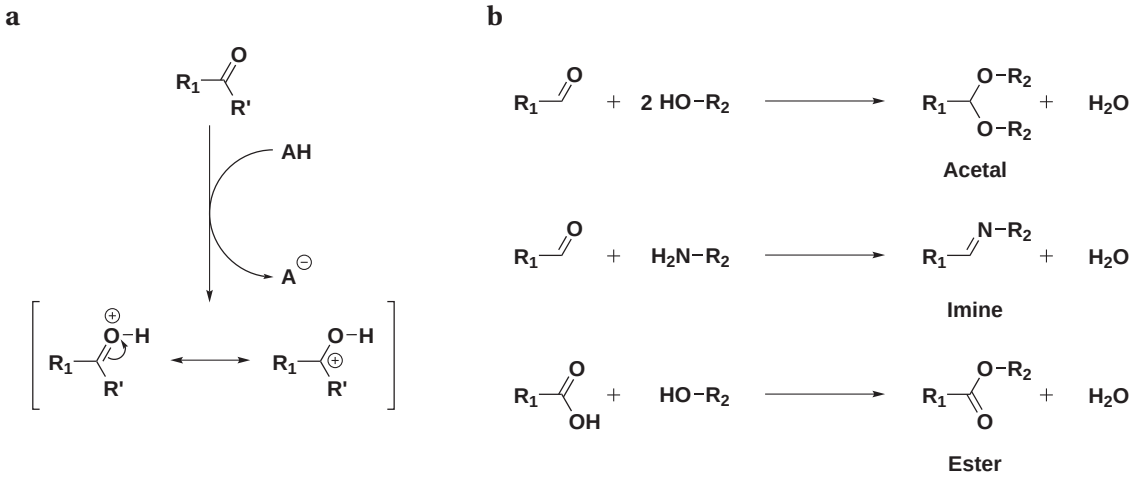


FIGURE 8.2 – *a* *: Principe de l'activation électrophile d'un carbonyle ou d'un acide carboxylique par catalyse acide générale.* ***b*** *: Exemples de réactions organiques acido-catalysées : acétalisation, synthèse d'imine et estérification.*

Choix de la synthèse d'imine

Parmi ces réactions, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la réaction de synthèse d'imine à partir d'un aldéhyde et d'une amine. En effet cette réaction est connue pour être sensible à la concentration en protons tant cinétiquement que thermodynamiquement.[219,220] De plus, elle à l'avantage d'être facile à suivre par RMN ^{1}H puisque le proton porté par le carbone sp^2 de l'aldéhyde et de l'imine sont des signaux fins qui ont respectivement des déplacements chimiques vers 10 ppm et vers 8.5 ppm (voir figure 8.3).

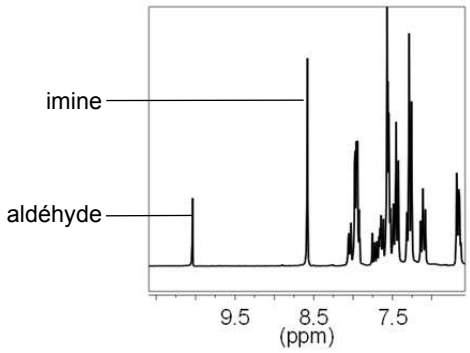


FIGURE 8.3 – *Spectre RMN ^1H montrant les déplacements caractéristiques d'un aldéhyde (vers 10) et d'une imine (vers 8.5) lors de la réaction entre une aniline et un benzaldéhyde.*

Premiers résultats expérimentaux

La cinétique de la réaction présentée sur la figure 8.4 a donc été étudiée en présence ou non de photo-acide, sous illumination ou dans l'obscurité. Ainsi, le benzaldéhyde (un équivalent) a été mis à réagir avec l'aniline (un équivalent) dans de l'acétonitrile. Le milieu réactionnel obtenu a été placé dans quatre tubes RMN. Dans deux de ces tubes, le composé $\mathbf{TH_2Cl_3}$ (0.1 équivalent) a été ajouté.

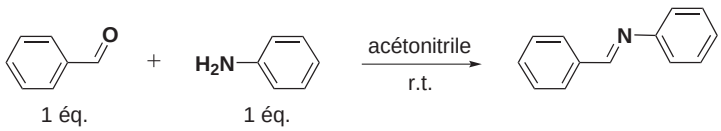


FIGURE 8.4 – *Réaction de formation d'imine entre le benzaldéhyde (66 mM, 1 éq.) et l'aniline (66 mM, 1 éq.) dans l'acétonitrile à température ambiante.*

Quatre expériences parallèles ont été réalisées :

i. un tube ne contenant pas $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a été laissé à l'obscurité ;

ii. un tube contenant $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a été laissé à l'obscurité ;

iii. un tube ne contenant pas $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a été irradié à 365 nm ;

iv. un tube contenant $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a été irradié à 365 nm.

L'avancement de la réaction dans chacun des quatre tubes a été suivi par RMN. La figure 8.5 présente les résultats obtenus.

À partir des courbes de la figure 8.5 il est possible d'extraire :

– le temps caractéristique de complétion de la réaction noté τ ;

– la proportion d'imine atteinte à l'équilibre.

Le tableau 8.3 fournit ces grandeurs dans les quatre conditions expérimentales.

Nous observons que, sans irradiation, la vitesse de la réaction de formation de l'imine est du même ordre de grandeur dans les tubes avec et sans $\mathbf{TH_2Cl_3}$. [b]

[b]. La vitesse est légèrement plus rapide dans le tube où $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a été ajouté. Cet effet peut être attribué au fait que le photo-acide est un acide faible même quand il n'est pas irradié et peut donc catalyser la réaction de synthèse d'imine.

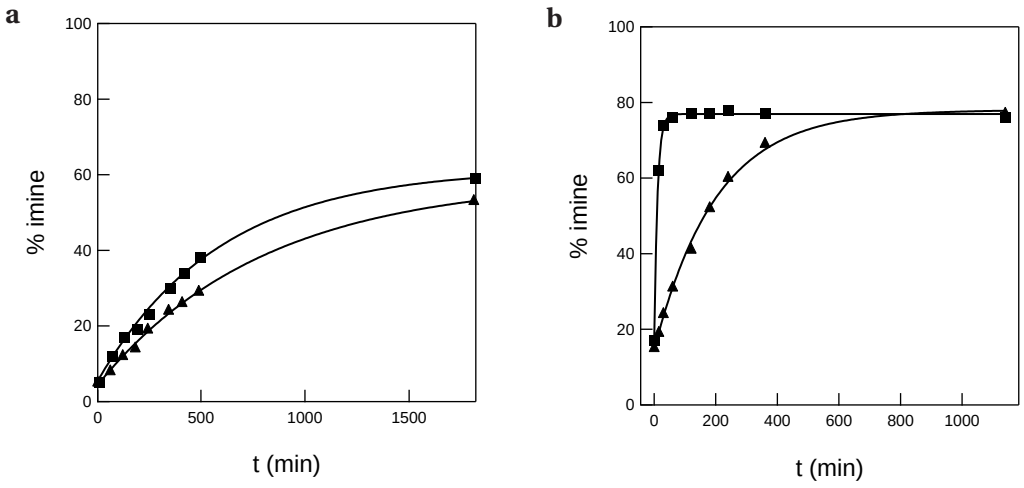


FIGURE 8.5 – *Évolution du pourcentage d'imine formée au cours du temps lors de la réaction entre le benzaldéhyde (66 mM, 1 éq.) et l'aniline (66 mM, 1 éq.) suivie en comparant les aires des pics aldéhyde et imine en RMN* ^1H. ***a*** *: Solutions gardées à l'obscurité. Triangles : sans* $\mathbf{TH_2Cl_3}$. *Carrés : avec* $\mathbf{TH_2Cl_3}$ *(6.6 mM, 0.1 éq.). T = 25 °C.* ***b*** *: Solutions illuminées à 365 nm. Triangles : sans* $\mathbf{TH_2Cl_3}$. *Carrés : avec* $\mathbf{TH_2Cl_3}$ *(6.6 mM, 0.1 éq.).*

	Sans lumière		**Avec lumière**	
	τ (min)	$\%_{\text{imine}}$ à l'équilibre	τ (min)	$\%_{\text{imine}}$ à l'équilibre
sans $\mathbf{TH_2Cl_3}$	800	59	200	78
avec $\mathbf{TH_2Cl_3}$	600	61	10	77

TABLE 8.3 – *Données relatives au suivi cinétique de la réaction entre le benzaldéhyde (66 mM, 1 éq.) et l'aniline (66 mM, 1 éq.) avec ou sans* $\mathbf{TH_2Cl_3}$ *(6.6 mM, 0.1 éq.) ; sous irradiation à 365 nm ou dans l'obscurité.*

A contrario, sous irradiation, la vitesse de la réaction est 20 fois plus rapide dans le tube où $\mathbf{TH_2Cl_3}$ a été ajouté que dans l'autre, prouvant ainsi le un rôle photo-catalytique du photo-acide.

De manière assez surprenante, la vitesse de la réaction dans les tubes ne contenant pas de 2-hydroxyazobenzène est plus grande si le tube est éclairé que s'il ne l'est pas. Cet effet peut être attribué à la forte augmentation de température (environ 10 °C) dans le tube éclairé par la lampe UV de forte puissance. On peut supposer que cet échauffement justifie également la variation de la constante d'équilibre conduisant à des proportions d'imine différentes à l'équilibre thermodynamique dans les tubes éclairés et non éclairés.

Perspectives

Les expériences préparatoires présentées ci-dessus ont permis de prouver que la plateforme 2-hydroxyazobenzène peut être utilisée comme un photo-catalyseur de certaines réactions organiques. Si des expériences complémentaires sont encore à mener, on peut d'ores et déjà imaginer des applications prometteuses.

En particulier, la réaction de synthèse d'imine a été largement mise en œuvre dans le cadre de la chimie dynamique combinatoire, une branche de la chimie supramoléculaire.[221–225]

Dans le cadre de l'optimisation de la structure moléculaire d'un récepteur pour la reconnaissance d'une molécule cible, la chimie dynamique combinatoire propose de laisser la molécule cible choisir par elle-même son meilleur récepteur. Le principe de la technique est de mélanger plusieurs molécules (appelées « briques élémentaires ») pouvant réagir les unes avec les autres de façon réversible. On obtient ainsi une « bibliothèque dynamique combinatoire » constituée d'un ensemble de récepteurs potentiels à l'équilibre thermodynamique comme illustré sur la figure 8.6. Les propositions relatives de chacun des récepteurs potentiels sont déterminées par leur stabilité thermodynamique. Lorsque la molécule cible est introduite dans le système, les équilibres de formation des récepteurs potentiels sont déplacés de sorte à ce que seul le meilleur récepteur pour la molécule cible soit amplifié. Il est ensuite possible d'isoler ce récepteur optimal.

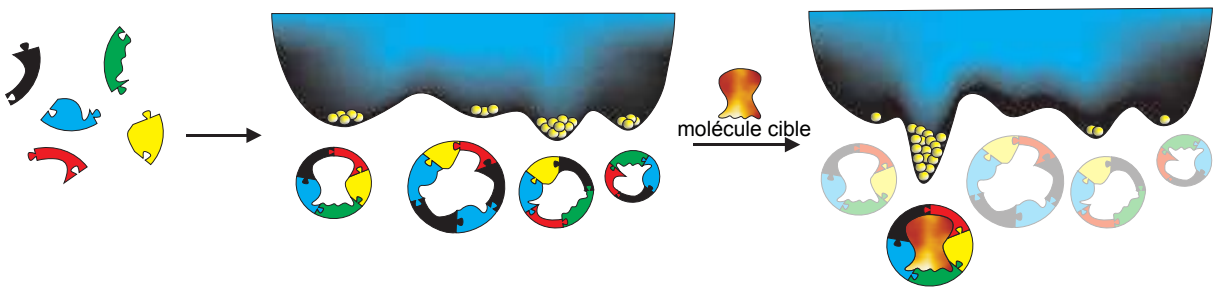


FIGURE 8.6 – *Exemple schématique d'une petite bibliothèque dynamique combinatoire composée de quatre macrocycles formés par échange réversible entre cinq briques élémentaires. Le profil d'énergie libre du système est représenté en bleu et les proportions relatives de chaque macrocycle sont figurées par des boules jaunes. L'addition d'une molécule cycle entraîne l'amplification du récepteur le mieux adapté au détriment de tous les autres. Reproduit d'après Otto et al.*[225]

Les réactions de synthèse d'imine, d'oximine et d'hydrazone ont été particulièrement employées

en chimie dynamique combinatoire puisque ce sont des réactions qui sont rapidement sous contrôle thermodynamique.[226,227] Ces réactions étant catalysées par des protons, la modulation du pH du milieu (ou plus généralement la modulation de l'acidité d'un photo-acide présent dans le système) peut donc apporter une dimension supplémentaire à l'application des bibliothèques dynamiques combinatoires pour la sélection de récepteurs comme illustré par Giuseppone *et al.*[228,229]

8.2.3 Photo-modulation de la charge de nano-particules chargées

Principe

Nous avons mis en évidence que les molécules de type $\mathbf{TH_2Cl_3}$ possèdent un pK_a de l'ordre de 9 pour la forme trans et de 6 pour la forme cis. Ainsi, en se plaçant à un pH intermédiaire, il doit être possible de faire passer la molécule d'un état neutre à un état chargé sous irradiation lumineuse.

Cette modulation de charge photo-induite peut se traduire par des mobilités électrophorétiques différentes entre les deux isomères. Pour mettre facilement en évidence ce phénomène, nous avons eu l'idée de greffer des molécules de la plateforme 2-hydroxyazobenzène sur une nanoparticule fluorescente. En se plaçant dans des conditions judicieuses de pH, la nanoparticule ainsi fonctionnalisée doit être neutre dans l'obscurité et acquérir une charge négative sous illumination comme illustré sur la figure 8.7.

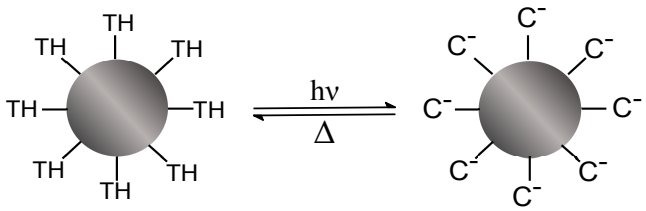


FIGURE 8.7 – *Représentation schématique de la variation de la charge d'une nanoparticule fluorescente sous illumination UV. Pour obtenir un tel phénomène, le pH du milieu doit être intermédiaire entre le pK_a du couple **TH/T** et celui du couple **CH/C**.*

Les nanoparticules choisies font partie de la famille des *quantum dots*. Il s'agit de nanocristaux semi-conducteurs dont la taille est comprise entre 1 et 10 nm. Ces nanoparticules possèdent des propriétés optiques uniques[230] qui leur confèrent une très grande fluorescence (avec des rendements quantiques parfois supérieurs à 85 %).[231] De plus, ils sont peu sujet au photoblanchiment et possèdent des bandes d'émission fines. Ces objets suscitent donc un grand intérêt en particulier dans le domaine de l'imagerie d'échantillons biologiques.[232,233]

Les expériences préliminaires sont réalisées par Jérôme QUERARD dans le cadre de son stage de Master 2 au sein de notre équipe dans le cadre d'une collaboration avec Valérie MARCHI-ARTZNER (Université de Rennes 1, CNRS UMR 6226).

Synthèse des nano-objets

Le 2-hydroxyazobenzène choisi pour être greffé sur les *quantum dots* est $\mathbf{TH(CH_2NH_2)Cl_3}$ déjà utilisé pour fonctionnaliser un polymère hydrosoluble dans le chapitre 6.

Pour assurer la stabilité colloïdale des *quantum dots* dans l'eau, il est nécessaire de greffer des ligands sur les nanoparticules. Le choix de ligand retenu est un peptide NH_2-Cys-Cys-Cys-NH-$(PEG)_6$-$CH_2CH_2CO_2H$ possédant trois cystéines (qui se lient à la surface du *quantum dot* par l'intermédiaire des atomes de soufre) représenté sur la figure 8.8.

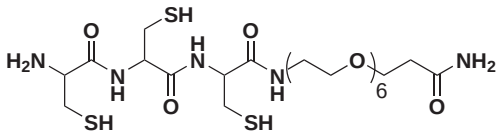


FIGURE 8.8 – *Structure du peptide non fonctionnalisé.*

De plus, ce peptide peut être lui même modifié pour y fixer covalemment un 2-hydroxyazobenzène. La figure 8.9 présente la voie de synthèse utilisée pour accrocher la molécule $\mathbf{TH(CH_2NH_2)Cl_3}$ au peptide. La première étape est un couplage amide classique entre $\mathbf{TH(CH_2NH_2)Cl_3}$ et le peptide Boc-Cys(Trt)-Cys(Trt)-Cys(Trt)-NH-$(PEG)_6$-$CH_2CH_2CO_2H$ dont l'extrémité N-terminale est protégée par un Boc et les fonctions thiol des cystéines par des groupements trityles. La seconde étape permet de déprotéger les groupements protecteurs.

Les peptides ont ensuite été greffés sur des *quantum dots* par échange de ligands.[234,235] Des objets possédant des rapports molaires différents (0, 2.5, 5, 10 et 15 %) entre le nombre de peptides fonctionnalisés par un 2-hydroxyazobenzène et le nombre de peptides non fonctionnalisés ont été obtenus.

Perspectives

Les premières caractérisations par spectroscopie UV-visible et fluorimétrie ont été effectuées. Cependant d'autres paramètres physico-chimiques restent à déterminer tels que :

- les tailles caractéristiques des objets et leurs coefficients de diffusion, mesurables par spectroscopie de corrélation de fluorescence (FCS) et par électrophorèse capillaire ;
- les mobilités électrophorétiques dans l'obscurité et sous illumination, mesurables par électrophorèse capillaire et en micro-systèmes.

En supposant qu'une variation de la mobilité électrophorétique puisse être observée sous irradiation, il sera possible de concevoir de nombreuses applications mettant en jeu la photo-modulation de la charge d'un objet fluorescent. Dans un premier temps, il sera par exemple possible d'envisager de contrôler localement l'adhésion des nanoparticules photosensibles sur de surfaces chargées positivement.

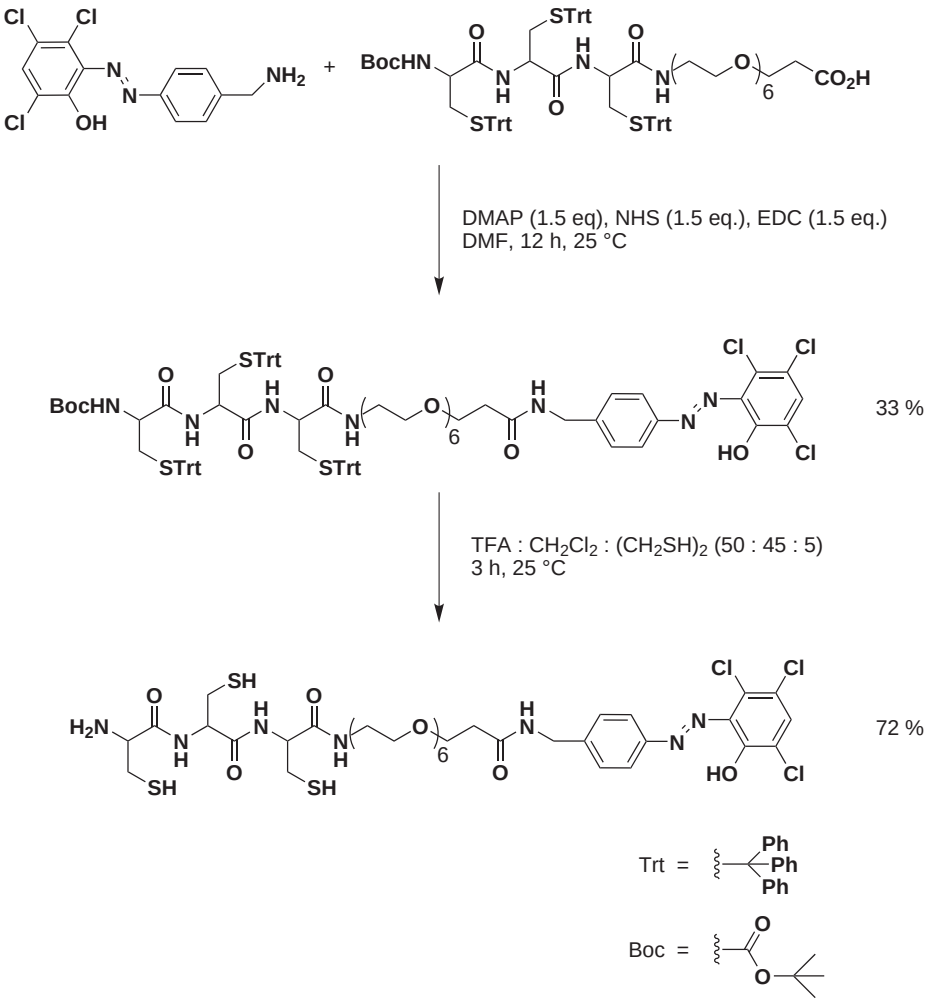


FIGURE 8.9 – *Schéma de synthèse du peptide fonctionnalisé par* ***TH(CH$_2$NH$_2$)Cl$_3$*** *et rendements associés. DMAP : diméthylaminopyridine ; NHS : N-hydroxysuccinimide ; EDC : 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide ; TFA : acide trifluoroacétique.*

Annexe A

Organic Syntheses

A.1 General Information

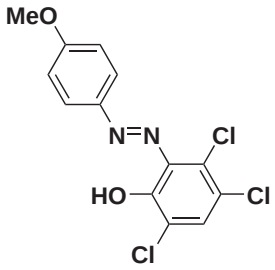
The starting materials were purchased from Sigma, TCI Europe and Fisher Scientific ; they were used without further purification. Melting points were determined with a Büchi 510 capillary apparatus. ^{1}H, ^{13}C, and ^{19}F NMR spectra were recorded at room temperature on a Bruker AM 250 SY spectrometer ; in ^{1}H and ^{13}C NMR, chemical shifts are reported in ppm with the (protonated) solvent as internal reference (^{1}H, $CHCl_3$ in $CDCl_3$ 7.26 ppm, CHD_2SOCD_3 in CD_3SOCD_3 2.49 ppm ; ^{13}C, $^{13}CDCl_3$ in $CDCl_3$ 77.0, $^{13}CD_3SOCD_3$ in CD_3SOCD_3 39.7 ppm) ; coupling constants J are given in Hz. Mass spectra (low and high resolutions) were performed by the Laboratoire de Spectrométrie de Masse de l'ENSCP (Paris) and the Laboratoire de Spectrométrie de Masse de l'ICSN (Gif sur Yvette). Micro-analyses were performed by the Service de Microanalyse de l'ICSN (Gif sur Yvette). Column chromatography (CC) and analytical thin-layer chromatography (TLC) were conducted on silica gel 60 (0.040-0.063 nm) Merck and on Merck silica gel 60 F_{254} precoated plates (UV detection at 254 nm) respectively.

