

## Bioluminescence et chimiluminescence

### QUELQUES ASPECTS PRATIQUES (\*) (\*\*)

par C. AMSTERDAMSKY et R. PANICO,  
E.S.P.C.I., Paris

et J.-M. AUBRY,  
Laboratoire de Chimie Générale,  
Faculté de Pharmacie de Lille.

---

#### INTRODUCTION.

La *bioluminescence*, c'est-à-dire l'émission de lumière sans dégagement de chaleur par des organismes vivants est connue depuis longtemps. Ainsi, PLINE, au début de notre ère, avait remarqué que les lèvres des personnes ayant mangé du coquillage *Pholas dactylus* étaient lumineuses.

L'un des faits les plus frappants à propos de la bioluminescence est la grande diversité des organismes qui ont développé la capacité d'émettre de la lumière.

Les plus importants se rencontrent chez les bactéries, les insectes tels que les lucioles et les vers luisants (femelle du lampyre) et surtout chez les animaux marins puisqu'on estime que les 2/3 des poissons des grandes profondeurs possèdent un système bioluminescent ; cependant, il faut noter qu'il n'y a pas d'exemples de mammifères disposant d'un tel système. Il semble raisonnable de penser que la bioluminescence doit remplir un rôle important pour les organismes qui l'ont développée puisque l'énergie nécessaire pour émettre la lumière n'est pas négligeable. Effectivement, ce phénomène est essentiel à la survie d'animaux

---

(\*) La chimiluminescence a constitué le thème d'expériences présentées lors de l' « Expo-Jeunes » qui s'est tenue à l'occasion du Centenaire de l'École Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de Paris en novembre 1982.

Ces démonstrations, accompagnées de documents filmés, seront présentées parmi d'autres, dans le cadre d'un « théâtre de la chimie » prévu au futur Musée National des Sciences et Techniques de La Villette.

(\*\*) Article reproduit avec l'aimable autorisation de la rédaction de la Revue « L'Actualité chimique », dans laquelle il a été initialement publié (septembre 1984).

relativement évolués comme les insectes ou les organismes marins car il facilite des fonctions aussi indispensables que la reproduction, la recherche de nourriture ou la défense vis-à-vis des prédateurs. En revanche, pour des organismes plus primitifs comme les bactéries ou les champignons, les explications sont rarement aussi claires.

Depuis très longtemps, l'homme a cherché à exploiter la bioluminescence comme source de lumière. Les premières applications concernaient bien entendu l'organisme vivant lui-même comme le gros coléoptère *Pyrophorus*, appelé « cucujo » par les Indiens d'Amérique, qui le mettaient en cage pour éclairer leurs cases (1). Une autre application, plus récente, fut le fait de Raphaël DUBOIS, qui parvint à éclairer une vaste cave au Palais de l'Optique de l'Exposition Internationale de Paris de 1900 avec de grands récipients de verre de 25 litres contenant des bactéries extrêmement brillantes.

L'étape suivante dans l'utilisation de la bioluminescence a été l'extraction, dès la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, des principes biochimiques responsables de l'émission lumineuse et la production, à volonté, de cette émission par mélange des composants *in vitro*.

En revanche, la *chimiluminescence*, bien qu'observée dans de nombreuses réactions, était restée, jusqu'à ces dernières années, une curiosité de Laboratoire. En effet, la faible efficacité lumineuse de ces réactions excluait, *a priori*, toute application pratique.

L'élucidation du mécanisme de la bioluminescence chez certaines espèces animales a presque coïncidé avec la découverte de systèmes chimiques susceptibles d'émettre de la lumière avec une bonne efficacité. Ces deux faits ont considérablement stimulé l'intérêt des chercheurs pour la chimiluminescence et pour la bioluminescence qui, comme nous le verrons, ne constituent en fait que deux aspects d'un même phénomène. Ce regain d'intérêt s'est traduit par un accroissement important du nombre de publications dans ce domaine (voir Tableau ci-après).

**TABLEAU**

Période	Nombre d'articles/an
1967-1971	153
1972-1976	250
1977-1981	398
1982-1983	428

De nombreux ouvrages et mises au point sur ce sujet sont parus (2, 3, 4, 5); notre propos ne sera donc pas d'être exhaustifs, mais de donner un aperçu de cet aspect fascinant de la chimie; le lecteur intéressé pourra se reporter aux références citées.

### RAPPELS THÉORIQUES.

Examinons maintenant les conditions nécessaires pour qu'une réaction soit chimiluminescente (5, 6, 7).

La longueur d'onde  $\lambda$  d'une radiation (ou sa fréquence  $\nu$ ) et l'énergie  $E$  de la lumière émise par un photon obéissent à la relation :

$$E = \frac{hc}{\lambda} = h\nu,$$

$c$  = vitesse de la lumière,

$h$  = constante de PLANCK.

Ainsi, dans le domaine du visible, l'énergie d'une « mole » de photons (un einstein) sera comprise entre 170 (rouge) et 300 kJ (bleu). La première condition pour que la chimiluminescence ait lieu lors d'une réaction  $A + B \rightarrow C + D$  est que la somme de l'enthalpie d'activation  $\Delta H^\ddagger$  et de la différence d'enthalpie entre les états  $(A + B)$  et  $(C + D)$  soit supérieure ou égale à l'énergie de la lumière émise (schéma 1).

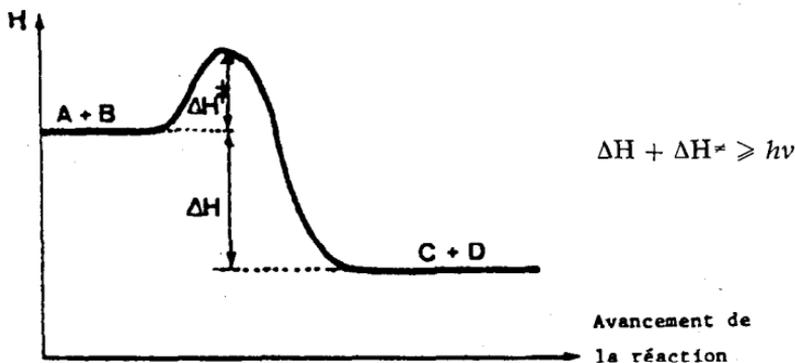


Schéma 1

Cependant, toutes les réactions remplissant cette condition ne sont pas luminescentes : d'autres conditions doivent également être remplies. Non seulement la réaction doit être suffisamment énergétique, mais elle doit conduire à au moins un des produits réactionnels dans un état électroniquement excité. Ce produit à l'état excité doit ensuite se désactiver par un chemin conduisant à l'émission d'un photon.

Explicitons ce que l'on entend par *état électroniquement excité*. Dans une molécule, la combinaison des orbitales atomiques donne naissance à des orbitales moléculaires contenant chacune, au maximum, une paire d'électrons à spins antiparallèles (état singulet). Si l'on considère l'orbitale occupée la plus haute en énergie (dite HOMO) de l'état singulet  $S_0$ , l'excitation électronique consiste à porter l'un des électrons de l'orbitale HOMO la plus basse orbitale non occupée (dite LUMO) sans changement du spin de l'électron. La molécule sera alors dans un état excité  $S_1$  (schéma 2).

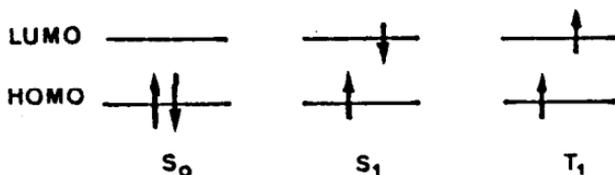


Schéma 2

En revanche, le transfert de l'électron avec inversion de spin aboutirait à l'état triplet  $T_1$ , d'énergie inférieure à  $S_1$ . Cependant, les règles de sélection interdisent le transfert direct  $S_0 \rightarrow T_1$  qui n'est à considérer que dans certains cas très particuliers.

