



HAL
open science

Électrochimie en milieux aqueux des hétérocycles polyconjugués d'intérêt biologique: Nicotinamide, N1 méthyl Nicotinamide et Pyrimidine

Daniel R. Thevenot

► **To cite this version:**

Daniel R. Thevenot. Électrochimie en milieux aqueux des hétérocycles polyconjugués d'intérêt biologique: Nicotinamide, N1 méthyl Nicotinamide et Pyrimidine. Sciences de l'ingénieur [physics]. Université Paris VI, 1971. Français. NNT: . tel-01179379

HAL Id: tel-01179379

<https://hal.science/tel-01179379v1>

Submitted on 22 Jul 2015

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.

N° d'enregistrement au C.N.R.S.

A.O. 6164

THÈSE

de Doctorat d'Etat ès-Sciences Physiques

présentée

A L'UNIVERSITÉ PARIS VI

par

DANIEL THÉVENOT

pour obtenir

le grade de Docteur ès-Sciences

SUJET DE LA THÈSE

Electrochimie en milieux aqueux

des hétérocycles polyconjugués d'intérêt biologique :

Nicotinamide, N₁ méthyl nicotinamide et Pyrimidine.

soutenu le 14 Octobre 1971 devant la Commission d'Examen

comprenant :

MM. G. CHAMPETIER Président

G. CHARLOT Examineurs

R. BUVET

B. PULLMAN Membre invité

N° d'enregistrement au C.N.R.S.

A.O. 6164

THÈSE

de Doctorat d'Etat ès-Sciences Physiques

présentée

A L'UNIVERSITÉ PARIS VI

par

DANIEL THÉVENOT

pour obtenir

le grade de Docteur ès-Sciences

SUJET DE LA THÈSE

Electrochimie en milieux aqueux

des hétérocycles polyconjugués d'intérêt biologique :

Nicotinamide, N₁ méthyl nicotinamide et Pyrimidine.

soutenue le Octobre 1971 devant la Commission d'Examen

comprenant :

MM. G. CHAMPETIER Président

G. CHARLOT Examineurs

R. BUVET

B. PULLMAN Membre invité

Ce travail a été effectué au Laboratoire d'Energétique Electrochimique de l'Université PARIS VI, sous la direction de Monsieur le Professeur René BUVET. C'est à lui que j'adresse naturellement mes premiers remerciements. Ses remarques, les discussions que nous avons eues et ses conseils m'ont permis de mener à bien ce travail et m'ont considérablement aidé dans ma formation de chercheur. Je tiens à lui exprimer ma sincère gratitude.

Je suis très reconnaissant à Monsieur le Professeur G. CHAMPETIER de la bienveillance qu'il m'a toujours témoignée quand j'étais étudiant à l'Ecole de Physique et de Chimie, et qu'il me manifeste une nouvelle fois en acceptant de présider la commission d'examen. Je remercie également Messieurs les Professeurs CHARLOT et PULLMAN d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et faire partie du jury de cette thèse.

Je ne saurais oublier l'excellente atmosphère du laboratoire et je ne peux citer ici tous ceux qui m'ont aidé, conseillé ou encouragé. Cependant je remercie particulièrement Monsieur Gilbert HAMMOUYA pour sa précieuse collaboration.

PLAN

<u>CHAPITRE UN : INTRODUCTION.</u>	p.1
<u>CHAPITRE DEUX : TECHNIQUES EXPERIMENTALES.</u>	p.5
2.1 - <u>Choix de la méthode électrochimique et de la technique expérimentale.</u>	p.5
2.2 - <u>Appareillage.</u>	p.8
2.2.1 - Polarographie à stillation commandée.	p.8
2.2.2 - Voltamétrie cyclique sur goutte de mercure à stillation commandée et sur disque immobile de carbone vitreux.	p.8
2.2.3 - Cellule électrochimique et électrodes.	p.12
2.2.4 - Mode opératoire.	p.15
2.3 - <u>Etude des caractéristiques de la polarographie à stillation commandée.</u>	p.17
2.3.1 - Description de la méthode.	p.17
2.3.2 - Etude de la méthode.	p.18
2.3.3 - Ajustement des paramètres expérimentaux.	p.26
2.4 - <u>Réactifs.</u>	p.28
<u>CHAPITRE TROIS : ELECTROCHIMIE DU NICOTINAMIDE-ADENINE-DINUCLEOTIDE ET DE SES COMPOSES MODELES.</u>	p.29
3.1 - <u>Analyse critique des données antérieures.</u>	p.29
3.1.1 - Propriétés électrochimiques comparées des pyridines substituées.	p.30
3.1.2 - Propriétés électrochimiques des coenzymes pyridiniques et de leurs composés modèles.	p.32
3.1.2.1 - Réduction électrochimique.	p.32
3.1.2.2 - Oxydation électrochimique de composés réduits.	p.38
3.1.2.3 - Comportement potentiométrique de mélanges de NAD^+ et NADH ou de composés modèles.	p.40
3.1.2.4 - Conclusion.	p.42

- 3.2 - Etude électrochimique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide. p. 46
- 3.2.1 - Réduction de solutions aqueuses très diluées de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide sur goutte de mercure en stillation commandée. Influence du pH de la solution. p. 46
- 3.2.2 - Influence de la concentration de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée. p. 51
- 3.2.3 - Influence de paramètres expérimentaux sur la réduction polarographique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide. p. 55
- 3.2.3.1 - Effet de la nature du tampon. p. 55
- 3.2.3.2 - Effet de la fréquence de chute des gouttes de mercure. p. 56
- 3.2.3.3 - Effet de la température de la solution. p. 59
- 3.2.3.4 - Analyse logarithmique de la forme des vagues. p. 63
- 3.2.4 - Voltamétrie cyclique sur disque de carbone vitreux : réduction et réoxydation. p. 66
- 3.2.5 - Discussion et interprétation des résultats des mesures électrochimiques sur les solutions aqueuses de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide. p. 70
- 3.2.5.1 - Comparaison avec les données antérieures. p. 70
- 3.2.5.2 - Interprétation des résultats en termes de mécanismes de réactions. p. 72
- 3.2.5.3 - Energétique des mécanismes de réaction proposés. p. 77
- 3.2.5.4 - Effets spécifiques de certains milieux. p. 79
- 3.3 - Etude électrochimique de la nicotinamide en solution aqueuse. p. 80
- 3.3.1 - Réduction de solutions aqueuses très diluées de nicotinamide sur goutte de mercure en stillation commandée. Influence du pH de la solution. p. 80

- 3.3.2 - Influence de la concentration de nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée p. 82
- 3.3.2.1 - pH compris entre 0 et 2. p. 83
- 3.3.2.2 - pH compris entre 2 et 7. p. 85
- 3.3.2.3 - pH compris entre 7 et 10. p. 89
- 3.3.2.4 - Conclusion. p. 93
- 3.3.3 - Discussion des résultats relatifs à la réduction polarographique de la nicotinamide en solution aqueuse. p. 97
- 3.3.3.1 - Comparaison avec les données antérieures relatives à la nicotinamide. p. 97
- 3.3.3.2 - Comparaison avec les données relatives à l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide. p. 99

CHAPITRE QUATRE : ELECTROCHIMIE DES PYRIMIDINES ET PURINES. p. 103

- 4.1 - Analyse critique des données antérieures. p. 103
- 4.1.1 - Propriétés électrochimiques comparées des pyrimidines et des purines substituées. p. 105
- 4.1.2 - Réduction électrochimique de la pyrimidine non substituée. p. 119
- 4.2 - Etude de la réduction électrochimique de la pyrimidine en solution aqueuse. p. 126
- 4.2.1 - Réduction de solutions aqueuses très diluées de pyrimidine sur goutte de mercure en stillation commandée. Influence du pH de la solution. p. 126
- 4.2.2 - Influence de la concentration de pyrimidine sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée. p. 130
- 4.2.3 - Effet de la nature et de la concentration du tampon. p. 140
- 4.2.4 - Effet de la température de la solution. p. 144
- 4.2.5 - Analyse logarithmique de la forme des vagues. p. 149

4.2.6 - Effet de la fréquence de chute des gouttes de mercure.	p. 153
4.2.7 - Effet de la nature du matériau d'électrode.	p. 159
4.3 - <u>Discussion et interprétation des résultats relatifs à la réduction électrochimique de solutions aqueuses de pyrimidine.</u>	p. 165
4.3.1 - Comparaison avec les données antérieures.	p. 165
4.3.2 - Interprétation des résultats en termes de mécanismes de réaction.	p. 167
4.3.3 - Effets spécifiques de certains milieux.	p. 173
<u>CHAPITRE CINQ : CONCLUSION GENERALE.</u>	p. 175
5.1 - <u>Problèmes d'ordre électrochimique posés par les résultats obtenus.</u>	p. 175
5.2 - <u>Comparaison des matériaux étudiés.</u>	p. 179
5.3 - <u>Signification biologique des résultats.</u>	p. 180
5.4 - <u>Perspectives.</u>	p. 183
BIBLIOGRAPHIE	p. 185

ABREVIATIONS ET SYMBOLES UTILISES

FAD : Flavine adénine dinucléotide
 FMN : Flavine mononucléotide
 NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide
 NADP⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

E.N.H.: Electrode normale à hydrogène

M : Titre molaire en volume (mole/l)
 m : Débit de mercure (mg/s)
 τ : Temps de goutte (s)
 D : Coefficient de diffusion (cm²/s)
 E_{1/2} : Potentiel de demi-vague
 E_p : Potentiel de pic
 i_d : Courant de diffusion (μ A)
 i_{lim} : Courant limite (μ A)
 θ : Température (°C)

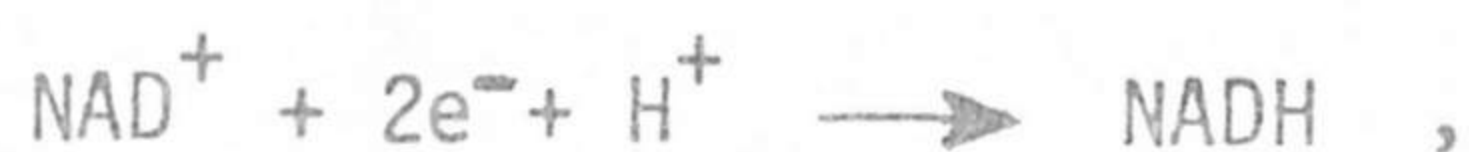
CHAPITRE UN

INTRODUCTION

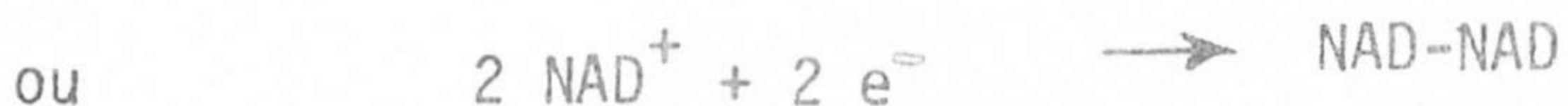
Les hétérocycles polyconjugués azotés jouent un rôle essentiel dans les processus biochimiques. La comparaison de leurs fonctions usuelles dans les systèmes vivants permet de les classer en deux catégories. Certains systèmes hétérocycliques jouent essentiellement un rôle de transporteurs d'électrons; à cette catégorie appartiennent les coenzymes pyridiniques (NAD^+ , NADP^+), flaviniques (FMN, FAD) et les différentes porphyrines. D'autres n'interviendraient sans doute pas in vivo du fait de leurs propriétés d'oxydo-réduction; parmi ceux-ci se trouvent surtout les bases pyrimidiques et puriques des matériaux polynucléotidiques.

Les propriétés d'échange électronique de tous ces matériaux ont un rôle essentiel en biologie. Ceci est évident pour la première catégorie de composés. Les hypothèses de SZENT-GYORGYI (1 à 4), relatives à l'intervention de transferts d'électrons entre et dans les molécules conjuguées, confèrent néanmoins une importance particulière aux propriétés d'oxydo-réduction des matériaux de la deuxième catégorie.

De nombreuses études théoriques, menées surtout par B. et A. PULLMAN et coll. (5 à 7) ont cherché à justifier, par une approche quantique, la capacité de toutes ces molécules conjuguées à fixer ou céder des électrons. Les résultats obtenus sont en général représentatifs des propriétés électrochimiques observées. Cependant, en pratique, une telle approche quantique ne permet pas d'appréhender l'importance de certains termes tels que ceux liés à la solvatation. De même, lorsque des dérivés, tels que des composés dimères avec des états de protonation divers, sont susceptibles d'intervenir dans les processus de transformation, la chimie quantique ne permet que difficilement de penser a priori à de tels dérivés. Or dans le cas du NAD^+ par exemple, outre la transition habituelle



des transitions telles que



ont été introduites à partir de bases expérimentales. Seules les études électrochimiques permettent donc d'avoir rapidement une vue d'ensemble des propriétés de transfert d'électrons de ces matériaux.

Parmi les systèmes hétérocycliques azotés les plus importants du point de vue biologique, mais correspondant néanmoins à des structures simples, le NAD^+ est particulièrement représentatif des composés transporteurs d'électrons et les dérivés pyrimidiques le sont des composés nucléiques. Toutefois afin d'éviter les difficultés tant expérimentales qu'interprétatives liées à la présence de substituants ribosyl (ou désoxyribosyl) et ribosylphosphate (ou désoxyribosylphosphate), nous avons choisi d'examiner, plutôt que les composés biologiques eux-mêmes, des modèles de ceux-ci. Cette position est justifiée par le fait que les études expérimentales antérieures ont déjà fait apparaître, ainsi que nous le verrons, que les propriétés électroniques de l'hétérocycle ne sont que peu dépendantes de la nature des substituants attachés. En conclusion, nous avons donc centré notre étude sur les cas :

- de la nicotinamide non substituée sur l'azote pyridinique,
- du N_1 méthyl nicotinamide, composé modèle du NAD^+ ,
- de la pyrimidine non substituée.

Un second point essentiel qui doit être abordé pour préciser notre travail concerne le choix des méthodes électrochimiques. Le principe directeur de ce choix a été notre détermination d'utiliser des techniques susceptibles de délivrer des informations directement liées aux propriétés qui interviennent en biologie. C'est ainsi que

des relevés électrochimiques sont, de ce point de vue, préférables aux techniques telles que la résonance magnétique nucléaire et d'autres spectroscopies.

Par ailleurs, entre les méthodes électrochimiques :

- titrimétriques d'une part, qui permettent de suivre l'avancement d'une réaction chimique redox par une mesure électrochimique,
- voltamétriques de l'autre, dans lesquelles l'échange d'électrons du réactif accompagne un transfert d'électrons à une micro-électrode,

nous avons choisi d'utiliser essentiellement les secondes.

Nous verrons que ces dernières donnent une vue à la fois plus détaillée et plus complète des propriétés et mécanismes rencontrés. Plus précisément, nous examinerons dans le chapitre 2, relatif aux techniques expérimentales, pour quelles raisons nous avons développé l'essentiel de notre travail à l'aide de la polarographie à stillation commandée. Nous avons dû, en effet, faire un compromis entre l'accessibilité de la méthode et la qualité des informations qu'elle délivre, et tenir compte des caractéristiques propres des réactifs étudiés (potentiels de réduction très négatifs).

Enfin ainsi que certains expérimentateurs l'ont fait, nous aurions pu envisager de relever les propriétés électrochimiques de ces matériaux dans des milieux non aqueux. Cependant, nous avons tenu à ne pas exclure le rôle dominant de l'eau qui existe toujours en quantité importante dans les milieux biologiques, même au sein des ultrastructures les plus organophiles. En conséquence, tout notre travail a été développé avec des solutions aqueuses des composés étudiés.

Dans ce qui suit, et compte tenu du fait que les différences entre les propriétés des trois matériaux l'emportent sur leurs analogies, nous présenterons successivement l'étude électrochimique :

- d'un composé modèle du NAD^+ , la N_1 méthyl nicotinamide,
- de la nicotinamide,
- de la pyrimidine.

Les techniques expérimentales utilisées étant identiques pour ces trois composés, nous présenterons préalablement celles-ci dans un chapitre séparé.

Dans la conclusion générale, nous décrirons la situation à laquelle nous sommes parvenus à la fin de notre travail. Puis nous ferons le point des résultats d'intérêt biologique qui peuvent être tirés d'une étude électrochimique telle que la nôtre.

CHAPITRE DEUX

TECHNIQUES EXPERIMENTALES

1 - Choix de la méthode électrochimique et de la technique expérimentale.

Le problème essentiel que nous avons gardé présent à l'esprit au cours du choix des méthodes et des techniques électrochimiques consiste à éliminer, autant que possible, les artéfacts liés à la technique expérimentale. Pour qu'un caractère significatif, vis-à-vis des questions d'ordre biologique, subsiste dans les résultats obtenus, il est indispensable que ceux-ci soient le plus possible indépendants des circonstances de mesure. Pour cette raison ainsi que par souci de simplicité, nous avons généralement préféré les méthodes électrochimiques stationnaires ou pseudo-stationnaires, dérivées de la polarographie, aux méthodes transitoires. Nous avons donc relevé des courbes intensité-potentiel obtenues dans des conditions stationnaires de diffusion de réactif vers une micro-électrode, puis analysé ces courbes.

Pour le choix de cette technique voltamétrique stationnaire, nous avons été amenés à abandonner la polarographie à stillation libre dans laquelle le temps de goutte varie avec le potentiel de l'électrode et la nature de la solution. Dans cette technique certaines conditions expérimentales, par le fait qu'elles se trouvent liées à la fois au produit étudié et aux propriétés électro-capillaires du mercure, nous ont en effet semblé insuffisamment définies. Il eut donc été normal, à ce stade, que nous nous adressions à une technique voltamétrique basée sur l'utilisation d'électrodes solides tournantes. Malheureusement les produits dont nous avons choisi d'étudier la réduction électrochimique dans l'eau ont des potentiels de réduction très négatifs. Les domaines de potentiel correspondant ne peuvent être facilement atteints que sur mercure. Différents types d'électrodes de mercure faisant intervenir des conditions stationnaires et bien définies de transport ont été envisagées :

- la goutte tombante de mercure,
- le jet de mercure,
- la nappe de mercure placée dans une solution régulièrement agitée,
- l'électrode tournante d'amalgame.

Une étude préliminaire de ces différents types d'électrodes de mercure nous a montré que l'électrode à amalgame ne permet pas d'atteindre des potentiels aussi négatifs (Fig. 2.1) et que la nappe ou le jet de mercure sont d'un emploi assez délicat. Enfin, l'introduction d'une commande mécanique du temps de goutte en polarographie à stillation suffit à éliminer la plupart des difficultés rencontrées avec la stillation libre. C'est donc cette dernière technique que nous avons retenue le plus généralement et dont nous présenterons en détail les caractéristiques au § 2.3.

Toutefois, au cours d'une étude préliminaire de l'étendue du domaine d'électroactivité pratique de l'eau sur différentes électrodes, une partie des comportements électrochimiques des matériaux étudiés, localisée aux potentiels les moins négatifs, s'est révélée observable sur électrode à disque de carbone vitreux. Nous avons donc utilisé cette électrode pour examiner dans quelle mesure les résultats obtenus pouvaient être considérés comme indépendants du matériau d'électrode.

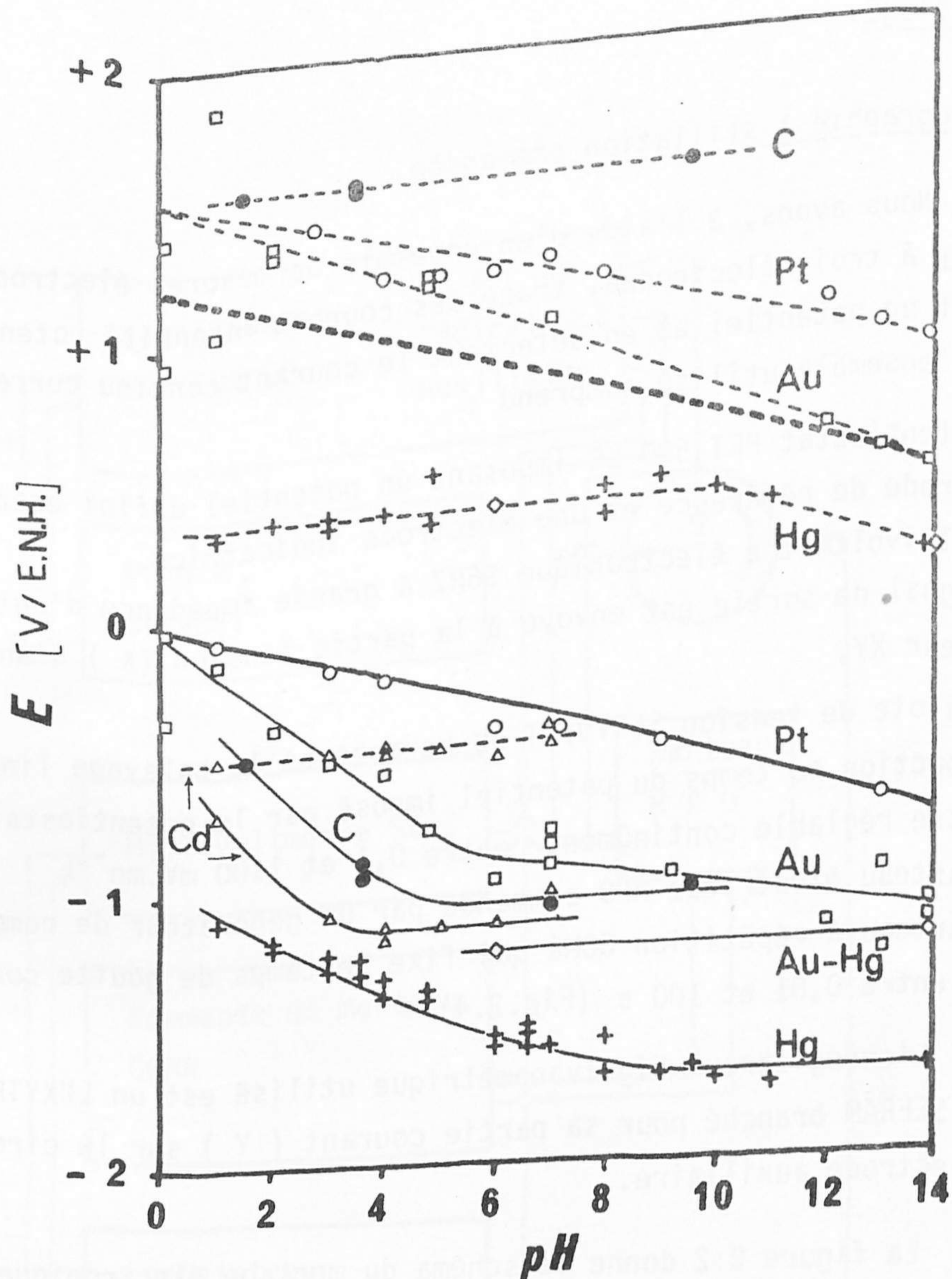


Fig. 2.1 - Domaine d'électroactivité pratique de l'eau sur les électrodes à gouttes de mercure (+) et à disques tournants de platine (○), or (□), or amalgamé (◇), carbone vitreux (●) et de cadmium (△) . Les potentiels d'oxydation et de réduction qui limitent ce domaine correspondent à des valeurs de courant, provenant du solvant ou de l'électrode, égales aux courants limites de la première vague de réduction de l'oxygène, à saturation de l'air dans l'eau, sur cette même électrode. Les potentiels indiqués dans ce diagramme proviennent essentiellement d'études personnelles. Nous avons cependant fait également figurer les potentiels publiés par ADAMS (193) relevés sur électrode de platine et d'or.

- la goutte tombante de mercure,
- le jet de mercure,
- la nappe de mercure placée dans une solution régulièrement agitée,
- l'électrode tournante d'amalgame.

Une étude préliminaire de ces différents types d'électrodes de mercure nous a montré que l'électrode à amalgame ne permet pas d'atteindre des potentiels aussi négatifs (Fig. 2.1) et que la nappe ou le jet de mercure sont d'un emploi assez délicat. Enfin, l'introduction d'une commande mécanique du temps de goutte en polarographie à stillation suffit à éliminer la plupart des difficultés rencontrées avec la stillation libre. C'est donc cette dernière technique que nous avons retenue le plus généralement et dont nous présenterons en détail les caractéristiques au § 2.3.

Toutefois, au cours d'une étude préliminaire de l'étendue du domaine d'électroactivité pratique de l'eau sur différentes électrodes, une partie des comportements électrochimiques des matériaux étudiés, localisée aux potentiels les moins négatifs, s'est révélée observable sur électrode à disque de carbone vitreux. Nous avons donc utilisé cette électrode pour examiner dans quelle mesure les résultats obtenus pouvaient être considérés comme indépendants du matériau d'électrode.

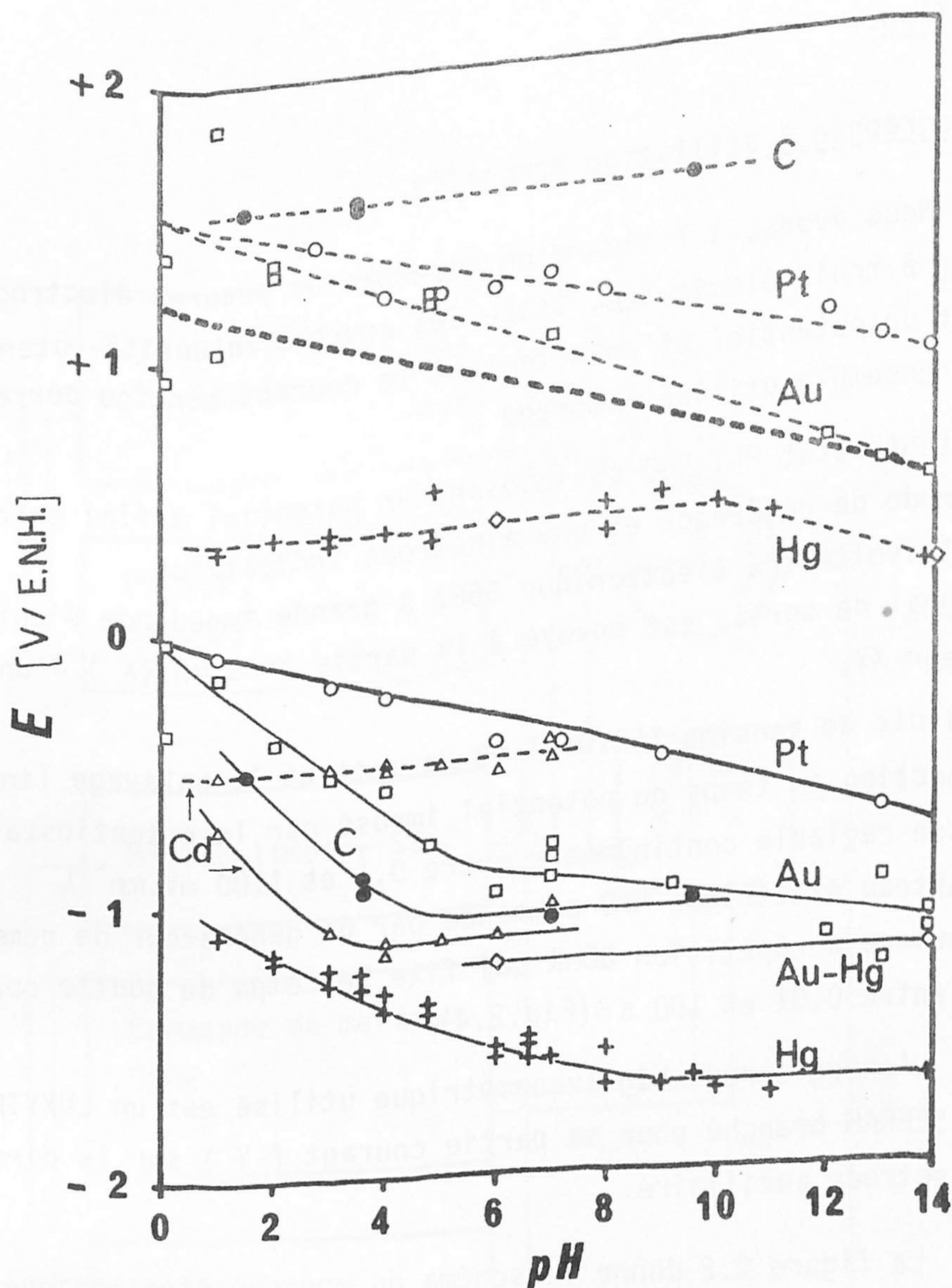


Fig. 2.1 - Domaine d'électroactivité pratique de l'eau sur les électrodes à gouttes de mercure (+) et à disques tournants de platine (○), or (□), or amalgamé (◇), carbone vitreux (●) et de cadmium (△) . Les potentiels d'oxydation et de réduction qui limitent ce domaine correspondent à des valeurs de courant, provenant du solvant ou de l'électrode, égales aux courants limites de la première vague de réduction de l'oxygène, à saturation de l'air dans l'eau, sur cette même électrode. Les potentiels indiqués dans ce diagramme proviennent essentiellement d'études personnelles. Nous avons cependant fait également figurer les potentiels publiés par ADAMS (193) relevés sur électrode de platine et d'or.

- la goutte tombante de mercure,
- le jet de mercure,
- la nappe de mercure placée dans une solution régulièrement agitée,
- l'électrode tournante d'amalgame.

Une étude préliminaire de ces différents types d'électrodes de mercure nous a montré que l'électrode à amalgame ne permet pas d'atteindre des potentiels aussi négatifs (Fig. 2.1) et que la nappe ou le jet de mercure sont d'un emploi assez délicat. Enfin, l'introduction d'une commande mécanique du temps de goutte en polarographie à stillation suffit à éliminer la plupart des difficultés rencontrées avec la stillation libre. C'est donc cette dernière technique que nous avons retenue le plus généralement et dont nous présenterons en détail les caractéristiques au § 2.3.

Toutefois, au cours d'une étude préliminaire de l'étendue du domaine d'électroactivité pratique de l'eau sur différentes électrodes, une partie des comportements électrochimiques des matériaux étudiés, localisée aux potentiels les moins négatifs, s'est révélée observable sur électrode à disque de carbone vitreux. Nous avons donc utilisé cette électrode pour examiner dans quelle mesure les résultats obtenus pouvaient être considérés comme indépendants du matériau d'électrode.

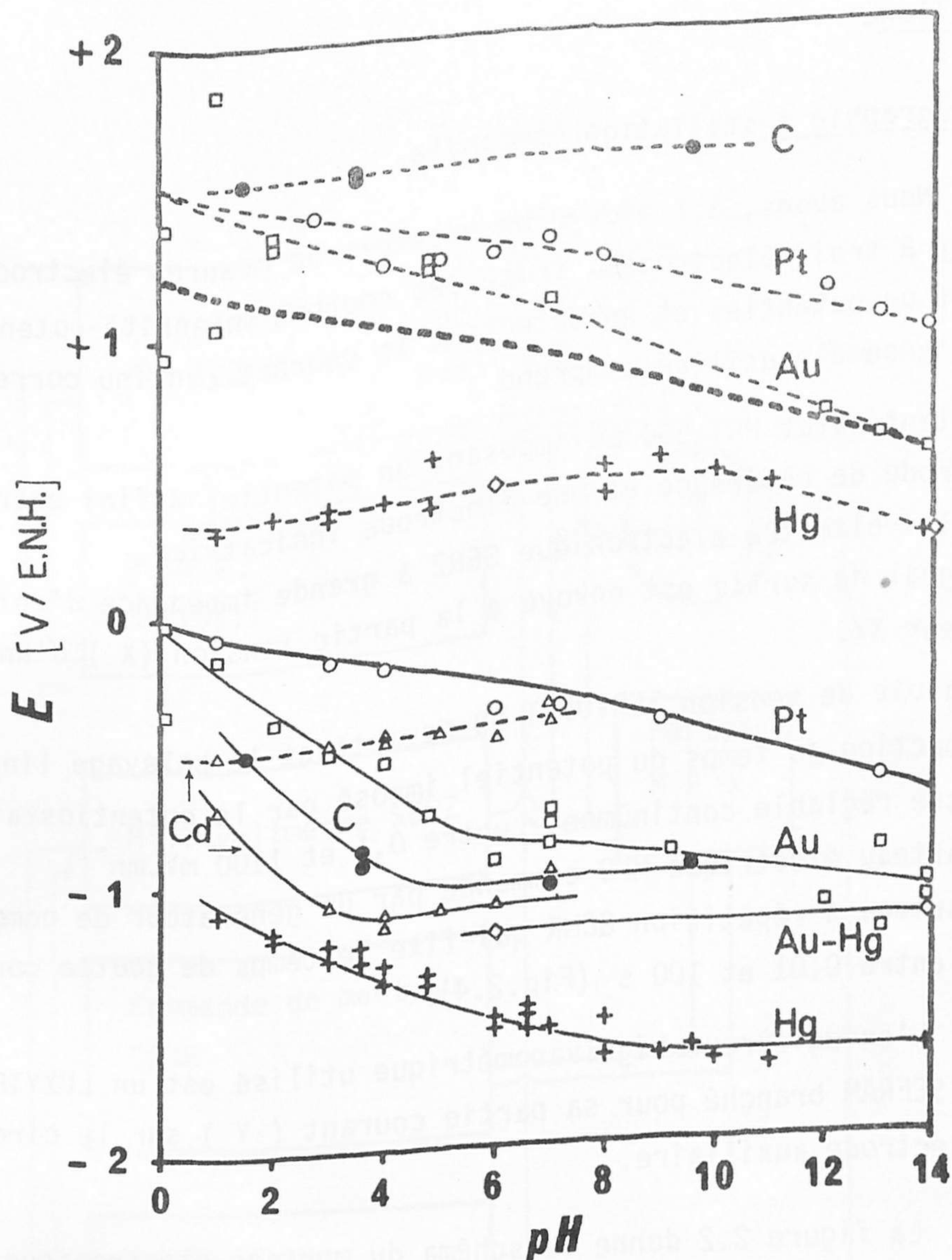


Fig. 2.1 - Domaine d'électroactivité pratique de l'eau sur les électrodes à gouttes de mercure (+) et à disques tournants de platine (○), or (□), or amalgamé (◇), carbone vitreux (●) et de cadmium (△) . Les potentiels d'oxydation et de réduction qui limitent ce domaine correspondent à des valeurs de courant, provenant du solvant ou de l'électrode, égales aux courants limites de la première vague de réduction de l'oxygène, à saturation de l'air dans l'eau, sur cette même électrode. Les potentiels indiqués dans ce diagramme proviennent essentiellement d'études personnelles. Nous avons cependant fait également figurer les potentiels publiés par ADAMS (193) relevés sur électrode de platine et d'or.

2.2 - Appareillage.

2.2.1 - Polarographie à stillation commandée.

Nous avons, à l'aide d'un ensemble de mesures électrochimiques TACUSSEL à trois électrodes, tracé des courbes intensité-potentiel en imposant un potentiel et en détectant le courant continu correspondant. L'ensemble utilisé comprend :

- un potentiostat PRT 500 LC imposant un potentiel défini entre une électrode de référence et une électrode indicatrice,
- un millivoltmètre électronique S6RZ à grande impédance d'entrée dont le signal de sortie est envoyé à la partie tension (X) d'un enregistreur XY,
- un pilote de tension SERVOVIT 9B permettant le balayage linéaire en fonction du temps du potentiel imposé par le potentiostat (vitesse réglable continûment entre 0,1 et 1100 $\text{mV} \cdot \text{mn}^{-1}$),
- un marteau électrique MPO commandé par un générateur de commande de marteau à répétition GCMR qui fixe le temps de goutte continûment entre 0,01 et 100 s (Fig.2.4).

L'enregistreur bigalvanométrique utilisé est un LUXYTRACE TR VAC SEFRAM branché pour sa partie courant (Y) sur le circuit de l'électrode auxiliaire.

La figure 2.2 donne le schéma du montage électronique utilisé. Cet ensemble expérimental permet le relevé direct de courbes intensité-potentiel avec une précision de mesure du courant de 1% et du potentiel de ± 2 mV.

2.2.2 - Voltamétrie cyclique sur goutte de mercure à stillation commandée et sur disque immobile de carbone vitreux.

L'ensemble de mesures utilisé pour la voltamétrie cyclique comprend essentiellement des appareils TACUSSEL et un oscilloscope TEKTRONIX. Il est composé de :

- un potentiostat à réponse rapide PRT 20-2X,
- un pilote de tension GSTP permettant un balayage aller et retour,

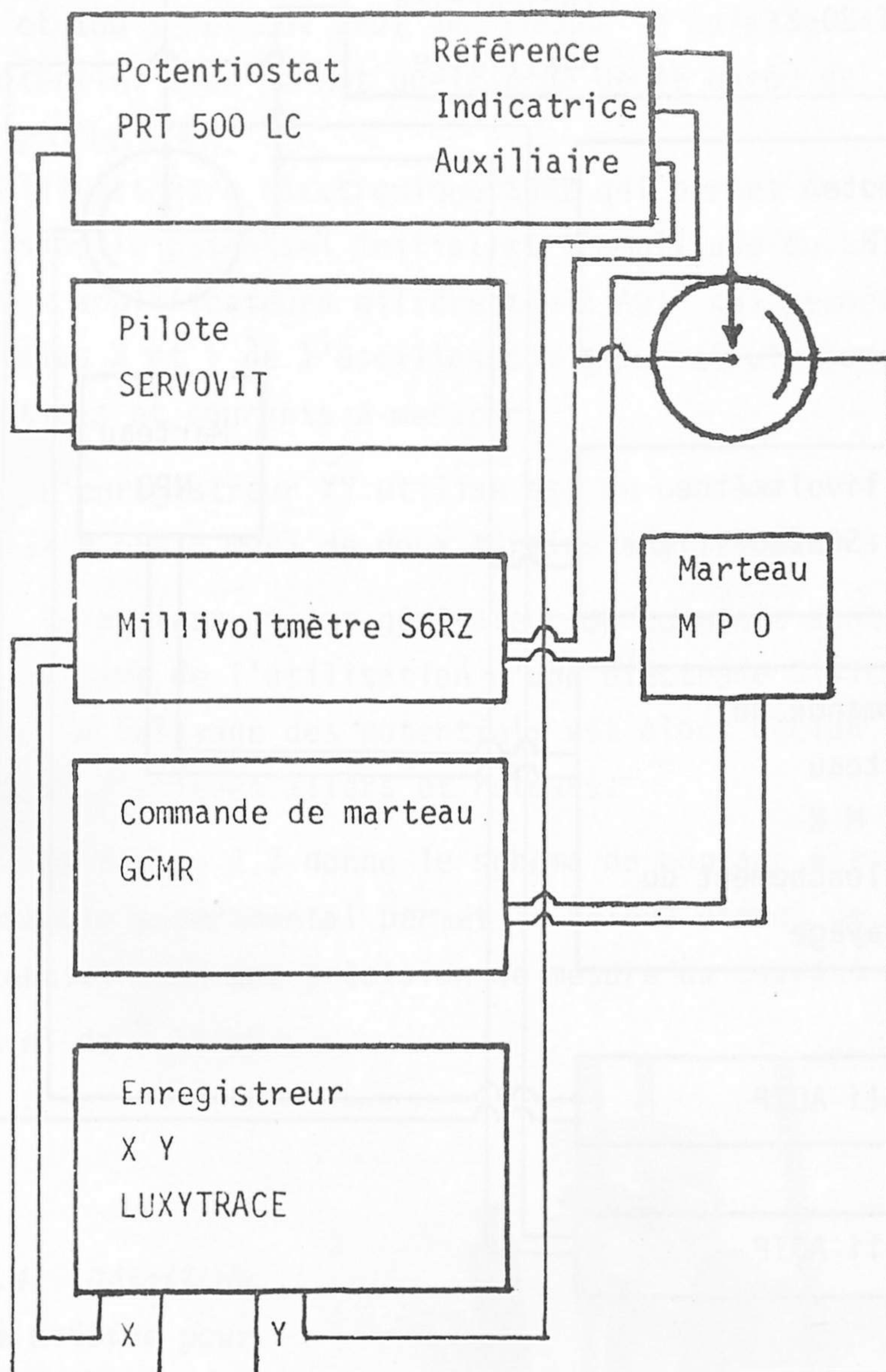


Fig. 2.1 - Schéma du montage électronique utilisé pour la polarographie à stillation commandée.

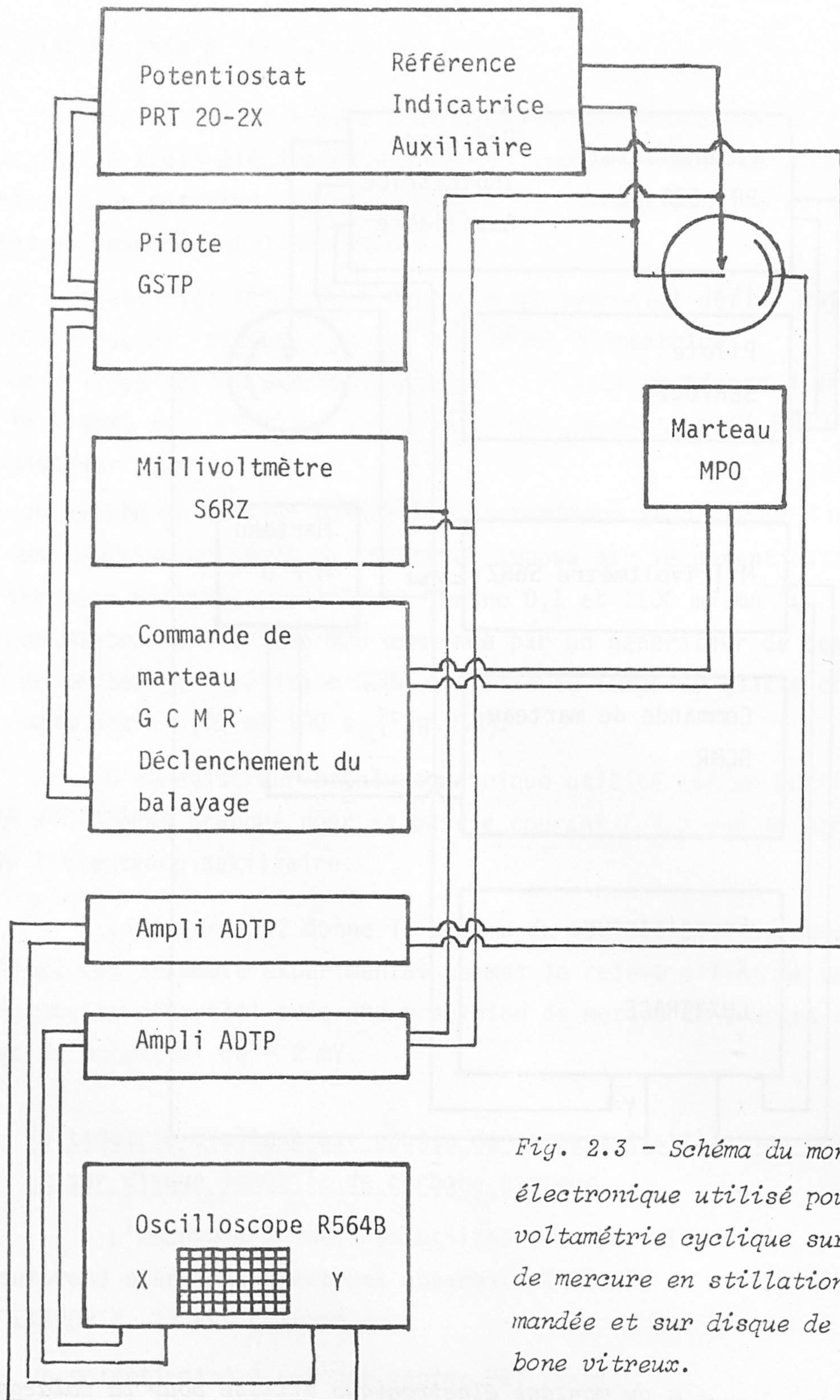


Fig. 2.3 - Schéma du montage électronique utilisé pour la voltamétrie cyclique sur goutte de mercure en stillation commandée et sur disque de carbone vitreux.

linéaire en fonction du temps, du potentiel imposé par le potentiostat,

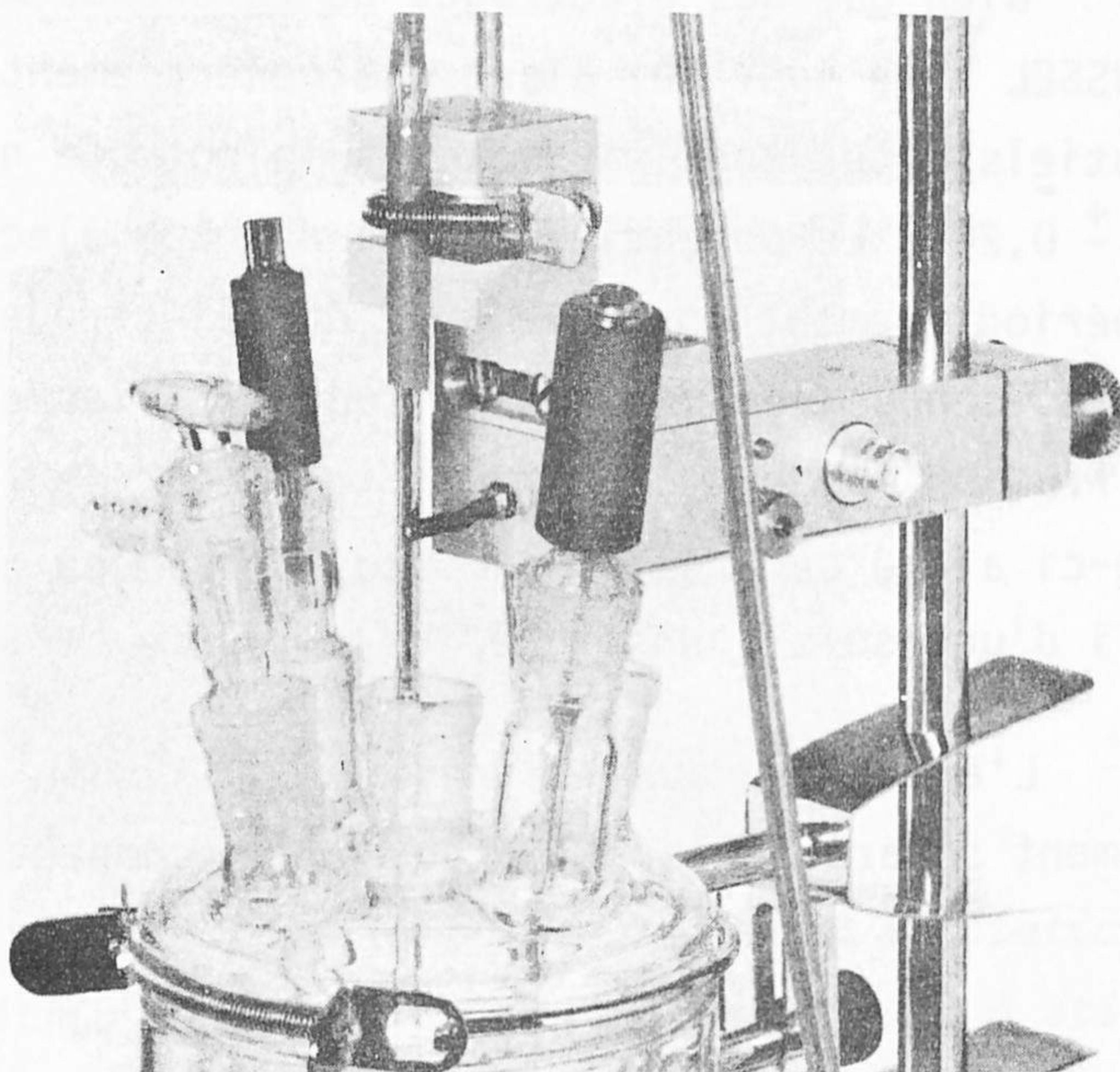
- un marteau MPO commandé par un générateur de commande de marteau à répétition GCMR qui fixe le temps de goutte continûment entre 0,01 et 100 s et qui peut déclencher le balayage aller et retour du potentiel à un moment quelconque de la durée de vie de la goutte (Fig.2.4),
- un millivoltmètre électronique S6RZ qui permet de mesurer avec précision le potentiel initial et l'amplitude du balayage,
- deux amplificateurs différentiels ADTP qui permettent de relier les voies X et Y de l'oscilloscope à la cellule, sans modifier les potentiels et courants à mesurer.

L'enregistreur XY utilisé est un oscilloscope à mémoire TEKTRONIX R 564 B muni de deux tiroirs amplificateurs.

Le marteau et son générateur de commande sont évidemment déconnectés lors de l'utilisation d'une électrode à disque de carbone vitreux. Le balayage des potentiels est alors déclenché manuellement pour un ou plusieurs allers et retours.

La figure 2.3 donne le schéma de montage électronique utilisé. Cet ensemble expérimental permet le relevé direct de courbes intensité-potentiel avec une précision de mesure du courant de 5% et du potentiel de ± 10 mV.

Fig. 2.4 - Détail du montage utilisé pour réguler le temps de goutte par le marteau TACUSSEL type M.P.O.



2.2.3 - Cellules électrochimiques et électrodes.

Les cellules utilisées pour les études polarographiques et voltamétriques sont de type classique à trois électrodes (Fig. 2.5). Elles ont suivant les modèles des volumes de travail de 50, 25 et 5 ml. Une double paroi permet, grâce à une circulation d'eau, de maintenir constante la température de la cellule. L'oxygène dissous dans les solutions est éliminé au moyen d'un barbotage d'azote de qualité R utilisé sans purification supplémentaire. Après une quinzaine de minutes de barbotage, un courant d'azote est maintenu au-dessus de la solution pendant toute la durée des expériences.

Les électrodes indicatrices sont constituées suivant la nature de l'étude :

- soit d'un capillaire à goutte de mercure, de temps de goutte libre compris entre 4 et 15 s et pour lequel on fixe mécaniquement le temps de goutte à une valeur inférieure, généralement 0,50 s. Cette régulation mécanique élimine les variations et irrégularités du temps de goutte à potentiel très négatif. Le tableau 2.I donne les caractéristiques de ces capillaires, temps de goutte libre et débit pour les hauteurs de mercure utilisées.
- soit d'un disque de carbone vitreux de 1,2 mm de diamètre.

Bien que des électrodes de référence Ag/AgCl, KCl saturé (TACUSSEL type AgCl 10) aient été généralement utilisées, tous les potentiels cités sont rapportés à l'électrode normale à hydrogène à $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$. Le potentiel fourni par les électrodes de référence est périodiquement contrôlé avec des électrodes témoins: ce potentiel est connu avec une incertitude inférieure à 1 mV. Pour limiter la diffusion d'ions gênants à l'intérieur de l'électrode de référence, celle-ci a été séparée de la solution par un compartiment fritté rempli d'une solution saturée en chlorure de potassium.

L'électrode auxiliaire est constituée d'un fil de platine également séparé de la solution par un compartiment fritté.

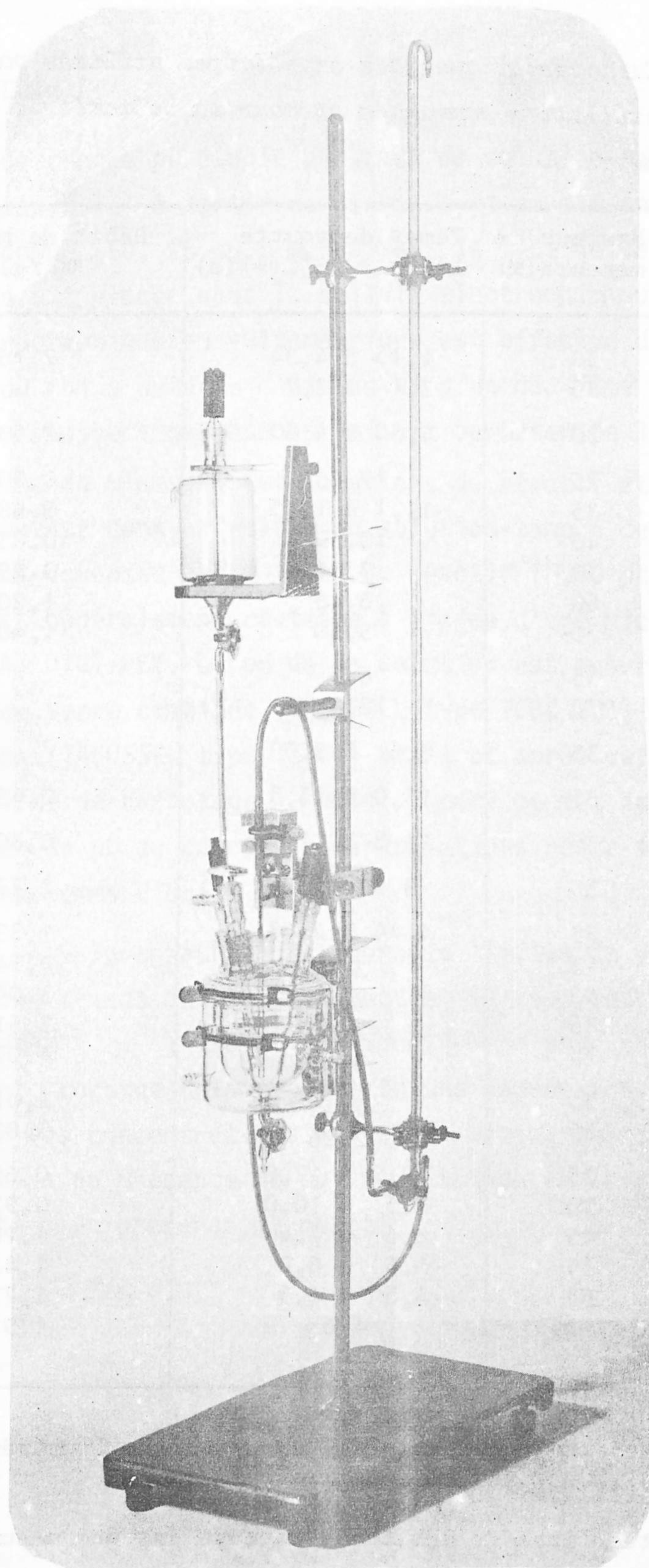


Fig. 2.5 - Ensemble utilisé pour la polarographie à stillation commandée et la voltamétrie cyclique sur goutte de mercure à stillation commandée.

Tableau 2.I - Caractéristiques des capillaires utilisés pour la polarographie à stillation commandée et pour la voltamétrie cyclique sur goutte de mercure.

N°	Longueur (cm)	Hauteur de mercure(*) (cm)	Temps de goutte libre à 25°C(+) (s)	Débit de mercure (+) (mg / s)
1	20	30	4,15 à 4,34	2,16
		55	2,1 à 2,7	
1'	20	30	4,50 à 4,60	2,50
2	30	25	17,25	0,50
		35	11,1 à 12,5	0,68
		40	10,50	0,83
		50	7,76	0,99
		60	6,48	1,20
		70	5,50	1,40
3	30	35	6,5	
		70	12,5	
4	30	35	8,6 à 9,0	
5	30	35	13,0 à 13,3	0,65
6	20	35	11,8 à 11,9	0,60
7	10	35	3,92 à 4,25	1,77
8	10	35	4,44 à 4,48	1,83 à 1,90
		45	3,50	2,54
		55	2,80	3,04
		65	2,40	3,61
		73	2,10	4,07
9	10	35	4,45	2,01
		65	2,26	3,83
10	20	25	12,0 à 12,8	0,63
		35	8,5 à 10,0	0,92
		45	6,6 à 7,4	1,18
		55	5,4 à 6,0	1,45
		65	4,8 à 4,9	1,72
		72,5	4,6	1,92

* Hauteurs de mercure, non corrigées, au-dessus de l'extrémité inférieure du capillaire.

+ Temps de goutte libre et débits de mercure ont été mesurés en circuit ouvert, le capillaire étant plongé dans de l'eau permutée.

2.4 - Mode opératoire.

Pour chaque pH étudié un stock de solution tampon est préparé (Tableau 2.II) à partir de réactifs de pureté analytique. Une quantité connue (50, 25 ou 5 ml suivant le type de cellule) de cette solution est placée dans la cellule électrochimique. Un premier tracé polarographique ou voltamétrique est effectué dans cette solution plus ou moins saturée d'air suivi d'un deuxième tracé, effectué après avoir chassé l'oxygène en faisant barboter de l'azote pendant une quinzaine de minutes. Les solutions de réactif étudié sont obtenues en ajoutant dans ce volume de solution tampon des volumes connus de solutions aqueuses concentrées de réactif (0,50 et 0,050 M). Cette addition est généralement réalisée à l'aide d'une microburette à piston MANOSTAT DIGI-PET. Le pH de la solution est mesuré avec une électrode de verre combinée (TACUSSEL type TCBC 101) et un pH-mètre électronique (TACUSSEL type TS 70) avant et après cette addition et les opérations de barbotage d'azote ; ceci permet de vérifier que la variation du pH au cours des manipulations reste inférieure à quelques centièmes d'unité de pH.

En polarographie les courants limites de vague ont été relevés sur les tracés intensité-potentiel suivant les méthodes proposées par ZUMAN (8) soit individuellement pour chaque vague, soit additivement. Lorsque cela représente une correction notable, c'est-à-dire pour les concentrations les plus faibles en réactif, le courant de fond obtenu en présence de solution tampon seule est soustrait du courant obtenu en présence de réactif.

Tableau 2.II - Composition des solutions utilisées pour assurer le transport du courant et fixer le pH.

n°	pH	Acides		Bases		Ions neutres	
		nature	conc. (M)	nature	conc. (M)	nature	conc. (M)
1	0,36 [±] 0,02	HCl	1,0				
2	0,58 [±] 0,02	HCl	0,50				
3	1,60 [±] 0,05	HO ₂ CCO ₂ H	0,10	HO ₂ CCO ₂ ⁻	0,10	K ⁺	0,10
4	1,86 [±] 0,02	H ₃ PO ₄	0,50	H ₂ PO ₄ ⁻	0,50	K ⁺	0,50
5	2,41 [±] 0,05	⁺ H ₃ NCH ₂ CO ₂ H	0,50	⁺ H ₃ NCH ₂ CO ₂ ⁻	0,50	Cl ⁻	0,50
6	2,80 [±] 0,05	ac.citrique	0,65	mono citrate	0,41	K ⁺	0,41
7	3,00 [±] 0,02	"	0,02	"	0,02	Na ⁺ Cl ⁻	0,08 0,06
8	3,56 [±] 0,02	HCO ₂ H	0,50	HCO ₂ ⁻	0,50	K ⁺	0,50
9	3,62 [±] 0,05	CH ₃ CO ₂ H	0,09	CH ₃ CO ₂ ⁻	0,01	K ⁺	0,01
10	3,70 [±] 0,05	"	0,90	"	0,10	K ⁺	0,10
11	3,72 [±] 0,05	HO ₂ CCO ₂ ⁻	0,20	⁻ O ₂ CCO ₂ ⁻	0,18	K ⁺	0,56
12	4,00 [±] 0,02	mono citrate	0,04	di citrate	0,01	Na ⁺ Cl ⁻	0,11 0,04
13	4,62 [±] 0,02	CH ₃ CO ₂ H	0,10	CH ₃ CO ₂ ⁻	0,10	K ⁺	0,10
14	4,70 [±] 0,02	"	0,20	"	0,20	K ⁺	0,20
15	4,80 [±] 0,02	"	0,50	"	0,50	K ⁺	0,50
16	5,00 [±] 0,02	di citrate	0,09			Na ⁺	0,18
17	5,01 [±] 0,02	mono phtalate	0,15	di phtalate	0,20	K ⁺	0,55
18	5,20 [±] 0,02	CH ₃ CO ₂ H	1,97	CH ₃ CO ₂ ⁻	1,97	K ⁺	1,97
19	5,78 [±] 0,02	di citrate	0,50	tri citrate	0,50	K ⁺	2,50
20	6,00 [±] 0,02	"	0,02	"	0,04	Na ⁺	0,16
21	6,62 [±] 0,02	H ₂ PO ₄ ⁻	0,25	HPO ₄ ⁻⁻	0,25	K ⁺	0,75
22	6,68 [±] 0,05	"	0,50	"	0,50	K ⁺	1,50
23	7,20 [±] 0,05	imidazole-H ⁺	0,50	imidazole	0,50	Cl ⁻	0,50
24	8,25 [±] 0,05	tris-H ⁺	0,50	tris	0,50	Cl ⁻	0,50
25	9,0 à 9,5	NH ₄ ⁺	0,50	NH ₃	0,4 à 0,5	Cl ⁻	0,50
26	9,57 [±] 0,02	H ₃ BO ₃	0,50	H ₂ BO ₃ ⁻	0,50	K ⁺	0,50
27	9,82 [±] 0,02	HCO ₃ ⁻	0,50	CO ₃ ⁻⁻	0,50	K ⁺	1,50
28	9,95 [±] 0,02	⁺ H ₃ NCH ₂ CO ₂ ⁻	0,50	H ₂ NCH ₂ CO ₂ ⁻	0,50	K ⁺	0,50

3 - Etude des caractéristiques de la polarographie à stillation commandée.

3.1 - Description de la méthode.

La polarographie, c'est-à-dire la voltamétrie sur gouttes de mercure en stillation libre, est depuis cinquante ans la méthode la plus simple et la plus couramment utilisée pour étudier la réduction électrochimique de matériaux peu oxydants (9 à 17). L'électrode à gouttes tombantes de mercure présente sur les électrodes solides tournantes et les électrodes à nappe ou à goutte pendante de mercure l'avantage certain d'un renouvellement très fréquent de sa surface. Pour que les résultats soient reproductibles, il n'est donc pas nécessaire de lui faire subir un traitement mécanique ou électrochimique préalable: seul un nettoyage fréquent du mercure et du capillaire sont indispensables (18).

Cependant la tension superficielle à la surface de séparation du mercure et de la solution, et par conséquent le temps de goutte libre, dépendent du potentiel du mercure et de la composition de la solution. C'est d'ailleurs à partir de recherches sur cette tension interfaciale qu'HEYROVSKY développa la polarographie. Cette variation du temps de goutte ainsi que les mouvements de la solution et du mercure au voisinage de la surface de l'électrode, entraînent des déformations des courbes intensité-potentiel qui peuvent être sensiblement diminuées ou même annulées par régulation mécanique du temps de goutte. La polarographie à stillation commandée permet par conséquent d'obtenir des courbes intensité-potentiel d'allure très voisine de celles tracées sur électrode solide tournante et dont l'analyse thermodynamique se trouve simplifiée.

Primitivement utilisée, vers 1950, pour synchroniser la chute de gouttes de deux capillaires, notamment en polarographie différentielle (19 à 21), la régulation mécanique du temps de goutte a été développée avec les capillaires vibrants. Dans ce cas le capillaire vibre avec une amplitude de 0,5 mm et une fréquence de 50 à 100 Hz de sorte que les gouttes formées sont très petites et s'écoulent très rapidement. Ceci élimine les oscillations du cou-

rant dans le temps et présente un autre avantage, celui de rendre possible une agitation légère de la solution sans modification du courant (22 , 23). Plus récemment, depuis 1953, de nombreux auteurs ont préconisé l'emploi d'un marteau dans tous les cas où il est nécessaire de fixer le temps de goutte à une valeur précise (24 , 25) ou de le faire varier indépendamment du débit de mercure (26 à 32) . Ils ont montré, en particulier en observant la variation du courant pendant la durée de vie d'une goutte de mercure, que cette régulation mécanique ne perturbe pas le processus électrochimique étudié.

Nous avons utilisé successivement deux types d'appareillage pour détacher les gouttes de mercure. Dans le premier modèle de conception très simple, les chocs sont provoqués par les déplacements d'un barreau de téflon dans un plan perpendiculaire au capillaire : ce barreau est écarté du capillaire par une came entraînée par un moteur à vitesse variable, puis rappelé contre le capillaire par un léger ressort en spirale. Avec le deuxième modèle de marteau le bras d'un électro-aimant vient frapper latéralement le capillaire et les caractéristiques des chocs sont améliorées puisque l'impulsion a une durée de 5 ms environ quelle que soit la fréquence des chocs. Ce marteau pour polarographie TACUSSEL type M.P.O. est alimenté par un générateur d'impulsions de fréquence réglable entre 10^{-2} et 10^2 Hz et d'intensité réglable, TACUSSEL type G.C.M.R. (Fig.2.4 et 2.5).

2.3.2 - Etude de la méthode.

Avant d'utiliser la polarographie à stillation commandée pour étudier la réduction électrochimique des hétérocycles polyconjugués azotés, nous avons procédé à la détermination précise des caractéristiques de notre ensemble expérimental. En suivant l'exemple d'expériences menées par WOLF et coll. (27 , 29) sur un appareillage semblable (stand polarographique METROHM E 354), nous avons relevé l'influence sur les potentiels et hauteurs de vague des facteurs expérimentaux suivants :

- temps de goutte imposé, la hauteur de mercure donc le débit de mercure étant maintenus constants,
- débit de mercure, le temps de goutte étant maintenu constant.

Pour que les résultats obtenus présentent un caractère général et puissent être utilisés comme éléments de référence, nous avons utilisé dans cette étude préalable des solutions aqueuses de Tl^+ et Cd^{++} . Ces cations sont en effet fréquemment utilisés lorsque l'on désire une réduction électrochimique qui soit rapide même sur mercure, et une hauteur de vague qui soit limitée par la diffusion de réactif vers l'électrode.

a - Influence du temps de goutte et du débit de mercure sur $E_{1/2}$.

En accord avec les prévisions théoriques, nous avons observé, dans ces cas de réduction électrochimique rapide, que les potentiels de demi-vague ne dépendent ni du temps de goutte imposé (Fig. 2.6), ni du débit de mercure (Fig. 2.8).

b - Influence du temps de goutte imposé sur la hauteur de vague.

La hauteur des vagues correspondant à une réaction électrochimique rapide, dépend exponentiellement du temps de goutte imposé lorsque la hauteur de la colonne de mercure, donc le débit de mercure, sont maintenus constants.

D'après ILKOVIČ, en utilisant l'approximation d'une diffusion plane, la hauteur de vague est reliée au temps de goutte par:

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = 1/6$$

En tenant compte de la diffusion sphérique du modèle de KOUTECKY, on a :

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = 1/6 + 5,7 m^{-1/3} \cdot \tau^{1/6} \cdot D^{1/2}$$

ce qui donne comme valeurs limites $0,18_4$ et $0,19_2$

lorsque pour un débit de mercure $m = 1 \text{ mg/s}$

et un coefficient de diffusion $D = 2,00 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ (cas de

Tl^+ (34)), on fait varier le temps de goutte τ entre 0,1 et 1 s.