A.2 General procedure for diazoic coupling

The azo molecules were synthesized according to published procedures.[134–137] A solution of sodium nitrite (414 mg, 6 mmol, 1.1 eq.) in water (5 mL) at less than 5°C was added in small volumes to the stirred solution of aniline (5.4 mmol) in conc. HCl (2 mL) and water (2 mL) cooled below 5°C by immersion in a crushed ice bath (during the addition, the temperature was prevented from rising above 5°C). The resulting cold solution of diazonium salt was very slowly added to a solution of 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (5–15 mL) cooled at 5°C by immersion in a crushed ice bath assisted by the direct addition of about 5 g of crushed ice. After complete addition, the mixture was allowed to stand in an ice bath for 1 h with occasional stirring and was eventually acidified with concentrated chlorhydric acid until the diazo precipitated as a solid. The resulting solid was filtered, washed with cold water and dried over P_2O_5 *in vacuo*. Most products were recrystallized at least once for analytical purpose.

A.3 Syntheses in the $THXCl_3$ platform

$THOMeCl_3$



3,4,6-Trichloro-2-(4-methoxy-phenylazo)-phenol

p-Anisidine (664 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (10 mL). 517 mg of **$THOMeCl_3$** as a brown solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 30 %.

m.p. : 179 °C ;

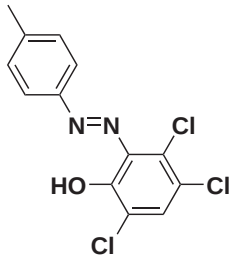
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.59 (s, 1 H), 7.90 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 7.50 (s, 1 H), 7.03 (d, 2 H, J = 8.8 Hz), 3.90 (s, 3 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 163.9, 149.7, 144.4, 134.3, 134.2, 132.6, 125.4 (2), 124.0, 121.5, 115.3 (2), 56.1 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{13}H_9Cl_3N_2O_2$ (331.6) : C 47.09, H 2.74, N 8.45, O 9.65 ; found : C 46.93, H 2.86, N 8.17, O 9.83 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : m/z 330 [M^+] ; MS (EI, HR) : 329.9733 (calcd mass for $C_{13}H_9N_2O_2{}^{35}Cl_3$: 329.9730).

$THMeCl_3$



3,4,6-Trichloro-2-(4-methyl-phenylazo)-phenol

p-Toluidine (578 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (4.5 mL) ; 1.102 g of **$THMeCl_3$** as a yellow solid (purified by column chromatography with dichloromethane as eluent for analytical purpose). Yield : 65 %.

m.p. : 161 °C ;

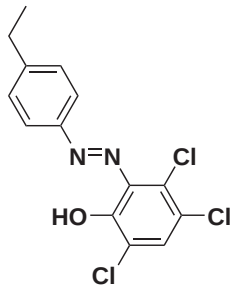
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.67 (s, 1 H), 7.81 (d, 2 H, J = 8.3 Hz), 7.53 (s, 1 H), 7.33 (d, 2 H, J = 8.3 Hz), 2.45 (s, 3 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 149.9, 148.0, 144.0, 139.1, 134.5, 134.2, 133.0, 130.6 (2C), 123.9, 123.3 (2C), 21.9 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{13}H_9Cl_3N_2O$ (314.0) : C 49.48, H 2.87, N 8.88, O 5.07 ; found : C 50.01, H 3.01, N 8.39, O 4.93 ;

Mass spectrometry : MS (CI, CH_4) : *m/z* 315 [*M*+1] ; MS (CI, CH_4, HR) : 314.9867 (calcd mass for $C_{13}H_{10}N_2O^{35}Cl_3$: 314.9859).

THEtCl$_3$



3,4,6-Trichloro-2-(4-ethyl-phenylazo)-phenol

4-Ethyl aniline (654 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (4.5 mL). 1.28 g of **THEtCl$_3$** as a brown solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 72 %.

m.p. : 138 °C ;

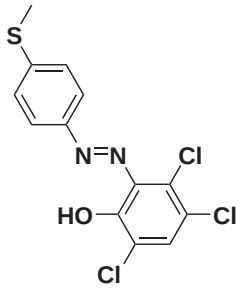
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.58 (s, 1 H), 7.77 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 7.44 (s, 1 H), 7.31 (d, 2 H, J = 8.4 Hz), 2.71 (q, 2 H, J = 8.0 Hz), 1.27 (t, 3 H, J = 8.0 Hz) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 150.1, 149.9, 148.1, 134.4, 134.1, 132.9, 129.3 (2C), 123.8, 123.2 (2C), 121.5, 29.1, 15.3 ;

Elemental Analysis : (%) $C_{14}H_{11}Cl_3N_2O$ (329.6) : C 51.01, H 3.36, N 8.50, O 4.85 ; found : C 51.09, H 3.25, N 8.36, O 4.91 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 327.92 [*M*+] ; MS (ESI, HR) : 329.0023 (calcd mass for $C_{14}H_{12}{}^{35}Cl_3N_2O$: 329.0015).

THSMeCl$_3$



3,4,6-Trichloro-2-(4-methylsulfanyl-phenylazo)-phenol

p-Methylsulfanyl aniline (750 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (4.5 mL). 1.18 g of **THSMeCl$_3$** as an orange solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 63 %.

m.p. : 186 °C ;

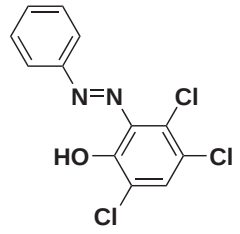
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.55 (s, 1 H), 7.81 (d, 2 H, J = 8.6 Hz), 7.50 (s, 1 H), 7.31 (d, 2 H, J = 8.6 Hz), 2.54 (s, 3 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 149.8, 147.1, 146.3, 134.3, 134.2, 132.9, 126.2 (2C), 124.0, 123.6 (2C), 121.5, 15.1 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{13}H_9Cl_3N_2OS$ (347.6) : C 44.91, H 2.61, N 8.06 ; found : C 44.94, H 2.49, N 7.98 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 348.35 [M^+] ; MS (ESI, HR) : 346.9599 (calcd mass for $C_{13}H_{10}{}^{35}Cl_3N_2O$: 346.9579).

TH$_2$Cl$_3$



3,4,6-Trichloro-2-(4-phenylazo)-phenol

Aniline (502 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (15 mL). 1.14 g of **TH$_2$Cl$_3$** as a red solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 70 %.

m.p. : 143 °C ;

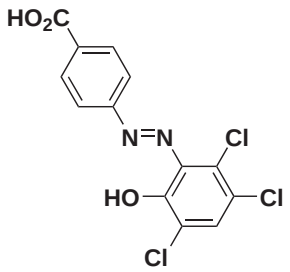
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.62 (s, 1 H), 7.94–7.90 (m, 2 H), 7.57–7.52 (m, 4 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 150.1, 149.8, 134.8, 134.2, 133.5, 132.9, 129.9 (2), 124.0, 123.2 (2), 121.7 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{12}H_7Cl_3N_2O$ (301.6) : C 47.79, H 2.34, N 9.29 ; found : C 47.83, H 2.32, N 9.27 ;

Mass spectrometry : MS (CI, CH_4) : *m/z* 301 [*M*+1] ; MS (CI, CH_4, HR) : *m/z* 300.9705 (calcd mass for $C_{12}H_8{}^{35}Cl_3N_2O$: 300.9697).

THCOOHCl$_3$



4-(2,3,5-Trichloro-6-hydroxy-phenylazo)-benzoic acid

4-Aminobenzoic acid (740 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (15 mL). 1.14 g of **THCOOHCl$_3$** as a red solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 60 %.

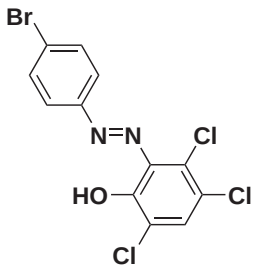
m.p. : 253 °C (with decomposition) ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, Acetone d_6, 298 K) δ 14.14 (bs, 1 H), 8.29 (d, 2 H, J = 8.3 Hz), 8.19 (d, 2 H, J = 8.3 Hz), 7.86 (s, 1 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, DMSO d_6) δ 166.4, 152.4, 151.9, 149.4, 134.3, 133.9, 133.6, 132.9, 130.8 (2C), 122.8 (2C), 121.5 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 344 [M^+] ; MS (CI, CH_4, HR) : 344.9605 (calcd mass for $C_{13}H_8N_2O_3{}^{35}Cl_3$: 344.9595).

THBrCl$_3$



3,4,6-Trichloro-2-(4-bromo-phenylazo)-phenol

p-Bromoaniline (930 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (10 mL). 1.85 g of **THBrCl$_3$** as a red solid (recrystallized in chloroform :acetone for analytical purpose). Yield : 90 %.

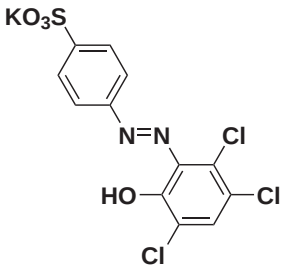
m.p. 220 °C ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.31 (s, 1 H), 7.79 (d, 2 H, J = 8.6 Hz), 7.68 (d, 2 H, J = 8.6 Hz), 7.57 (s, 1 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 149.7, 148.7, 134.7, 134.1, 133.7, 133.1 (2C), 127.5, 124.3 (2C), 124.2, 121.6 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 379.9 [M^+] ; MS (EI, HR) : 377.8739 (calcd mass for $C_{12}H_6Br^{35}Cl_3N_2O$: 377.8729).

THSO$_3$KCl$_3$



4-(2,3,5-Trichloro-6-hydroxy-phenylazo)-benzenesulfonate

4-Amino-benzenesulfonic acid (935 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (15 mL). As the sulfonic acid did not precipitate, the acidic aqueous solution was extracted with methylene chloride and subsequently washed with aqueous conc. K_2CO_3. After drying on Na_2SO_4 and solvent evaporation, 1.13 g of **THSO$_3$KCl$_3$** was obtained as an orange solid (recrystallized in chloroform :acetone for analytical purpose). Yield : 50 %.

m.p. 290 °C (with decomposition) ;

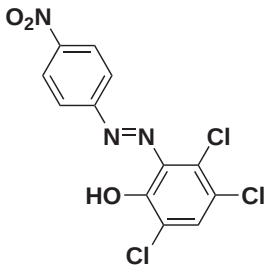
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, DMSO d_6) δ 13.88 (bs, 1 H), 8.05-7.96 (m, 3 H), 7.82 (d, 2 H, J = 8.1 Hz) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, DMSO d_6) δ 152.0, 149.4, 148.9, 134.1, 133.1, 132.9, 127.2 (2 C), 122.8, 122.7 (2 C), 121.2 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{12}H_6Cl_3N_2KO_4S$ (419.7) : C 34.34, H 1.44, N 6.67 ; found : C 34.44, H 1.68, N 6.66 ;

Mass spectrometry : MS (ESI) : *m/z* 379.1 [M-K^-] ; MS (ES-, HR) : 378.9123 (calcd mass for $C_{12}H_6{}^{35}Cl_3N_2O_4$: 378.9114).

THNO$_2$Cl$_3$



3,4,6-Trichloro-2-(4-nitro-phenylazo)-phenol

p-Nitroaniline (745 mg, 5.4 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (1.066 g, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (4.5 mL). 1.657 g of **THNO$_2$Cl$_3$** as a brown solid (recrystallized in toluene for analytical purpose). Yield : 89 %.

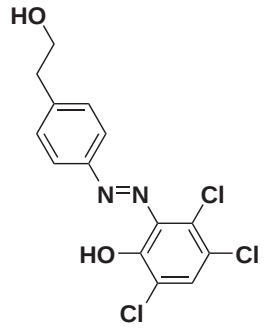
m.p. 282 °C with decomposition ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.26 (s, 1 H), 8.41 (d, 2 H, J = 9.0 Hz), 8.04 (d, 2 H, J = 9.0 Hz), 7.63 (s, 1 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, DMSO d_6, 298 K) δ 159.3, 158.6, 145.8, 137.9, 133.7, 129.4, 128.3, 124.9 (2 C), 121.7 (2 C), 109.1 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : m/z 345 [M^+] ; MS (EI, HR) : 344.9480 (calcd mass for $C_{12}H_6{}^{35}Cl_3N_3O_3$: 344.9475).

TH(CH$_2$CH$_2$OH)Cl$_3$



3,4,6-Trichloro-2-[4-(2-hydroxy-ethyl)-phenylazo]-phenol

2-(4-Aminophenyl)ethanol (2.06 g, 15.0 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (2.96 g, 15.0 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (15 mL). 3.91g of **TH(CH$_2$CH$_2$OH)Cl$_3$** as a brown solid (recrystallized in a mixture of water and ethanol for analytical purpose). Yield : 75 %.

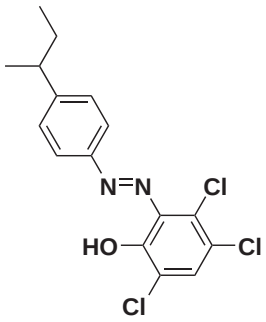
m.p. 154 °C with decomposition ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.60 (s, 1H), 7.86 (d, 2H, J = 7.7 Hz), 7.53 (s, 1H), 7.41 (d, 2H, J = 7.7 Hz), 3.92 (t, 2H, J = 5.6 Hz), 2.96 (t, 2H, J = 5.6 Hz) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 150.0, 148.7, 144.6, 134.6, 133.3, 134.2, 133.3, 130.6 (2C), 124.0, 123.4 (2C), 63.4, 39.4 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 344.2 [M^+] ; MS (ES, HR) : 342.9813 (calcd mass for $C_{14}H_{10}{}^{35}Cl_3N_2O_3$: 342.9808).

TH(*sec*−Butyl)Cl_3



2-(4-Butyl-phenylazo)-3,4,6-trichloro-phenol

4-sec-Butylaniline (5.97 g, 40.0 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (7.90 g, 40.0 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (55 mL). 10.1 g of **TH(Butyl)Cl_3** as a orange solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 71 %.

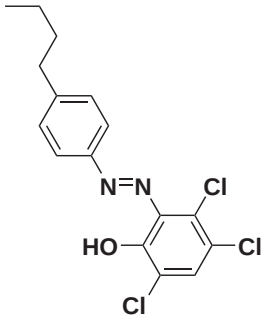
m.p. 112 °C with decomposition ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.67 (s, 1H), 7.83 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.51 (s, 1H), 7.34 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 2.76–2.62 (m, 1H), 1.65–1.57 (m, 2H), 1.26 (d, 3H, *J* = 6.9 Hz), 0.83 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 153.8, 150.0, 148.3, 134.5, 134.2, 133.0, 128.6 (2C), 123.9, 123.3 (2C), 121.6, 42.1, 31.2, 21.8, 12.4 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{16}H_{15}Cl_3N_2O$ (357.66) : C 53.73, H 4.23, N 7.83, O 4.47 ; found : C 55.33, H 4.32, N 7.80 ;

TH(*n*−Butyl)Cl_3



2-(4-*sec*-Butyl-phenylazo)-3,4,6-trichloro-phenol

4-Butylaniline (5.97 g, 40.0 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (7.90 g, 40.0 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (55 mL). 9.8 g of **TH(Butyl)Cl$_3$** as an orange solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 69 %.

m.p. 100 °C with decomposition ;

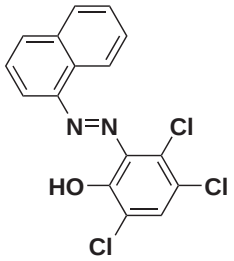
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.66 (s, 1H), 7.82 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 7.51 (s, 1H), 7.33 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 2.69 (t, 2H, J = 7.4 Hz), 1.71–1.53 (m, 2H), 1.44–1.29 (m, 2H), 0.93 (t, 3H, J = 7.3 Hz) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 150.0, 149.0, 148.1, 134.5, 134.2, 133.0, 130.0 (2C), 123.9, 123.3 (2C), 121.6, 35.9, 33.5, 22.5, 14.1 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{16}H_{15}Cl_3N_2O$ (357.66) : C 53.73, H 4.23, N 7.83, O 4.47 ; found : C 53.65, H 4.42, N 7.84, O 4.88 ;

A.4 Syntheses of the naphtalenyle $THXCl_3$ platform

$\alpha-NaphtTH_2Cl_3$



3,4,6-Trichloro-2-(naphthalen-1-yldiazenyl)phenol

α Naphthylamine (5.72 g, 40.0 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (7.84 g, 40.0 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (55 mL). 7.74 g of $\alpha-NaphtTH_2Cl_3$ as a brown solid (recrystallized twice in ethanol for analytical purpose). Yield : 55 %.

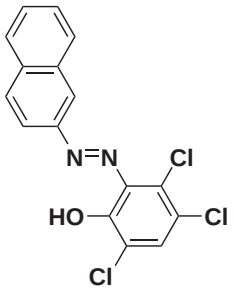
m.p. 178.9 °C with decomposition ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 15.17 (s, 1H), 8.45 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 8.13–7.93 (m, 3H), 7.71–7.57 (m, 4H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 150.4, 145.1, 134.9, 134.8, 134.6, 133.6, 133.6, 129.5, 128.9, 128.7, 127,2, 126.1, 124.2, 122.0, 121.8, 115.8 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{16}H_9Cl_3N_2O$ (351.6) : C 54.65, H 2.58, N 7.97 ; found : C 54.48, H 2.52, N 7.84 ;

$\beta-NaphtTH_2Cl_3$



3,4,6-trichloro-2-(naphthalen-2-yldiazenyl)phenol

β Naphthylamine (5.72 g, 40.0 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (7.84 g, 40.0 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (55 mL). 8.4 g of $\beta-NaphtTH_2Cl_3$ as a brown solid (recrystallized twice in ethanol for analytical purpose). Yield : 60 %.

m.p. 193.2 °C with decomposition ;

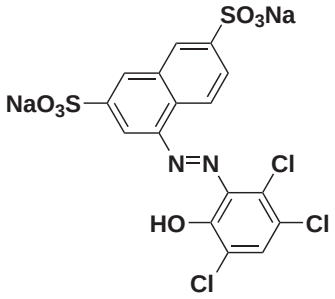
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 15.175 (s, 1H), 8.44 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 8.17–7.92 (m, 3H), 7.69–7.51 (m, 4H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 149.7, 147.4, 135.4, 134,4, 134.1, 133.2, 133.0, 130.1, 129.6, 128.8, 128.5, 128.1, 127.4, 123.8, 121.4, 116.3 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{16}H_9Cl_3N_2O$ (351.6) : C 54.65, H 2.58, N 7.97 ; found : C 54.54, H 2.52, N 7.84 ;

Mass spectrometry : MS (ESI) : *m/z* 351.03 [*M+H*] ; MS (ESI, HR) 350.9871 (calcd mass for $C_{16}H_9^{35}Cl_3N_2O$ [*M+H*] : 350.9859).

α−**Napht(SO$_3$Na)$_2$TH$_2$Cl$_3$**



4-((2,3,5-Trichloro-6-hydroxyphenyl)diazenyl)naphthalene-2,7-disulfonate sodium

Sodium 5-amino-7-sulfonaphthalene-2-sulfonate (1.3 g, 4.0 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (0.79 g, 4.0 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (6 mL). 1.0 g of α−**Napht(SO$_3$Na)$_2$TH$_2$Cl$_3$** as a brown solid (recrystallized twice in a mixture of water and acetone for analytical purpose). Yield : 45 %.

m.p. > 300 °C with decomposition ;

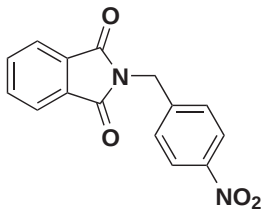
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, D_2O, 298 K) δ 8.40 (d, 1H, J = 9.3 Hz), 8.27 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.72 (m, 1H), 6.79 (d, 1H, J = 4.4 Hz) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, D_2O, 298 K) δ 149.4, 146.2, 140.2, 139.9, 134.0, 133.1, 132.9, 132.8, 130.5, 130.3, 127.5, 127.2, 124.5, 123.3, 120.9, 118.3 ;

Mass spectrometry : MS (ESI) : *m/z* 254.9 [*(M-H)/2*] ; MS (ES, HR) : 508.8825 (calcd mass for $C_{16}H_8^{35}Cl_3N_2O_7S_2^-$ [*M+H-2Na*] : 508,8844).