Une fois portée à l'état  $S_1$ , la molécule dispose de plusieurs chemins pour se désactiver et retomber à l'état  $S_0$  :

- par passage de  $S_1$  à  $S_0$  avec émission d'un photon, c'est le processus de *fluorescence* ;
- par passage de  $S_1$  à  $S_0$  sans émission de lumière, c'est la *conversion interne*. La transition  $S_1 \rightarrow S_0$  étant permise, la durée de vie de l'état singulet  $S_1$  sera très brève (de l'ordre de  $10^{-12}$  s) ;
- par passage de  $S_1$  à  $T_1$ , c'est le processus dit de *conversion intersystème*.

Une fois à l'état triplet  $T_1$ , la molécule peut se désactiver et retomber à l'état  $S_0$  avec émission de lumière, c'est le phénomène de *phosphorescence*. Toutefois, la transition  $T_1 \rightarrow S_0$  étant interdite, la durée de vie de l'état  $T_1$  sera relativement longue (de  $10^{-4}$  à 1 s). En fait, la désactivation de la molécule à l'état  $T_1$  se fera, du moins à température ambiante, par collision avec les molécules de solvant ou avec l'oxygène dissous. La phosphorescence n'est, en général, observée qu'à basse température en solution soigneusement dégazée.

L'ensemble de ces chemins peut être schématisé dans le diagramme dit de JABLONSKY (schéma 3).

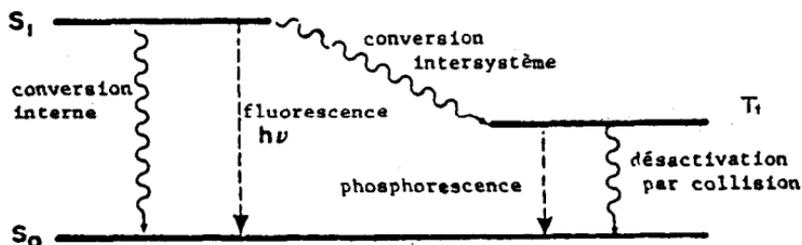


Schéma 3

Enfin, la molécule excitée peut se désactiver en transférant son énergie à une molécule acceptrice appropriée. Cette dernière peut, à son tour, se désactiver suivant les chemins représentés dans le schéma 3.

Explicitons maintenant ce que l'on entend par *efficacité* ou *rendement de chimiluminescence*.

Soit la réaction  $A \rightarrow B^* \rightarrow B + h\nu$  dans laquelle la molécule A conduit à la molécule B à l'état excité, cette dernière se désactive avec émission de lumière.

Le *rendement de chimiluminescence* (c'est-à-dire le rapport du nombre de photons émis au nombre de molécules A)  $\Phi_{CL}$  est égal à :  $\Phi_{CL} = \Phi_C \cdot \Phi_E \cdot \Phi_F$  :

$\Phi_C$  = rendement chimique de la réaction  $A \rightarrow B$ ,

$\Phi_E$  = rendement en molécules excitées  $B^*$ ,

$\Phi_F$  = rendement de fluorescence de B.

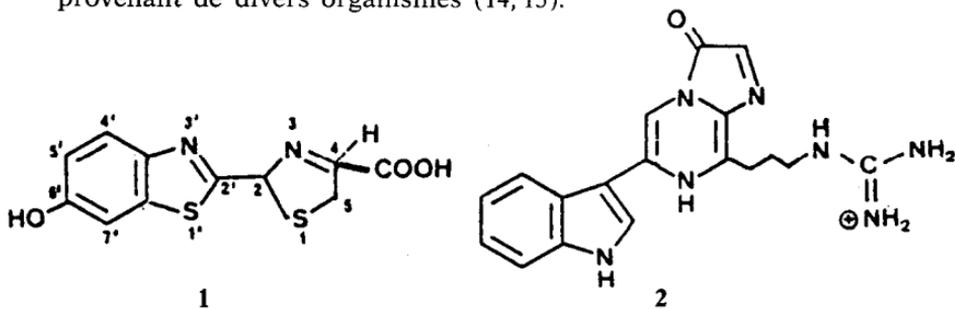
Comme nous l'avons mentionné précédemment, la phosphorescence n'est généralement pas observée en solution ; c'est la fluorescence qui sera à l'origine de la bioluminescence et de la chimiluminescence.

Ce schéma, assez général pour les molécules organiques, n'est pas applicable à certaines espèces inorganiques tel l'oxygène excité (singulet), comme nous le verrons plus loin.

## BIOLUMINESCENCE (8).

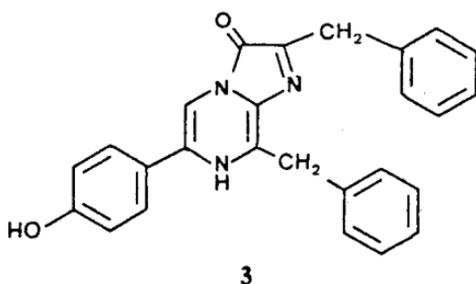
Dans l'étude de la bioluminescence, c'est le biologiste R. DUBOIS (9) qui mit le premier en évidence, chez le mollusque marin *Pholas dactylus*, la présence d'un composé, qu'il isola, la *luciférine* et d'une enzyme inactivée par la chaleur, la *luciférase*. C'est l'action de cette dernière sur la luciférine en présence d'air

qui est responsable de la bioluminescence observée. Ces travaux furent poursuivis par E. N. HARVEY (10, 11), qui confirma la validité du concept fondamental luciférine-luciférase et c'est W. D. McELROY (12) qui, le premier, isole une luciférine à l'état pur, celle de la luciole (*Photinus pyralis*). Peu après E. H. WHITE, F. McCAPRA et W. D. McELROY (13) déterminèrent la structure de cette luciférine et en réalisèrent la synthèse. Cette découverte fut suivie de l'isolement et de l'analyse structurale de luciférine provenant de divers organismes (14, 15).



1  
*Photinus pyralis*  
(insecte)

2  
*Cypridium hilgendorfi*  
(crustacé)



3  
*Renilla reniformis*  
(coelentéré)

Des études récentes ont montré que la luciférine de *Pholas dactylus* est en fait une molécule peptidique de poids moléculaire élevé (16).

L'étude de la luminescence de la luciférine 1 *in vitro* en milieu analogue à celui des conditions *in vivo* a permis de proposer le mécanisme représenté dans le schéma 4 (5, 17, 18).

Il est à noter que l'énantiomère S de la luciférine naturelle (dont le carbone 4 a la configuration R) ne fournit aucune lumière ; de plus, la méthylation de la fonction phénol en 6' ou son remplacement par un groupe méthyle abolit également toute chimiluminescence (19).

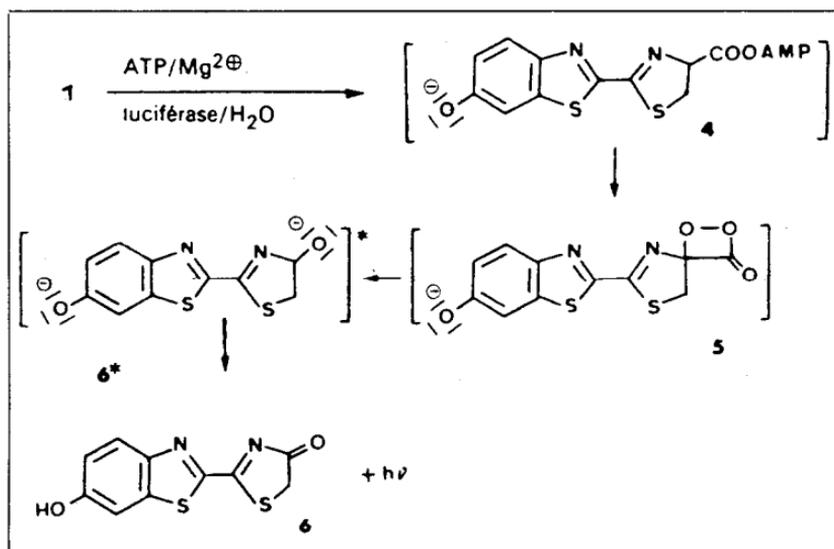
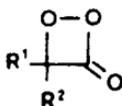


Schéma 4

Par rapport aux réactions chimiluminescentes connues à cette époque, la valeur du rendement de chimiluminescence  $\Phi_{CL}$  de la luciférine était extraordinairement élevé ( $\Phi_{CL} = 0,88$ ) (20). Des mécanismes analogues ont été proposés pour expliquer la bioluminescence des composés **2** (21) ( $\Phi_{CL} = 0,30$ ) (22, 23) et **3** ( $\Phi_{CL} = 0,07$  et lorsqu'une protéine à fluorescence normalement présente dans *R. reniformis* est ajoutée :  $\Phi_{CL} = 0,15$ ) (24).