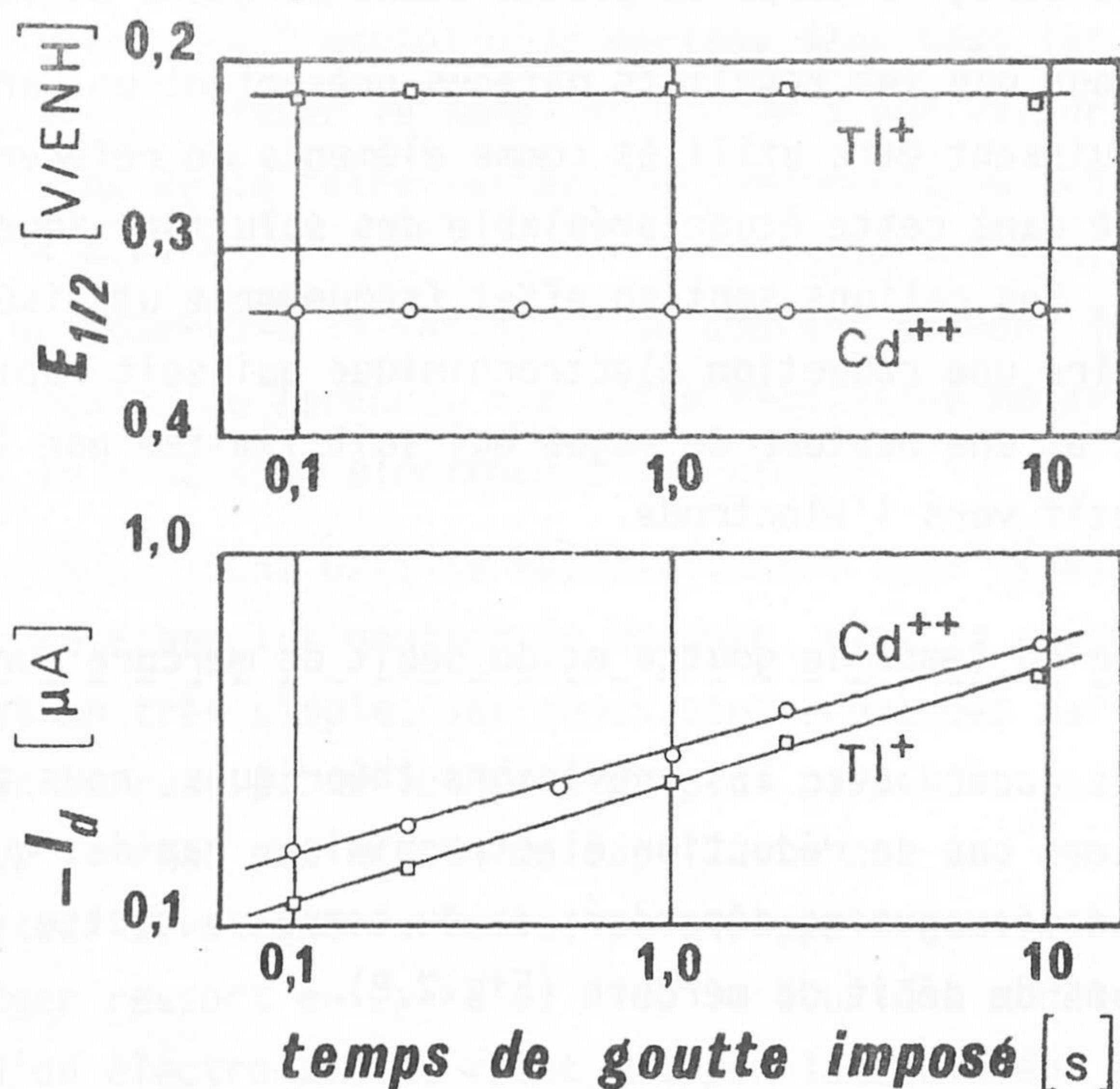


Fig. 2.6 et 2.7 - Influence de la fréquence de chute des gouttes de mercure sur la réduction de solution 10^{-4} M en Tl^+ et Cd^{++} par polarographie à stillation commandée : Tl^+ dans une solution d'acide chlorhydrique 0,02 M (\square) et Cd^{++} dans une solution d'acide nitrique 0,01 M (\circ). La hauteur de mercure est maintenue constante (35 cm) au-dessus du capillaire n°10.

Fig. 2.6 - Relation entre les potentiels de demi-vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

Fig. 2.7 - Relation entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

Pour déterminer expérimentalement la relation entre courant limite et temps de goutte imposé, nous avons utilisé un grand nombre de conditions expérimentales différentes (capillaires de longueur comprise entre 10 et 30 cm, hauteurs de mercure comprises entre 35 et 72,5 cm), et pour chaque ensemble de conditions fait varier le temps de goutte imposé entre 0,1 et 11 s. Nous avons ensuite porté comme dans la figure 2.7 $\log(-i_{lim})$ en fonction de $\log \tau$. Les diagrammes obtenus présentent les caractéristiques communes suivantes :

- avec l'enregistreur bigalvanométrique utilisé, seul le courant cathodique correspondant au maximum des oscillations est proportionnel à une puissance constante du temps de goutte imposé,
- pour une même solution, un même capillaire et une même hauteur de mercure, les points correspondant à des valeurs du courant limite obtenues en stillation libre sont alignés avec ceux obtenus en stillation commandée,
- les pentes de variation de $\log(-i_{lim})$ en fonction $\log \tau$ sont, suivant les conditions expérimentales, comprises entre 0,19 et 0,36. Dans le tableau 2.III nous avons fait figurer les valeurs numériques de ces pentes $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau$. Elles sont toujours supérieures aux valeurs théoriques rappelées précédemment et diminuent lorsque la concentration de réactif passe de 10^{-4} à $5 \cdot 10^{-4}$ M. Cette dernière observation permet de rattacher nos résultats à ceux obtenus précédemment avec des solutions environ 10^{-3} M en Cd^{++} (20, 29).

Enfin, nous pouvons considérer que, pour une vague correspondant à un transfert électronique rapide, i_{lim} est proportionnel à $[\tau]^{0,25 \pm 0,06}$ lorsque τ varie entre 0,1 et 11 s.

c - Influence du débit de mercure sur la hauteur de vague.

La hauteur des vagues correspondant à une réaction électrochimique rapide, dépend exponentiellement du débit de mercure ou de la hauteur corrigée de la colonne de mercure, lorsque le temps de goutte est maintenu constant. Le débit et la hauteur de mercure sont

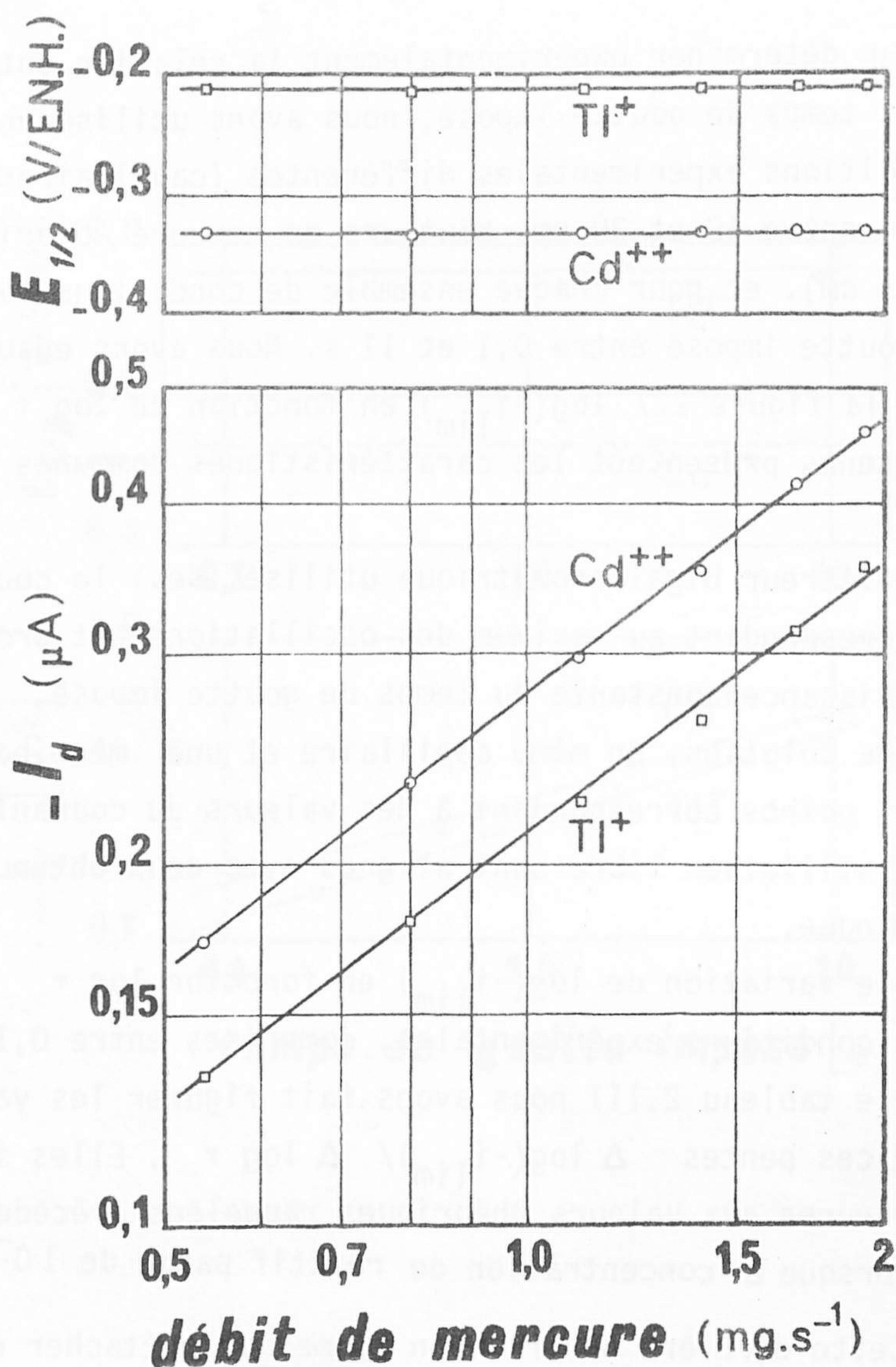


Fig. 2.8 et 2.9 - Influence du débit de mercure sur la réduction de solutions 10^{-4} M en Tl^+ et Cd^{++} par polarographie à stillation commandée : Tl^+ dans une solution d'acide chlorhydrique 0,02 M (□) et Cd^{++} dans une solution d'acide nitrique 0,01 M (○). La hauteur de mercure varie entre 25 et 72,5 cm au-dessus du capillaire n°10, le temps de goutte étant fixé à 0,50 s.

Fig. 2.8 - Relation entre les potentiels de demi-vague et le logarithme du débit de mercure .

Fig. 2.9 - Relation entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme du débit de mercure.

Tableau 2.III - Polarographie à stillation commandée : Influence du temps de goutte imposé sur le courant de diffusion.

Réactif	Capillaire		Variation de i_d avec τ à m et h constants					
	conc. (M)	milieu (M)	n°	long. (cm)	τ (s)	m (mg/s)	h (cm)	$\frac{\Delta \log(i_d)_{\max}}{\Delta \log \tau}$
Tl ⁺	10 ⁻⁴	HCl 0,02	10	20	0,1 à 9,3	0,84	35	0,32 ± 0,01
			2	30	0,1 à 11,3	0,68	35	0,36 ± 0,02
Tl ⁺	5.10 ⁻⁴	HCl 0,1	8	10	0,2 à 4,6	1,90	35	0,23 ± 0,02
			10	20	0,1 à 2	1,90	72,5	0,19 ± 0,02
					0,1 à 2	1,42	55	0,21 ± 0,03
					0,1 à 2	0,85	35	0,24 ± 0,03
Cd ⁺⁺	10 ⁻⁴	HNO ₃ 0,01	10	20	0,1 à 9,3	0,85	35	0,28 ± 0,01
			2	30	0,1 à 11,3	0,68	35	0,30 ± 0,01
Cd ⁺⁺	1,6.10 ⁻³	LiClO ₄ 0,99 HClO ₄ 0,01			0,18 à 5,5	1,0 ₈ à 1,1 ₈	60	0,147 (*)
					0,18 à 5,0	1,3 ₁ à 1,3 ₉	70	0,167
					0,18 à 4,5	1,5 ₂ à 1,6 ₀	80	0,182
					0,18 à 4	1,7 ₃ à 1,8 ₂	90	0,193
Cd ⁺⁺	env. 10 ⁻³	KCl 0,5		11	0,75 à 3,9			0,19 ± 0,01 (**)

(*) Référence 29

(**) Référence 20

proportionnels si l'on soustrait à la hauteur réelle de mercure un terme de contre pression :

$$\Delta h = \frac{3,1}{m^{1/3} \tau^{1/3}}$$

Δh étant exprimé en cm

m , le débit de mercure, en mg/s

τ , le temps de goutte, en s.

D'après ILKOVIČ, la hauteur de vague est reliée au débit de mercure m par l'expression :

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log m = 2/3$$

En tenant compte de la diffusion sphérique du modèle de KOUTECKY, on a :

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log m = 2/3 - 11,3 \cdot m^{-1/3} \cdot \tau^{1/6} \cdot D^{1/2}$$

ce qui donne les valeurs limites 0,61₀ et 0,63₁ lorsque pour un temps de goutte impose $\tau = 0,5$ s et un coefficient de diffusion $D = 2,00 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ (cas de Tl^+), on fait varier le débit entre 0,5 et 2,0 mg/s.

Pour déterminer expérimentalement la relation entre hauteur de vague et débit de mercure nous avons maintenu le temps de goutte à 0,5 s et fait varier la hauteur de mercure entre 35 et 72,5 cm pour différents capillaires. Nous avons ensuite porté, comme dans la figure 2.9, $\log(-i_{lim})$ en fonction de $\log m$. Les diagrammes obtenus montrent que la hauteur de vague est, pour ce temps de goutte imposé de 0,5 s, proportionnel à une puissance constante du débit de mercure ou de la hauteur corrigée de mercure. Cette puissance, égale à $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log m$ et à $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log h_c$, est comprise entre 0,80 et 0,90 pour tous les capillaires utilisés (Tableau 2.IV) et est donc bien supérieure aux valeurs théoriques rappelées précédemment.

Nous pouvons finalement considérer que, pour une vague correspondant à un transfert électronique rapide, i_{lim} est proportionnel à $m^{0,85 \pm 0,05}$ lorsque, pour un temps de goutte imposé de 0,5 s, le débit m de mercure varie entre 0,5 et 2,0 mg/s.

Tableau 2.IV - Polarographie à stillation commandée : Influence sur le courant de diffusion du débit de mercure à temps de goutte constant.

Réactif	Capillaire		Variation de i_d avec m ou $h_{\text{corrigé}}$ à $\tau_{\text{imposé}}$ constant				
	conc. (M)	milieu (M)	n°	long (cm)	τ_{imp} (s)	m (mg.s ⁻¹)	$\frac{\Delta \log i_d}{\Delta \log m} = \frac{\Delta \log i_d}{\Delta \log h_c}$
Tl ⁺	10 ⁻⁴	HCl 0,02	10	20	0,5	0,65 à 1,9	0,88 ± 0,02
			2	30	0,5	0,50 à 1,5	0,84 ± 0,02
Tl ⁺	5.10 ⁻⁴	HCl 0,1	10	20	0,5	0,9 à 2,0	0,85 ± 0,03
Cd ⁺⁺	10 ⁻⁴	HNO ₃ 0,01	10	20	0,5	0,65 à 1,9	0,90 ± 0,01
			2	30	0,5	0,50 à 1,5	0,80 ± 0,03
Cd ⁺⁺	env. 10 ⁻³	KCl 0,5		11	3,0 ₅	0,7 à 1,4	0,71 ± 0,01 (*)

(*) Référence 20

2.3.3 - Ajustement des paramètres expérimentaux.

Pour déterminer les conditions optimales d'utilisation de la polarographie à stillation commandée nous avons étudié l'influence de quelques paramètres secondaires intervenant dans la méthode.

L'augmentation de la hauteur de mercure, pour un capillaire donné, fait diminuer la période de stillation en circuit ouvert; si l'on désire contrôler effectivement cette stillation avec le marteau, il faut avoir une période en circuit ouvert beaucoup plus longue que celle imposée.

D'autre part, la reproductibilité des courbes intensité-potentiel semble moins bonne lorsque la période imposée devient inférieure à environ 0,05 s. Ces deux facteurs intervenant simultanément pour déterminer la qualité de tracé du polarogramme, nous avons obtenu des résultats très satisfaisants en fixant la période de stillation libre à une valeur comprise entre 3 et 12,5 s suivant les capillaires et en fixant généralement la période du marteau à 0,50 s.

Du fait de la très courte durée de vie des gouttes de mercure, la polarographie à stillation commandée permet des vitesses de balayage de potentiel relativement importantes sans altération de la forme, ni de la hauteur des vagues de réduction : c'est ainsi que cette méthode est parfois appelée polarographie rapide (26). Avec l'enregistreur galvanométrique utilisé nous avons observé des tracés superposables à 2 mV près, avec des vitesses de balayage comprises entre 5 et 500 mV.mn^{-1} . Par suite tous nos tracés ont été effectués à 250 mV.mn^{-1} .

Dans les conditions du tracé de nos polarogrammes, c'est-à-dire avec l'enregistreur bigalvanométrique et le temps de goutte imposé à 0,5 s, l'écart entre courant maximum et minimum, à un potentiel donné, reste généralement inférieur à environ 5%. Il n'est donc pas nécessaire, lors de la mesure des hauteurs de vague, de faire la distinction entre les valeurs obtenues en utilisant le maximum ou le minimum des oscillations du courant.

Afin d'obtenir des conditions de stillation reproductibles

les capillaires ont été nettoyés avant chaque série de mesures (18).

Le nettoyage de l'intérieur du capillaire comprend :

- une aspiration par trompe à eau d'acide nitrique concentré pendant environ une heure,
- une aspiration d'eau distillée pendant quinze minutes,
- une aspiration d'air pendant quinze minutes.

Le nettoyage de l'extérieur du capillaire est effectué successivement pour chaque extrémité et comprend :

- un passage d'azote à travers le capillaire,
- une immersion de son extrémité dans du mélange sulfochromique (H_2SO_4 concentré et $K_2Cr_2O_7$ à saturation) pendant quinze minutes,
- un lavage et une immersion dans l'eau distillée pendant quinze minutes,
- un séchage à l'air.

Afin de fournir des éléments permettant de comparer quantitativement nos résultats polarographiques à ceux qui ont été auparavant publiés, nous présentons dans le tableau 2.I les caractéristiques des capillaires que nous avons utilisés.

2.4 - Reactifs.

Nous avons employé pour préparer les solutions tampons des réactifs de pureté analytique. Les concentrations des espèces tamponnant le pH sont au moins cinquante fois plus élevées que celle du réactif étudié : le plus souvent les concentrations des formes acides et basiques sont prises toutes deux égales à 0,5 M. La liste et composition des tampons utilisés est fournie dans le tableau 2.II.

L'iodure de N₁ méthyl nicotinamide (SIGMA et K. and K.), la nicotinamide (FLUKA et MERCK) et la pyrimidine (FLUKA, MANN, ALDRICH et SCHUCHARDT) étaient tous de pureté analytique. Leur comportement polarographique n'a indiqué la présence d'aucune trace d'impureté électroactive.

Le mercure utilisé comme matériau d'électrode indicatrice est nettoyé très soigneusement peu de temps avant son emploi. Ce nettoyage comprend :

- une filtration sur papier filtre,
- un dégraissage en continu par le benzène ou l'éther de pétrole et rinçage à l'alcool et l'eau,
- un lavage en continu à HNO₃ 5 à 10% et rinçage à l'eau distillée,
- une première distillation sous vide,
- une deuxième distillation sous vide plus poussé (pompe à diffusion de mercure).

Le mercure est enfin conservé sous azote dans l'appareillage et nettoyé à nouveau dès l'apparition de traces d'impuretés à sa surface.

CHAPITRE TROIS

ELECTROCHIMIE du NICOTINAMIDE - ADENINE - DINUCLEOTIDE

et de COMPOSES MODELES

3.1 - Analyse critique des données antérieures

Les coenzymes pyridiniques c'est-à-dire le nicotinamide - mononucléotide (NMN^+), le nicotinamide-adénine - dinucléotide (NAD^+) et le nicotinamide - adénine - dinucléotide phosphate (NADP^+) (Fig. 3.1) ainsi que plusieurs autres dérivés pyridiniques, jouent un rôle primordial dans les réactions d'oxydo-réduction biologiques. Pour cette raison de nombreuses

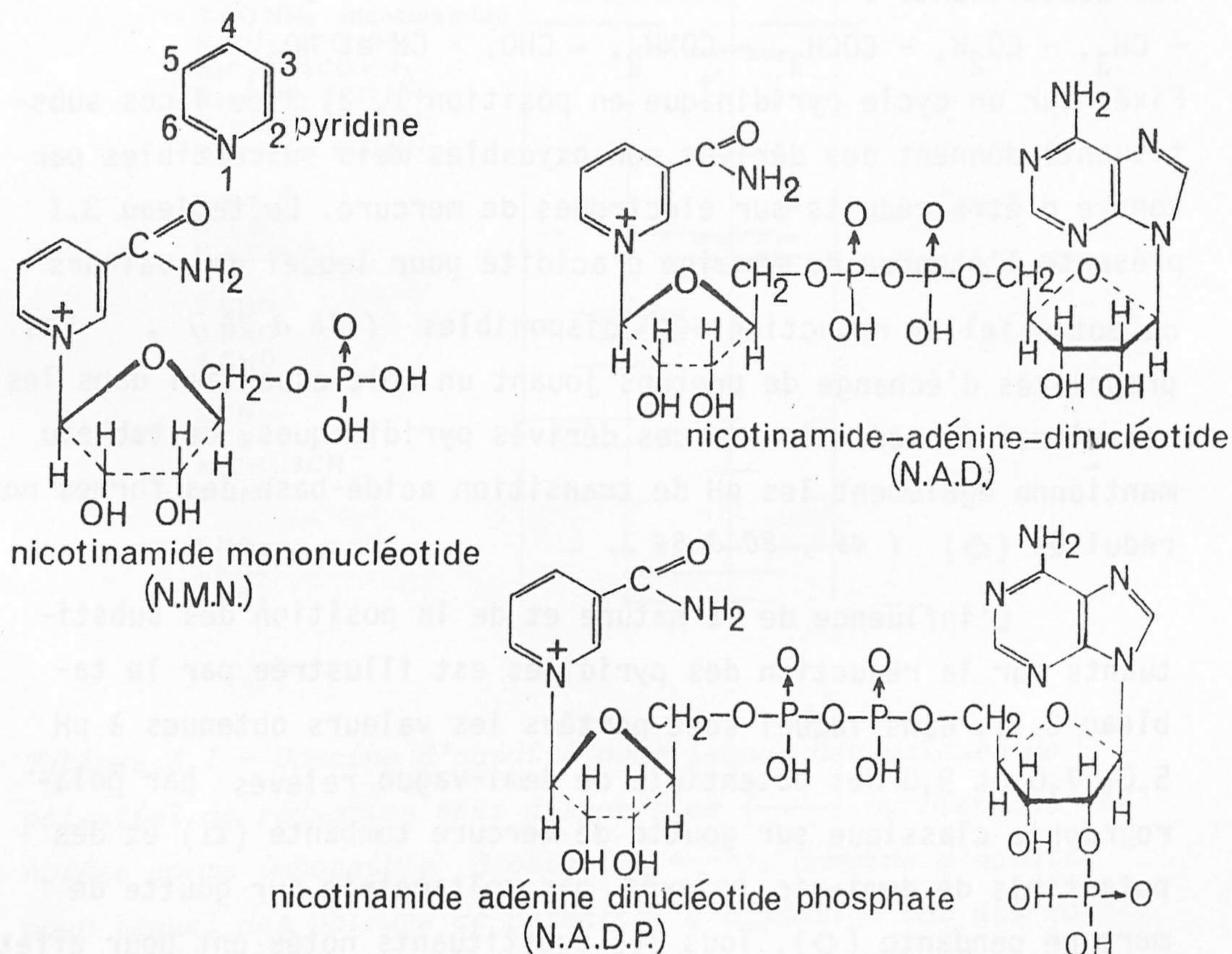


Fig. 3.1 - Formules des nucléotides pyridiniques.

données relatives aux propriétés chimiques et électrochimiques des pyridines en solution aqueuse ont déjà été réunies. Dans l'étude critique, des données disponibles relatives à ces matériaux d'intérêt biologique, que nous développons ci-après, nous prendrons soin de préciser en premier lieu comment les propriétés électrochimiques de ces matériaux se situent parmi celles de l'ensemble des pyridines. Dans une deuxième étape nous examinerons plus en détail les propriétés des pyridines biologiques qui jouent un rôle essentiel dans les réactions d'oxydo-réduction.

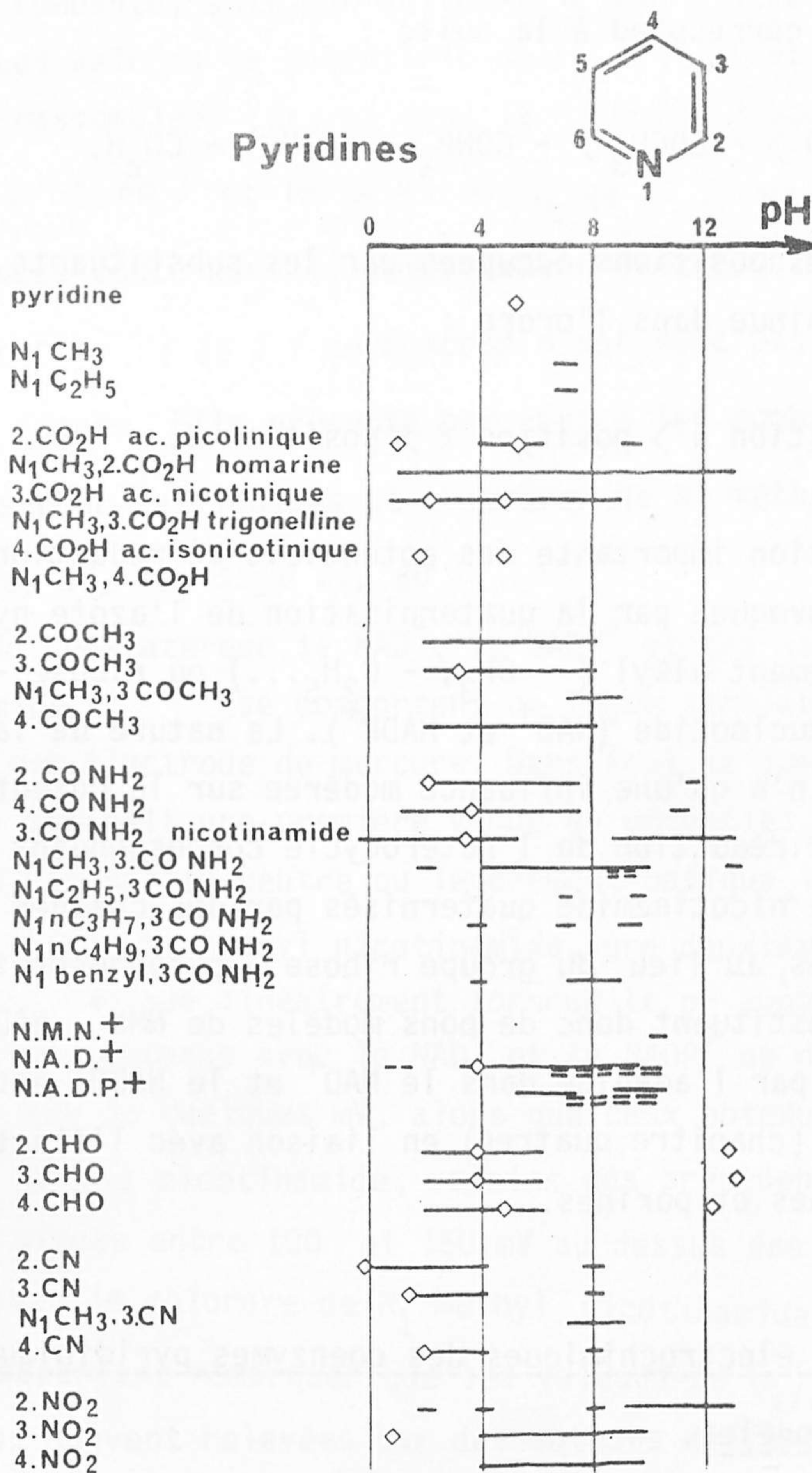
3.1.1 - Propriétés électrochimiques comparées des pyridines substituées.

Les pyridines substituées pour lesquelles on dispose du plus grand nombre de données électrochimiques font intervenir les substituants :

- CH_3 , - CO_2H , - COCH_3 , - CONH_2 , - CHO , - CN et NO_2 .

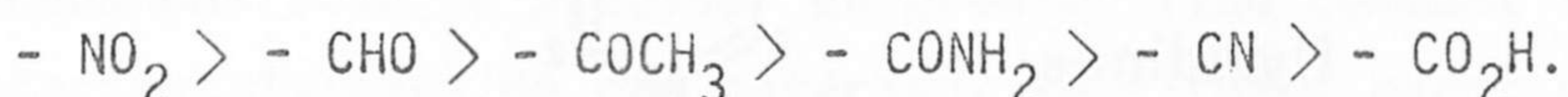
Fixés sur un cycle pyridinique en position 1, 2, 3 ou 4 ces substituants donnent des dérivés non oxydables mais susceptibles par contre d'être réduits sur électrodes de mercure. Le tableau 3.I présente l'étendue du domaine d'acidité pour lequel des valeurs de potentiel de réduction sont disponibles (35 à 79). Les propriétés d'échange de protons jouant un rôle essentiel dans les mécanismes de réduction de ces dérivés pyridiniques, ce tableau mentionne également les pH de transition acide-base des formes non réduites (\diamond) (48 , 80 à 84).

L'influence de la nature et de la position des substituants sur la réduction des pyridines est illustrée par le tableau 3.II, dans lequel sont portées les valeurs obtenues à pH 5,0, 7,0 et 9,0 des potentiels de demi-vague relevés par polarographie classique sur goutte de mercure tombante (\square) et des potentiels de demi-pic relevés par voltamétrie sur goutte de mercure pendante (\diamond). Tous les substituants notés ont pour effet de rendre moins négatif le potentiel de réduction de la pyridine.



- Tableau 3.I - Domaine d'acidité pour lequel des valeurs de potentiel de réduction sont disponibles (—) ou bien ont été notées comme impossible à obtenir (----). Domaine d'acidité pour lequel des valeurs de potentiel d'oxydation ont été notées comme impossible à obtenir (====). Valeurs des pK_a de ces composés en solution aqueuse à la température ambiante (\diamond).

Celui-ci est mal défini, voisin du mur de réduction des protons (61 à 66) . L'ordre d'influence décroissante des substituants correspond à la suite :



En général les positions occupées par les substituants ont un effet qui diminue dans l'ordre :

position 4 > position 2 > position 3.

Une augmentation importante des potentiels de réduction est également provoquée par la quaternisation de l'azote pyridinique par un groupement alkyl (- CH₃, - C₂H₅...) ou ribose - phosphate - nucléotide (NAD⁺ et NADP⁺). La nature de la chaîne fixée sur N₁ n'a qu'une influence modérée sur le potentiel de demi-vague de réduction de l'hétérocycle correspondant : les dérivés de la nicotinamide quaternisés par des chaînes aliphatiques simples, au lieu du groupe ribose - pyrophosphate - adénosine, constituent donc de bons modèles de NMN⁺, NAD⁺ et NADP⁺. Le rôle joué par l'adénine dans le NAD⁺ et le NADP⁺ est analysé par ailleurs (chapitre quatre) en liaison avec l'électrochimie des pyrimidines et purines.

3.1.2 - Propriétés électrochimiques des coenzymes pyridiniques et de leurs composés modèles.

3.1.2.1 - Réduction électrochimique

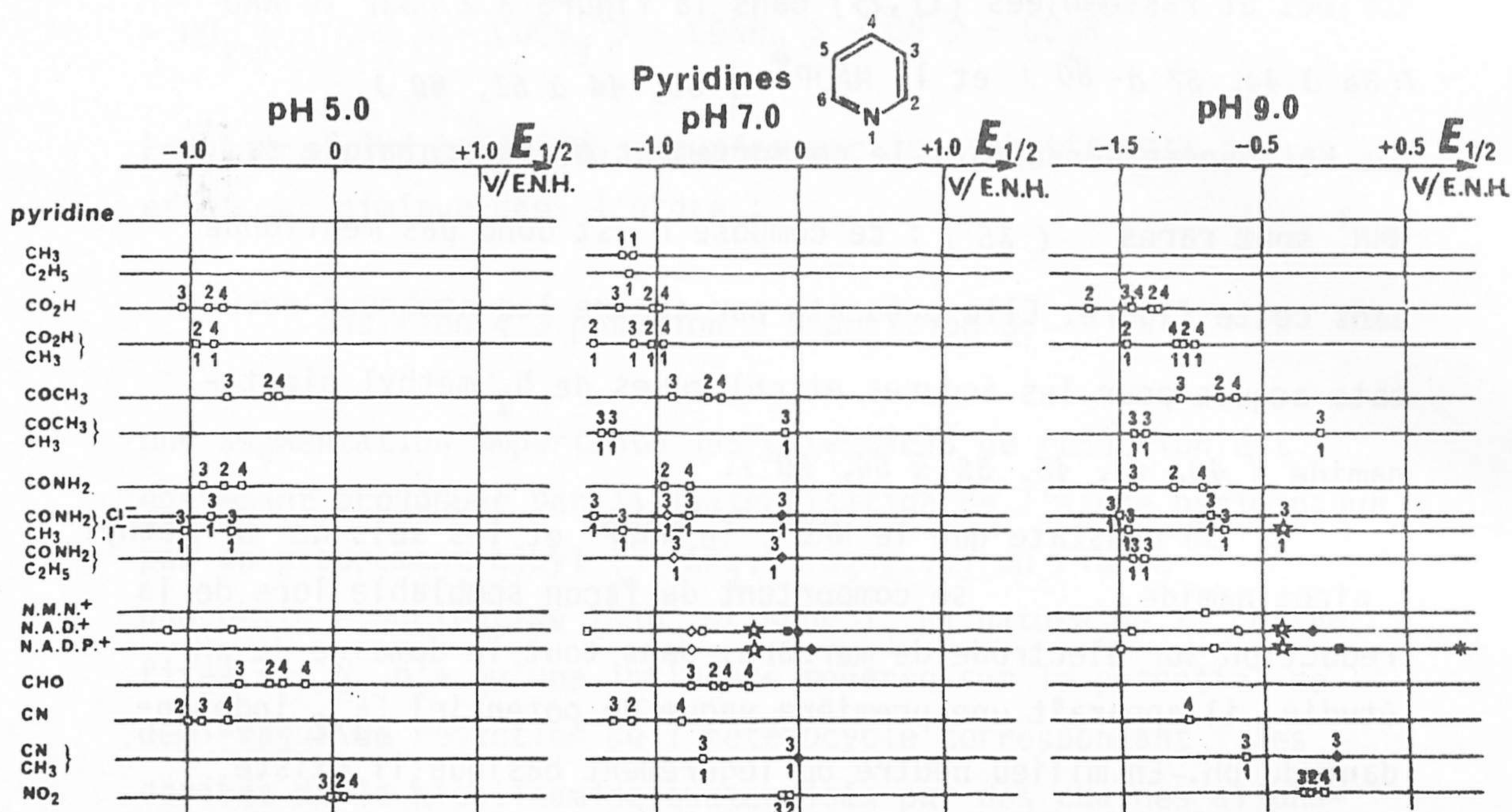
Un grand nombre de travaux ont été effectués, surtout depuis 1955, sur la réduction électrochimique des nucléotides pyridiniques et de leurs composés modèles ; ils ont porté essentiellement sur le NAD⁺ et les sels de N₁ méthyl pyridinium. Ainsi que l'illustre le tableau 3.II, les potentiels de réductions sont assez négatifs et le plus souvent situés en dessous du potentiel de réduc-

tion théorique de l'eau Ces études ont, par conséquent, été effectuées sur électrode de mercure, soit par polarographie classique sur goutte de mercure tombante, soit par voltamétrie sur goutte de mercure pendante. Les valeurs de potentiels de réduction ont été répertoriées et rassemblées (\square, \diamond) dans la figure 3.2 pour le NAD^+ (35 à 44, 57 à 60) et le NADP^+ (35, 44 à 51, 60).

Les références concernant le comportement électrochimique du NMN^+ sont rares (35) : ce composé n'est donc pas mentionné dans cette figure. Elle présente par contre les nombreux résultats acquis pour les iodures et chlorures de N_1 méthyl nicotinamide (40, 44, 48, 52 à 54, 60).

On constate que le NAD^+ , le NADP^+ et les sels de N_1 méthyl nicotinamide se comportent de façon semblable lors de la réduction sur électrode de mercure. Dans tout le domaine de pH étudié, il apparaît une première vague de potentiel $E_{1/2}$ indépendante du pH. En milieu neutre ou légèrement basique, il existe, pour les sels de N_1 méthyl nicotinamide, une deuxième vague dont le potentiel diminue linéairement lorsque le pH augmente. Les potentiels obtenus avec le NAD^+ et le NADP^+ ne diffèrent à un même pH que de quelques mV, alors que ceux obtenus avec l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide, voisins des précédents, sont généralement situés entre 100 et 150 mV au dessus des potentiels obtenus avec le chlorure de N_1 méthyl nicotinamide

Il faut cependant remarquer que les valeurs de $E_{1/2}$ ont été le plus souvent relevées par des auteurs différents pour l'iodure (40, 56) et le chlorure de N_1 méthyl nicotinamide (44, 52). Par contre, un même auteur a étudié les trois halogénures de N_1 méthyl nicotinamide et a constaté que les valeurs relevées des potentiels de demi-vague ne diffèrent pas de plus de 5 mV (55). Si le substituant méthyl fixé sur l'azote de l'hétérocycle est remplacé par les substituants éthyl, n propyl, n butyl ou benzyl, les potentiels, à un même pH, varient de moins de 50 mV (40, 41, 44, 48). L'étude spectrophotométrique et

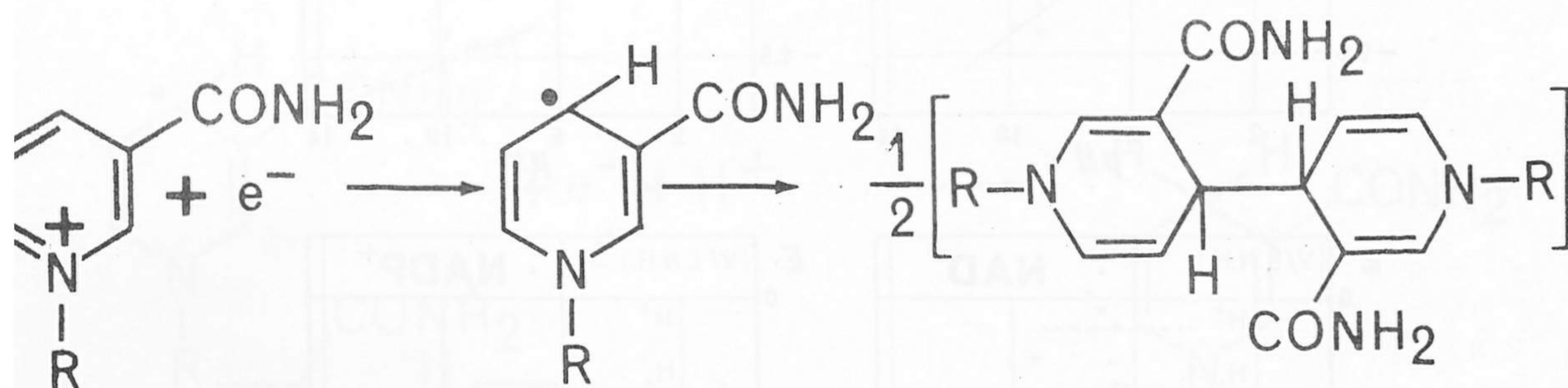


- Tableau 3.II - Potentiels électrochimiques des dérivés de la pyridine en solution aqueuse à la température ambiante : effet de la nature et de la position des substituants les plus simples à pH 5,0, 7,0 et 9,0.

Potentiels de réduction relevés par polarographie classique (\square) et par voltamétrie sur goutte de mercure pendante (\diamond). Potentiels de réoxydation des composés réduits relevés par polarographie classique (\blacksquare) et par voltamétrie cyclique sur goutte de mercure pendante (\blacklozenge) et sur disque de platine (*). Potentiels d'oxydo-réduction à courant nul d'une électrode de platine plongée dans des mélanges, en quantité équivalente, des formes oxydante et réductrice (1,4 dihydro) d'un même dérivé (\star).

L'analyse chimique des produits de réactions d'électrolyse à potentiel contrôlé donnent pour tous les composés précédents des résultats cohérents.

En milieu légèrement acide, neutre ou basique, la réduction électrochimique se fait donc en deux étapes. Durant la première étape un transfert simple d'un électron fournirait un radical qui ensuite se dimériserait selon :



NAD⁺ ou composé modèle

dimère 4 - 4'

$R = CH_3$ ou Rib. P.P. Ado

Malgré la divergence de quelques résultats (39, 41), on constate en fait bien dans les travaux les plus récents sur les NAD⁺, NADP⁺ et leurs composés modèles, que l'analyse mathématique de la forme de cette première vague de réduction et que les coulométriques au potentiel de celle-ci conduisent en définitive à un même échange global d'un électron par molécule de réactif (36, 42, 51, 52, 84). Le dimère 4,4' a pu être préparé par réduction électrochimique à potentiel contrôlé sur le palier de diffusion de la première vague, puis isolé et analysé. La vitesse de dimérisation a été déterminée par variation du potentiel de demi-pic avec la vitesse de balayage en voltamétrie sur goutte de mercure pendante (44) et par étude de la cinétique de capture par le NAD⁺ (ou un composé modèle) d'électrons hydratés produits par radiolyse pulsée (85). Les valeurs obtenues par ces deux méthodes sont du même ordre de grandeur pour le NAD⁺, respectivement $8,5 \cdot 10^6$ et $5,6 \cdot 10^7$ l.mole⁻¹.s⁻¹, alors que celles

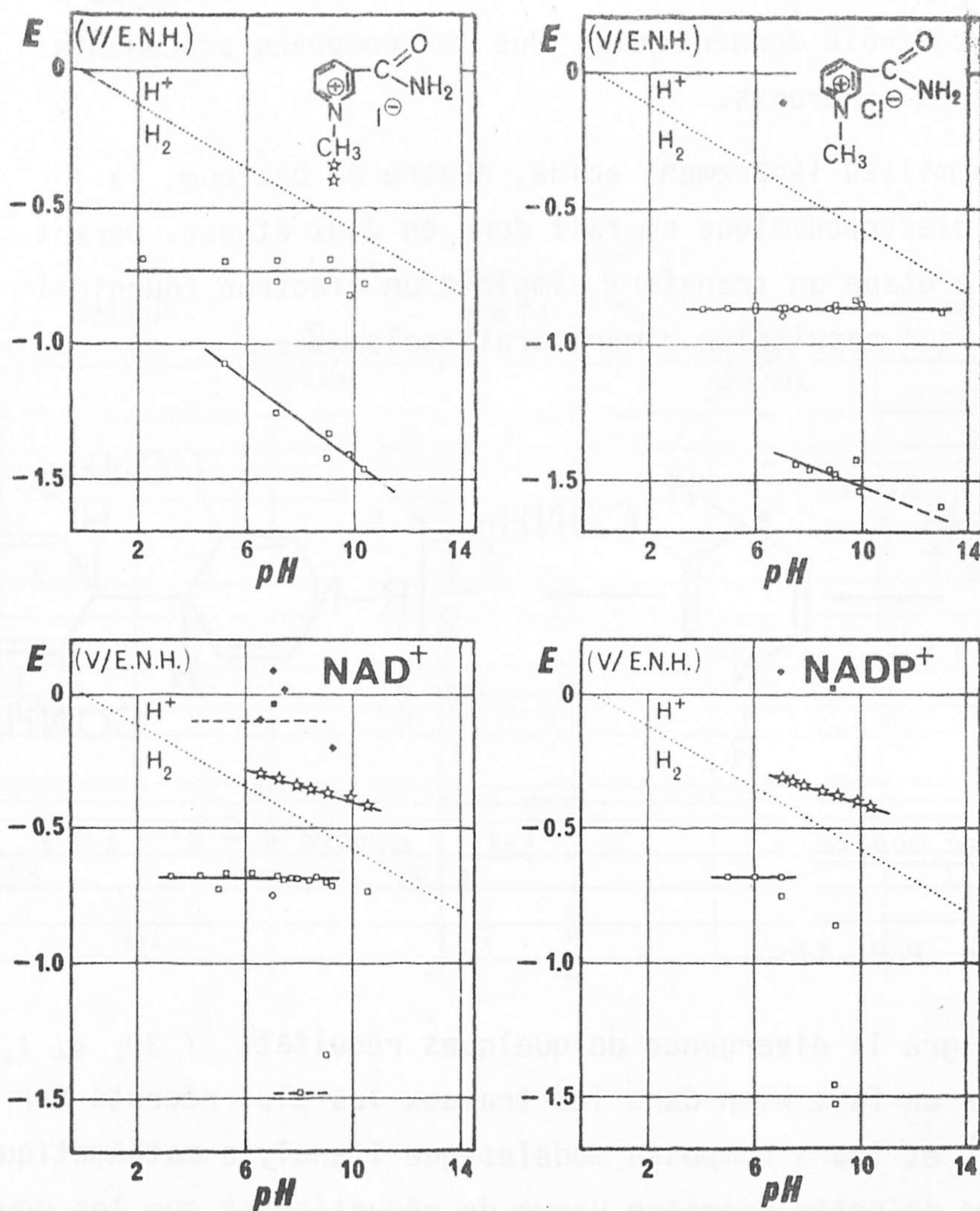
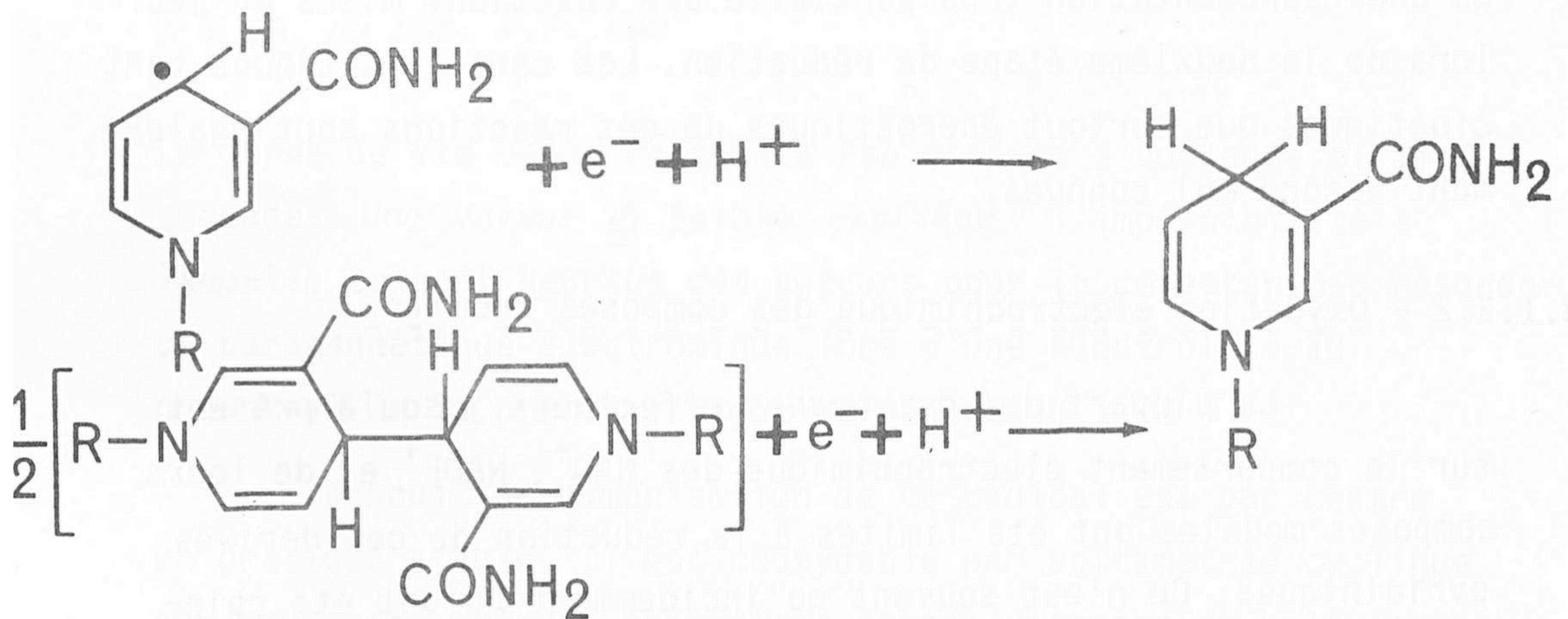


Fig. 3.2 - Potentiels électrochimiques des iodure et chlorure de N₁ méthyl nicotinamide, du NAD⁺ et NADP⁺ à différents pH en solution aqueuse tamponnée. Potentiels de réduction relevés par polarographie classique (□), et par voltamétrie sur goutte de mercure pendante (◇). Potentiels de réoxydation des composés réduits relevés par polarographie classique (■) et par voltamétrie cyclique sur goutte de mercure pendante (◆). Potentiels d'oxydo-réduction à courant nul d'une électrode de platine plongée dans des mélanges en quantité équivalente des formes oxydante et réductrice (1,4 dihydro) d'un même dérivé (☆).

obtenues pour le N₁ méthyl nicotinamide sont très différentes entre elles, respectivement $2,2 \cdot 10^{-2}$ et $6,9 \cdot 10^{+7}$ l.mole⁻¹.s⁻¹.

La deuxième vague observée dans la réduction électrochimique ferait intervenir simultanément deux réactions : la réduction à un électron et un proton du radical formé pendant la première étape et une lente réduction à deux électrons et deux protons du dimère :



$R = \text{CH}_3$ ou Rib. P.P. Ado

NADH ou composé modèle

On constate en fait par coulométrie au potentiel de cette deuxième vague que la réduction électrochimique des NAD^+ et NADP^+ conduit à un échange global de moins de deux électrons par molécule de réactif (51), alors que celle du chlorure de N₁ méthyl nicotinamide conduit à un échange global d'exactly deux électrons par molécule de réactif (52).

Les rendements en l'isomère dihydro biologiquement actif, le 1,4 dihydro, formé par électrolyse au potentiel de la deuxième vague, dépendent fortement de la nature de l'électrode, du pH de la solution et même de la nature du tampon fixant ce pH. Par exemple, pour des électrolyses de 87 à 100 % d'une quantité initiale de NAD^+ , il ne se forme que 3 à 80 % de NADH (45). Les rendements en NADH augmentent, pour les électrodes, dans l'ordre :

Hg, Pd, Ni, Ag < Pt < Pb

(87)

et pour les tampons :

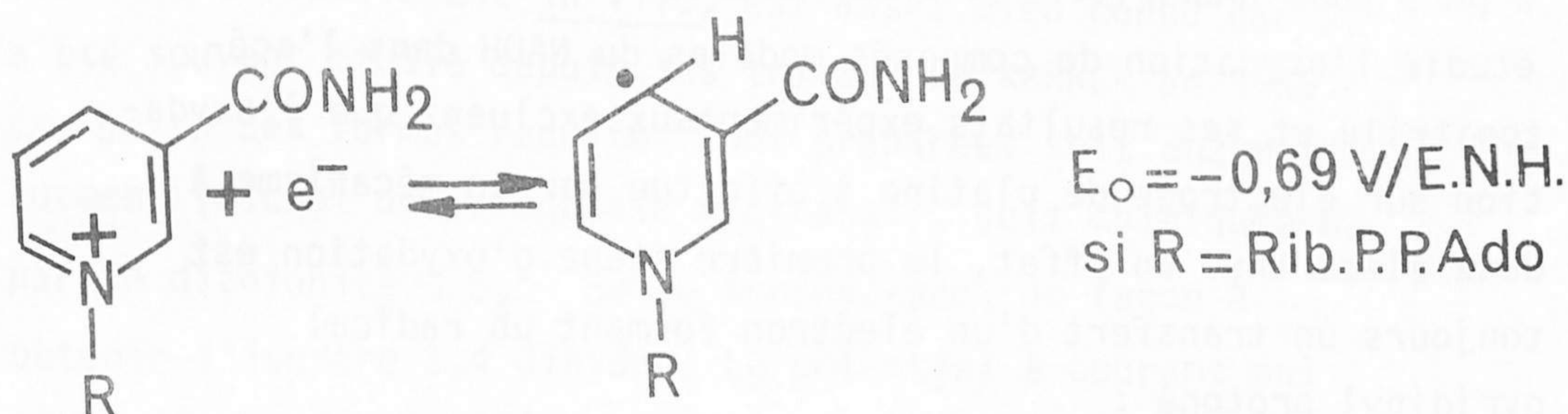
tris < $\begin{matrix} \text{polyphosphate} \\ \text{orthophosphate} \end{matrix}$ < $\begin{matrix} \text{pyrophosphate} \\ \text{tripolyphosphate} \end{matrix}$ (46, 86)

Les deux schémas de réaction cités précédemment ne donnent donc qu'une représentation très partielle des réactions mises en jeu lors de la deuxième étape de réduction. Les caractéristiques tant cinétiques que surtout énergétiques de ces réactions sont également encore mal connues.

3.1.2.2 - Oxydation électrochimique des composés réduits.

La plupart des recherches effectuées jusqu'à présent sur le comportement électrochimique des NAD^+ , NADP^+ et de leurs composés modèles ont été limités à la réduction de ces dérivés pyridiniques. Ce n'est souvent qu'incidemment qu'ont été relevées quelques caractéristiques électrochimiques des différentes formes réduites (radical libre, dimère et 1,4 dihydro).

Les propriétés en réoxydation du radical libre, formé par l'addition d'un électron lors de la première étape de réduction, ont été détectées par UNDERWOOD et coll. par voltamétrie cyclique sur goutte de mercure pendante avec un balayage anodique de retour très rapide (20 à 50 V.s^{-1}) (44, 50). On observe alors un pic anodique décalé de 10 à 50 mV seulement par rapport au pic cathodique, ce qui illustre la réversibilité du transfert électronique impliqué : on pourrait alors écrire du point de vue des bilans électrochimiques d'énergie :



NAD^+ ou composé modèle

$R = \text{CH}_3$ ou Rib. P.P. Ado

La durée de vie de ce radical a été estimée à quelques milli-secondes. Une valeur si faible explique l'impossibilité à laquelle se sont heurtés ces auteurs pour le détecter par résonance paramagnétique électronique, lors d'une électrolyse au potentiel de la première vague de réduction (52).

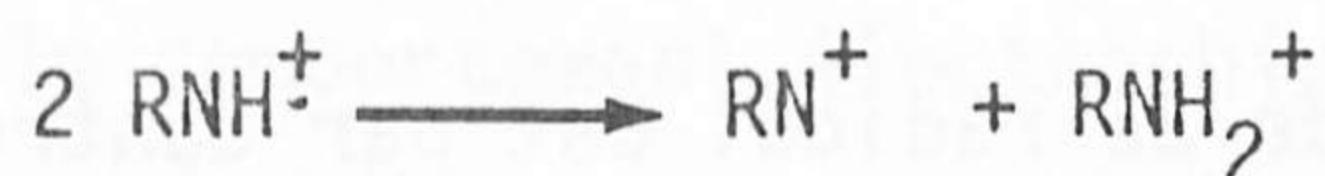
Le produit de dimérisation de ce radical est par contre en pratique stable. Il est réoxydable par voltamétrie cyclique sur goutte de mercure pendante à toutes vitesses de balayage anodique retour et peut être préparé quantitativement par électrolyse au potentiel de la première étape de réduction (84). Ce dimère est alors réoxydable globalement en NAD^+ , NADP^+ ou composé modèle, sur électrode à goutte de mercure tombante ou pendante ou sur électrode à disque de platine stationnaire. Cette oxydation est effective à environ $+ 0,10 \text{ V/E.N.H.}$ si le dimère est dérivé du NAD^+ et NADP^+ , et à environ $- 0,10 \text{ V/E.N.H.}$ si le dimère est dérivé d'un sel de N_1 alkyl nicotinamide (44) (Tableau 3.II et Figure 3.2). Aucune étude de l'influence du pH sur cette réoxydation n'a été jusqu'à présent effectuée.

Il n'existe que très peu de données sur l'oxydation électrochimique de NADH , NADPH ou de leurs composés modèles dans l'eau. Les quelques valeurs obtenues sur électrode de platine indiquent que le potentiel d'oxydation est très élevé ($+ 1,29 \text{ V/E.N.H.}$ à pH 6 pour NADH (42) et $+ 0,86 \text{ V/E.N.H.}$

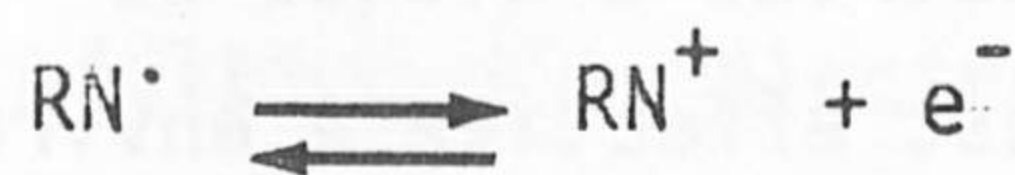
à pH 9 pour NADPH (51)). Très récemment HAAS (88, 89) a étudié l'oxydation de composés modèles du NADH dans l'acétonitrile et ses résultats expérimentaux excluent que l'oxydation sur électrode de platine s'effectue par un mécanisme à deux électrons. En effet, la première étape d'oxydation est toujours un transfert d'un électron formant un radical pyridinyl protoné :



Ce radical $\text{RNH}^{\cdot+}$ subirait des transferts ultérieurs d'électrons et de protons variant suivant les conditions de pH. En effet, en milieu non tamponné $\text{RNH}^{\cdot+}$ se dismuterait en formant le sel de pyridinium RN^+ (analogue à NAD^+) et la forme protonée du réactif initial RNH_2^+ , selon :



En présence de base, l'intermédiaire radicalaire $\text{RNH}^{\cdot+}$ perdrait son proton en donnant le radical RN^{\cdot} qui s'oxyderait immédiatement en RN^+ au même potentiel selon :

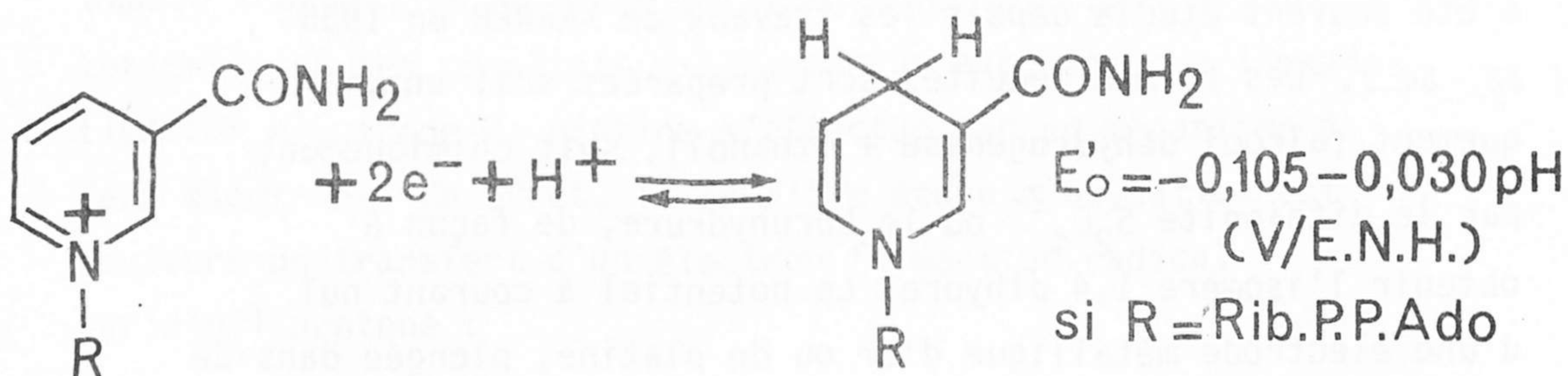


3.1.2.3 - Comportement potentiométrique de mélanges de NAD^+ et NADH ou de composés modèles.

Le comportement potentiométrique de mélanges des formes oxydantes et réductrices $\text{NAD}^+ / \text{NADH}$ ou $\text{NADP}^+ / \text{NADPH}$ ou encore sel de N_1 méthyl nicotinamide / 1,4 dihydro N_1 méthyl nicotinamide, qui constituent les formes qui inter-

viennent effectivement in vivo, est assez bien connu car il a été souvent étudié depuis les travaux de KARRER en 1936 (53, 54). Les formes réduites sont préparées soit enzymatiquement (alcool déshydrogénase + éthanol), soit chimiquement par le dithionite $S_2O_4^{2-}$ ou le borohydrure, de façon à obtenir l'isomère 1,4 dihydro. Le potentiel à courant nul d'une électrode métallique d'or ou de platine, plongée dans de telles solutions, se stabilise très lentement. Le potentiel d'équilibre est atteint plus rapidement en présence de médiateur redox constitué par des colorants comme le benzyl viologen et la rosinduline 2G, de potentiel normal voisin de celui de $NAD^+/NADH$ (56, 90). C'est pourquoi les nucléotides pyridiniques sont souvent classés du point de vue biochimique comme des réactifs redox actifs en présence de médiateurs, à la différence des nucléotides flaviniques ou des porphyrines qui sont actifs même sans médiateur, et des couples substrat/substrat-réduit, tels que succinate/fumarate ou lactate/pyruvate, qui ne sont actifs qu'en présence à la fois de médiateur et d'enzyme. Il faut cependant noter que les études de RODKEY et coll. sur le comportement potentiométrique de mélanges de $NAD^+ / NADH$ (37) et de $NADP^+ / NADPH$ (47) ont toujours été effectuées en présence simultanée de médiateur et d'enzyme (xanthine oxydase).

Le potentiel normal ainsi relevé par potentiométrie pour ces différents couples de nucléotides pyridiniques, c'est-à-dire le potentiel obtenu lorsque la concentration de la forme oxydée est égale à celle de la forme réduite, diminue de 30 mV lorsque le pH augmente d'une unité (Fig. 3.2). Ce résultat est en accord avec l'hypothèse d'un échange de deux électrons et d'un proton conduisant à la réaction globale (37, 47, 56):



NAD^+ ou composé modèle

NADH ou composé modèle

$R = \text{CH}_3$ ou Rib. P.P. Ado

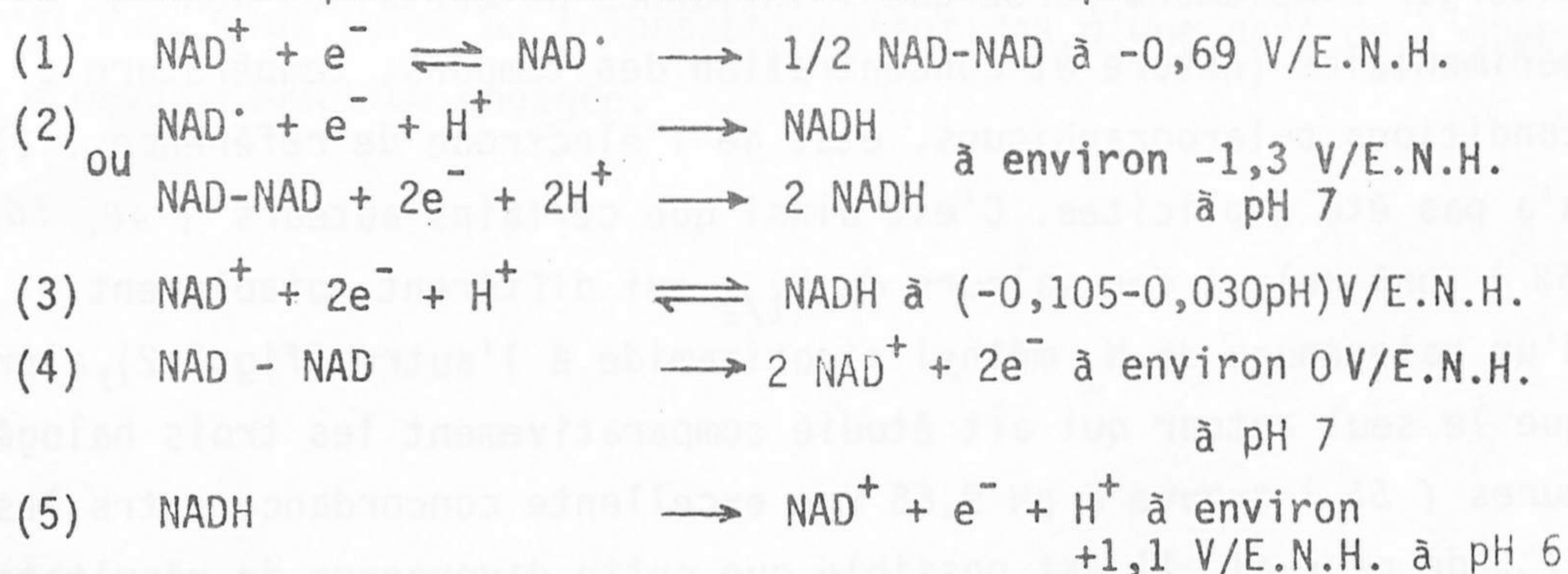
Ce potentiel normal est utilisé depuis de nombreuses années pour expliquer le comportement oxydo-réducteur des coenzymes pyridiniques (60, 90 à 93). Il est très important de noter qu'il est, à pH 7, situé à environ 100 mV au dessus du potentiel normal du couple $\text{H}^+ / \frac{1}{2} \text{H}_2$ qui constitue la limite inférieure du domaine thermodynamique d'électroactivité dans l'eau (Fig. 3.2). Il est par conséquent situé à peu près à mi-chemin à la fois entre les potentiels de la première étape de réduction ($\text{NAD}^+ \longrightarrow \text{dimère}$) et de la première étape d'oxydation ($\text{dimère} \longrightarrow \text{NAD}^+$), et entre les potentiels de la deuxième étape de réduction ($\text{NAD}^+ \longrightarrow \text{NADH}$) et de la deuxième étape d'oxydation ($\text{NADH} \longrightarrow \text{NAD}^+$).