A.5 Functionalization of the $THXCl_3$ platform

1



2-(4-Nitro-benzyl)-isoindole-1,3-dione[196]

1-Chloromethyl-4-nitro-benzene (10.0 g, 58.3 mmol) and potassium phthalimide (10.8 g, 58.3 mmol, 1 eq.) were dissolved in freshly distilled DMF (200 mL). The resulting purple mixture was heated overnight at 60°C upon monitoring by TLC. Once all the reactants disappeared, the mixture was precipitated in 400 mL of water at room temperature and stirred for 10 min. After filtration, the solid was dried over P_2O_5 to yield **1** as a white powder (15.8 g ; yield : 96%).

m.p. : 171 °C (litt. 171–174°C) ;

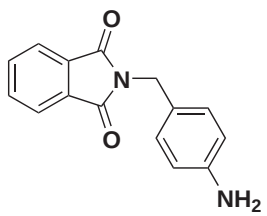
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 8.17 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 7.90–7.81 (m, 2H), 7.78–7.70 (m, 2H), 7.57 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 4.91 (s, 2H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 168.0 (2C), 147.8, 143.5 (2C), 134.5 (2C), 132.2, 129.6 (2C), 124.2 (2C), 123.8 (2C), 41.1 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{15}H_{10}N_2O_4$ (282.3) : C 63.83, H 3.57, N 9.92 ; found : C 63.36, H 3.24, N 9.85 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 282.28 [*M*+] ; MS (ES, HR) : 281.0563 (calcd mass for $C_{15}H_9N_2O_4$: 281.0562).

2



2-(4-Amino-benzyl)-isoindole-1,3-dione[197]

A solution of **1** (8.0 g, 28 mmol) in dichloromethane (1.5 L) was hydrogenated over 10 % palladium on charcoal (3.0 g) at room temperature under an atmospheric pressure of hydrogen for 5 h. After disappearance of the reactant (monitored by TLC), the solution was filtered through a Celite® pad

and concentrated *in vacuo*. The resulting solid was washed with pentane to yield **2** as a yellow solid (7.0 g ; yield : 98%).

m.p. : 195 °C ;

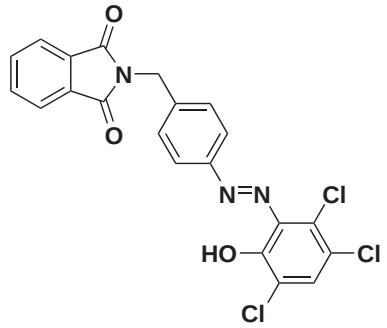
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 7.85–7.76 (m, 2H), 7.70–7.62 (m, 2H), 7.24 (d, 2H, J = 8.3 Hz), 6.60 (d, 2H, J = 8.3 Hz), 4.71 (s, 2H), 3.64 (bs, 2H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 168.4 (2C), 146.3 (2C), 134.0 (2C), 132.4, 130.3 (2C), 126.7, 123.4 (2C), 115.2 (2C), 41.4 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{15}H_{12}N_2O_2$ (252.3) : C 71.42, H 4.79, N 11.10 ; found : C 71.33, H 4.58, N 11.03 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 252.28 [*M*+] ; MS (ES, HR) : 253.0979 (calcd mass for $C_{15}H_{13}N_2O_2$: 253.0977).

3



2-[4-(2,3,5-Trichloro-6-hydroxy-phenylazo)-benzyl]-isoindole-1,3-dione[236]

A solution of sodium nitrite (751 mg, 10.9 mmol, 1.1 eq.) in water (5 mL) at less than 5°C was added in small volumes to a stirred solution of **2** (2.50 g, 9.9 mmol) in conc. HCl (2 mL) and water (2 mL) cooled below 5°C by immersion in a crushed ice bath (during the addition, the temperature was prevented from rising above 5°C). The resulting cold solution of diazonium salt was very slowly added to a solution of 2,4,5-trichlorophenol (1.95 g, 9.9 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (15 mL) cooled at 5°C by immersion in a crushed ice bath assisted by the direct addition of about 5 g of crushed ice. After complete addition, the mixture was allowed to stand in an ice bath for 1 h with occasional stirring and was eventually acidified with concentrated chlorhydric acid until the diazo precipitated as a solid. The resulting solid was filtered, washed with cold water and dried over P_2O_5 *in vacuo* to yield **3** as a red solid (recrystallized from dioxane for analytical purpose) (4.22 g ; yield : 92%).

m.p. : 280 °C with decomposition ;

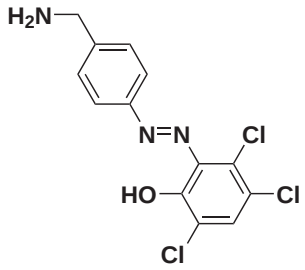
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 14.53 (s, 1H), 7.90–7.82 (m, 4H), 7.76–7.69 (m, 2H), 7.59 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 7.54 (s, 1H), 4.91 (s, 2H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 168.2 (2C), 150.0, 149.4, 141.3 (2C), 134.8, 134.5 (2C), 133.6, 133.5, 132.2, 130.1 (2C), 124.1, 123.8 (2C), 123.5 (2C), 121.7, 41.4 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{21}H_{12}Cl_3N_3O_3$ (460.7) : C 54.75, H 2.63, N 9.12 ; found : C 54.89, H 2.65, N 8.79 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 461.38 [*M*+] ; MS (ES, HR) : 457.9880 (calcd mass for $C_{21}H_{11}{}^{35}Cl_3N_3O_3$: 457.9866).

TH(CH_2NH_2)Cl_3



2-(4-Aminomethyl-phenylazo)-3,4,6-trichloro-phenol

3 (500 mg, 1.1 mmol) was dissolved in ethylenediamine (10 mL) and the mixture was sonicated for 3 h upon monitoring the extent of the reaction by ^{1}H NMR spectroscopy. After completion of the reaction, brine was added to the mixture which was extracted twice with dichloromethane. The organic layer was washed twice with brine, once with water. After drying over Na_2SO_4, the solvent was evaporated *in vacuo* to yield **TH(CH_2NH_2)Cl_3** as a brown solid (recrystallized from a mixture of ethanol and water for analytical purpose) (320 mg ; yield : 90%).

m.p. : 165 °C ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 7.86 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 7.51 (s, 1H), 7.47 (d, 2H, *J* = 8.4 Hz), 3.96 (s, 2H) ;

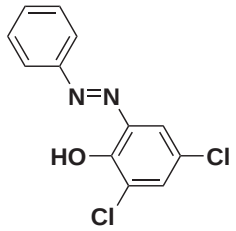
^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$, 298 K) δ 149.9, 148.8, 148.7, 134.6, 134.2, 133.2, 128.5 (2C), 124.0, 123.4 (2C), 121.6, 46.3 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{13}H_{10}Cl_3N_3O$ (330.6) : C 47.23, H 3.05, N 12.71 ; found : C 47.50, H 3.30, N 12.85 ;

Mass spectrometry : MS (ES-) : *m/z* 328.0 [*M*-] ; MS (ES-, HR) : 327.9807 (calcd mass for $C_{13}H_9{}^{35}Cl_3N_3O$: 327.9811).

A.6 Syntheses of other molecules

TH_2Cl_2



2,4-Dichloro-6-phenylazo-phenol

Aniline (503 mg, 5.4 mmol) ; 2,4-dichlorophenol (869 mg, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (4.5 mL). 995 mg of **TH_2Cl_2** as an orange solid (purified by column chromatography in cyclohexane). Yield : 69 %.

m.p. : 129 °C ;

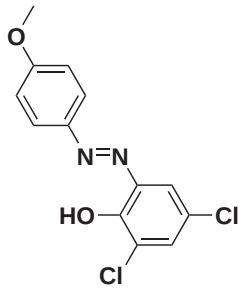
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$) δ 13.54 (s, 1 H), 7.90-7.83 (m, 3 H), 7.57-7.49 (m, 3 H), 7.43 (d, 1 H, J = 2.0 Hz) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$) δ 150.1, 148.2, 137.5, 132.8, 132.6, 131.0, 129.8 (2 C), 124.4, 123.3, 122.9 (2 C) ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{12}H_8Cl_2N_2O$ (267.1) : C 53.96, H 3.02, N 10.49 ; found : C 54.19, H 3.06, N 10.32 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : m/z 265.8 [M+] ; MS (ES+, HR) : 267.0092 (calcd mass for $C_{12}H_9{}^{35}Cl_2N_2O$: 267.0092).

$THOMeCl_2$



2,4-Dichloro-6-(4-methoxy-phenylazo)-phenol

4-Methoxyaniline (664 mg, 5.4 mmol) ; 2,4-dichlorophenol (703 mg, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (4.5 mL). 882 mg of **$THOMeCl_2$** as a yellow solid (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 55 %.

m.p. : 190 °C ;

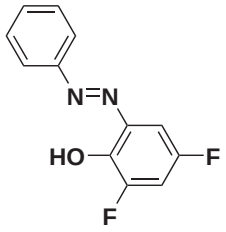
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$) δ 13.56 (s, 1 H), 7.84 (d, 2 H, J = 9.0 Hz), 7.81 (d, 1 H, J = 2.0 Hz), 7.38 (d, 1 H, J = 2.0 Hz), 7.02 (d, 2 H, J = 9.0 Hz), 3.90 (s, 3 H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$) δ 163.5, 148.0, 144.3, 137.5, 131.9, 130.4, 124.9 (2 C), 124.3, 123.1, 115.1 (2 C), 56.2 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{13}H_{10}Cl_2N_2O_2$ (297.1) : C 52.55, H 3.39, N 9.43, O 10.77 ; found : C 52.59, H 3.25, N 9.28, O 10.61 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 296.01 [*M*+] ; MS (ESI, HR) : 297.0190 (calcd mass for $C_{13}H_{11}{}^{35}Cl_2N_2O_2$: 297.0198).

TH_2F_2



2,4-Difluoro-6-phenylazo-phenol

Aniline (503 mg, 5.4 mmol) ; 2,4-difluorophenol (703 mg, 5.4 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (4.5 mL). 1.20 g of **TH_2F_2** as red needles (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 95 %.

m.p. : 115 °C ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$) δ 12.57 (s, 1 H), 7.90-7.80 (m, 2 H), 7.58-7.42 (m, 4 H), 7.03-6.91 (m, 1 H) ;

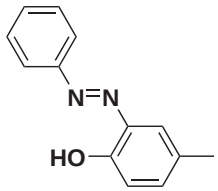
^{19}F-NMR (ppm, 235.3 MHz, $CDCl_3$) δ -122.11, -132.83 ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$) δ 154.7 (dd, 1 C, J = 203 Hz, J = 12 Hz), 150.9 (dd, 1 C, J = 214 Hz, J = 12 Hz), 150.4 (s, 1 C), 138.6 (dd, 1 C, J = 11 Hz, J = 3 Hz), 137.3 (dd, 1 C, J = 11 Hz, J = 4 Hz), 132.5 (s, 1 C), 129.8 (s, 2 C), 122.8 (s, 2 C), 113.2 (dd, 1 C, J = 24 Hz, J = 4 Hz), 108.1 (dd, 1 C, J = 27 Hz, J = 22 Hz) ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{12}H_8F_2N_2O$ (234.2) : C 61.54, H 3.44, N 11.96 ; found : C 61.46, H 3.66, N 11.98 ;

Mass spectrometry : MS (CI, CH_4) : *m/z* 235.07 [*M+1*] ; MS (CI, CH_4, HR) : 235.0675 (calcd mass for $C_{12}H_8F_2N_2O$: 235.0677).

TH_2Me



4-Methyl-2-phenylazo-phenol

Aniline (1.36 g, 15.2 mmol) ; p-cresol (1.53 g, 15.2 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (30 mL). 2.29 g of **TH_2Me** as red powder (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 71 %.

m.p. : 104 °C ;

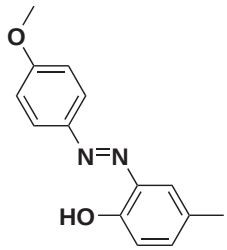
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$) δ 12.72 (s, 1H), 7.90 (dd, 2H, J = 7.2 Hz, J = 1.1 Hz), 7.79 (d, 1H, J = 0.9 Hz), 7.60-7.46 (m, 3H), 7.20 (dd, 1H, J = 8.0 Hz, J = 1.2 Hz), 6.97 (d, 1H, J = 8.0 Hz), 2.38 (s, 3H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$) δ 150.9, 150.7, 137.3, 134.5, 133.2, 131.3, 129.5 (2C), 129.4, 122.5 (2C), 118.1, 20.4 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{13}H_{12}N_2O$ (212.2) : C 73.56, H 5.70, N 13.20, O 7.54 ; found : 72.92, 5.93, 13.05, 7.55 ;

Mass spectrometry : MS (CI, CH_4) : *m/z* 213.1 [*M+1*] ; MS (CI, CH_4, HR) : 213.1029 (calcd mass for $C_{13}H_{13}N_2O$: 213.1022).

THOMeMe



2-(4-Methoxy-phenylazo)-4-methyl-phenol

p-Anisidine (6.78 g, 5.5 mmol) ; p-cresol (6.01 g, 5.5 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (45 mL). 12.6 g of **THOMeMe** as red powder (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 95 %.

m.p. : 94 °C ;

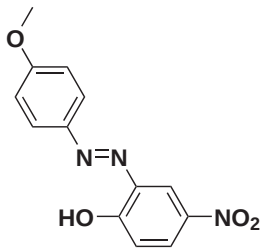
^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$) δ 12.70 (s, 1H), 7.83 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 7.68 (d, 1H, J = 1.7 Hz), 7.11 (dd, 1H, J = 8.2 Hz, J = 1.7 Hz), 7.00 (d, 2H, J = 9.0 Hz), 6.89 (d, 1H, J = 8.1 Hz), 3.87 (s, 3H), 2.36 (s, 3H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$) δ 162.4, 150.6, 145.0, 137.1, 133.6, 132.7, 129.3, 124.2 (2C), 117.9, 114.8 (2C), 55.8, 20.5 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{14}H_{14}N_2O_2$ (242.3) : C 69.41, H 5.82, N 11.56 ; found : C 69.49, H 5.91, N 11.63 ;

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 242.13 [*M*+] ; MS (ES+, HR) : 243.1133 (calcd mass for $C_{14}H_{15}N_2O_2$: 243.1134).

THOMeNO$_2$



2-(4-Methoxy-phenylazo)-4-nitro-phenol

p-anisidine (1.85 g, 15.2 mmol) ; 4-nitrophenol (2.09 g, 15.2 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (15 mL). After acidification, the mixture was extracted several times with DCM. The organic layer was dried with $MgSO_4$ and the solvent was removed under vacuum to yield a dark oil which was chromatographied on silica with DCM as eluent. 2.50 g of **THOMeNO$_2$** as an orange powder (recrystallized in ethanol for analytical purpose). Yield : 61 %.

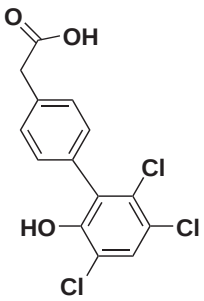
m.p. : 202 °C ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$) δ 13.60 (s, 1H), 8.81 (d, 1H, J = 2.5 Hz), 8.19 (dd, 1H, J = 8.9 Hz, J = 2.5 Hz), 7.89 (d, 2H, J = 8.8 Hz), 7.12-6.98 (m, 3H), 3.89 (s, 3H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$) δ 163.6, 158.5, 144.2, 140.9, 135.5, 128.6, 127.4, 125.0 (2C), 119.0, 115.2 (2C), 55.9 ;

Elemental Analysis : (%) for $C_{13}H_{11}N_3O_4$ (273.2) : C 57.14, H 4.06, N 15.38, O 23.42 ; found : C 56.78, H 4.06, N 15.03.

Mass spectrometry : MS (EI) : *m/z* 273.34 [*M*+] ; MS (ES+, HR) : 274.0825 (calcd mass for $C_{13}H_{12}N_3O_4$: 274.0828).



(3',5',6'-Trichloro-2'-hydroxy-biphenyl-4-yl)-acetic acid

4-Aminophenylacetic acid (2.3 g, 15.2 mmol) ; 2,4,5-trichlorophenol (3 g, 15.2 mmol, 1 eq.) in 10 % (w/v) NaOH (30 mL). After acidification, the mixture was extracted several times with diethyl ether. The organic solvent was removed under vacuum to yield a dark oil which was chromatographied on silica with DCM as eluent. 3.30 g of product as orange crystals. Yield : 60 %.

m.p. : 83 °C ;

^{1}H-NMR (ppm, 250 MHz, $CDCl_3$) δ 7.52 (s, 1H), 7.35 (d, 2H, J = 8.1 Hz), 7.19 (d, 2H, J = 8.1 Hz), 3.65 (s, 2H) ;

^{13}C-NMR (ppm, 62.8 MHz, $CDCl_3$) δ 176.6, 152.1, 136.9, 135.1, 132.8, 132.2, 131.4 (2C), 130.8 (2C), 130.4, 124.6, 122.0, 42.5 ;

Elemental Analysis : (%) $C_{14}H_9Cl_3O_3$ (330.0) : C 50.71, H 2.74, O 14.48 ; found : C 50.99, H 3.06, N 15.23 ;

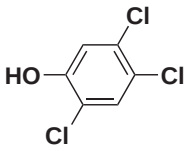
Mass spectrometry : MS (CI, CH_4) : *m/z* 330.6 [MH^+] ; MS (CI, CH_4, HR) : 352.9526 (calcd mass for $C_{14}H_9{}^{3}5Cl_3Na$: 352.9515).

Annexe B

Caractéristiques spectrales et photochimiques des molécules étudiées

B.1 Phenols

2,4,5-trichlorophenol



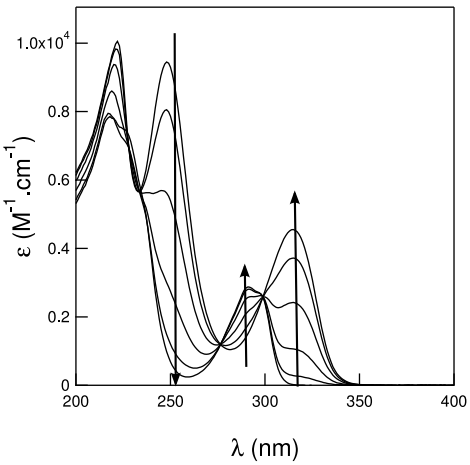
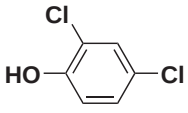


FIGURE B.1 – Absorption spectra of 200 μM 2,4,5-trichlorophenol in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 4.9, 7.1, 7.8, 8.4, 9.0, 10.4). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

2,4-dichlorophenol



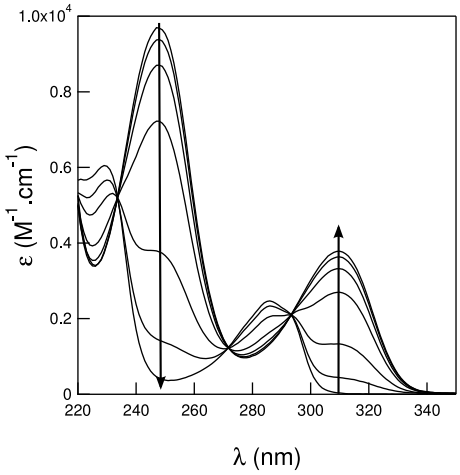
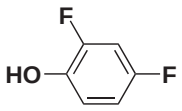


FIGURE B.2 – Absorption spectra of 201 μM 2,4-dichlorophenol in Britton-Robinson buffer [129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 6.1, 8.4, 9.1, 9.8, 10.2, 10.6, 11.2). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

2,4-difluorophenol



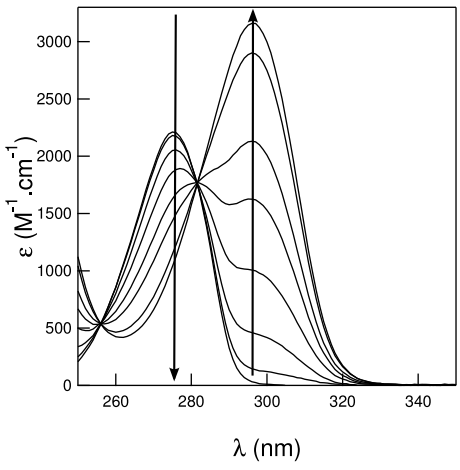
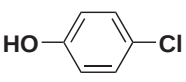


FIGURE B.3 – Absorption spectra of 210 μM 2,4-difluorophenol in Britton-Robinson buffer [129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.7, 8.6, 9.3, 9.7, 10.1, 10.3, 10.8, 11.3). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

para-chlorophenol



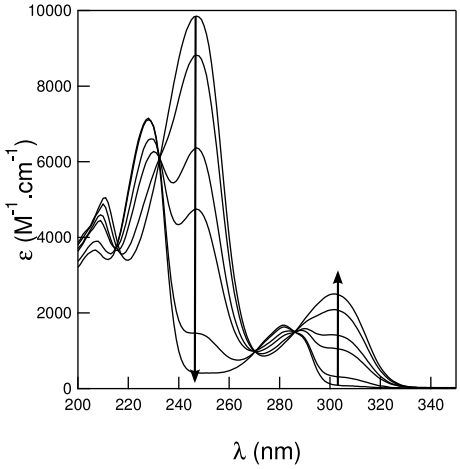
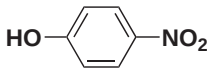


FIGURE B.4 – Absorption spectra of 233 μM parachlorophenol in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 9.3, 10.0, 10.7, 10.9, 11.4, 11.8). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

para-nitrophenol



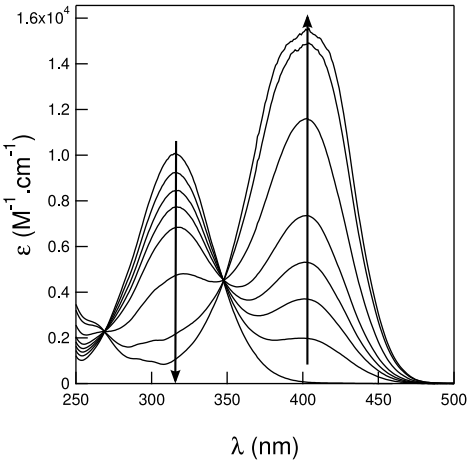
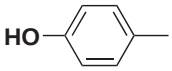