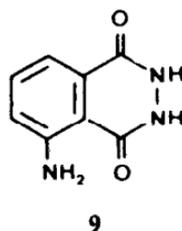
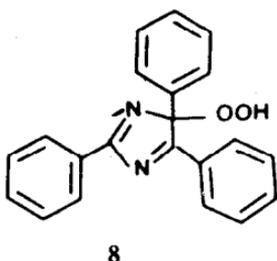
L'hypothèse centrale de ces mécanismes est la présence dans l'intermédiaire **5** d'un motif dioxétanonc **7** dont la rupture conduirait à l'oxyluciférine dans un état excité **6\***, cette dernière revenant à l'état fondamental avec émission de lumière. Comme nous le verrons plus loin, cette hypothèse s'est trouvée brillamment confirmée.



7

## CHIMILUMINESCENCE.

Si, comme nous l'avons mentionné précédemment, la Nature parvient à des valeurs impressionnantes pour le rendement de chimiluminescence  $\Phi_{CL}$ , les réactions chimiluminescentes connues jusqu'à ces dernières années n'avaient que des rendements  $\Phi_{CL}$



infimes (de l'ordre de  $10^{-8}$  pour l'oxydation des réactifs de GRIGNARD, par exemple) (5) ou modestes [environ  $10^{-3}$  pour la chimiluminescence de l'hydroperoxyde de la lophine **8** (25),  $10^{-2}$  pour l'oxydation du luminol **9** (26)]. D'autres exemples sont également connus, mais la valeur de  $\Phi_{CL}$  est toujours très petite comparée à celle des luciférines.

### DIOXÉTANNES.

Dans la décomposition de l'hydroperoxyde **8** ou de celle d'autres hydroperoxydes ou dérivés hétérocycliques chimiluminescents, un dioxétanne intermédiaire avait été proposé (25, 27). C'est la scission de cet intermédiaire qui conduirait à des produits à l'état excité. La synthèse, en 1969, du premier dioxétanne **10** par KOPECKY (28) a montré l'existence de ce motif fonctionnel, la possibilité d'isolement de molécules le renfermant et surtout l'émission de lumière accompagnant sa décomposition (schéma 5).

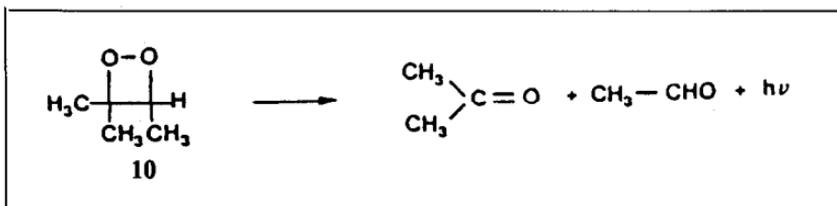
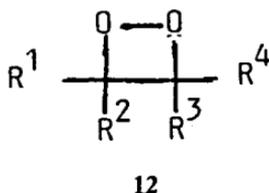
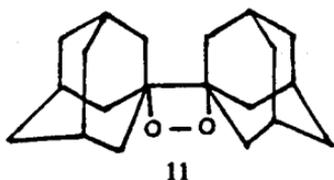


Schéma 5

Ce travail a été suivi de la préparation, par diverses méthodes, de nombreux dioxétannes dont certains, tel **11**, sont très stables, et de la dioxétannone **7** beaucoup plus labile (29, 30).



La très récente mise au point d'ADAM et CILENTO (3) sur ce type de composés discute en détail leur préparation et, surtout, leur décomposition. Cette dernière s'accompagne toujours de chimiluminescence, avec des valeurs de rendements  $\Phi_{CL}$  variables. Le mécanisme, encore sujet de controverses, soit serait concerté, soit passerait par un biradical (schéma 6).

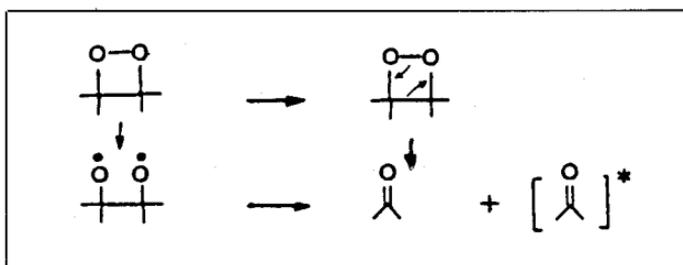
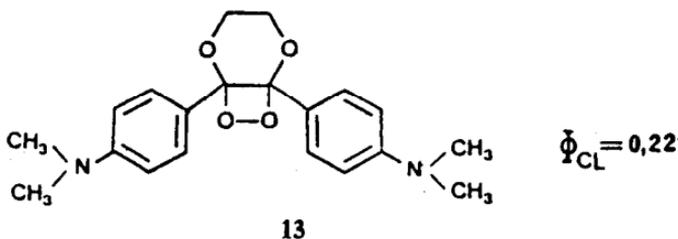


Schéma 6

Le fragment carbonylé excité pourrait se trouver dans un état triplet ou dans un état singulet, ce dernier étant responsable à lui seul de la chimiluminescence dans les conditions habituelles. Dans le cas des tétraalkyldioxétannes (**12**,  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  et  $R^4$  = alkyle), on a  $\Phi_T > \Phi_S$  et  $\Phi_S$ , que l'on peut grossièrement assimiler à  $\Phi_{CL}$ , est pour ces produits de l'ordre de  $10^{-3}$ , valeur encore relativement modeste.

Ce concept du dioxétanne intermédiaire a, néanmoins, été extrêmement fécond et a conduit à la préparation de dioxétannes tel que **13**, ayant des valeurs du rendement  $\Phi_{CL}$  proches et même dépassant celles que l'on rencontre chez les luciférines (31).



Dans le cas du composé **13**, comme dans celui d'autres dioxétannes portant des substituants à faible potentiel d'oxydation, un mécanisme par transfert d'électron intramoléculaire, distinct de ceux qui ont été envisagés dans le schéma 6, a été proposé (schéma 7).

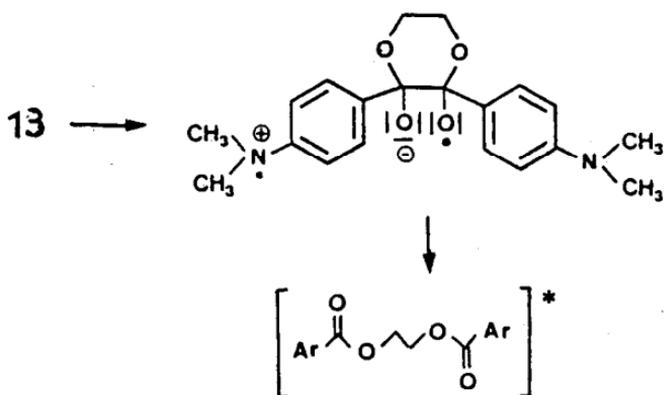
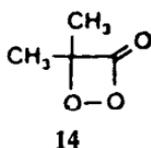
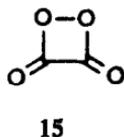


Schéma 7

Si l'on examine le schéma relatif à la décomposition de la luciférine **1**, l'intermédiaire **5** comporte un motif dioxétannone. Or, les dioxétannones, très labiles, ont été préparées et leur décomposition est également chimiluminescente, avec une valeur de rendement  $\Phi_{\text{CL}} = 0,1$  pour la dioxétannone **14** (32).



On pouvait donc penser que la dioxétannedione **15** serait, elle aussi, labile et chimiluminescente.