3.1.2.4 - Conclusion.

Il apparaît ainsi que plusieurs des auteurs qui ont étudié les propriétés électrochimiques des coenzymes pyridiniques, ont proposé d'attribuer chaque potentiel de demi-vague relevé par polarographie à une étape réactionnelle, différente de la transition globale NAD^+/NADH , et définie par sa stoechiométrie. Cette stoechiométrie a été

souvent déduite de l'analyse des produits de réaction formés par une coulométrie à potentiel contrôlé. Une telle façon de procéder introduit deux risques d'erreurs considérables en ce qui concerne l'interprétation des phénomènes observés en terme de mécanisme moléculaire.

En premier lieu les diverses hypothèses faites pour chaque vague polarographique et pour les relevés potentiométriques, l'ont toujours été en complète indépendance les unes des autres; c'est ainsi que nous avons relevé dans les publications relatives au NAD^+ que :



Or il est évident que si la première hypothèse est retenue pour la réaction (2), les trois premières réactions sont incompatibles puisque le potentiel de la réaction (3) devrait être théoriquement la moyenne des potentiels des réactions (1) et (2).

La raison d'être de telles incompatibilités apparaît dès lors que le second type d'erreur commise est mis en évidence. Au cours d'une transformation redox dont le résultat global est déterminé ultérieurement par analyse et qui apparaît à un potentiel donné, l'étape réactionnelle qui fixe la valeur du potentiel ne représente souvent qu'une partie de la transformation globale observée. C'est ainsi qu'il s'agit en général d'électronation simple ou d'électronation consécutive à une protonation. Le processus de formation du produit primaire définit la valeur du potentiel à un niveau qui implique, en général, un investissement énergétique supérieur à celui qui correspondrait au bilan énergétique global de

formation du produit détecté. Ce processus directeur est alors suivi d'une ou plusieurs étapes chimiques ou électrochimiques qui ne jouent dans la définition du potentiel de réaction qu'un rôle limité aux effets de concentration qu'elles impliquent quant aux produits intermédiaires.

Enfin il ne faut pas oublier, en tant que cause de divergence au niveau des interprétations, toutes les erreurs qui pourraient être commises en rapprochant les uns des autres des résultats obtenus par des expériences différentes. Celles-ci peuvent en effet diverger simplement parce que l'influence de certaines données expérimentales (nature et concentration des tampons, température, conditions polarographiques, état de l'électrode de référence,...) n'a pas été explicitée. C'est ainsi que certains auteurs (40, 56, 52) ont relevé des valeurs de $E_{1/2}$ qui diffèrent notablement d'un halogénure de N_1 méthyl nicotinamide à l'autre (fig.3.2), alors que le seul auteur qui ait étudié comparativement les trois halogénures (55) trouve à pH 9,65 une excellente concordance entre les $E_{1/2}$ de ceux-ci. Il est possible que cette divergence de résultats soit due à l'influence de la nature des tampons car les premiers auteurs ont utilisé, à pH compris entre 9 et 10, des tampons contenant de l'ammoniac ou des sels alcalins d'acide orthophosphorique ou de glycine alors que le dernier auteur a utilisé un borate de $N(CH_3)_4^+$.

En conclusion, pour accéder à une connaissance des mécanismes d'oxydo-réduction des coenzymes pyridiniques telle que les hypothèses faites puissent être considérées comme solides, car compatibles les unes avec les autres, de nombreuses données sont encore absentes ou insuffisantes.

Nous avons donc décidé de combler au moins partiellement cette lacune en cherchant à disposer de données concernant tous les processus électrochimiques qui définissent les propriétés d'oxydo-réduction des coenzymes pyridiniques.

Cette prise de position est justifiée en outre par l'importance que doit revêtir la connaissance précise des propriétés oxydo-réductrices du NAD^+ et de ses dérivés réduits pour ce qui concerne l'interprétation du rôle biologique joué par ces composés. Lorsque ces données seront réunies, elles devraient permettre d'une part de définir plus précisément les conditions d'action du NAD^+ et du NADH sur les différents substrats biologiques avec lesquels ils réagissent in vivo. Elles devraient permettre en second lieu de comprendre pourquoi et comment la mise en oeuvre des propriétés redox du couple NAD^+/NADH dans la chaîne de transfert des électrons, aboutit à la mise en réserve, sous forme de triphosphonucléotides, d'une part de l'énergie d'oxydo-réduction engagée.

3.2 - Etude électrochimique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en solution aqueuse.

L'analyse critique des données antérieures relatives à l'électrochimie du NAD⁺ ou du NADP⁺ nous a montré que sur trois plans il subsiste des difficultés ou des imprécisions. Les hypothèses interprétatives ont été souvent émises de façon incohérente et sont parfois thermodynamiquement incompatibles. Il est donc difficile d'attribuer un mécanisme précis à une étape de réaction définie par le potentiel auquel elle se déroule dans des conditions expérimentales données : cette correspondance mécanisme de réaction-potentiel est rarement établie avec certitude. Enfin les expériences antérieures sont insuffisantes puisque dans la plupart des cas seule l'influence du pH de la solution a été en partie étudiée et les effets de concentration du réactif et de nature des tampons par exemple ont été trop négligés.

Nous avons par conséquent repris l'étude électrochimique du NAD⁺ en solution aqueuse, en utilisant pour simplifier l'interprétation des résultats, un des composés modèles sur lequel le plus de résultats ont été publiés : l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide (94).

3.2.1 - Réduction de solutions aqueuses très diluées de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide sur goutte de mercure en stillation commandée. Influence du pH de la solution.

Si la concentration d'iodure de N₁ méthyl nicotinamide est inférieure à environ 10^{-3} M, tous les phénomènes observés restent qualitativement comparables lorsque cette concentration est modifiée. Pour mettre en évidence l'influence du pH sur la position et la hauteur des vagues polarographiques en solution diluée, nous comparons les résultats obtenus pour une même concentration de réactif par exemple 10^{-4} M.

La réduction polarographique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en solution très diluée (10^{-4} M) fait toujours apparaître deux vagues successives, mais les caractéristiques de celles-ci sont très différentes suivant que le pH de la solution est inférieur ou

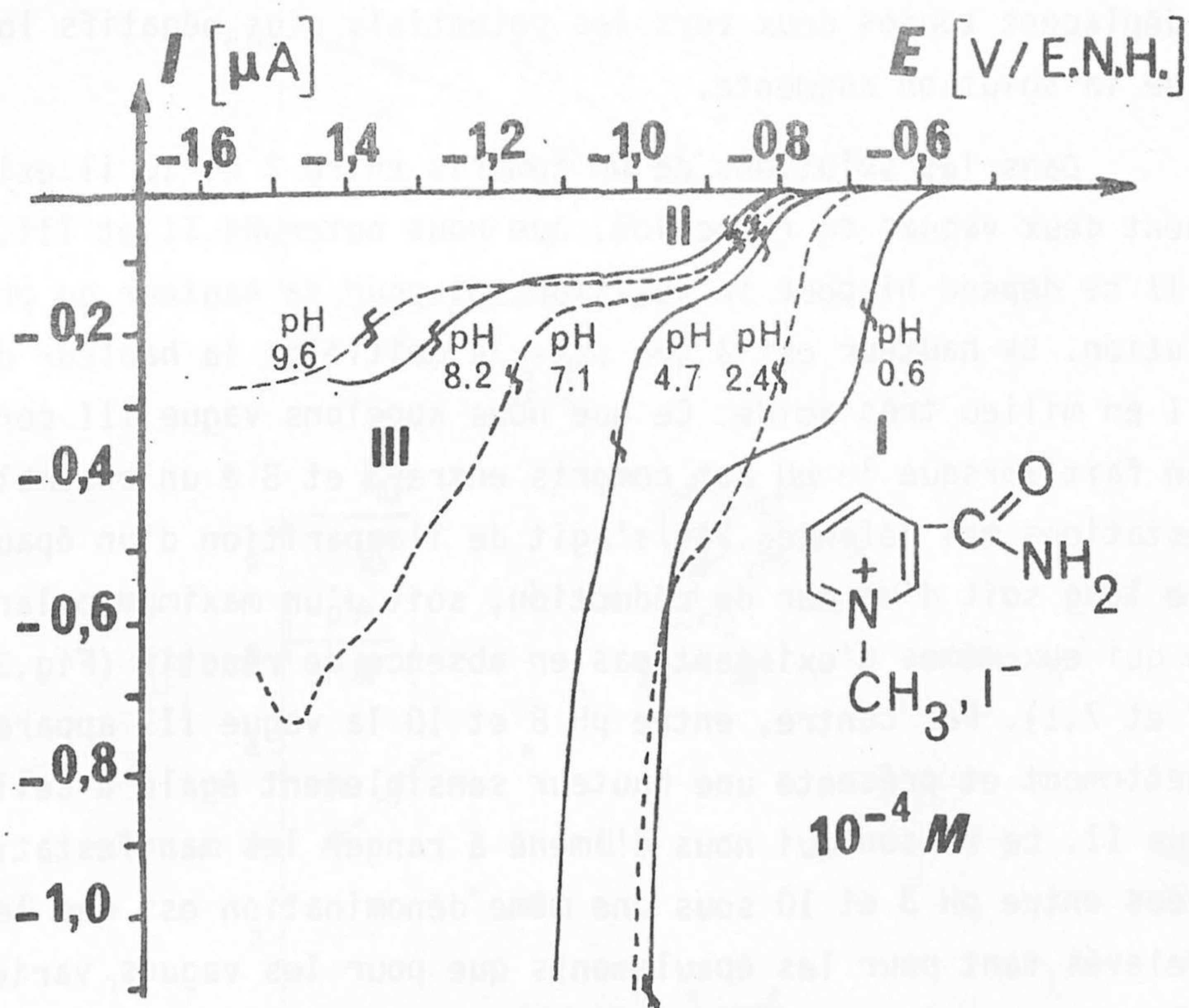


Fig. 3.3 - Réduction de solutions aqueuses $10^{-4} M$ d'iodure de N_1 méthyl nicotinamide sur goutte de mercure à stillation commandée : pH 0,56 (HCl), 2,41 (glycine), 4,68 (acétate), 7,15 (imidazole), 8,25 (tris) et 9,57 (borate). La vague I' correspond à un simple épaulement le long du mur de réduction des protons; nous n'avons fait figurer sur ce dessin qu'une partie de la vague I' car celle-ci présente une hauteur 4 à 10 fois plus grande que celle de la vague I. La position des $E_{1/2}$ est notée (\sim).

Conditions polarographiques : capillaire n°10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s., balayage des potentiels à $250 \text{ mV} \cdot \text{mn}^{-1}$, $25,0 \pm 0,2^\circ \text{C}$.

supérieur à environ 3 (Fig. 3.3).

En milieu très acide une vague I est suivie d'une vague I', de hauteur bien supérieure, qui est souvent assez mal formée car proche du mur de réduction des protons sur mercure. Les vagues I et I' se déplacent toutes deux vers les potentiels plus négatifs lorsque le pH de la solution augmente.

Dans les solutions de pH compris entre 3 et 10 il existe également deux vagues de réduction, que nous noterons II et III. La vague II ne dépend ni pour sa position, ni pour sa hauteur du pH de la solution. Sa hauteur est à peu près la moitié de la hauteur de la vague I en milieu très acide. Ce que nous appelons vague III correspond en fait lorsque le pH est compris entre 3 et 8 à un ensemble de manifestations mal définies. Il s'agit de l'apparition d'un épaulement le long soit d'un mur de réduction, soit d'un maximum polarographique qui eux-mêmes n'existent pas en absence de réactif (Fig.3.3, pH 4,7 et 7,1). Par contre, entre pH 8 et 10 la vague III apparaît très nettement et présente une hauteur sensiblement égale à celle de la vague II. La raison qui nous a amené à ranger les manifestations observées entre pH 3 et 10 sous une même dénomination est que les $E_{1/2}$ relevés, tant pour les épaulements que pour les vagues, varient continûment avec le pH (Fig. 3.4).

La figure 3.4 présente les variations des $E_{1/2}$ des vagues ainsi définies avec le pH de la solution de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide 10^{-4} M. Ces variations sont linéaires et ont pour expression:

$$\text{Vague I} \quad E_{1/2} = (-633 - 74 \text{ pH}) \pm 10 \text{ mV/E.N.H.}$$

$$\text{Vague I}' \quad E_{1/2} = (-970 - 45 \text{ pH}) \pm 5 \text{ mV/E.N.H.}$$

$$\text{Vague II} \quad E_{1/2} = (-830 \quad) \pm 30 \text{ mV/E.N.H.}$$

$$\text{Vague III} \quad E_{1/2} = (-750 - 60 \text{ pH}) \pm 30 \text{ mV/E.N.H.}$$

La valeur de $E_{1/2}$ de la vague II obtenue dans le tampon tris à pH 8,25 est exceptionnellement faible (45 mV au-dessous du segment de droite). La valeur de $E_{1/2}$ de la vague III obtenue dans le tampon borate à pH 9,58 est également exceptionnellement faible (50 mV au-dessous du segment de droite). Ces deux valeurs n'ont pas

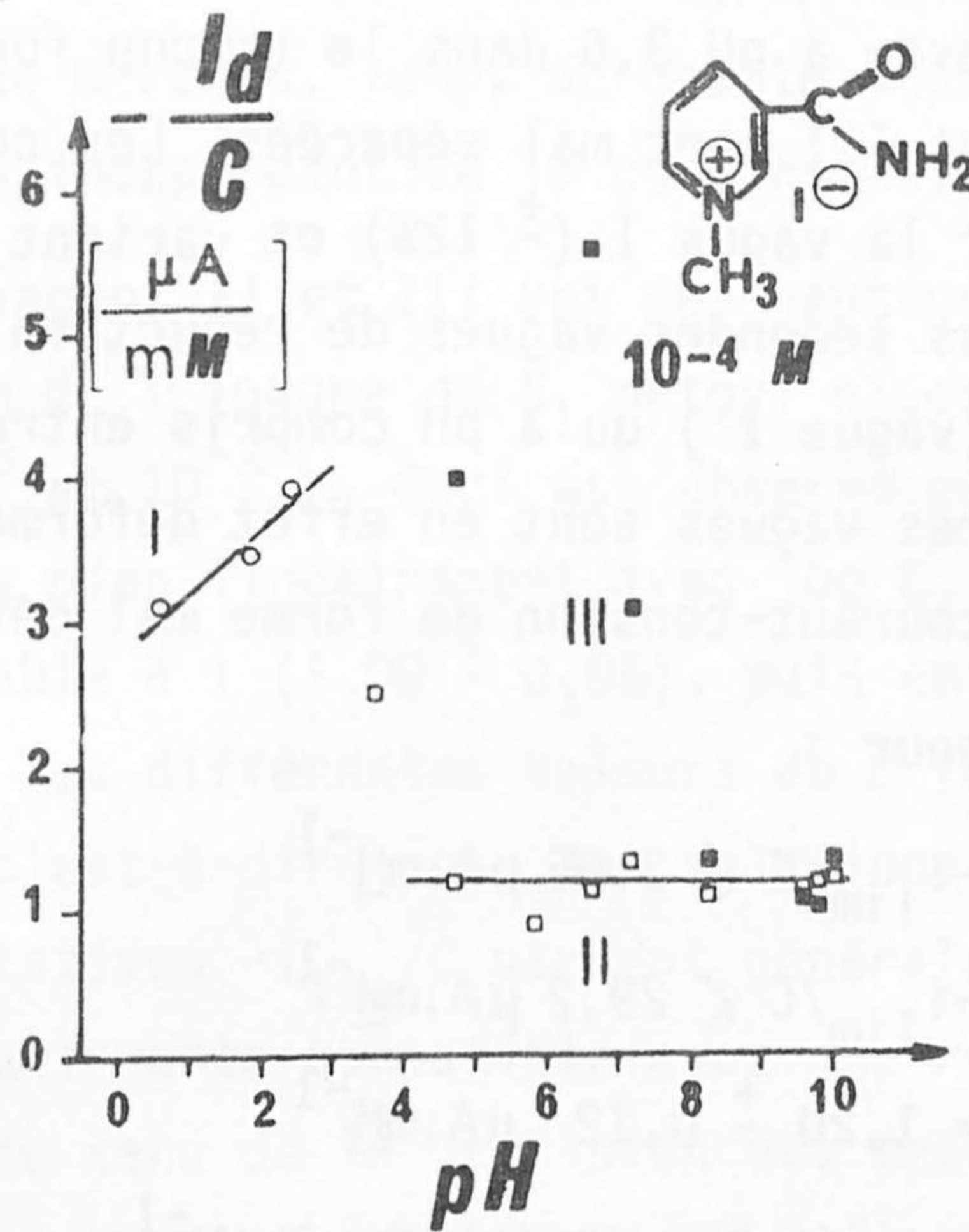
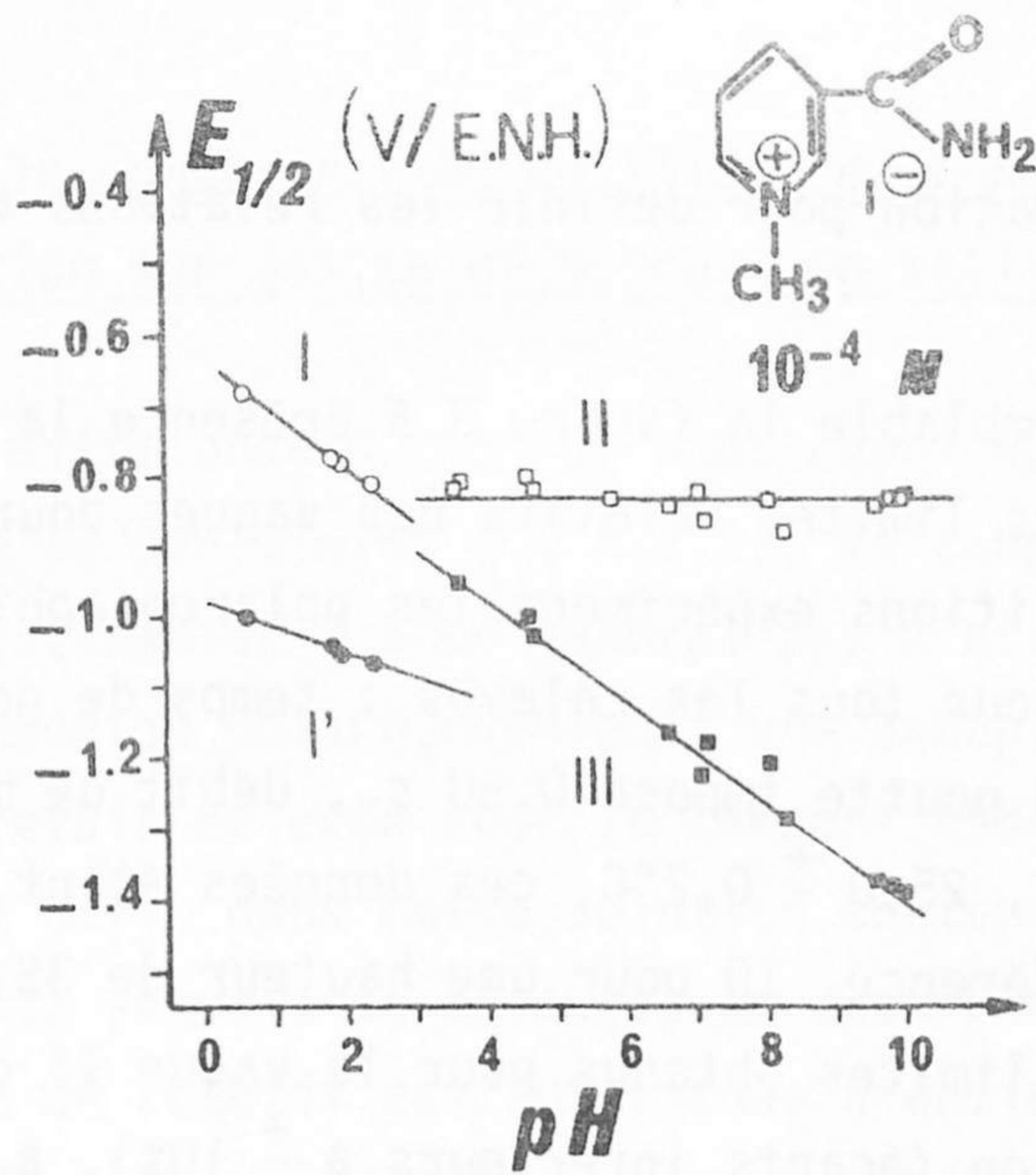


Fig. 3.4 et 3.5 - Réduction de solutions aqueuses $10^{-4} M$ d'iodure de N_1 méthyl nicotinamide sur goutte de mercure à stillation commandée : (○) vague I, (●) vague I', (□) vague II et (■) vague III.

Conditions polarographiques : capillaire n° 10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, balayage à $250 \text{ mV} \cdot \text{mn}^{-1}$, $25,0 \pm 0,2 \text{ } ^\circ\text{C}$.

Fig.3.4 - Influence du pH sur les potentiels de demi-vague.

Fig.3.5 - Influence du pH sur les hauteurs relatives des vagues. La hauteur de la vague I' étant considérablement supérieure à celle des vagues I, II et III, nous n'avons pas représenté dans ce dessin les points correspondant à cette vague I'.

été prises en considération pour définir les relations algébriques précédentes.

De façon semblable la figure 3.5 présente la variation avec le pH des courants limites relatifs des vagues, pour des solutions 10^{-4} M. Les conditions expérimentales polarographiques utilisées sont identiques pour tous les relevés : temps de goutte libre $9,5 \pm 0,5$ s, temps de goutte imposé 0,50 s, débit de mercure $m = 0,86 \pm 0,03$ mg.s⁻¹, $25,0 \pm 0,2$ °C, ces données étant obtenues avec un capillaire référencé 10 pour une hauteur de 35,0 cm de mercure. Les courants limites obtenus pour la vague II dépendent peu du pH de la solution (écarts inférieurs à $\pm 10\%$), à l'exception de la valeur relevée à pH 3,6 dans le tampon formiate pour lequel les vagues II et III sont mal séparées. Les courants limites varient davantage pour la vague I ($\pm 12\%$) et varient surtout de façon importante pour les secondes vagues de réduction I' et III tant en milieu très acide (vague I') qu'à pH compris entre 3 et 8 (vague III); ces deux dernières vagues sont en effet déformées car situées le long d'une courbe courant-tension de forme mal définie.

En résumé pour :

- la vague I $3,05 \leq -i_{lim}/C \leq 3,85 \mu A.mM^{-1}$
- la vague I' $13,6 \leq -i_{lim}/C \leq 29,2 \mu A.mM^{-1}$
- la vague II $-i_{lim}/C = 1,20 \pm 0,12 \mu A.mM^{-1}$
- la vague III pH ≤ 8 $3,1 \leq -i_{lim}/C \leq 5,6 \mu A.mM^{-1}$
pH ≥ 8 $-i_{lim}/C = 1,20 \pm 0,12 \mu A.mM^{-1}$

Le pic polarographique que nous avons observé en milieu neutre est situé à -1570 ± 20 mV/E.N.H. et présente une hauteur considérable à l'échelle des autres vagues : $-i_p/C$ est égal à $63 \mu A.mM^{-1}$ en tampon citrate (pH 5,78), $14 \mu A.mM^{-1}$ en tampon phosphate (pH 6,61) et $27 \mu A.mM^{-1}$ en tampon imidazole (pH 7,15).

2 - Influence de la concentration de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée.

A la différence de ce que nous avons observé pour la nicotinamide (§ 3.3.2) et la pyrimidine (§ 4.2.2), la concentration d'iodure de N₁ méthyl nicotinamide n'a en général pas d'effet sur le nombre de vagues de réduction polarographique. Une exception à cette observation est toutefois relevée pour le tampon orthophosphate à pH 1,86 (Fig. 3.6 et 3.7); dans cette solution contenant H₃PO₄ 0,5 M et KH₂PO₄ 0,5 M, la vague I se dédouble en deux parties I_a et I_b si la concentration de réactif est supérieure à environ 7.10⁻⁴ M; la vague I_a présente dans les conditions polarographiques utilisées (capillaire 10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,5 s) un courant de 2,3 ± 0,1 A indépendant de la concentration de réactif.

Les vagues II et III ont des hauteurs proportionnelles à la concentration de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide lorsque celle-ci varie entre 10⁻⁵ et 10⁻² M. Ceci est observé en vérifiant que log(-i_{lim}) varie bien linéairement avec log C, la pente restant en général assimilable à 1 (1,00 ± 0,05), puis en comparant les valeurs de -i_{lim}/C pour les différentes valeurs de C (Fig. 3.9). Pour les vagues II et III, c'est-à-dire pour des solutions de pH supérieur à 3, les hauteurs relatives -i_{lim}/C varient généralement au plus de 5 à 10% avec C, ce qui reste compatible avec une relation linéaire entre i_{lim} et C compte tenu de la précision des mesures de courants limites. Cependant en tampons formiate (pH 3,6) pour la vague II et acétate (pH 4,7) pour la vague III, les variations de hauteurs relatives sont plus importantes; -i_{lim}/C varie respectivement de 2,5 à 1,3 μA.mM⁻¹ entre 10⁻⁴ et 10⁻² M à pH 3,6 pour la vague II et de 5 à 2 μA.mM⁻¹ entre 10⁻³ et 10⁻² M à pH 4,7 pour la vague III. En outre, dans tous les milieux où la vague I a été observée, celle-ci a une hauteur qui n'est qu'approximativement proportionnelle à la concentration de réactif; la hauteur relative -i_{lim}/C diminue de 30 à 50% lorsque C passe de 10⁻⁴ à 10⁻² M. La deuxième vague en milieu acide, vague I', présente une hauteur qui n'est également qu'approximativement proportionnelle à la concentration de réactif; sa hauteur relative -i_{lim}/C dépend fortement du tampon tout en restant beaucoup plus

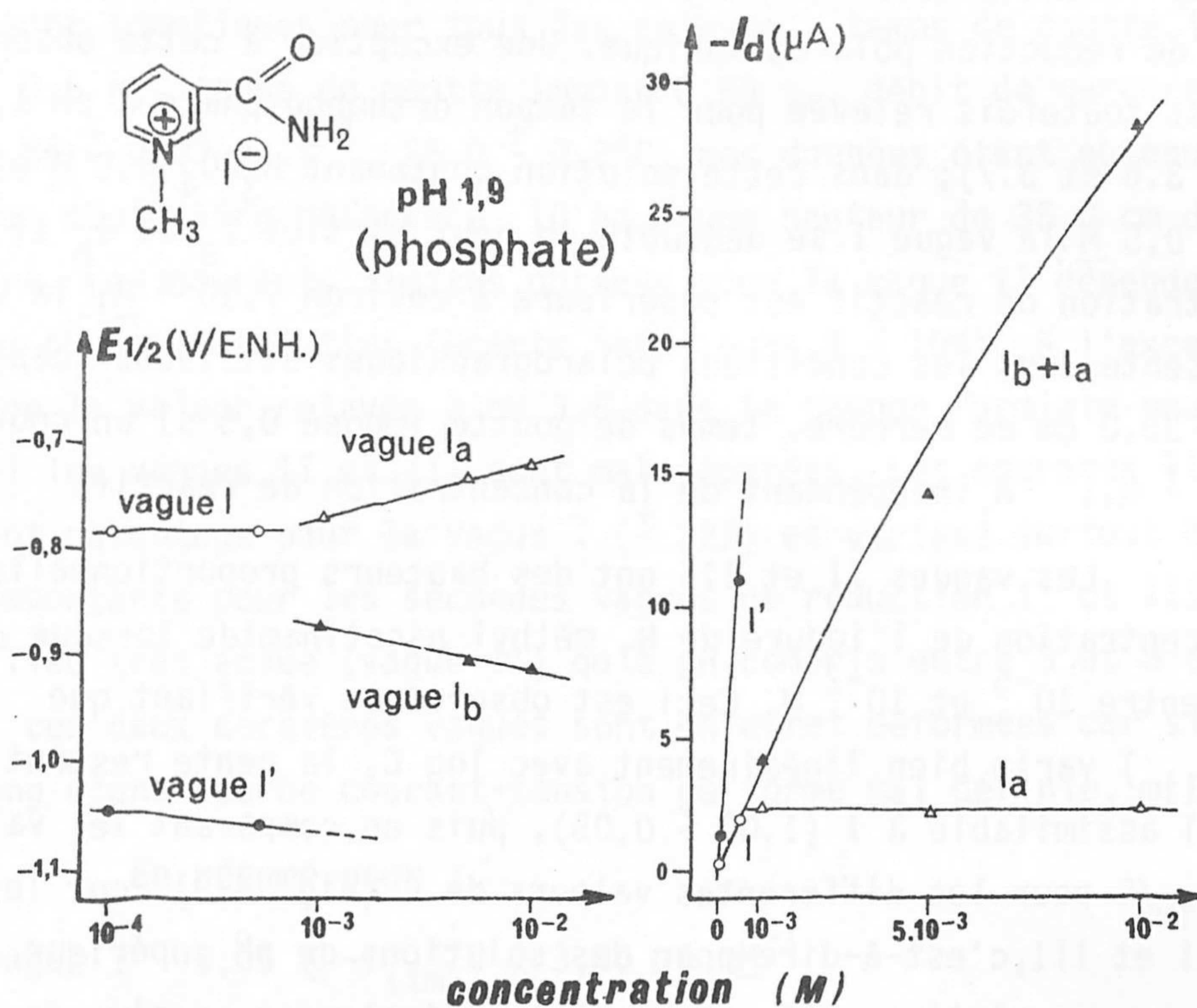


Fig. 3.6 et 3.7 - Influence de la concentration de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée. Comportement particulier relevé à pH 1,86 dans une solution tampon contenant H_3PO_4 et KH_2PO_4 à la concentration 0,5 M.

Fig.3.6 - Effet de la concentration de réactif sur le nombre et le potentiel des vagues.

Fig.3.7 - Effet de la concentration de réactif sur le nombre et la hauteur des vagues.

grande que celle de la vague I : $15,5 \pm 2 \mu\text{A.mM}^{-1}$ à pH 0,6 (acide chlorhydrique), 13 à 22 $\mu\text{A.mM}^{-1}$ à pH 1,8 (phosphate) et $29,3 \pm 0,1 \mu\text{A.mM}^{-1}$ à pH 2,4 (glycine). De façon analogue, le pic observé à potentiel très cathodique en milieu neutre présente une importante hauteur relative $-i_{lim}/C$ qui varie beaucoup avec le pH et la concentration de réactif (14 à $92 \mu\text{A.mM}^{-1}$).

Dans le domaine des pH de 3 à 10 les deux vagues de réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide se déplacent en potentiel de façon significative lorsque la concentration de ce réactif passe de 10^{-4} à 10^{-2} M (Fig. 3.8).

Le comportement de la vague II est différent suivant que la concentration de réactif est inférieure ou supérieure à environ 10^{-3} M. En solution plus diluée que 10^{-3} M, $E_{1/2}$ augmente de 19 ± 1 mV par décade de concentration, alors qu'en solution plus concentrée $E_{1/2}$ reste sensiblement constant. Ce comportement est très semblable à celui observé pour la première vague de réduction de la pyrimidine en milieu acide (§ 4.2.2). Les valeurs de $E_{1/2}$ relevées dans les solutions de tampon tris à pH 8,25 ((\diamond) Fig.3.8) s'écartent légèrement de ce comportement; elles augmentent de 32mV par décade de concentration. De plus, dans les solutions d'orthophosphate (pH 6,61) la vague II a un potentiel de demi-vague qui augmente de -840 à -800 mV/E.N.H. entre 10^{-4} et $5 \cdot 10^{-4}$ M, puis diminue de 10 mV par décade de concentration entre $5 \cdot 10^{-4}$ et 10^{-2} M.

Le comportement de la vague III diffère suivant que le pH de la solution est supérieur ou inférieur à environ 5. Dans les solutions tampons contenant du formiate et de l'acétate, respectivement à pH 3,56 et 4,68, $E_{1/2}$ est indépendant de la concentration, alors que dans les solutions tampons contenant de l'imidazole, du tris, des borates, des carbonates et du glycinat, respectivement à pH 7,15, 8,25, 9,57, 9,82 et 9,97, $E_{1/2}$ diminue respectivement de 64, 44, 44, 40 et 43 mV par décade de concentration. Puisque c'est seulement aux pH supérieurs à 8 que la vague III est entièrement formée (elle est alors distante de plus de 200 mV du mur de réduction du solvant), nous retiendrons son comportement dans les tampons tris, borate, carbonate et glycinat, comme le plus significatif, alors $\Delta E_{1/2}/\Delta \log C = -43 \pm 3$ mV.

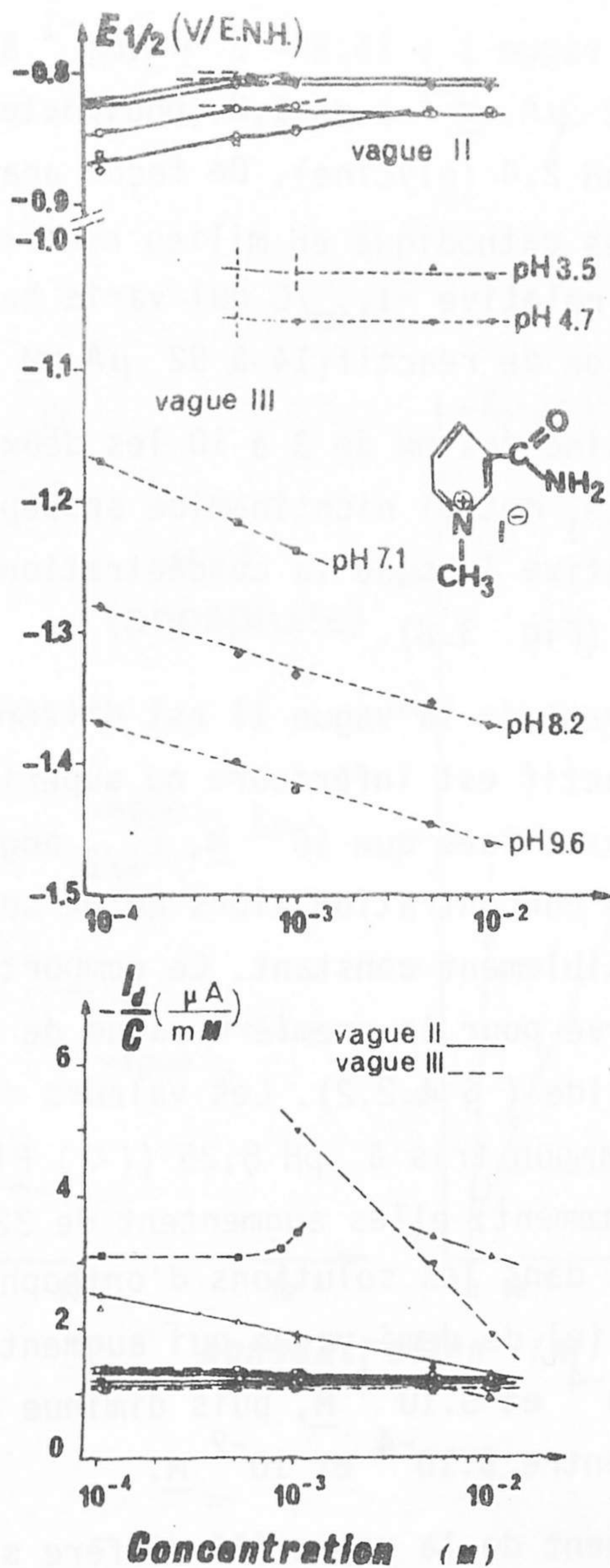


Fig.3.8 et 3.9 - Influence de la concentration de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée. Comportement des vagues II(—) et III(- - -) dans les tampons suivants : (Δ et \blacktriangle) formiate pH 3,56, (∇ et \blacktriangledown) acétate pH 4,68, (\square et \blacksquare) imidazole pH 7,15, (\diamond et \blacklozenge) tris pH 8,25 et (\circ et \bullet) borate pH 9,57.

Fig.3.8 - Influence de la concentration du réactif sur les potentiels de demi-vague.

Fig.3.9 - Influence de la concentration du réactif sur la hauteur relative des vagues.

Le glissement du potentiel de demi-vague des vagues II et III, lorsque la concentration de pyrimidine varie, révèle l'existence dans les mécanismes de réaction correspondant à ces deux vagues :

- soit d'étapes de réaction, d'ordre différent de l'unité, qui limiteraient la vitesse de transfert des électrons,
- soit de réactions d'oxydo-réduction réversibles conduisant à des produits en nombre différent des réactifs, les composés à potentiel chimique constant (solvant, solides, constituants du tampon) n'interviennent pas dans ce décompte (96).

3.2.3 - Influence des paramètres expérimentaux sur la réduction polarographique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide.

3.2.3.1 - Effet de la nature du tampon.

L'analyse des résultats présentés dans les figures 3.4 et 3.5 (influence du pH sur $E_{1/2}$ et sur i_{lim} si $C = 10^{-4}$ M) ainsi que dans les figures 3.8 et 3.9 (influence de la concentration sur $E_{1/2}$ et i_{lim}/C) montre que ces résultats sont en général indépendants de la nature du tampon qui fixe le pH de la solution. Sur les dix tampons différents que nous avons utilisés seul le tampon $H_3PO_4/H_2PO_4^-$ induit un comportement vraiment anormal (Fig. 3.6 et 3.7). Ce fait illustre sans doute la participation directe d'un orthophosphate à la séquence des processus élémentaires électrochimiques. ALIVISATOS et coll. (95) ont montré que le NADH et des composés modèles réagissent spontanément avec $H_2PO_4^-$ et d'autres anions semblables. Rappelons d'autre part (cf § 3.1.2.1) que lors d'électrolyses de solutions de NAD^+ au potentiel de la vague III, le rendement en NADH est augmenté en présence d'anions phosphates (ortho, pyro, tripoly, ou poly phosphates) (44 , 45). Enfin, il nous semble que si les vagues I' et III ont des hauteurs relatives $-i_{lim}/C$ qui dépendent beaucoup du milieu et de la concentration de réactif, ceci est sans doute dû au fait qu'elles sont situées le long d'une courbe courant-tension de

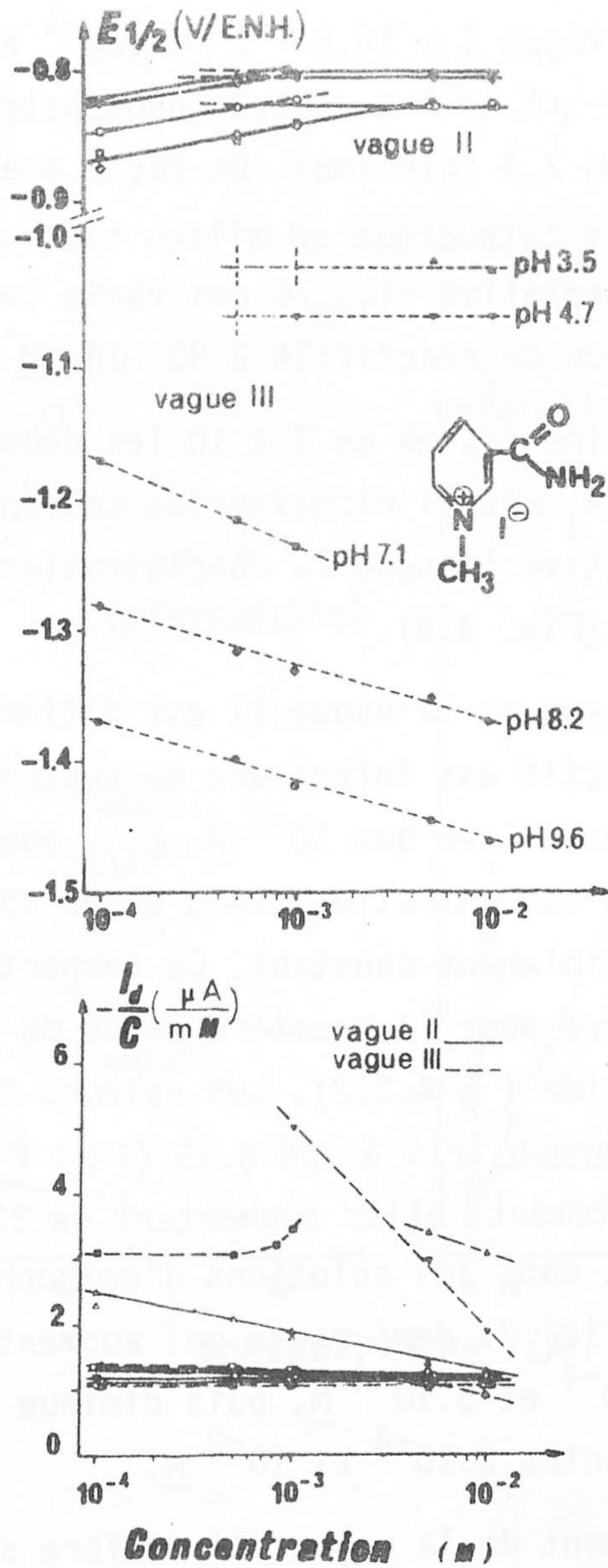


Fig.3.8 et 3.9 - Influence de la concentration de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée. Comportement des vagues II(—) et III(---) dans les tampons suivants : (Δ et \blacktriangle) formiate pH 3,56, (∇ et \blacktriangledown) acétate pH 4,68, (\square et \blacksquare) imidazole pH 7,15, (\diamond et \blacklozenge) tris pH 8,25 et (\circ et \bullet) borate pH 9,57.

Fig.3.8 - Influence de la concentration du réactif sur les potentiels de demi-vague.

Fig.3.9 - Influence de la concentration du réactif sur la hauteur relative des vagues.

Le glissement du potentiel de demi-vague des vagues II et III, lorsque la concentration de pyrimidine varie, révèle l'existence dans les mécanismes de réaction correspondant à ces deux vagues :

- soit d'étapes de réaction, d'ordre différent de l'unité, qui limiteraient la vitesse de transfert des électrons,
- soit de réactions d'oxydo-réduction réversibles conduisant à des produits en nombre différent des réactifs, les composés à potentiel chimique constant (solvant, solides, constituants du tampon) n'interviennent pas dans ce décompte (96).

3.2.3 - Influence des paramètres expérimentaux sur la réduction polarographique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide.

3.2.3.1 - Effet de la nature du tampon.

L'analyse des résultats présentés dans les figures 3.4 et 3.5 (influence du pH sur $E_{1/2}$ et sur i_{lim} si $C = 10^{-4}$ M) ainsi que dans les figures 3.8 et 3.9 (influence de la concentration sur $E_{1/2}$ et i_{lim}/C) montre que ces résultats sont en général indépendants de la nature du tampon qui fixe le pH de la solution. Sur les dix tampons différents que nous avons utilisés seul le tampon $H_3PO_4/H_2PO_4^-$ induit un comportement vraiment anormal (Fig. 3.6 et 3.7). Ce fait illustre sans doute la participation directe d'un orthophosphate à la séquence des processus élémentaires électrochimiques. ALIVISATOS et coll. (95) ont montré que le NADH et des composés modèles réagissent spontanément avec $H_2PO_4^-$ et d'autres anions semblables. Rappelons d'autre part (cf § 3.1.2.1) que lors d'électrolyses de solutions de NAD^+ au potentiel de la vague III, le rendement en NADH est augmenté en présence d'anions phosphates (ortho, pyro, tripoly, ou poly phosphates) (44 , 45). Enfin, il nous semble que si les vagues I' et III ont des hauteurs relatives $-i_{lim}/C$ qui dépendent beaucoup du milieu et de la concentration de réactif, ceci est sans doute dû au fait qu'elles sont situées le long d'une courbe courant-tension de

forme exponentielle qui elle-même dépend souvent de la nature du tampon et de la concentration de réactif: courbe de fond pour la vague I' et flanc d'un pic polarographique pour la vague III.

3.2.3.2 - Effet de la fréquence de chute des gouttes de mercure.

Le temps de goutte joue en polarographie un rôle inverse de celui de la vitesse de balayage des potentiels en voltamétrie sur électrode immobile. Son influence sur le potentiel de demi-vague est utilisée pour déterminer l'existence de réaction chimique consécutive ou simultanée à la réaction de transfert d'électrons (116). Son influence sur la hauteur de la vague étudiée permet de savoir si le processus limitant le courant est la diffusion du réactif, une cinétique de réaction ou une adsorption irréversible sur l'électrode.

En maintenant constant le débit de mercure, c'est-à-dire en pratique la hauteur de la colonne de mercure au-dessus du capillaire, nous avons étudié l'influence du temps de goutte imposé τ tant sur le potentiel de demi-vague que sur la hauteur de toutes les vagues de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotina-mide.

Pour un système électrochimique réversible comme Tl⁰/Tl⁺ ou Cd⁰/Cd⁺⁺ la fréquence de chute des gouttes de mercure n'a aucun effet sur le potentiel de demi-vague. Dans le cas de la réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide nous avons observé par contre que les potentiels des différentes vagues augmentent tous linéairement avec le logarithme du temps de goutte imposé τ . A pH 0,60 la première vague (I) se déplace très légèrement plus que la deuxième vague I' : $\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +30 \pm 2$ et $+22 \pm 4$ mV respectivement pour les vagues I et I' (Fig. 3.10). A pH 9,57 la première vague II se déplace un peu moins que la deuxième vague III : $\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +18 \pm 2$ et $+29 \pm 2$ mV respectivement pour les vagues II et III (Fig. 3.12). Il est remarquable que l'influence de la fréquence de chute des gouttes de mercure sur les potentiels de demi-vague soit identique pour les deux vagues de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en

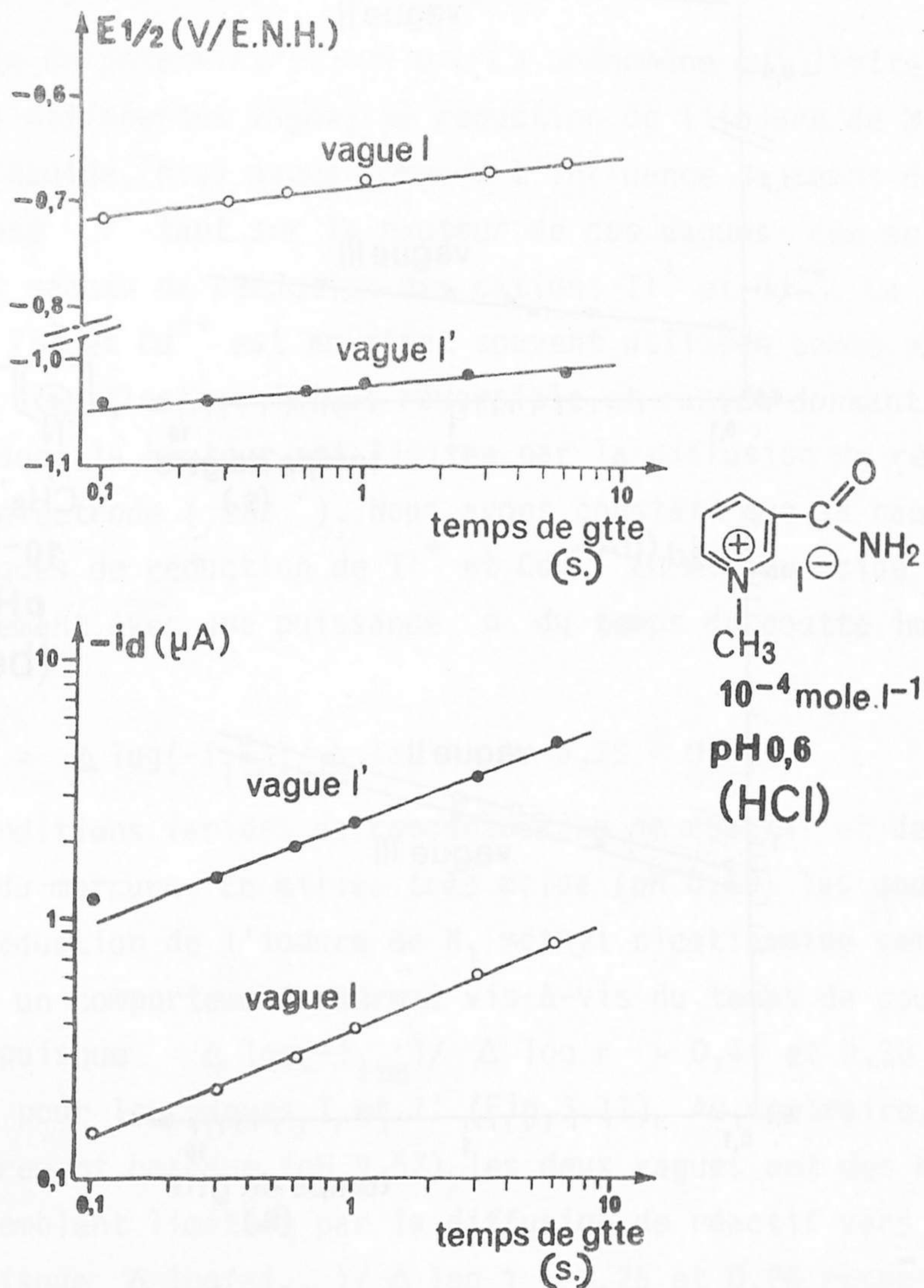


Fig.3.10 et 3.11 - Influence de la fréquence de chute des gouttes de mercure sur la réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide par polarographie à stillation commandée : solution 10^{-4} M dans un tampon 0,5 M en acide chlorhydrique (pH 0,58). La hauteur de la colonne de mercure est maintenue constante (35cm) au-dessus du capillaire n°10.

Fig.3.10 - Relation entre les potentiels de demi-vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

Fig.3.11 - Relation entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

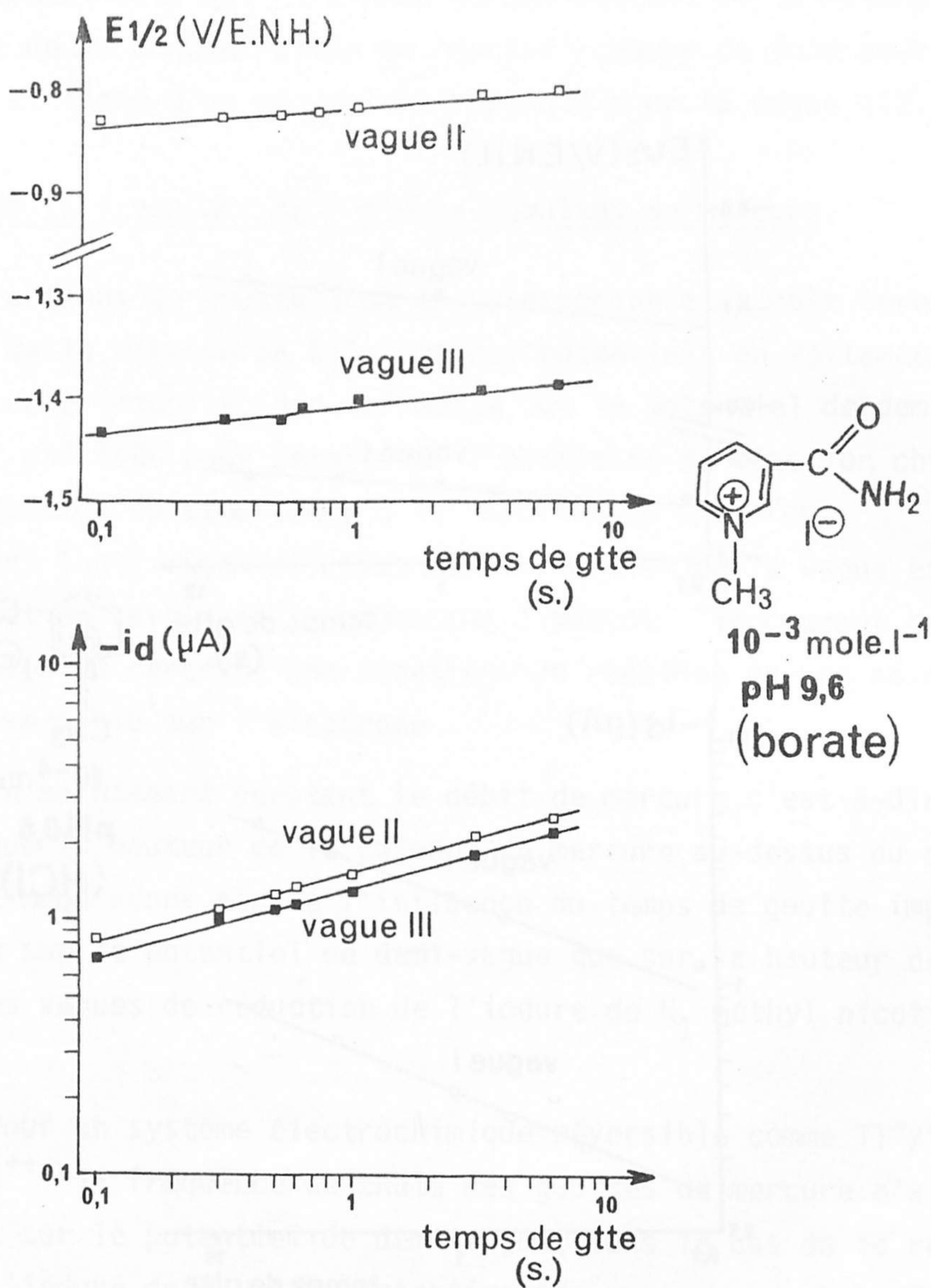


Fig.3.12 et 3.13 - Influence de la fréquence de chute des gouttes de mercure sur la réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide par polarographie à stillation commandée : solution 10^{-3} M dans un tampon $0,5 \text{ M}$ en acide borique et $0,5 \text{ M}$ en borate monopotassique (pH 9,57). La hauteur de la colonne de mercure est maintenue constante (35cm) au-dessus du capillaire n°10.

Fig.3.12 - Relation entre les potentiels de demi-vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

Fig.3.13 - Relation entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

milieu neutre ou légèrement basique (vagues II et III) et pour les deux vagues de réduction de la pyrimidine en milieu acide (vagues I et II) (cf § 4.2.3.3).

Afin de déterminer la nature du phénomène qui limite la hauteur des différentes vagues de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide, nous avons comparé l'influence du temps de goutte imposé τ tant sur la hauteur de ces vagues que sur la hauteur des vagues de réduction des cations Tl⁺ et Cd⁺⁺. La réduction de Tl⁺ et Cd⁺⁺ est en effet souvent utilisée comme exemple de réaction électrochimique réversible et rapide donnant des vagues dont la hauteur est limitée par la diffusion de réactif vers l'électrode (103). Nous avons constaté que la hauteur des vagues de réduction de Tl⁺ et Cd⁺⁺ en milieu acide varie linéairement avec une puissance α du temps de goutte imposé τ :

$$\alpha = \Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = 0,25 \pm 0,07$$

dans des conditions variées de concentration de réactif et de stillation du mercure. En milieu très acide (pH 0,60) les deux vagues de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide semblent avoir un comportement anormal vis-à-vis du temps de goutte imposé τ puisque $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = 0,44$ et $0,38$ respectivement pour les vagues I et I' (Fig.3.11). Au contraire, en milieu légèrement basique (pH 9,57), les deux vagues ont des hauteurs qui semblent limitées par la diffusion de réactif vers l'électrode puisque $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = 0,25$ et $0,26$ respectivement pour les vagues II et III (Fig. 3.13).

.2.3.3 - Effet de la température de la solution.

La température θ de la solution n'a en général d'effet important sur le potentiel des vagues polarographiques que si celui-ci dépend essentiellement d'une vitesse de réaction chimique ou électrochimique (97 à 101). Ceci n'est pas le cas des vagues I', II et III de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide puisque leur potentiel de demi-vague ne varie pas entre 0 et 40°C

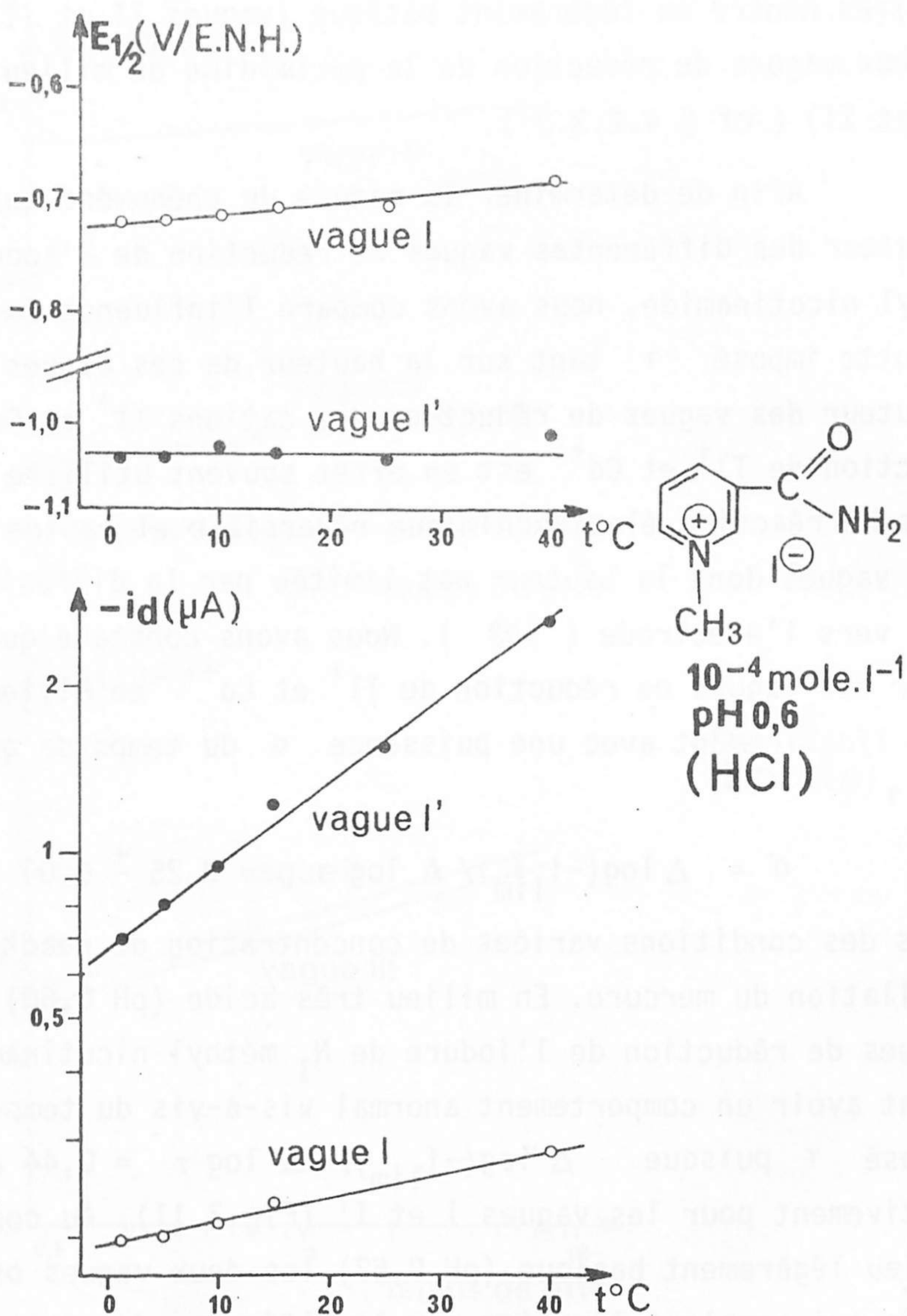


Fig.3.14 et 3.15 - Influence de la température sur la réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide par polarographie à stillation commandée : solution 10^{-4} M dans un tampon 0,5 M en acide chlorhydrique (pH 0,58). Conditions polarographiques : capillaire n°10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s.

Fig.3.14 - Relation entre les potentiels de demi-vague et la température.

Fig.3.15 - Relation entre le logarithme des hauteurs de vague et la température.

(Fig. 3.14 et 3.16). Par contre, le potentiel de la vague I augmente légèrement avec la température θ en milieu très acide (pH 0,60) puisque $\Delta E_{1/2} / \Delta \theta = +1,0 \text{ mV} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ (Fig. 3.14).

La valeur de l'influence de la température θ sur la hauteur des vagues polarographiques permet d'obtenir des indications sur le processus qui limite leur hauteur. D'après KOLTHOFF (102), ZUMAN (103), MEITES (104) et MAIRANOVSKIÏ (105) l'accroissement relatif de la hauteur de vague $\frac{\Delta i_{lim}}{i_{lim}} / \Delta \theta$

vaut généralement $1,6 \pm 0,4\% \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ si ce processus est la diffusion de réactif à l'électrode et plus de $2,5\% \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ si c'est une cinétique de réaction. D'après MAIRANOVSKIÏ (105)

l'adsorbabilité des solutés diminuant généralement lorsque la température augmente, une valeur négative de $\Delta |i_{lim}| / \Delta \theta$ permettrait d'affirmer que le courant est limité par une adsorption du réactif sur l'électrode. Nous avons déterminé la valeur de cet

accroissement relatif $\frac{\Delta i_{lim}}{i_{lim}} / \Delta \theta$ en portant $\log(-i_{lim})$ en fonction de θ pour les différentes vagues de réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide. En milieu très acide (pH 0,60) les deux vagues s'amplifient de façon fort différente puisque

$\frac{\Delta i_{lim}}{i_{lim}} / \Delta \theta = 0,92$ et $3,5\% \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ respectivement pour les vagues I

et I' (Fig. 3.15). Au contraire, en milieu légèrement basique (pH 9,57) les hauteurs des deux vagues varient de façon identique avec

la température puisque $\frac{\Delta i_{lim}}{i_{lim}} / \Delta \theta = 1,76\% \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$ pour les vagues

II et III (Fig. 3.17). Les valeurs numériques des accroissements relatifs des hauteurs de vague avec la température semblent donc exclure l'intervention d'un contrôle par cinétique chimique ou électrochimique, sauf peut-être par la vague I', ou par adsorption sur l'électrode pour les vagues de réduction I, II et III de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide en solution aqueuse.

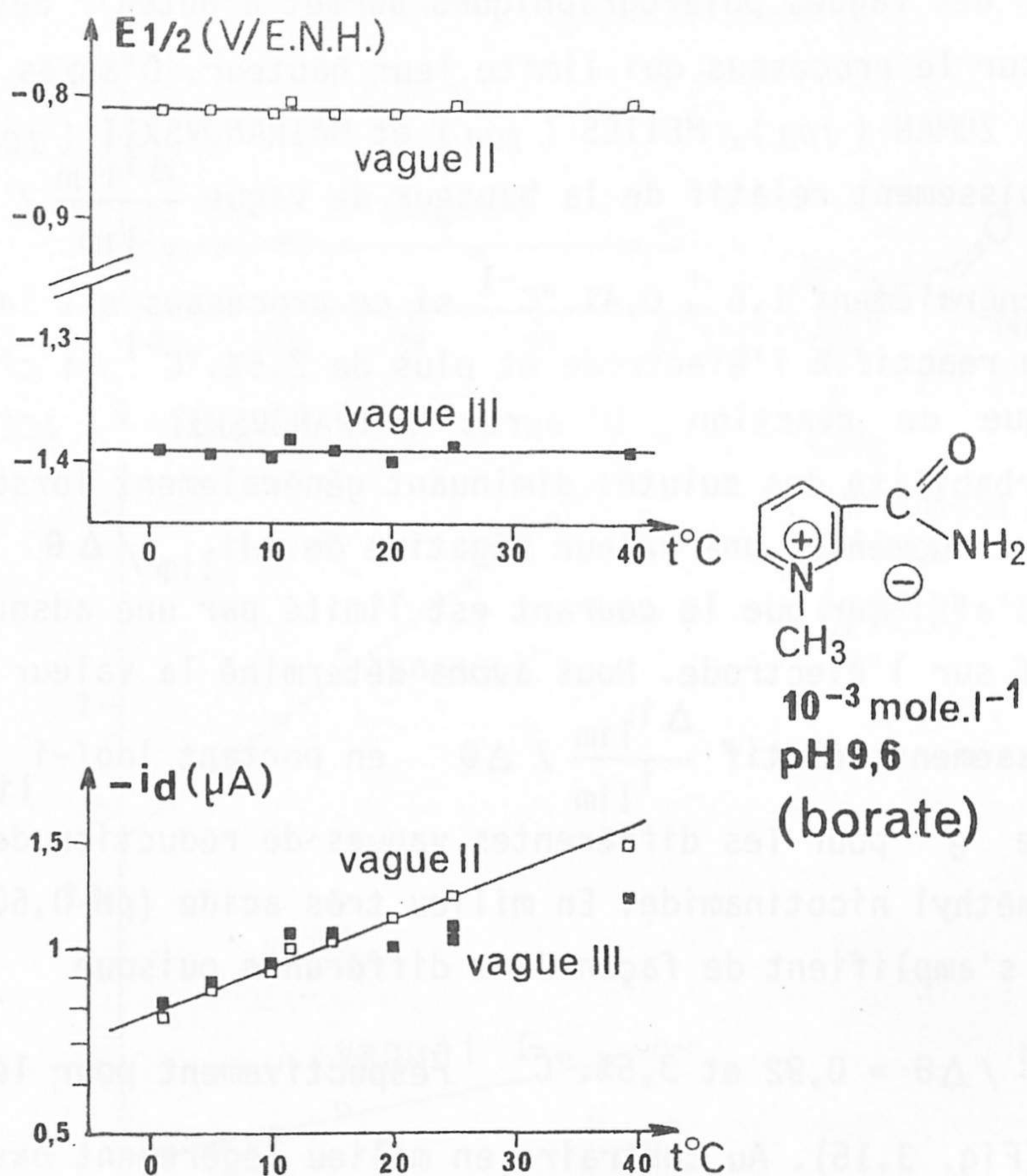


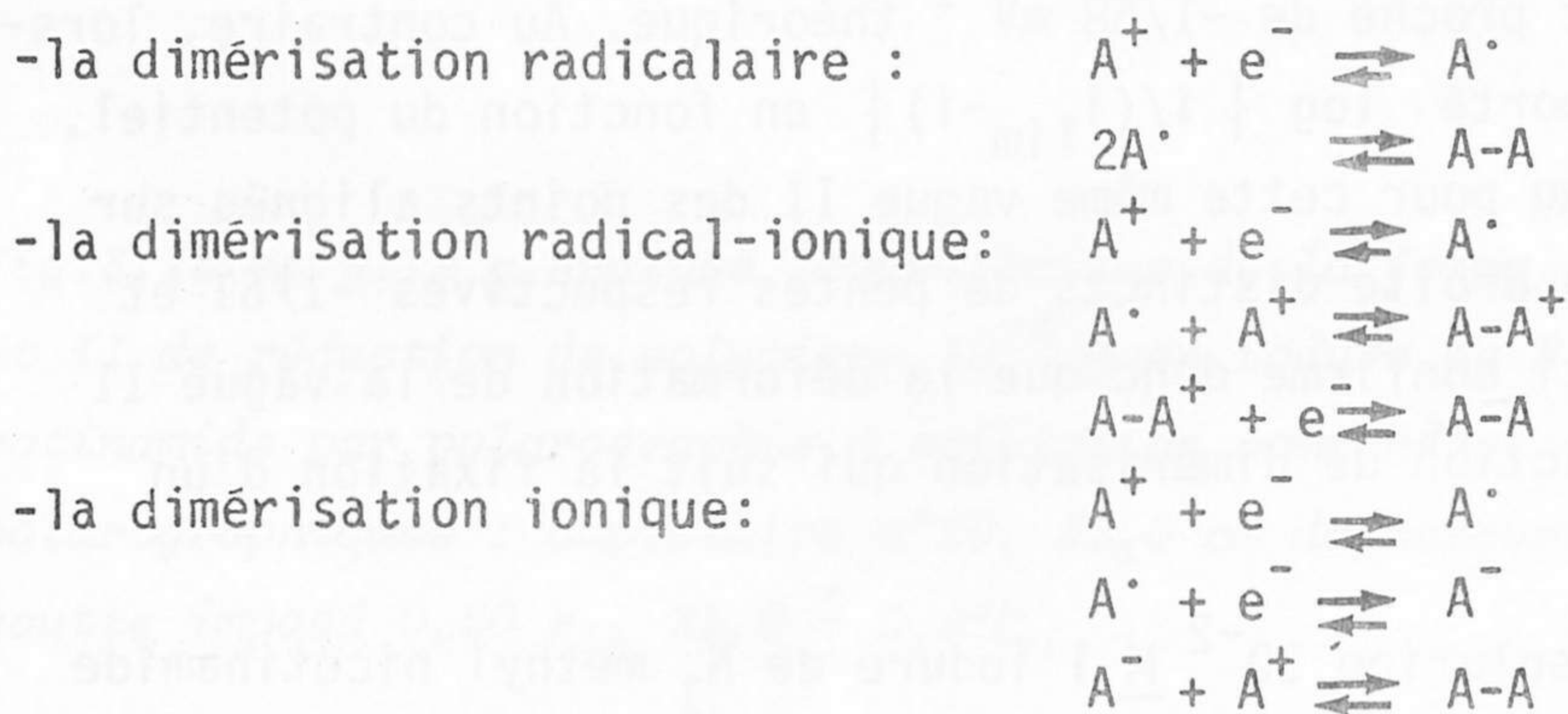
Fig.3.16 et 3.17 - Influence de la température sur la réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide par polarographie à stillation commandée : solution 10^{-3} M dans un tampon $0,5 \text{ M}$ en acide borique et $0,5 \text{ M}$ en borate monopotassique (pH 9,57). Conditions polarographiques : capillaire n°10 ,35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s.