FIGURE B.5 – Absorption spectra of 260 μM paranitrophenol in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 5.3, 7.3, 7.7, 7.9, 8.2, 8.5, 9.1, 10.6). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

para-anisidine



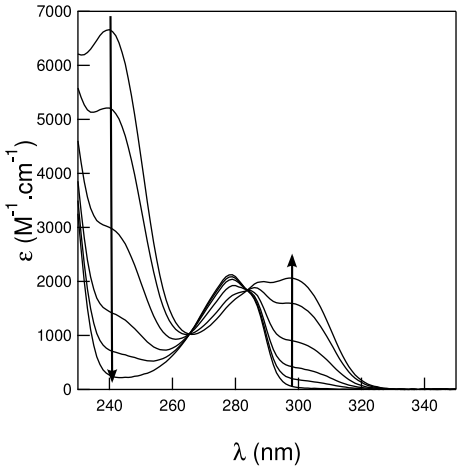
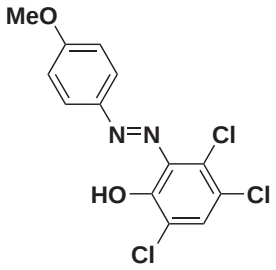


FIGURE B.6 – Absorption spectra of 191 μM paraanisidine in Britton-Robinson buffer [129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 9.7, 10.6, 11.0, 11.5, 11.8, 12.0). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

B.2 2-hydroxyazobenzène platform – THXCl$_3$ series

THOMeCl$_3$



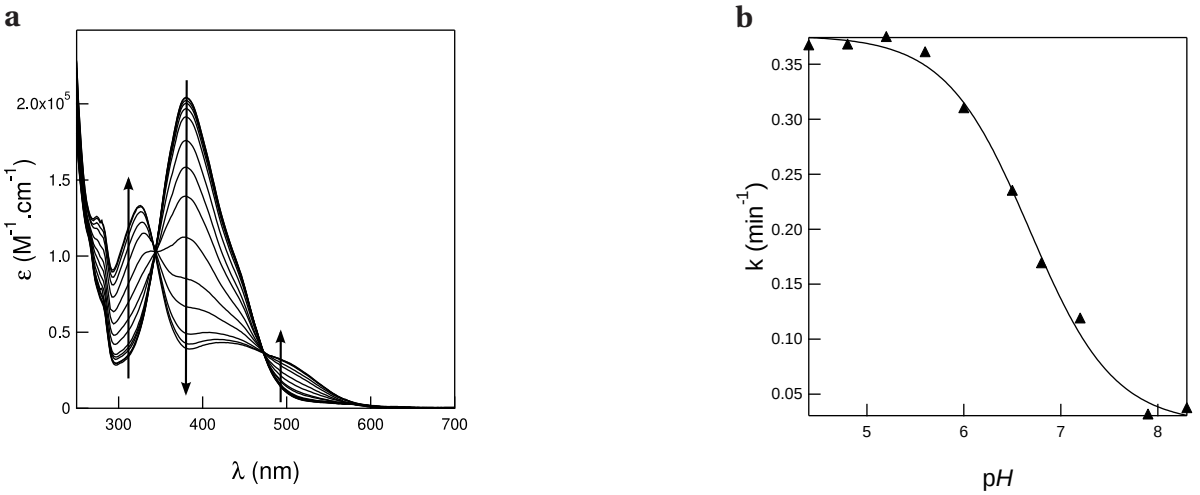
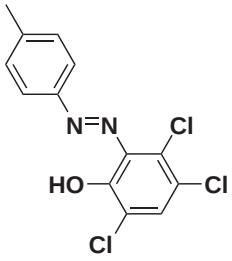


FIGURE B.7 – a : Absorption spectra of 27 μM **THOMeCl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 6.0, 6.8, 7.4, 7.7, 8.1, 8.4, 8.8, 9.3, 9.6, 9.8, 10.1, 10.5, 10.9, 11.3). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

THMeCl$_3$



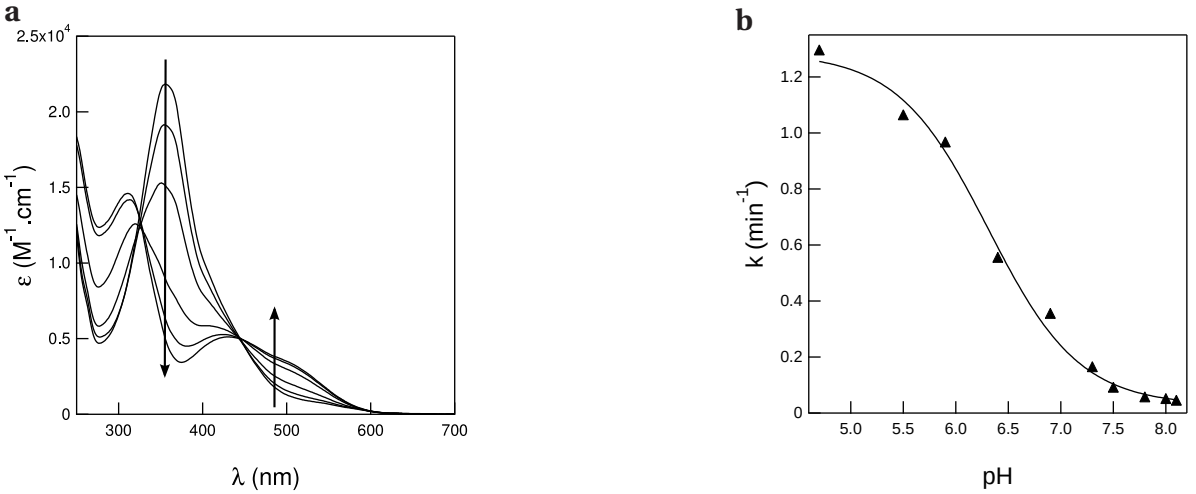
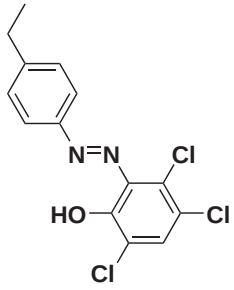


FIGURE B.8 – a : Absorption spectra of 58 μM **THMeCl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 8.4, 8.8, 9.4, 9.9, 10.3, 10.9). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C\rightarrow\bar{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

THEtCl$_3$



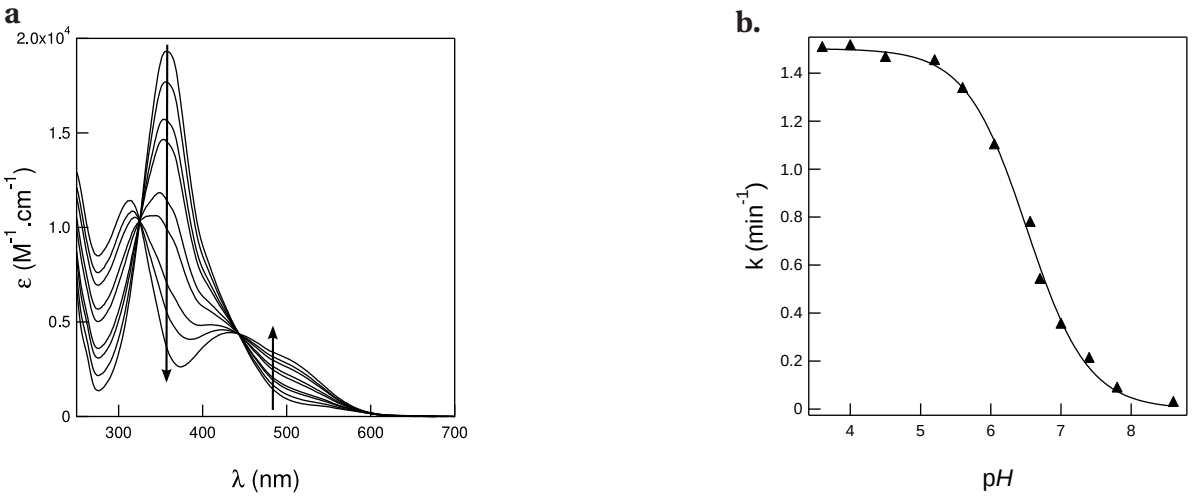
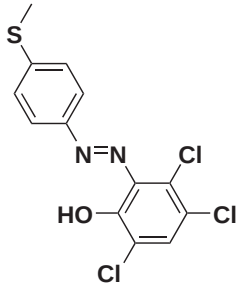


FIGURE B.9 – a : Absorption spectra of 79 μM **THMeCl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.1, 8.5, 9.0, 9.2, 9.6, 9.8, 10.1, 10.4, 11.3). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

THSMeCl$_3$



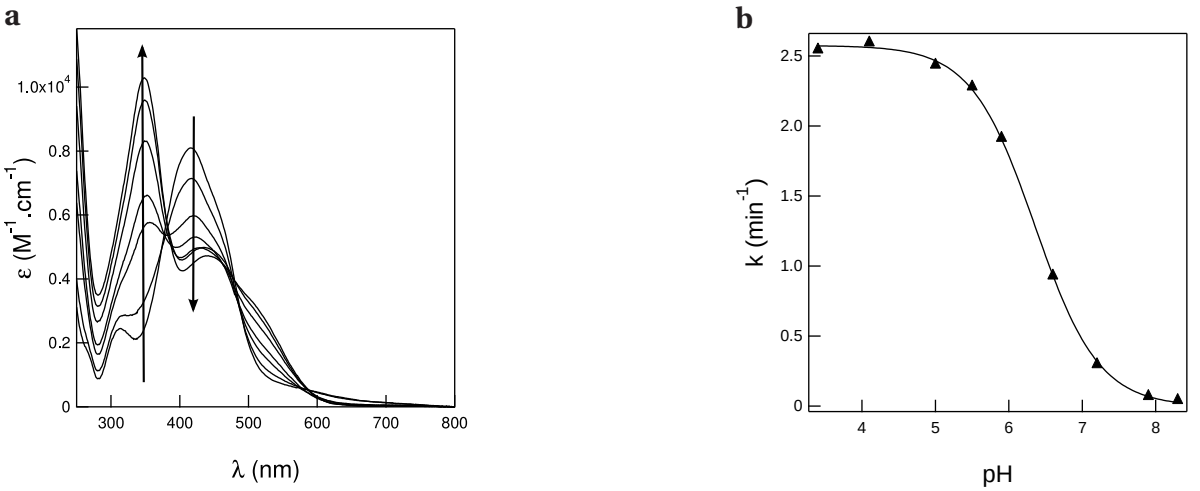
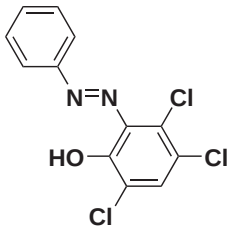


FIGURE B.10 – a : Absorption spectra of 66 μM **THMeCl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.6, 8.7, 9.4, 9.8, 10.4, 10.8, 11.1). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

TH$_2$Cl$_3$



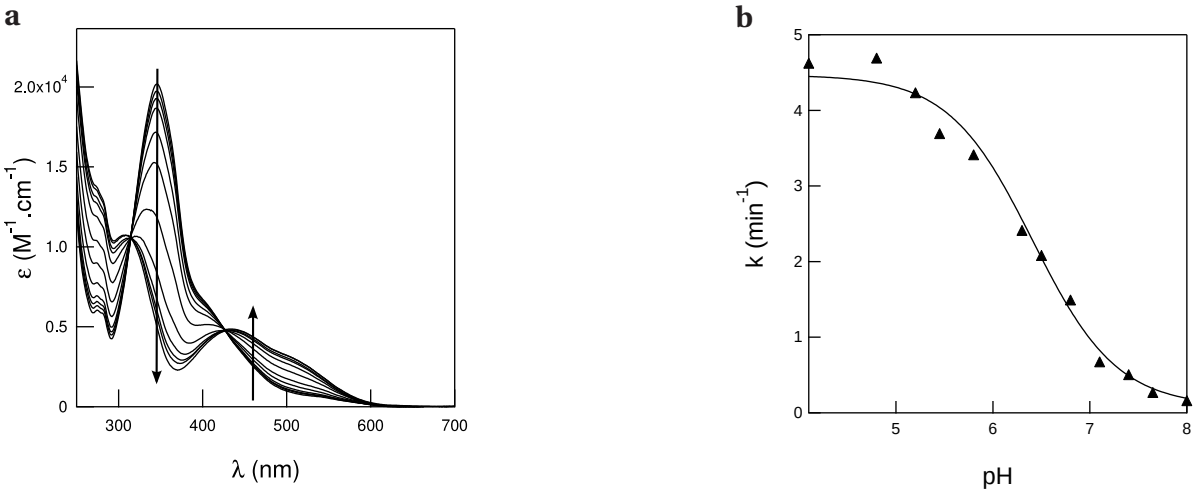


FIGURE B.11 – a : Absorption spectra of 42 μM **TH$_2$Cl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.2, 8.0, 8.3, 8.5, 8.9, 9.1, 9.5, 9.8, 10.1, 10.3, 10.6, 11.1). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

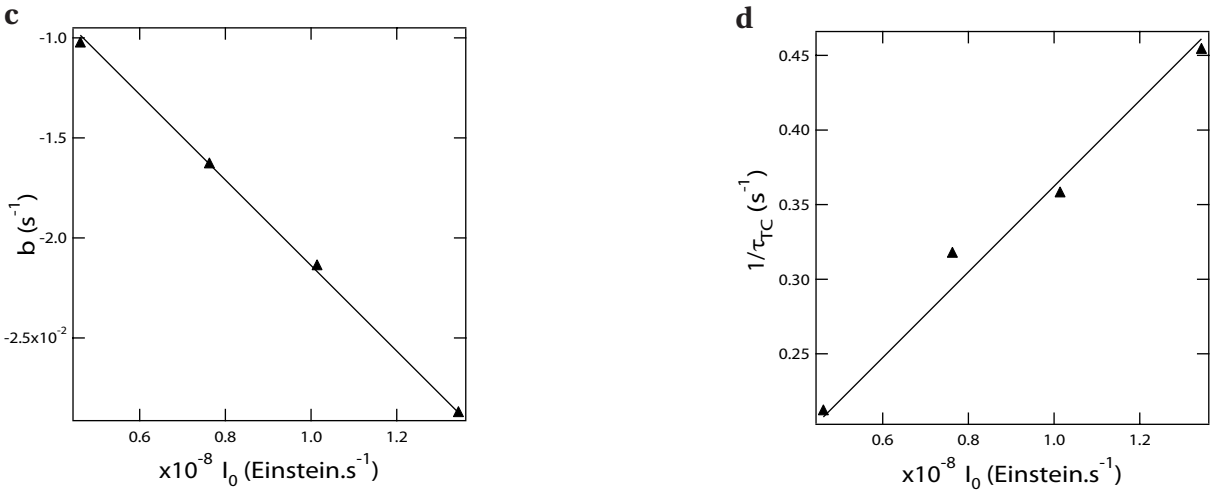


FIGURE B.12 – Dependence of b (**c**) and $1/\tau_{\overline{\mathbf{TC}}}$ (**d**) on the light intensity $I_E(347)$. Markers : experimental points, solid lines : fits with Eq.(4.12) (**b**) and Eq.(4.14) (**c**). Solvent : Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) pH=3.8. T=298 K.

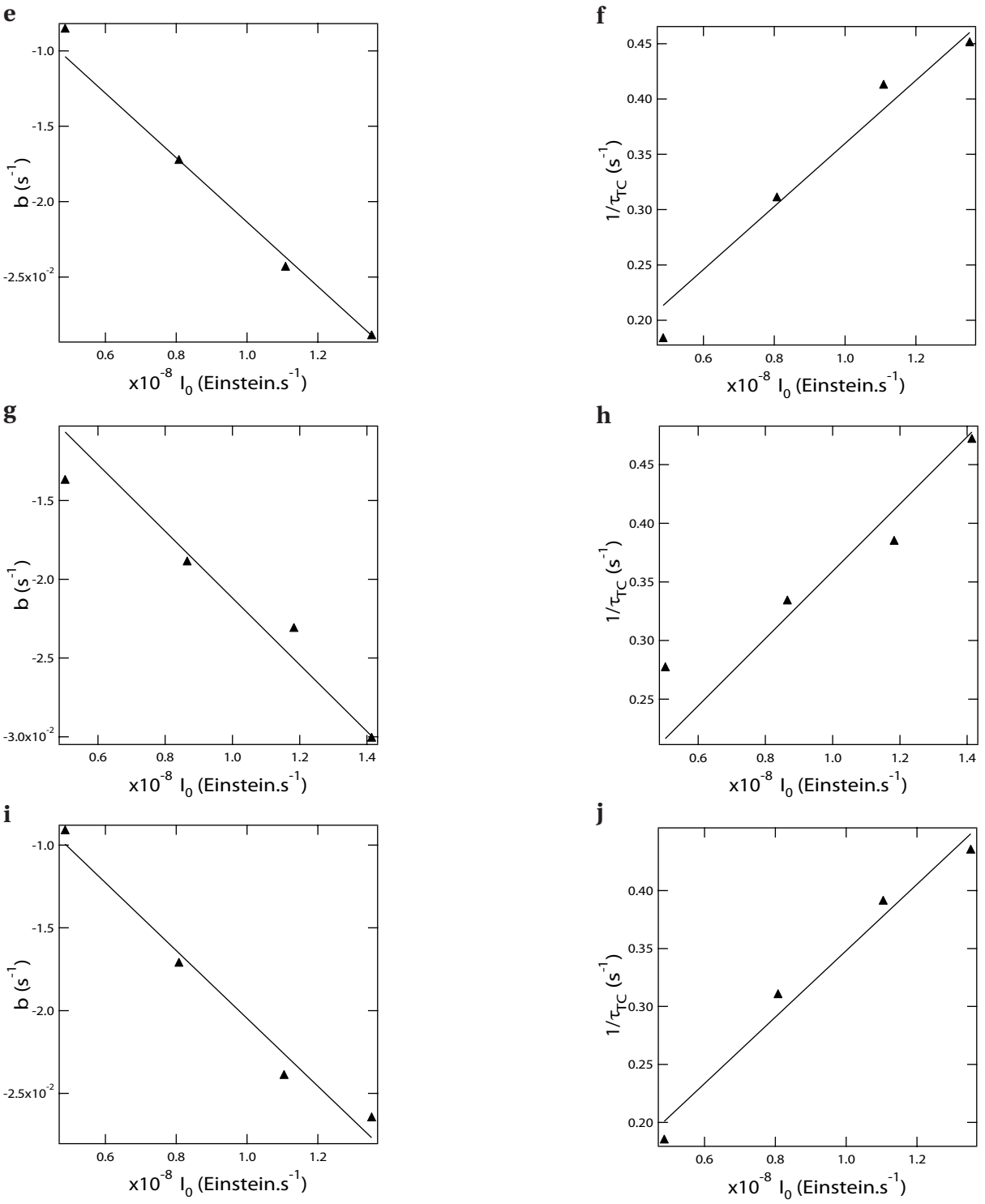


FIGURE B.13 – Dependence of b (**e**, **g**, **i**) and $1/\tau_{\overline{TC}}$ (**f**, **h**, **j**) on the light intensity $I_E(347)$. Markers : experimental points, solid lines : fits with Eq.(4.12) (**b**) and Eq.(4.14) (**c**). Solvent : Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) pH = 4.3 (**e** and **f**), 5.3 (**g** and **h**), 6.0 (**i** and **j**). T=298 K.

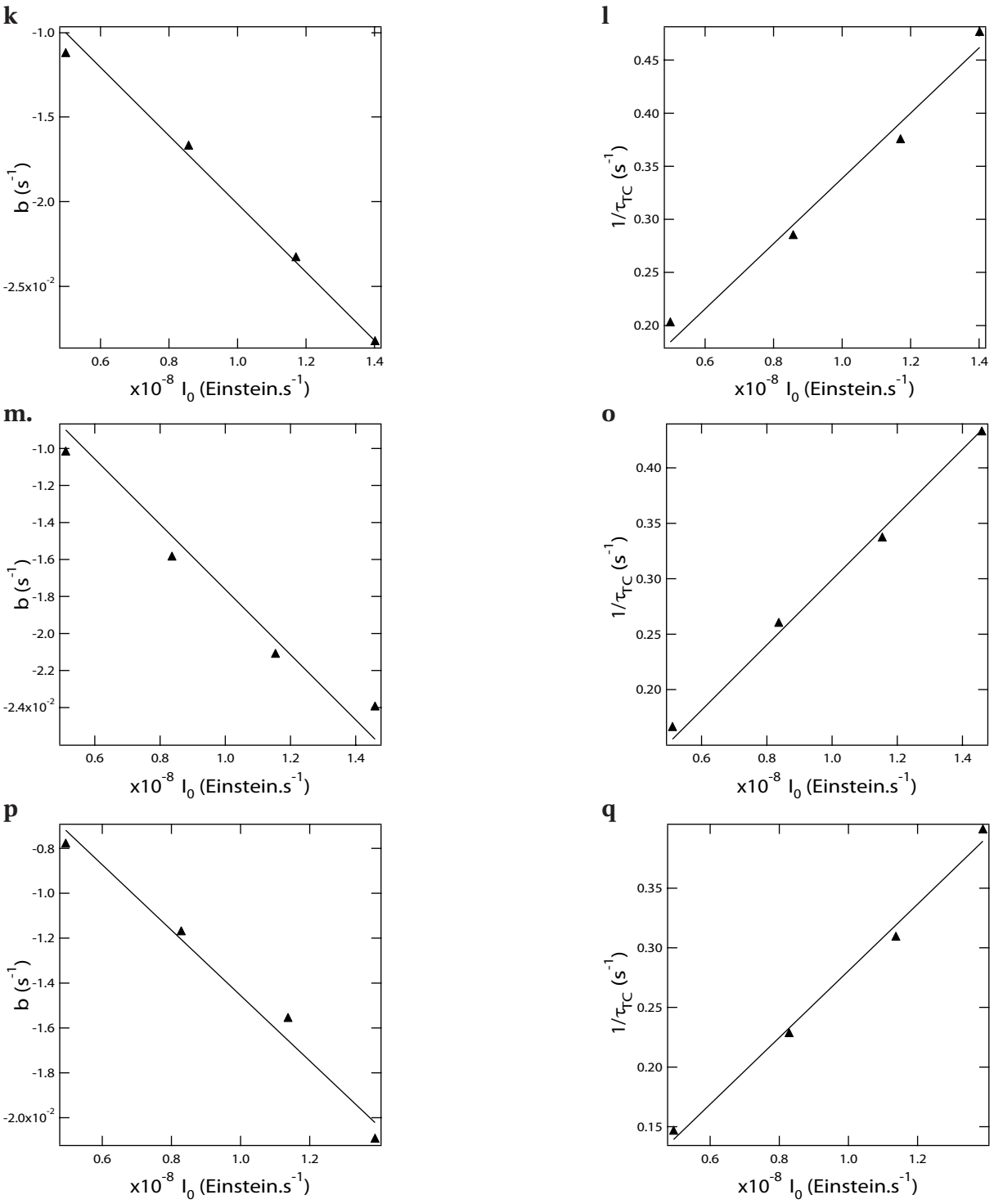
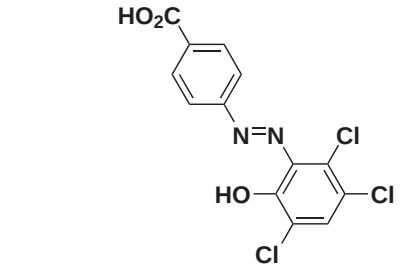


FIGURE B.14 – Dependence of b (**k**, **m**, **p**) and $1/\tau_{\overline{TC}}$ (**l**, **o**, **q**) on the light intensity $I_E(347)$. Markers : experimental points, solid lines : fits with Eq.(4.12) (**b**) and Eq.(4.14) (**c**). Solvent : Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) pH = 6.8 (**k** and **l**), 7.8 (**m** and **n**), 8.5 (**p** and **q**). T=298 K.