En effet, le composé **15** n'a jamais été isolé, mais sa présence comme intermédiaire dans la seule réaction chimiluminescente ayant reçu une application commerciale, apparaît fort probable. En effet, CHANDROSS (33) avait remarqué que l'addition de chlorure d'oxalyle à une solution contenant  $\text{H}_2\text{O}_2$  et un composé organique approprié, le fluoresceur  $\delta$  (par exemple, le diphenyl-9,10 anthracène) donnait naissance à une brillante émission de lumière correspondant à la fluorescence de  $\delta$ . On peut encore écrire le mécanisme simplifié de cette réaction (schéma 8) (5).

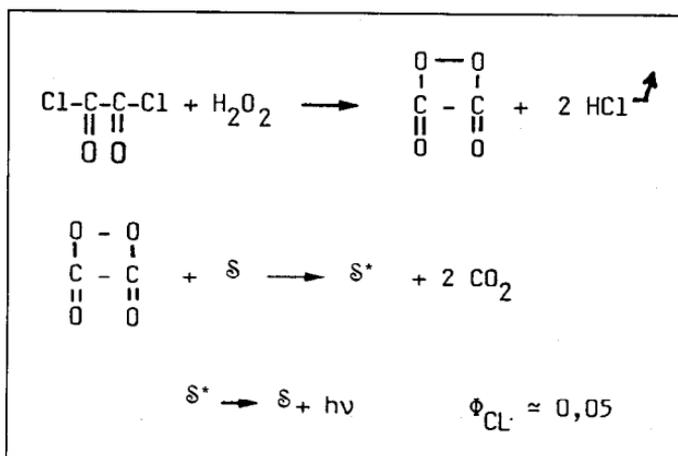


Schéma 8

Le chlorure d'oxalyle étant peu stable, toxique et agressif, son emploi s'est avéré peu commode. C'est RAUHUT (34) qui, en préparant des esters de l'acide oxalique, a montré que certains d'entre eux pouvaient également donner des réactions chimiluminescentes (schéma 9).

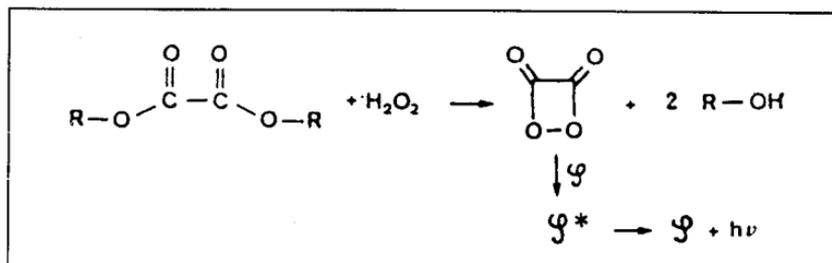
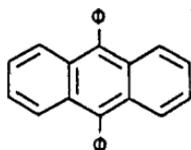
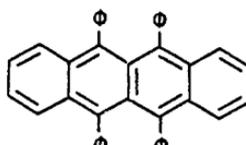


Schéma 9

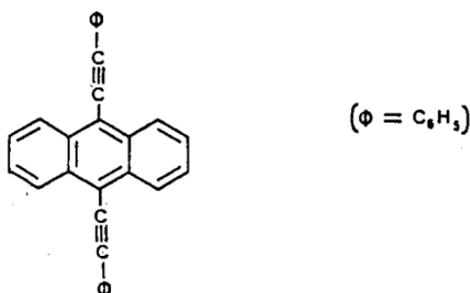
Le reste R doit être choisi de façon à ce que l'anion  $\text{RO}^\ominus$  soit doué de bonnes propriétés nucléofuges. La couleur de la lumière émise dépend de la nature du fluoresceur  $\mathcal{S}$  et de son niveau d'énergie singulet  $\mathcal{S}_0$ . Ainsi, le diphenyl-9,10 anthracène **16** donne une lumière bleu-violet, le rubrène **17**, une lumière jaune et le bis(phényléthynyl)-9,10 anthracène, **18**, une lumière verte.



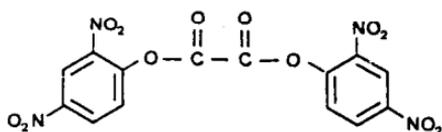
16



17



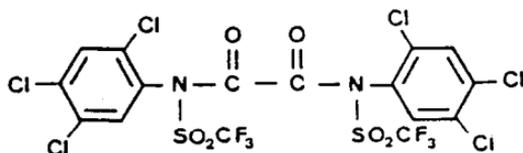
18



19

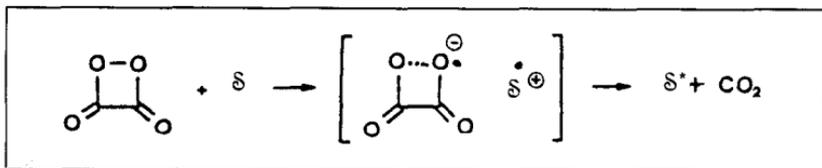
C'est l'ester oxalique du dinitro-2,4 phénol, **19**, qui est utilisé avec le fluoresceur **18** dans les bâtonnets lumineux « Cyalume<sup>R</sup> » fabriqués par American Cyanamid Co et commercialisés en Europe par Aldrich. Un tube de matière plastique flexible renferme les composés **18** et **19** en solution, ainsi qu'une ampoule de verre contenant  $\text{H}_2\text{O}_2$ . En pliant le bâtonnet, on brise l'ampoule, ce qui déclenche la réaction chimiluminescente. La valeur du rendement de chimiluminescence mesurée est de 0,23, approchant ainsi les rendements rencontrés dans la Nature.

Des développements récents ont permis d'améliorer encore les valeurs de  $\Phi_{\text{CL}}$  puisqu'en utilisant des amides de l'acide oxalique telles que **20**, on amène le rendement de chimiluminescence à la valeur  $\Phi_{\text{CL}} = 0,34$ , valeur supérieure à celle que l'on observe pour la luciférine **2** de *C. hilgendorfi*! (35).



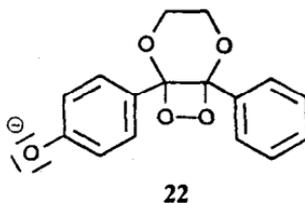
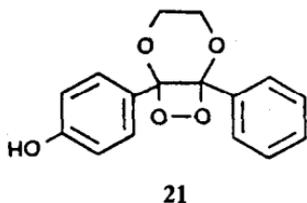
20

Le schéma 9 simplifie considérablement le mécanisme de la chimiluminescence des esters oxaliques ; il est probable que l'une des étapes intermédiaires n'est pas la production de  $\text{CO}_2$  excité, mais plutôt un transfert d'électron intermoléculaire entre la dioxétannedione **15** et le fluoresceur  $\mathcal{S}$ , selon le schéma 10.



Ce schéma a été également proposé pour la chimiluminescence des dioxétanones **7** en présence de fluoresceur. Il est comparable au schéma 7 de transfert d'électron intramoléculaire (36).

Ce mécanisme de transfert d'électron permet d'expliquer les « flashes » des lucioles. En effet, dans le schéma 4, la première étape est le départ d'un proton de la fonction phénol, l'ion phénolate obtenu donnant une réaction de transfert d'électron intramoléculaire semblable à celle du schéma 7. D'une façon tout à fait comparable, SCHAAP (37) a montré que le dioxétanne phénolique **21** aurait un rendement de chimiluminescence  $\Phi_{CL} = 6 \cdot 10^{-5}$  alors que  $\Phi_{CL} = 10^{-2}$  pour la forme anionique correspondante **22**.



Les « flashes » des lucioles s'expliqueraient ainsi par le départ rapide d'un proton de la luciférine qui serait ensuite oxydée. Rappelons que la méthylation de la fonction phénol supprime toute luminescence.