Fig.3.16 - Relation entre les potentiels de demi-vague et la température.

Fig.3.17 - Relation entre le logarithme des hauteurs de vague et la température.

.2.3.4 - Analyse logarithmique de la forme des vagues.

L'effet de la concentration et du temps de goutte sur la position des deux vagues de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide est semblable à celui observé pour la pyrimidine (§ 4.2.2 et 4.2.3), les sels de N₁ alkyl pyridinium (106, 110) les aldéhydes et cétones aromatiques (107, 108, 109) et les sels d'immonium (111). Ce comportement a été généralement interprété comme dû à une réaction cinétiquement du deuxième ordre entre les produits d'une réduction réversible (113). A la suite des premiers travaux de KOUTECKY et HANUS (112) de nombreux auteurs ont étudié la dimérisation électrochimique soit par polarographie (106, 109), soit par voltamétrie à balayage linéaire simple (107) ou aller-retour (108, 114) de potentiel, soit par chronoampérométrie simple ou aller-retour (115). Récemment SAVÉANT et coll. (116, 118) ont précisé, par le calcul, le comportement de vagues polarographiques ou de pics voltamétriques en tenant compte d'une part des valeurs de la concentration de réactif par rapport à la constante d'équilibre de dimérisation et d'autre part de la vitesse de diffusion des espèces vers l'électrode par rapport à la vitesse de dimérisation. Ces auteurs ont analysé les différents mécanismes de réaction possibles, c'est-à-dire :



Lorsque la vitesse de la réaction de dimérisation influe sur la réaction globale à l'électrode, c'est-à-dire lorsque la vitesse de cette dimérisation n'est ni trop lente, ni trop rapide comparée à la vitesse de diffusion et lorsque l'équilibre de dimérisa-

tion est favorable à la formation prépondérante de dimère ($K.C \gg 1$ si K est la constante de cet équilibre de dimérisation), les effets de la concentration C et du temps de goutte τ sur $E_{1/2}$ permettent de distinguer entre ces trois types de mécanismes de dimérisation. En effet à 25°C :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log C = \Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +19,7 \text{ mV} \text{ si la dimérisation est radicalaire,}$$

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log C = \Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +29,6 \text{ mV} \text{ si la dimérisation est radical-ionique,}$$

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log C = \Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +14,6 \text{ mV} \text{ si la dimérisation est ionique.}$$

La valeur numérique que nous avons déterminée pour ces deux coefficients, respectivement $+19 \pm 1$ et $+18 \pm 2$ mV montre donc qu'en solution de concentration inférieure à 10^{-3} M la vague II correspondrait à un transfert électronique suivi d'une dimérisation radicalaire à vitesse limitée. D'après MAIRANOVSKII (113) et VOLKE (110) cette vague II devrait avoir pour équation :

$$E = \text{constante} - \frac{RT}{nF} \text{Log} \frac{i^{2/3}}{i_{lim} - i}$$

La figure 3.18 montre qu'en portant $\log \{i^{2/3}/(i_{lim} - i)\}$ en fonction du potentiel nous avons obtenu pour la vague II à pH 9,57 et dans une solution 10^{-4} M des points alignés sur une droite de pente $-1/68 \text{ mV}^{-1}$, donc proche de $-1/58 \text{ mV}^{-1}$ théorique. Au contraire, lorsque nous avons porté $\log \{i/(i_{lim} - i)\}$ en fonction du potentiel, nous avons obtenu pour cette même vague II des points alignés sur deux segments de droite distincts de pentes respectives $-1/61$ et $-1/53 \text{ mV}^{-1}$. Ceci confirme donc que la déformation de la vague II est due à la réaction de dimérisation qui suit la fixation d'un électron.

En solution 10^{-2} M l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide fournit, tant à pH 9,57 qu'à pH 4,68 (tampon acétate), une vague II de même forme qu'en solution diluée mais de pente

$$\log \{i^{2/3}/(i_{lim} - i)\} / \Delta E = -1/81 \text{ mV}^{-1}, \text{ plus faible.}$$

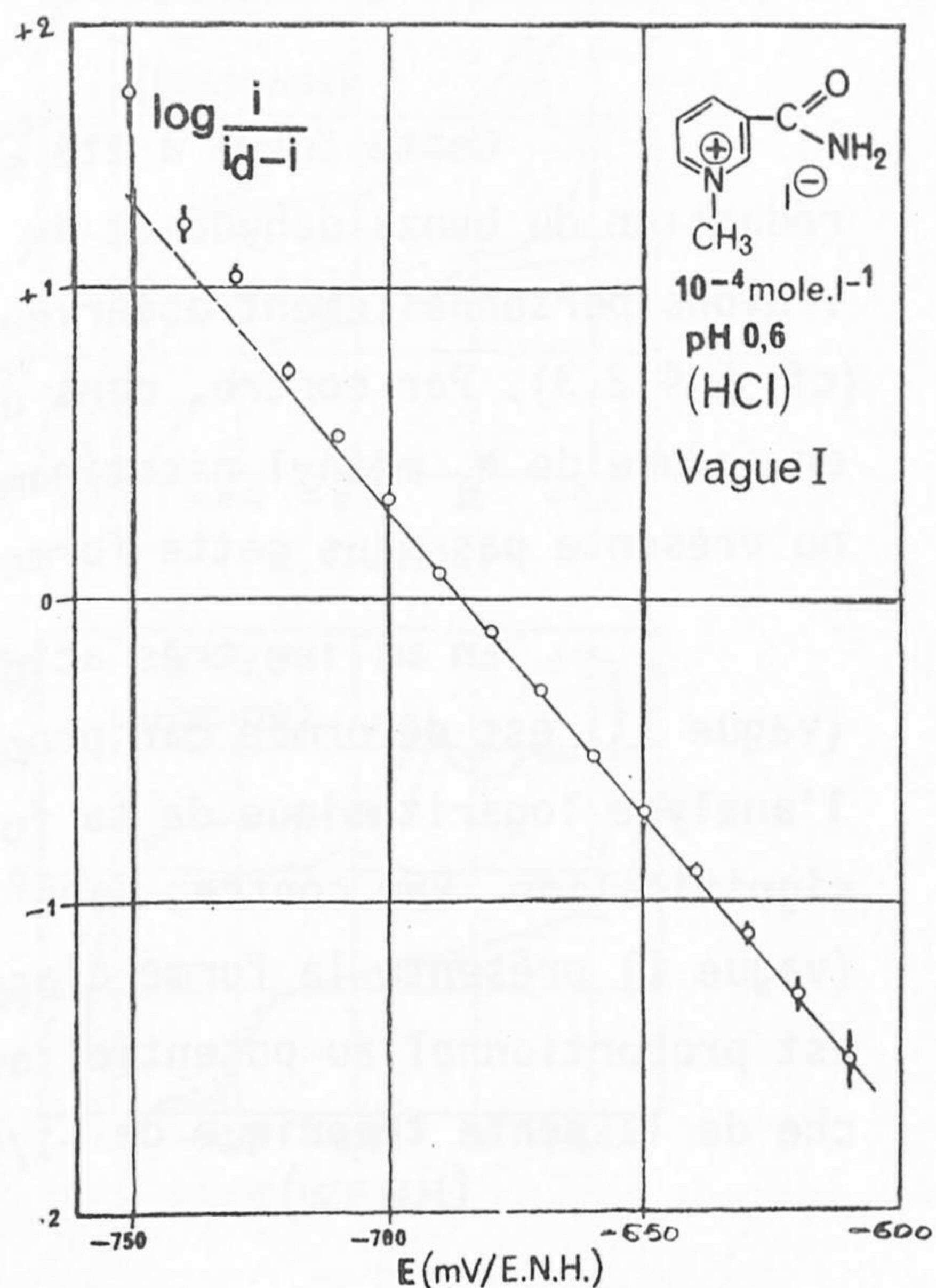
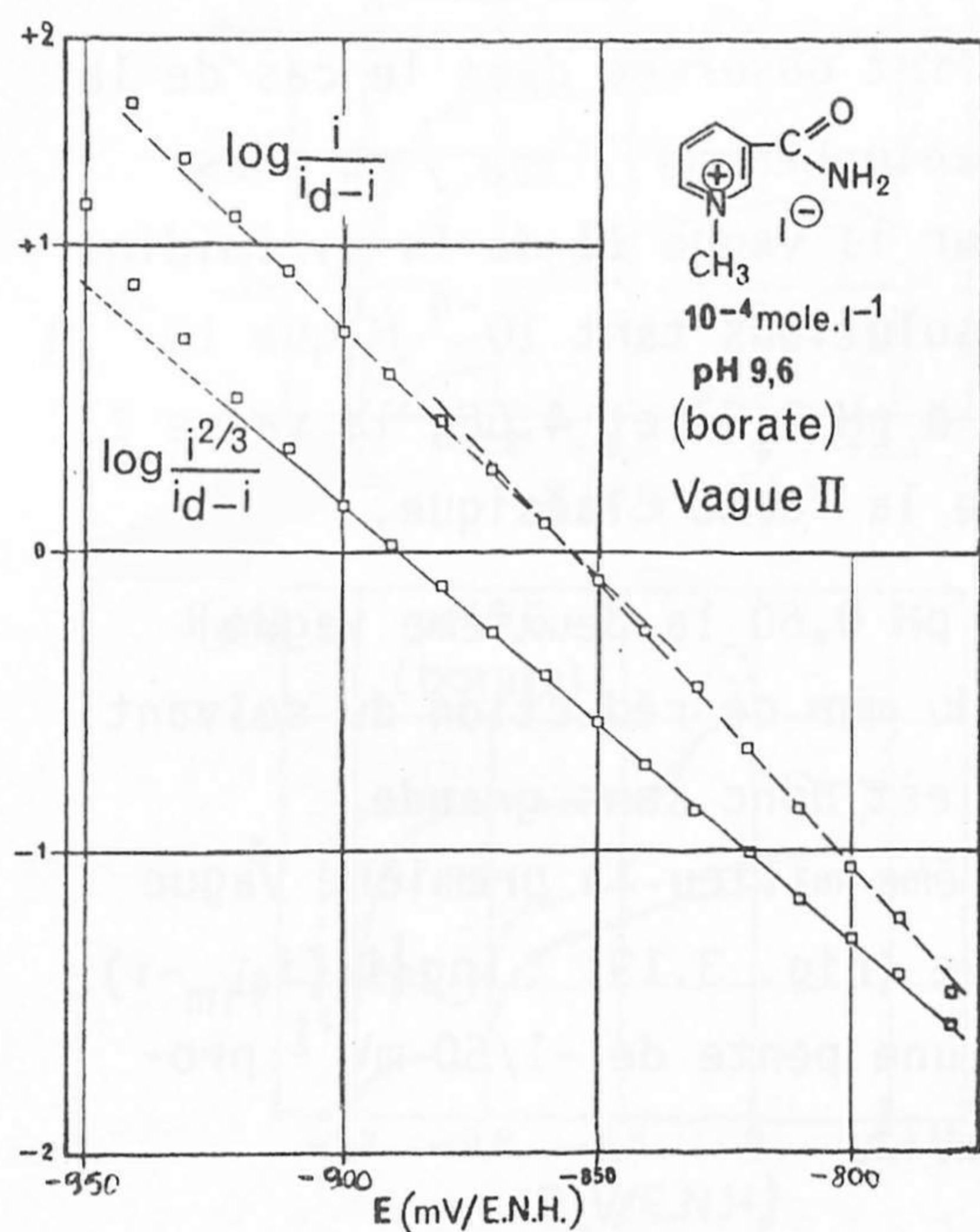


Fig.3.18 et 3.19 - Analyse logarithmique de la forme des vagues I et II de réduction de solutions 10^{-4} M en iodure de N_1 méthyl nicotinamide par polarographie à stillation commandée. Conditions polarographiques : capillaire n°10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s., $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

Fig.3.18 - Relation entre $\log \left\{ i^{2/3} / (i_d - i) \right\}$ et le potentiel (-----) et entre $\log \left\{ i / (i_d - i) \right\}$ et le potentiel (- - -) à pH 9,57 en tampon borate.

Fig.3.19 - Relation entre $\log \left\{ i / (i_d - i) \right\}$ et le potentiel (—) à pH 0,58 en tampon chlorhydrique.

Dans le cas où une réaction de dimérisation a lieu concurremment à une deuxième étape de réduction, MAIRANOVSKII (113) a montré que la deuxième vague devrait avoir pour équation si elle est lente :

$$E = \text{constante} - \frac{2}{3} \frac{RT}{\alpha nF} \text{Log} \frac{i^{3/2}}{i_{lim} - i}$$

Cette forme a été en effet observée dans le cas de la réduction du benzaldéhyde et de l'acétophénone (113) et nous l'avons personnellement observée pour la vague II de la pyrimidine (cf § 4.2.3). Par contre, dans des solutions tant 10^{-4} M que 10^{-2} M en iodure de N₁ méthyl nicotinamide à pH 9,57 et 4,68, la vague III ne présente pas plus cette forme que la forme classique.

En milieu très acide à pH 0,60 la deuxième vague (vague I') est déformée car proche du mur de réduction du solvant: l'analyse logarithmique de sa forme est donc sans grande signification. Par contre, dans le même milieu la première vague (vague I) présente la forme classique (Fig. 3.19) : $\log\{i/(i_{lim} - i)\}$ est proportionnel au potentiel avec une pente de $-1/50 \text{ mV}^{-1}$ proche de la pente théorique de $-1/58 \text{ mV}^{-1}$.

3.2.4 - Voltamétrie cyclique sur disque immobile de carbone vitreux: réduction et réoxydation.

De pH 6 à 10 l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en solution aqueuse 10^{-3} M donne un seul pic de réduction en voltamétrie à balayage rapide sur électrode immobile à disque de carbone vitreux. Comme l'illustrent les figures 3.20 et 3.21 le potentiel de ce pic, mesuré pour une vitesse de balayage du potentiel de $0,50 \text{ V.s}^{-1}$, ne dépend pas du pH :

$$\text{pic II} \quad E_p = -850 \pm 20 \text{ mV/E.N.H.}$$

Le potentiel de ce pic (o) est légèrement plus négatif (de 20 à 30 mV) que $E_{1/2}$ (□) de la première vague polarographi-

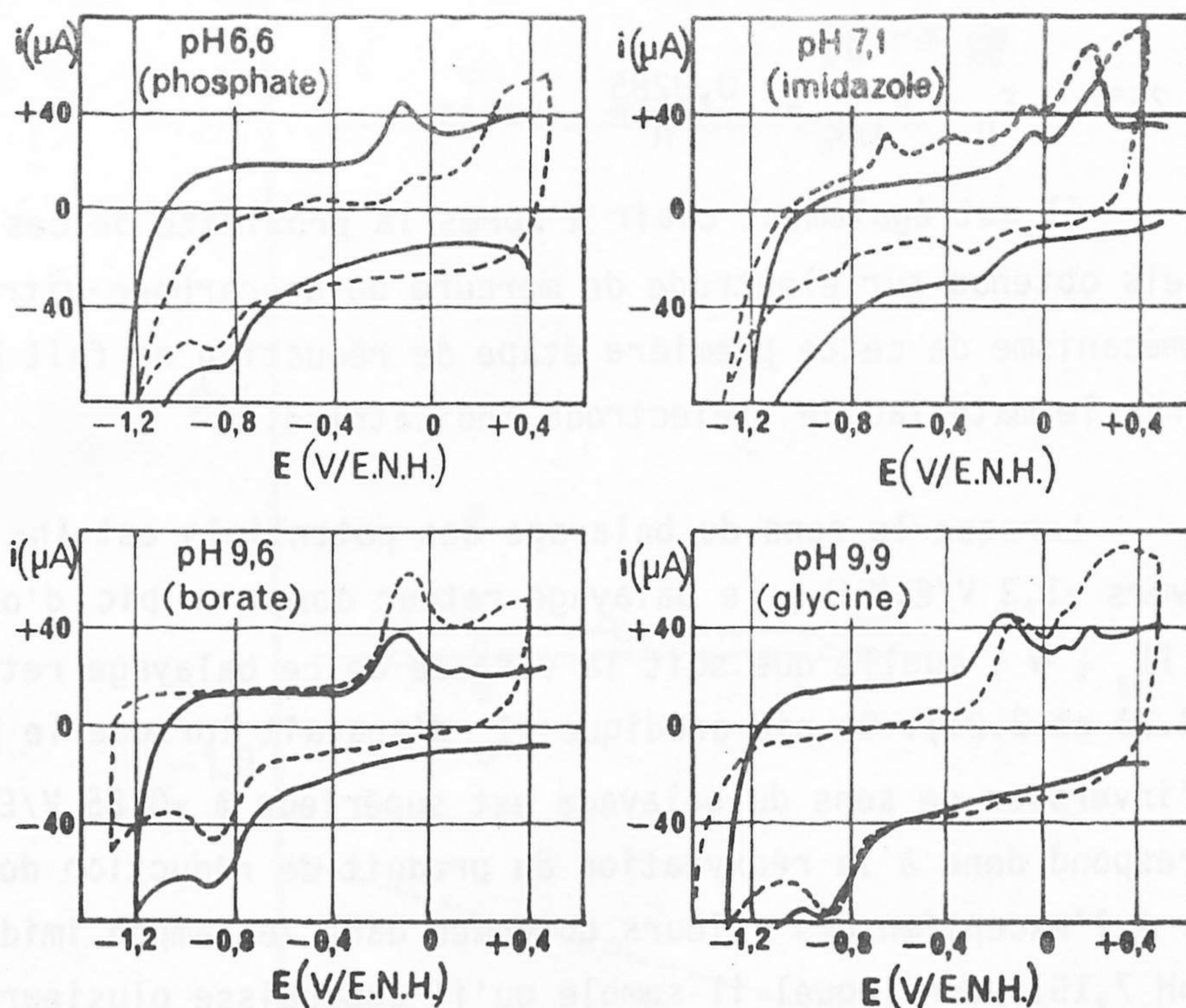


Fig. 3.20 - Voltamétrie cyclique de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide 10^{-3} M sur électrode immobile à disque de carbone vitreux polie mécaniquement avant chaque tracé. Courbes intensité-potentiels obtenues par balayage du potentiel de +0,4 à -1,3 V/E.N.H. puis de -1,3 à +0,4 V/E.N.H. (—). Courbes intensité-potentiels obtenues après électrolyse à -1,3 V/E.N.H. pendant 60 s par balayage du potentiel de -1,3 à +0,4 V/E.N.H. puis de +0,4 à -1,3 V/E.N.H. (---). Conditions expérimentales : disque de carbone vitreux de diamètre 1,4 mm, balayage du potentiel à $0,50 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$, tampons phosphate (pH 6,6), imidazole (pH 7,1), borate (pH 9,6) et glycine (pH 9,9).

que (vague II) relevée dans les mêmes conditions de concentration et de milieu. Ce résultat est en accord avec l'hypothèse d'un transfert réversible d'un électron; en effet dans ce cas on doit avoir (119):

$$E_p = E_{1/2} - 1,109 \frac{RT}{nF}$$

soit à 25°C : $E_p = E_{1/2} - \frac{0,0285}{n}$ volts.

Il est également clair d'après la proximité de ces potentiels obtenus sur électrode de mercure ou de carbone vitreux que le mécanisme de cette première étape de réduction ne fait pas intervenir le matériau de l'électrode indicatrice.

Lorsque le sens du balayage des potentiels est inversé vers -1,3 V/E.N.H., le balayage retour donne un pic d'oxydation II_0 (●) quelle que soit la vitesse de ce balayage retour (Fig. 3.20 et 3.21). Ce pic anodique II_0 disparaît lorsque le potentiel d'inversion de sens du balayage est supérieur à -0,85 V/ENH. Il correspond donc à la réoxydation du produit de réduction du pic II. A l'exception des valeurs obtenues dans le tampon imidazole (pH 7,15), pour lequel il semble qu'il apparaisse plusieurs pics de réduction et de réoxydation, le potentiel du pic II_0 anodique ne dépend pas du pH de la solution, ni de la nature du tampon lorsque le pH est compris entre 6 et 10. Lorsque les balayages en potentiel sont effectués, à l'aller comme au retour, à $0,50 \text{ V.s}^{-1}$, le pic II_0 a pour potentiel :

$$(E_p)_{II_0} = -110 \pm 20 \text{ mV/E.N.H.}$$

Sa hauteur et sa surface sont souvent voisines de celles du pic cathodique (Fig. 3.20). A l'exception encore des résultats obtenus avec le tampon imidazole (pH 7,15), une électrolyse pendant 60 s à -1,3 V (potentiel inférieur de 450 mV à celui du pic de réduction) ne modifie pas considérablement la forme des courbes intensité-potentiel ni la taille du pic de réoxydation (Fig.3.20).

L'absence d'effet du pH de la solution sur les poten-

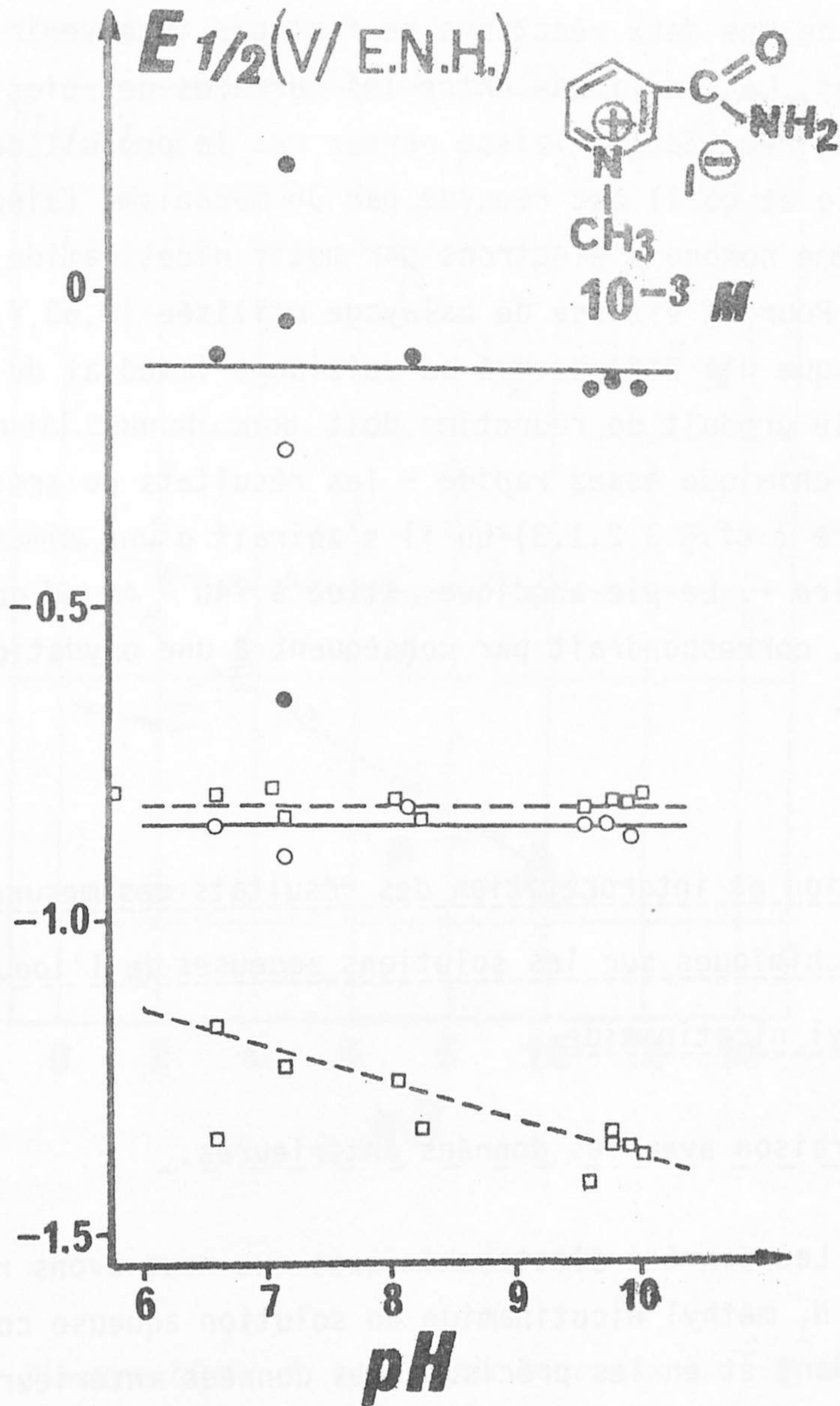


Fig.3.21 - Réduction de solutions aqueuses $10^{-3} M$ en iodure de N₁ méthyl nicotinamide par polarographie à stillation commandée (□) et par voltamétrie à balayage linéaire de potentiel ($0,5 V.s^{-1}$) sur électrode immobile à disque de carbone vitreux polie mécaniquement avant chaque tracé (○). Pic de réoxydation (●) observé en voltamétrie cyclique sur électrode immobile à disque de carbone vitreux si le balayage linéaire du potentiel ($0,5 V.s^{-1}$) est inversé à environ $-1,3 V/E.N.H.$ Influence du pH de la solution sur les potentiels de demi-vague (polarographie) et sur les potentiels de pic (voltamétrie).

tiels des pics de réduction et de réoxydation montre que les mécanismes de ces deux réactions ne font pas intervenir d'échange de protons. La similitude entre les surfaces des pics de réduction et de réoxydation laisse penser que le produit de réduction est stable et qu'il est réoxydé par un mécanisme faisant intervenir le même nombre d'électrons par motif nicotinamide que la réduction. Pour la vitesse de balayage utilisée ($0,50 \text{ V.s}^{-1}$) aucun pic anodique n'a été observé au voisinage immédiat du pic cathodique : le produit de réduction doit donc donner lieu à une réaction chimique assez rapide - les résultats polarographiques ont montré (cf. § 3.2.1.3) qu'il s'agirait d'une dimérisation radicalaire -. Le pic anodique, situé à $740 \pm 40 \text{ mV}$ du pic cathodique, correspondrait par conséquent à une oxydation du dimère A-A.

3.2.5 - Discussion et interprétation des résultats des mesures électrochimiques sur les solutions aqueuses de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide.

3.2.5.1 - Comparaison avec les données antérieures.

Les données électrochimiques que nous avons réunies sur l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en solution aqueuse confirment en les étendant et en les précisant, les données antérieures. Ces dernières concernent seulement la réduction polarographique de solutions de concentration voisine de 10^{-3} M en réactif et de pH généralement compris entre 5 et 10. Nous avons par conséquent comparé ces données à celles que nous avons obtenues par polarographie à stillation commandée de solutions 10^{-3} M en réactif (Fig. 3.22). Les quelques valeurs de potentiel de demi-vague relevées par LEACH et coll. (56) sont supérieures de 100 à 140 mV pour la vague II et égales pour la vague III aux valeurs que nous avons relevées à même pH. Les valeurs mesurées à pH 9,65 par CIUSA et coll. (55) sont en excellent accord avec les nôtres. Enfin, NAKAYA (40) a déter-

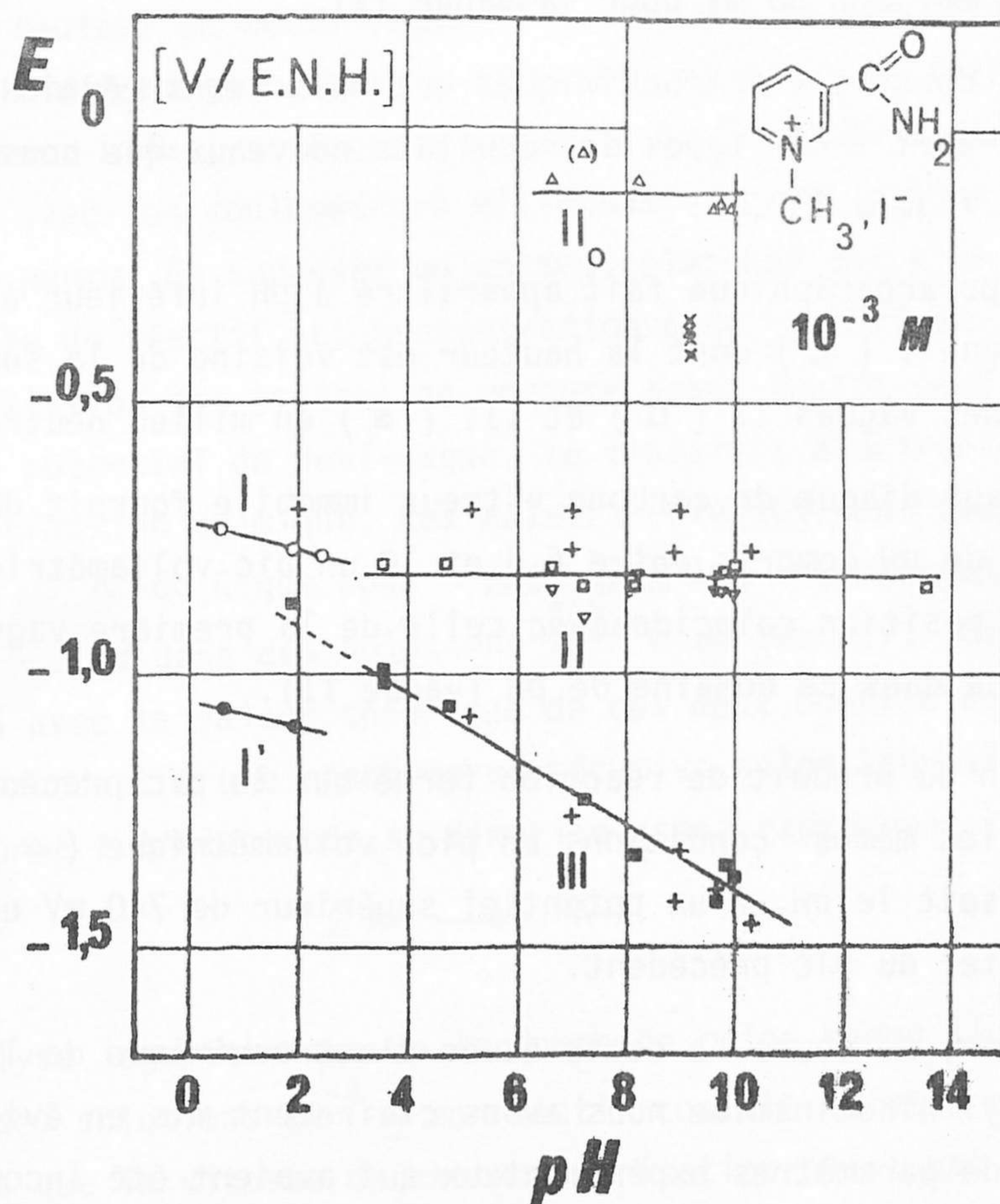


Fig. 3.22 - Electrochimie de solutions aqueuses $10^{-3} M$ en iodure de N_1 méthyl nicotinamide. Résultats antérieurs relatifs à la réduction polarographique de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide (+) (40, 55, 56) et à la potentiométrie de mélanges d'iodure de N_1 méthyl nicotinamide et de 1,4 dihydro N_1 méthyl nicotinamide en quantité équivalente et en présence de médiateur redox (x) (56). Résultats obtenus avec l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide par réduction par polarographie à stillation commandée (vagues I(O), I'(●), II(□) et III(■)) et par voltamétrie cyclique sur électrode immobile à disque de carbone vitreux tant en réduction (∇) qu'en réoxydation (Δ) à $0,5 V.s^{-1}$.

miné des potentiels de demi-vague qui, comparés à ceux que nous avons mesurés aux mêmes pH, sont supérieurs d'environ 40 mV pour la vague II et inférieurs d'environ 50 mV pour la vague III.

Les données électrochimiques que nous avons réunies apportent d'autre part trois types de résultats nouveaux que nous avons condensés sur la figure 3.2.2 :

- La réduction polarographique fait apparaître à pH inférieur à environ 3 une vague I (\circ) dont la hauteur est voisine de la somme des hauteurs des vagues II (\square) et III (\blacksquare) en milieu neutre.
- La réduction sur disque de carbone vitreux immobile fournit dans des solutions de pH compris entre 6,5 et 10 un pic voltamétrique II (∇) dont la position coïncide avec celle de la première vague polarographique dans ce domaine de pH (vague II).
- La réoxydation du produit de réaction formé sur le pic précédent fournit dans les mêmes conditions un pic voltamétrique (Δ) II si tué, quelque soit le pH, à un potentiel supérieur de 740 mV environ au potentiel du pic précédent.

Enfin, au cours de cette étude électrochimique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide nous avons clairement mis en évidence l'influence de paramètres expérimentaux qui avaient été incomplètement étudiés (concentration de réactif) ou totalement oubliés (nature du tampon, temps de goutte, température). Nous avons relevé l'influence de ces facteurs tant sur la hauteur des vagues polarographiques, ce qui dans quelques cas avait été partiellement réalisé, que sur la valeur de leur potentiel de demi-vague. C'est grâce à la combinaison de ces résultats expérimentaux que nous pouvons envisager de reprendre et de préciser les hypothèses relatives aux mécanismes de ces processus.

3.2.5.2 - Interprétation des résultats en termes de mécanismes de réactions.

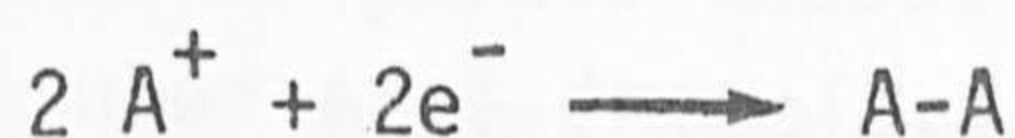
a) Lorsque le pH est compris entre 3 et 10 la première étape de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide, tant sur goutte de mercure à stillation commandée que sur disque de carbone

vitreux, est celle pour laquelle les résultats sont les plus nombreux et les plus concordants. L'absence d'effet du pH sur la position et sur la hauteur de cette vague II montre que la réduction ne fait intervenir d'échange de proton ni avant, ni après le transfert des électrons. L'analyse logarithmique de la forme de cette vague II, en accord avec les coulométries effectuées sur son palier de diffusion (52) permet de supposer qu'un seul électron est alors fixé sur une molécule de réactif. La concentration C de réactif et la période τ de stillation des gouttes de mercure ayant toutes deux une influence sur le potentiel de demi-vague, le transfert électronique est suivi d'une réaction chimique. Les valeurs relevées tant pour

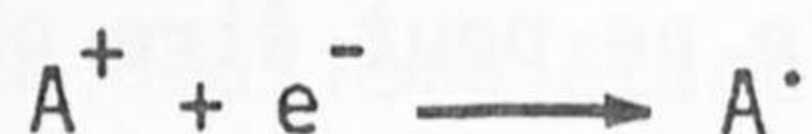
$\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$ que pour $\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau$, respectivement 19 ± 1 et 18 ± 2 mV dans des solutions 10^{-4} M en réactif, sont en excellent accord avec la valeur théorique de ces deux coefficients (19,7 mV) correspondant à une réaction consécutive selon laquelle le radical A^\cdot , formé à l'électrode, se dimérise assez rapidement :



L'analyse logarithmique de la forme de cette vague II dans des solutions 10^{-4} M en réactif conduit au même mécanisme. Notons que la vitesse de cette dimérisation n'est pas assez élevée pour que le mécanisme de la réduction à l'électrode soit :



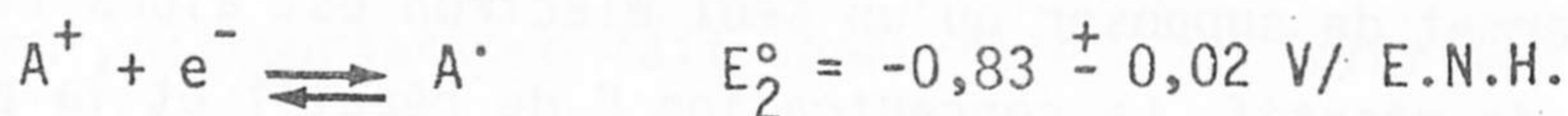
En effet si c'était le cas $E_{1/2}$ augmenterait de 60 mV par décade de concentration et ne dépendrait pas du temps de goutte imposé. Le potentiel de la vague II correspond donc au seul transfert électronique :



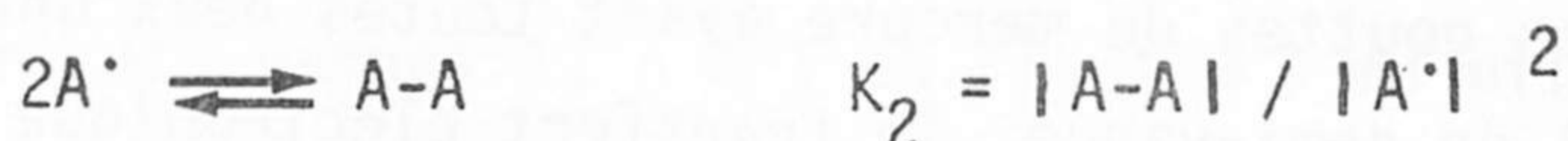
la réaction de dimérisation n'intervenant sur la forme et la position de cette vague que par modification de la concentration de radical libre A^\cdot au voisinage de l'électrode. Ceci est en accord avec la réversibilité du transfert électronique mise en évidence par voltamétrie cyclique à balayage très rapide de potentiel (20 à 50 V/s.) avec des solutions aqueuses de chlorure de N_1 méthyl nicotinamide (44) :

UNDERWOOD et coll. (44) ont observé dans ces conditions, au cours du balayage retour, un pic anodique décalé de 10 à 50 mV seulement du pic cathodique.

Finalement cette première étape de réduction en solution aqueuse diluée de pH compris entre 3 et 10 correspond à



suivie de



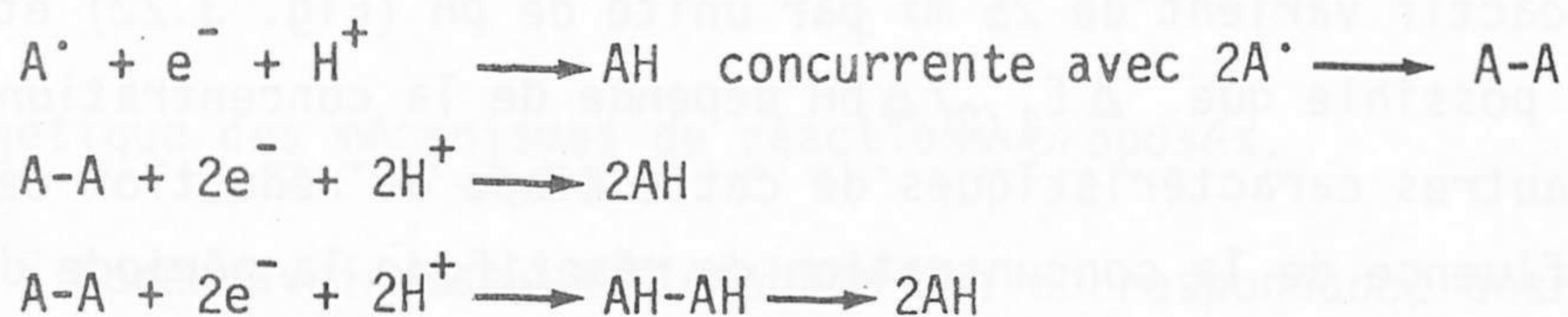
Lorsque pour le même domaine de pH, c'est-à-dire de pH 3 à 10, la concentration de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide est supérieure à environ 10⁻⁵ M, la vague II garde la même forme correspondant à

$$E = \text{constante} + B \log \frac{i^{2/3}}{i_{\text{lim}}^{-1}}$$

mais la constante B devient bien supérieure à 60 mV. Le comportement de cette vague II vis-à-vis de la concentration de réactif change alors considérablement puisque E_{1/2} n'augmente plus avec cette concentration mais reste constant ou même diminue très faiblement. Puisque E_{1/2} est indépendant de la concentration totale de réactif A⁺, il se pourrait que, préalablement à sa réduction et lorsque sa concentration est supérieure à environ 1 mM, celui-ci se dimérise en A⁺ — A⁺.

b) Toujours pour les pH compris entre 3 et 10, la deuxième étape de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide est située à un potentiel si négatif qu'elle ne peut être observée que sur électrode de mercure. Même lorsque cette vague III n'est pas déformée et présente une hauteur sensiblement égale à celle de la vague II (pH compris entre 8 et 10), il n'est pas possible de définir complètement et avec sûreté le mécanisme de cette deuxième étape de réduction tant les phénomènes observés sont complexes. L'égalité des hauteurs des vagues II et III conduit à penser que lors de cette deuxième étape de

réduction un seul électron est à nouveau fixé sur une molécule de réactif. La variation de $E_{1/2}$ avec le pH, pour une même concentration de réactif, est égale à 60 mV par unité de pH. Il est donc probable que le nombre de protons fixé par molécule de réactif soit égal au nombre d'électrons donc à un. Les électrolyses effectuées au potentiel de cette vague III ayant fourni des rendements élevés en un dérivé dihydro, il est permis de penser que le produit de cette deuxième étape de réduction de A^+ est finalement AH. Plusieurs mécanismes de réaction sont alors possibles :

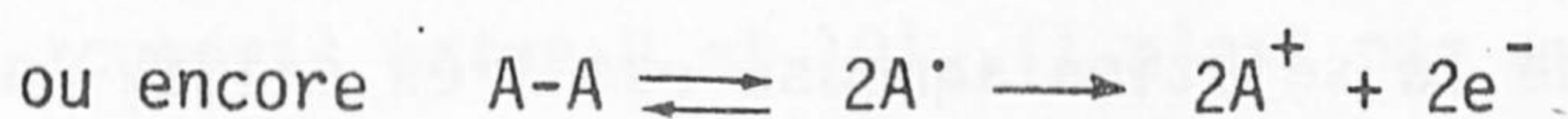
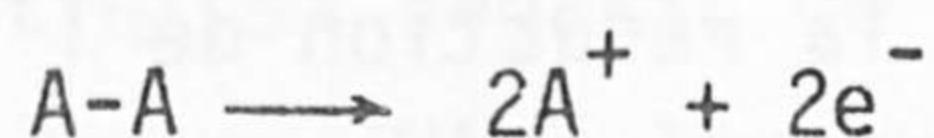


L'importance des effets sur $E_{1/2}$ de la concentration totale de réactif C ($\Delta E_{1/2} / \Delta \log C = -43 \pm 2 \text{ mV}$) et du temps de goutte imposé τ ($\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +29 \pm 2 \text{ mV}$) montre que la réaction électrochimique est complexe et fait certainement intervenir une ou plusieurs réactions chimiques antérieures, concurrentes ou postérieures au transfert des électrons et protons. L'absence d'effet de la température sur le potentiel de demi-vague montre que celui-ci ne dépend pas essentiellement d'une cinétique de réaction. La comparaison de l'influence du temps de goutte imposé sur la hauteur de cette vague et sur la hauteur des vagues de réduction de Tl^{+} et Cd^{++} conduit au même résultat : le phénomène qui limite le courant de la vague III est bien la diffusion de réactif vers l'électrode. Seule l'étude de la réoxydation du ou des produits de réduction de cette vague III, soit par voltamétrie cyclique à balayage rapide de potentiel, soit par voltamétrie sur électrode disque-anneau, permettra sans doute d'élucider le mécanisme de cette deuxième étape de la réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide en milieu neutre ou basique.

c) Lorsque le pH de la solution aqueuse est très acide, la première étape de réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide (vague I) est, comme le processus correspondant à la vague III, d'une grande complexité et les résultats obtenus ne permettent pas encore d'in-

interpréter toutes ses caractéristiques. La hauteur de la vague I est sensiblement double de celle des vagues II et III en milieu basique, donc il est probable que dans ces conditions deux électrons soient fixés simultanément sur une molécule de réactif. Cependant si la vague I était bien équivalente à la somme des vagues II et III son potentiel de demi-vague devrait diminuer d'environ 30 mV par unité de pH et non de 70 mV comme nous l'avons relevé dans les solutions 10^{-4} M. Cette caractéristique de la vague I est elle-même d'exploitation difficile puisque les quelques valeurs de $E_{1/2}$ relevées dans des solutions 10^{-3} M en réactif varient de 25 mV par unité de pH (Fig. 3.22) et qu'il est donc possible que $\Delta E_{1/2}/\Delta \text{pH}$ dépende de la concentration de réactifs. Les autres caractéristiques de cette étape de réduction telles que l'influence de la concentration de réactif, de la période de stillation du mercure et de la température sur le potentiel et la hauteur de la vague I n'ont pu encore être interprétées en terme de mécanisme de réaction.

d) La voltamétrie cyclique à balayage modérément rapide (0,5 V/s) sur disque immobile de carbone vitreux nous a montré, qu'entre pH 6,5 et 10, la position du pic de réoxydation du produit de la première étape de réduction ne dépend pas du pH. Cette étape de réoxydation ne contient donc pas d'échange de proton. La surface du pic anodique au cours du balayage retour étant assimilable à celle du pic cathodique, nous pouvons supposer que le nombre d'électrons échangés pour cette réoxydation est le même qu'à la réduction, c'est-à-dire un électron par motif N_1 méthyl nicotinamide. Comme le produit de la première étape de réduction est en milieu neutre le dimère A-A, cette étape de réoxydation pourrait correspondre à l'un des mécanismes de réaction suivants



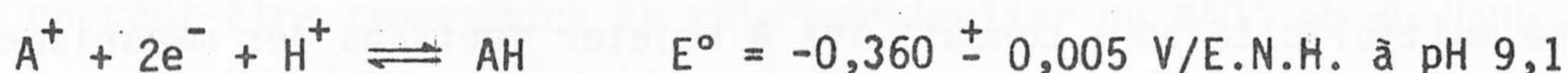
Seule une étude plus complète, en particulier de l'influence de la concentration de réactif et de la vitesse de balayage des potentiels,

permettrait de choisir entre ces hypothèses .

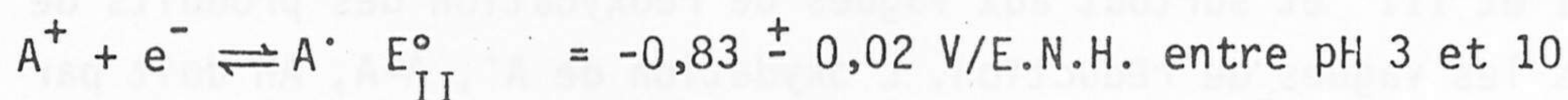
En conclusion, la détermination des étapes réactionnelles correspondant aux potentiels de transition redox de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide ou de ses dérivés réduits, relevés par polarographie, voltamétrie ou potentiométrie, n'en est encore sur certains points qu'au stade des hypothèses. Il existe cependant un cas où le mécanisme peut sembler convenablement établi: il s'agit de la première étape de réduction de solutions diluées de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide de pH compris entre 3 et 10.

3.2.5.3 - Energétique des mécanismes de réactions proposés.

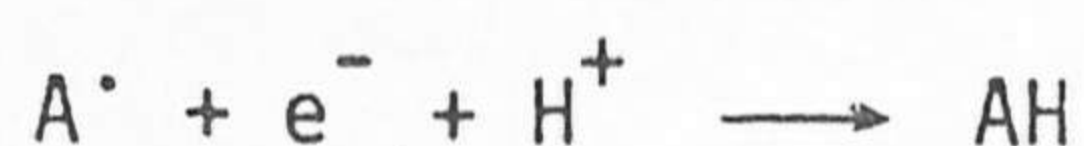
Après avoir essayé d'établir une correspondance entre potentiel et mécanisme de réaction séparément pour chaque phénomène observé, il est ensuite nécessaire d'effectuer un contrôle interne sur l'ensemble de ces hypothèses en appliquant les lois d'additivité. Nous considérons comme correctement établi le potentiel normal E° du couple A⁺/AH relevé par potentiométrie d'un mélange d'iodure de N₁ méthyl nicotinamide et de 1,4 dihydro N₁ méthyl nicotinamide en présence de médiateur redox (56) :



La deuxième réaction que nous pouvons considérer comme définie quant à son potentiel est celle qui correspond à la vague ou au pic II :



Ainsi que nous l'avons montré au § 3.1.2.4 à partir des données électrochimiques publiées sur le NAD, un des mécanismes proposés pour l'interprétation de la vague III doit être exclu. En effet



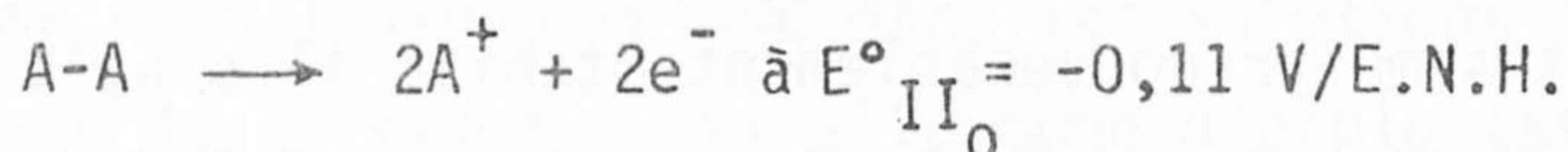
ne peut s'effectuer à $E_{III}^\circ \simeq -1,35 \text{ V/E.N.H. à pH } 9,1$
(valeur de E_{1/2} de la vague III à ce pH) puisque l'on devrait

avoir

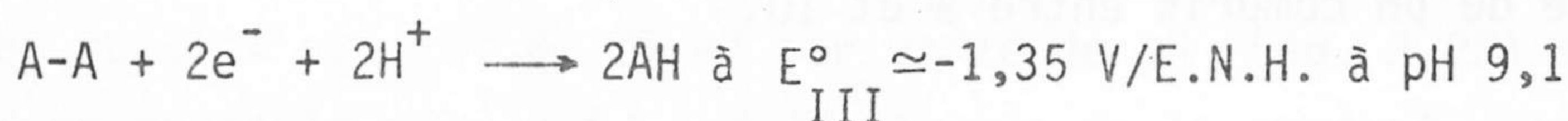
$$E^{\circ} = \frac{1}{2} (E^{\circ}_{II} + E^{\circ}_{III})$$

or $E^{\circ} = -0,36$ V/E.N.H. et $\frac{1}{2} (E^{\circ}_{II} + E^{\circ}_{III}) = -1,09$ V/E.N.H.

De même, si nous supposons que l'oxydation de A-A (pic II_0) s'effectue selon



la vague III ne peut correspondre à



puisque l'on devrait avoir

$$E^{\circ} = \frac{1}{2} (E^{\circ}_{III} + E^{\circ}_{II_0})$$

et que $\frac{1}{2} (E^{\circ}_{III} + E^{\circ}_{II_0})$ est égal à $-0,73$ V/E.N.H.

Malgré le grand nombre de caractéristiques électrochimiques que nous avons recueillies sur l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide en solution aqueuse, il reste donc beaucoup d'indéterminations. En fait la multiplicité des résultats que nous avons obtenus a eu surtout une conséquence négative au niveau des interprétations. Cette multiplicité nous conduit ici à rejeter certains des mécanismes antérieurement proposés mais non démontrés, puisqu'ils conduisent à des combinaisons incohérentes. Les indéterminations qui apparaissent ainsi pourront certainement être levées en étudiant en détail le mécanisme des réactions correspondant aux vagues de réduction I et III et surtout aux vagues de réoxydation des produits de toutes les vagues de réduction. L'oxydation de A^* , A-A, AH doit par exemple fournir un nouvel ensemble de mécanismes de réactions qui, ajouté aux mécanismes dès à présent connus, devrait permettre de dégager une interprétation de toutes les réactions d'oxydo-réduction relatives à ce composé modèle du NAD^+ .

3.2.5.4 - Effets spécifiques de certains milieux.

Les résultats obtenus dans la plupart des solutions tampons utilisées sont cohérents, c'est-à-dire peuvent être reliés les uns aux autres par continuité, en ne tenant compte que de la seule valeur du pH imposé et non en outre de la nature du tampon. C'est cette continuité des phénomènes observés d'un tampon à l'autre que nous avons exploité précédemment pour dégager des hypothèses interprétatives. Il est cependant nécessaire de revenir maintenant sur les anomalies qui semblent liées à l'emploi de tampons particuliers. Le tampon imidazole (pH 7,1) fait apparaître un comportement particulier de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en voltamétrie cyclique sur disque immobile de carbone vitreux. Mais surtout le tampon phosphate (pH 1,9) entraîne un effet tout à fait particulier de la concentration de réactif sur la première vague polarographique (vague I) puisque celle-ci se dédouble dès que cette concentration est supérieure à environ $7 \cdot 10^{-4}$ M en donnant deux vagues dont la première a une hauteur indépendante de la concentration de réactif. Il nous semble donc indispensable de déterminer le mode d'action de l'acide orthophosphorique et des orthophosphates sur les réactions d'oxydo-réduction relatives à notre composé modèle du NAD⁺. Ainsi pourrait-on peut-être comprendre le rôle particulier du NAD⁺ et du NADH dans la phosphorylation oxydative.

3.3 - Etude électrochimique de la nicotinamide en solution aqueuse.

Dans le but d'illustrer l'importance de la quaternisation de l'azote pyridinique sur les propriétés d'oxydo-réduction des pyridines substituées, nous avons entrepris l'étude de la réduction électrochimique de la nicotinamide en solution aqueuse. En effet les données électrochimiques publiées sur ce réactif forment un ensemble qui n'est ni très cohérent, ni très étendu (Fig. 3.39) (40 , 43 , 55 , 62 , 67 , 68 , 69).

3.3.1 - Réduction de solutions aqueuses très diluées de nicotinamide sur goutte de mercure en stillation commandée. Influence du pH de la solution.

Si la concentration de nicotinamide est inférieure à environ $2 \cdot 10^{-4}$ M tous les phénomènes observés restent quantitativement comparables lorsque cette concentration varie .

Pour mettre en évidence l'influence du pH de

la solution sur la position et la hauteur des vagues polarographiques dans ces solutions très diluées, nous comparerons les résultats obtenus pour une même concentration de réactif, par exemple 10^{-4} M. Nous reviendrons ensuite au § 3.32 sur les répercussions que pourraient avoir un changement de concentration de référence sur les conclusions quantitatives que nous allons présenter.

La réduction polarographique de la nicotinamide en solution très diluée ($C < 2 \cdot 10^{-4}$ M) fait apparaître de pH 0 à 10 une vague (vague I) qui se déplace vers les potentiels plus négatifs lorsque le pH augmente. En milieu acide, de pH inférieur à 4, cette vague est généralement suivie par une deuxième vague (vague II) assez mal définie car proche du mur de réduction des protons : celle-ci se déplace aussi vers les potentiels plus négatifs lorsque le pH augmente.

La figure 3.23 présente les variations des potentiels de demi-vague de ces deux vagues avec le pH des solutions de nicotinamide 10^{-4} M. Ces variations sont linéaires et ont pour expression:

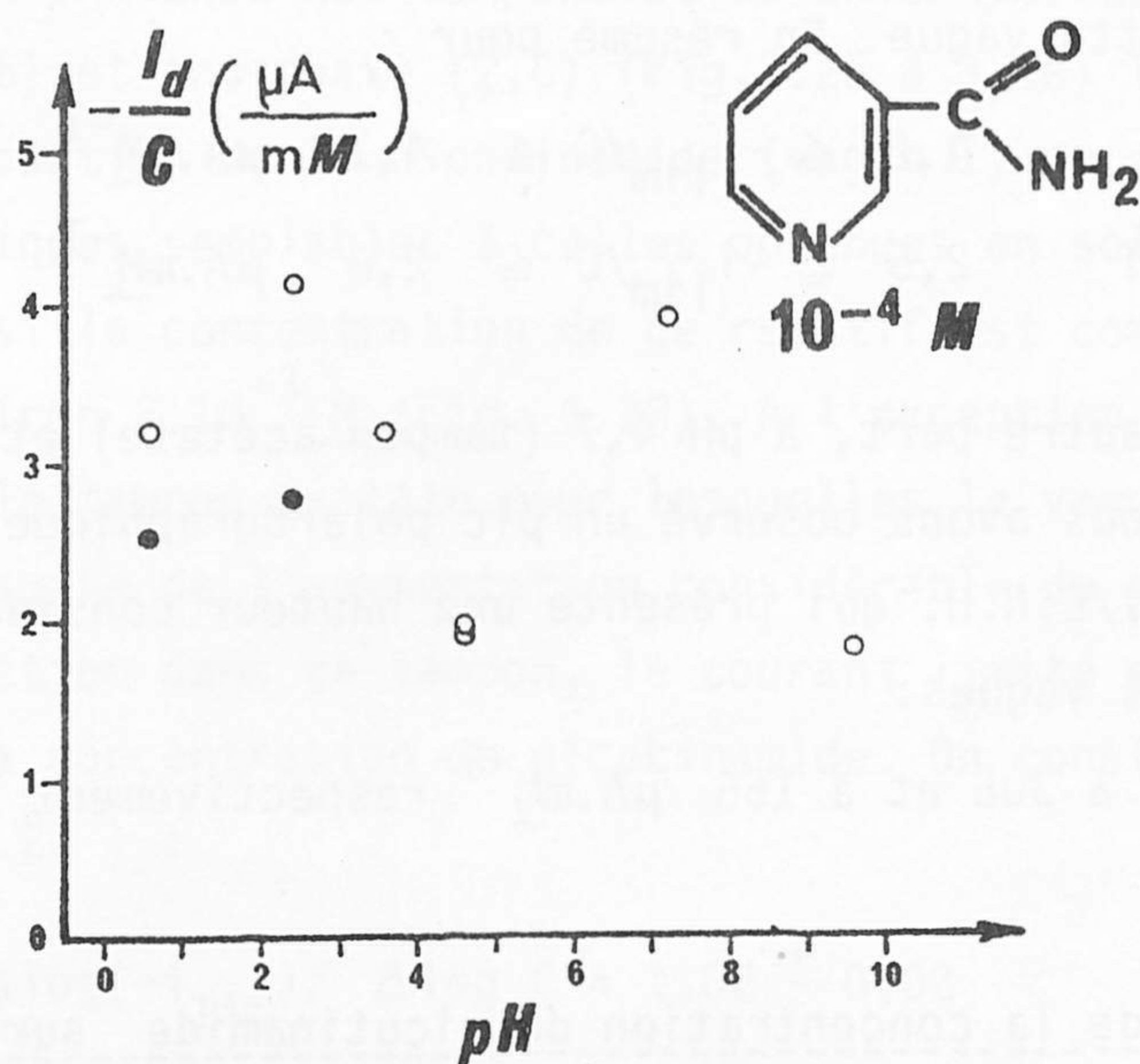
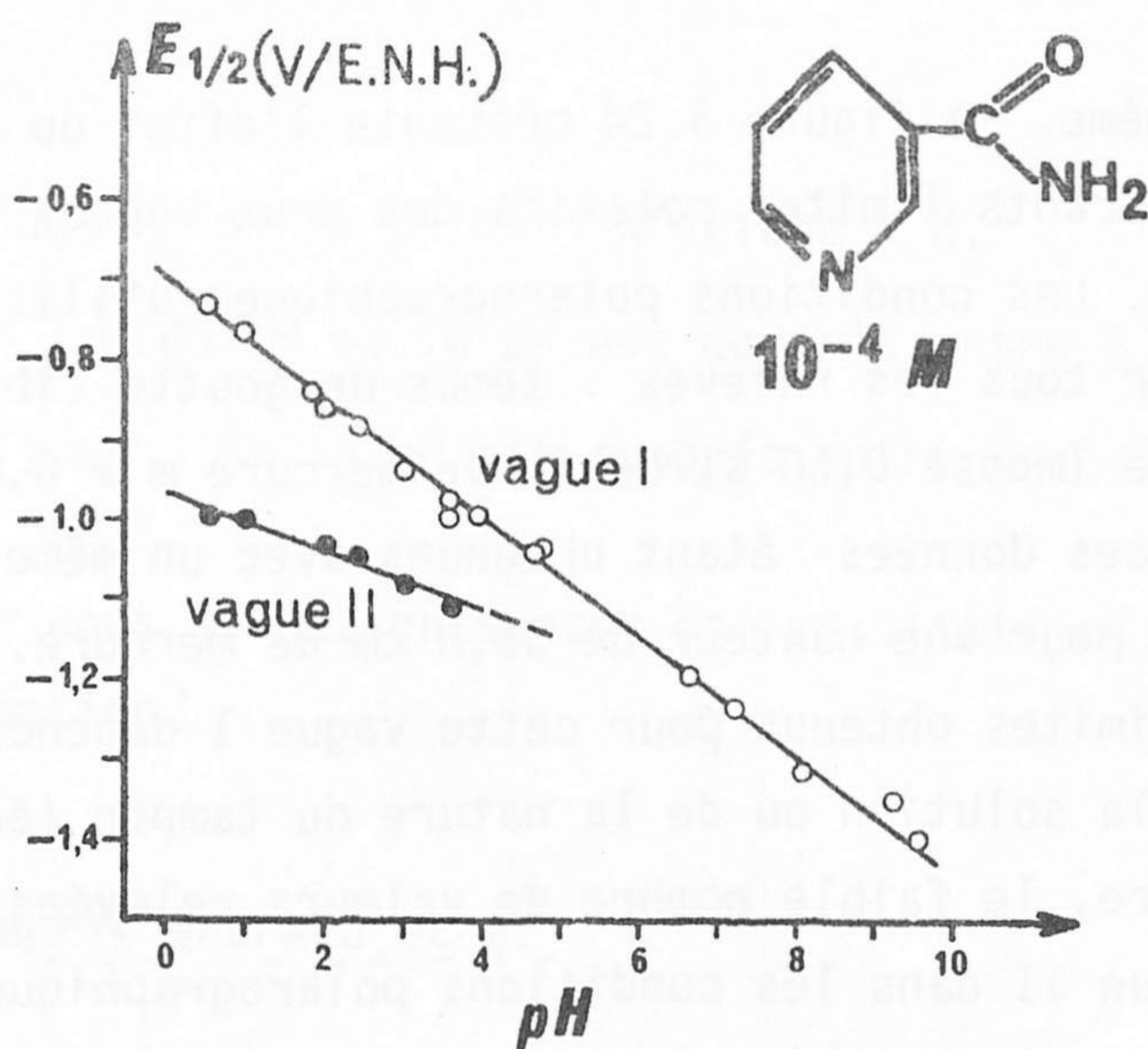


Fig. 3.23 et 3.24 - Réduction de solutions aqueuses $10^{-4} M$ de nicotine amide sur goutte de mercure à stillation commandée: (O) vague I et (●) vague II. Conditions polarographiques: capillaire n°10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, $25,0 \pm 0,2^\circ C$.

Fig. 3.23 - Influence du pH sur les potentiels de demi-vague.