THCOOHCl$_3$



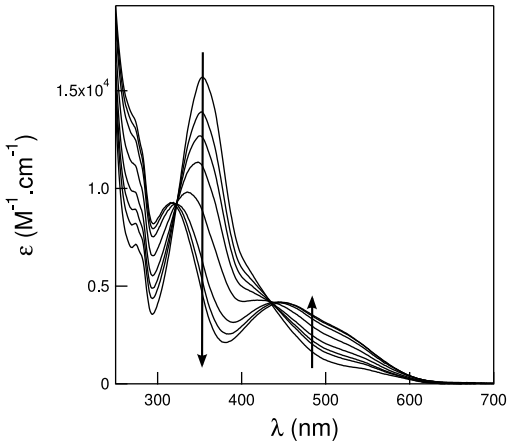
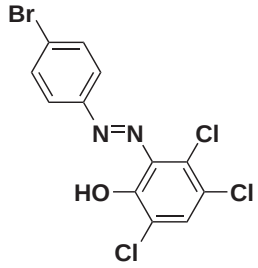


FIGURE B.15 – Absorption spectra of 37 μM **THCOOHCl$_3$** in Britton-Robinson buffer [129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.7, 8.6, 8.9, 9.1, 9.4, 9.9, 10.2, 11.2). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

THBrCl$_3$



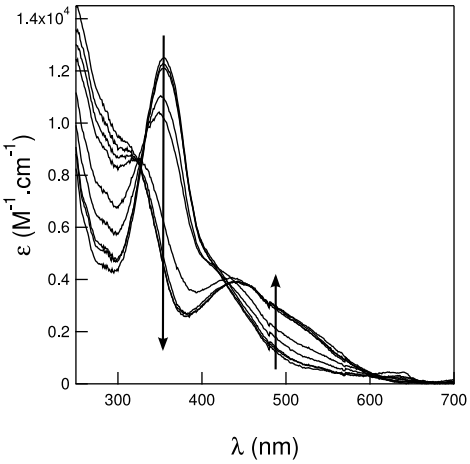
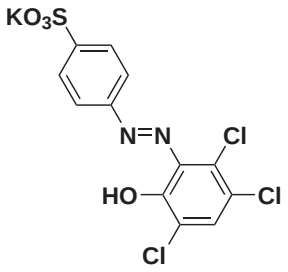


FIGURE B.16 – Absorption spectra of 10 μM **THMeCl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 6.3, 7.3, 8.3, 8.7, 9.4, 9.9, 10.3, 11.2). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

$THSO_3KCl_3$



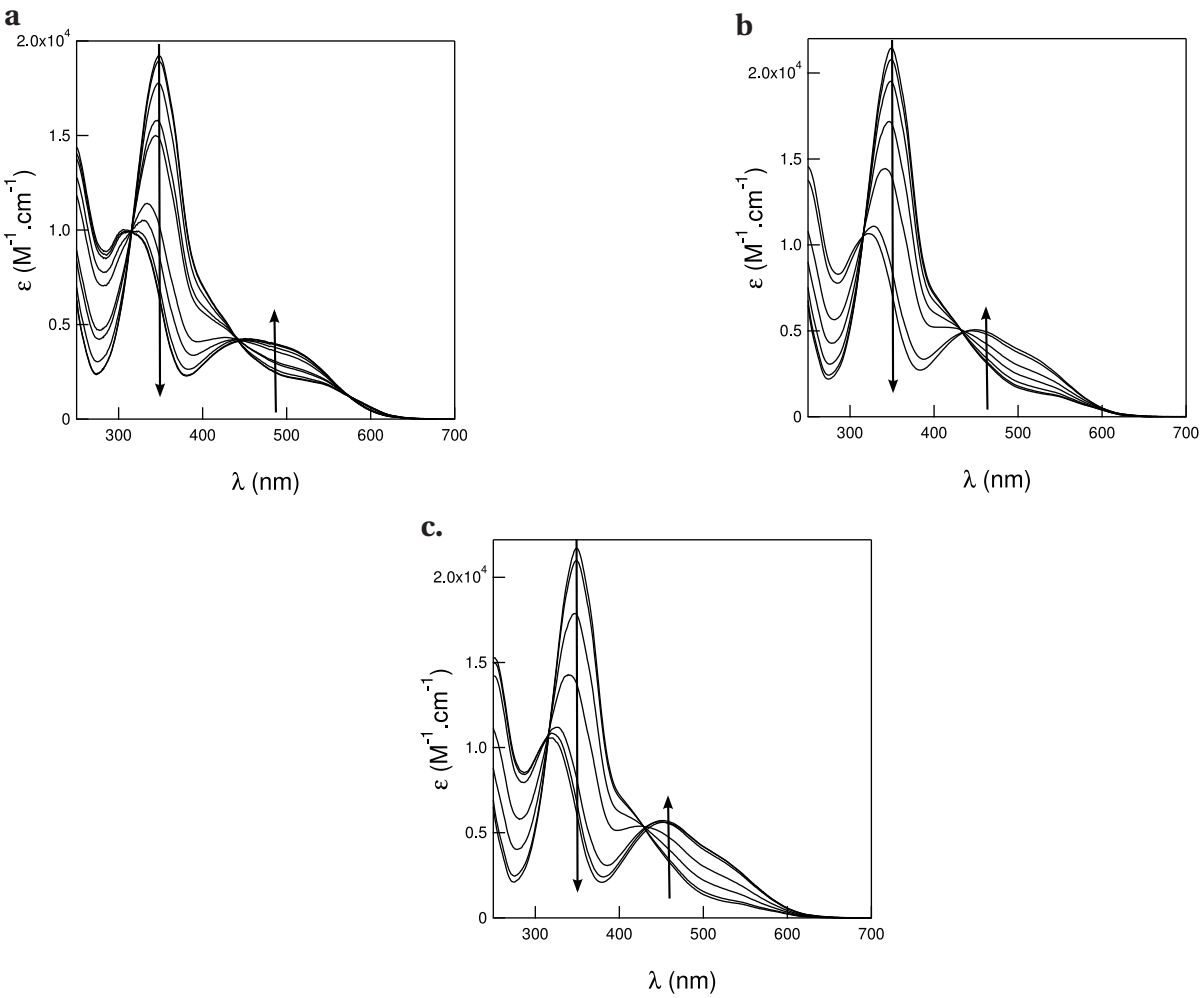
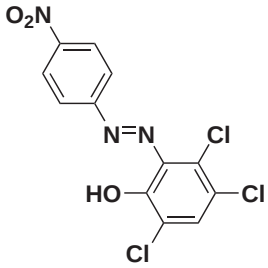


FIGURE B.17 – a : Absorption spectra of 40 μM **$THMeCl_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M) at various pH (pH = 1.7, 4.5, 6.3, 6.9, 7.1, 7.7, 8.0, 8.6, 9.5, 11.2). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Absorption spectra of 76 μM **$THMeCl_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 75-25 (v/v) at various pH (pH = 2.0, 6.7, 7.2, 7.8, 8.2, 8.7, 9.3). The arrows indicate an increasing pH. **c :** Absorption spectra of 51 μM **$THMeCl_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 6.5, 7.6, 8.4, 9.0, 9.8, 10.4, 11.2, 11.7). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

THNO$_2$Cl$_3$



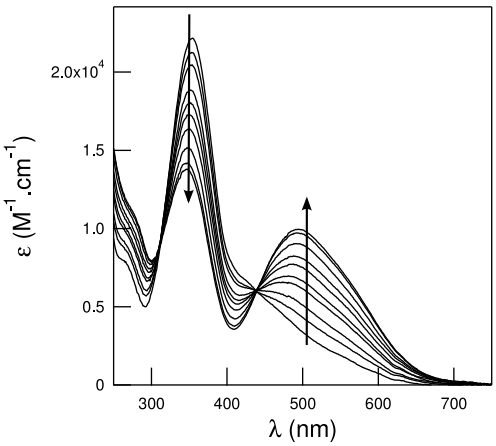
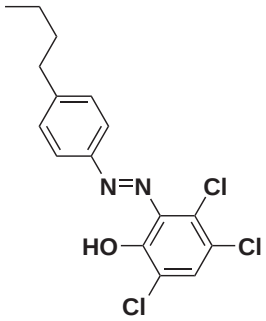


FIGURE B.18 – Absorption spectra of 10 μM **THNO$_2$Cl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.2, 7.7, 8.0, 8.2, 8.4, 8.6, 8.8, 9.2, 9.7, 11.2). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

TH(n−Butyl)Cl_3



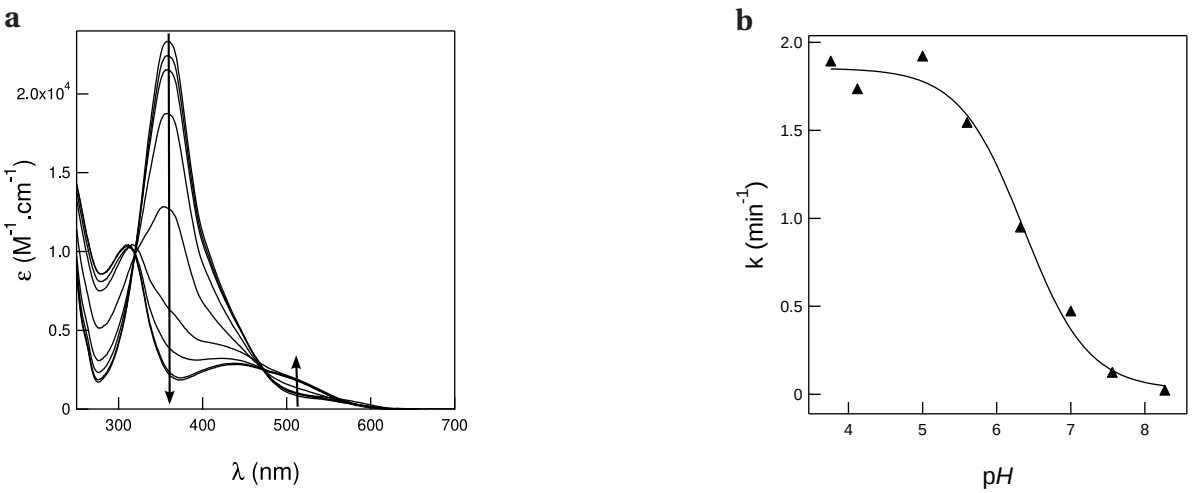
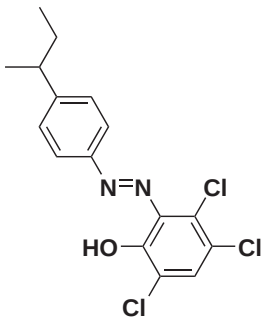


FIGURE B.19 – a : Absorption spectra of 44 μM **$THnBuCl_3$** in Britton-Robinson buffer [129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.1, 7.9, 8.3, 8.5, 9.1, 9.7, 10.2, 11.0, 11.6). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

TH(*sec*−Butyl)Cl$_3$



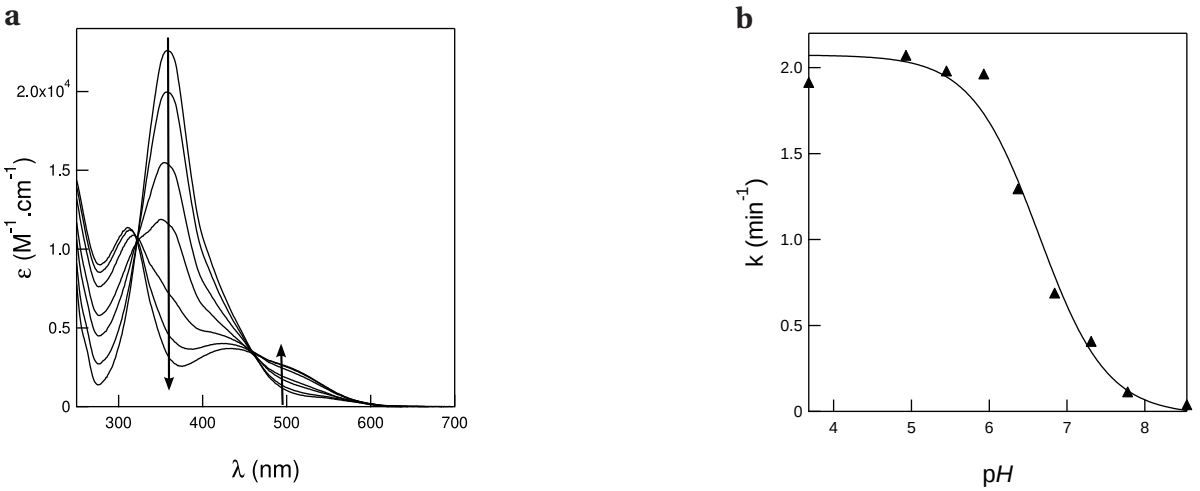
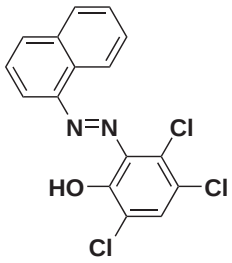


FIGURE B.20 – a : Absorption spectra of 33 μM **THsecBuCl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 6.4, 8.2, 9.0, 9.2, 9.8, 10.1, 10.7). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

B.3 Naphthalenyl molecules of the $THXCl_3$ platform

$\alpha-\mathbf{NaphtTH_2Cl_3}$



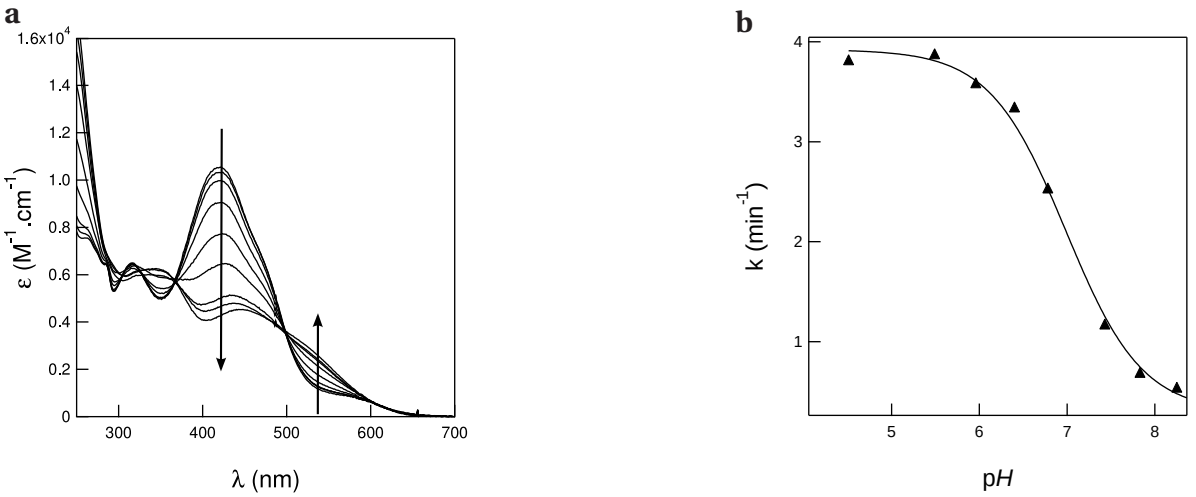
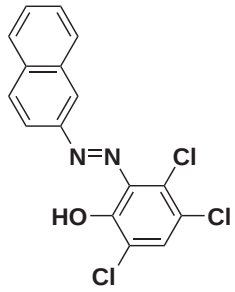


FIGURE B.21 – a : Absorption spectra of 20 μM $\alpha-\mathbf{NaphtTH_2Cl_3}$ in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 6.5, 7.6, 8.2, 8.5, 8.8, 9.2, 10.1, 10.5, 11.8). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

β−NaphtTH$_2$Cl$_3$



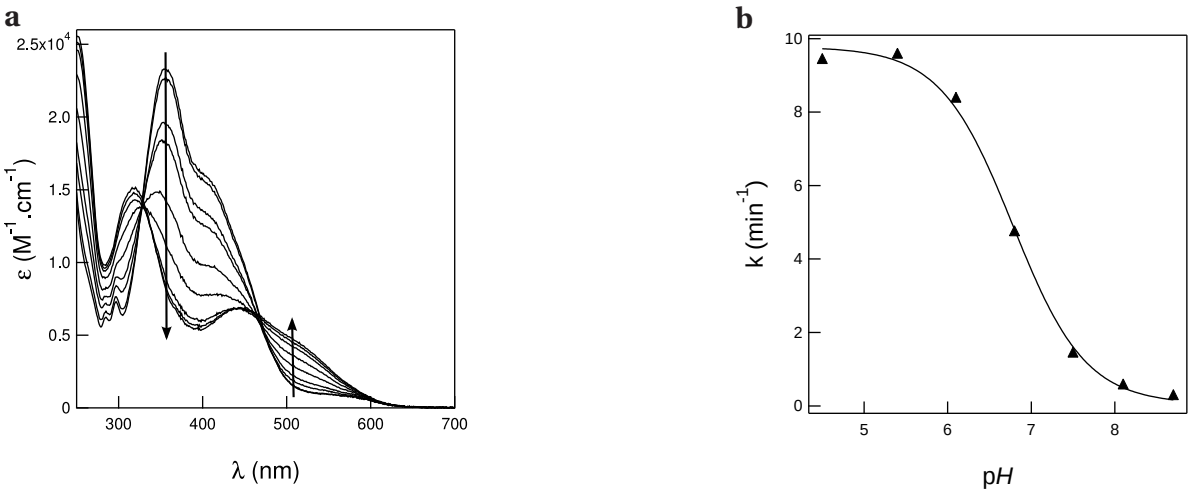
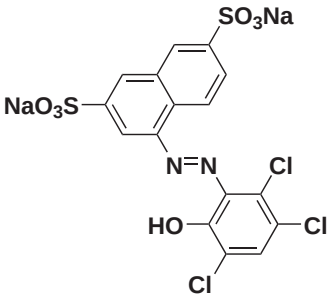


FIGURE B.22 – a : Absorption spectra of 17 μM β−**NaphtTH$_2$Cl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 5.6, 6.7, 8.6, 8.9, 9.2, 9.7, 10.1, 10.6, 11.0). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

α−**Napht(SO$_3$Na)$_2$TH$_2$Cl$_3$**



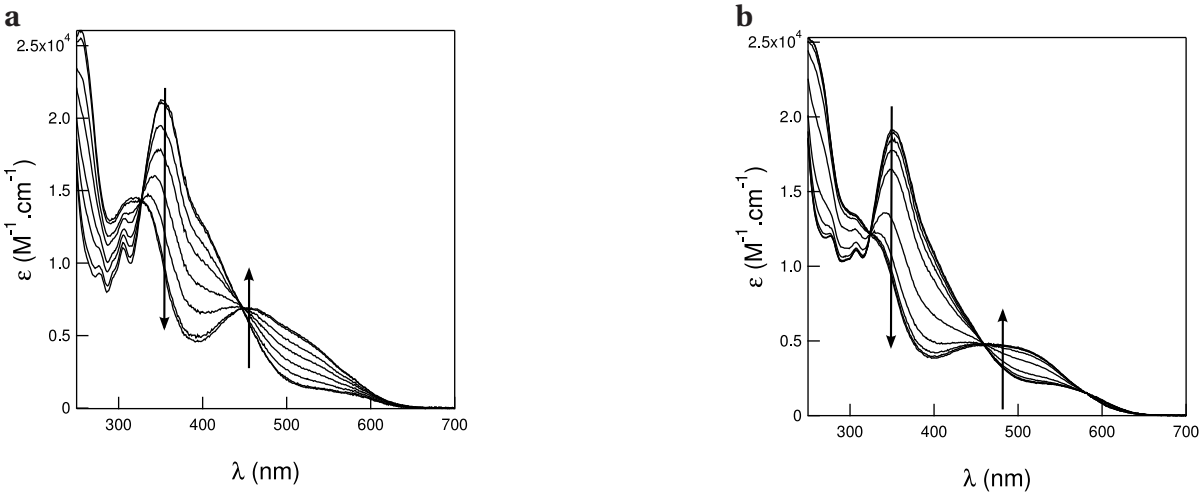


FIGURE B.23 – a : Absorption spectra of 16 μM α−**Napht(SO$_3$Na)$_2$TH$_2$Cl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 3, 4.5, 5.9, 6.5, 6.9, 7.6, 8.1, 8.7, 9.3, 10.5). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Absorption spectra of 31 μM α−**Napht(SO$_3$Na)$_2$TH$_2$Cl$_3$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M) at various pH (pH = 5.6, 6.7, 8.6, 8.9, 9.2, 9.7, 10.1, 10.6, 11.0). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