### EXPÉRIENCES DE CHIMILUMINESCENCE IMPLIQUANT UN DIOXÉTANNE.

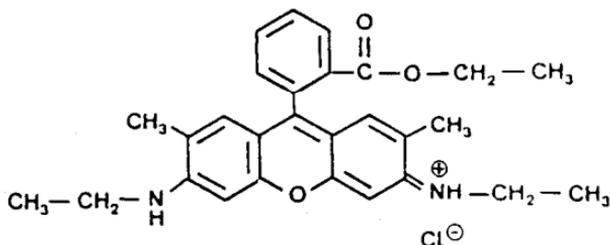
Au cours de l' « Expo-Jeunes » qui s'est tenue à l'E.S.P.C.I., nous avons effectué deux démonstrations impliquant un dioxétanne. La première consistait simplement à plier un bâton « Cyalume<sup>R</sup> » (Aldrich) pour expliquer et démontrer le fonctionnement d'un système chimiluminescent. Dans le temps limité qui nous était imparti en considérant l'absence de culture scientifique d'une grande partie de notre public, nous ne montrions pas l'influence du salicylate de sodium et de la température (38) qui illustrent pourtant de « brillante » manière les notions de

catalyseur et de cinétique d'une réaction. Cependant, nous désirions mettre en évidence le rôle du fluoresceur dans la couleur émise. Malheureusement les réactifs utilisés dans le système « Cyalume<sup>R</sup> » (oxalate de dinitro-2,4 phényle) **19** et eau oxygénée à 98 % ne sont pas commerciaux et, quoique l'ester oxalique **19** soit facile à synthétiser (38), nous avons préféré reproduire la réaction de CHANDROSS (33, 39, 40) dont les réactifs principaux, le chlorure d'oxalyle et l'eau oxygénée à 30 %, sont commercialisés. L'émission lumineuse de cette dernière réaction est d'ailleurs plus intense que celle du système « Cyalume<sup>R</sup> » mais, en contrepartie, elle est beaucoup plus brève (une dizaine de secondes au lieu de plusieurs heures).

En début de journée, nous préparions les solutions A, B, C, D, E nécessaires à une dizaine de démonstrations :

#### Solutions A, B, C, D.

30 ml d'eau oxygénée à 30 % sont mélangés à 470 ml de dioxanne ; cette solution est ensuite fractionnée dans 4 pissettes dans lesquelles on introduit, tout en agitant, environ 20 mg d'un des fluoresceurs suivants, le rubrène **17**, la rhodamine 6 G **23**, le diphenyl-9, 10 anthracène **16**, ou le bis(phényléthynyl)-9, 10 anthracène **18** [obtenu par synthèse (41)].



**23**

#### Solution E.

10 ml de chlorure d'oxalyle sont mélangés à 190 ml de chlorure de méthylène sec ; l'opération est effectuée sous hotte ventilée car le chlorure d'oxalyle est très agressif.

#### Mode opératoire.

Quatre petits tricolors, placés sous une hotte ventilée sont munis d'une agitation magnétique et de 2 ampoules à brome, l'une contenant 10 ml d'une des solutions A, B, C ou D et l'autre 5 ml de la solution E ; au moment de la démonstration les 2 liquides sont versés dans le tricolor sous agitation, on observe alors des émissions lumineuses très intenses de couleurs variées, jaune (**17**), orange (**23**), bleue (**16**), vert (**18**).

Nous avons remarqué qu'avec le rubrène, l'émission lumineuse jaune évoluait rapidement vers le bleu en fin de réaction ; de plus, lorsque la réaction est reproduite plusieurs fois dans le même tricol, simplement vidé par aspiration sous vide, la luminescence jaune s'abrège au profit de la bleue. Ce phénomène peut s'expliquer par l'isomérisation très rapide du rubrène **17** (fluorescent jaune) en « pseudo-rubrène » **24** (fluorescent bleu) (schéma 12) sous l'influence du dégagement de gaz chlorhydrique au cours de la réaction (schéma 8).

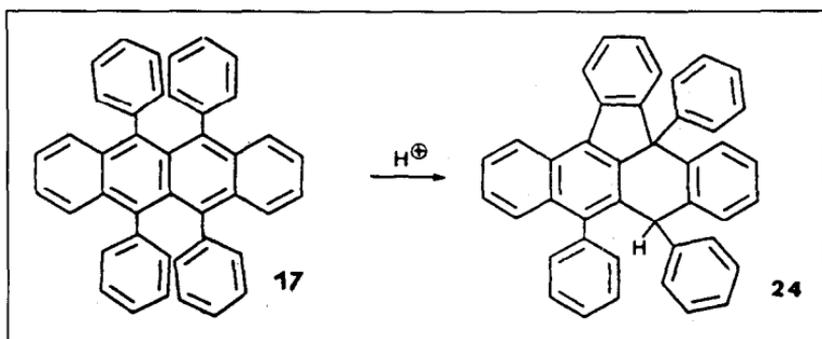
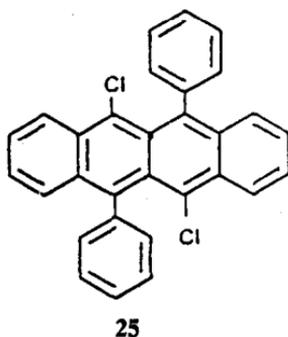


Schéma 11

Nous avons donc remplacé par la suite le rubrène par le dichloro-5,11 diphényl-6,12 naphtacène **25** (non commercial) qui émet également une lumière jaune intense mais qui ne subit pas la même isomérisation acido-catalysée.



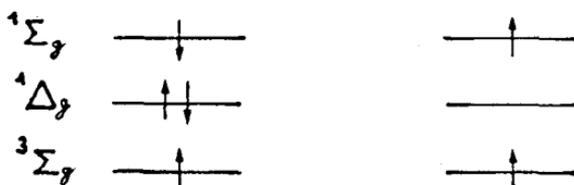
25

### OXYGÈNE SINGULET.

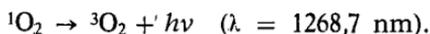
D'autres réactions chimiluminescentes ont fait l'objet d'un important développement ces dernières années : ce sont celles qui mettent en jeu l'oxygène à l'état singulet (42, 43, 44).

L'oxygène ambiant de l'atmosphère est une des rares molécules dont l'état fondamental est un état triplet, avec deux électrons célibataires à spins parallèles. Cet état est noté  $^3\Sigma_g$ . Un apport d'énergie peut porter la molécule aux états excités singulets  $^1\Delta_g$  et  $^1\Sigma_g$  dont les énergies sont respectivement à 94,3 et 156,9 kJ au-dessus de l'état  $^3\Sigma_g$ . La durée de vie de l'état  $^1\Sigma_g$  étant très inférieure à celle de  $^1\Delta_g$ , c'est cette dernière forme qui est impliquée dans les phénomènes de chimiluminescence observées.

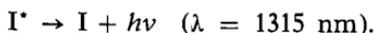
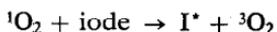
Un diagramme simplifié des états électroniques de  $O_2$  est schématisé ci-après :



Cependant, si l'on se réfère aux conditions énergétiques nécessaires à la chimiluminescence énoncées au début de l'article, il est clair que l'émission d'un photon par désactivation radiative de l'oxygène excité  $^1\Delta_g$  vers son état fondamental  $^3\Sigma_g$  donnera lieu à une émission dans le domaine infrarouge, invisible à l'œil nu :

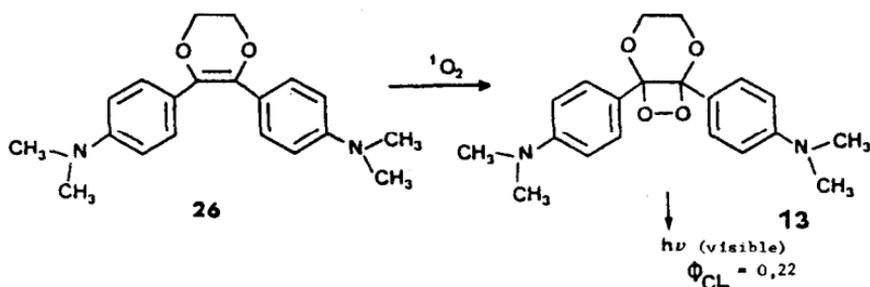


Pour certaines applications, cette énergie s'avère suffisante : c'est le cas des lasers chimiques à iode qui présentent l'avantage de pouvoir délivrer une énergie radiative considérable sans nécessiter de source d'énergie électrique puisque  $^1O_2$  est engendré par une réaction chimique. Dans ces lasers,  $^1O_2$  est produit par l'action du chlore sur l'eau oxygénée en milieu basique, l'oxygène singulet est extrait en phase gazeuse, mélangé à des molécules d'iode et celles-ci après une suite de processus chimiques complexes fournissent des atomes d'iode excités capables de produire l'effet laser (45).