Fig. 3.24 - Influence du pH sur les hauteurs relatives des vagues.

vague I $E_{1/2} = (-690-75 \text{ pH}) \pm 20 \text{ mV/E.N.H.}$

vague II $E_{1/2} = (-970-30 \text{ pH}) \pm 10 \text{ mV/E.N.H.}$

De même, la figure 3.24 présente l'effet du pH sur les valeurs des courants limites relatifs des deux vagues pour des solutions 10^{-4} M . Les conditions polarographiques utilisées sont identiques pour tous les relevés : temps de goutte libre $9,5 \pm 0,5 \text{ s}$, temps de goutte imposé $0,50 \text{ s}$, débit de mercure $\dot{m} = 0,86 \pm 0,03 \text{ mg.s}^{-1}$, $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$, ces données étant obtenues avec un même capillaire (référéncé 10) pour une hauteur de $35,0 \text{ cm}$ de mercure. On note que les courants limites obtenus pour cette vague I dépendent fortement du pH de la solution ou de la nature du tampon (écarts maxima $\pm 40\%$). En outre, le faible nombre de valeurs relevées pour la hauteur de la vague II dans les conditions polarographiques précédentes ne permet pas d'attacher une signification générale aux hauteurs relatives à cette vague. En résumé pour :

- la vague I $1,8 \leq -i_{lim}/C \leq 4,1 \text{ } \mu\text{A.mM}^{-1}$
- la vague II $2,5 \leq -i_{lim}/C \leq 2,8 \text{ } \mu\text{A.mM}^{-1}$

D'autre part, à pH 4,7 (tampon acétate) et pH 6,6 (tampon phosphate) nous avons observé un pic polarographique noté IV à $-1480 \pm 10 \text{ mV/E.N.H.}$ qui présente une hauteur considérable à l'échelle des autres vagues :

$-i_p/C$ est égal à 306 et à 166 $\mu\text{A.mM}^{-1}$ respectivement à pH 4,77 et 6,64.

3.3.2 - Influence de la concentration de nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée.

De même que pour la pyrimidine (cf § 4.2.2), la concentration de nicotinamide joue un rôle déterminant lorsqu'elle dépasse un certain seuil, sur la nature des processus de réduction observés. En effet, lorsque les solutions de nicotinamide ne sont plus très diluées, la vague I est dédoublée : les deux vagues qui la remplacent ont des hauteurs différentes et la somme de leurs hauteurs relatives est éga-

le à la hauteur relative de la vague I au même pH. La valeur de la concentration au-dessus de laquelle cette vague I est ainsi dédoublée est de :

$2 \pm 0,5 \text{ mM}$ si le pH est inférieur à 2,

$0,25 \pm 0,05 \text{ mM}$ si le pH est compris entre 2 et 7,

$4 \pm 1 \text{ mM}$ si le pH est compris entre 7 et 10.

C'est pourquoi nous allons présenter nos résultats en fonction de leur pH d'obtention.

3.3.2.1 - pH compris entre 0 et 2.

En présence des tampons acide chlorhydrique (pH 0,6) oxalate (1,6) et phosphate (2,0) (Fig.3.25 à 3.28) la première vague de réduction de la nicotinamide (vague I) ne garde des caractéristiques semblables à celles obtenues en solution très diluée que si la concentration de ce réactif est comprise entre 10^{-5} et environ $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ (Fig. 3.36). A l'exception des solutions dans le tampon oxalate, pour lesquelles la vague I est déformée par suite de l'augmentation considérable du potentiel du mur de réduction dans ce tampon, le courant limite est proportionnel à la concentration de nicotinamide. On constate en effet que (Fig. 3.27) :

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log C = 1,02 \pm 0,02$$

et que la hauteur relative $-i_{lim}/C$ varie au plus de 15% avec C (Fig. 3.28). Le potentiel $E_{1/2}$ de la vague I décroît légèrement lorsque dans une même solution tampon la concentration de nicotinamide augmente de 10^{-5} à $2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ($\Delta E_{1/2} / \Delta \log C = -16 \text{ mV}$ à pH 2,0 en tampon phosphate (Fig. 3.25). La pente de cette vague I repérée par $1/|E_{3/4} - E_{1/4}|$ est compatible avec un mécanisme correspondant à l'échange rapide d'un seul électron ($1/(45 \pm 5) \text{ mV}^{-1}$) (Fig.3.26) puisque la valeur théorique est alors de $1/56 \text{ mV}^{-1}$. L'analyse logarithmique de la forme de la va-

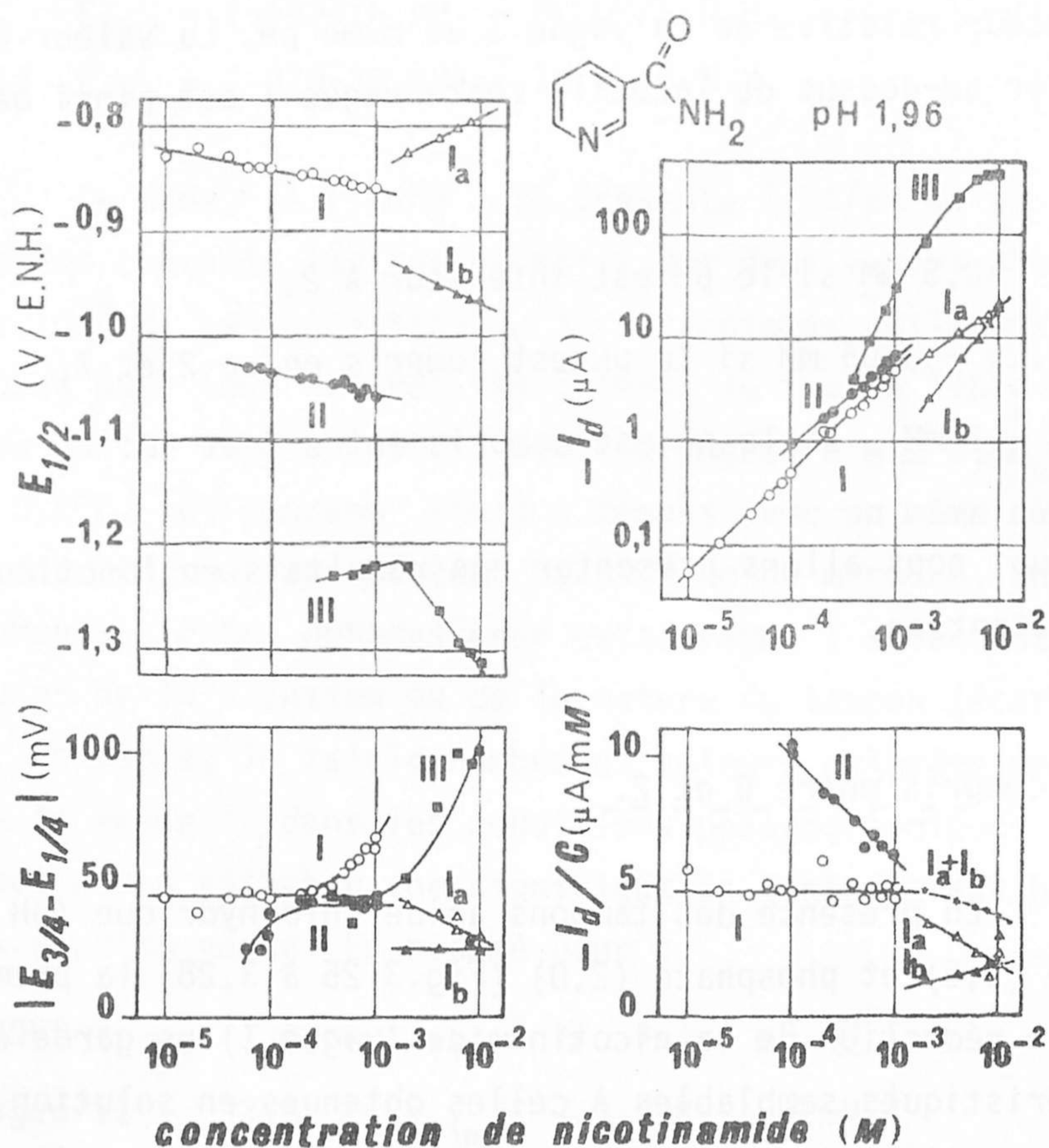


Fig. 3.25 à 3.28 - Influence de la concentration de nicotinamide en solution dans un tampon phosphate (pH 1,96) sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée : (O) vague I, (Δ) vague I_a , (\blacktriangle) vague I_b , (\bullet) vague II et (\blacksquare) vague III. Conditions polarographiques : capillaire n°8, 35cm de mercure, temps de goutte libre 4,4 s et imposé 0,50 s, $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$, 250 mV/mm.

Fig.3.25 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.26 - Relations entre les pentes des vagues et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.27 - Relations entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.28 - Relations entre les hauteurs relatives de vague et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

que I relevée pour une solution chlorhydrique (pH 0,60) contenant de la nicotinamide à la concentration 10^{-4} M confirme que cette forme est celle qui correspond classiquement à un nombre d'électrons échangés voisin de l'unité.

Les points obtenus en portant $\log \{i/(i_{lim} - i)\}$ en fonction du potentiel sont en effet alignés sur une droite de pente $-1/53 \text{ mV}^{-1}$ (valeur théorique pour un transfert rapide monoélectronique : $-1/59 \text{ mV}^{-1}$).

Lorsque la concentration de nicotinamide est comprise entre environ $2 \cdot 10^{-3}$ M et $2 \cdot 10^{-2}$ M la vague I est remplacée par deux vagues notées I_a et I_b qui sont d'autant mieux séparées que la concentration est plus élevée. Les vagues I_a et I_b restent malgré tout assez proche l'une de l'autre, elles sont déformées et il est difficile de leur attribuer des caractéristiques précises de position, de hauteur et surtout de forme.

Lorsque, dans le tampon orthophosphate (pH 1,96), on soustrait la courbe intensité-potentiel obtenue en présence de tampon seul de celle obtenue en présence de nicotinamide, il apparaît, outre la vague I non dédoublée et la vague II déjà décrite, une troisième vague notée III à des potentiels très négatifs (-1230 mV/E.N.H.) (Fig. 3.25). Celle-ci a une hauteur qui varie approximativement comme le carré de la concentration de nicotinamide si la concentration est inférieure à environ $2 \cdot 10^{-3}$ M puis tend vers une valeur limite de $370 \mu\text{A}$ si la concentration tend vers 10^{-2} M (Fig. 3.27). Son potentiel reste à peu près constant si la concentration est inférieure à $2 \cdot 10^{-3}$ M puis diminue très rapidement (-130 mV par décade de concentration) pour les concentrations supérieures à $2 \cdot 10^{-3}$ M (Fig. 3.25).

3.2.2 - pH compris entre 2 et 7.

En présence des tampons citrate (pH 2,0), glycine (2,4) formiate (3,6) (Fig. 3.29), citrate (3,9), acétate (4,8) (Fig. 3.30 à 3.33) et phosphate (6,6), la première vague de réduction de la ni-

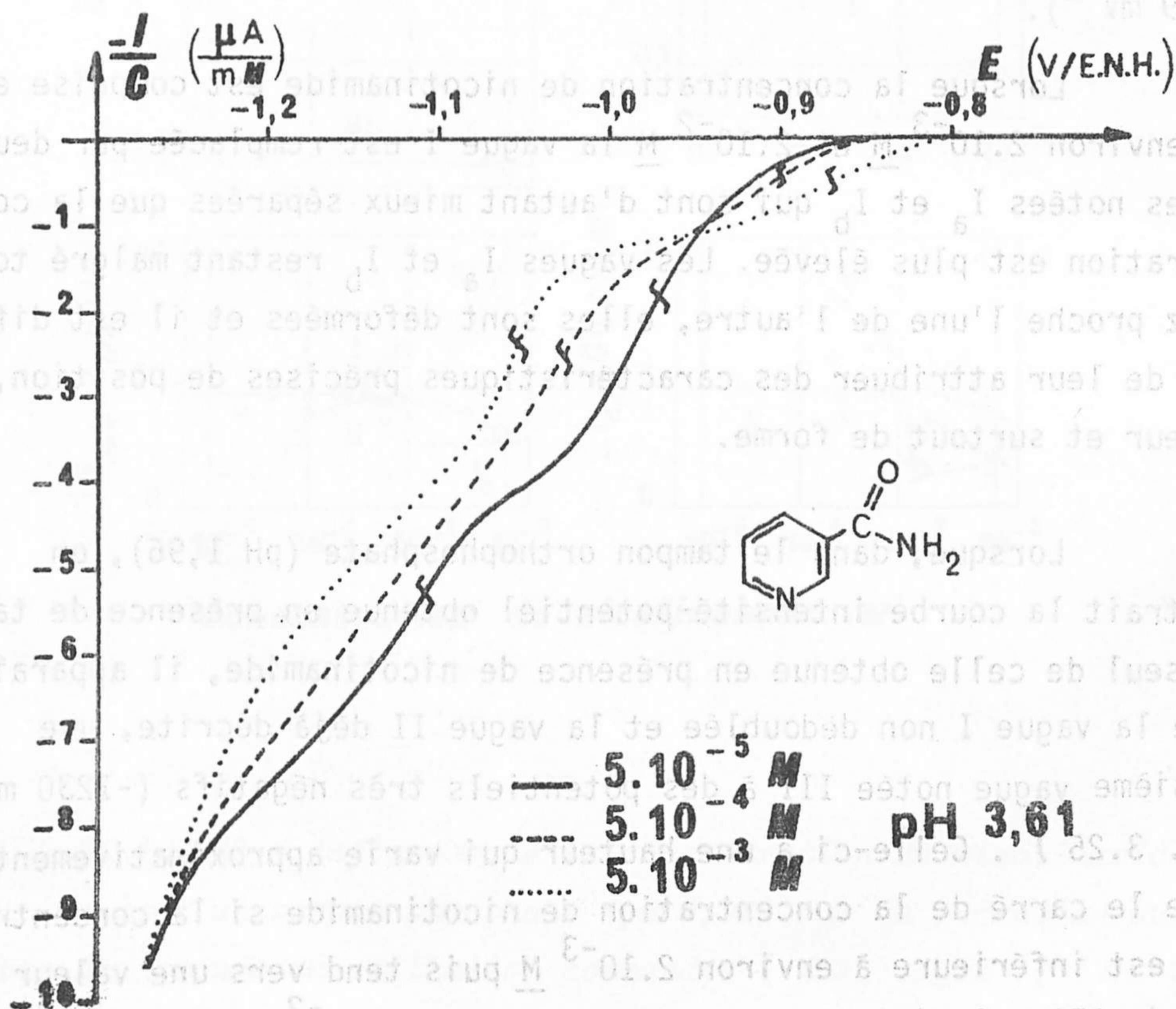


Fig. 3.29 - Réduction de solutions aqueuses de nicotinamide sur goutte de mercure en stillation commandée : influence sur la forme des polarogrammes réduits (i/C en fonction de E) de la concentration de nicotinamide (—) $5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, (- - -) $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ et (.....) $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ en tampon formiate (pH 3,61).

cotinamide (vague I) ne garde des caractéristiques semblables à celles obtenues en solution très diluée que si la concentration de ce réactif est inférieure à $0,25 \pm 0,05$ mM. (Fig. 3.38). Dans ce domaine de concentration et de pH le courant limite de la vague I est proportionnel à la concentration de nicotinamide. En effet :

$$\Delta \log (-i_{lim}) / \Delta \log C = 1,00 \pm 0,04$$

et la hauteur relative $-i_{lim}/C$ varie au plus de $\pm 10\%$ avec C (cf. par ex. Fig. 3.32). Le potentiel $E_{1/2}$ de la vague I varie de moins de 15 mV lorsque, dans une même solution tampon, la concentration de nicotinamide passe de 10^{-5} à $2 \cdot 10^{-4}$ M (Fig. 3.30). La pente de la vague I repérée par $1/|E_{3/4} - E_{1/4}|$ est en général compatible avec un échange rapide d'un seul électron ($1/(50 \pm 15) \text{ mV}^{-1}$). L'analyse logarithmique de la forme de la vague I effectuée en tampon formiate (pH 3,6) pour une solution 10^{-4} M en nicotinamide montre que cette forme n'est classique que pour la première moitié de la vague. Les points obtenus en portant $\log \{ i / (i_{lim} - i) \}$ en fonction du potentiel sont alignés sur une droite de pente $-1/74 \text{ mV}^{-1}$ si le potentiel est supérieur à -990 mV/E.N.H. ($E_{1/2}$ a pour valeur -975 mV/E.N.H. dans ces mêmes conditions). La déformation de cette vague aux potentiels inférieurs à $E_{1/2}$ est sans doute due à la grande proximité, à ce pH, des vagues I et II: leurs $E_{1/2}$ ne diffèrent alors que de 130 mV.

Lorsque la concentration de nicotinamide est supérieure à environ $2,5 \cdot 10^{-4}$ M la vague I est remplacée par deux vagues notées I_a et I_b qui sont d'autant plus séparées que la concentration est plus élevée. Le potentiel de la vague I_a ne dépend pas de la concentration de réactif. Par contre, le potentiel de la vague I_b diminue généralement lorsque la concentration de réactif augmente :

$\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$ vaut -80 mV à pH 2,0, -60 mV à pH 2,4, -30 mV à pH 3,6, -38 mV à pH 3,9 et -36 mV à pH 4,8. A l'exception des valeurs obtenues à pH 2,4 dans le tampon glycine, les hauteurs des vagues I_a et I_b sont proportionnelles à la concentration de nicotinamide si celle-ci est inférieure à environ 2 mM, leur rapport $(i_d)_{I_b} / (i_d)_{I_a}$ étant égal à 1,7 à pH 2,0, environ 2,7 à pH 3,9,

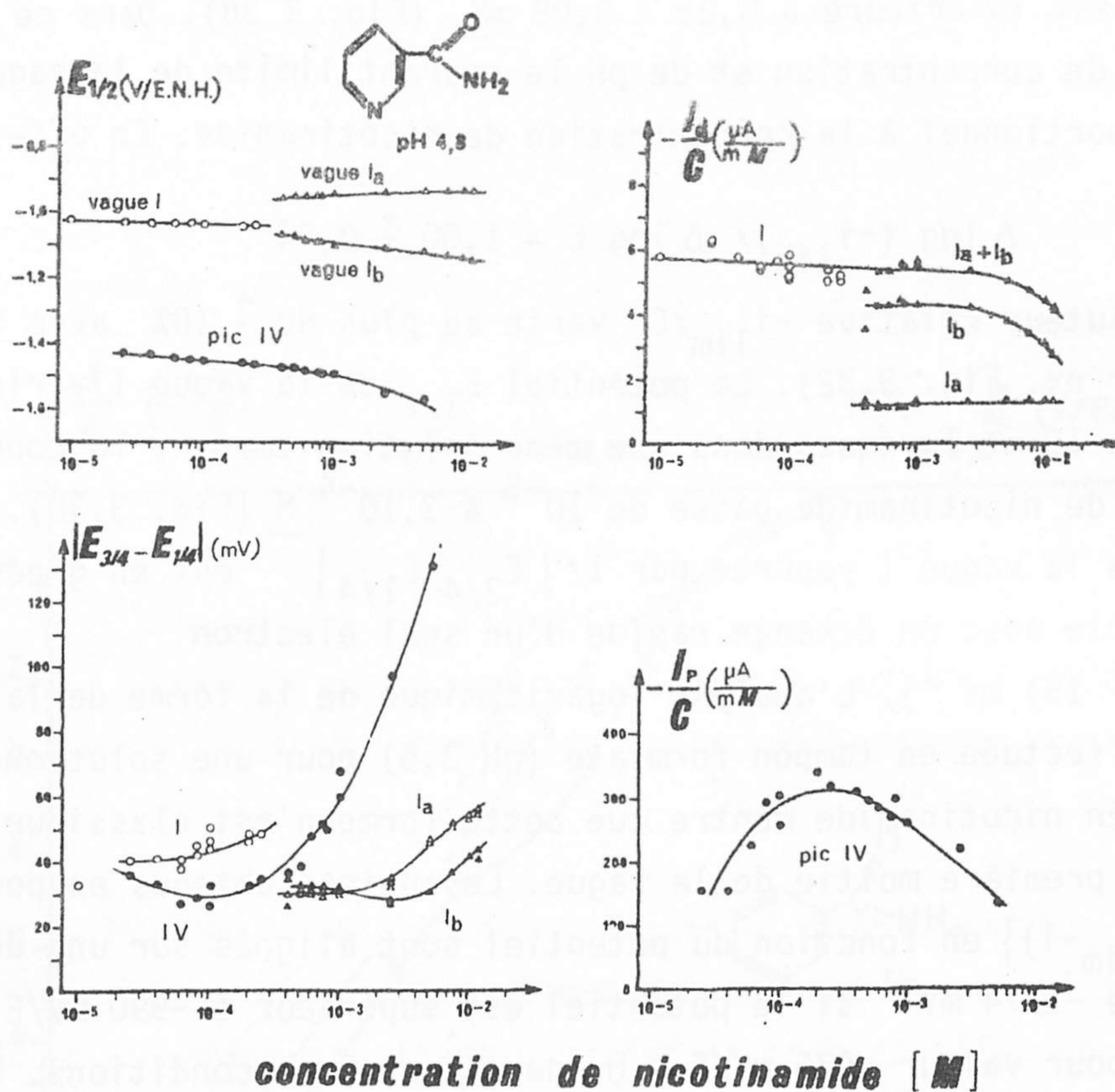


Fig.3.30 à 3.33 - Influence de la concentration de nicotinamide en solution dans un tampon acétate (pH 4,77) sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée : (○) vague I, (Δ) vague I_a, (▲) vague I_b et (●) pic IV. Conditions polarographiques : capillaire n°4, 35.0 cm de mercure, temps de goutte libre 8,6 s et imposé 0,50 s, 25,0 ± 0,2°C, 250mV/mm.

Fig.3.30 - Relations entre les potentiels de demi-vague et de demi-pic et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.31 - Relations entre les pentes des vagues et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.32 - Relations entre les hauteurs relatives de vague et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.33 - Relations entre la hauteur relative du pic III et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

2,6 aux pH 3,6 et 4,8, et 4,5 à pH 6,6. Ainsi que l'indique la Fig. 3.32, la hauteur relative $-i_{lim}/C$ de la vague I_b diminue lorsque la concentration est supérieure à environ 2 mM. L'analyse logarithmique de la forme des vagues I_a et I_b effectuée sur les courbes intensité-potentiel relevées avec une solution 10^{-2} M en nicotinamide dans un tampon formiate (pH 3,6) montre que les deux vagues sont de forme classique. Les points obtenus en portant $\log \{i/(i_{lim}-i)\}$ en fonction du potentiel sont, avec une assez bonne approximation, alignés sur une droite de pente $-1/68 \text{ mV}^{-1}$ pour la vague I_a et sur une droite de pente $-1/40 \text{ mV}^{-1}$ pour la vague I_b . La complexité des résultats obtenus sur les vagues I , I_a et I_b ne permet donc pas de leur affecter avec précision un nombre entier d'électrons échangés.

La vague II dont nous avons signalé l'existence lors de la réduction de solutions très diluées de pH inférieur à 4 (§ 3.3.1), n'a pu être tracée qu'en soustrayant le courant obtenu dans la solution tampon seule du courant obtenu en présence de nicotinamide. Elle n'est en général observable que si la concentration de ce réactif est inférieure à environ 10^{-3} M et ne peut être définie que d'une façon très imprécise.

3.3.2.3 - pH compris entre 7 et 10.

En présence des tampons imidazole (pH 7,20), tris (8,04) (Fig. 3.35 à 3.37), ammoniacal (9,5) et borate (9,57), la première vague de réduction de la nicotinamide (vague I) ne garde des caractéristiques semblables à celles obtenues en solution très diluée que si la concentration de réactif est inférieure à environ 3 mM. Dans ce domaine de concentration et de pH, le courant limite de la vague I est proportionnel à la concentration de nicotinamide. En effet,

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log C = 0,97 \pm 0,05$$

et la hauteur relative $-i_{lim}/C$ varie au maximum de $\pm 15\%$ (cf par ex. Fig. 3.37). Le potentiel $E_{1/2}$ de la vague I varie de moins de 15 mV lorsque, dans une même solution tampon, la concentration

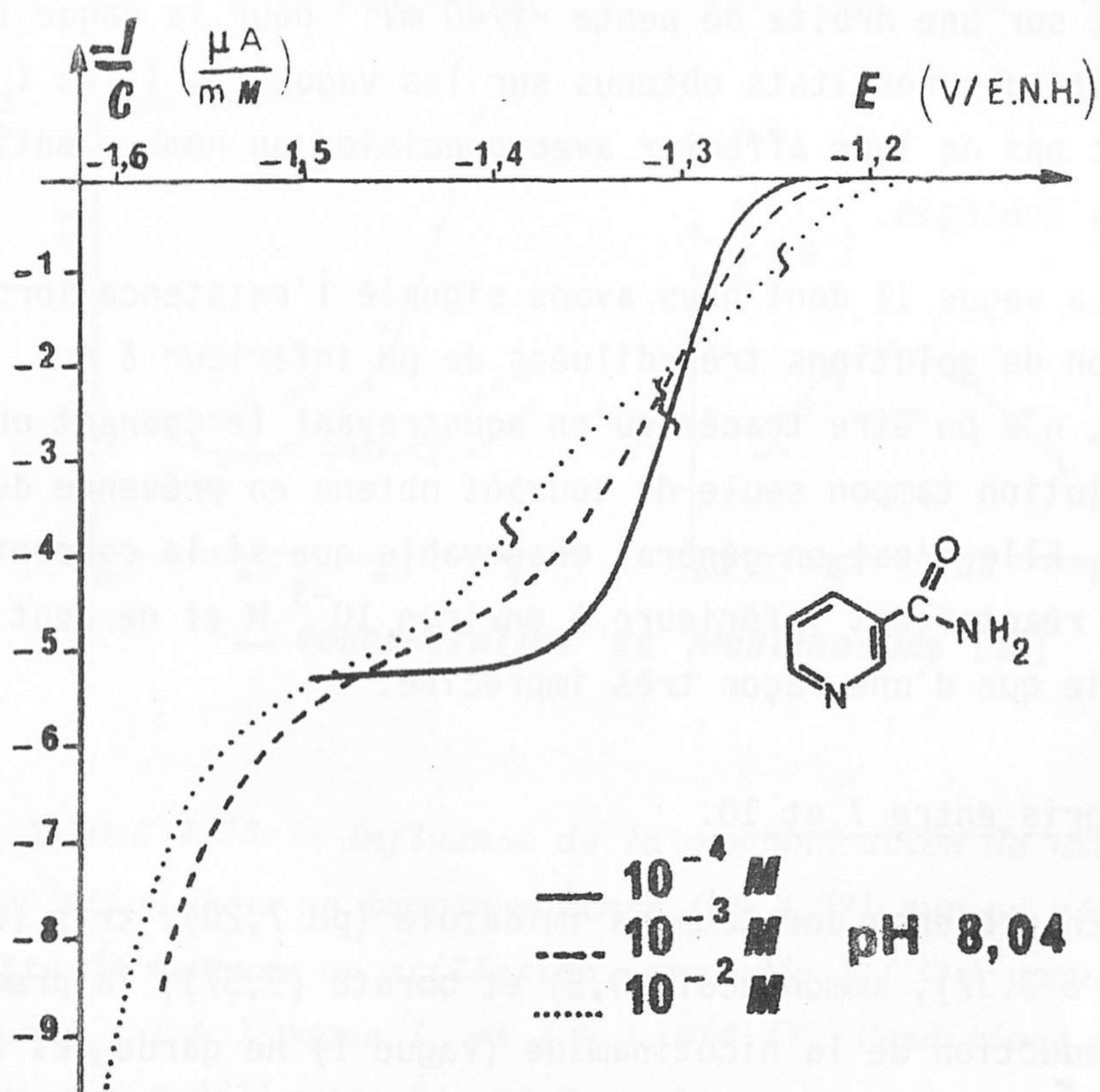


Fig. 3.34 - Réduction de solutions aqueuses de nicotinamide sur goutte de mercure en stillation commandée : influence sur la forme des polarogrammes réduits (i/C en fonction de E) de la concentration de nicotinamide (—) 10^{-4} M , (-- --) 10^{-3} M et (.....) 10^{-2} M en tampon tris (pH 8,04).

de nicotinamide passe de 10^{-5} à $3 \cdot 10^{-3}$ M (cf par ex. Fig. 3.35). La pente de cette vague I repérée par $1/|E_{3/4}-E_{1/4}|$ diminue en général beaucoup lorsque la concentration de réactif augmente (cf par ex. Fig. 3.36) et ne permet donc pas de faire des hypothèses sur le nombre d'électrons échangés. L'analyse logarithmique de la forme de cette vague I effectuée pour une solution contenant le tampon tris (pH 8,04) et 10^{-4} M en nicotinamide montre que cette forme est classique en solution très diluée : les points obtenus en portant $\log \{i/(i_{lim}-i)\}$ en fonction du potentiel sont alignés sur une droite de pente $-1/45 \text{ mV}^{-1}$.

Lorsque la concentration de nicotinamide est comprise entre environ $3 \cdot 10^{-3}$ et $2 \cdot 10^{-2}$ M la vague I est remplacée par deux vagues I_a et I_b qui sont d'autant mieux séparées que la concentration est plus élevée (Fig. 3.35). A l'exception des polarogrammes obtenus dans le tampon imidazole (pH 7,20) sur lesquels la vague I_a n'est décelable que sous forme d'un méplat précédant la vague I_b , les hauteurs de ces deux vagues sont proportionnelles à la concentration de nicotinamide (cf par ex. Fig. 3.37), leur rapport $(i_d)_{I_b}/(i_d)_{I_a}$ étant égal à 0,7 à pH 8,0, 1,8 à pH 9,5 et 0,85 à pH 9,6.

L'analyse logarithmique de la forme des vagues I_a et I_b effectuée pour une solution 10^{-2} M de nicotinamide dans le tampon tris (pH 8,0) montre que celles-ci sont toutes deux classiques : les points obtenus en portant $\log \{i/(i_{lim}-i)\}$ en fonction du potentiel sont en effet alignés sur une droite de pente $-1/46 \text{ mV}^{-1}$ pour la vague I_a et sur une droite de pente $-1/30 \text{ mV}^{-1}$ pour la vague I_b . La complexité des résultats obtenus sur les vagues I, I_a et I_b ne permet donc pas de leur affecter avec précision un nombre d'électrons échangés.

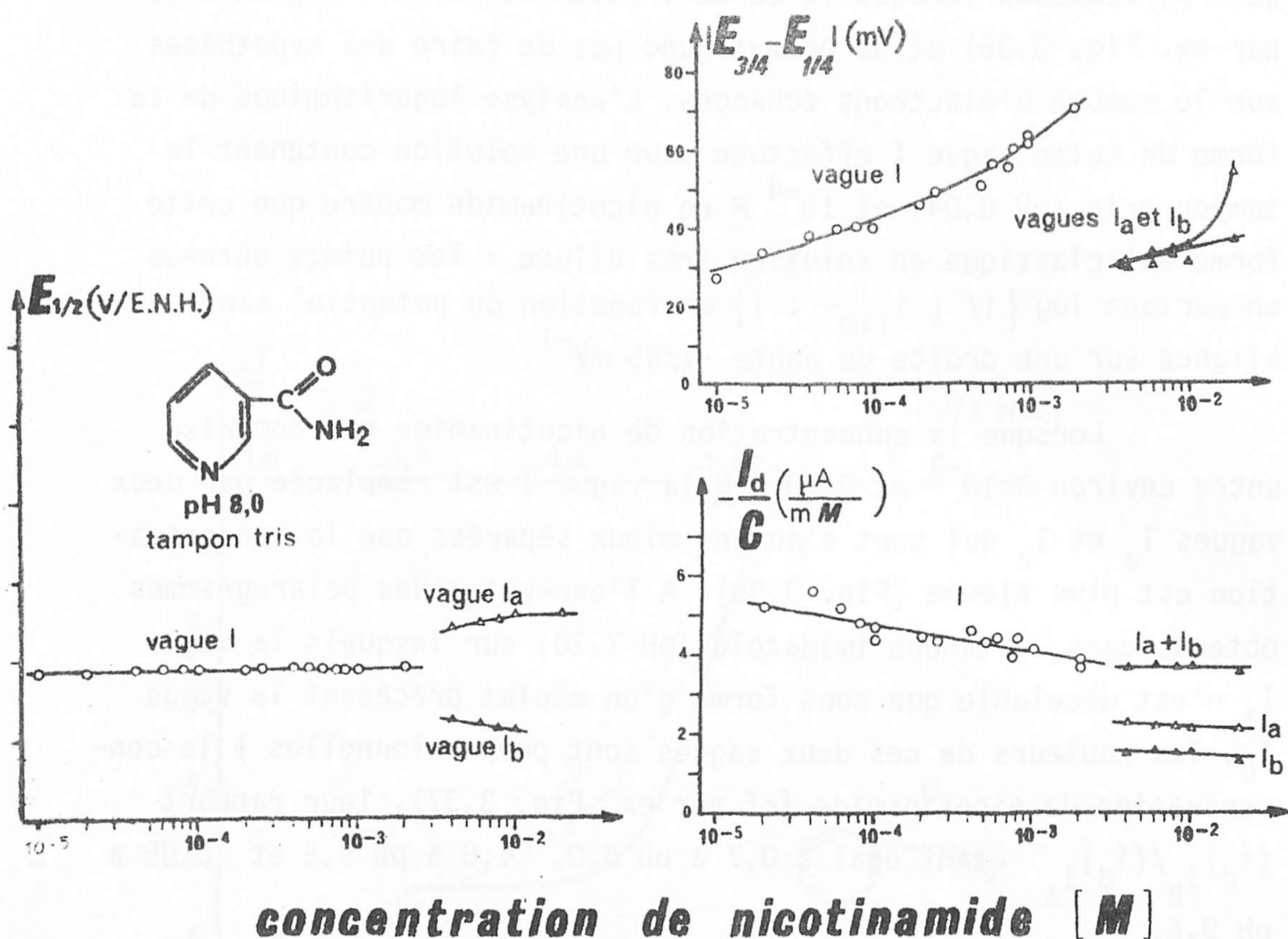


Fig.3.35 à 3.37 - Influence de la concentration de nicotinamide en solution dans le tampon tris (pH 8,04) sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée : (O) vague I, (Δ) vague I_a et (▲) vague I_b. Conditions polarographiques : capillaire n°7, 35cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, 25,0 ± 0,2 °C, 250mV.mm⁻¹.

Fig.3.35 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.36 - Relations entre les pentes des vagues et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

Fig.3.37 - Relation entre les hauteurs relatives de vague et le logarithme de la concentration de nicotinamide.

.3.2.4 - Conclusion.

L'influence conjuguée de la concentration de nicotinamide et du pH de la solution sur la réduction polarographique de ce réactif peut être finalement résumée en quatre figures. La figure 3.38 dans laquelle sont portés, à différents pH, les potentiels de demi-vague en fonction de la concentration de nicotinamide, illustre les comportements relevés dans les trois domaines de pH que nous avons délimités soit : 0 à 2, 2 à 7 et 7 à 10, suivant la valeur de la concentration de réactif pour laquelle la vague I est remplacée par les deux vagues I_a et I_b . Les trois figures 3.23, 3.39 et 3.40 montrent l'évolution du diagramme $E_{1/2}$ -pH de la nicotinamide en fonction de la concentration de réactif. Les valeurs numériques de ces concentrations, c'est-à-dire 10^{-4} , 10^{-3} et 10^{-2} M, sont choisies de telle sorte que la vague I soit ou non remplacée par les vagues I_a et I_b dans chacun des trois domaines de pH précédents.

En solution très diluée, par exemple 10^{-4} M (Fig.3.23), la vague I existe continûment de pH 0 à 10 ainsi que l'indique la relation linéaire relevée entre $E_{1/2}$ et le pH :

$$\text{vague I} \quad 0 \leq \text{pH} \leq 10 \quad E_{1/2} = (-690 - 75 \text{ pH}) \pm 20 \text{ mV/E.N.H.}$$

En solution moyennement concentrée, par exemple 10^{-3} M, la vague I n'est dédoublée que si le pH est compris entre 2 et 7 (Fig. 3.39) : le diagramme potentiel-pH est alors complètement différent. Les potentiels de demi-vague varient linéairement avec le pH de la solution selon :

$$\text{- vague I} : 0 \leq \text{pH} \leq 2 \quad E_{1/2} = (-840) \pm 10 \text{ mV/E.N.H.}$$

à l'exception de la valeur obtenue pour cette vague dans le tampon chlorhydrique (pH 0,6) qui est de 75 mV plus élevée,

$$\text{- vague } I_a : 2 \leq \text{pH} \leq 3,2 \quad E_{1/2} = (-840) \pm 10 \text{ mV/E.N.H.}$$

$$3,2 \leq \text{pH} \leq 7 \quad E_{1/2} = (-635 - 64 \text{ pH}) \pm 4 \text{ mV/E.N.H.}$$

$$\text{- vague } I_b : 2 \leq \text{pH} \leq 7 \quad E_{1/2} = (-800 - 63 \text{ pH}) \pm 15 \text{ mV/E.N.H.}$$

$$\text{- vague I} : 7 \leq \text{pH} \leq 10 \quad E_{1/2} = (-800 - 63 \text{ pH}) \pm 20 \text{ mV/E.N.H.}$$

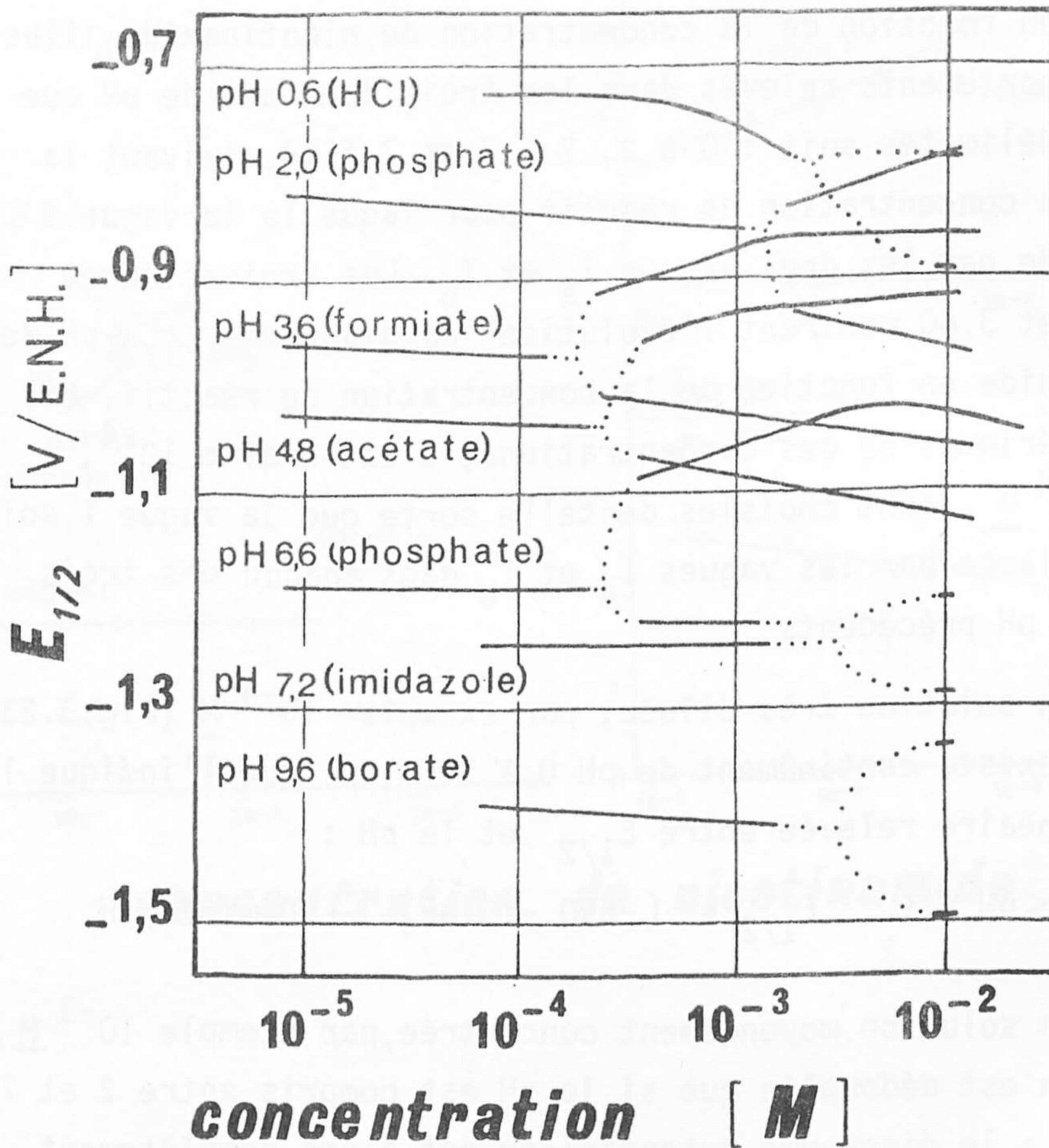


Fig.3.38 - Influence de la concentration de nicotinamide sur sa réduction sur goutte de mercure à stillation commandée : relations entre les potentiels de demi-vague et le logarithme de la concentration de nicotinamide dans les tampons chlorhydrique (pH 0,58), phosphate (1,96), formiate (3,61), acétate (4,77), phosphate (6,64), imidazole (7,20) et borate (9,57).

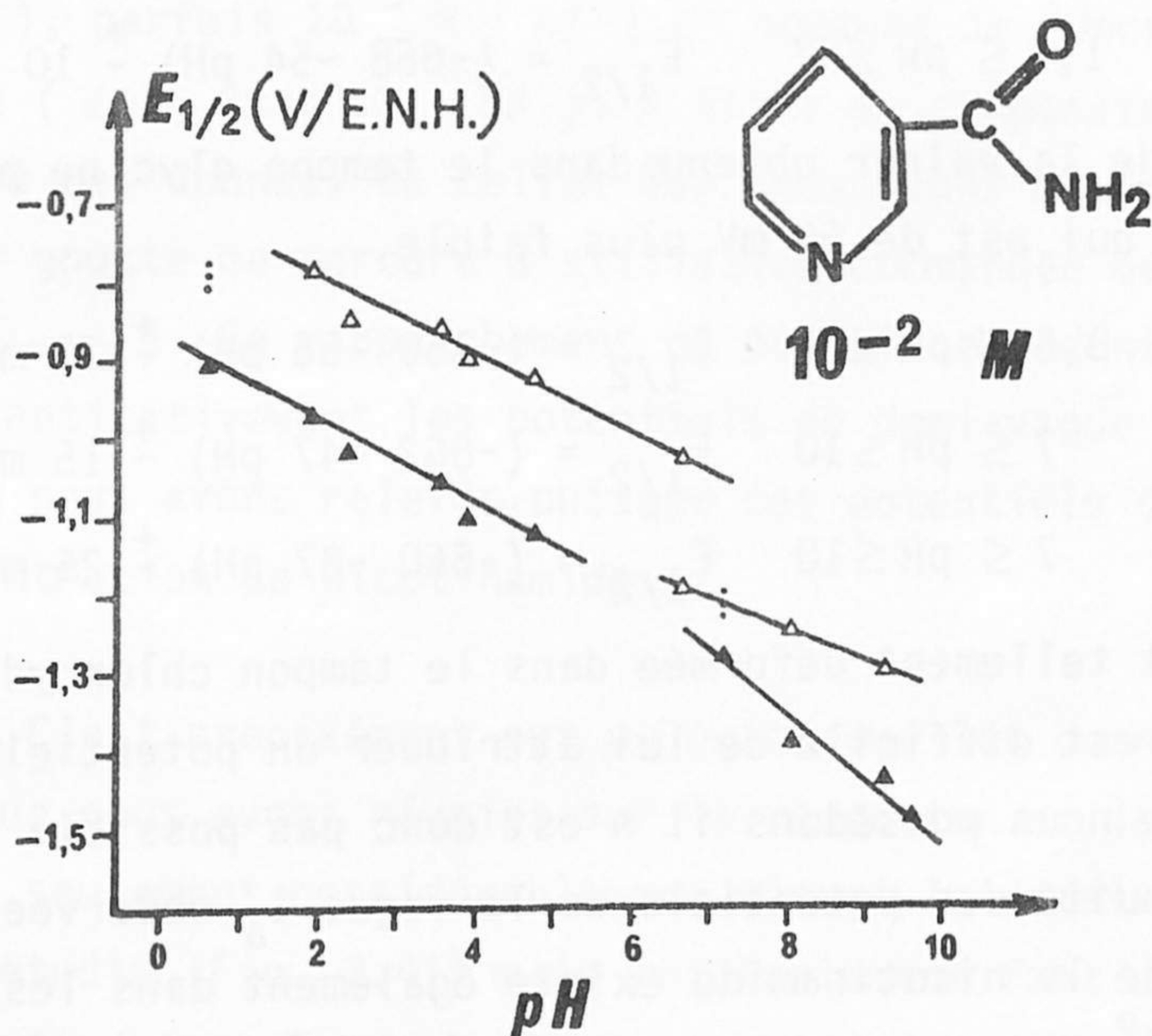
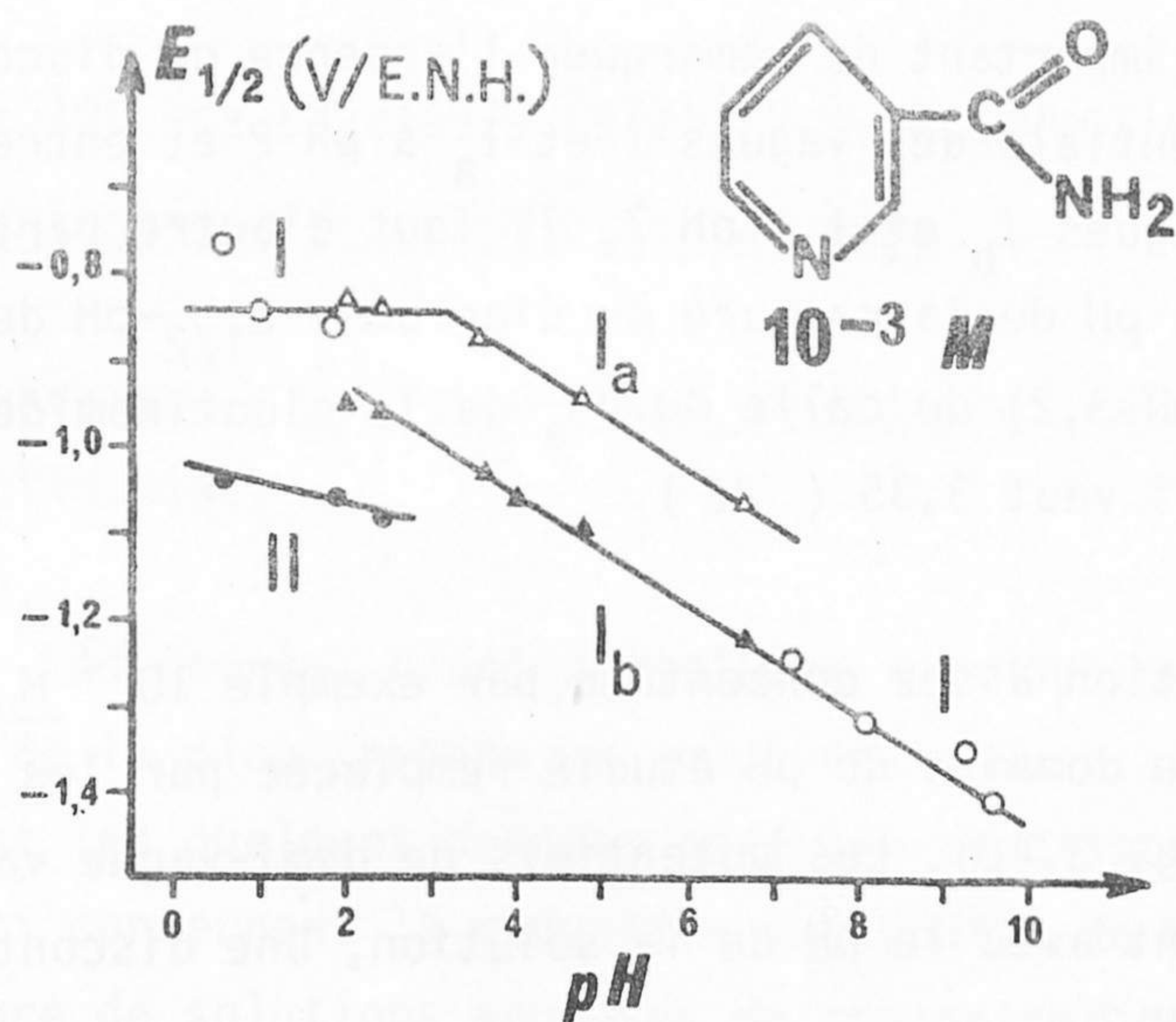


Fig. 3.39 et 3.40 - Influence du pH sur la réduction de solutions aqueuses 10^{-3} et 10^{-2} M en nicotinamide sur goutte de mercure à stillation commandée : (○) vague I, (△) vague I_a , (▲) vague I_b et (●) vague II.

Fig. 3.39 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le pH de solutions 10^{-3} M en nicotinamide.

Fig. 3.40 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le pH de solutions 10^{-2} M en nicotinamide.

Il est important de remarquer l'absence de discontinuité entre les potentiels des vagues I et I_a à pH 2 et entre les potentiels des vagues I_b et I à pH 7. Il faut d'autre part rapprocher la valeur du pH de la cassure du diagramme $E_{1/2}$ -pH de la vague I_a (environ pH 3,2) de celle du pK_a de la nicotinamide en solution aqueuse qui vaut 3,35 (82).

En solution assez concentrée, par exemple 10^{-2} M, la vague I est dans tout le domaine de pH étudié remplacée par les deux vagues I_a et I_b (Fig. 3.40). Les potentiels de demi-vague varient encore linéairement avec le pH de la solution, une discontinuité se maintenant à pH 7 :

- vague I_a : $1,9 \leq \text{pH} \leq 7$ $E_{1/2} = (-668 - 54 \text{ pH}) \pm 10 \text{ mV/E.N.H.}$

à l'exception de la valeur obtenue dans le tampon glycine pour cette vague (pH 2,4) qui est de 50 mV plus faible,

- vague I_b : $0,6 \leq \text{pH} \leq 7$ $E_{1/2} = (-860 - 56 \text{ pH}) \pm 20 \text{ mV/E.N.H.}$

- vague I_a : $7 \leq \text{pH} \leq 10$ $E_{1/2} = (-862 - 47 \text{ pH}) \pm 15 \text{ mV/E.N.H.}$

- vague I_b : $7 \leq \text{pH} \leq 10$ $E_{1/2} = (-660 - 87 \text{ pH}) \pm 25 \text{ mV/E.N.H.}$

La vague I_a est tellement déformée dans le tampon chlorhydrique (pH 0,6) qu'il est difficile de lui attribuer un potentiel ; avec les valeurs que nous possédons il n'est donc pas possible de savoir si la discontinuité des potentiels de la vague I_a observée au voisinage du pK_A de la nicotinamide existe également dans les solutions concentrées 10^{-2} M par exemple. La discontinuité des potentiels de la vague I_a à pH 7,0 est très importante puisque le potentiel de cette première vague de réduction varie brusquement de 150 mV avec le pH.

3.3.3 - Discussion des résultats relatifs à la réduction polarographique de la nicotinamide en solution aqueuse.

3.3.3.1 - Comparaison avec les données antérieures relatives à la nicotinamide.

Les données électrochimiques que nous avons réunies sur la réduction de la nicotinamide en solution aqueuse confirment en les précisant les quelques données antérieures disponibles (Fig. 3.41). Celles-ci concernent la réduction sur goutte de mercure à stillation libre de solutions aqueuses de concentration $2 \cdot 10^{-4}$ M (43) (- - -), parfois 10^{-3} M (55) et souvent de concentration non indiquée (40 , 62 , 67 , 69). A titre de comparaison nous avons rapproché ces données de celles que nous avons obtenues par réduction sur goutte de mercure à stillation commandée de solution 10^{-4} M (—). Ce rapprochement ne permet cependant pas de comparer quantitativement les potentiels de demi-vague publiés à ceux que nous avons relevés, puisque ces potentiels dépendent de la concentration de nicotinamide.

C'est précisément sur ce point que les données électrochimiques que nous avons réunies sur la réduction de la nicotinamide ont non seulement considérablement élargi le domaine de pH précédemment étudié (Fig. 3.41) mais ont également fait ressortir l'importance fondamentale de la concentration de réactif sur son mode de réduction polarographique : le nombre d'étapes de réduction est fixé par la valeur de cette concentration par rapport à une valeur critique qui dépend du pH de la solution.

L'ensemble des résultats obtenus est d'une telle complexité que la simple comparaison des position, hauteur et forme des vagues relevées avec des solutions de concentration en réactif et de pH différents, ne permet aucune interprétation en terme de mécanisme de réaction. Pour définir avec sûreté ces mécanismes, il serait même en fait nécessaire de déterminer complètement l'influence sur

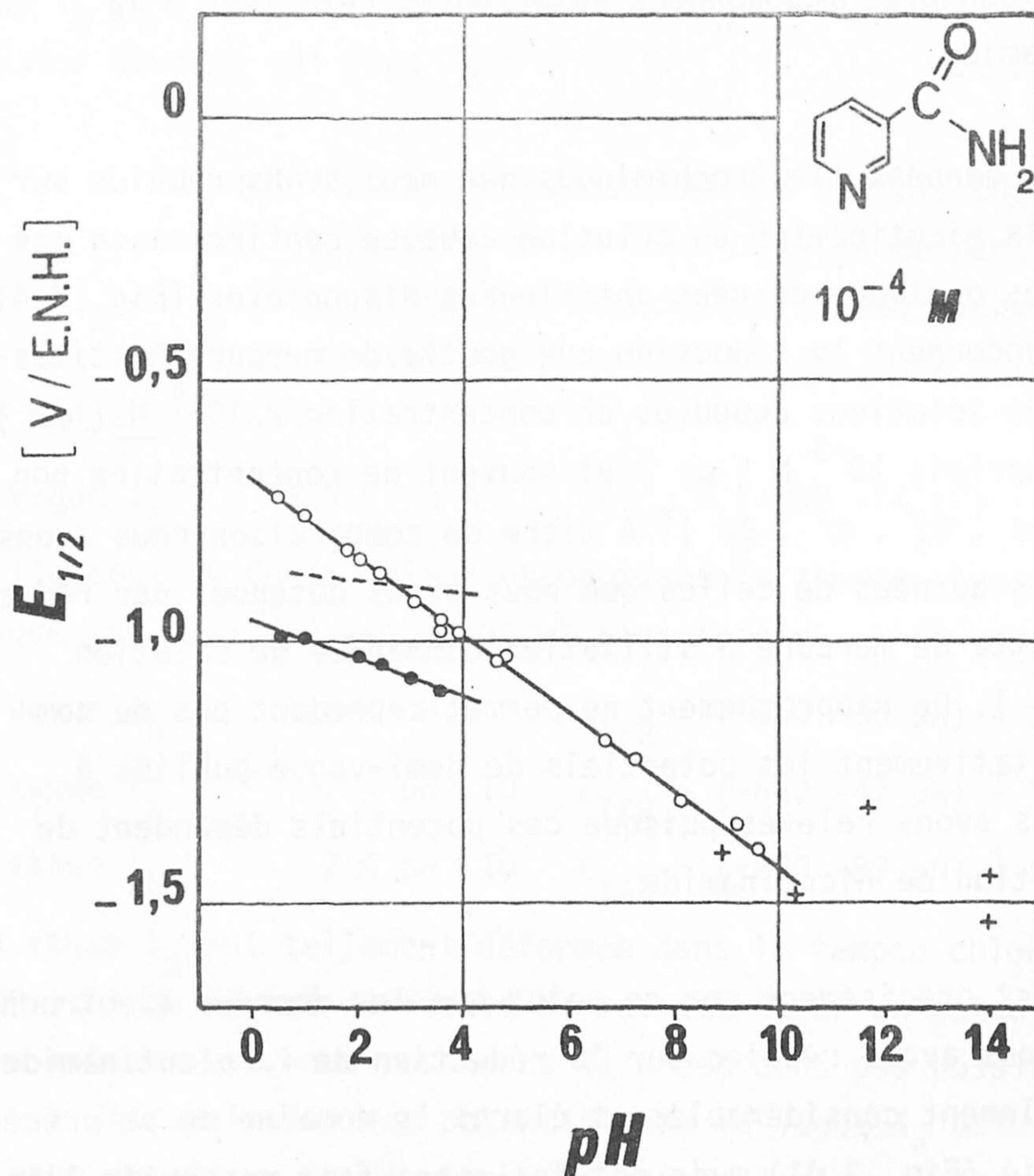


Fig.3.41 - Réduction électrochimique de solutions aqueuses 10^{-4} M en nicotinamide. Comparaison des résultats antérieurs obtenus par polarographie classique (+) et (---) (40, 43, 62, 67) avec les résultats obtenus par polarographie à stillation commandée (vagues I (o) et II (•)).

les caractéristiques de toutes les vagues polarographiques de paramètres expérimentaux comme la fréquence de chute des gouttes de mercure, la température, la nature et la concentration des tampons. L'utilisation de technique électrochimique différente comme la voltamétrie cyclique sur électrode à goutte de mercure ou à disque de carbone ou la voltamétrie sur électrode à disque-anneau apporterait aussi certainement des informations facilitant l'élaboration des hypothèses interprétatives.

3.3.2 - Comparaison avec les données relatives à l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide.

La comparaison des diagrammes $E_{1/2}$ -pH relatifs à des concentrations identiques, par exemple 10^{-4} M, en iodure de N₁ méthyl nicotinamide (—) et en nicotinamide (---) (Fig. 3.42) conduit à quelques observations intéressantes.

Tout d'abord, la réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide est toujours plus facile que celle de la nicotinamide. Cet effet, faible en milieu acide (augmentation de $E_{1/2}$ voisin de 70 mV), augmente considérablement si le pH est supérieur à environ 3. La différence des $E_{1/2}$ des premières étapes de réduction est ainsi de 380 mV à pH 7 et de 600 mV à pH 10.

En second lieu, aux pH supérieurs à 3 la première étape de réduction de la nicotinamide est située à un potentiel très voisin de celui de la deuxième étape de réduction du dérivé N₁ méthylé. En outre, en milieu acide les secondes étapes de réduction de ces deux réactifs sont situées exactement au même potentiel.

En conclusion, la quaternisation de l'azote hétérocyclique de la nicotinamide favorise donc beaucoup la fixation d'un premier électron puisque cette première réduction ne nécessite alors pas de fixation simultanée de proton. Cette quaternisation est par contre sans effet sur le potentiel de la deuxième étape de réduction en milieu acide. Il semble donc que ce soit la charge positive portée par

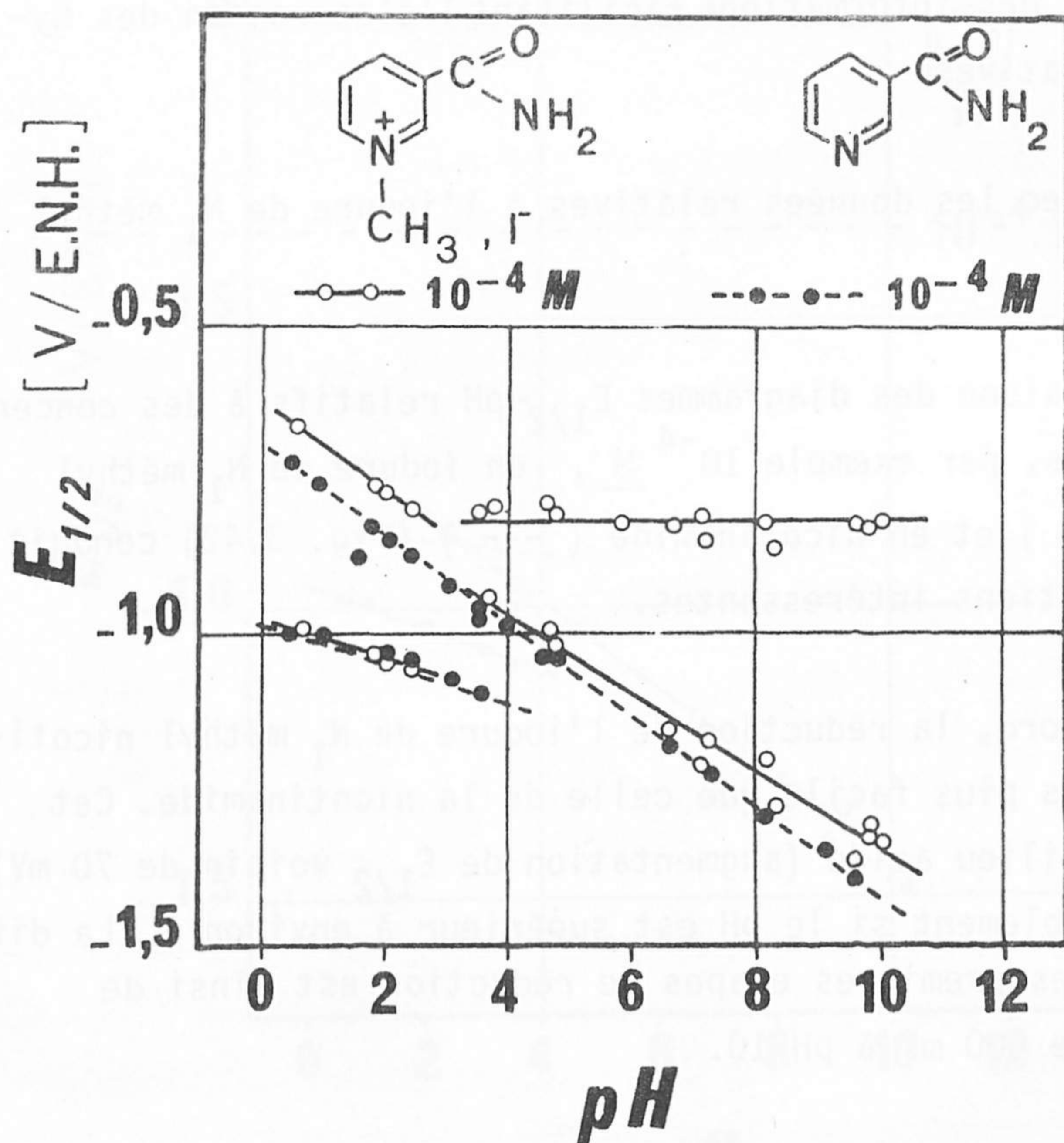


Fig. 3.42 - Comparaison des diagrammes potentiel de demi-vague — pH obtenus par réduction de solutions $10^{-4} M$ en iodure de N_1 méthyl nicotinamide (—○—) et en nicotinamide (---●---) sur goutte de mercure en stillation commandée.

l'azote hétérocyclique qui favorise beaucoup l'approche des électrons: une fois cette charge neutralisée, le radical libre formé se comporte en réduction de façon très semblable à la nicotinamide non réduite.

Rappelons enfin qu'il existe entre ces deux réactifs une différence importante. Celle-ci est relative à l'effet de leur concentration sur le potentiel et même le nombre des vagues polarographiques de réduction. L'augmentation de la concentration de N_1 méthyl nicotinamide entraîne des déplacements des potentiels de demi-vague, alors que l'augmentation de la concentration de nicotinamide entraîne en plus un dédoublement de la première vague de réduction.

CHAPITRE QUATRE

ELECTROCHIMIE des PYRIMIDINES et PURINES

4.1 - Analyse critique des données antérieures.

Au contraire des hétérocycles pyridiniques, flaviniques et porphyriniques, les hétérocycles nucléiques, c'est-à-dire les dérivés de la pyrimidine (Fig. 4.1) et de la purine (Fig. 4.2) sont rarement considérés comme participant *in vivo* à des réactions électrochimiques. Il existe cependant quelques résultats expérimentaux sur les pyrimidines et purines biologiques qui rendent plausible l'intervention de ces composés dans les réactions de transfert d'électrons. C'est ainsi que selon SKULACHEV (120, 121) l'adénosine diphosphate (ADP) jouerait le rôle de transporteur d'hydrogène dans la chaîne respiratoire, le cycle purine étant réduit en 1.6 dihydropurine. De façon semblable BARLTROP et coll. (122) ont présenté des expériences qui amènent à envisager, lors de l'oxydation du NADH par des flavoprotéines, l'intervention du cycle purique d'un NAD^+ ou NADH. Rappelons d'autre part que les pyrimidines et purines donnent des complexes de transfert de charge (123 à 125) : ce type de réaction, qui est souvent envisagé pour expliquer les réactions biologiques (126), est fondamentalement lié aux propriétés électrochimiques des réactifs.