B.4 Other series

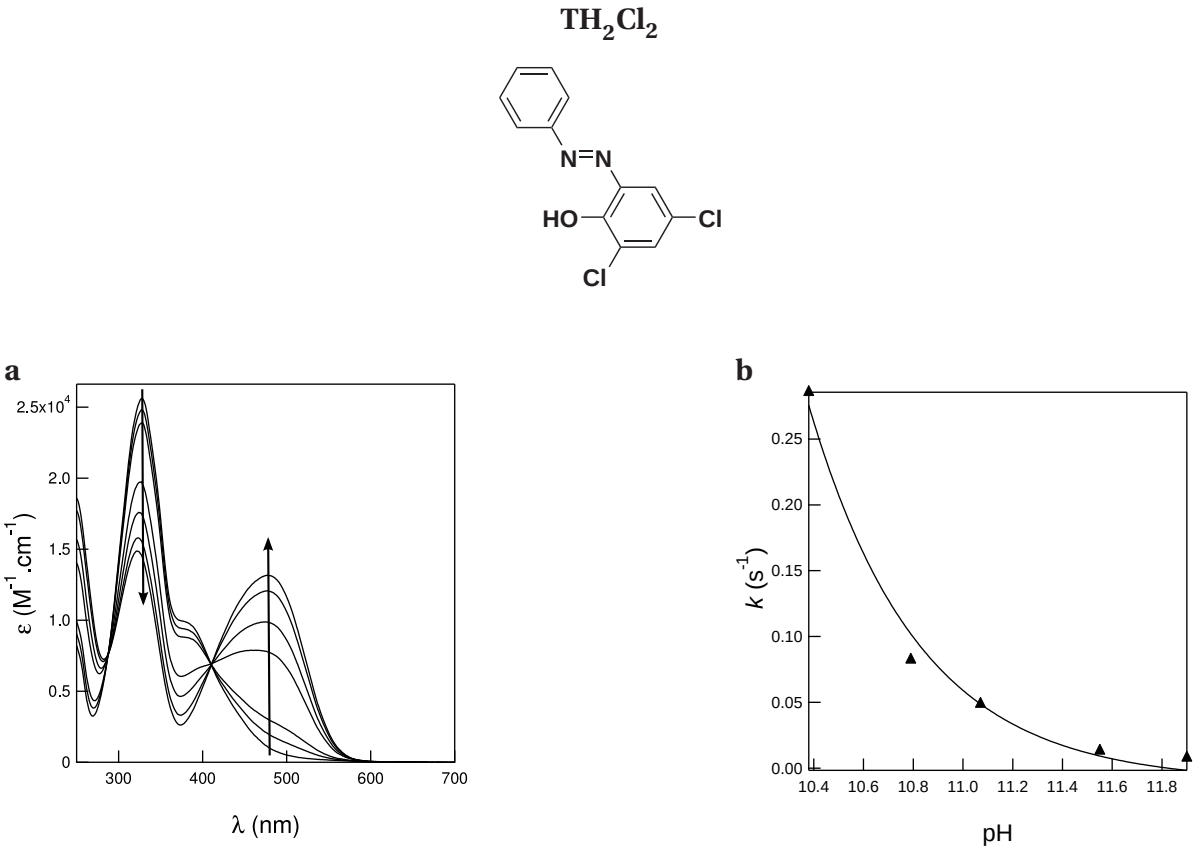
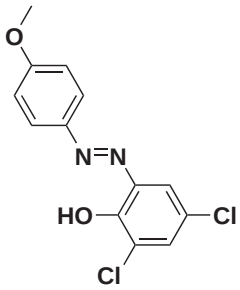


FIGURE B.24 – a : Absorption spectra of 62 μM $\mathbf{TH_2Cl_2}$ in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 6.7, 7.6, 8.1, 8.8, 9.0, 9.6, 10.7). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

THOMeCl$_2$



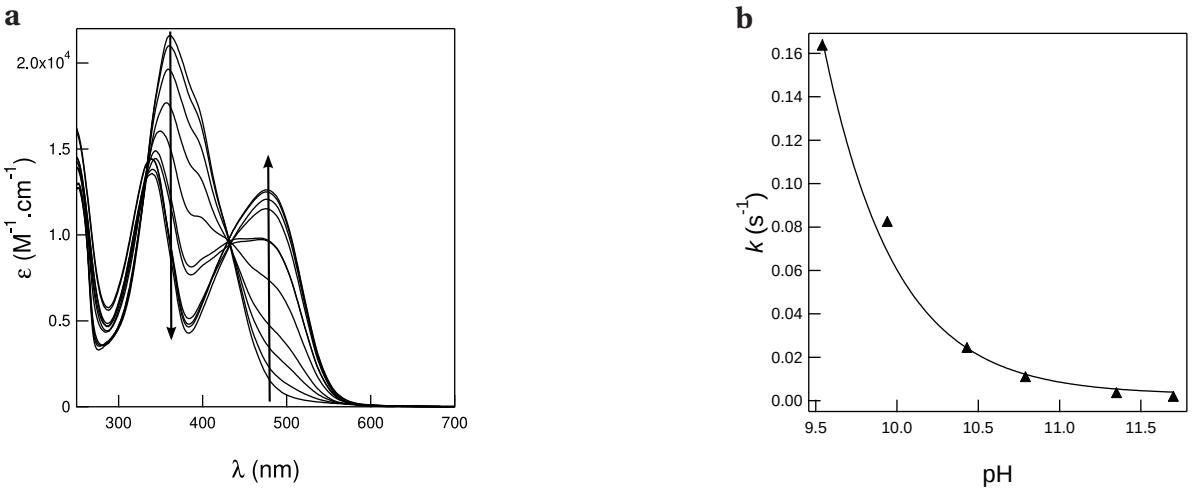


FIGURE B.25 – a : Absorption spectra of 60 μM **THOMeCl$_2$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.1, 7.9, 8.4, 8.9, 9.2, 9.5, 9.7, 10.1, 10.3, 11.3). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\mathbf{C}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

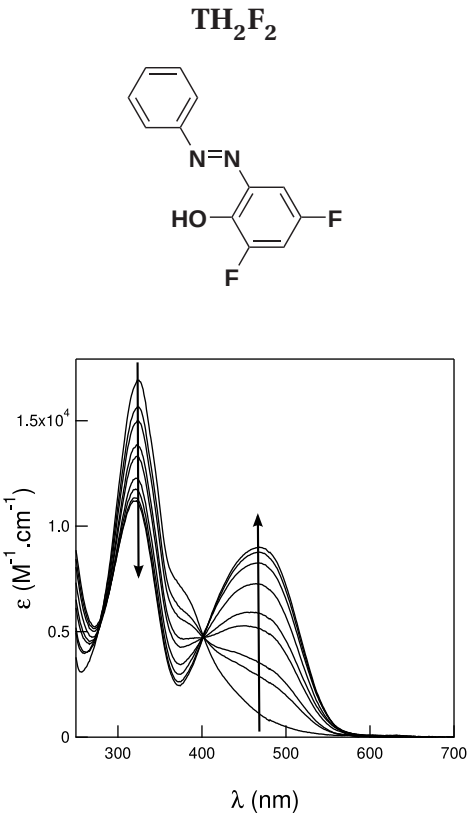
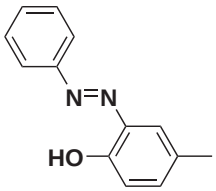


FIGURE B.26 – Absorption spectra of 25 μM $\mathbf{TH_2F_2}$ in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.3, 8.3, 8.5, 8.8, 9.0, 9.3, 9.6, 10.1, 11.1). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

TH_2Me



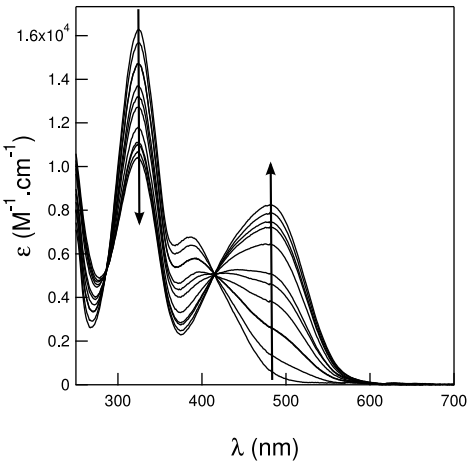
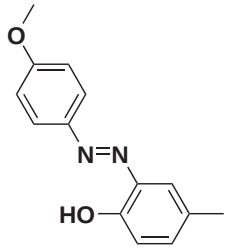


FIGURE B.27 – Absorption spectra of 24 μM **TH_2Me** in Britton-Robinson buffer [129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 7.3, 8.8, 9.3, 10.3, 10.6, 10.8, 10.9, 11.0, 11.1, 11.2, 11.3, 11.4). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

THOMeMe



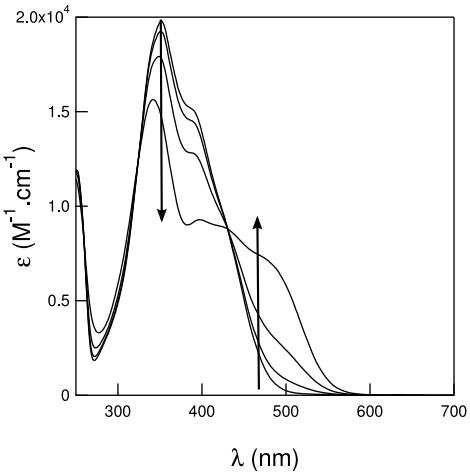
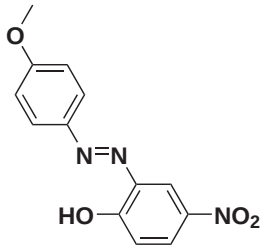


FIGURE B.28 – Absorption spectra of 100 μM **THOMeMe** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 9.1, 10.7, 11.3, 11.9). The arrows indicate an increasing pH. T = 298 K.

THOMeNO$_2$



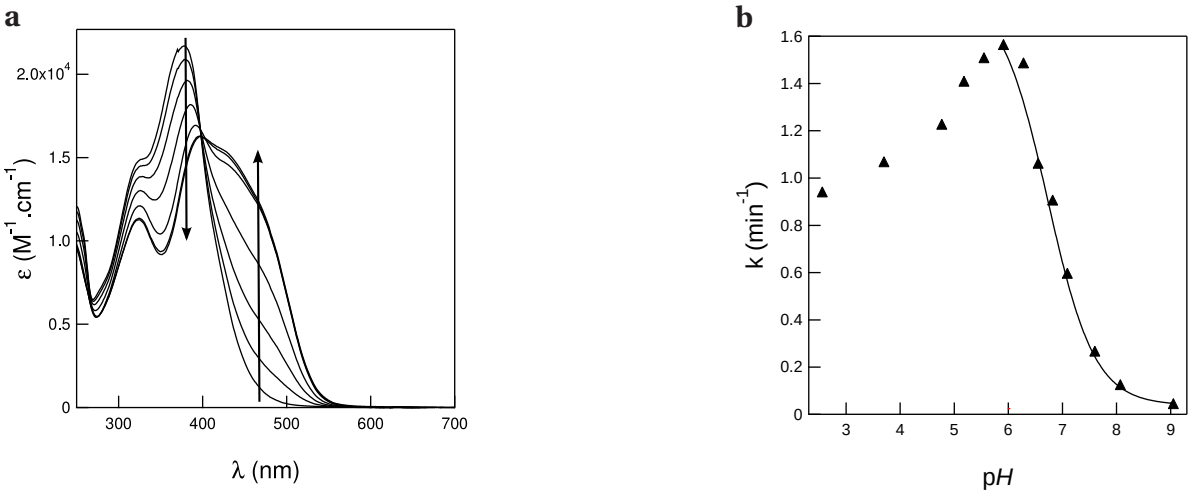


FIGURE B.29 – a : Absorption spectra of 78 μM **THOMeNO$_2$** in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 2.8, 7.0, 7.6, 8.0, 8.9, 9.4, 10.4). The arrows indicate an increasing pH. **b :** Dependence of the rate constant $k^{\Delta}_{\overline{\mathbf{C}}\rightarrow\overline{\mathbf{T}}}$ as a function of pH. Markers : experimental data ; solid line : fit with Eq.(3.16). T = 298 K.

B.5 Miscellaneous

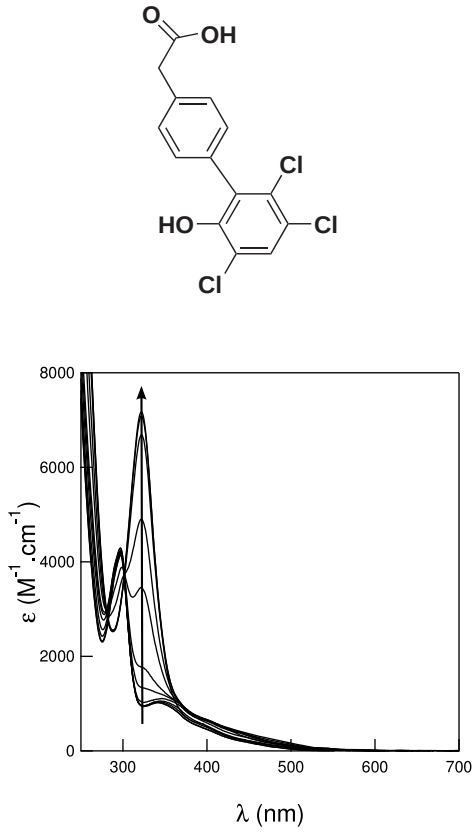


FIGURE B.30 – a : Absorption spectra of 100 μM of the molecule in Britton-Robinson buffer[129] (acetic acid, boric acid, phosphoric acid ; 0.04 M)-acetonitrile 1-1 (v/v) at various pH (pH = 5.0, 5.7, 6.6, 7.2, 7.6, 8.2, 8.6, 9.3, 9.9, 10.4). T = 298 K.

Annexe C

Calibration des lampes

C.1 Calibration dans l'UV

La méthode de calibration d'une lumière de longueur d'onde proche de 350–380 nm utilisée dans notre équipe de recherche est basée sur le photochromisme d'une nitrone (voir figure 4.6). Cette méthode est largement décrite dans la littérature.[4–6,116,118]

C.2 Calibration à 500 nm

Plusieurs méthodes permettant de calibrer une lumière aux alentours de 500 nm utilisant des complexes de métaux de transition existent dans la littérature[170,237] principalement avec du cobalt (III),[238] du fer (III)[239,240] ou du chrome (III).[241] L'ensemble de ces méthodes nécessitent la synthèse d'actinomètres sous lampe rouge, ce pour quoi notre laboratoire (fort lumineux) n'est pas adapté.

Une autre méthode a donc été développée. Elle est basée sur la fluorescence de la 4-dicyanométhylène-2-méthyl-6-*p*-diméthylamino-styryl-4H-pyrane, notée DCM et dont la structure est représentée sur la figure C.1. Cette molécule absorbe sur une plage de longueurs d'onde large comprise entre 300 et 550 nm (illustré sur le spectre d'absorption de la figure C.2) incluant aussi bien des longueurs d'onde UV (pour lesquelles on sait calibrer l'intensité lumineuse en utilisant une nitrone[4–6,116,118]) et des longueurs d'onde visibles. De plus elle fluoresce plus haut en longueur d'onde (voir le spectre d'émission sur la figure C.2) ce qui permet une détection facile.

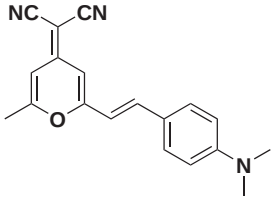


FIGURE C.1 – *Structure moléculaire du DCM (4-dicyanométhylène-2-méthyl-6-p-diméthylamino-styryl-4H-pyrane).*

Ainsi, le rapport des intensités du fluorescence du DCM à 500 et à 380 nm (longueur d'onde du

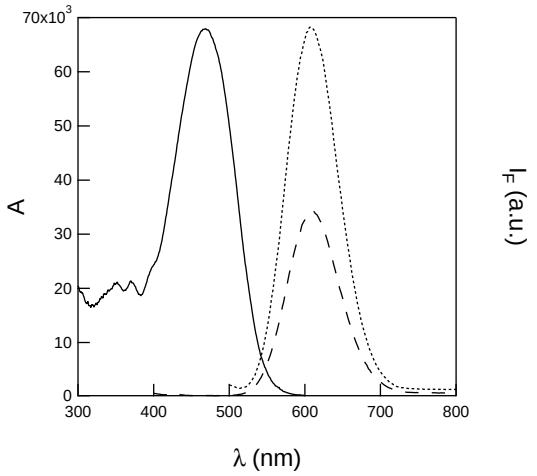


FIGURE C.2 – *Spectres d'absorption (trait plein) et d'émission du DCM dans l'éthanol, tirets : excitation à 380 nm, pointillés : excitation à 500 nm.*

maximum d'absorption de la nitrone utilisée) pondéré des absorbances du DCM à ces même longueurs d'onde permet, connaissant l'intensité lumineuse à 380 nm de déduire l'intensité lumineuse à 500 nm.

Annexe D

Articles

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit à conduit à la rédaction de plusieurs articles :

• M. Émond, J. Sun, J. Grégoire, S. Maurin, C. Tribet, L. Jullien, **Photo-Induced pH Drops in Water**, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**, *16*, 6493–6499.

• M. Émond, T. Le Saux, S. Maurin, J.-B. Baudin, R. Plasson, L. Jullien, **2–Hydroxyazobenzenes to Tailor pH Pulses and Oscillations with Light**, *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 8822–8831.

• N. Gagey, M. Émond, P. Neveu, C. Benbrahim, B. Goetz, I. Aujard, J.-B. Baudin, L. Jullien, **Alcohol Uncaging with Fluorescence Reporting : Evaluation of o-Acetoxyphenyl Methyloxazolone Precursors**, *Org. Lett.*, **2008**, *10*, 2341–2344. [a]

Plusieurs communications orales ont également été présentées au cours de cette thèse :

• Octobre 2010 : **Temporal and Spatial pH Photo-modulations**, *Journées francophones des jeunes physico-chimistes*, Antrans.

• Juin 2010 : **2-Hydroxy-Azobenzene : Tailoring pH with Light**, *Journées du groupe français de photochimie, photophysique et photosciences*, Université Lille 2, Lille.

• Juin 2010 : **2-Hydroxy-Azobenzene : Tailoring pH with Light**, *14ème Journée de Chimie Organique de la Montagne Ste Geneviève*, Institue Curie, Paris.

• Mai 2010 : **2-Hydroxy-Azobenzene to Tailor pH Pulses and Oscillations with Light**, *Conférence « Systems Chemistry »*, Ein Bokek, Israël.

• Avril 2010 : **2-Hydroxy-Azobenzene to Tailor pH with Light**, *8èmes rencontres de Chimie Organique*, UPMC, Paris.

• Mai 2009 : **Light Triggered pH Modulation**, *Conférence « Systems Chemistry »*, Groeningen, Pays-Bas.

[a]. Cet article correspond au travail réalisé pendant le M2 de chimie organique et bio-organique ayant eu lieu de février à juillet 2007 et conclu pendant les premiers mois de la thèse.

Bibliographie

[1] M. Eigen and L. de Mayer, *Relaxation methods in techniques of organic chemistry – Vol. VIII, part II, 2nd edition*, Wiley Interscience, 1963, pp. 895–1054.

[2] U. P. Fringeli, D. Baurecht and H. H. Günthard, *Biophysical infrared modulation spectroscopy in infrared and raman spectroscopy of biological materials*, Marcel Dekker, New York, 2000, pp. 143–191.

[3] I. Aujard, C. Benbrahim, M. Gouget, O. Ruel, J.-B. Baudin, P. Neveu and L. Jullien, o-Nitrobenzyl photolabile protecting groups with red-shifted absorption : syntheses and uncaging cross-sections after one- and two-photon Excitation, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 6865–6879.

[4] N. Gagey, P. Neveu, C. Benbrahim, B. Goetz, I. Aujard, J.-B. Baudin and L. Jullien, Two-photon uncaging with fluorescence reporting : Evaluation of the o-hydroxycinnamic platform, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 9986–9998.

[5] N. Gagey, P. Neveu and L. Jullien, Reporting two-photon uncaging with the efficient 3,5-dibromo-2,4-dihydroxycinnamic caging group, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 2467–2469.

[6] N. Gagey, M. Emond, P. Neveu, C. Benbrahim, B. Goetz, I. Aujard, J.-B. Baudin and L. Jullien, Alcohol uncaging with fluorescence reporting : Evaluation of o-acetoxyphenyl methyloxazolone precursors, *Org. Lett.*, 2008, **10**, 2341–2344.

[7] J. Worst, A micro-injection needle, *Nature*, 1952, **169**, 631–632.

[8] J. W. Gordon, G. A. Scangos, D. J. Plotkin, J. A. Barbosa and F. H. Ruddle, Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1980, **77**, 7380–7384.

[9] D. Bar-Sagi and J. R. Feramisco, Microinjection of ras oncogene protein into PC12 cells induces morphological differentiation, *Cell*, 1985, **42**, 841–848.

[10] Q. H. Gibson, [6] Rapid mixing : Stopped flow, *Methods Enzymol.*, 1969, **16**, 187–228.

[11] *Chemical kinetics and mechanism*, ed. M. Mortimer and P. G. Taylor, Royal Society of Chemistry, 2002.

[12] G. Porter, Forty years of photochemistry, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, 1986, **82**, 2445–2451.