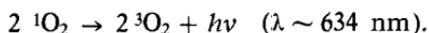


Les lasers chimiques, et plus particulièrement ceux qui utilisent la réaction hydrogène-fluor (46) comme source de molécule excitée, ont acquis une certaine notoriété car ils font partie des armes nouvelles envisagées pour détruire des missiles ou des satellites.

Mais  $^1\text{O}_2$  peut induire également une chimiluminescence visible par deux types de réactions. D'une part, l'action sur une oléfine riche en électrons donne un dioxétanne : ainsi l'oléfine **26** fixe  $^1\text{O}_2$  en conduisant au dioxétanne **13** cité précédemment.

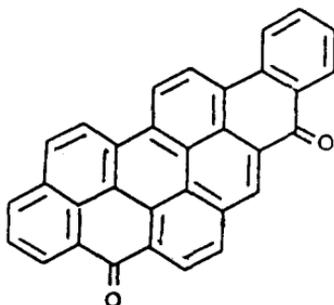


D'autre part la somme des énergies de 2 molécules d'oxygène excité lors d'un choc bimoléculaire conduit à l'émission d'un seul photon correspondant à une lumière rouge :



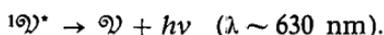
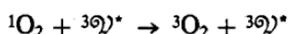
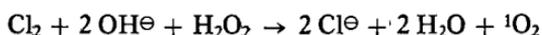
Cette émission lumineuse avait été observée pour la première fois par MALLET en 1927 (47) en faisant barboter du chlore dans une solution basique d'eau oxygénée. Il était trop tôt pour que MALLET puisse interpréter son observation mais, une trentaine d'années plus tard, lorsque cette réaction fut redécouverte et expliquée sur la base de l'oxygène singulet, elle servit à démontrer l'intervention de  $^1\text{O}_2$  dans un grand nombre de processus de photooxydation.

Cette chimiluminescence produite par la désactivation bimoléculaire de  $^1\text{O}_2$  est relativement faible mais KURTZ (48) augmenta de façon considérable l'intensité lumineuse en ajoutant au mélange réactionnel précédent, une solution diluée de violanthrone **27** dans le chloroforme.



**27**  
(9)

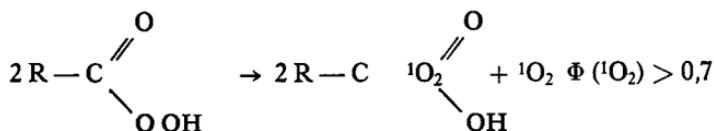
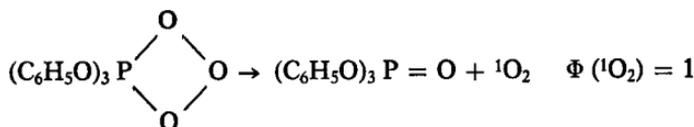
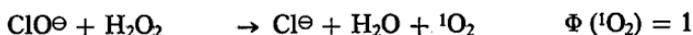
OGRYZLO et PEARSON (49) ont montré que la violanthrone se comporte, dans cette réaction, comme un « accumulateur d'énergie radiative ». En effet, selon ces auteurs, une première molécule de  $^1\text{O}_2$  transfère son énergie à la violanthrone ( $27 = \text{O}$ ) en l'excitant à son niveau triplet ( $^3\text{O}$ ), cette molécule, excitée a une durée de vie relativement longue et peut rencontrer une autre molécule de  $^1\text{O}_2$ , absorber son énergie et passer ainsi dans son premier état singulet excité ( $^1\text{O}^*$ ) qui se désactive immédiatement par émission d'un photon dans le rouge (phénomène de fluorescence).

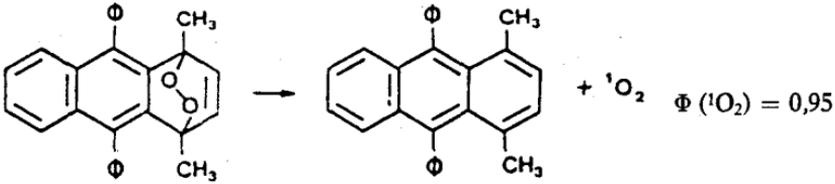


La durée de vie exceptionnellement longue de  $^1\text{O}_2$  ( $\tau = 45 \text{ mn}$  dans le vide) et ses propriétés d'oxydant puissant ( $E^\circ = 2,1 \text{ V}$ ) mais sélectif, ont conduit les chercheurs à utiliser cette espèce dans des domaines variés tels que, le traitement de certains cancers par photooxygénation (50), la synthèse organique (51, 52) ou la dépollution (53); mais, pour les applications qui ont connu un véritable développement industriel,  $^1\text{O}_2$  est produit par photosensibilisation (54). L'un des attrait de ces sources chimiques de  $^1\text{O}_2$  réside donc dans la possibilité de remplacer un processus photochimique assez élaboré par une technique chimique plus facile à mettre en œuvre.

Ces réactions génératrices de  $^1\text{O}_2$  intéressent également les chimistes d'un point de vue fondamental car elles se différencient des autres réactions chimiluminescentes sur deux points essentiels :

— d'une part, elles présentent une grande diversité en ce sens que de nombreux processus chimiques sont connus pour donner  $^1\text{O}_2$ ; en ne citant que les réactions les mieux étudiées, on aura par exemple :





— d'autre part, les rendements de formation de l'espèce excitée  $^1\text{O}_2$  sont souvent très élevés, même comparés au rendement en molécule excitée de la décomposition thermique des dioxétannes. Le rendement est quantitatif pour la réaction d'oxydation de l'eau oxygénée par l'ion hypochlorite (55) et pour la décomposition de l'ozonide du phosphite de phényle (56) ; il est très élevé pour la décomposition des peracides en milieu basique (57, 58) et pour la thermolyse de certains endoperoxydes aromatiques (59).

Cette dernière caractéristique facilite grandement l'élucidation des mécanismes mis en jeu ; les sources chimiques d'oxygène singulet constituent de ce fait des modèles particulièrement attrayants pour l'étude des réactions capables de transformer l'énergie chimique en énergie électronique.

### EXPÉRIENCE DE CHIMILUMINESCENCE IMPLIQUANT L'OXYGÈNE SINGULET.

L'expérience de MALLET (47) a été reprise par divers auteurs (40, 60) pour servir d'expérience de démonstration destinée à illustrer la notion d'oxygène singulet. Au cours de l'« Expo-Jeunes » à l'E.S.P.C.I. nous lui avons préféré la variante décrite par KURTZ (48) de façon à obtenir une émission lumineuse plus intense. Comme l'expérience devait être présentée de nombreuses fois au cours de la même journée, dans des conditions de sécurité optimales, nous avons réalisé un montage un peu plus élaboré que ceux qui sont rapportés dans la littérature (40, 61). Ce dispositif, dont un schéma est représenté ci-après, était placé sous hotte de façon à éliminer les bouffées résiduelles de chlore qui s'échappent de la tuyauterie lors de la purge du montage en fin de journée.