En conclusion, tant pour l'importance de leurs fonctions biologiques (constitution des acides nucléiques, stockage de l'énergie dans les dérivés phosphorylés, constitution des coenzymes nucléotidiques) que pour leur intervention possible dans des réactions d'oxydo-réduction des coenzymes pyridiniques (Fig. 3.1), de nombreuses données ont été réunies sur les propriétés électrochimiques des pyrimidines et purines. Nous présentons ci-après l'analyse critique des données disponibles relatives à ces matériaux d'intérêt biologique. En premier lieu nous préciserons comment les propriétés électrochimiques de ces composés se situent parmi celles de l'ensemble

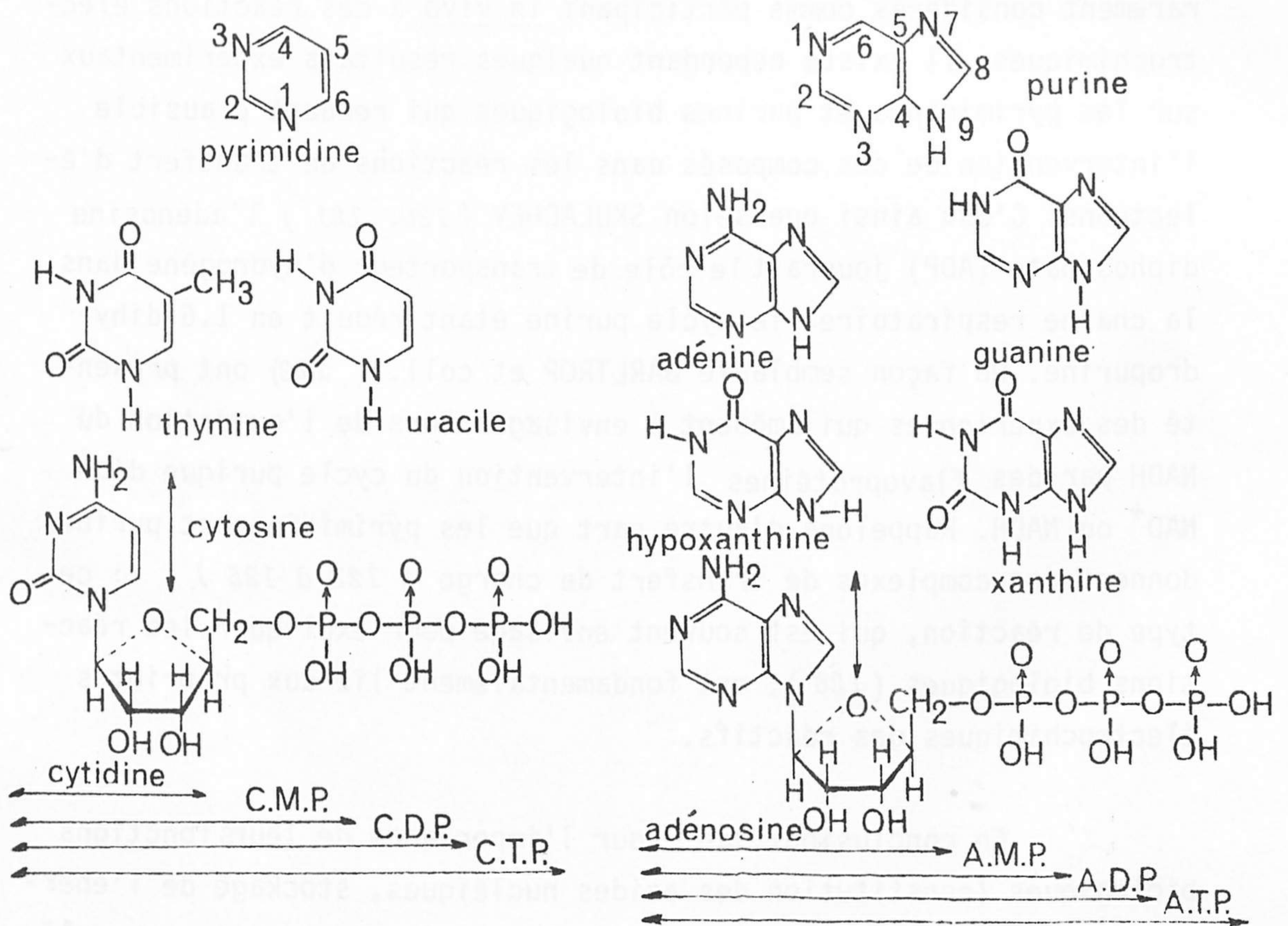


Fig. 4.1 et 4.2 - Formules des hétérocycles nucléiques.

Fig. 4.1 - Dérivés de la pyrimidine.

Fig. 4.2 - Dérivés de la purine.

des pyrimidines et purines. Dans une deuxième étape nous examinerons plus en détail les propriétés de la pyrimidine elle-même qui peut être considérée comme modèle des dérivés biologiques.

4.1.1 - Propriétés électrochimiques comparées des pyrimidines et purines substituées.

Les pyrimidines et purines substituées, pour lesquelles on dispose du plus grand nombre de données électrochimiques, font intervenir les substituants :

-CH₃, -NH₂, -OH, =O, -ribosyl, -ribosyl-phosphates, -désoxyribosyl et -désoxyribosyl-phosphates.

Fixés sur un hétérocycle pyrimidine ou purine, ces substituants donnent des dérivés qui sont souvent réductibles sur électrode de mercure ou de graphite et parfois oxydables sur électrode de graphite ou de platine (43, 48, 59, 76, 128 à 176).

Le tableau 4.I présente l'étendue du domaine d'acidité pour lequel des valeurs des potentiels de réduction ou d'oxydation dans l'eau sont disponibles. Même en se limitant aux composés présents dans la biosphère et à leurs composés modèles, ce que nous avons fait dans ce tableau, il apparaît que, pour une proportion élevée des pyrimidines et purines substituées, ni leur comportement électrochimique en réduction, ni surtout leur comportement électrochimique en oxydation ne sont connus. Les seules valeurs numériques disponibles n'ont été relevées que dans des zones étroites de pH ; à l'exception de l'adénine, elles concernent pour un même composé soit la réduction, soit l'oxydation mais jamais les deux réactions conjointement. Les propriétés d'échange de protons jouant un rôle essentiel dans les mécanismes de réduction et d'oxydation de ces composés, ce tableau mentionne également les pH de transition acide-base des formes non réduites (\diamond) (80 à 83).

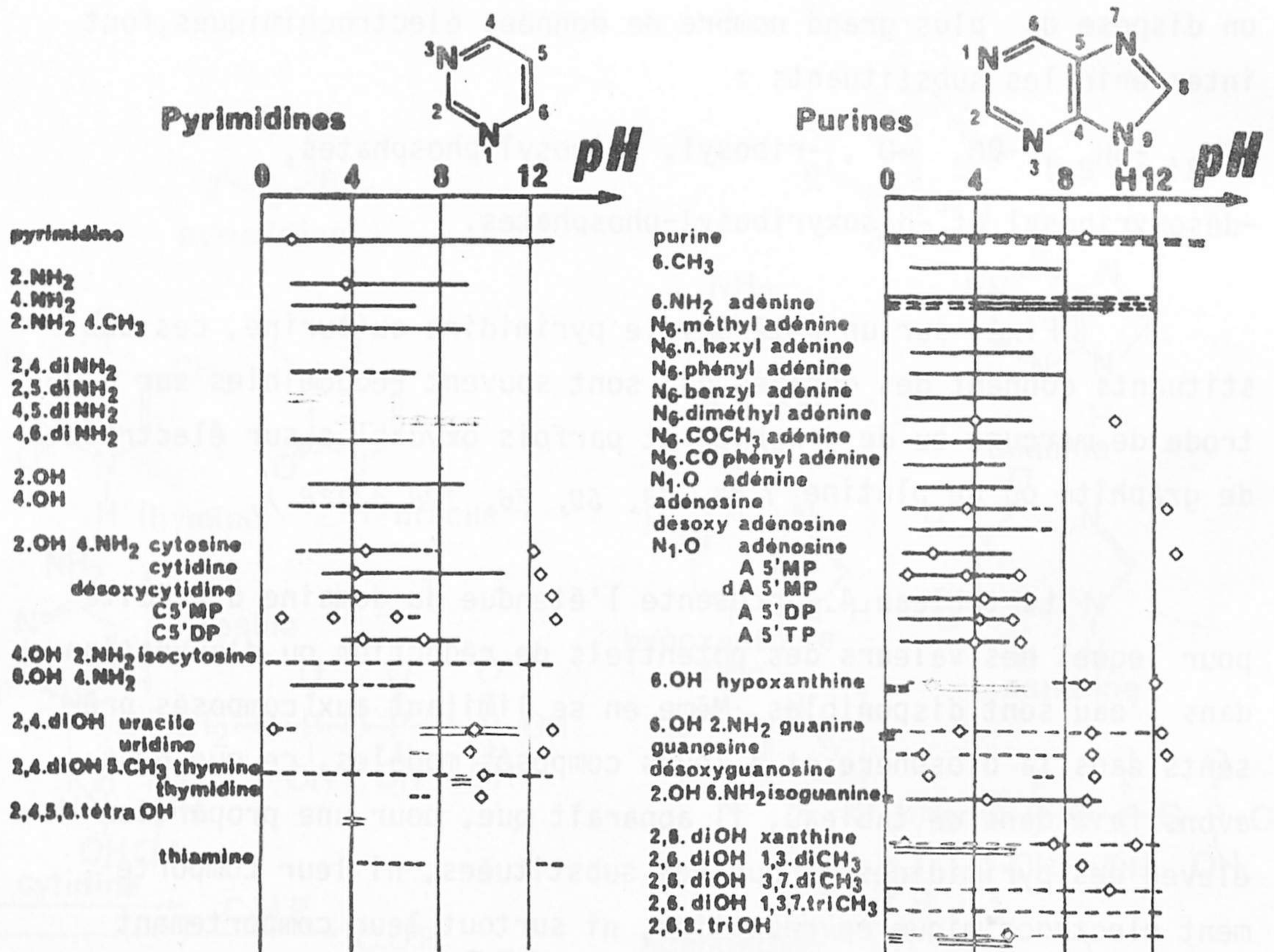
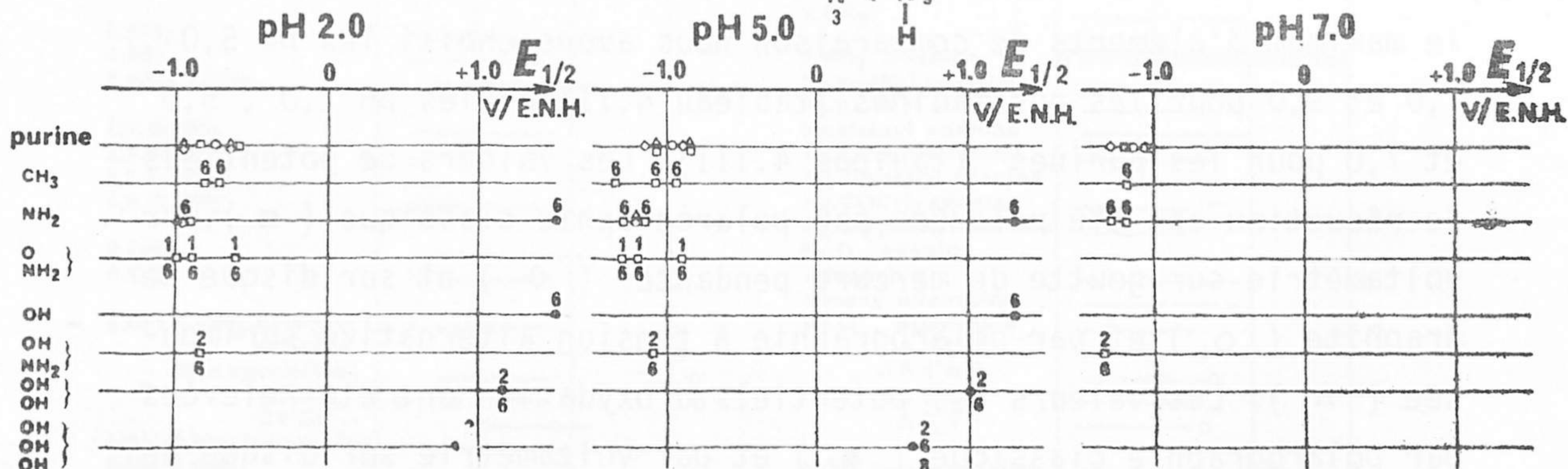
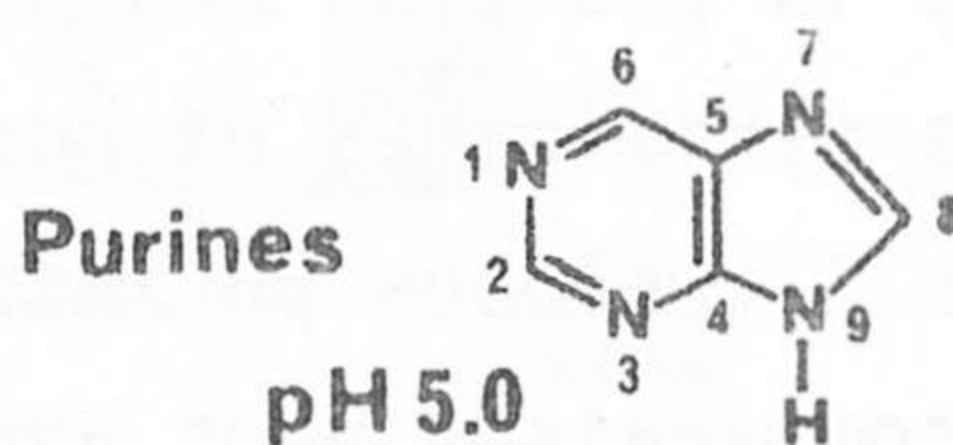
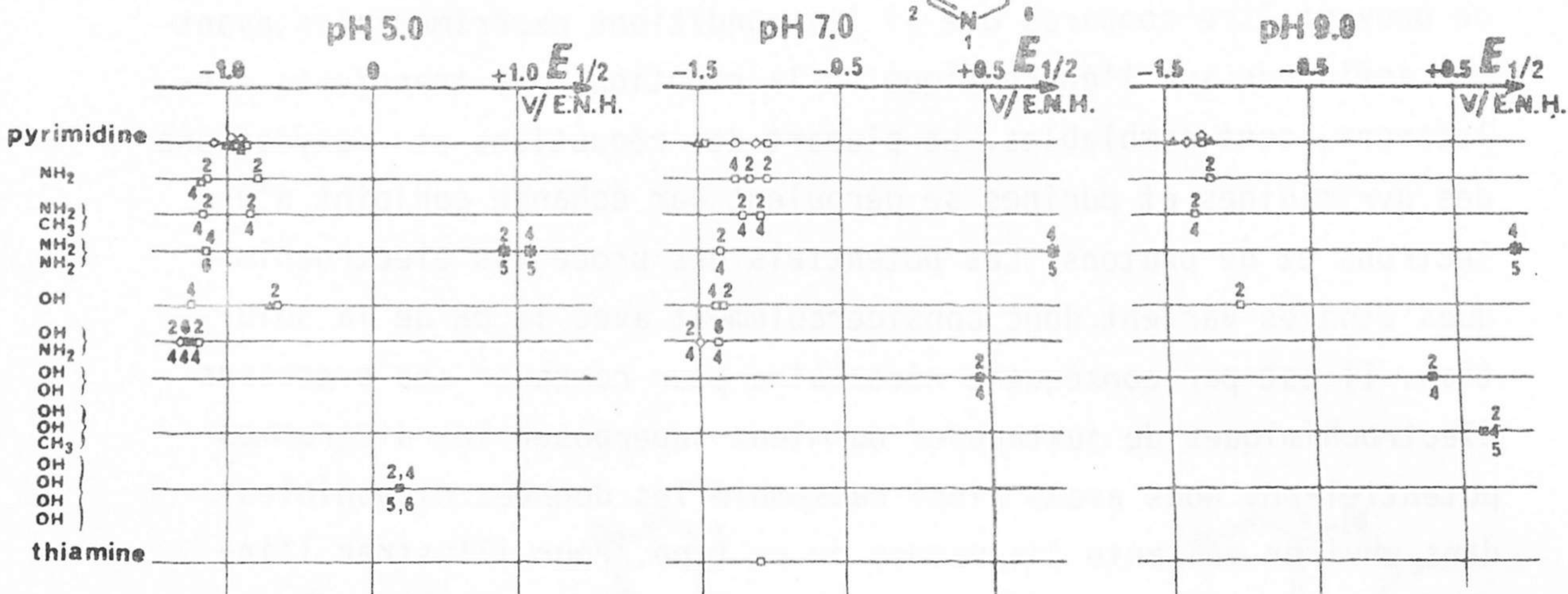
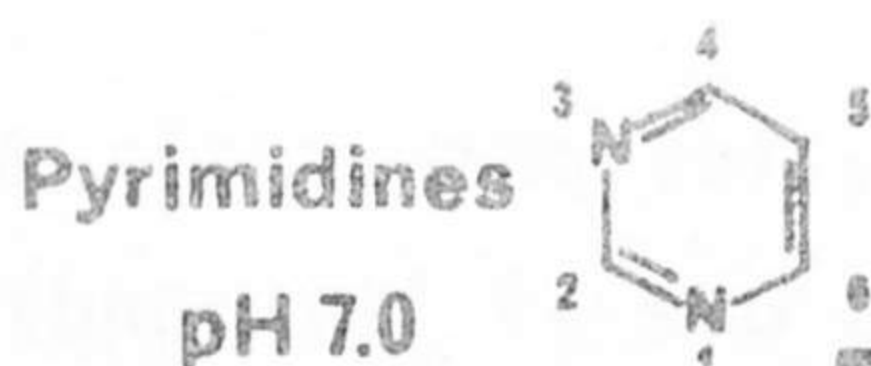


Tableau 4.I - Domaine d'acidité pour lequel des valeurs de potentiel de réduction sont disponibles (—) ou bien ont été notées comme impossible à obtenir (---). Domaine d'acidité pour lequel des valeurs de potentiel d'oxydation sont disponibles(==) ou bien ont été notées comme impossible à obtenir (===). Valeurs des pK_a de ces composés en solution aqueuse à la température ambiante (◇).

Par ailleurs, les potentiels d'oxydation ou de réduction ne peuvent être comparés que si les conditions expérimentales, ayant une influence sur l'énergétique ou la cinétique des transferts d'électrons, sont semblables. La plupart des réductions et oxydations des pyrimidines et purines se déroulent par échange conjoint d'électrons et de protons. Les potentiels des processus électrochimiques étudiés varient donc considérablement avec le pH de la solution. Il est par conséquent nécessaire pour comparer ces processus électrochimiques de juxtaposer ou mieux superposer les diagrammes potentiel-pH. Nous avons ainsi rassemblé les données disponibles dans environ soixante diagrammes de ce type. Pour illustrer l'influence de la nature et de la position des substituants sur la réduction et l'oxydation des pyrimidines et purines, nous présentons ici les potentiels relevés à quelques pH intéressants. Pour obtenir le maximum d'éléments de comparaison nous avons choisi les pH 5,0, 7,0 et 9,0 pour les pyrimidines (tableau 4.II) et les pH 2,0, 5,0 et 7,0 pour les purines (tableau 4.III). Les valeurs de potentiels de réduction ont été relevées par polarographie classique (□), par voltamétrie sur goutte de mercure pendante (◇) et sur disque de graphite (○) et par polarographie à tension alternative surimposée (△). Les valeurs des potentiels d'oxydation ont été relevées par polarographie classique (■) et par voltamétrie sur disque de graphite (●) et sur disque de platine (*).

Ainsi que l'illustrent les tableaux 4.II et 4.III, les substituants liés aux carbones tels que $-CH_3$, $-OH$ et $-NH_2$ abaissent en général notablement les potentiels de réduction et d'oxydation de l'hétérocycle sur lequel ils sont fixés. Une exception apparaît pour les substituants $-OH$ et $-NH_2$ placés en position 2 de la pyrimidine. La présence de plusieurs substituants $-OH$ abaisse tellement le potentiel de réduction que celui-ci devient indécélable même sur électrode de mercure. Cette présence fait conjointement diminuer le potentiel d'oxydation comme c'est le cas, par exemple, pour l'acide urique. Ces substituants hydroxy modifient la délocalisation des électrons π de l'hétérocycle par intervention d'équilibres céto-énoyliques. Si le substituant $-OH$ est fixé en position 4 d'une pyrimidi-



Tableaux 4.II et 4.III - Potentiels électrochimiques des dérivés de la pyrimidine et de la purine en solution aqueuse à la température ambiante : effet de la nature et de la position des substituants les plus simples.

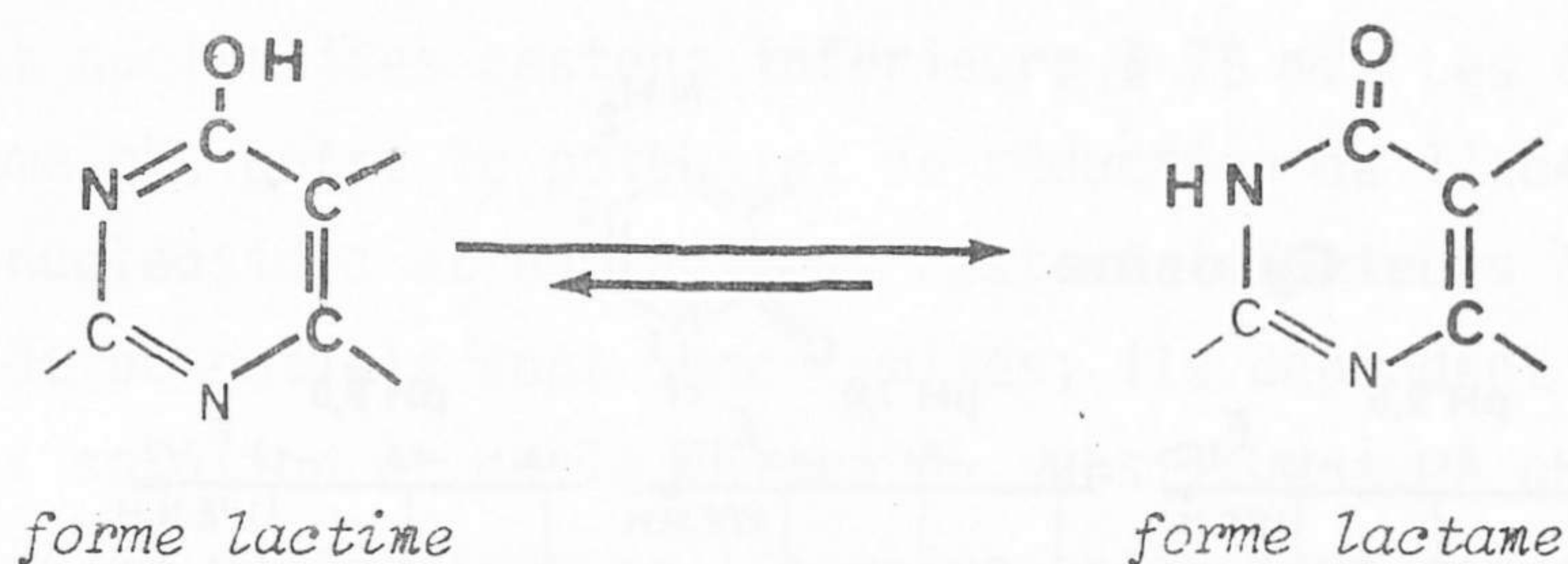
Potentiels de réduction relevés par polarographie classique (\square), par voltamétrie sur goutte de mercure pendante (\diamond) et sur disque de graphite (\circ), et par polarographie à tension alternative surimposée (Δ).

Potentiels d'oxydation relevés par polarographie classique (\blacksquare), et par voltamétrie sur disque de graphite (\bullet) et sur disque de platine ($*$).

Tableau 4.II - Pyrimidines à pH 5,0, 7,0 et 9,0.

Tableau 4.III - Purines à pH 2,0, 5,0 et 7,0.

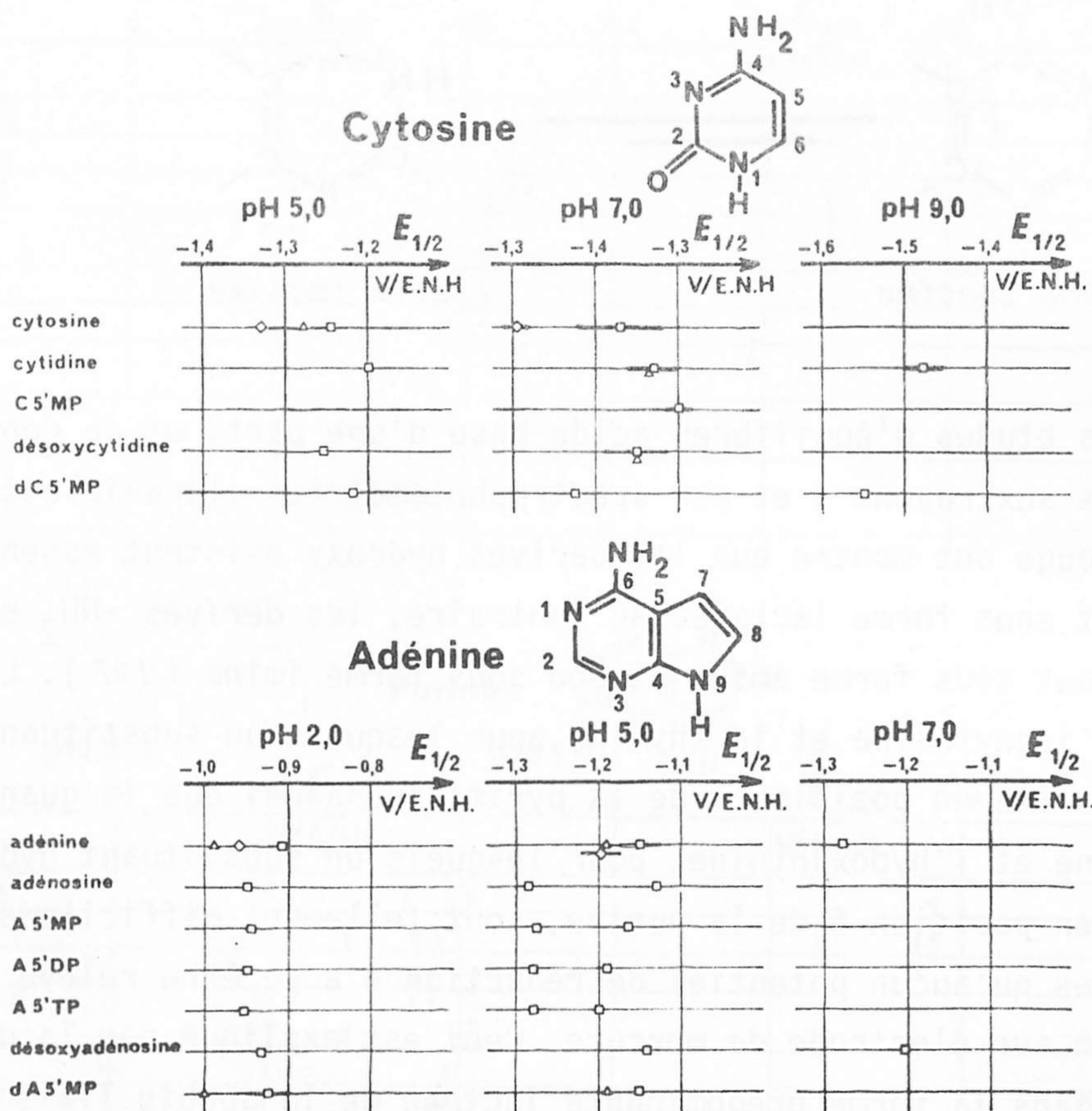
ne ou en position 6 d'une purine, intervient l'équilibre bien connu:



Des études d'équilibres acide-base d'une part, et de conformations aux rayons X et par spectrophotométries ultraviolette et infrarouge ont montré que les dérivés hydroxy existent essentiellement sous forme lactame. Au contraire, les dérivés $-NH_2$ existent surtout sous forme amine et non sous forme imine (127). L'uracile, l'isocytosine et la thymine, pour lesquels un substituant hydroxy est fixé en position 4 de la pyrimidine ainsi que la guanine, la xanthine et l'hypoxanthine, pour lesquels un substituant hydroxy est fixé en position 6 de la purine, sont tellement difficilement réductibles qu'aucun potentiel de réduction n'a pu être relevé dans l'eau même sur électrode de mercure. Ceci est expliqué par la disparition dans la forme prédominante lactame de la double liaison 3-4 des pyrimidines et 1-6 des purines au niveau de laquelle il semble que les premières étapes de réduction aient lieu.

La comparaison des tableaux 4.II et 4.III illustre d'autre part l'influence sur les propriétés d'oxydo-réduction de l'addition d'un cycle imidazole à un cycle pyrimidine. A un même pH, les potentiels de réduction et les potentiels d'oxydation sont en général plus faibles pour les purines que pour les pyrimidines. Il est donc expérimentalement plus facile d'observer dans l'eau la réduction électrochimique des pyrimidines, en particulier de la pyrimidine non substituée, et l'oxydation électrochimique des purines, en particulier des purines possédant plusieurs substituants hydroxy.

Les tableaux 4.IV et 4.V illustrent l'effet de substituants ribosyl (ou désoxyribosyl) et ribosyl-phosphate (ou désoxyribosyl-phosphate) sur la réduction électrochimique de la cytosine et de



Tableaux 4.IV et 4.V - Potentiels de réduction des nucléosides et nucléotides dérivés de la cytosine et de l'adénine en solution aqueuse et à température ambiante : effet de la nature du substituant.

Potentiels de réduction relevés par polarographie classique (\square), par voltamétrie sur goutte de mercure pendante (\diamond), et par polarographie à tension alternative surimposée (Δ).

Tableau 4.IV - Dérivés de la cytosine à pH 5,0, 7,0 et 9,0.

Tableau 4.V - Dérivés de l'adénine à pH 2,0, 5,0 et 7,0.

l'adenine en solution aqueuse. Les écarts relevés, à un même pH, entre le potentiel de réduction de la cytosine et ceux de ses nucléosides et nucléotides restent inférieurs à 75 mV. Les écarts relevés, à un même pH, entre le potentiel de réduction de l'adénine et ceux de ses nucléosides et nucléotides restent inférieurs à 50 mV. Ces écarts de potentiels sont donc limités; ils dépendent à la fois du pH de la solution et de la nature du substituant. A pH 5,0, les nucléosides et nucléotides de l'adénine présentent cependant une deuxième vague de réduction polarographique de potentiel $-1,28 \pm 0,01$ V/E.N.H. ce qui les différencie de l'adénine qui ne présente à ce pH d'une seule vague de réduction de potentiel $-1,15 \pm 0,02$ V/E.N.H.

CAVALIERI et coll. (129), ELVING et coll. (48,128,131 à134 ,136), PALEČEK et coll. (167) et LUND et coll. (173) ont déterminé les bilans globaux de réduction électrochimique des principales pyrimidines et purines par analyses chimique et spectrophotométrique des produits formés par électrolyse à potentiel contrôlé sur nappe de mercure. Ces résultats, combinés aux caractéristiques des vagues polarographiques et des pics voltamétriques relevés sur électrode à goutte de mercure pendante ou à disque de graphite, ont amené ces auteurs à proposer des mécanismes pour chaque étape de réduction observée. Nous avons rassemblé dans le tableau 4.VI les mécanismes concernant la réduction de la pyrimidine (A), des 2 NH₂ et 2 NH₂-4 CH₃ pyrimidines (B), de la cytosine (C), de la 4 NH₂ 2,6 di CH₃ pyrimidine (D), de la purine (E), de l'adénine (F) et de l'hypoxanthine (G). Ces auteurs considèrent que la double liaison 3,4 de la pyrimidine et 1,6 de la purine est généralement réduite en premier, en une ou deux étapes selon le pH de la solution. La nature et la position des substituants peuvent entraîner des modifications importantes des mécanismes de réduction de la pyrimidine et de la purine:

- par fusion d'étapes consécutives de transfert électronique ou au contraire duplication d'étape multielectronique,
- par équilibre de tautomérie dû à l'effet des substituants possédant un atome d'oxygène lié au carbone,
- par réaction chimique intramoléculaire, désamination par exemple,

qui accompagne le processus électrochimique et qui peut créer des espèces électroactives (48).

De même , ELVING et coll. (128, 148, 159) puis plus récemment DRYHURST et coll. (171, 172) ont déterminé les bilans globaux d'oxydation électrochimique des principales purines par analyses chimique et spectrophotométrique des produits formés par électrolyse à potentiel contrôlé sur disque de graphite. Ces résultats, combinés aux caractéristiques des pics voltamétriques relevés sur disque de graphite, ont amené ces auteurs à proposer des mécanismes pour chaque étape d'oxydation observée. Nous avons rassemblé dans le tableau 4.VII les mécanismes qui concernent l'oxydation de l'adénine (A), de la guanine (B) et de l'acide urique (C).

Le principe même de la méthode utilisée pour déterminer ces mécanismes de réaction, c'est-à-dire l'utilisation extensive des bilans d'électrolyse à potentiel imposé et la comparaison des hauteurs de vagues ou de pics, ne permet pas d'assurer que ces mécanismes correspondent effectivement à ceux mis en oeuvre lors du tracé des courbes intensité-potentiel sur microélectrodes. En effet ces bilans globaux de réaction ne peuvent généralement pas donner d'indication sur les caractéristiques énergétiques et cinétiques des espèces plus ou moins instables qui sont immédiatement formées à l'électrode lorsque son potentiel est fixé à une certaine valeur .

Par ailleurs, la plupart des potentiels relevés tant en réduction qu'en oxydation sont situés hors du domaine de stabilité thermodynamique de l'eau au pH de la solution. Les composés primaires formés à l'électrode sont donc à peu près tous susceptibles de réagir sur l'eau et il faut être très attentif à ce type de réaction.

Enfin, pour pouvoir distinguer la réduction ou l'oxydation du réactif étudié de celle de l'eau, il est nécessaire, en utilisant des matériaux d'électrode adéquats (mercure, graphite,...), de ralentir

les vitesses de réaction de l'eau. Il faut donc effectuer des comparaisons entre les résultats obtenus avec différents matériaux d'électrode pour s'assurer que les potentiels singuliers relevés ne dépendent pas de la nature de celle-ci; ceci n'a été réalisé que dans un petit nombre de cas.

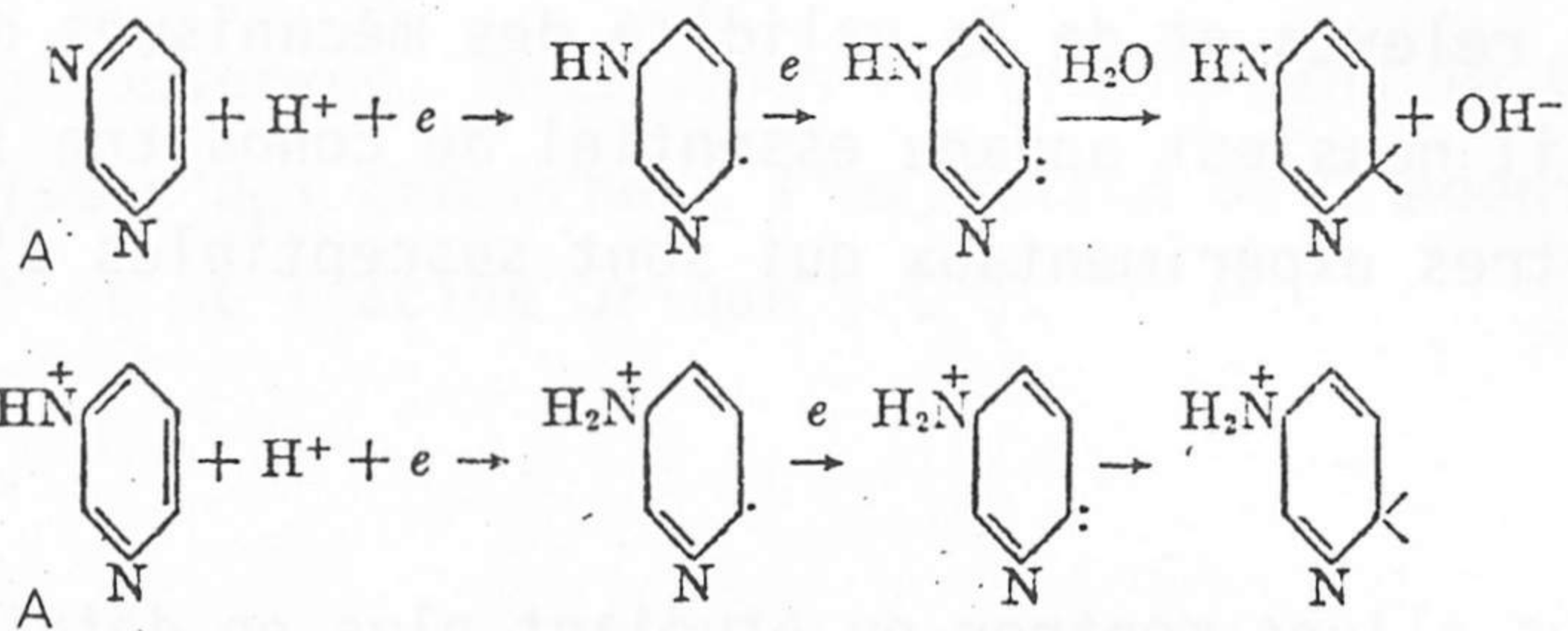
En conclusion, malgré le nombre relativement important d'études électrochimiques relatives à la réduction et à l'oxydation des pyrimidines et purines en solution aqueuse, de larges étendues de pH restent inexplorées ou mal connues. En particulier pour s'assurer de la signification énergétique des potentiels de demi-vague ou de pics relevés et de la validité des mécanismes des réactions proposés, il nous est apparu essentiel de connaître l'influence des paramètres expérimentaux qui sont susceptibles d'intervenir .

Nous allons montrer en étudiant plus en détail les nombreuses données disponibles relatives à la réduction de la pyrimidine en solution aqueuse, qu'il subsiste encore un grand nombre de difficultés ou d'imprécisions tant pour ce qui concerne la signification énergétique des potentiels relevés que pour la validité des mécanismes proposés.

Tableau 4.VI - Mécanismes de réduction électrochimique des pyrimidines et purines proposés par CAVALIERI et coll. (129), ELVING et coll. (48, 128, 131 à 134, 136), PALEČEK et coll. (167) et LUND et coll. (173).

(A) pyrimidine, (B) 2.NH₂ et 2.NH₂ 4.CH₃ pyrimidines, (C) cytosine, (D) 4.NH₂ 2,6-diCH₃ pyrimidine, (E) purine, (F) adénine, (G) hypoxanthine.

(129)



(48, 128, 131, 132)

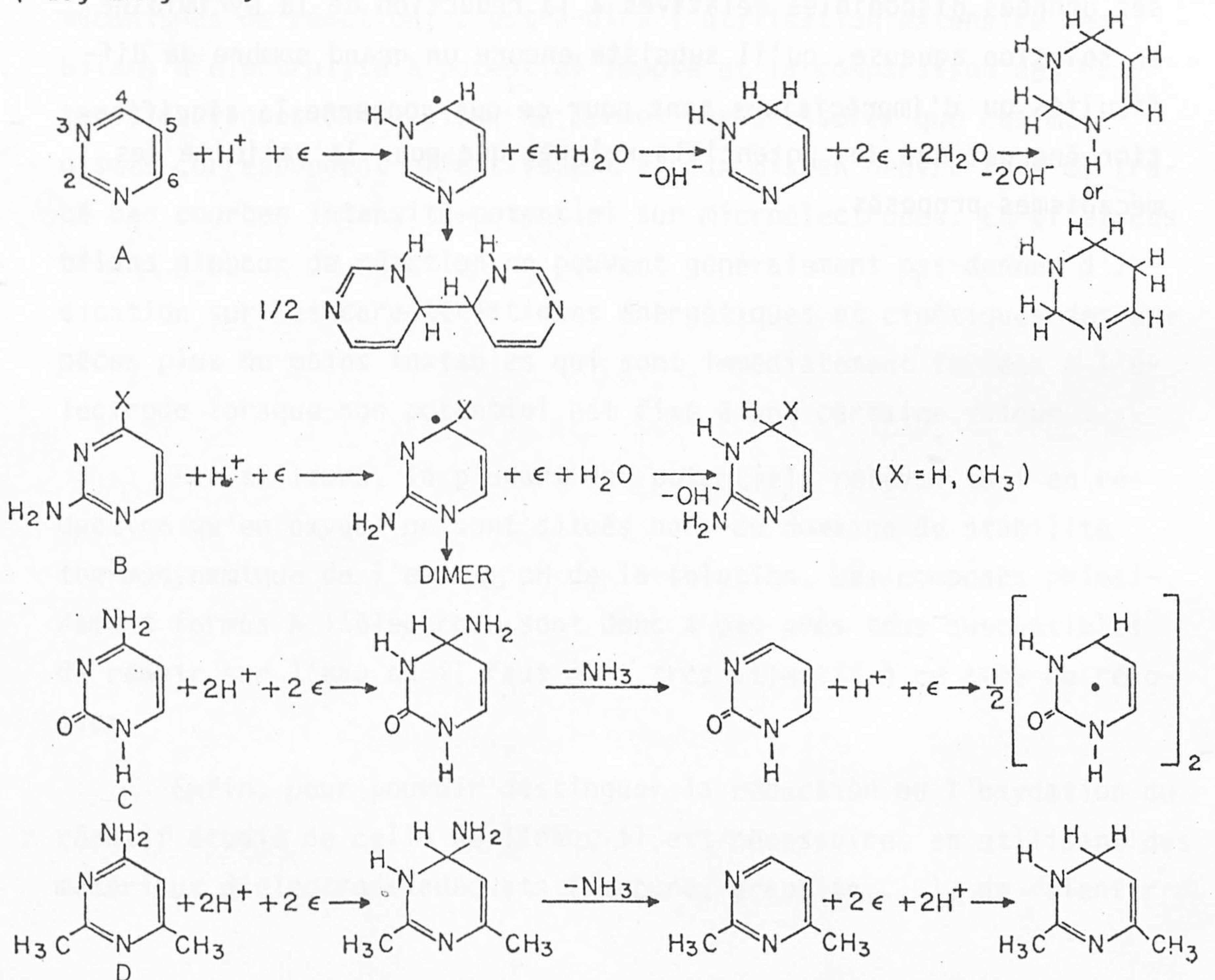
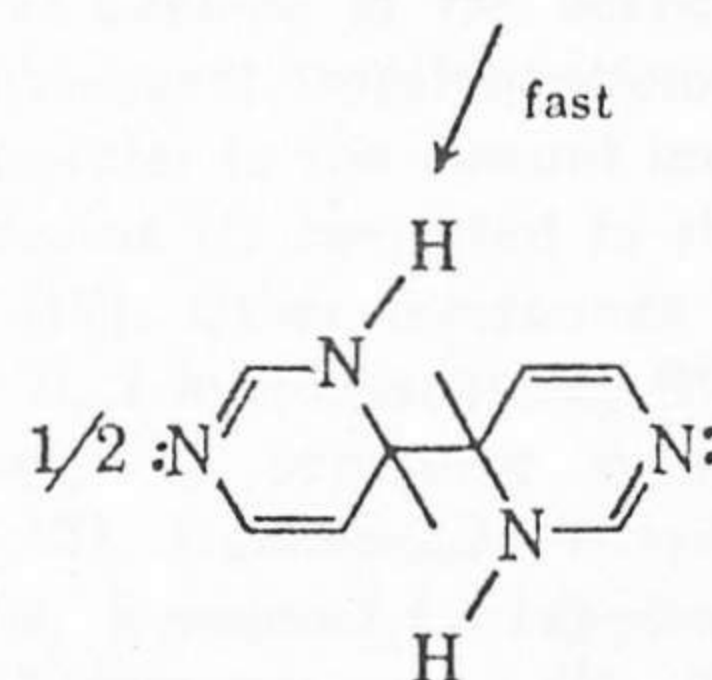
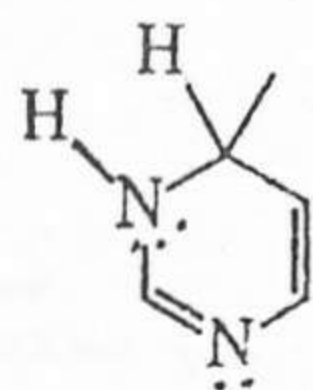
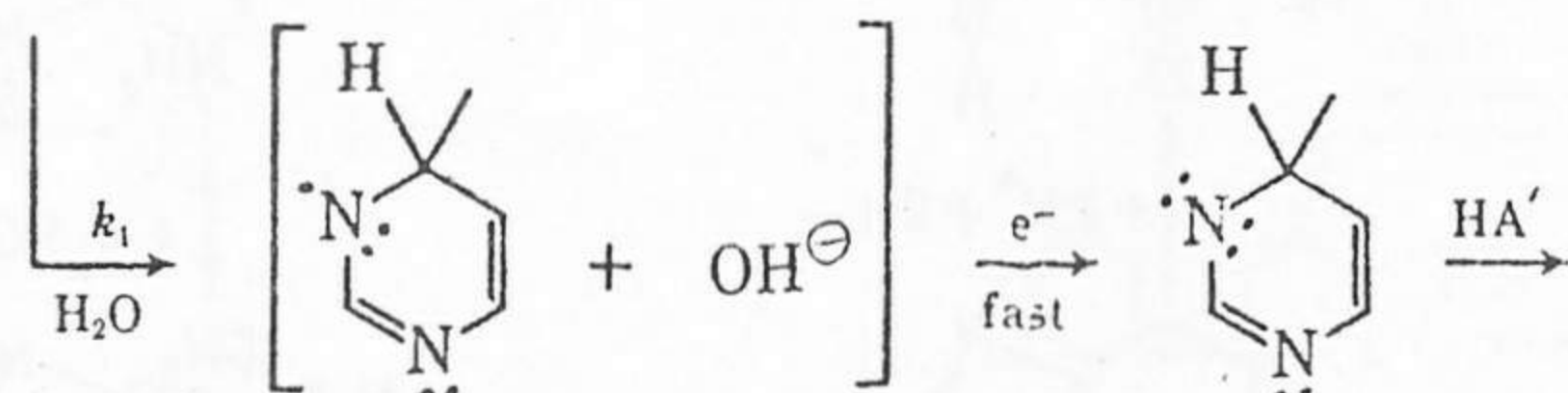
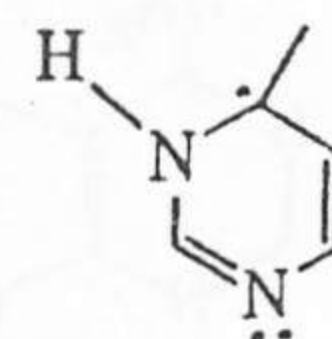
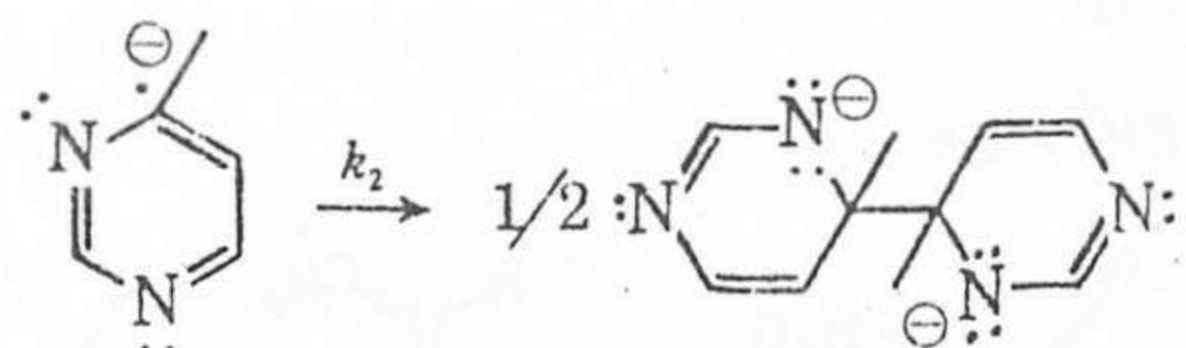
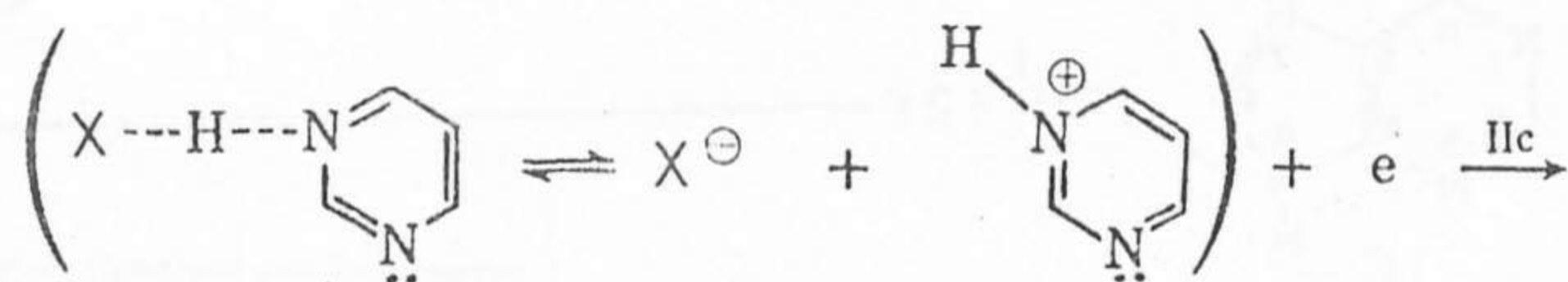
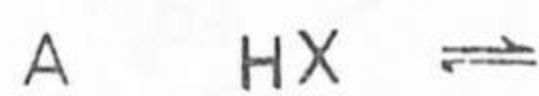
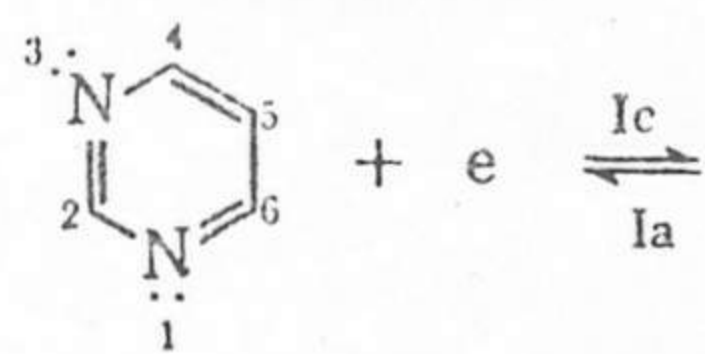
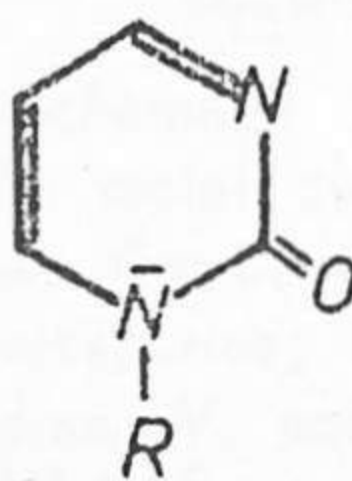
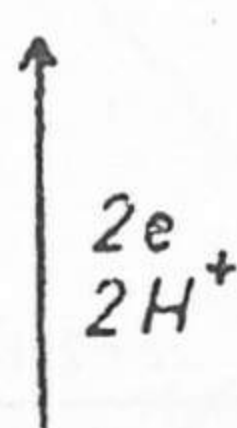
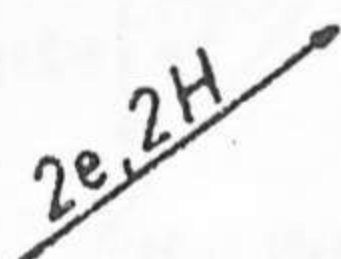
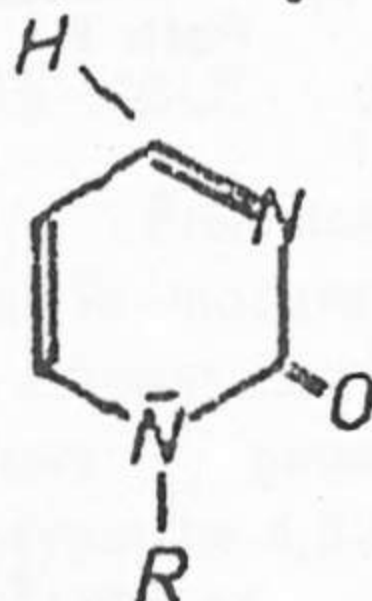
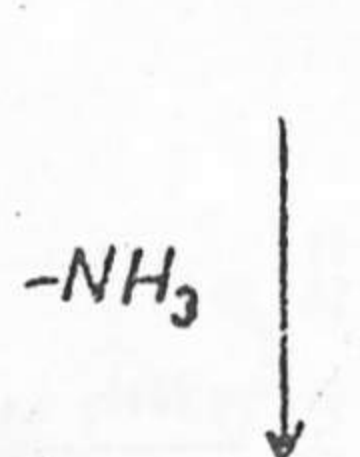
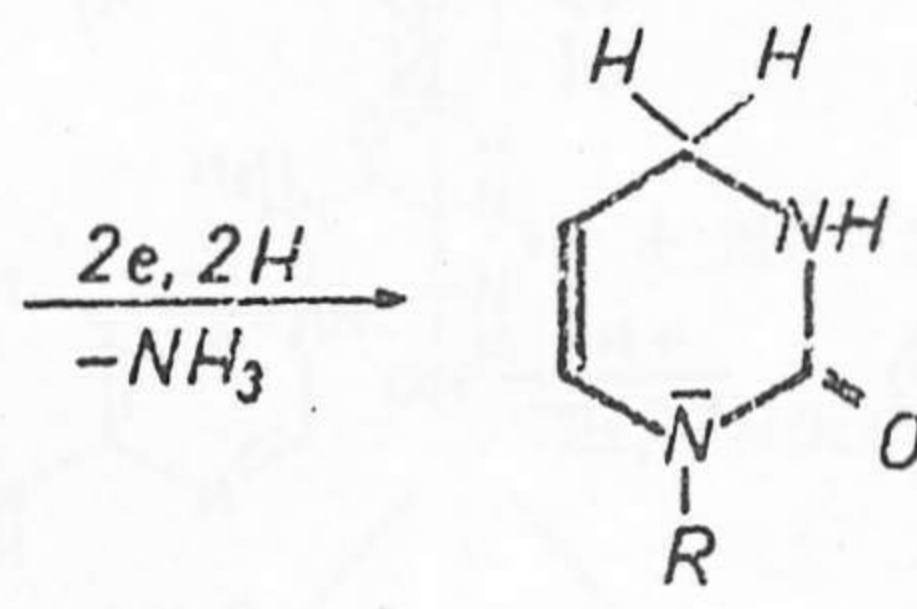
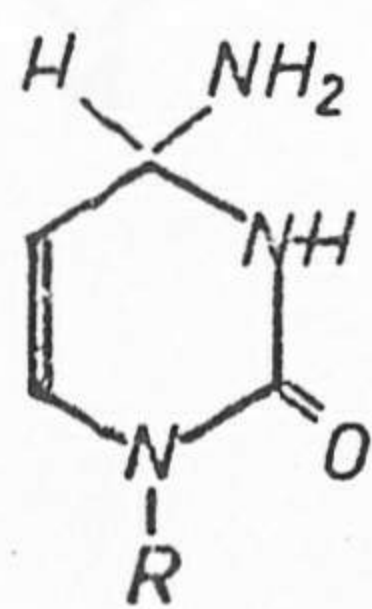
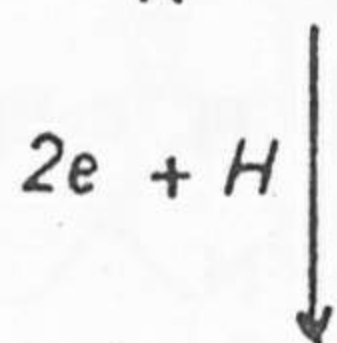
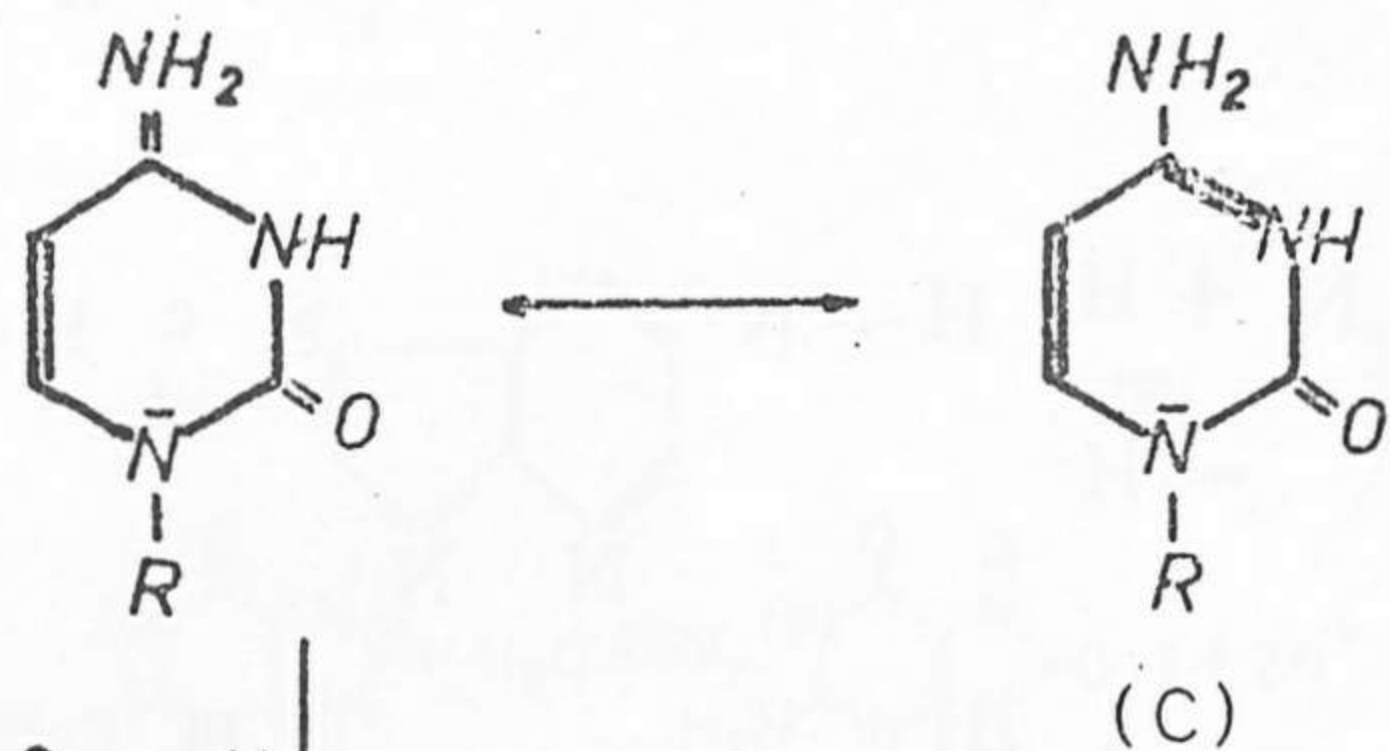


Tableau 4.VI- (suite)

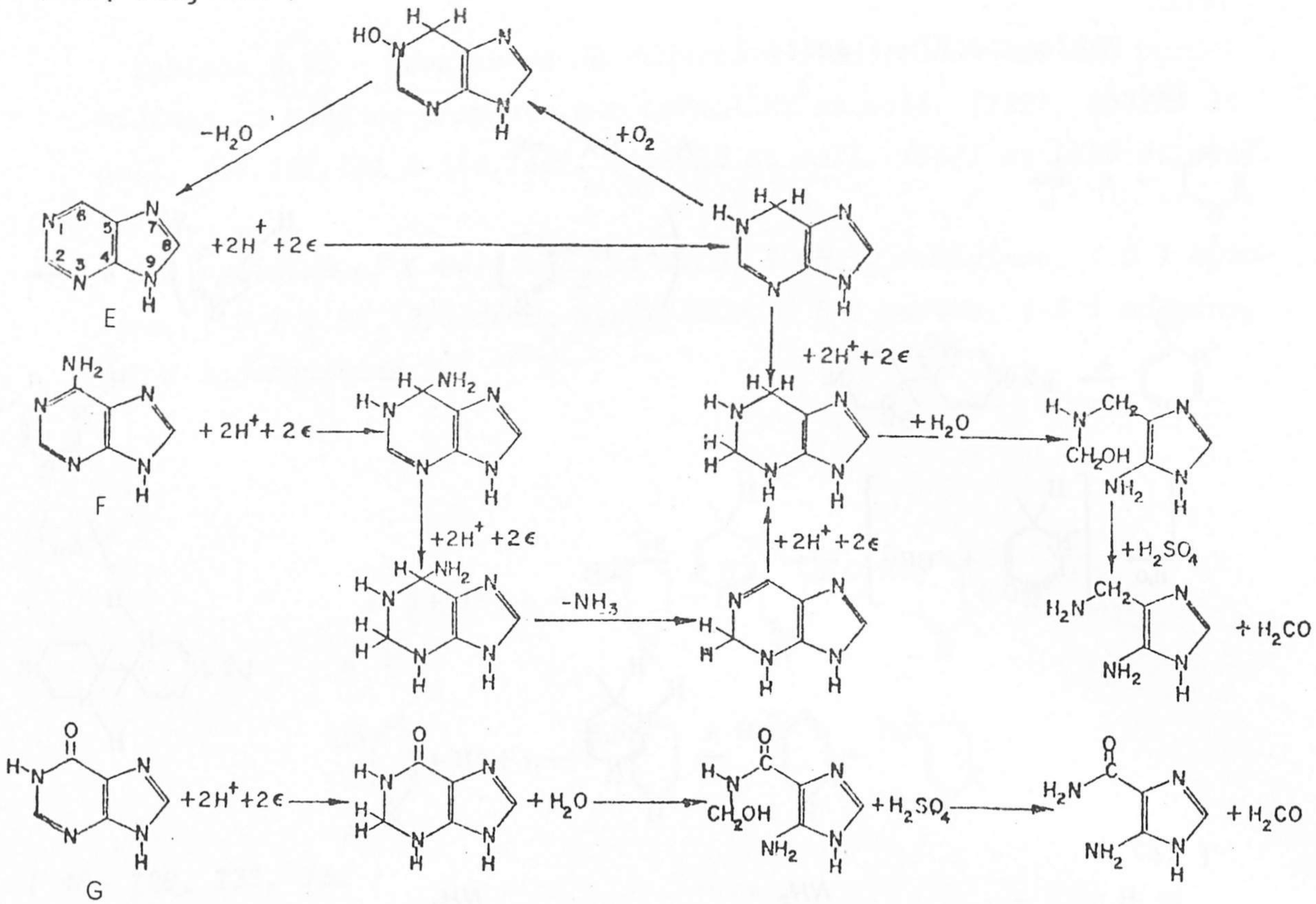
(134)



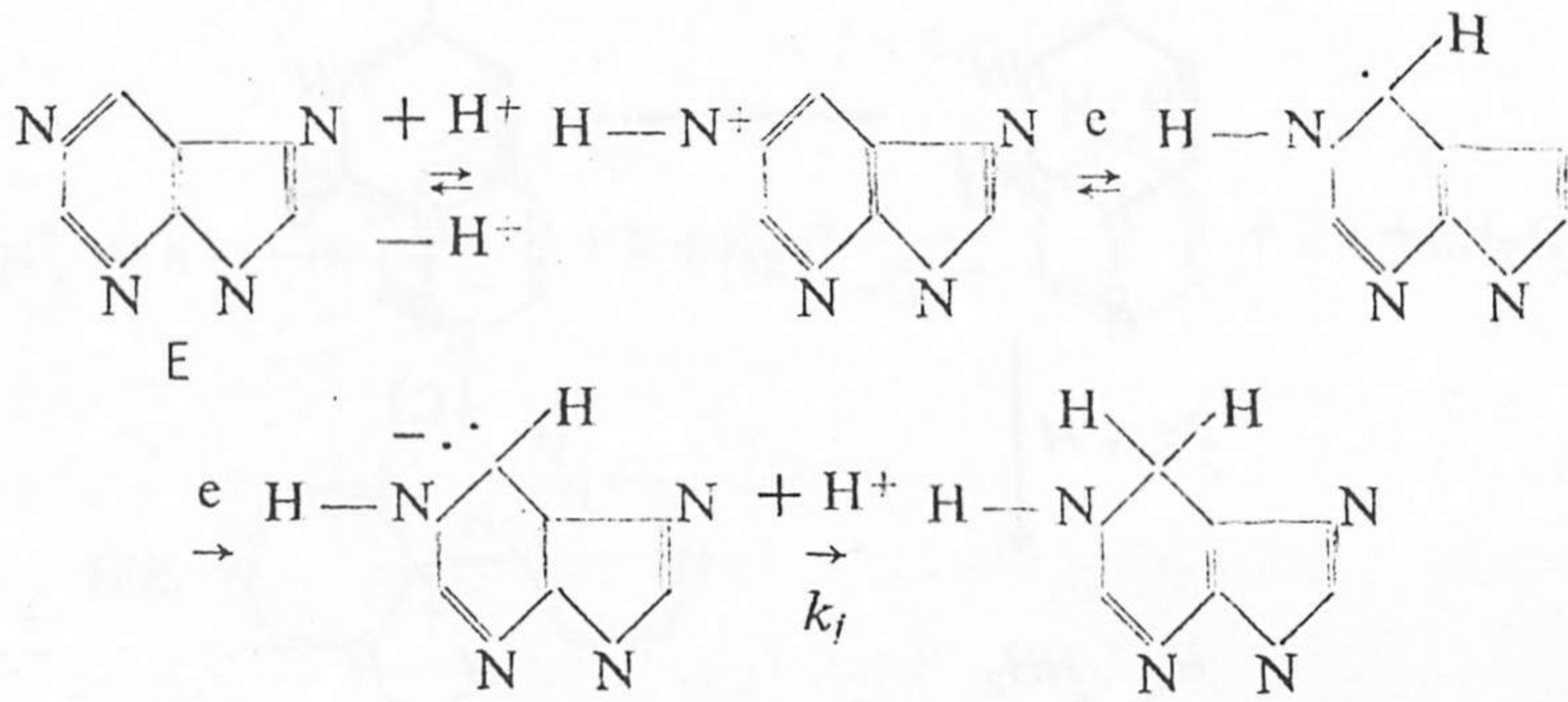
(167)



(48, 128, 136)



(135)



(173)

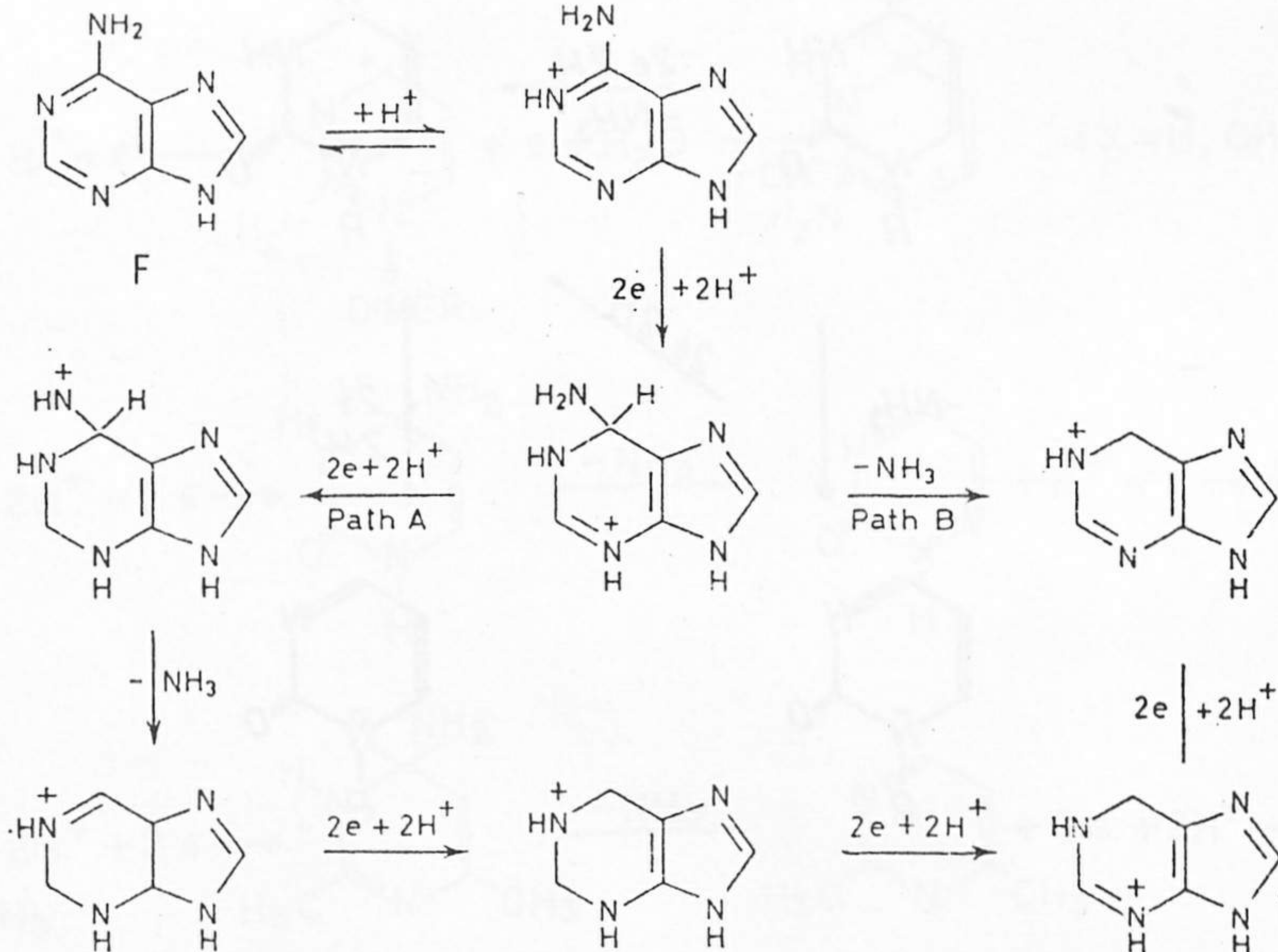
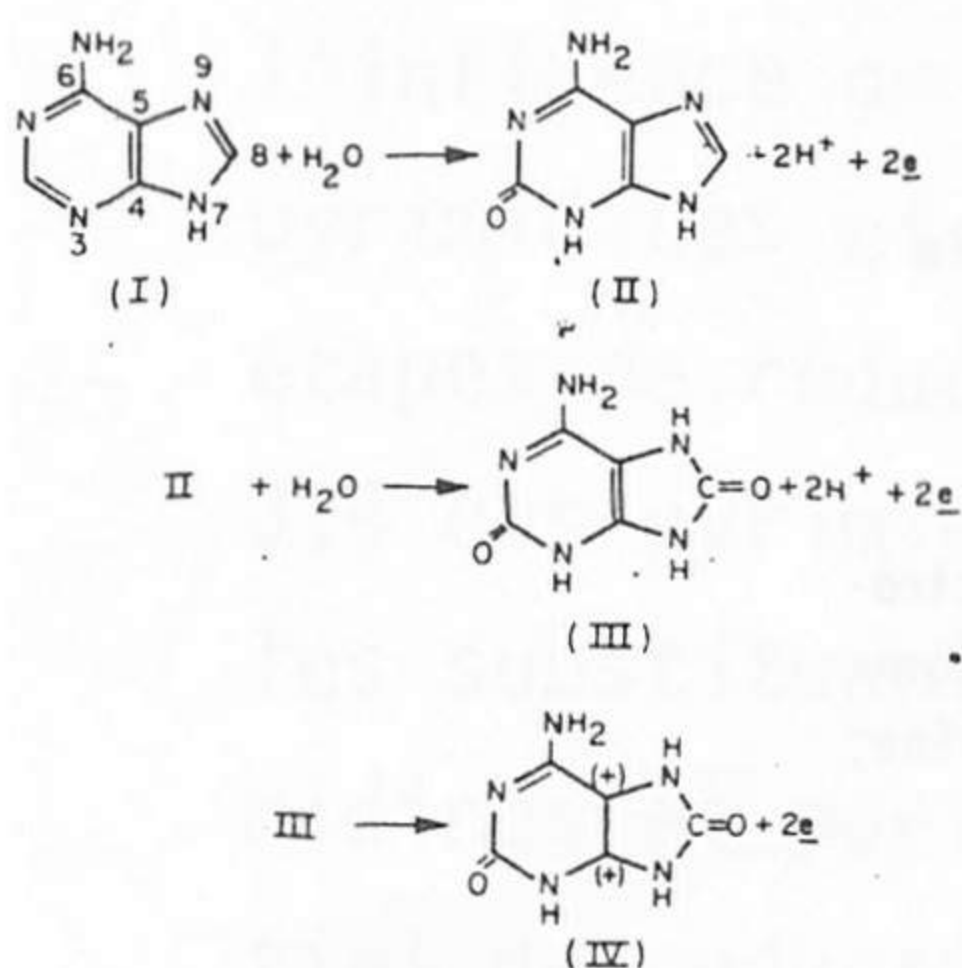


Tableau 4.VII - Mécanismes d'oxydation électrochimique des purines proposés par ELVING et coll. (128,148,159) et DRYHURST et coll. (171, 172).