[13] P. Neveu, I. Aujard, C. Benbrahim, T. L. Saux, J.-F. Allemand, S. Vriz, D. Bensimon and L. Jullien, A Caged Retinoic Acid for Use with One- and Two-Photon Excitation in Zebrafish Embryos, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 3744–3746.

[14] J. Huheey, *Chimie inorganique*, De Boeck, 1996.

[15] M. Roche, *Chimie des solutions*, Tec et Doc, 1990.

[16] D. F. Shriver and P. W. Atkins, *Chimie inorganique*, De Boeck, 2001.

[17] P. Mitchell, Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation., *Biol. Rev. Cambridge Phil Soc.*, 1966, **41**, 445–502.

[18] H. C. Berg, Bacterial behaviour, *Nature*, 1975, **254**, 389–392.

[19] *Plant physiology, 5^{th} edition*, ed. L. Taiz and E. Zeiger, Sinauer, 2010.

[20] M. Goeppert-Mayer, Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen, *Ann. Phys.*, 1931, **9**, 273–294.

[21] W. Denk, J. H. Strickler and W. W. Webb, Two-photon laser scanning fluorescence microscopy, *Science*, 1990, **248**, 73–76.

[22] W. Denk, Two-photon scanning photochemical microscopy : mapping ligand-gated ion channel distributions, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1994, **91**, 6629–6633.

[23] A. Specht, F. Bolze, Z. Omran, J.-F. Nicoud and M. Goeldner, Photochemical tools to study dynamic biological processes, *HFSP J.*, 2009, **3**, 255–264.

[24] A. P. Pelliccioli and J. Wirz, Photoremovable protecting groups : reaction mechanisms and applications, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, **1**, 441–458.

[25] C. G. Bochet and A. Blanc, *Photolabile protecting groups in organic synthesis in handbook of synthetic photochemistry*, John Wiley, 2009.

[26] G. C. R. Ellis-Davies, Caged compounds : photorelease technology for control of cellular chemistry and physiology, *Nature Methods*, 2007, **4**, 619–628.

[27] M. Goeldner and R. Givens, *Dynamic studies in biology. Phototriggers, photoswitches and caged biomolecules*, Wiley Interscience, 2005.

[28] G. Mayer and A. Heckel, Biologically active molecules with a light switch, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 4900–4921.

[29] S. Shoham, D. H. O'Connor, D. V. Sarkisov and S. S. H. Wang, Rapid neurotransmitter uncaging in spatially defined patterns, *Nature Methods*, 2005, **2**, 837–843.

[30] H. Ando, T. Furuta, R. Y. Tsien and H. Okamoto, Photo-mediated gene activation using caged RNA/DNA in zebrafish embryos, *Nature Genetics*, 2001, **28**, 317–325.

[31] J. H. Kaplan, B. Forbush and J. F. Hoffman, Rapid photolytic release of adenosine 5-triphosphate from a protected analogue : utilization by the Na : K pump of human red blood cell ghosts, *Biochemistry*, 1978, **17**, 1929–1935.

[32] A. Momotake, N. Lindegger, E. Niggli, R. J. Barsotti and G. C. R. Ellis-Davies, The nitrodibenzofuran chromophore : a new caging group for ultra-efficient photolysis in living cells, *Nat. Meth.*, 2006, **3**, 35–40.

[33] C. Ma, M. G. Steinmetz, E. J. Kopatz and R. Rathore, Time-resolved pH jump study of photochemical cleavage and release of carboxylic acids from α-keto amides, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 1045–1048.

[34] S. Khan, F. Castellano, J. L. Spudich, J. A. McCray, R. S. Goody, G. P. Reid and D. R. Trentham, Excitatory signaling in bacteria probed by caged chemoeffectors, *Biophys. J.*, 1993, **65**, 2368–2382.

[35] A. Barth and J. E. T. Corrie, Characterization of a new caged proton capable of inducing large pH jumps, *Biophys. J.*, 2002, **83**, 2864–2871.

[36] M. Schwörer and J. Wirz, Photochemical reaction mechanisms of 2-nitrobenzyl compounds in solution. I. 2-Nitrotoluene : thermodynamic and kinetic parameters of the aci-nitro tautomer, *Helv. Chim. Acta*, 2001, **84**, 1441–1457.

[37] Y. V. Il'Vichev, M. A. Schwörer and J. Wirz, Photochemical reaction mechanisms of 2-nitrobenzyl compounds : Methyl ethers and caged ATP, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 4581–4595.

[38] S. Abbruzzetti, S. Sottini, C. Viappiani and J. E. T. Corrie, Kinetics of proton release after flash photolysis of 1-(2-nitrophenyl)ethyl sulfate (caged sulfate) in aqueous solution., *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, **127**, 9865–9874.

[39] S. Abbruzzetti, S. Sottini, C. Viappiani and J. E. T. Corrie, Acid-induced unfolding of myoglobin triggered by a laser pH jump method, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2006, **5**, 621–628.

[40] S. Abbruzzetti, M. Carcelli, D. Rogolino and C. Viappiani, Deprotonation yields, pKa, and aci-nitro decay rates in some substituted *o*-nitrobenzaldehydes, *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2003, **2**, 796–800.

[41] M. V. George and J. C. Scalano, Photochemistry of o-nitrobenzaldehyde and related studies, *J. Phys. Chem.*, 1980, **84**, 492–495.

[42] M. Skwarczynsk, M. Noguchi, S. Hirota, Y. Sohma, T. Kimura, Y. Hayashia and Y. Kisoa, Development of first photoresponsive prodrug of paclitaxel, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, **16**, 4492–4496.

[43] T. Furuta, S. S.-H. Wang, J. L. Dantzker, T. M. Dore, W. J. Bybeei, E. M. Callaway, W. Denk and R. Y. Tsien, Brominated 7-hydroxycoumarin-4-ylmethyls : Photolabile protecting groups with

biologically useful cross-sections for two photon photolysis, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1999, **96**, 1193–1200.

[44] A. Z. Suzuki, T. Watanabe, M. Kawamoto, K. Nishiyama, H. Yamashita, M. Ishii and M. I. andToshiaki Furuta, Coumarin-4-ylmethoxycarbonyls as phototriggers for alcohols and phenols, *Org. Lett.*, 2003, **5**, 4867–4870.

[45] D. Geißler, Y. N. Antonenko, R. Schmidt, S. Keller, O. O. Krylova, B. Wiesner, J. Bendig, P. Pohl, and V. Hagen, (Coumarin-4-yl)methyl esters as highly efficient, ultrafast phototriggers for protons and their application to acidifying membrane surfaces, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 1195–1198.

[46] S. Serowy, S. M. Saparov, Y. N. Antonenko, W. Kozlovsky, V. Hagen, and P. Pohl, Structural proton diffusion along lipid bilayers, *Biophys. J.*, 2003, **84**, 1031–1037.

[47] G. Bonetti, A. Vecli and C. Viappiani, Reaction volume of water formation detected by time resolved photoacoustics : photoinduced proton transfer between o-nitrobenzaldehyde and hydroxyls in water, *Chem. Phys. Lett.*, 1997, **269**, 268–273.

[48] S. Abbruzzetti, C. Viappiani, J. R. Small, L. J. Libertini and E. W. Small, kinetics of local helix formation in poly-l-glutamic acid studied by time-resolved photoacoustics : Neutralization reactions of carboxylates in aqueous solutions and their relevance to the problem of protein folding, *Biophys. J.*, 2000, **79**, 2714–2721.

[49] L. Zhang, R. Buchet and G. Azzar, Phosphate binding in the active site of alkaline phosphatase and the interactions of 2-nitrosoacetophenone with alkaline phosphatase-induced small structural changes, *Biophys. J.*, 2004, **86**, 3873–3881.

[50] J. F. Ireland and P. A. H. Wyatt, Acid-base properties of electronically excited stated of organic molecules, *Adv. Phys. Org. Chem*, 1976, **12**, 131–160.

[51] L. M. Tolbert and K. M. Solntsev, Excited-state proton transfer : from constrained systems to "super" photoacids to superfast proton transfer, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 19–27.

[52] N. Agmon, Elementary steps in excited-state proton transfer, *J. Phys. Chem. A*, 2005, **109**, 13–35.

[53] M. Gutman, D. Huppert and E. Pines, The pH jump : a rapid modulation of pH of aqueous solutions by a laser pulse, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 3709–3713.

[54] R. M. D. Nunes, M. Pineiro, and L. G. Arnaut, Photoacid for extremely long-lived and reversible pH-jumps, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 9456–9462.

[55] J. H. Clark, S. L. Shapiro, A. J. Campillo and K. R. Winn, Picosecond studies of excited-state protonation and deprotonation kinetics. The laser pH jump, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **103**, 746–748.

[56] K. K. Smith, K. J. Kaufmann, D. Huppert and M. Gutman, Picosecond proton ejection : An ultrafast pH jump, *Chem. Phys. Lett.*, 1979, **64**, 522–527.

[57] M. Gutman and D. Huppert, Rapid pH and $\delta\mu H^+$ jump by Short Laser Pulse, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 1979, **1**, 9–19.

[58] J. T. Hynes, T.-H. Tran-Thi and G. Granucci, Intermolecular photochemical proton transfer in solution : new insights and perspectives, *J. Photochem. Photobiol. A*, 2002, **154**, 3–11.

[59] M. Gutman, E. Nachliel and D. Huppert, Direct measurement of proton transfer as a probing reaction for the microenvironment of the apomyoglobin heme-binding site, *Eur. J. Biochem.*, 1982, **125**, 175–181.

[60] M. Gutman, D. Huppert and E. Nachliel, Kinetic studies of proton transfer in the microenvironment of a binding site, *Eur. J. Biochem.*, 1982, **121**, 637–642.

[61] E. Nachliel and M. Gutman, Probing of the substrate binding domain of lactose permease by a proton pulse, *Biochim. Biophys. Acta.*, 2001, **1514**, 33–50.

[62] H. Bouas-Laurent and H. Dürr, Organic photochromism (IUPAC technical report), *Pure Appl. Chem.*, 2001, **73**, 639–655.

[63] S. Kobatake and M. Irie, Photochromism, *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C*, 2003, **99**, 277–313.

[64] C. Dugave and L. Demange, Cis-trans isomerization of organic molecules and biomolecules : Implications and applications, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 2475–2532.

[65] G. Berkovic, V. Krongauz and V. Weiss, Spiropyrans and spirooxazines for memories and switches, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 1741–1753.

[66] G. Wettermark, M. E. Langmuir and D. G. Anderson, Catalysis of cis → trans isomerization of 2-hydroxy-5-methylazobenzene, *J. Am. Chem. Soc.*, 1965, **87**, 476–481.

[67] G. Gabor and E. Fischer, Tautomerism and geometrical isomerism in arylazophenols and naphthols .2. 2-phenylazo-3-naphthol - Photoisomerization .1., *J. Phys. Chem.*, 1962, **86**, 2478–2481.

[68] K. Matsuda and M. Irie, Diarylethene as a photoswitching unit, *J. Photochem. Photobiol. C*, 2004, **5**, 169–182.

[69] Y. Yokoyama, Fulgides for memories and switches, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 1717–1739.

[70] H. Rau, *Photochromism : molecules and systems*, Elsevier, 1990.

[71] J. Griffiths, Selected aspects of photochemistry .2. Photochemistry of azobenzene and its derivatives, *Chem. Soc. Rev.*, 1972, **1**, 481–493.

[72] F. M. Raymo, R. J. Alvarado, S. Giordani and M. A. Cejas, Memory effects based on intermolecular photoinduced proton transfer, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 2361–2364.

[73] B. L. Feringa, R. A. van Delden, N. Koumura and E. M. Geertsema, Chiroptical Molecular Switches, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 1789–1816.

[74] B. L. Feringa, *Molecular Switches*, Wiley-VCH, 2001.

[75] J. A. Delaire and K. Nakatani, Linear and nonlinear optical properties of photochromic molecules and materials, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 1817–1845.

[76] A. P. de Silva, T. Gunnlaugsson and C. P. McCoy, Photoionic supermolecules : mobilizing the charge and light brigades, *J. Chem. Ed.*, 1997, **74**, 53–58.

[77] W. R. Browne and B. L. Feringa, Making molecular machines work, *Nature Nanotechnology*, 2006, **1**, 25–35.

[78] R. A. Evans, T. L. Hanley, M. A. Skidmore, T. P. Davis, G. K. Such, L. H. Yee, G. E. Ball and D. A. Lewis, The generic enhancement of photochromic dye switching speeds in a rigid polymer matrix, *Nature Materials*, 2005, **4**, 249–253.

[79] G. H. Brown, *Techniques of chemistry, Vol. 3*, Wiley, New Yord, 1971.

[80] H. Dürr and H. Bouas-Laurent, *Photochromism : molecules and systems, revised edition*, Elsevier Science, 2003.

[81] M. Irie, Diarylethenes for memories and switches, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 1685–1716.

[82] S. H. Kawai, S. L. Gilat and J.-M. Lehn, Photochemical pKa-modulation and gated photochromic properties of a novel diarylethene switch, *Eur. J. Org. Chem.*, 1999, **9**, 2359–2366.

[83] Y. Odo, K. Matsuda and M. Irie, pKa switching induced by the change in the p-conjugated system based on photochromism, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 4283–4288.

[84] R. N. Macnair, Photochromism in triphenylmethanes, *Photochem. Photobiol.*, 1967, **6**, 779–797.

[85] M. Irie, Light-induced reversible pH change, *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 2078–2079.

[86] H. Liu, Y. X. andFengyu Li, Y. Yang, W. Wang, Y. Song, and D. Liu, Light-driven conformational switch of i-motif DNA, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 2515–2517.

[87] A. Heckel, M. C. R. Buff, M.-S. L. Raddatz, J. Müller, B. Pötzsch and G. Mayer, An anticoagulant with light-triggered antidote activity, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 6748–6750.

[88] C. Höbartner and S. K. Silverman, Modulation of RNA tertiary folding by incorporation of caged nucleotides, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 7305–7309.

[89] J.-L. Leroy, M. Gueron, J.-L. Mergny and C. Helene, Intramolecular folding of a fragment of the cytosine-rich strand of telomeric DNA into an i-motif, *Nucleic Acids Research*, 1994, **22**, 1600–1606.

[90] R. Deloncle, *PhD thesis*, Universite de Toulouse III, 2007.

[91] W. R. Brode, J. H. Gould and G. M. Wyman, The relation between the absorption spectra and the chemical constitution of dyes. XXV. Phototropism and cis-trans isomerism in aromatic azo compounds, *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, **74**, 4641–4646.

[92] G. S. Hartley, The cis-form of azobenzene, *Nature*, 1937, **140**, 281.

[93] H. Zollinger, *Color chemistry. syntheses, propoerties, and applications of organic dyes and pigments. Third, revised edition*, Wiley-VCH, 2003.

[94] P. P. Birnbaum, J. H. Linford and D. W. G. Style, The absorption spectra of azobenzene and some derivatives, *Trans. Faraday Soc.*, 1953, **49**, 735–744.

[95] A. Cembran, F. Bernardi, M. Garavelli, L. Gagliardi, and G. Orlandi, On the mechanism of the cis-trans isomerization in the lowest electronic states of azobenzene : S_0, S_1, and T_1, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 3234–3243.

[96] C. R. Crecca and A. E. Roitberg, Theoretical study of the isomerization mechanism of azobenzene and disubstituted azobenzene derivatives, *J. Phys. Chem. A*, 2006, **110**, 8188–8203.

[97] E. Wei-Guang Diau, A new trans-to-cis photoisomerization mechanism of azobenzene on the S1(n,π^*) surface, *J. Phys. Chem. A*, 2004, **108**, 950–956.

[98] I. K. Lednev, T.-Q. Ye, R. E. Hester and J. N. Moore, Femtosecond time-resolved UV-Visible absorption spectroscopy of trans-azobenzene in solution, *J. Phys. Chem.*, 1996, **100**, 13338–13341.

[99] N. Pozhidaeva, M.-E. Cormier, A. Chaudhari and G. A. Woolley, Reversible photocontrol of peptide helix content : Adjusting thermal stability of the cis state, *Bioconjugate Chem.*, 2004, **15**, 1297–1303.

[100] A. Priimägi, *PhD thesis*, Helsinki University of Technology Faculty of Information and Natural Sciences Department of Applied Physics, 2009.

[101] K. G. Yager and C. J. Barrett, Novel photo-switching using azobenzene functional materials, *J. Photochem. Photobiol. A*, 2006, **182**, 250–261.

[102] A. Archut, G. C. Azzellini, V. Balzani, L. D. Cola, and F. Vögtle, Toward photoswitchable dendritic hosts. Interaction between azobenzene-functionalized dendrimers and eosin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 12187–12191.

[103] C. Renner and L. Moroder, Azobenzene as conformational switch in model peptides, *Chem. Bio. Chem.*, 2006, **7**, 868–878.

[104] G. S. Kumar and D. C. Neckers, Photochemistry of azobenzene-containing polymers, *Chem. Rev.*, 1989, **89**, 1915–1925.

[105] Z. F. Liu, K. Hashimoto and A. Fujishima, Photoelectrochemical information storage using an azobenzene derivative, *Nature*, 1990, **347**, 658–660.

[106] M. V. Peters, R. S. Stoll, A. Kühn and S. Hecht, Photoswitching of Basicity, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2008, **47**, 5968–5972.

[107] R. S. Stoll, M. V. Peters, A. Kuhn, S. Heiles, R. Goddard, M. Bühl, C. M. Thiele and S. Hecht, Photoswitchable catalysts : Correlating structure and conformational dynamics with reactivity by a combined experimental and computational approach, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 357–367.

[108] F. A. Luzzio, The Henry reaction : recent examples, *Tetrahedron*, 2001, **57**, 915–945.

[109] P. Haberfield, Phototropic molecules .1. Phase-transfer as a method for detecting transient species, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 6177–6178.

[110] P. Haberfield, Phototropic molecules. 2. A light-powered hydrogen-ion pump, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 6178–6179.

[111] G. Gabor, Y. Frei, D. Gegiou, M. Kaganowitch and E. Fischer, Tautomerism and geometric isomerism in arylazo-phenols and naphthols .3. Orthohydroxy derivatives and their reversible photochemical reactions, *Isr. J. Chem.*, 1967, **5**, 193–221.

[112] T. Matsuhira, K. Tsuchihashi, H. Yamamoto, T. Okamura and N. Ueyama, Novel photosystem involving protonation and deprotonation processes modelled on a PYP photocycle, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, **6**, 3118–3126.

[113] L. Jullien, A. Lemarchand, S. Charier, O. Ruel and J.-B. Baudin, Two-Site molecules as a road for engineering complexity in chemical systems, *J. Phys. Chem. B*, 2003, **107**, 9905–9917.

[114] H. Berthoumieux, L. Jullien and A. Lemarchand, Resonant response to temperature modulation for enzymatic dynamics characterization, *Phys. Rev. E.*, 2009, **79**, 021906.

[115] K. Zrelli, T. Barilero, E. Cavatore, H. Berthoumieux, T. LeSaux, V. Croquette, A. Lemarchand, C. Gosse, and L. Jullien, Temperature modulation and quadrature detection for selective titration of two-state exchanging reactants, *to appear in Anal. Chem.*, 2011.

[116] P. F. Wang, L. Jullien, B. Valeur, J.-S. Filhol, J. Canceill and J.-M. Lehn, Multichromophoric cyclodextrins .5. Antenna-induced unimolecular photoreactions. Photoisomerization of a nitrone, *New J. Chem.*, 1996, **20**, 895–907.

[117] A. Vogel and V. Venugopalan, Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues, *Chem. Rev.*, 2003, **103**, 577–644.

[118] L. Fournier, *PhD thesis*, UPMC, Paris, 2010.

[119] D. D. Perrin, *Dissociation constants of organic bases in aqueous solutions :Supplement 1972*, Butterworths, 1972.

[120] M. Eigen, W. Kruse, G. Maass and L. D. Maeyer, *Rate constants of protolytic reactions in aqueous solution – Progress in reaction kinetics Vol. 2*, Pergamon Press, 1964, pp. 285–335.

[121] Kodak and Ltd., 1936.

[122] L. G. S. Brooker, G. H. Keyes, R. H. Sprague, R. H. VanDyke, E. VanLare, G. VanZandt and F. L. White, Studies in the cyanine dye series. XI. The merocyanines, *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, **73**, 5326–5332.

[123] C. Reichardt, *Solvents and solvent effects in organic chemistry, 3rd Ed.*, VCH, Weinheim, 2003.

[124] U. Steiner, M. H. Abdel-Kader, P. Fischer and H. E. A. Kramer, Photochemical cis/trans isomerization of a stilbazolium betaine. A protolytic/photochemical reaction cycle, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 3190–3197.

[125] S. T. Abdel-Halim and M. H. Abdel-Kader, Thermal cis-trans isomerization of solvatochromic merocyanines : Linear correlations between solvent polarity and adiabatic and diabatic transition energies, *J. Phys. Chem.*, 1988, **92**, 4324–4328.

[126] J. O. Morley, R. M. Morley, R. Docherty and M. H. Charlton, Fundamental Studies on Brooker's Merocyanine, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **11**, 10192–10202.

[127] G. Bruchelt, G. Grygar, J. Treuner, H. Esterbauer and D. Niethammer, Cytotoxic effects of 6-hydroxydopamine, merocyanine-540 and related compounds on human neuroblastoma and hematopoietic stem cells, *Free Radic Res Commun.*, 1989, **7**, 205–212.

[128] S. Wróblewski, K. Trzebiatowska, B. Jedrzejewska, M. Pietrzak, R. Gawinecki and J. Paczkowski, Development of fluorescence probes based on stilbazolium salts for monitoring free radical polymerization processes, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1999, 1909–1917.

[129] C. Frugoni, Tampone universale di Britton e Robinson a forza ionica costante, *Gazz. Chim. Ital.*, 1957, **87**, 403–407.

[130] H. Gampp, M. Maeder, C. Meyer and A. Zuberbühler, Calculation of equilibrium-constants from multiwavelength spectroscopic data 1. Mathematical considerations, *Talanta*, 1985, **32**, 95–101.