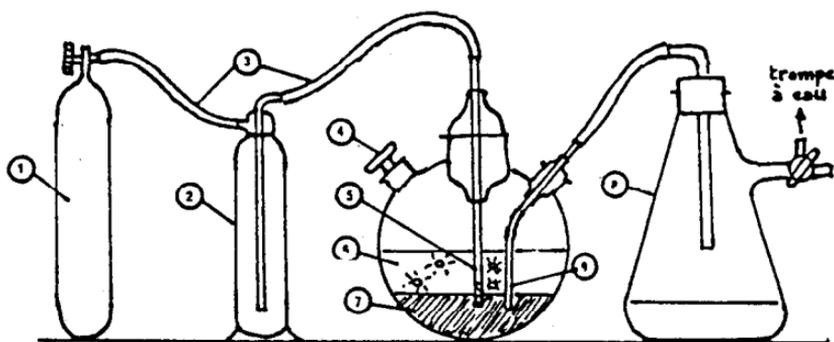


Schéma du montage destiné à illustrer la chimiluminescence de l'oxygène singulet en présence de violanthrone

- 1 Bouteille de chlore (« lecture bottle »).
- 2 Flacon de garde.
- 3 Tuyaux en PVC.
- 4 Orifice d'introduction des réactifs.
- 5 Tube en verre avec fritté.
- 6 Solution aqueuse d'eau oxygénée + soude.
- 7 Solution de violanthrone dans le chloroforme.
- 8 Fiole à vide de 2 l destinée à réaliser la « fontaine lumineuse » et à recueillir les réactifs usagés.
- 9 Tube d'aspiration.

### Mode opératoire.

Dans le tricol de 500 ml, introduire, *peu avant la démonstration*, 50 ml d'une solution diluée de violanthrone (K and K) dans le chloroforme ( $\sim 100$  mg/l), 200 ml d'une solution de soude 3 M et 20 ml d'eau oxygénée à 30 % (100 volumes), puis faire dégager du chlore à l'interface des 2 liquides jusqu'à l'apparition des premières bulles lumineuses et maintenir ce barbotage moins de 30 s pour éviter d'avoir du chlore en excès par rapport à la soude.

Pendant toute la durée du barbotage il se forme, au sein du liquide, des sortes de flammes rouges très lumineuses. Une fois le robinet de la bouteille de chlore refermé, le contenu du ballon est vidé par aspiration sous vide ; il se produit alors dans toute la tuyauterie de vidange une magnifique luminescence rouge qui se transforme au niveau de la fiole à vide en une pluie de lumière extrêmement spectaculaire. Ce phénomène résulte probablement de l'interaction de l'eau oxygénée de la phase aqueuse et du chlore dissous dans le chloroforme au moment du brassage des deux phases dans le circuit de vidange.

### APPLICATIONS DE LA CHIMILUMINESCENCE.

Loin d'être une simple curiosité de laboratoire, la chimiluminescence est susceptible d'applications variées (62). Déjà utilisée en analyse, par exemple pour doser l'ATP (grâce à la réaction luciférine + luciférase qui n'a lieu qu'en sa présence), elle a permis la mise au point d'éclairages « froids » (bâtons « Cyalume<sup>R</sup> »). Des recherches récentes ont également montré que, chez la souris porteuse d'une tumeur cancéreuse, l'injection d'un sensibilisateur se fixant sélectivement sur les cellules cancéreuses, suivie de l'injection d'un mélange d'amide oxalique *N,N*-dialkylée, de  $H_2O_2$  et d'un fluoresceur, entraîne la disparition de la tumeur par action de l'oxygène singulet sur les cellules malignes, selon le schéma 11 (63). Ce traitement pourra peut-être se substituer à celui (classique) dans lesquelles les cellules cancéreuses ayant fixé le sensibilisateur sont irradiées par un laser (50), ce qui, pour les tumeurs internes, peut être laborieux et délicat.

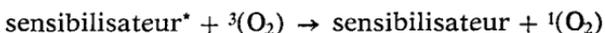
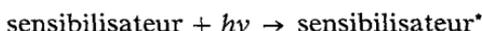
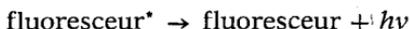
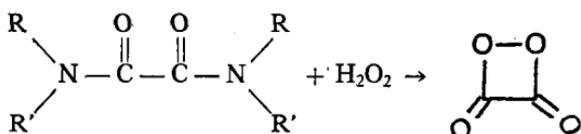


Schéma 12

Quant à l'utilisation de l'énergie radiative de  ${}^1O_2$ , elle se limite actuellement aux lasers chimiques à iode émettant dans l'infrarouge (64). Les puissances de ces lasers atteignent déjà 100 W mais l'objectif est d'accroître encore cette énergie de façon à les rendre opérationnels au cours d'une éventuelle « guerre des étoiles » impliquant missiles et satellites.

#### Perspectives.

C'est dans le domaine de l'éclairage transportable que l'avenir de la chimiluminescence apparaît le plus prometteur. Cepen-

dant, à l'heure actuelle, le photon directement produit par voie chimique est plus coûteux que celui qui est fourni par une lampe à incandescence alimentée avec une pile électrique. Le bâton « Cyalume<sup>R</sup> » est donc utilisé essentiellement comme éclairage de secours dans des environnements particuliers tels que les atmosphères potentiellement explosives ou agressives chimiquement. Le champ d'application de ces nouvelles sources lumineuses s'étendrait sensiblement si l'on parvenait à mettre au point des réactions s'effectuant avec des rendements lumineux plus élevés et se déroulant en phase aqueuse avec des molécules plus simples. Une autre amélioration du procédé consisterait à pouvoir moduler, arrêter ou redémarrer, à volonté, la chimiluminescence de façon à adapter l'émission lumineuse aux besoins de son utilisateur. Et puisque nous en sommes au niveau des spéculations, pourquoi ne pas souhaiter également une certaine réversibilité en régénérant les réactifs de départ à l'aide d'une autre source d'énergie telle que l'électricité ou mieux encore, le soleil. Après tout, une telle « éponge à lumière » fut bien fabriquée, involontairement, par un cordonnier de Bologne à la fin du XVI<sup>e</sup> siècle qui calcina des pierres particulièrement lourdes dans l'espoir d'en extraire de l'or. Il constata alors que ces pierres, exposées à la lumière du jour, émettaient dans l'obscurité une lueur rougeâtre due, en fait, à la luminescence du sulfure de baryum (65). Il faut tout de suite préciser que ce système de stockage de l'énergie solaire n'a rien de commun avec la chimiluminescence et ne présente aucun intérêt pour l'éclairage tant le rendement lumineux est infime.

Un objectif apparemment plus ambitieux est la mise au point d'une « luciole chimique », c'est-à-dire une réaction chimiluminescente oscillante. Un premier pas dans cette direction a été franchi en 1982 lorsque BOLETTA et BALZANI (66) ont pensé à utiliser le complexe luminescent  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$  comme catalyseur d'oxydo-réduction dans la réaction oscillante de BELOUSOV-ZHABOTINSKII ; ils ont ainsi pu détecter une émission lumineuse oscillante mais l'intensité est malheureusement trop faible pour être visible à l'œil nu. Il faudra donc patienter encore quelques années avant d'égaliser les performances des lucioles !

Dans le domaine moins bucolique des lasers chimiques, on peut s'attendre à des progrès rapides si l'on considère les efforts consentis par le gouvernement américain dans ce domaine. Les lasers chimiques émettant dans l'infrarouge vont se multiplier et leurs puissances vont croître, d'autre part ils seront probablement suivis, d'ici quelques temps par la mise au point de lasers émettant dans le visible (67) qui utiliseront des réactions chimiluminescentes comme source d'énergie radiative.

Enfin, il serait injuste d'oublier les applications artistiques que peuvent susciter les propriétés uniques d'une « lumière liquide ». A notre connaissance les réalisations concrètes sont encore embryonnaires, elles se limitent à des colliers constitués d'un tube en plastique translucide contenant la même solution lumineuse verte que les bâtons « Cyalume<sup>R</sup> » ; en modifiant la forme des enveloppes translucides et la nature du fluoresceur pour obtenir des couleurs différentes, il semble pourtant possible de créer des vêtements ou des parures extrêmement originaux bien qu'encore assez coûteux. Dans un autre domaine de l'activité artistique, le cinéma, toujours à l'affût d'effets spéciaux inédits, pourrait également exploiter les propriétés spectaculaires de la chimiluminescence au cours des prochaines années.

Ces quelques portes ouvertes sur l'avenir ne prétendent nullement être exhaustives car il serait vain de vouloir prévoir le développement d'un domaine en effervescence qui, malgré des progrès fulgurants, en est encore à discuter les mécanismes de base.

#### **Remerciements.**

C. AMSTERDAMSKY tient à remercier le Professeur A. P. SCHAAP pour son hospitalité dans son laboratoire de la Wayne State University (Detroit, U.S.A.), où une partie de cet article a pu être conçue.