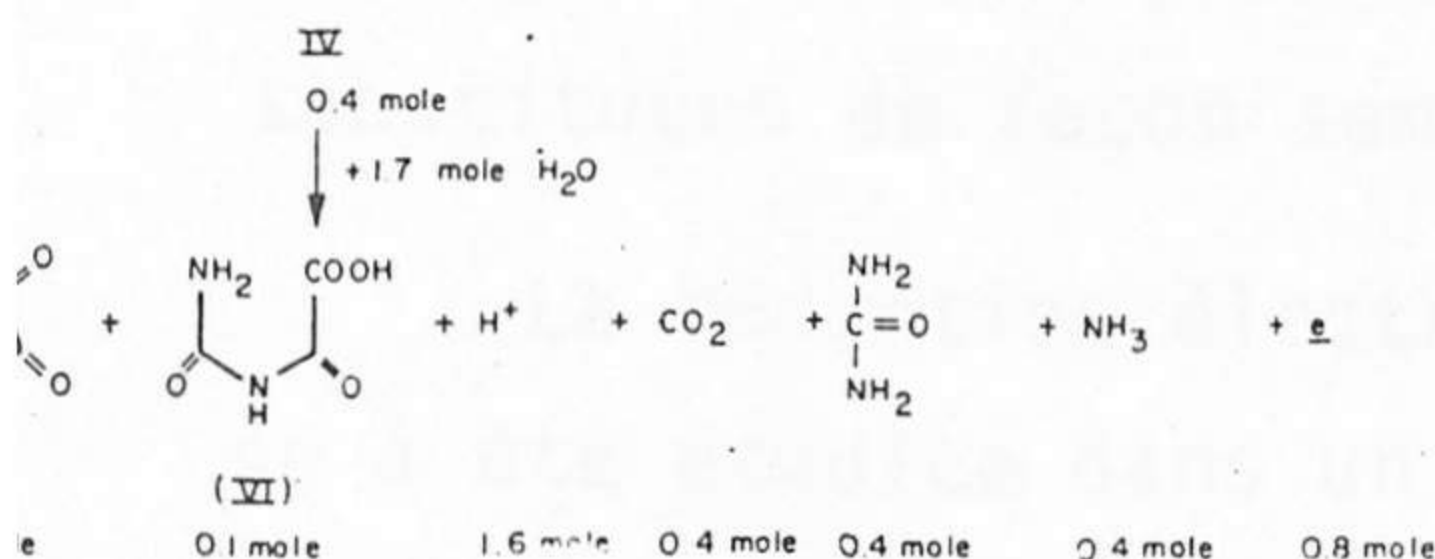
(A) adénine, (B) guanine et (C) acide urique.

(148, 172)

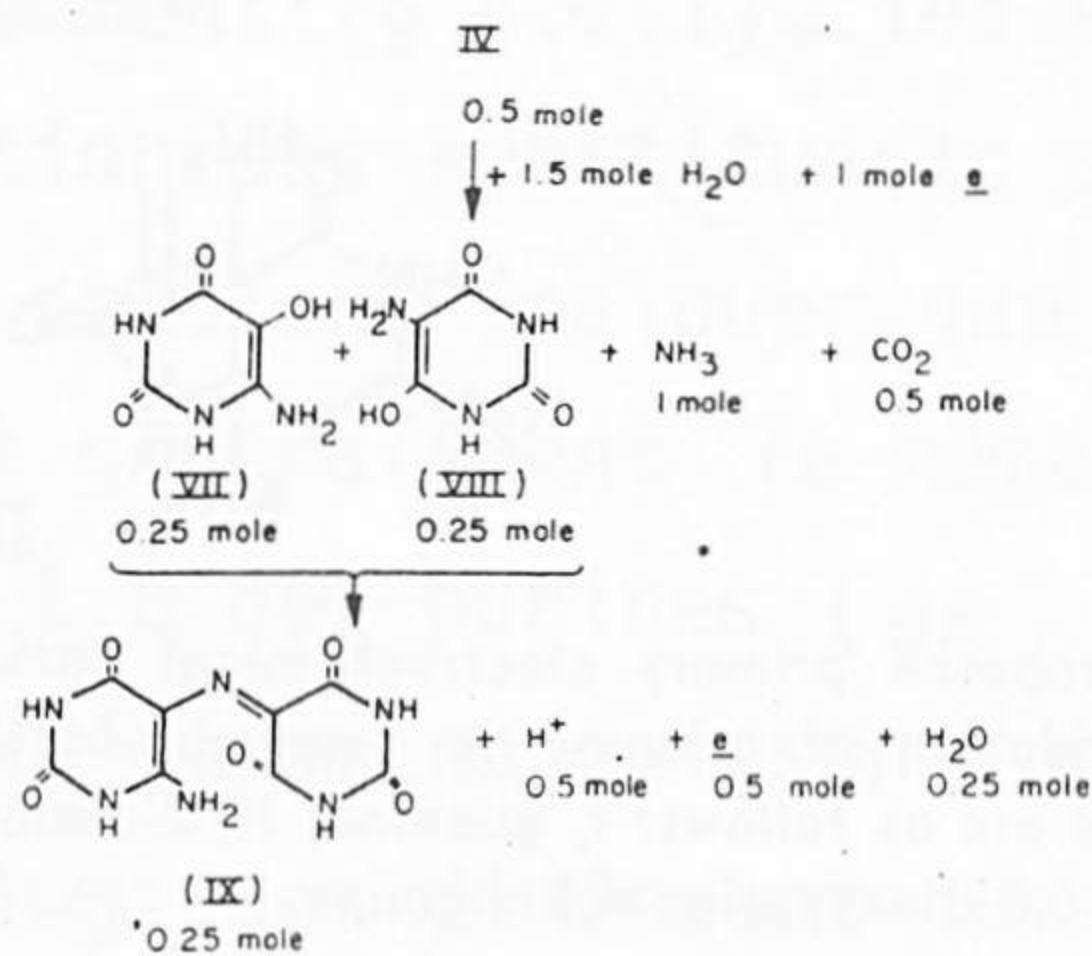
A. Primary Electrochemical Oxidation:



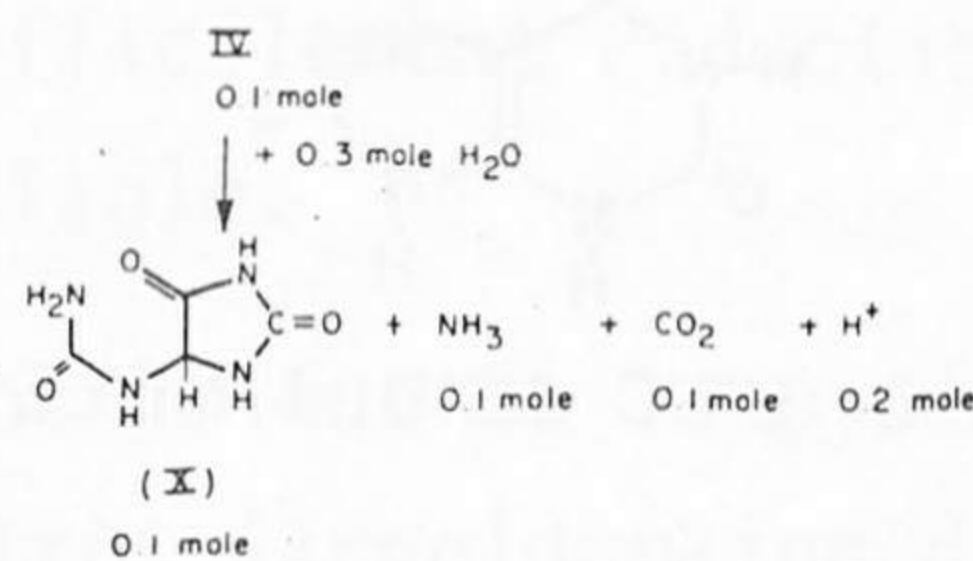
B. Secondary Electrochemical Oxidation:



C. Secondary Reduction, Hydrolysis and Condensation:

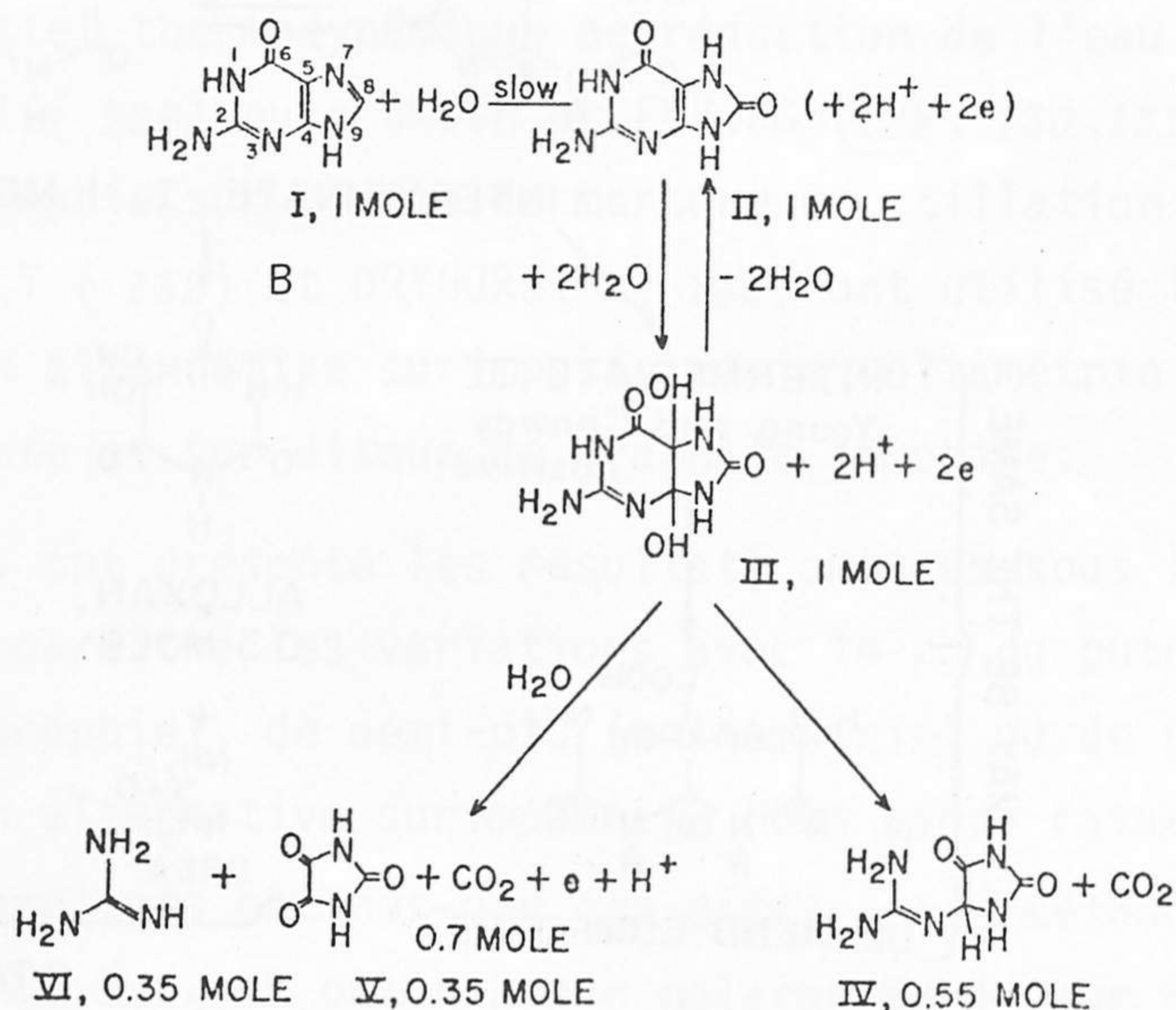


D. Hydrolysis:



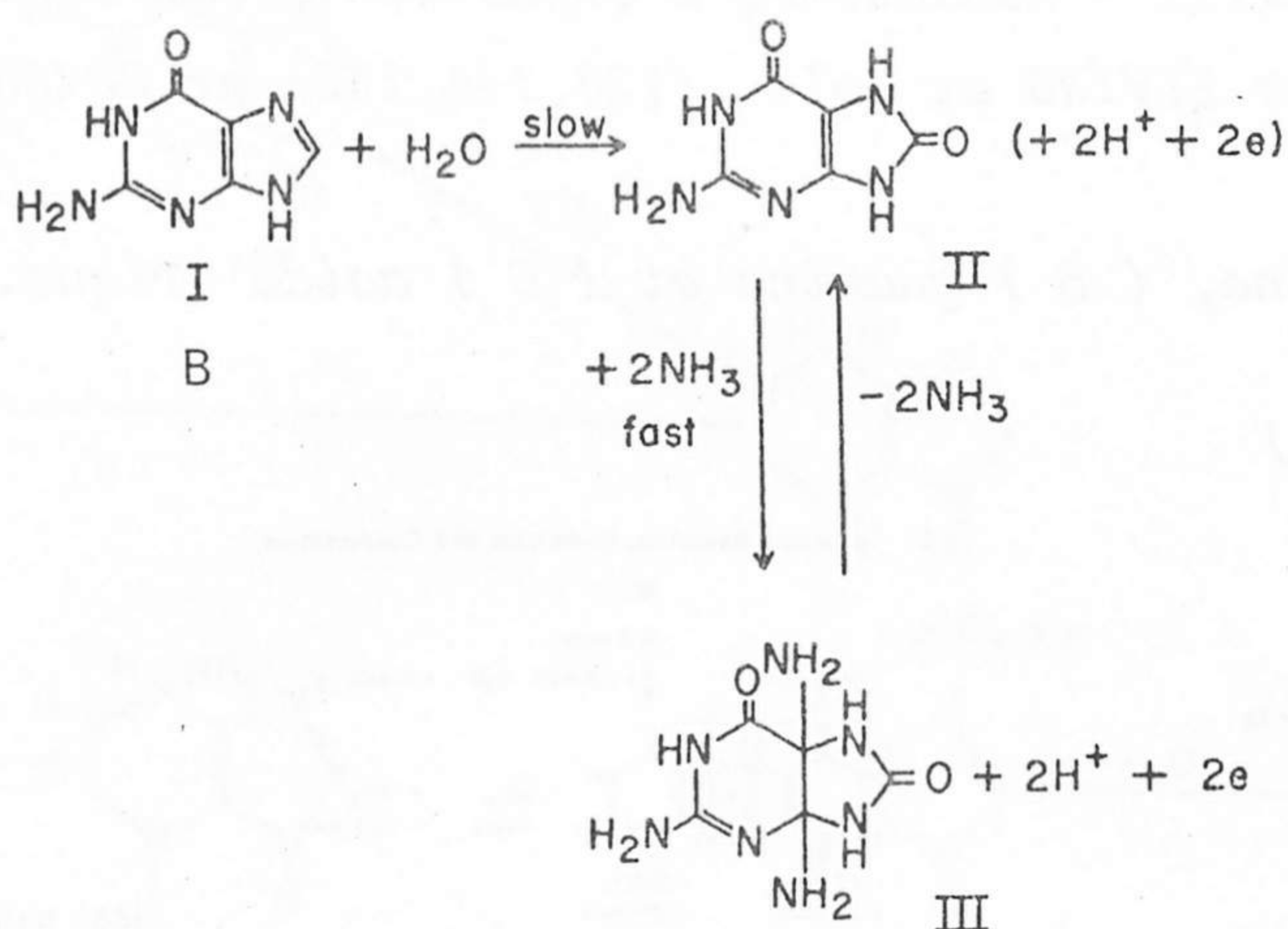
Proposed pathways for electrochemical oxidation of adenine in 1M acetic acid solution and subsequent transformations. The molar quantities refer to the amount involved per mole of adenine (I) converted to the dicarbonium ion (IV). Other compounds listed are as follows: II, 2-hydroxyadenine; III, 2,8-dihydroxyadenine; V, parabanic acid; VI, oxaluric acid; VII, 4-amino-2,5,6-trihydroxypyrimidine; VIII, 5-amino-2,4,5-trihydroxypyrimidine; IX, 4-aminopurpuric acid; X, allantoin.

(171)



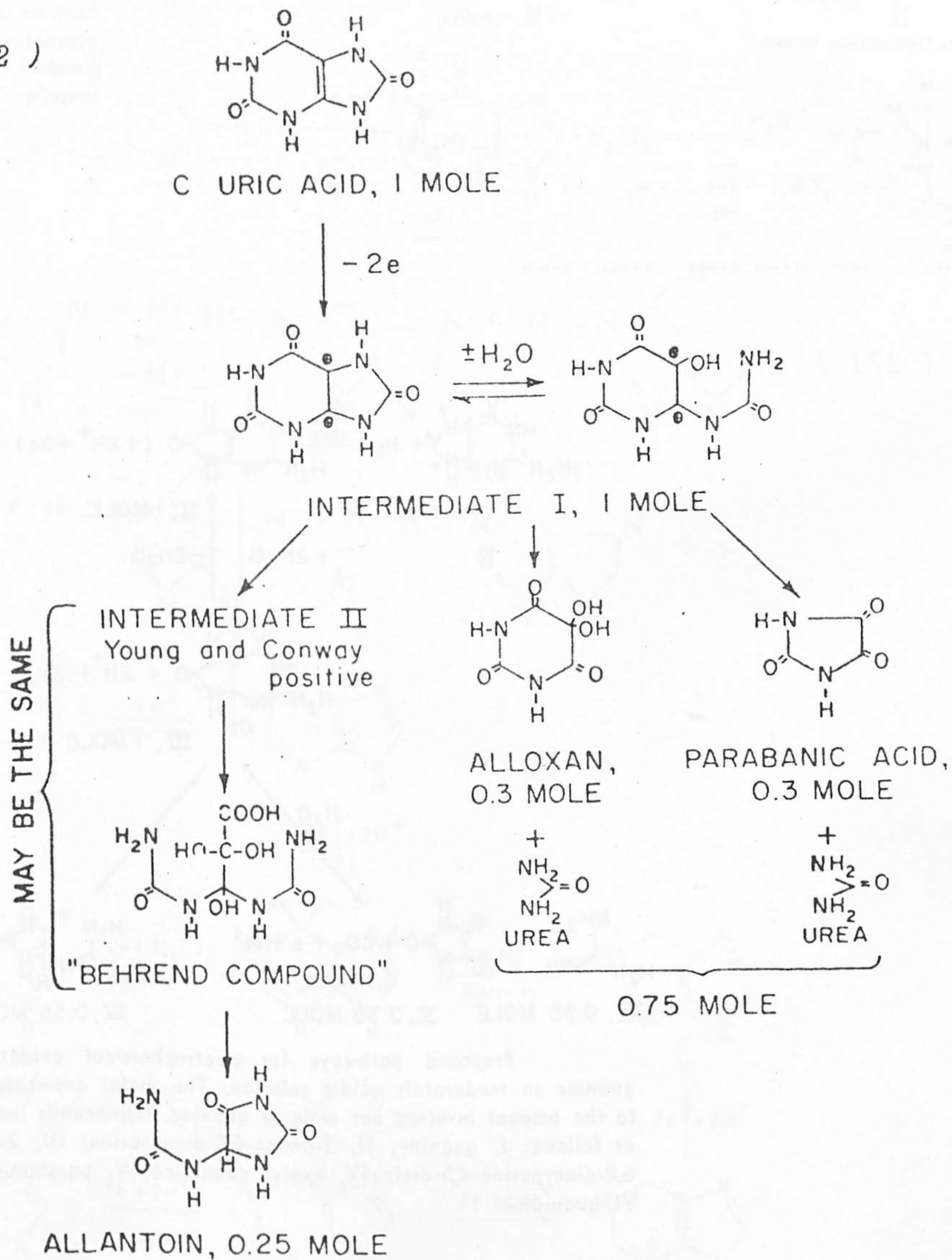
Proposed pathways for electrochemical oxidation of guanine in moderately acidic solution. The molar quantities refer to the amount involved per mole of guanine. Compounds listed are as follows: I, guanine; II, 2-amino-6,8-dioxypurine; III, 2-amino-6,8-dioxypurine-4,5-diol; IV, oxalyl guanidine; V, parabanic acid; VI, guanidine.

(171)



Proposed primary electrochemical pathways for electrochemical oxidation of guanine in ammonia buffer pH 9.1. Compounds listed are as follows: I, guanine; II, 2-amino-6,8-dioxypurine; III, 2-amino-6,8-dioxypurine-4,5-diamine.

(128, 159, 172)



4.1.2 - Réduction électrochimique de la pyrimidine non substituée.

La pyrimidine non substituée est fréquemment utilisée comme composé modèle dans la détermination du comportement en réduction électrochimique des hétérocycles nucléiques. En effet comme nous l'avons indiqué précédemment (§ 4.1.1), les études réalisées sur l'influence de la position des substituants sur la réduction des pyrimidines et purines semblent indiquer que le site des premières étapes de réduction est généralement le même : la double liaison 3,4 des pyrimidines et 1,6 des purines (48, 128). D'autre part, les substituants hydroxy et amino qui sont présents dans les pyrimidines et purines biologiques diminuent considérablement le potentiel de réduction de l'hétérocycle correspondant. Enfin les purines sont généralement plus difficilement réductibles que les pyrimidines substituées de façon semblable.

La réduction électrochimique de la pyrimidine en solution aqueuse a été étudiée dans un très large domaine de pH (0 à 13) (Tableau 4.I). Les matériaux d'électrode utilisés (mercure et graphite) ont été imposés par la situation des potentiels de réduction (Tableau 4.II) par rapport au potentiel thermodynamique de réduction de l'eau au même pH. CAVALIERI et coll. (129) puis SMITH et ELVING (128, 130, 131) ont utilisé la polarographie sur goutte de mercure en stillation libre. Plus récemment O'REILLY (132) et DRYHURST (133) ont utilisé la polarographie à tension alternative surimposée et la voltamétrie sur goutte de mercure pendante et sur disque de graphite immobile.

Les auteurs ont présenté les résultats obtenus sous forme de diagramme faisant apparaître les variations avec le pH du potentiel de demi-vague (polarographie), de demi-pic (voltamétrie) ou de pic (polarographie à tension alternative surimposée). Nous avons rassemblé sur la figure 4.3 les résultats obtenus par ces différentes méthodes. Les points du diagramme $E_{1/2}$ -pH obtenus par polarographie sur goutte de mercure en stillation libre sont répartis sur cinq segments de droite notés I à V (—) dont nous présentons les équations dans la figure 4.4. La polarographie à tension alternative surimposée (- -) et la

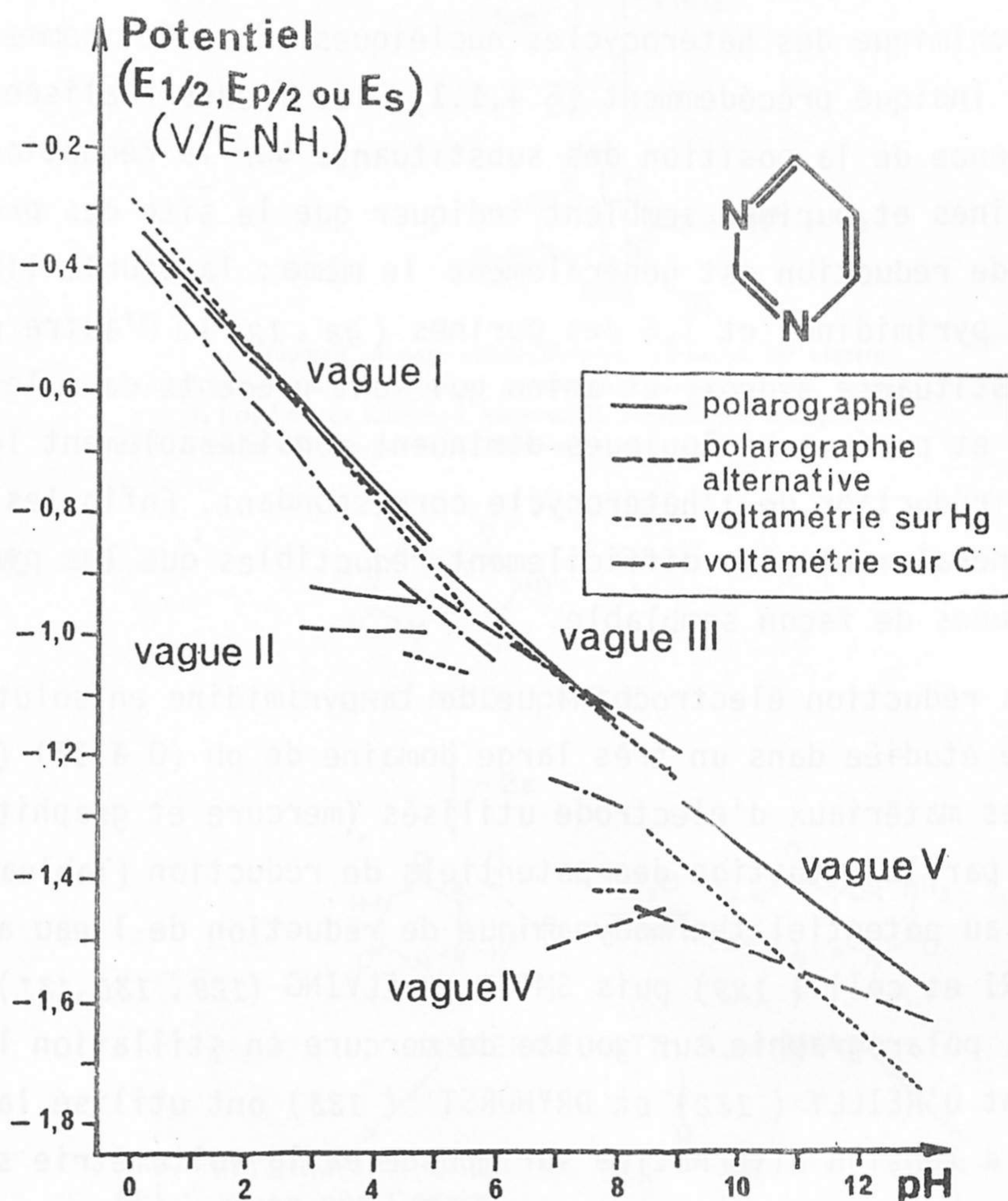
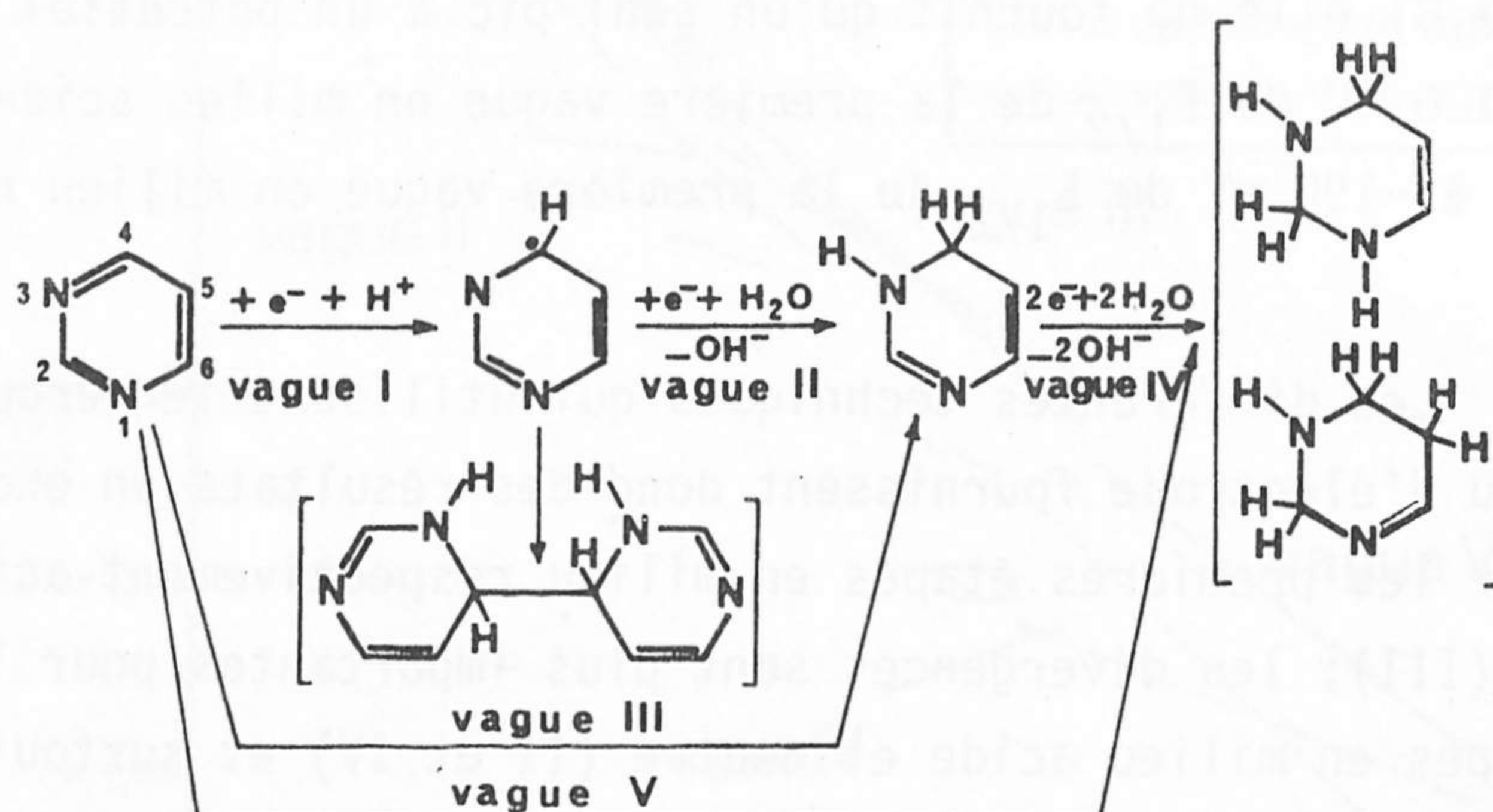


Fig. 4.3 - Réduction électrochimique de la pyrimidine en solution aqueuse : influence du pH sur les potentiels relevés par polarographie classique sur goutte de mercure à stillation libre (—) (128 à 131) par polarographie à tension alternative surimposée (- -) (132, 133) et par voltamétrie sur goutte de mercure pendante (. . .) à $0,026 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ (133) et sur disque de graphite immobile (- -) à $0,060 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$ (133).

voltamétrie sur goutte de mercure pendante (.....) ont fourni des points du diagramme potentiel-pH qui sont aussi répartis sur cinq segments de droite de pente et de position voisines de celle des segments I à V obtenus par polarographie. A un même pH, les potentiels de pics, obtenus par polarographie à tension alternative surimposée, et les potentiels de demi-pic, obtenus par voltamétrie sur goutte de mercure pendante à vitesse de balayage 26 mV/s, diffèrent des potentiels de demi-vague obtenus par polarographie de +30 à -40 mV pour le segment I, de -45 à -90 mV pour le segment II, de +50 à -50 mV pour le segment III, de -30 à -130 mV pour le segment IV et de -90 à -200 mV pour le segment V. La voltamétrie sur disque de graphite stationnaire permet d'atteindre des potentiels moins négatifs que la polarographie. Dans tout le domaine de pH étudié (0 à 8) elle ne fournit qu'un seul pic à un potentiel distant de -50 à -120 mV du $E_{1/2}$ de la première vague en milieu acide (I) et de -140 à -190 mV du $E_{1/2}$ de la première vague en milieu neutre (III).

Les différentes techniques qui utilisent le mercure comme matériau d'électrode fournissent donc des résultats en excellent accord pour les premières étapes en milieu respectivement acide (I) et neutre (III); les divergences sont plus importantes pour les secondes étapes en milieu acide et neutre (II et IV) et surtout pour les résultats en milieu basique (V). L'emploi de graphite comme matériau d'électrode entraîne, semble-t-il, une diminution du potentiel de la première étape de réduction en milieu acide et surtout en milieu neutre. Notons enfin que les potentiels de demi-pic relevés par voltamétrie, tant sur goutte de mercure que sur disque de graphite, diminuent de 50 à 90 mV si la vitesse de balayage des potentiels augmente d'une décade ce qui montre que le processus réactionnel n'est pas un simple transfert rapide d'électron.

La comparaison des potentiels, des hauteurs et des formes des différentes vagues polarographiques de la pyrimidine en solution aqueuse, les coulometries à potentiel imposé et les relevés par spectrophotométrie ultraviolette des modifications obtenues au cours de ces coulometries, ont conduit ELVING (128,131) à proposer des mécanismes



	pH	Concentration (mole.l ⁻¹)	$E_{1/2}$ (mV/E.N.H.)	$I = \frac{-i_d}{C.m^{2/3}.t^{1/6}}$	$ E_{3/4} - E_{1/4} $ (mV)	Nombre e ⁻ (coulométrie)
vague I	0,5 à 5	0,3 à 4.10 ⁻³	- 334-105 pH	2,0 à 2,5	44 ± 7	0,94 ± 0,01
vague II	3 à 5	0,3 à 0,4.10 ⁻³	- 900- 11 pH	2,2 à 2,7	95	1,08 ± 0,06
vague III	5 à 8	0,3 à 5.10 ⁻³	- 438- 89 pH	4,3 à 4,7	41 à 95	2,00 ± 0,3
vague IV	7 à 8	0,3.10 ⁻³	-1358- 5 pH	4,8		
vague V	9 à 13	0,4 à 1,5.10 ⁻³	- 563- 79 pH	8 à 9 (6 à pH 13)		3,93 ± 0,06

Fig. 4.4 - Mécanismes proposés par ELVING et coll. (128,131,132) pour interpréter les résultats de la réduction polarographique de la pyrimidine en solution aqueuse. Caractéristiques des différentes vagues relevées et conditions expérimentales d'obtention.

de réaction pour chacune des étapes de réaction relevées sur électrode de mercure (Fig. 4.4). La prise en considération de ces mécanismes pose toutefois quelques problèmes importants.

a - Ni le radical libre, ni le dimère susceptibles d'être formés au cours du processus correspondant à la vague I n'ont jamais été décelés en solution aqueuse. La résonance paramagnétique électronique, effectuée dans une cellule d'électrolyse n'a fourni aucun signal caractéristique d'un radical libre (134) et la voltamétrie cyclique, même à balayage très rapide, n'a donné aucun pic de réoxydation en solution aqueuse (133). Une étude très récente de la réduction électrochimique de la pyrimidine en solution dans l'acétonitrile non tamponnée semble indiquer la formation d'un radical anion dont l'oxydation a pu être détectée par voltamétrie cyclique sur goutte de mercure pendant à vitesse de balayage supérieure à 3 V/s (134, 135). Le produit de réduction de la pyrimidine, en solution dans l'acétonitrile non tamponnée mais contenant des quantités d'acide plus ou moins fort du même ordre de grandeur que celle de la pyrimidine, est supposé identique au produit de la première vague de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse. De même que dans l'eau, ce produit de réduction n'a pu être réoxydé à un potentiel voisin même par voltamétrie cyclique à balayage très rapide.

b - Si le produit de réduction de la vague I, en solution aqueuse, se dimérise réellement à une vitesse raisonnable, le temps de goutte en polarographie, la vitesse de balayage en voltamétrie et la concentration de pyrimidine avec les deux techniques devrait avoir une influence non négligeable sur les potentiels des deux étapes de réduction en milieu acide (vagues ou pics I et II). A notre connaissance aucun de ces quatre effets n'a été jusqu'à présent relevé par les auteurs qui ont proposé ces mécanismes.

c - Les potentiels des secondes étapes de réduction en milieu acide (II) ou neutre (IV) ne dépendant pratiquement pas du pH de la solution, l'hydrolyse ou la protonation des produits formés, au cours de ces deux étapes, ne peuvent pas, thermodynamiquement, se réaliser

En même temps que le transfert électronique. Si ces réactions chimiques existent, elles ne peuvent donc se dérouler qu'après le transfert d'électron et à vitesse beaucoup plus lente que celui-ci.

d - Les potentiels des étapes de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse dépendent du pH, ce qui indique l'intervention de transfert de protons à vitesse assez élevée avant, pendant ou après le transfert d'électrons. Ces variations $\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH}$ ou $\Delta E_{p/2} / \Delta \text{pH}$ ou $\Delta E_s / \Delta \text{pH}$ ne correspondent cependant pas à celles thermodynamiquement prévisibles à la température des expériences soit :

$$-0,058 \frac{p}{n} \quad \text{V/unité de pH}$$

si p et n sont respectivement le nombre de protons et d'électrons échangés.

e - Tous les potentiels des étapes de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse sont inférieurs au potentiel thermodynamique de réduction du solvant. Par conséquent tous les composés formés principalement à l'électrode sont susceptibles de réagir avec l'eau avec des vitesses de réaction qui peuvent dépendre des conditions expérimentales de géométrie d'électrode, d'apport de réactif à l'électrode, etc... Il faut donc être très prudent dans l'usage des bilans globaux de réaction de macro-électrolyse à potentiel imposé, pour interpréter les processus observés en polarographie ou en voltamétrie.

En conclusion, pour accéder à une connaissance des mécanismes de réduction des hétérocycles nucléiques et en particulier de la pyrimidine, telle que les hypothèses faites puissent être considérées comme solides, de nombreuses données sont encore absentes ou insuffisantes.

Nous avons donc envisagé de combler au moins partiellement cette lacune en cherchant à disposer d'une quantité aussi importante que possible de données concernant les processus électrochimiques qui définissent les propriétés de réduction de la pyrimidine. Ces données ont été recherchées dans l'étude détaillée de l'influence sur le

potentiel, la hauteur et la forme des vagues ou pics de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse, des paramètres expérimentaux suivants :

- pH de la solution,
- nature et concentration des espèces tamponnant le pH de la solution,
- concentration de la pyrimidine,
- conditions d'apport de réactif à l'électrode (débit de mercure et temps de goutte imposé en polarographie, vitesse de balayage des potentiels en voltamétrie),
- température de la solution,
- nature du matériau d'électrode (mercure ou carbone vitreux).

4.2 - Etude de la réduction électrochimique de la pyrimidine en solution aqueuse.

L'analyse critique des données antérieures relatives à l'oxydo-réduction électrochimique des pyrimidines et purines en solution aqueuse nous a montré qu'il subsiste des difficultés ou des imprécisions dans l'interprétation des phénomènes observés. Les hypothèses interprétatives ont été presque toujours émises sans que les influences des paramètres expérimentaux sur l'énergie et la cinétique de la réduction aient été examinées d'assez près.

Nous avons par conséquent repris l'étude de la réduction électrochimique des pyrimidines et purines en solution aqueuse en utilisant pour simplifier l'interprétation des résultats un des composés modèles sur lequel le plus de résultats ont été publiés : la pyrimidine elle-même (177 à 181).

4.2.1 - Réduction de solutions aqueuses très diluées de pyrimidine sur goutte de mercure en stillation commandée. Influence du pH de la solution.

Si la concentration de pyrimidine est inférieure à quelques millimoles par litre de solution, tous les phénomènes observés restent qualitativement comparables lorsque cette concentration est modifiée. Pour mettre en évidence l'influence du pH sur la position et la hauteur des vagues polarographiques en solution très diluée, nous comparerons les résultats obtenus pour une même concentration de réactif, par exemple 10^{-4} M.

La réduction polarographique de la pyrimidine en solution aqueuse très diluée (10^{-4} M) fait apparaître cinq vagues différentes entre pH 0,3 et 10 (Fig. 4.5). En milieu très acide on relève une seule vague dont le potentiel diminue lorsque le pH augmente (vague I). A pH voisin de 2,0 une deuxième vague se dégage du mur du solvant à la suite de la vague I (vague II): son potentiel est indépendant du pH et sa hauteur est un peu supérieure à celle de la vague I. A pH voisin de 5,2 les vagues I et II fusionnent en donnant la vague III;

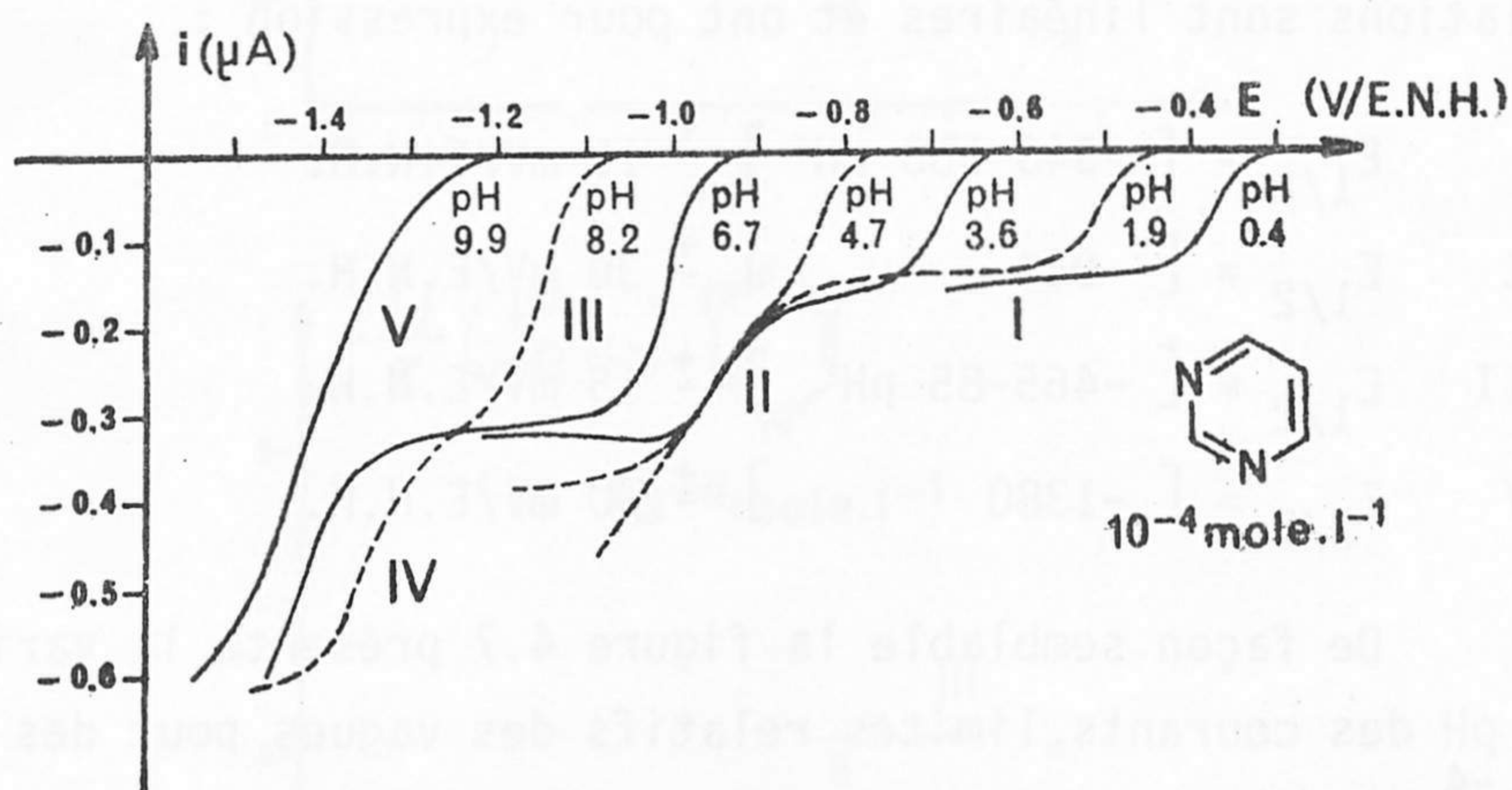


Fig. 4.5 - Réduction de solutions aqueuses 10^{-4} M en pyrimidine sur goutte de mercure à stillation commandée. Evolution des polarogrammes en fonction du pH de la solution : pH 0,4 (HCl), 1,9 (phosphate), 3,6 (formiate), 4,7 (acétate), 6,7 (phosphate), 8,2 (tris), 9,9 (glycine). Conditions polarographiques: capillaire n°10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, balayage des potentiels à 250 mV/mm, $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

Le potentiel de celle-ci diminue lorsque le pH augmente et sa hauteur est voisine de la somme des hauteurs des vagues I et II. A pH voisin de 6,6 une nouvelle vague notée IV, se dégage du mur du solvant, à la suite de la vague III; son potentiel varie peu avec le pH et sa hauteur est un peu inférieure à celle de la vague III. A pH voisin de 10 les vagues III et IV fusionnent en donnant la vague V; le potentiel de cette dernière diminue lorsque le pH augmente et sa hauteur est voisine de la somme des hauteurs des vagues III et IV.

La figure 4.6 présente les variations des $E_{1/2}$ des vagues ainsi définies avec le pH de la solution de pyrimidine 10^{-4} M. Ces variations sont linéaires et ont pour expression :

vague I	$E_{1/2} = [-340-100 \text{ pH}] \pm 15 \text{ mV/E.N.H.}$
vague II	$E_{1/2} = [-960 \quad] \pm 30 \text{ mV/E.N.H.}$
vague III	$E_{1/2} = [-465-85 \text{ pH}] \pm 15 \text{ mV/E.N.H.}$
vague IV	$E_{1/2} = [-1380 \quad] \pm 60 \text{ mV/E.N.H.}$

De façon semblable la figure 4.7 présente la variation avec le pH des courants limites relatifs des vagues pour des solutions 10^{-4} M. Les conditions expérimentales polarographiques utilisées sont alors identiques pour tous les relevés : temps de goutte libre $9,5 \pm 0,5$ s, temps de goutte imposé 0,50 s, débit de mercure $m = 0,86 \pm 0,03 \text{ mg.s}^{-1}$, $25,0 \pm 0,2$ °C, ces données étant obtenues avec un capillaire référencé 10 pour une hauteur de 35,0 cm de mercure. Les courants limites obtenus pour les vagues I et III dépendent peu du pH de la solution (écarts inférieurs à 10%) à l'exception de la valeur relevée à pH 9,7 dans le tampon borate pour la vague III. Les courants limites varient davantage pour les secondes vagues de réduction II et IV tant en milieu acide (vague II) que surtout en milieu neutre (vague IV). En résumé pour :

- la vague I $-i_{lim}/C = +1,50 \pm 0,15 \text{ } \mu\text{A/mM}$
- la vague II $+1,45 \leq -i_{lim}/C \leq +2,40 \text{ } \mu\text{A/mM}$
- la vague III $-i_{lim}/C = +3,05 \pm 0,15 \text{ } \mu\text{A/mM}$
- la vague IV $+1,7 \leq -i_{lim}/C \leq +3,0 \text{ } \mu\text{A/mM}$

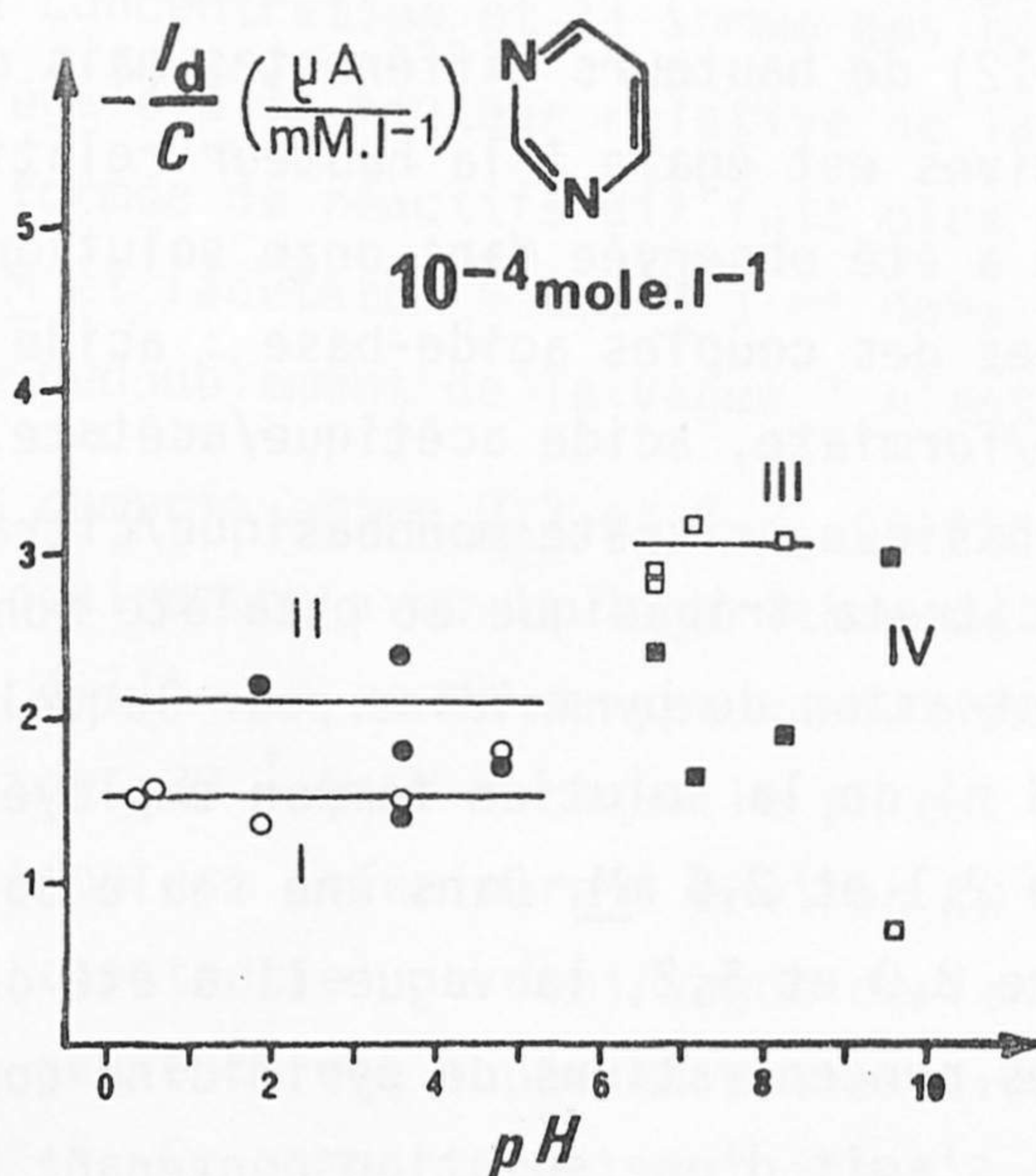
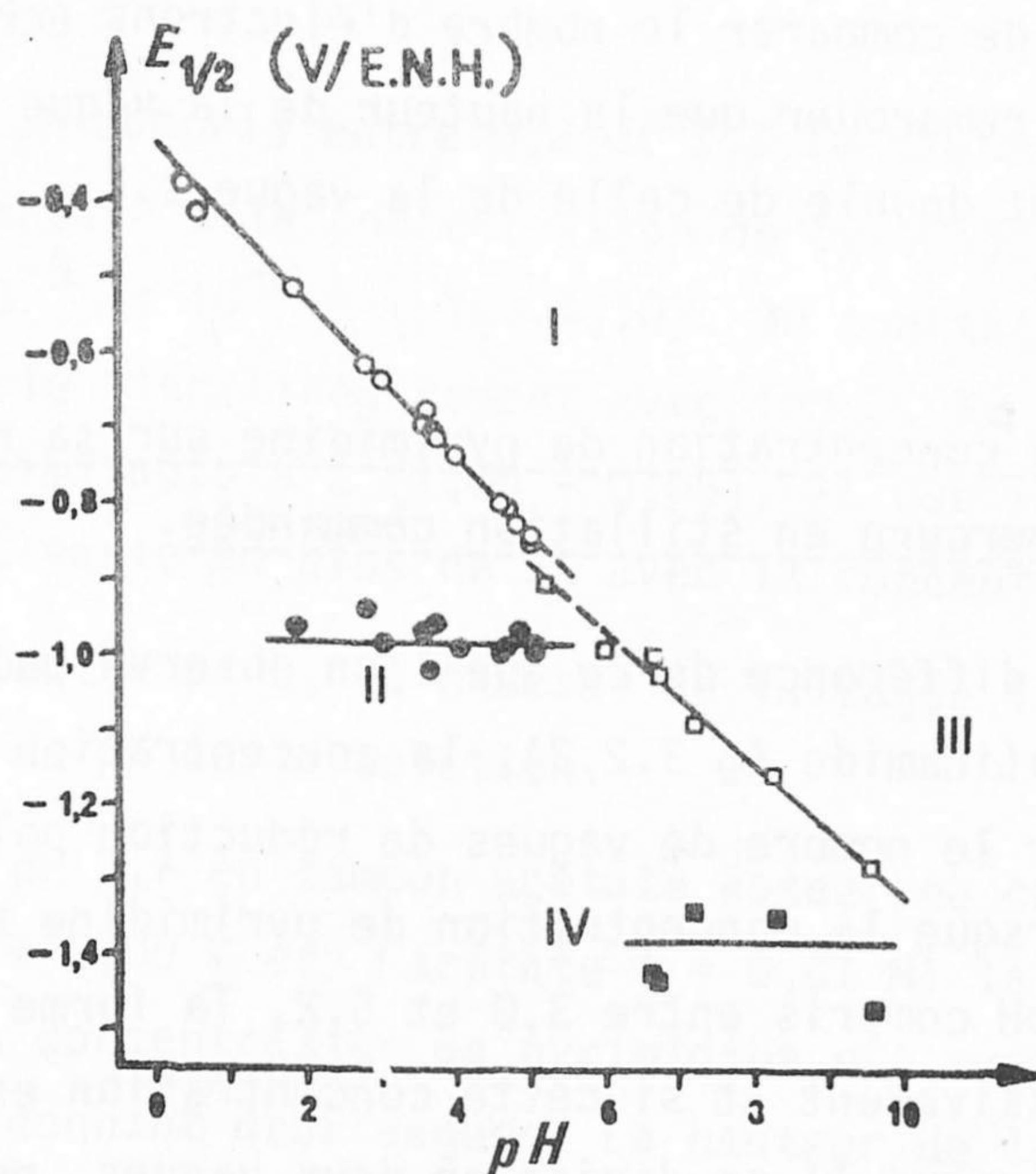


Fig. 4.6 et 4.7 - Réduction de solutions aqueuses (10^{-4} M) en pyrimidine sur goutte de mercure à stillation commandée : (○) vague I, (●) vague II, (□) vague III et (■) vague IV.

Fig. 4.6 - Influence du pH sur les potentiels de demi-vague.

Fig. 4.7 - Influence du pH sur les hauteurs relatives des vagues. Conditions polarographiques : capillaire n°10, 35,0 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, balayage des potentiels à 250 mV/mm, $25,0 \pm 0,2^\circ \text{C}$.

Afin de comparer le nombre d'électrons échangés, il est important de remarquer que la hauteur de la vague III est presque exactement double de celle de la vague I.

4.2.2 - Influence de la concentration de pyrimidine sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée.

A la différence de ce que l'on observe pour l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide (§ 3.2.2), la concentration de pyrimidine a un effet sur le nombre de vagues de réduction polarographique. En effet lorsque la concentration de pyrimidine augmente dans une solution de pH compris entre 3,0 et 5,2, la forme de la vague II change progressivement et si cette concentration est supérieure à $2 \cdot 10^{-3}$ M cette vague II se divise en deux vagues, notées II_a et II_b (Fig. 4.8 à 4.12) de hauteurs différentes mais dont la somme des hauteurs relatives est égale à la hauteur relative de la vague II. Cette division a été observée dans onze solutions tampons différentes constituées des couples acide-base : acide citrique/citrate, acide formique/formiate, acide acétique/acétate, oxalate monobasique/oxalate dibasique, citrate monobasique/citrate dibasique, citrate dibasique/citrate tribasique et phtalate monobasique/phtalate dibasique. La concentration de pyrimidine pour laquelle la vague II se dédouble ne dépend ni de la solution tampon employée ni du pH et est comprise entre 2,1 et 2,6 mM. Dans une seule solution tampon de pH compris entre 3,0 et 5,2, la vague II a été observée sans dédoublement pour des concentrations de pyrimidine comprises entre 10^{-5} et 10^{-2} M : il s'agit d'une solution contenant de l'acide acétique 0,9 M et de l'acétate 0,1 M (pH 3,7). Cependant lorsque cette solution tampon est diluée 10 fois la vague II se dédouble "normalement" si la concentration de pyrimidine est supérieure à environ 2 mM.

La concentration de pyrimidine a une influence non seulement sur la hauteur mais aussi sur le potentiel des différentes vagues. Nous décrirons donc cet effet séparément pour chacune des vagues polarographiques relevées dans des solutions de pH compris entre 0,3 et 10.

Vague I -

A pH compris entre 0,3 et 5,2 la hauteur de la vague I est proportionnelle à la concentration de pyrimidine si celle-ci varie entre 10^{-5} et 10^{-2} M (Fig. 4.10). On constate en effet que $\log(-i_{lim})$ varie bien linéairement avec $\log C$, la pente restant en général assimilable à 1 ($1,00 \pm 0,05$), et que la hauteur relative $-i_{lim}/C$ varie au plus de 5% avec la concentration.

D'autre part, la hauteur de la vague I ne dépend pratiquement pas du pH de la solution.

A pH 3,7 en tampon acétate assez peu concentré ($[acide\ acétique] = 0,09$ M et $[acétate] = 0,01$ M) la vague I se dédouble dès que la concentration de pyrimidine est supérieure à environ 10^{-4} M en donnant deux vagues. La hauteur de la première est indépendante de la concentration et la somme des hauteurs relatives des deux vagues est égale à la hauteur relative de la vague I. Dans une solution tampon formée de réactifs dix fois plus concentrés ($[acide\ acétique] = 0,9$ M et $[acétate] = 0,1$ M) et dans tous les autres tampons, cet effet de dédoublement de la vague I n'est jamais observé.

A pH compris entre 0,3 et 5,2, on observe que $E_{1/2}$ de la vague I varie linéairement avec le logarithme de la concentration de pyrimidine (Fig. 4.11). La pente de ces variations $\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$ est généralement de $+20 \pm 5$ mV lorsque le pH est inférieur à 2,8 ou que la concentration est inférieure à environ 10^{-3} M à pH compris entre 2,8 et 5. Le potentiel de demi-vague devient indépendant de la concentration si celle-ci est supérieure à environ 10^{-3} M à pH compris entre 2,8 et 5. Ce comportement est identique à celui observé pour la première vague de réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide en milieu neutre ou basique (§ 3.2.2). Il révèle l'intervention dans le mécanisme de réaction correspondant à la vague I :

- soit d'étape de réaction, d'ordre différent de l'unité, qui limiterait la vitesse de transfert des électrons,
- soit de réaction d'oxydo-réduction réversible conduisant à des produits en nombre différent des réactifs, les composés à potentiel chimique constant (solvant, solides, constituants du tampon) n'in-

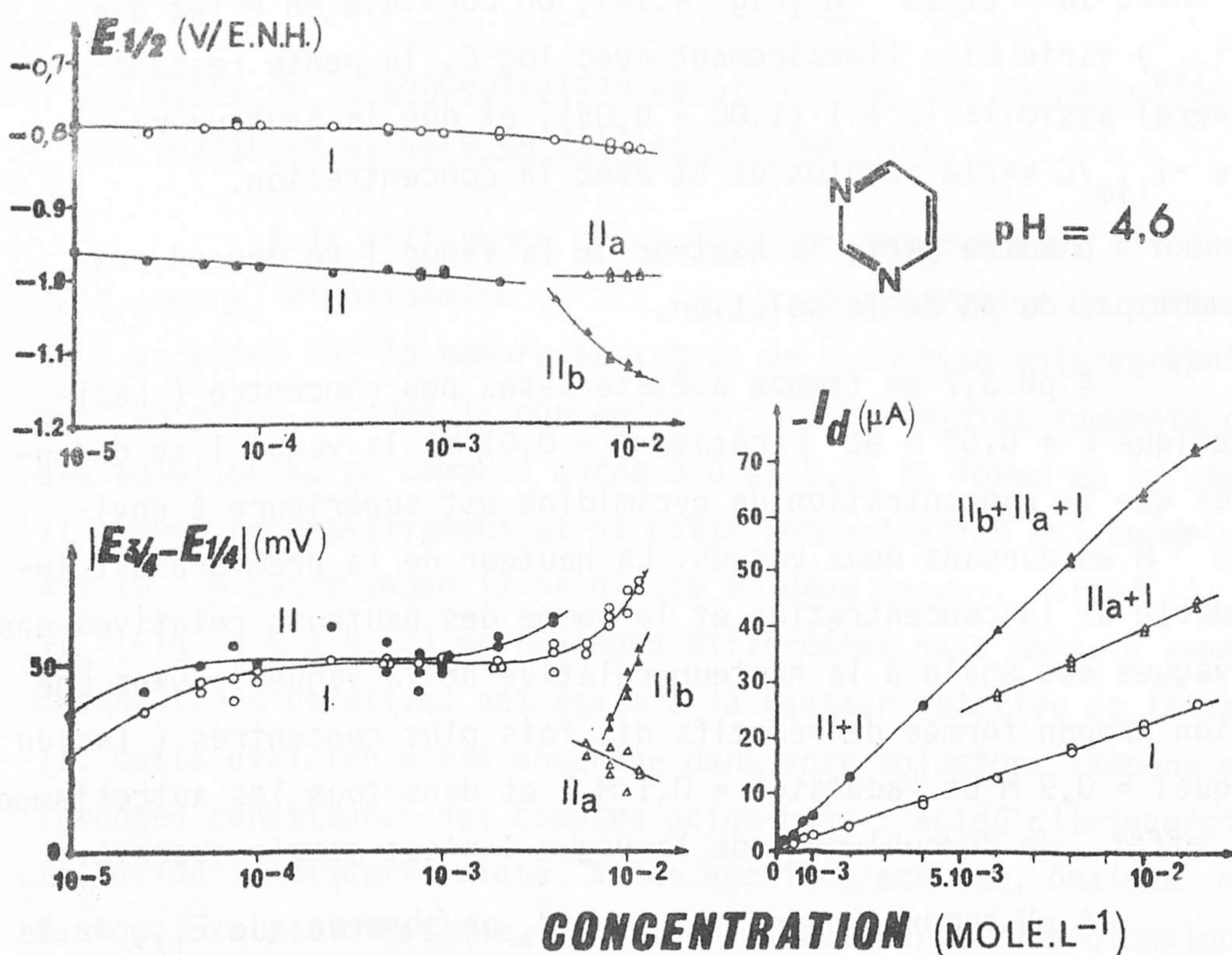


Fig. 4.8 à 4.10 - Influence de la concentration de pyrimidine en solution dans un tampon acétate (pH 4,62) sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée : vague I (\circ), vague II (\bullet), vague II_a (Δ) et vague II_b (\blacktriangle). Conditions polarographiques : capillaire n°1, 30 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,52 s., $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

Fig. 4.8 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le logarithme de la concentration de pyrimidine.