[131] H. Gampp, M. Maeder, C. Meyer and A. Zuberbühler, Calculation of equilibrium-constants from multiwavelength spectroscopic data 2. SPECFIT - 2 user-friendly programs in basic and standard FORTRAN-77, *Talanta*, 1985, **32**, 257–264.

[132] H. Gampp, M. Maeder, C. Meyer and A. Zuberbühler, Calculation of equilibrium-constants from multiwavelength spectroscopic data 3. Model-free analysis of spectrophotometric and electron-spin-resonance titrations, *Talanta*, 1985, **32**, 1133–1139.

[133] H. Gampp, M. Maeder, C. Meyer and A. Zuberbühler, Calculation of equilibrium-constants from multiwavelength spectroscopic data 4. Model-free least-squares refinement by use of evolving factor-analysis, *Talanta*, 1986, **33**, 943–951.

[134] A. Vogel, *Textbook of practical organic chemistry, fourth edition*, Longman, 1978, pp. 714–715.

[135] H. T. Clarke and W. R. Kirner, Methyl red, *Org. Synth. Coll. Vol.*, 1941, **1**, 374–377.

[136] S. Darwish, H. M. Fahmy, M. A. A. Aziz and A. A. E. Maghraby, Polarography of some arylazothiohyantoin derivatives, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 1981, **2**, 344–349.

[137] T. Kunitake, Y. Okahata, M. Shimomura, S. Yasunami and K. Takarabe, Formation of stable bilayer assemblies in water from single-chain amphiphiles - Relationship between the amphiphile structure and the aggregate morphology, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 5401–5413.

[138] X. Zhou, A.-M. Ren, J.-K. Feng, X.-J. Liu, J. Zhang and J. Liu, One- and two-photon absorption properties of novel multi-branched molecules, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2002, **4**, 4346–4352.

[139] L. DeBoni, L. Misoguti, S. C. Zílio and C. R. Mendonça, Degenerate two-photon absorption spectra in azoaromatic compounds, *Chem. Phys. Chem.*, 2005, **6**, 1121–1125.

[140] A. C. Pratt, The Photochemistry of imines, *Chem. Soc. Rev.*, 1977, **6**, 63–81.

[141] S. Mitra and N. Tamai, A combined experimental and theoretical study on the photochromism of aromatic anils, *Chem. Phys.*, 1999, **246**, 463–475.

[142] R. S. Becker and W. F. Richey, Photochromic anils. Mechanisms and products of photoreactions and thermal reactions, *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, **89**, 1298–1302.

[143] J. Drouin, *Introduction à la chimie organique*, Librairie du Cèdre, 2005.

[144] H. H. Jaffé, A reexamination of the Hammett equation, *Chem. Rev.*, 1953, **2**, 191–261.

[145] M. B. Smith and J. March, *Advanced organic chemistry, 5th Ed.*, Wiley Interscience, 2001.

[146] A. Sanchez and R. H. de Rossi, Strong inhibition of cis-trans isomerization of azo compounds by hydroxide ion, *J. Org. Chem.*, 1993, **58**, 2094–2096.

[147] R. Lovrien and J. C. B. Waddington, Photoresponsive system .1. Photochromic macromolecules, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 2315–2322.

[148] A. Frost and R. Pearson, *Kinetics and mechanism, 2nd ed.*, Wiley Interscience, New York, 1961, pp. 77–102.

[149] K. H. Drexhage, *Dye Laser*, Springler, 1973.

[150] F. L. Arbeloa, T. L. Arbeloa, M. J. T. Estévez and I. L. Arbeloa, Photophysics of rhodamines – Molecular-Structure and solvent effects, *J. Phys. Chem.*, 1991, **95**, 2203–2208.

[151] B. Valeur, *Invitation à la fluorescence moléculaire*, De Boeck, Bruxelles, 2004.

[152] J. S. Splitter and M. Calvin, Oxaziridines .I. Irradiation products of several nitrones, *J. Org. Chem.*, 1965, **30**, 3427–3436.

[153] M. Eigen and L. D. Maeyer, Untersuchungen uber die Kinetik der Neutralisation I, *Z. Elektrochem*, 1955, **59**, 986–993.

[154] M. Eigen, Proton transfer, acid-base catalysis, and enzymatic hydrolysis part I : elementary processes, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1964, **3**, 1–19.

[155] A. J. Kresge, What makes proton transfer fast, *Acc. Chem. Res.*, 1975, **8**, 354–360.

[156] C. F. Bernasconi, Intrinsic barriers of reactions and the principle of nonperfect synchronization, *Acc. Chem. Res.*, 1987, **20**, 301–308.

[157] D. Braun and A. Libchaber, Lock-in by molecular multiplication, *Appl. Phys. Lett.*, 2003, **83**, 5554–5556.

[158] D. Baurecht and U. P. Fringeli, Quantitative modulated excitation Fourier transform infrared spectroscopy, *Rev. Sci. Inst.*, 2001, **72**, 3783–3792.

[159] M. Forster, K. Loth, M. Andrist, U. P. Fringeli and H. Günthard, Kinetic study of the photooxidation of pyrocatechol by modulated electronic excitation IR and ESR spectroscopy (MEIR and MESR), *Chem. Phys.*, 1976, **17**, 59–80.

[160] A. Urakawa, T. Bürgib and A. Baikera, Sensitivity enhancement and dynamic behavior analysis by modulation excitation spectroscopy : Principle and application in heterogeneous catalysis, *Chemical Engineering Science*, 2008, **63**, 4902–4909.

[161] S. Delbaere, J.-C. Micheau, M. Frigoli, G. H. Mehl and G. Vermeersch, Mechanistic understanding of the photochromism of a hybrid dithienylethene-naphthopyran system by NMR spectroscopy, *J. Phys. Org. Chem.*, 2007, **20**, 929–935.

[162] S. Delbaere, G. Vermeersch, M. Frigoli and G. H. Mehl, Bridging the visible : The modulation of the absorption by more than 450 nm, *Org. Lett.*, 2010, **12**, 4090–4093.

[163] J. Berthet, J.-C. Micheau, V. Lokshin, M. V. G. Vermeersch and S. Delbaere, Wavelength-dependent reactivity of a quinolinone : Toward a photochromic three-state system, *Org. Lett.*, 2010, **10**, 3773–3776.

[164] M. Emond, T. L. Saux, S. Maurin, J.-B. Baudin, R. Plasson and L. Jullien, 2-Hydroxy-azobenzenes to tailor pH pulses and oscillations with light, *Chem. Eur. J.*, 2010, **16**, 8822–8831.

[165] T. Withers, *http ://talc.geo.umn.edu/people/researchers/withe012/IgorIndex.htm*.

[166] K. Adamczyk, M. Prémont-Schwarz, D. Pines, E. Pines and E. T. J. Nibbering, Real-time observation of carbonic acid formation in aqueous solution, *Science*, 2009, **326**, 1690–1694.

[167] R. P. Haugland, *Handbook of fluorescent probes and research products, ninth edition*, Molecular Probes, Leiden, The Netherlands, 2002.

[168] S. Brasselet and W. E. Moerner, Fluorescence behavior of single-molecule pH-sensors, *Single Mol.*, 2000, **1**, 17–23.

[169] J. Y. Han and K. Burgess, Fluorescent indicators for intracellular pH, *Chem. Rev.*, 2010, **110**, 2709–2728.

[170] J. N. Demas and G. A. Crosby, The measurement of the photoluminescence quantum yields. A review, *J. Phys. Chem.*, 1971, **75**, 991–1024.

[171] S. Charier, O. Ruel, J.-B. Baudin, D. Alcor, J.-F. Allemand, A. Meglio and L. Jullien, An efficient fluorescent probe for ratiometric pH measurements in aqueous solutions, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 4785–4788.

[172] D. Ross, M. Gaitan and L. L. E., Temperature measurement in microfluidic systems using a temperature-dependent fluorescent dye, *Anal. Chem.*, 2001, **73**, 4117–4123.

[173] A. G. Miller and B. Colman, Evidence for HCO_3^- transport by the blue-green alga (cyanobacterium) coccochloris peniocystis, *Plant Physiol.*, 1980, **65**, 397–402.

[174] Y. Pocker and D. W. Bjorkquist, Comparative studies of bovine carbonic anhydrase in H_2O and D_2O. Stopped-flow studies of the kinetics of interconversion of CO_2 and HCO_3^-, *Biochemistry*, 1977, **16**, 5698–5707.

[175] M. Orban and I. R. Epstein, Systematic design of chemical oscillators .26. A new halogen-free chemical oscillator - the reaction between sulfide ion and hydrogen-peroxide in a CSTR, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, **107**, 2302–2305.

[176] Y. Luo and I. R. Epstein, A general model for pH oscillators, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 1518–1522.

[177] C. J. Crook, A. Smith, R. A. L. Jones and A. J. Ryan, Chemically induced oscillations in a pH-responsive hydrogel, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2002, **4**, 1367–1369.

[178] T. Liedl and F. C. Simmel, Switching the conformation of a DNA molecule with a chemical oscillator, *Nano Lett.*, 2005, **5**, 1894–1898.

[179] K. Kurin-Csörgei, I. R. Epstein and M. Orban, Systematic design of chemical oscillators using complexation and precipitation equilibria, *Nature*, 2005, **433**, 139–142.

[180] J. R. Howse, P. Topham, C. J. Crook, A. J. Gleeson, W. Bras, R. A. L. Jones and A. J. Ryan, Reciprocating power generation in a chemically driven synthetic muscle, *Nano Lett.*, 2006, **6**, 73–77.

[181] G. P. Misra and R. A. Siegel, Multipulse drug permeation across a membrane driven by a chemical pH-oscillator, *J. Control. Release*, 2002, **79**, 293–297.

[182] K. Kovacs, R. E. McIlwaine, S. K. Scott and A. F. Taylor, pH oscillations and bistability in the methylene glycol-sulfite-gluconolactone reaction, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2007, **9**, 3711–3716.

[183] R. McIlwaine, K. Kovacs, S. K. Scott and A. F. Taylor, A novel route to pH oscillators, *Chem. Phys. Lett.*, 2006, **417**, 39–42.

[184] INRS, *Acétonitrile - Fiche toxicologique n° 104*.

[185] A. Zaks and A. M. Klibanov, Enzyme-catalyzed processes in organic solvents, *Enzyme-catalyzed processes in organic solvents*, 1985, **82**, 3192–3196.

[186] A. M. Klibanov, Improving enzymes by using them in organic solvents, *Nature*, 2001, **409**, 241–246.

[187] J. N. Lee, C. Park and G. M. Whitesides, Solvent compatibility of poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic devices, *Anal. Chem.*, 2003, **75**, 6544–6554.

[188] J. C. McDonald, D. C. Duffy, J. R. Anderson, D. T. Chiu, H. Wu, O. J. A. Schueller and G. M. Withesides, Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane), *Electrophoresis*, 2000, **21**, 27–40.

[189] L.-Z. He, V. Garamus, B. Niemeyer, H. Helmholz and R. Willumeit, Determination of micelle structure of octyl-β-glucoside in aqueous solution by small angel neutron scattering and geometric Analysis, *J. Mol. Liq.*, 2000, **89**, 239–249.

[190] C. Gosse, A. Boutorine, I. Aujard, M. Chami, A. Kononov, E. Cogné-Laage, J.-F. Allemand, J. Li and L. Jullien, Micelles of lipid-oligonucleotide conjugates : Implications for membrane anchoring and base pairing, *J. Phys. Chem. B*, 2004, **108**, 6485–6497.

[191] W. Saenger, Cyclodextrin inclusion-compounds in research and industry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1980, **19**, 344–362.

[192] J. Szejtli, Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry, *Chem. Rev.*, 1998, **98**, 1743–1753.

[193] M. V. Rekharsky and Y. Inoue, Complexation thermodynamics of cyclodextrins, *Chem. Rev.*, 1998, **98**, 1875–1917.

[194] F. Hirayama, S. Mieda, Y. Miyamoto, H. Arima and K. Uekama, Heptakis(2,6-di-O-methyl-3-O-acetyl)-β-cyclodextrin : A water-soluble cyclodextrin derivative with low hemolytic activity, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1999, **88**, 970–975.

[195] C. Morpain, E. Fousseret-Dodane and M. Tisserand, A possible model for a new chiral glyceride synthesis. Part 2. Synthesis of I ,3-di-O-aroyl- and 1 -0-Aroyl-3-0-tosyl-sn-glycerols from 2,5-O-methylene-D-mannitol, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1980, 1–6.

[196] J. W. Worley, N-(α-Chloroalkyl)phtalimides, *J. Org. Chem.*, 1979, **44**, 1178–1180.

[197] S. Katayama, N. Ae, T. Kodo, S. Masumoto, S. Hourai, C. Tamamura, H. Tanaka and R. Nagata, Tricyclic indole-2-carboxylic acids : Highly *in vivo* active and selective antagonists for the glycine binding site of the NMDA receptor, *J. Med. Chem.*, 2003, **46**, 691–701.

[198] H. R. Ing and R. H. F. Manske, A modification of the Gabriel synthesis of amines, *J. Chem. Soc.*, 1926, 2348–2351.

[199] S. Cho, H. Kim, C. Ahn, J. R. Falck and D. Shin, The first preparation of α-functionalized benzylamine, *Tetrahedron Lett.*, 1999, **40**, 8215–8217.

[200] M. Weingarth, N. Raouafi, B. Jouvelet, L. Duma, G. Bodenhausen, K. Boujlel, B. Schollhorn and P. Tekely, Revealing molecular self-assembly and geometry of non-covalent halogen bonding by solid-state NMR spectroscopy, *Chem. Commun.*, 2008, **45**, 5981–5983.

[201] A. L. Smith, C.-K. Hwang, E. Pitsinos, G. R. Scarlato and K. C. Nicolaou, Enantioselective total synthesis of (-)-calicheamicinone, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 3134–3136.

[202] J. O. Osby, M. G. Martin and B. Ganem, An exceptionally mild deprotection of phtalimides, *Tetrahedron Lett.*, 1984, **25**, 2093–2096.

[203] C. J. Chapman and C. G. Frost, Synthesis of functionalised phenylalanines using rhodium catalysis in water, *Adv. Synth. Catal.*, 2003, **345**, 353–355.

[204] M. Calmes, J. Daunis and N. Mai, Asymmetric synthesis of α-amino acids via diastereoselective addition of (*R*)-pantolactone to their ketenes, *Tetrahedron : asymmetry*, 1997, **8**, 1641–1648.

[205] S. Wolfe and S. K. Hasan, Five-membered rings. II. Inter and intramolecular reactions of simple amines with *N*-substituted phtalimide. Methylamine as a reagent for removal of phthaloyl group from nitrogen, *Can. J. Chem.*, 1970, **48**, 3572–3579.

[206] W.-G. Koh, A. Revzin, and M. V. Pishko, Poly(ethylene glycol) hydrogel microstructures encapsulating living cells, *Langmuir*, 2002, **18**, 2459–2462.

[207] S. P. A. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. Lu and D. Solas, Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis, *Science*, 1991, **251**, 767–773.

[208] L. Miccio, M. Paturzo, A. Finizio, and P. Ferraro, Light induced patterning of poly(dimethylsiloxane) microstructures, *Optics Express*, 2010, **18**, 10947–10955.

[209] J. S. Young, S. R. Fox and K. S. Anseth, A novel device for producing three-dimensional objects, *J. Manuf. Sci. Eng.*, 1999, **121**, 474–477.

[210] O. Nalamasu, M. Cheng, A. G. Timko, V. Pol, E. Reichmanis and L. F. Thompson, An overview of resist processing for deep-UV lithography, *Journal of photopolymers science and technology*, 1991, **4**, 299–318.

[211] C. E. Hoyle and C. N. Bowman, Thiol-ene click chemistry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, **49**, 1540–1573.

[212] B. J. Adzima, Y. Tao, C. J. Kloxin, C. A. DeForest, K. S. Anseth and C. N. Bowman, Spatial and temporal control of the alkyne-azide cycloaddition by photoinitiated Cu(II) reduction, *Nature Chemistry*, 2011, **3**, 265–259.

[213] D. Lau and S. Furman, Fabrication of nanoparticle micro-arrays patterned using direct write laser photoreduction, *Appl. Surf. Sci.*, 2008, **255**, 2159–2161.

[214] A. Estevèz-Torres, *PhD thesis*, UPMC, Paris, 2007.

[215] J. Delgado, Molecular diffusion coefficients of organic compounds in water at different temperatures, *J. phase equilibria diffusion*, 2007, **28**, 427–432.

[216] T. Barilero, T. L. Saux, C. Gosse and L. Jullien, Fluorescent thermometers for dual-emission-wavelength measurements : molecular engineering and application to thermal imaging in a microsystem, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 7988–8000.

[217] Y. Nomura and H. Anzai, Syntheses and ultraviolet spectra of aromatic azo compounds. IV. Naphthylazobenzene derivatives, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1964, **37**, 970.

[218] A. J. Klaus and P. Rys, Cyclometalation of arylazo compounds. Part 1 synthesis and cyclopalladation of some substituted 1-arylazonaphthalenes. 1st Communication on compounds with a metal-arene σ-bond, *Helv. Chim. Acta*, 1981, **64**, 1452–1466.

[219] *The chemistry of the carbon-nitrogen double bond*, ed. S. Patai, Interscience Publishers, New York, 1970.

[220] C. Godoy-Alcántar, A. K. Yatsimirsky and J.-M. Lehn, Structure-stability correlations for imine formation in aqueous solution, *J. Phys. Org. Chem.*, 2005, **18**, 979–985.

[221] J. K. M. Sanders, Self-assembly using dynamic combinatorial chemistry, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A*, 2004, **362**, 1239–1245.

[222] J.-M. Lehn, Dynamic combinatorial chemistry and virtual combinatorial libraries., *Chem. Eur. J.*, 1999, **5**, 2455–2463.

[223] S. J. Rowan, S. J. Cantrill, G. R. L. Cousins, J. K. M. Sanders and J. F. Stoddart, Dynamic covalent chemistry, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 898–952.

[224] I. Huc and J.-M. Lehn, Virtual combinatorial libraries : Dynamic generation of molecular and supramolecular diversity by self-assembly, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1997, **94**, 2106–2110.

[225] S. Otto, R. L. Furlan and J. K. Sanders, Dynamic combinatorial chemistry, *Drug Discov. Today*, 2002, **7**, 117–125.

[226] V. A. Polyakov, M. I. Nelen, N. Nazarpack-Kandlousy, A. D. Ryabov and A. V. Eliseev, Imine exchange in O-aryl and O-alkyl oximes as a base reaction for aqueous "dynamic" combinatorial libraries. A kinetic and thermodynamic study, *J. Phys. Org. Chem.*, 1999, **12**, 357–363.

[227] G. R. L. Cousins, S.-A. Poulsen and J. K. M. Sanders, Dynamic combinatorial libraries of pseudopeptide hydrazone macrocycles, *Chem. Commun.*, 1999, **16**, 1575–1576.

[228] N. Giuseppone and J.-M. Lehn, Protonic and temperature modulation of constituent expression by component selection in a dynamic combinatorial library of imines, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 1715–1722.

[229] L. Tauk, A. P. Schröder, G. Decher and N. Giuseppone, Hierarchical functional gradients of pH-responsive self-assembled monolayers using dynamic covalent chemistry on surfaces, *Nature Chemistry*, 2009, **1**, 649–656.

[230] A. L. Efros and M. Rosen, The electronic structure of semiconductor nanocrystals, *Annu. Rev. Mater. Sci.*, 2000, **30**, 475–521.

[231] L. Qu and X. Peng, Control of photoluminescence properties of CdSe nanocrystals in growth, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 2049–2055.

[232] M. Dahan, S. Lévi, C. Luccardini, P. R. B. Riveau and A. Triller, Diffusion dynamics of glycine receptors revealed by single-quantum dot tracking, *Nature*, 2003, **302**, 442–445.

[233] A. Agrawal, R. Deo, G. D. Wang, M. D. Wang, and S. Nie, Nanometer-scale mapping and single-molecule detection with color-coded nanoparticle probes, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, **105**, 3298–3303.

[234] F. Pinaud, D. King, H.-P. Moore and S. Weiss, Bioactivation and cell targeting of semiconductor CdSe/ZnS nanocrystals with phytochelatin-related peptides, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 6115–6123.

[235] A. Dif, F. Boulmedais, M. Pinot, V. Roullier, M. Baudy-Floc'h, F. M. Coquelle, S. Clarke, P. Neveu, F. Vignaux, R. LeBorgne, M. Dahan, Z. Gueroui and V. Marchi-Artzner, Small and stable peptidic PEGylated quantum dots to target polyhistidine-tagged proteins with controlled stoichiometry, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 14738–14746.

[236] K. Haghbeen and A. W. Tan, Facile synthesis of catechol azo dyes, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 4503–4505.

[237] H. J. Khun, S. E. Braslavsky and R. Schmidt, Chemical actinometry, IUPAC technical report, *Pure Appl. Chem.*, 2004, **76**, 2105–2146.

[238] R. A. Pribush, C. K. Poon, C. M. Bruce and A. W. Adamson, Photochemistry of complex ions. XII. Photochemistry of cobalt(III) acidoammines, *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, **96**, 3027–3032.

[239] C. G. Hatchard and C. A. Parker, A new sensitive chemical actinometer II. Potassium ferrioxalate as a standard chemical actinometer, *Proc. R. Soc. London Ser. A*, 1956, **235**, 518–536.

[240] J. Lee, J. Kim and W. Choi, Ferrioxalate-polyoxometalate system as a new chemical actinometer, *Environ. Sci. Technol.*, 2007, **41**, 5433–5438.

[241] E. E. Wegner and A. W. Adamson, Photochemistry of complex ions. III. Absolute quantum yields for the photolysis of some aqueous chromium(III) complexes. Chemical actinometer in the long wavelength visible region, *J. Am. Chem. Soc.*, 1966, **88**, 394–404.