---

## BIBLIOGRAPHIE

1. E. GARFIELD. — *Current Contents*, 1982, **43**, 5.
2. P. J. HERRING éd. — *Bioluminescence in Action*, Academic Press, New York, 1978.
3. W. ADAM et G. CILENTO. — *Chemical and Biological Generation of excited states*, Academic Press, New York, 1982.
4. J. W. HAAS Jr. — *J. Chem. Educ.*, 1967, **44**, 396.
5. F. McCAPRA. — *Progr. Org. Chem.*, 1973, **8**, 231.
6. D. M. HERCULES. — *Accounts Chem. Research*, 1969, **2**, 301.
7. M. MOUSSERON-CANET et J.-C. MANI. — *Photochimie et réactions moléculaires*. Dunod, Paris, 1969.
8. Au cours d'une émission télévisée récente (Saga le 1-2-1984 sur TF 1), J.-M. BASSOT, Chercheur au C.N.R.S., a présenté un reportage saisissant sur le monde des « bêtes à lumière ».
9. R. DUBOIS. — *Compt. rend.*, 1887, **105**, 690.
10. E. N. HARVEY. — *Bioluminescence*, Academic Press, Londres, 1952.
11. E. N. HARVEY, in *Comparative Biochemistry*, M. FLORKIN et H. S. MASON, éd., Academic Press, New York, 1960, vol. **II**, p. 545.
12. B. BITLER et W. D. McELROY. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1957, **72**, 358.
13. E. H. WHITE, F. McCAPRA et W. D. McELROY. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1961, **83**, 2402.
14. M. J. CORMIER, J. E. WAMPLER et K. HOSI in *Progress in the Chemistry of Organic natural products*, Vienne, 1973, vol. **30**, p. 1.
15. M. J. CORMIER. — Réf. (2), p. 83.
16. J. P. HENRY et A. M. MICHELSON. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1970, **205**, 451.
17. O. SHIMOMURA. — Réf. (3), p. 264.
18. T. A. HOPKINS, H. H. SELIGER, E. H. WHITE et M. W. CASS. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1967, **89**, 7148.
19. E. H. WHITE et H. WÖRTHER. — *J. Org. Chem.*, 1966, **31**, 1484.
20. H. H. SELIGER et W. D. McELROY. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1960, **88**, 136.

21. F. McCAPRA, D. G. RICHARDSON et Y. C. CHANG. — *Photochem. and Photobiol.*, 1965, **4**, 1111.
22. F. H. JOHNSON, O. SHIMOMURA, Y. SAIGA, L. G. GUSHMAN, G. T. REYNOLDS et J. R. WATER. — *J. Cell. Comp. Phys.*, 1962, **60**, 85.
23. O. SHIMOMURA et F. H. JOHNSON. — *Photochem. and Photobiol.*, 1970, **12**, 291.
24. R. C. HART, J. C. MATTEWS, K. HON et M. J. CORMIER. — *Biochemistry*, 1979, **18**, 2204.
25. J. SONNENBERG et D. WHITE. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 5685.
26. E. H. WHITE et D. F. ROSWELL. — *Accounts Chem. Research*, 1970, **3**, 54.
27. F. McCAPRA. — *J. Chem. Comm.*, 1968, p. 155.
28. K. R. KOPECKY et C. MUMFORD. — *Canad. J. Chem.*, 1969, **47**, 709.
29. W. ADAM. — *Adv. Heterocyclic Chem.*, 1977, **21**, 458.
30. W. ADAM. — Réf. (2), p. 115.
31. K. A. ZAKLIKA, A. L. THAYER et A. P. SCHAAP. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 4916.
32. N. J. TURRO et M. F. CHOW. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1981, **102**, 5058.
33. E. A. CHANDROSS. — *Tetrahedron Letters*, 1963, p. 761.
34. M. M. RAUHUT. — *Accounts Chem. Research*, 1969, **2**, 80.
35. S. S. TSENG, A. G. MOHAN, L. G. HAINES, L. S. VIZCARRA et M. M. RAUHUT. — *J. Org. Chem.*, 1979, **44**, 4113.
36. G. B. SCHUSTER et S. P. SCHMIDT. — *Adv. Phys. Org. Chem.*, 1982, **18**, 187.
37. A. P. SCHAAP et S. D. GAGNON. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 3504.
38. A. G. MOHAN et N. J. TURRO. — *J. Chem. Educ.*, 1974, **51**, 528.
39. F. B. BRAMWELL, S. GOODMAN, E. A. CHANDROSS et M. KAPLAN. — *J. Chem. Educ.*, 1979, **56**, 111.
40. B. Z. SHAKHASHIRI. — *Chemical Demonstrations, A handbook for teachers of Chemistry*, Vol. I, University of Wisconsin Press, Madison, Wisconsin, 1983.
41. W. REID, W. DONNER et W. SCHLEGELMILCH. — *Ber.*, 1961, **94**, 1051.
42. H. H. WASSERMAN et R. W. MURRAY. — *Singlet Oxygen*, Academic Press, New York, 1979.
43. A. A. GORMAN et M. A. J. RODGERS. — *J. Chem. Soc. Rev.*, 1981, **10**, 205.

44. N. V. SHINKARENKO et V. B. ALEKSCOVSKII. — *Russ. Chem. Rev.*, 1982, **51**, 407.
  45. W. E. McDERMOTT, N. R. PCHELKIN, D. J. BENARD et R. R. BOUSEK. — *Appl. Phys., Lett.*, 1978, **32**, 469.
  46. C. J. ULTEE. — *J. Chem. Educ.*, 1982, **59**, 462.
  47. L. MALLET. — *C.R. Acad. Sci. Paris*, 1927, **185**, 352.
  48. R. B. KURTZ. — *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 1954, **16**, 399.
  49. E. A. OGRYZLO et A. E. PEARSON. — *J. Phys. Chem.*, 1968, **72**, 2913.
  50. T. J. DOUGHERTY, J. E. KAUFMAN, A. GOLDFARB, K. R. WEISKAUPT, D. BOYLE et A. MITTLEMAN. — *Cancer Research*, 1978, **38**, 2628.
  51. G. OHLOFF. — *Pure Appl. Chem.*, 1975, **43**, 481.
  52. H. H. WASSERMAN et J. L. IVES. — *Tetrahedron*, 1981, **37**, 1825.
  53. C. P. GERBA, C. WALLIS, J. L. MELNICK. — *J. Water Poll. control fed*, 1977, **49**, 575.
  54. K. GOLLNICK. — *La Chimica e L'Industria*, 1982, **64**, 156.
  55. A. M. HELD, D. J. HALKO et J. K. JURST. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 5732.
  56. A. M. CAMINADE, F. EL KHATIB, J.-M. AUBRY et M. KÖENIG. — Soumis à publication.
  57. E. McKEOWN et W. A. WATERS. — *J. Chem. Soc. (B)*, 1966, p. 1040.
  58. M. BOTSIVALI et D. F. EVANS. — *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 1979, p. 1114.
  59. N. J. TURRO, MING-FEA CHOW et J. RIGAUDY. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 7218.
  60. B. Z. SHAKHASHIRI et L. G. WILLIAMS. — *J. Chem. Educ.*, 1976, **53**, 358.
  61. W. H. SLABAUGH. — *J. Chem. Educ.*, 1970, **47**, 522.
  62. S. K. GILL. — *Aldrichimica Acta*, 1983, **16** (3), 59.
  63. M. J. PHILLIP, J. D. McMAHON, M. D. O'HARA, F. W. HETZEL, C. AMSTERDAMSKY et A. P. SCHAAP. — Clayton Symposium on Porphyrin localisation and treatment of tumors, U.S.A., 1983.
  64. M. C. LIN, M. E. UMSTEAD, N. DJEU. — *Ann. Rev. Phys. Chem.*, 1983, **34**, 557.
  65. R. BERNARD. — *La luminescence, Coll. « Que sais-je ? »* (P.U.F.), 1974, p. 921.
  66. F. BOLLETTA et V. BALZANI. — *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 4250.
  67. H. BRUNE. — *La Recherche*, 1981, **128**, 1432.
-