Fig. 4.9 - Relations entre les pentes de vague et le logarithme de la concentration de pyrimidine.

Fig. 4.10 - Relations entre les hauteurs de vague et la concentration de pyrimidine.

tervenant pas dans ce décompte (96).

Lorsque la concentration de pyrimidine passe de 10^{-4} M à 10^{-2} M le potentiel de demi-vague varie toujours linéairement avec le pH. Ces variations ont pour expression :

- en solution 10^{-4} M, $E_{1/2} = [-340 -100 \text{ pH}]^{\pm} 15 \text{ mV/E.N.H.}$ (Fig.4.6)
- en solution 10^{-3} M, $E_{1/2} = [-320 -100 \text{ pH}]^{\pm} 15 \text{ mV/E.N.H.}$
- en solution 10^{-2} M, $E_{1/2} = [-315 -100 \text{ pH}]^{\pm} 20 \text{ mV/E.N.H.}$ (Fig.4.12)

La pente de la vague I, repérée par $1/|E_{3/4} - E_{1/4}|$, est en général compatible avec l'intervention d'un transfert monoélectronique rapide ($1/(50 \pm 5) \text{ mV}^{-1}$, la valeur théorique étant alors $1/56 \text{ mV}^{-1}$) dans la zone de concentration moyenne c'est-à-dire d'environ 10^{-4} à environ $7 \cdot 10^{-3}$ M (voir par exemple Fig. 4.9 contenant des données relevées à pH 4,6).

Vague II -

A pH compris entre 2,0 et 5,2 la hauteur de la vague II est proportionnelle à la concentration de pyrimidine si celle-ci varie entre 10^{-5} et $2 \cdot 10^{-3}$ M. On observe en effet que $\log(-i_{lim})$ varie bien linéairement avec $\log C$, la pente restant en général assimilable à 1 ($1,00 \pm 0,05$) et que la hauteur relative $-i_{lim}/C$ varie au plus de 5% avec la concentration. D'autre part, la hauteur de la vague II ne dépend pratiquement pas du pH de la solution. Enfin la hauteur de la vague II est de 1,3 à 1,7 fois plus grande que celle de la vague I à la même concentration.

Dans les mêmes conditions de pH et de concentration de pyrimidine, on observe que $E_{1/2}$ de la vague II varie linéairement avec le logarithme de cette concentration (Fig. 4.11). La pente de cette variation $\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$ est généralement de $-35 \pm 7 \text{ mV}$. Ce comportement est semblable à celui observé pour la deuxième vague de réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide en milieu basique (§ 3.2.2). Ce glissement du $E_{1/2}$ de la vague II, lorsque la concentration de pyrimidine varie, révèle l'existence, dans le mécanisme de réaction électrochimique, du même type de réaction que pour la vague I.

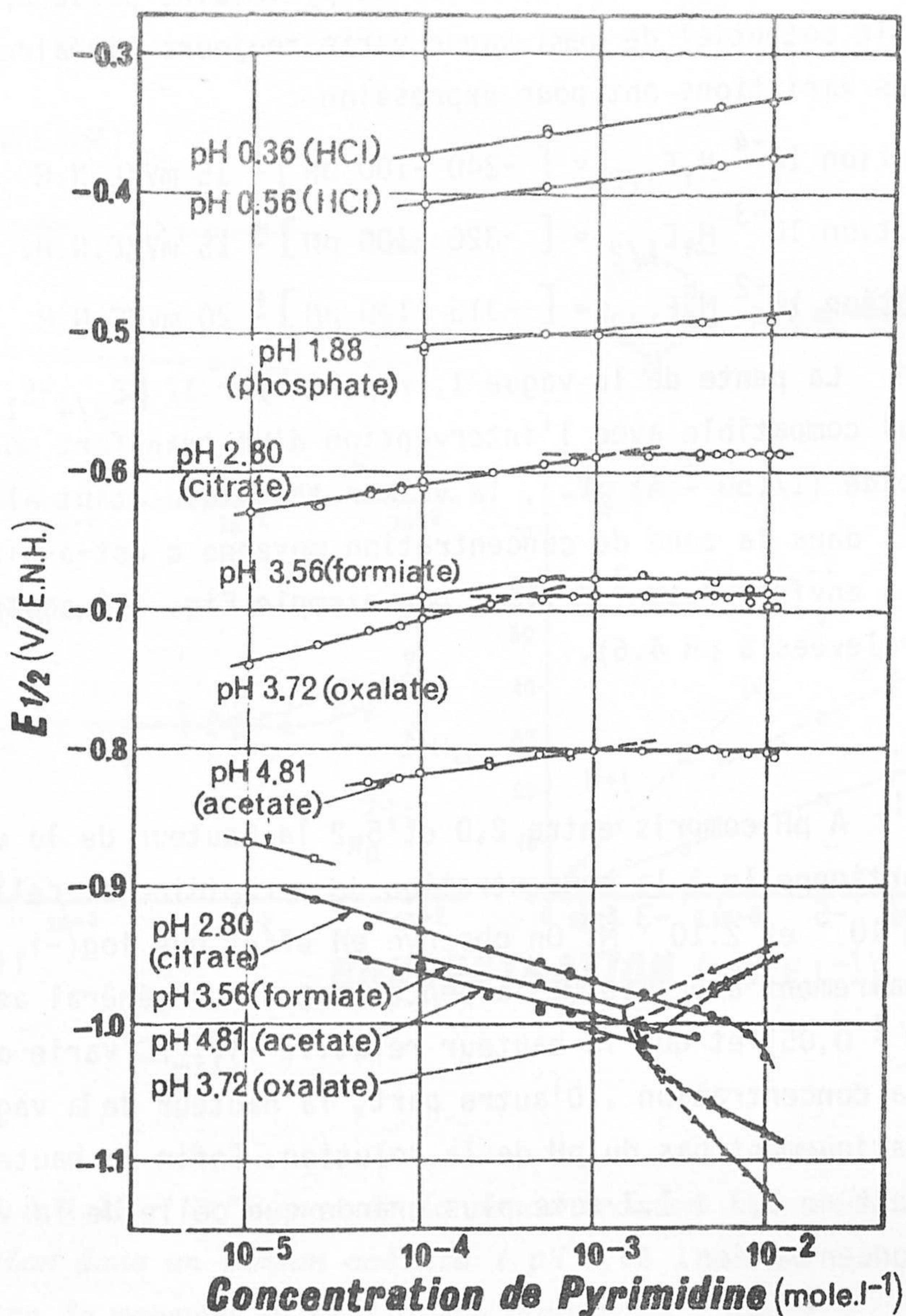


Fig. 4.11 - Influence de la concentration de pyrimidine sur sa réduction sur goutte de mercure en stillation commandée. Comportement des potentiels de demi-vague de la vague I (○), la vague II (●), la vague II_a (△) et la vague II_b (▲) dans les tampons suivants: acide chlorhydrique (pH 0,36, 0,56), phosphate (pH 1,88), citrate (pH 2,80), formiate (pH 3,56), oxalate (pH 3,72) et acétate (pH 4,81).

La pente de la vague II, repérée par $1/|E_{3/4}-E_{1/4}|$, est en général compatible avec l'intervention d'un transfert mono-électronique rapide ($1/(52 \pm 7) \text{ mV}^{-1}$) dans la zone de concentration moyenne c'est-à-dire d'environ 10^{-4} à environ 10^{-3} M (voir par exemple Fig. 4.9 contenant des données relevées à pH 4,6).

Vague II_a

Cette vague peut être observée entre pH 3,0 et 5,2 si la concentration de pyrimidine est supérieure à 2,3 mM. Le potentiel et la hauteur de cette vague II_a ne dépendent pratiquement ni du pH de la solution (Fig. 4.12), ni de la concentration de pyrimidine (Fig. 4.8, 4.10 et 4.11).

Le potentiel de la vague II_a diffère peu de celui de la vague II relevée dans des solutions de concentration un peu inférieure à la concentration de dédoublement (2,3 mM) (Fig. 4.8 et 4.11). Finalement, $E_{1/2}$ de cette vague II_a a pour valeur quels que soient le pH et la concentration de pyrimidine :

$$(E_{1/2})_{II_a} = -975 \pm 25 \text{ mV/E.N.H.}$$

La hauteur de la vague II_a, qui ne dépend ni du pH, ni de la concentration, est égale à celle que présente la vague II à la concentration de dédoublement (Fig. 4.10).

La pente de la vague II_a, repérée par $1/|E_{3/4}-E_{1/4}|$, est toujours élevée même lorsque les vagues II_a et II_b sont suffisamment séparées ($1/(25 \pm 5) \text{ mV}^{-1}$). Si l'on supposait que la vague II_a correspond à une vague rapide, ce que nous infirmerons plus loin, la valeur de cette pente serait compatible avec l'existence d'un transfert biélectronique.

Vague II_b

Cette vague, comme la précédente, peut être observée entre pH 3,0 et 5,2 si la concentration de pyrimidine est supérieure à 2,3 mM. Au contraire de la vague II_a, le potentiel et la hauteur de la vague II_b dépendent beaucoup de la concentration.

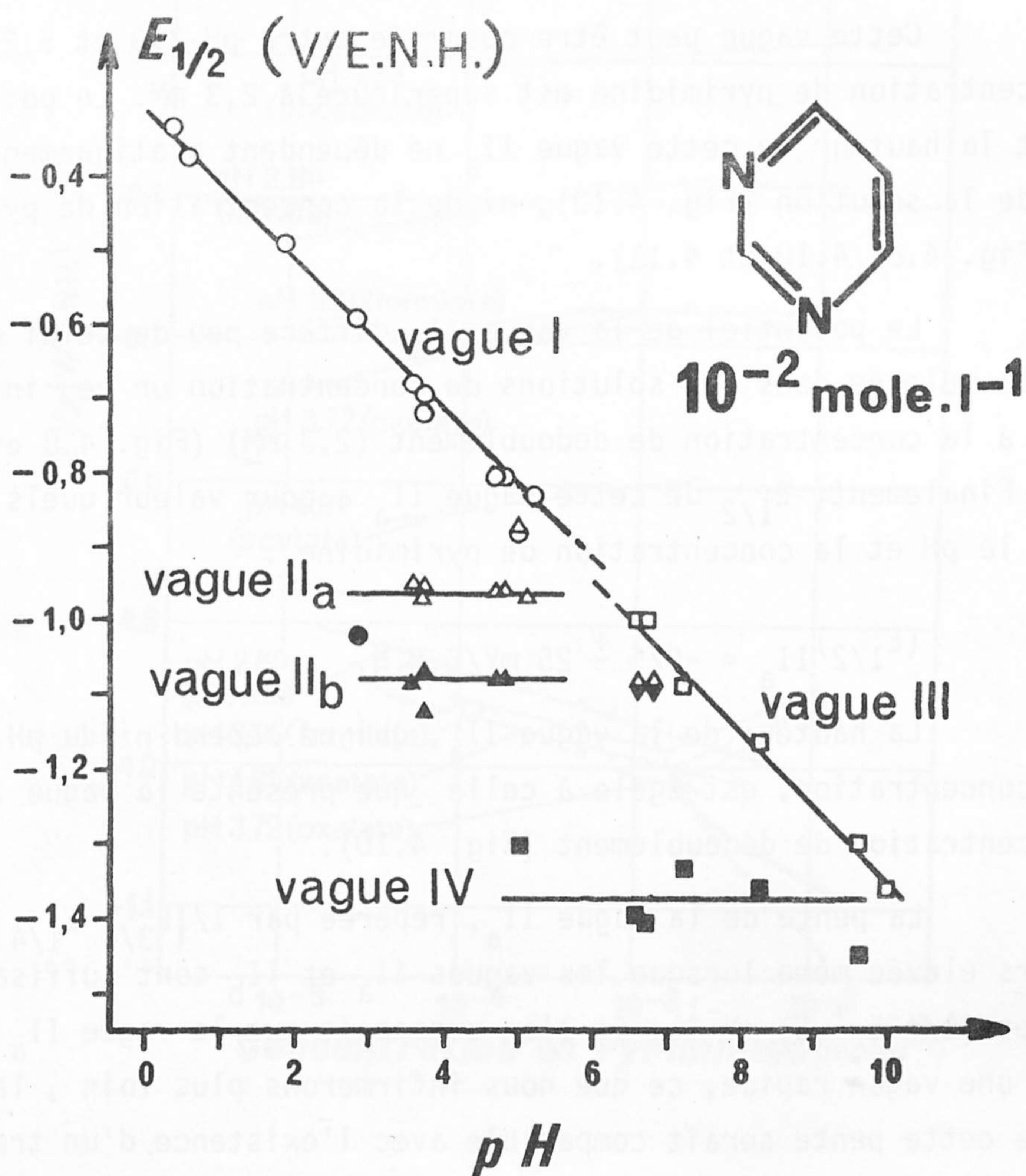


Fig. 4.12 - Influence du pH sur les potentiels de demi-vague de réduction de solutions 10^{-2} M en pyrimidine sur goutte de mercure en stillation commandée : vague I (O), vague II (●), vague II_a (Δ) et vague II_b (▲).

$E_{1/2}$ de la vague II_b se déplace de plus de 100 mV vers les potentiels plus négatifs lorsque la concentration passe de 2,5 à 20 mM (Fig. 4.8 et 4.11). Ce glissement du $E_{1/2}$ de la vague II_b , lorsque la concentration de pyrimidine varie, fait intervenir un mécanisme analogue à celui supposé pour les vagues I et II.

Par contre, à une concentration donnée, $E_{1/2}$ de la vague II_b ne dépend pratiquement pas du pH de la solution. Dans des solutions 10^{-2} M en pyrimidine (Fig. 4.12) on a par exemple :

$$(E_{1/2})_{II_b} = -1080 \pm 10 \text{ mV/E.N.H.}$$

La hauteur de la vague II_b augmente avec la concentration sans cependant être proportionnelle à celle-ci. En effet lorsque la concentration est supérieure à 2,3 mM c'est la somme des hauteurs des vagues II_a et II_b qui est proportionnelle à la concentration, le coefficient de proportionnalité étant égal à celui qui existe entre la hauteur de la vague II et la concentration; on observe donc la relation suivante entre les valeurs des hauteurs des vagues II_a , II_b et II :

$$\frac{1}{C} \left\{ (i_{lim})_{II_a} + (i_{lim})_{II_b} \right\} = \frac{1}{C'} (i'_{lim})_{II}$$

si C et C' sont des concentrations de pyrimidine de part et d'autre de la concentration de dédoublement ($C \geq 2,3 \text{ mM}$, $C' \leq 2,3 \text{ mM}$) et si $(i_{lim})_{II_a}$ et $(i_{lim})_{II_b}$ ont été relevées dans des solutions de concentration C et $(i'_{lim})_{II}$ dans des solutions de concentration C'.

La pente de la vague II_b , repérée par $1/|E_{3/4} - E_{1/4}|$ varie tellement avec la concentration ($1/70$ à $1/25 \text{ mV}^{-1}$) qu'aucun nombre d'électron échangé ne peut être évalué par ce moyen.

Vague III.

A pH compris entre 5,2 et 10 la hauteur de la vague III est proportionnelle à la concentration de pyrimidine si celle-ci varie entre 10^{-4} et 10^{-2} M. On observe en effet que $\log(-i_{lim})$ varie bien linéairement avec $\log C$, la pente restant en général assimilable

à 1 ($1,00 \pm 0,05$) et que la hauteur relative $-i_{lim}/C$ varie au plus de 5% avec la concentration. D'autre part, la hauteur de la vague III ne dépend pratiquement pas du pH de la solution (écarts inférieurs à 5%).

En tampon borate (pH 9,57) la hauteur de la vague III varie comme $(C)^{1,3}$ et en tampon phosphate (pH 6,71) la vague III se dédouble à concentration supérieure à $3,75 \text{ mM}$ en donnant deux vagues dont la somme des hauteurs relatives est égale à la hauteur relative de la vague III et dont la hauteur de la première vague dédoublée est indépendante de la concentration.

A pH compris entre 5,2 et 10 on observe que $E_{1/2}$ de la vague III ne varie pratiquement pas lorsque la concentration passe de 10^{-4} à 10^{-2} M (écarts inférieurs à 10 mV).

La pente de la vague III, repérée par $1/|E_{3/4}-E_{1/4}|$, n'est pas égale à celle que l'on pourrait attendre puisque la hauteur de cette vague est double de celle de la vague I qui semble correspondre à un transfert d'un seul électron ($1/(80 \pm 10) \text{ mV}^{-1}$ alors que la valeur serait de $1/26 \text{ mV}^{-1}$). Nous pouvons déduire de cette observation que la vague III ne correspond pas à un transfert électronique rapide.

Vague IV.

A pH compris entre 6 et 10, la hauteur de la vague IV est proportionnelle à la concentration de pyrimidine si celle-ci varie entre 10^{-4} et 10^{-2} M . On observe en effet que $\log(-i_{lim})$ varie bien linéairement avec $\log C$, la pente restant en général assimilable à $1(1,00 \pm 0,05)$ et que la hauteur relative $-i_{lim}/C$ varie au plus de 3% avec la concentration. D'autre part, la hauteur de la vague IV qui ne semble pas systématiquement varier avec le pH présente cependant des écarts importants ($\pm 25\%$) d'une solution tampon à l'autre. Enfin, la hauteur de la vague IV est parfois plus petite que celle de la vague III, le rapport des hauteurs variant de 0,6 à 1,0.

Dans le même domaine de pH on observe que $E_{1/2}$ de la

Tableau 4.VIII-Influence conjuguée du pH et de la concentration de pyrimidine sur sa réduction par polarographie à stillation commandée.

Vague	Domaine d'existence		Variation de $E_{1/2}$ (mV/ENH) avec le pH si:			$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \log C}$ (mV)	$\frac{-i_{lim}^*}{C}$ ($\mu A/mM$)
	pH	concentr. de pyrimi- dine (M)	$C=10^{-4}M$	$C=10^{-3}M$	$C=10^{-2}M$		
I	0,3 à 5,2	10^{-5} à $2 \cdot 10^{-2}$	-340-100pH (± 15)	-320-100pH (± 15)	-315-100pH (± 20)	+20 (± 5)	1,5 ₀ ($\pm 0,10$)
II	2,0 à 5,2	10^{-5} à $2,3 \cdot 10^{-3}$	-960 (± 30)	-1000 (± 15)		+35 (± 7)	1,4 ₅ à 2,4 ₀
II _a	3,0 à 5,2	$2,3 \cdot 10^{-3}$ à $2 \cdot 10^{-2}$			-975 (± 25)	~ 0	(4,5) ⁺
II _b	3,0 à 5,2	$2,3 \cdot 10^{-3}$ à $2 \cdot 10^{-2}$			-1080 (± 10)	-100	
III	5,2 à 10	10^{-5} à $2 \cdot 10^{-2}$	-465-85pH (± 15)	-465-85pH (± 15)	-465-85pH (± 30)	0	3,05 ($\pm 0,10$)
IV	6,0 à 10	10^{-5} à $2 \cdot 10^{-2}$	-1380 (± 60)	-1380 (± 60)	-1380 (± 60)	(± 15)	1,9 à 3,0

(*) Les hauteurs des différentes vagues ont été mesurées dans les conditions expérimentales suivantes : capillaire n°10, 35 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, débit de mercure $0,86 \pm 0,03$ mg/s, $25,0 \pm 0,2$ °C.

(+) Valeur en μA de la hauteur de la vague II_a, dans les conditions expérimentales précédentes, lorsque la concentration de pyrimidine est supérieure à 2,3 mM.

vague IV augmente ou diminue légèrement lorsque la concentration de pyrimidine passe de 10^{-4} à 10^{-2} M. Cet effet est limité (± 15 mV/décade de concentration) et dépend du pH ou de la nature des tampons employés. Finalement la valeur du $E_{1/2}$ relevée dans des solutions 10^{-4} M est également valable pour des solutions 10^{-3} et 10^{-2} M :

$$\left[E_{1/2} \right]_{IV} = -1380 \pm 60 \text{ mV/E.N.H.}$$

La pente de la vague IV, repérée par $1/|E_{3/4} - E_{1/4}|$ est toujours compatible avec l'existence d'un transfert monoélectronique rapide ($1/(50 \pm 5) \text{ mV}^{-1}$). Cette valeur n'est pas égale à celle que nous pourrions attendre ($1/26 \text{ mV}^{-1}$) en remarquant que la hauteur de la vague IV est 1,2 à 2 fois plus grande que celle de la vague I qui semble correspondre au transfert d'un seul électron.

Le tableau 4.VIII résume les résultats relatifs à l'influence conjuguée du pH de la solution et de la concentration de pyrimidine sur la réduction polarographique de ce réactif.

4.2.3 - Effet de la nature et de la concentration du tampon.

L'analyse des résultats présentés dans les figures 4.6, 4.7 et 4.12 (influence du pH sur le potentiel et la hauteur relative des vagues) et dans la figure 4.11 (influence de la concentration de pyrimidine sur le potentiel des vagues à différents pH) montre que ces résultats sont en général indépendants de la nature des espèces qui fixent le pH de la solution. Nous avons utilisé 13 couples acide-base différents et parfois des concentrations de tampon différentes (de 10^{-2} à 2 M). A l'exception de ce que nous avons observé en tampon phosphate (pH 6,71) (dédoublément de la vague III à concentration de pyrimidine supérieure à 3,7 mM) et en tampon borate (pH 9,57) (hauteur de la vague III proportionnelle à $C^{1,3}$), il semble donc que la réduction de la pyrimidine en solution aqueuse ne dépende pas de la nature de la solution tampon autrement que par le pH qu'elle détermine.

Par ailleurs, dans la quasi-totalité des cas étudiés, les résultats que nous avons relevés et présentés aux § 4.2.1 et 4.2.2 ne dépendent pas de la concentration des espèces qui tamponnent le pH autrement, ici encore, que par la valeur de ce pH. Les concentrations de ces espèces acides et basiques sont le plus souvent de $0,5 \text{ M}$ mais dans quelques cas nous les avons fait varier entre 10^{-2} M et 2 M . Nous n'avons pris en considération que les résultats obtenus avec des concentrations d'espèces tamponnant le milieu au moins 50 fois supérieures à celle du réactif étudié.

Par rapport à ce comportement général nous avons relevé deux exceptions, toutes deux obtenues en tampon acétate.

A pH 3,7, pour les tampons dans lesquels l'acide acétique est neuf fois plus concentré que l'acétate, la dilution du tampon a un effet important sur la réduction de la pyrimidine. Lorsque la concentration d'acide acétique est égale à $9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ les vagues I et II se dédoublent toutes deux si la concentration de pyrimidine est supérieure respectivement à environ 10^{-4} M et $2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. Cette dernière valeur est 10 fois plus faible que la concentration généralement notée pour le dédoublement de la vague II, soit $2,3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$. Lorsque la concentration des deux composés de ce tampon acétique est 10 fois plus élevée, les vagues I et II sont observées sans discontinuité dans des solutions de concentration comprise entre 10^{-5} et $1,1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ en pyrimidine.

A pH égal ou légèrement supérieur à 4,7, la concentration commune C_0 d'acide acétique et d'acétate n'a pratiquement pas d'influence sur la valeur de la concentration de pyrimidine pour laquelle la vague II est dédoublée (2,60 à 2,85 mM). Cependant lorsque l'on fait croître C_0 de 0,1 à 2 M, on observe que les vagues I et II fusionnent en une vague de hauteur égale à la somme de leurs hauteurs si la concentration de pyrimidine est inférieure à une certaine valeur C_1 . Cette vague somme a été notée III car elle présente des valeurs de potentiel et de courant limite qui vérifient les relations trouvées pour la vague III à pH compris entre 6 et 10. Si par exemple C_0 est égal à $0,5 \text{ M}$ (pH 4,8), il existe :

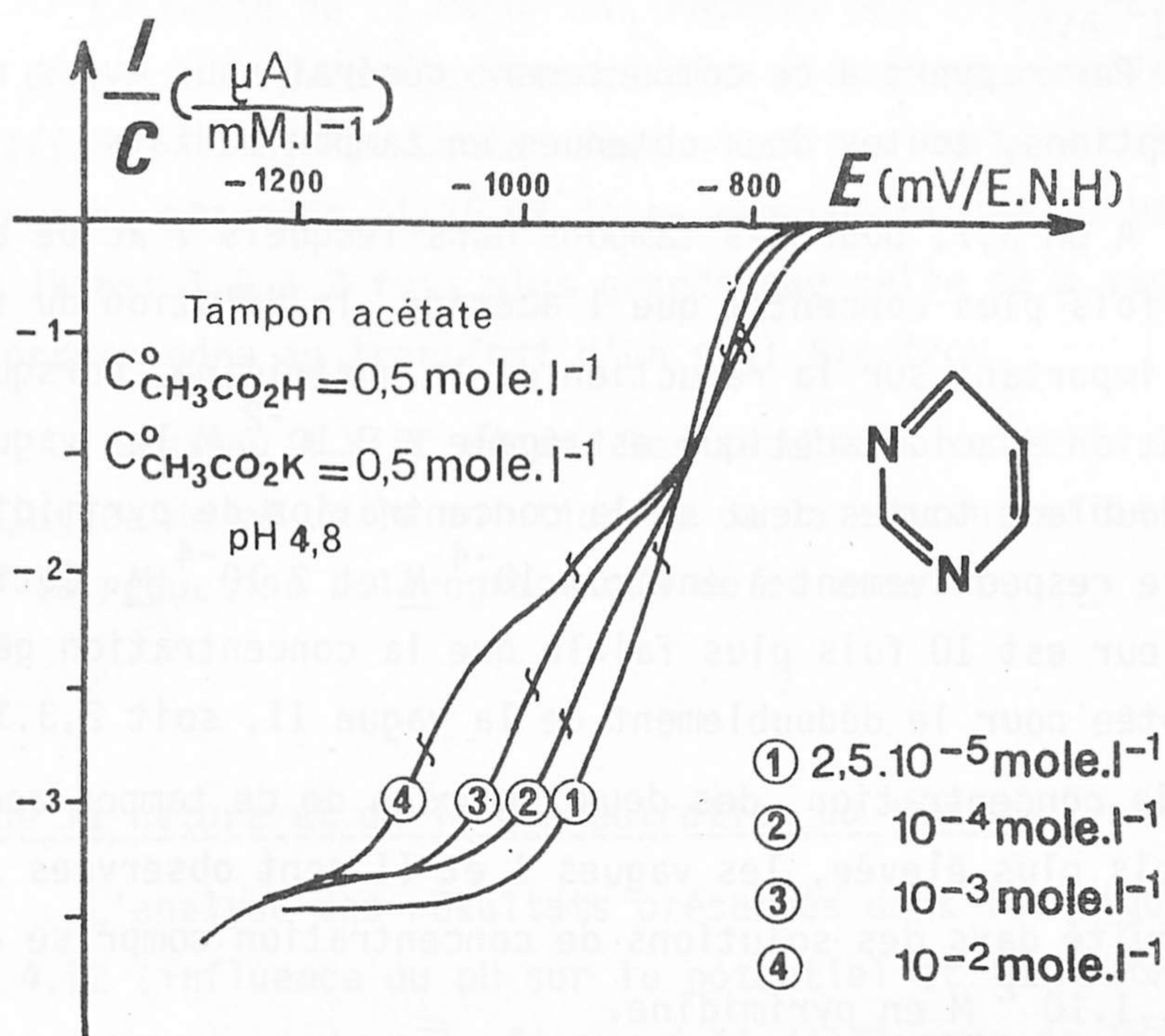


Fig. 4.13 - Variation des courbes intensité relative-potentiel, obtenues par polarographie à stillation commandée de la pyrimidine, lorsque la concentration de ce réactif passe de $2,5 \cdot 10^{-5}$ à 10^{-2} M dans une solution tampon 0,5 M en acide acétique et en acétate (pH 4,80).

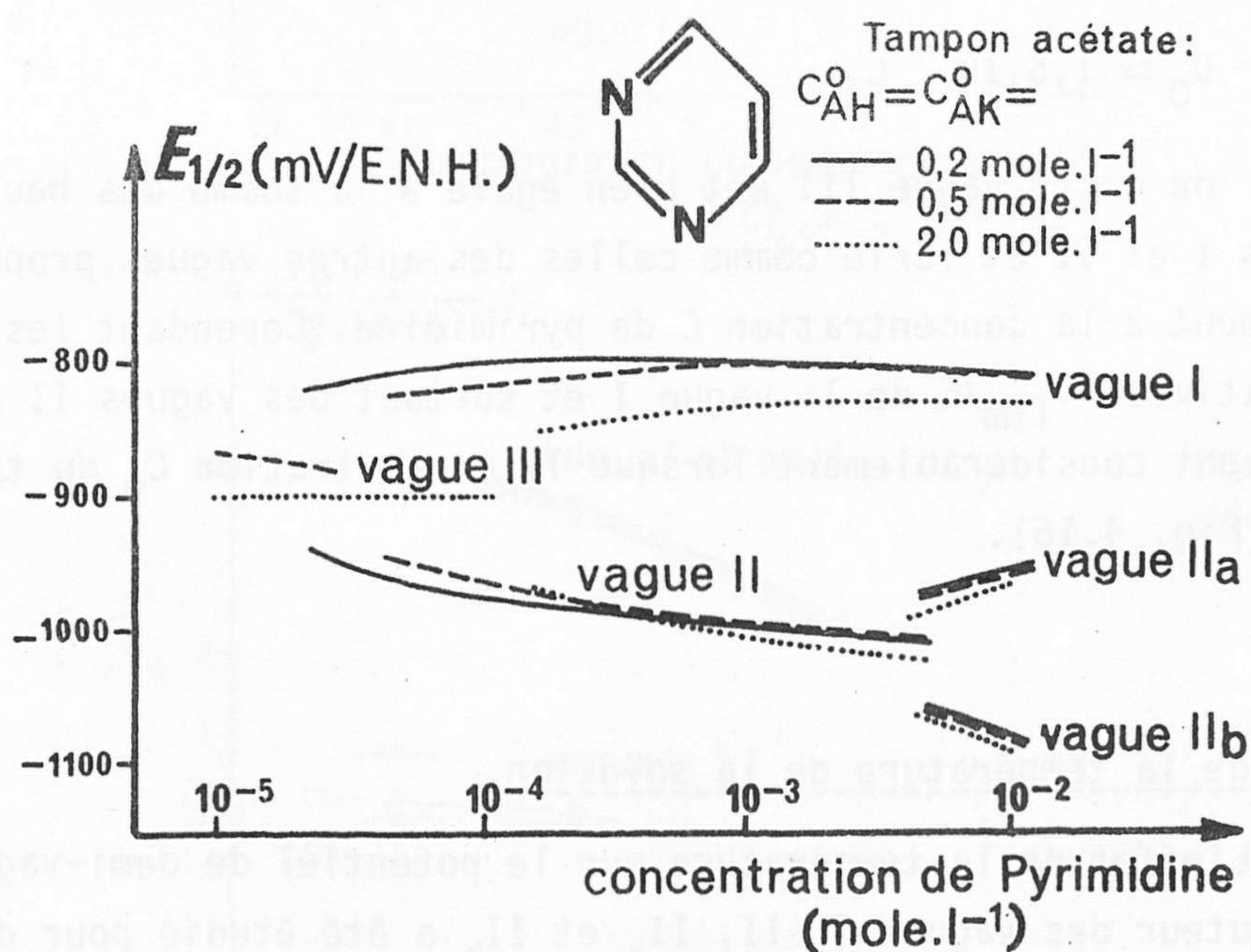


Fig. 4.14 - Influence de la concentration commune d'acide acétique et d'acétate (0,2 à 2,0 M) sur la relation entre les potentiels de demi-vague de réduction de la pyrimidine et la concentration de pyrimidine.

- seulement la vague III lorsque la concentration de pyrimidine est inférieure à $C_1 = 3.10^{-5} \text{ M}$,
 - deux vagues (I et II) lorsque la concentration de pyrimidine est comprise entre 3.10^{-5} et 2.10^{-3} M ,
 - trois vagues (I, II_a et II_b) lorsque la concentration de pyrimidine est supérieure à 2.10^{-3} M (Fig. 4.13).
- Lorsque C_0 augmente, C_1 augmente également (Fig. 4.14 et 4.15) et il existe une relation linéaire entre C_0 et C_1 :

$$C_0 \approx 1,5.10^{-4} C_1$$

La hauteur de cette vague III est bien égale à la somme des hauteurs des vagues I et II et varie comme celles des autres vagues proportionnellement à la concentration C de pyrimidine. Cependant les hauteurs relatives $-i_{lim}/C$ de la vague I et surtout des vagues II et III diminuent considérablement lorsque la concentration C_0 du tampon augmente (Fig. 4.16).

4.2.4 - Effet de la température de la solution.

L'effet de la température sur le potentiel de demi-vague et la hauteur des vagues I, II, II_a et II_b a été étudié pour des solutions environ 10^{-2} M en pyrimidine à pH 3,72 (7,8 et 25°C) et à pH 4,77 (10, 25 et 40°C) (Fig. 4.17 et 4.18).

Les potentiels de demi-vague correspondant à des transferts électroniques rapides varient généralement peu avec la température: -2 à +2 mV/°C (97 à 101). Nous avons observé que l'effet de la température sur les potentiels de demi-vague de réduction de la pyrimidine est compris entre ces deux limites, puisque :

$$\Delta E_{1/2}/\Delta\theta = -0,78 \pm 0,10 \text{ mV/}^\circ\text{C} \text{ pour la vague I,}$$

$$\Delta E_{1/2}/\Delta\theta = +0,5 \pm 0,5 \text{ mV/}^\circ\text{C} \text{ pour la vague II,}$$

$$\Delta E_{1/2}/\Delta\theta = +0,79 \pm 0,08 \text{ mV/}^\circ\text{C} \text{ pour la vague } II_a,$$

$$\Delta E_{1/2}/\Delta\theta = +1,36 \pm 0,17 \text{ mV/}^\circ\text{C} \text{ pour la vague } II_b$$

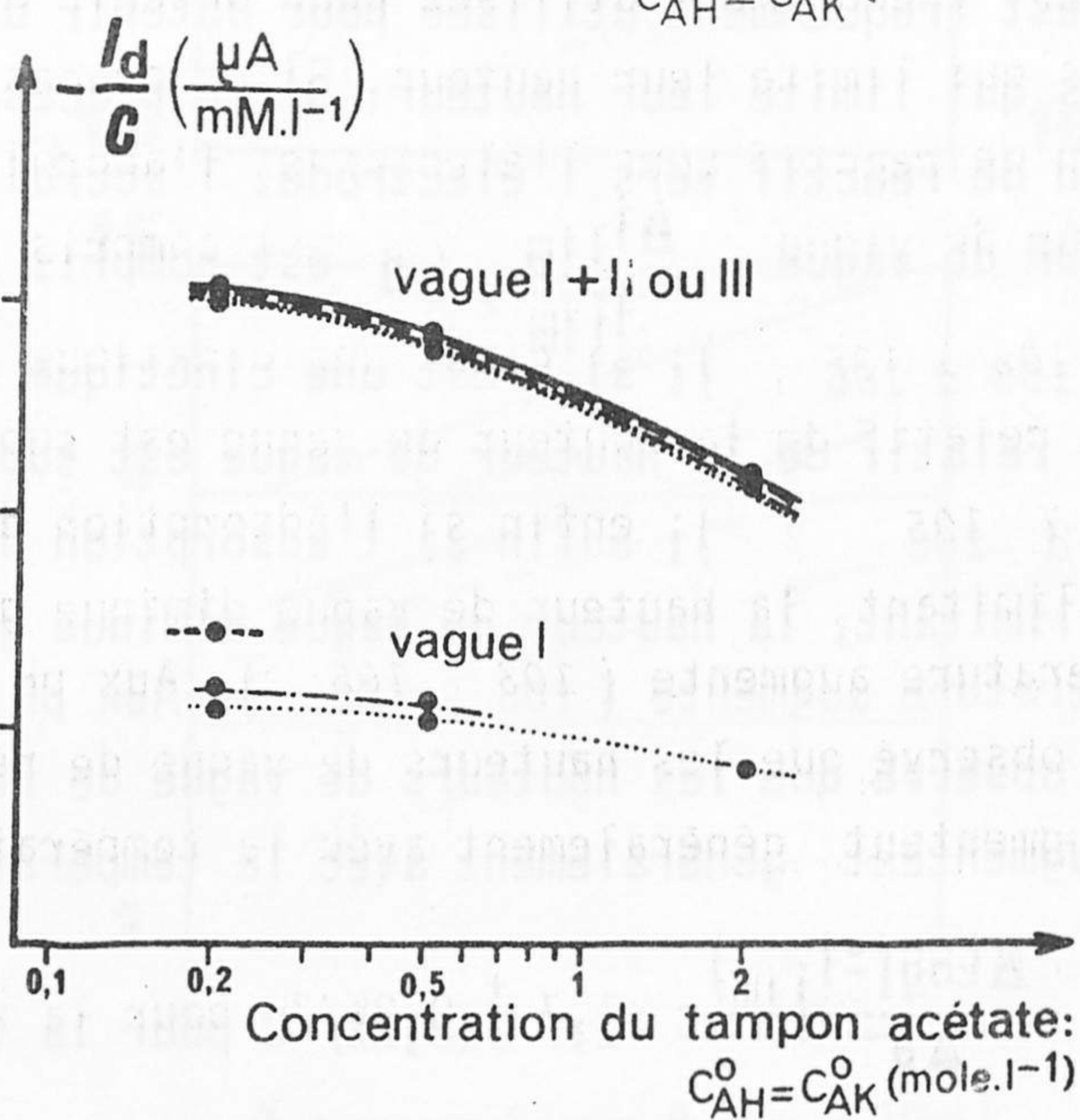
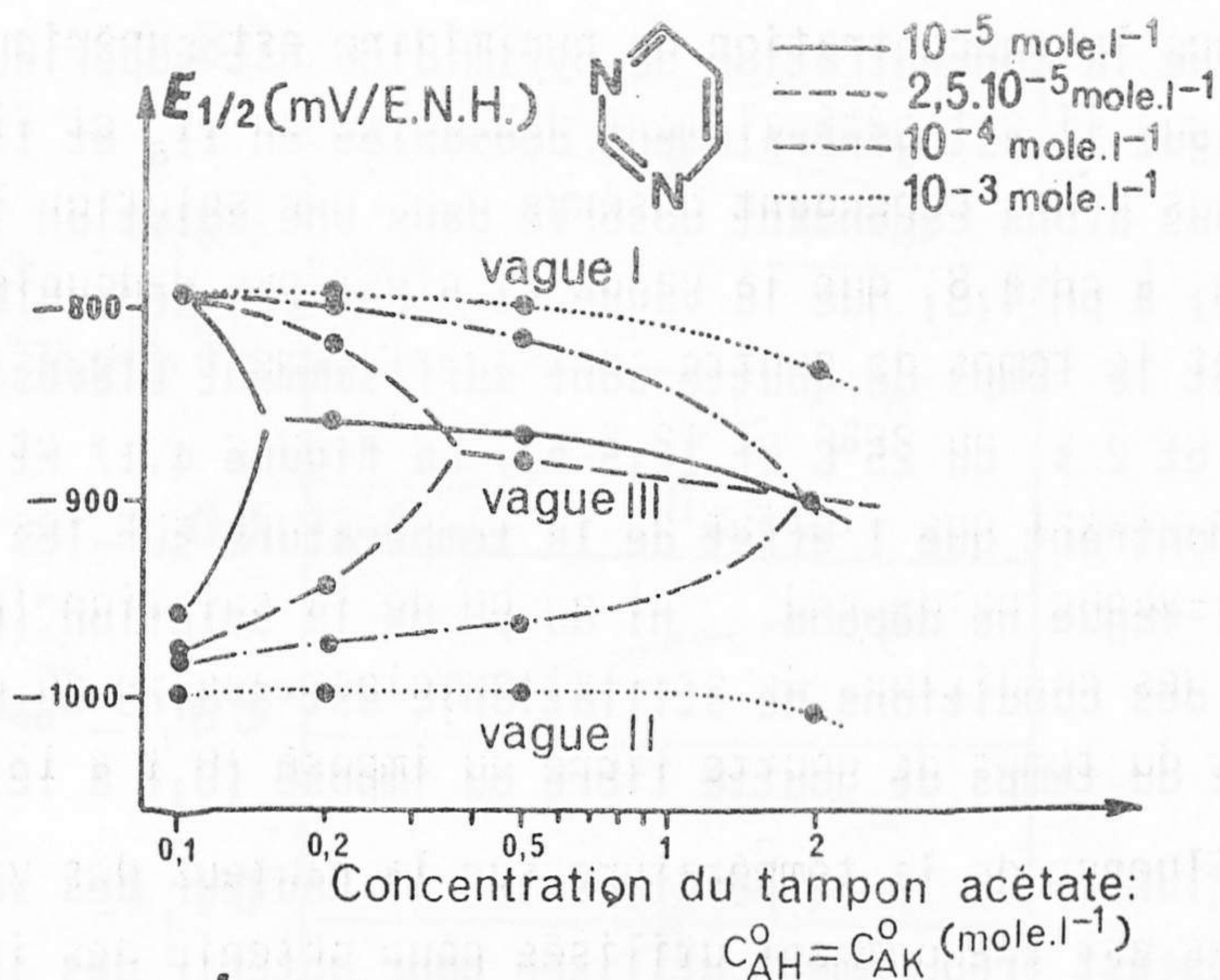


Fig. 4.15 et 4.16 - Influence de la concentration de pyrimidine (10^{-5} à 10^{-3} M) sur la relation entre les caractéristiques de la réduction de la pyrimidine et la concentration commune d'acide acétique et d'acétate.

Fig. 4.15 - Variation avec la concentration de pyrimidine des relations entre potentiel de demi-vague et concentration du tampon acétate.

Fig. 4.16 - Variation avec la concentration de pyrimidine des relations entre hauteur de vague et concentration du tampon acétate. Conditions polarographiques : capillaire n°2, temps de goutte imposé 0,50 s, hauteur de mercure 35 cm, $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

Lorsque la concentration de pyrimidine est supérieure à 2,3 mM, la vague II est généralement dédoublée en II_a et II_b (§ 4.2.2); nous avons cependant observé dans une solution 10^{-2} M en pyrimidine, à pH 4,8, que la vague II n'est pas dédoublée si la température et le temps de goutte sont suffisamment élevés (par exemple 40°C et 2 s ou 25°C et 12,5 s). La figure 4.17 et le tableau 4.IX montrent que l'effet de la température sur les potentiels de demi-vague ne dépend ni du pH de la solution (pH 3,7₂ et 4,7₇), ni des conditions de stillation, c'est-à-dire du débit de mercure et du temps de goutte libre ou imposé (0,1 à 12,5 s).

L'influence de la température sur la hauteur des vagues polarographiques est fréquemment utilisée pour obtenir des indications sur le processus qui limite leur hauteur. Si ce processus limitant est la diffusion de réactif vers l'électrode, l'accroissement relatif de la hauteur de vague $\frac{\Delta i_{lim}}{i_{lim}} / \Delta \theta$ est compris entre 1,1 et 2,3%/°C (97 , 102 à 105); si c'est une cinétique de réaction, l'accroissement relatif de la hauteur de vague est supérieur à 2,5%/°C (103 à 105); enfin si l'adsorption de réactif est ce facteur limitant, la hauteur de vague diminue généralement lorsque la température augmente (103 , 105). Aux pH 3,7₂ et 4,7₇ nous avons observé que les hauteurs de vague de réduction de la pyrimidine augmentent généralement avec la température, puisque:

$$\frac{1}{i_{lim}} \cdot \frac{\Delta i_{lim}}{\Delta \theta} = \frac{\Delta \text{Log}(-i_{lim})}{\Delta \theta} = +1,7 \pm 0,2\%/^{\circ}\text{C} \text{ pour la vague I,}$$

$$\frac{1}{i_{lim}} \cdot \frac{\Delta i_{lim}}{\Delta \theta} = \frac{\Delta \text{Log}(-i_{lim})}{\Delta \theta} = +0,7 \text{ à } 5,1\%/^{\circ}\text{C} \text{ pour la vague II,}$$

$$\frac{1}{i_{lim}} \cdot \frac{\Delta i_{lim}}{\Delta \theta} = \frac{\Delta \text{Log}(-i_{lim})}{\Delta \theta} = +0,8 \pm 0,5\%/^{\circ}\text{C} \text{ pour la vague } II_a,$$

$$\frac{1}{i_{lim}} \cdot \frac{\Delta i_{lim}}{\Delta \theta} = \frac{\Delta \text{Log}(i_{lim})}{\Delta \theta} = +0,6 \pm 0,7\%/^{\circ}\text{C} \text{ pour la vague } II_b.$$

La figure 4.18 et le tableau 4.IX montrent que l'effet de la température sur les hauteurs de vague ne dépendent ni du pH de la so-

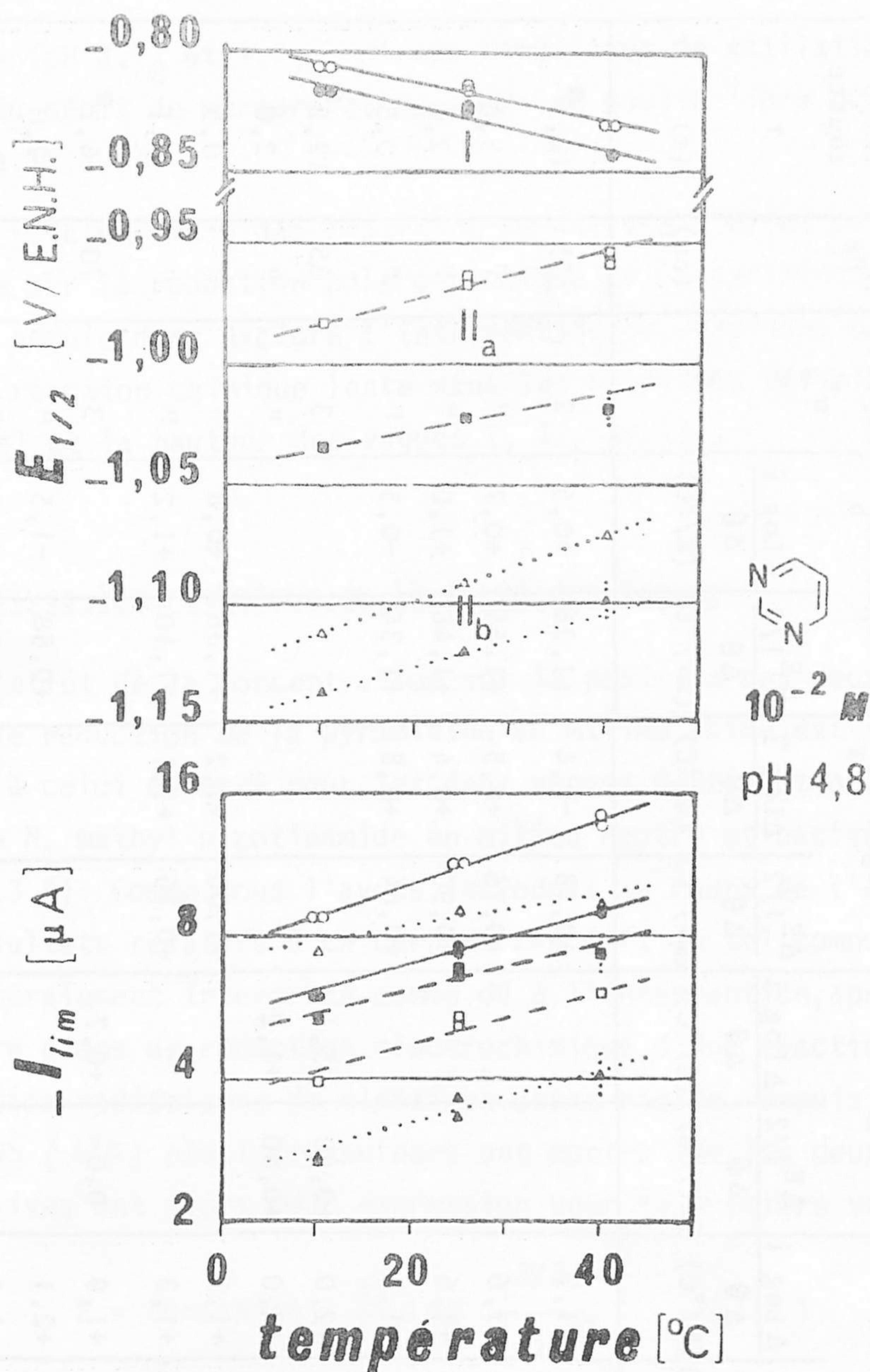


Fig. 4.17 et 4.18 - Influence de la température sur la réduction de la pyrimidine par polarographie à stillation commandée : solution $10^{-2} M$ dans un tampon acétate (pH 4,77); conditions polarographiques : capillaire n°3, 35 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s (O, □, Δ) et 0,10 s (●, ■, ▲). Vagues I (—), II_a (---) et II_b (····).

Fig. 4.17 - Relation entre les potentiels de demi-vague et la température.

Fig. 4.18 - Relation entre le logarithme des hauteurs de vague et la température.

Tableau 4. IX- Influence de la température θ sur le potentiel et la hauteur des différentes vagues de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse environ 10^{-2} M.

pH	Tampon	Conc. pyrimidine (M)	Vague I		Vague II		Vague II _a		Vague II _b		Capill. n°	h _{Hg} (cm)	Temps goutte T (s)
			$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \theta}$ (mV/°C)	$\frac{\Delta \text{Log } i}{\Delta \theta}$ (%/°C)	$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \theta}$ (mV/°C)	$\frac{\Delta \text{Log } i}{\Delta \theta}$ (%/°C)	$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \theta}$ (mV/°C)	$\frac{\Delta \text{Log } i}{\Delta \theta}$ (%/°C)	$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \theta}$ (mV/°C)	$\frac{\Delta \text{Log } i}{\Delta \theta}$ (%/°C)			
3,72	oxalate	1,14	-0,68	+1,9			+0,78	-0,4	+1,36	+0,5	2	35	12,5*
		$\cdot 10^{-2}$	-0,70	+1,6			+0,76	+0,5	+1,64	+0,7	"	"	5,0
		"	-0,76	+1,6			+0,90	+0,4	+1,46	+1,0	"	"	2,0
		"	-0,88	+1,5			+0,64	+0,8	+1,34	-0,5	"	"	0,5
4,77	acétate	10^{-2}	-0,54	+2,0	+0,80	+5,1	+1,00	+1,2	+1,36	+0,8	3	35	12,2*
		"	-0,60	+2,0	+0,80	+1,2	+0,76	+1,1	+1,10	+1,2	"	"	2,0
		"	-0,82	+1,6								"	"
4,77	acétate	10^{-2}	-0,68	+1,9	0,0	+0,7					3	70	6,2*
		"	-1,00	+2,1					+0,88	-1,5	"	"	2,0
		"	-0,80	+1,6			+0,74	+1,6	+1,36	+1,7	"	"	0,5
"		-0,90	+1,6			+0,76	+1,6	+1,80	+1,8	"	"	0,1	

* stillation libre.

lution (pH 3,7₂ et 4,7₇), ni des conditions de stillation, c'est-à-dire du débit de mercure et du temps de goutte libre ou imposé (0,1 à 12,5 s).

L'ensemble des résultats relatifs à l'effet de la température sur la réduction polarographique de la pyrimidine en milieu acide semble donc exclure l'intervention de réactions d'adsorption et de réaction chimique lente dans les processus définissant le potentiel et la hauteur des vagues I, II_a et II_b.

4.2.5 - Analyse logarithmique de la forme des vagues.

L'effet de la concentration sur la position des deux vagues I et II de réduction de la pyrimidine en milieu acide, est très semblable à celui observé pour les deux vagues de réduction de l'iode de N₁ méthyl nicotinamide en milieu neutre et basique (§ 3.2.3.4). Comme nous l'avons introduit au cours de l'exposé des résultats relatifs à ce dernier réactif, un tel comportement est généralement interprété comme dû à l'intervention, après la première étape de réduction électrochimique, d'une réaction de dimérisation radicalaire de cinétique assez rapide. Depuis KOUTECKY et HANUS (112) plusieurs auteurs ont montré que les deux vagues successives ont alors pour expression pour la première vague

$$E = \text{constante} - \frac{RT}{F} \text{Log} \frac{i^{2/3}}{i_{lim} - i} \quad (113)$$

et pour la deuxième vague

$$E = \text{constante} - \frac{2}{3} \frac{RT}{\alpha F} \text{Log} \frac{i^{3/2}}{i_{lim} - i} \quad (113)$$

En conséquence, nous avons cherché à déterminer si les vagues I et II de la pyrimidine en milieu acide présentent une forme classique correspondant à l'expression :

$$E = \text{constante} - \frac{RT}{F} \text{Log} \frac{i}{i_{lim} - i}$$

ou l'une des deux formes théoriques précédentes.

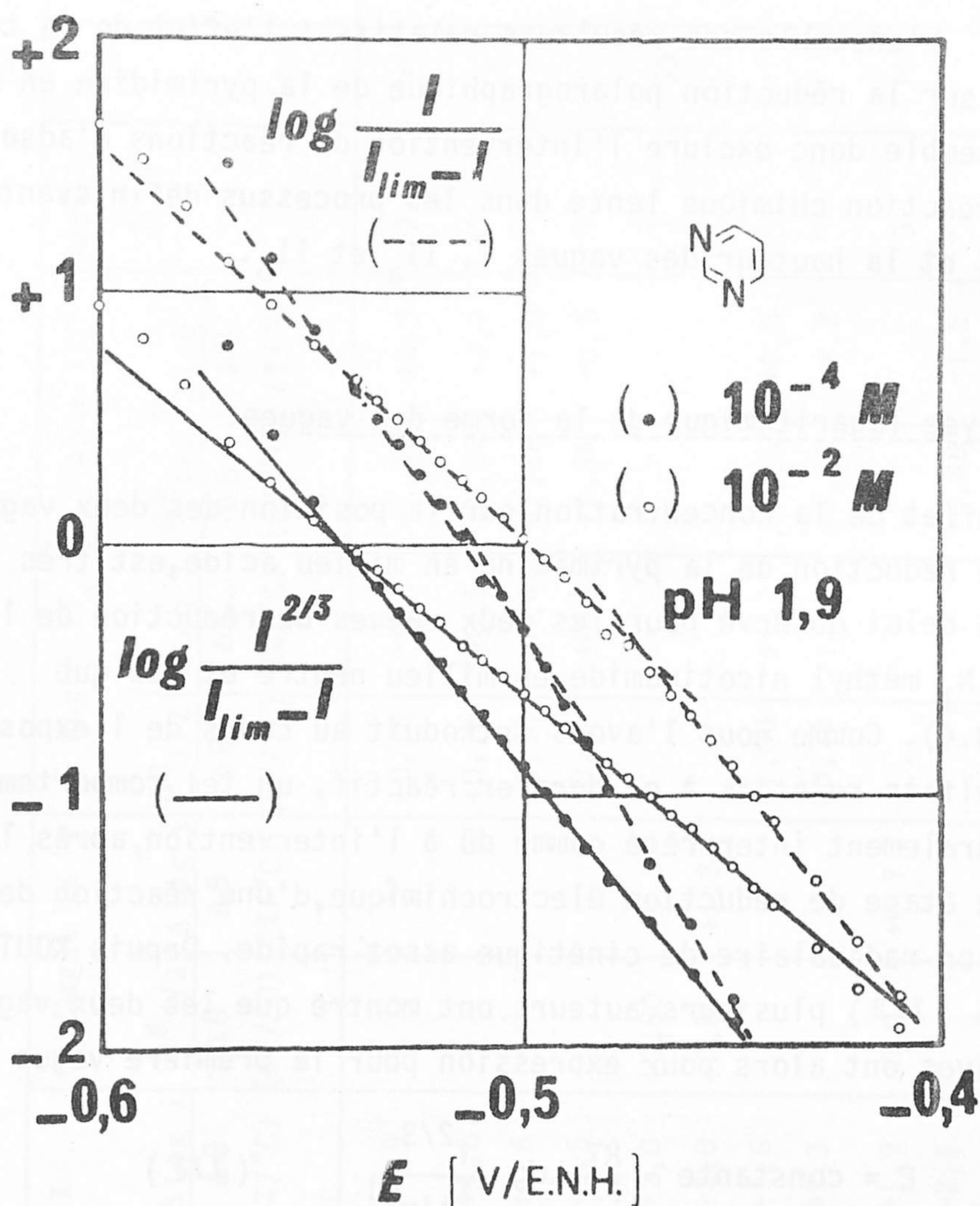


Fig. 4.19 - Analyse logarithmique de la forme de la vague de réduction de solutions $10^{-4} M$ (•) et $10^{-2} M$ (○) en pyrimidine à pH 1,86 (tampon phosphate) :

$\log \left\{ \frac{i^{2/3}}{i_{lim} - i} \right\}$ en fonction du potentiel (—) et

$\log \left\{ \frac{i}{i_{lim} - i} \right\}$ en fonction du potentiel (---).

Conditions polarographiques : capillaire $r^{\circ}10$, 35 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, $25,0 \pm 0,2^{\circ}C$.

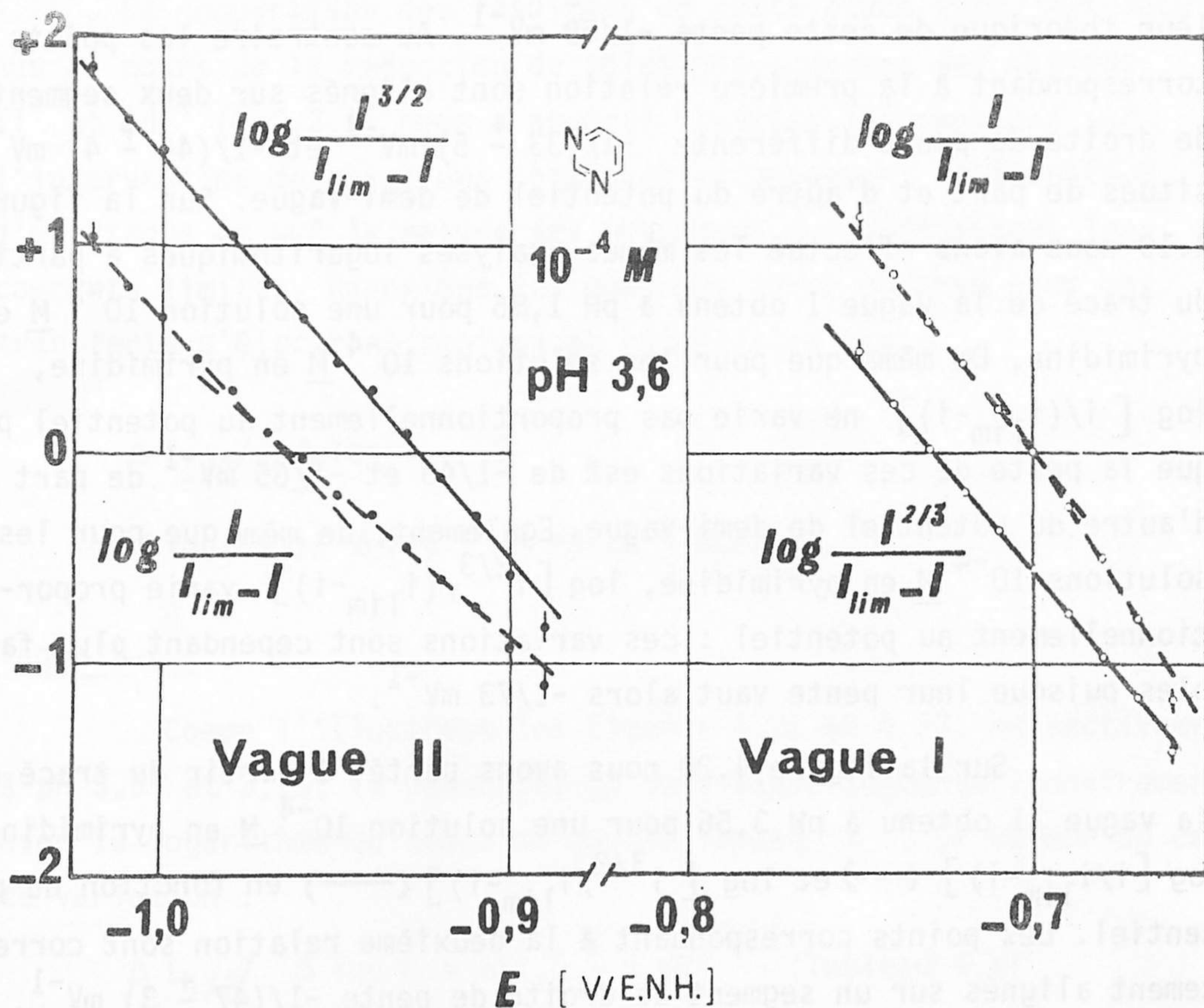


Fig. 4.20 - Analyse logarithmique de la forme des deux vagues I (○) et II (●) de réduction de solutions 10^{-4} M en pyrimidine à pH 3,56 (tampon formiate) :

$\log \left\{ i^{2/3} / (i_{lim} - i) \right\}$ en fonction du potentiel pour la vague I (—)

$\log \left\{ i^{3/2} / (i_{lim} - i) \right\}$ en fonction du potentiel pour la vague II (—)

et $\log \left\{ i / (i_{lim} - i) \right\}$ en fonction du potentiel pour les vagues I et II (---).

Conditions polarographiques : capillaire n°10, 35 cm de mercure, temps de goutte imposé 0,50 s, $25,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

A partir du tracé de la vague I obtenu à pH 1,86 et 3,56 pour une solution 10^{-4} M en pyrimidine, nous avons porté $\log [i/(i_{lim}-i)]$ (---) et $\log [i^{2/3}/(i_{lim}-i)]$ (—) en fonction du potentiel. Les figures 4.19 et 4.20 montrent que les points correspondant à la deuxième relation sont correctement alignés sur un segment de droite de pente $-1/(48 \pm 3) \text{ mV}^{-1}$ assez voisine de la valeur théorique de cette pente $-1/59 \text{ mV}^{-1}$. Au contraire les points correspondant à la première relation sont alignés sur deux segments de droite de pente différente $-1/(33 \pm 5) \text{ mV}^{-1}$ et $-1/(44 \pm 4) \text{ mV}^{-1}$ situés de part et d'autre du potentiel de demi-vague. Sur la figure 4.19 nous avons effectué les mêmes analyses logarithmiques à partir du tracé de la vague I obtenu à pH 1,86 pour une solution 10^{-2} M en pyrimidine. De même que pour les solutions 10^{-4} M en pyrimidine, $\log [i/(i_{lim}-i)]$ ne varie pas proportionnellement au potentiel puisque la pente de ces variations est de $-1/43$ et $-1/65 \text{ mV}^{-1}$ de part et d'autre du potentiel de demi-vague. Egalement, de même que pour les solutions 10^{-4} M en pyrimidine, $\log [i^{2/3}/(i_{lim}-i)]$ varie proportionnellement au potentiel : ces variations sont cependant plus faibles puisque leur pente vaut alors $-1/73 \text{ mV}^{-1}$.

Sur la figure 4.20 nous avons porté, à partir du tracé de la vague II obtenu à pH 3,56 pour une solution 10^{-4} M en pyrimidine, $\log [i/i_{lim}-i)]$ (---) et $\log [i^{3/2}/i_{lim}-i)]$ (—) en fonction du potentiel. Les points correspondant à la deuxième relation sont correctement alignés sur un segment de droite de pente $-1/(47 \pm 3) \text{ mV}^{-1}$. La valeur obtenue diffère de celle qui a été théoriquement établie par MAIRANOVSKII dans le cas d'un transfert lent d'électron concurrent avec une dimérisation intervenant au voisinage de l'électrode, soit $-1/80 \text{ mV}^{-1}$. Les points correspondant à la première relation sont alignés sur deux segments de droite de pentes différentes $-1/(73 \pm 3) \text{ mV}^{-1}$ et $-1/(55 \pm 3) \text{ mV}^{-1}$ situés de part et d'autre du potentiel de demi-vague.

Ces résultats montrent que les vagues I et II ne correspondent pas à un simple transfert électronique rapide ou lent, mais que fort probablement une réaction de dimérisation s'intercale entre ces deux étapes de réduction.

4.2.6 - Effet de la fréquence de chute des gouttes de mercure.

Dans le but de préciser la nature de certaines étapes du mécanisme de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse, nous avons déterminé l'influence du temps de goutte imposé τ sur les potentiels et hauteurs de vague (Tableau 4.X, Figures 4.21 à 4.26). La comparaison des résultats de cette étude avec ceux obtenus au cours de la réduction de solutions aqueuses des cations Tl^+ et Cd^{++} (§ 2.3.2) nous a apporté d'utiles informations sur l'intervention de réactions chimiques accompagnant le transfert d'électrons et sur la nature des processus qui définissent les courants limites. Rappelons ici que nous avons observé pour ces transferts d'électrons rapides et réversibles que :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = 0$$

$$\Delta \log(-i_d) / \Delta \log \tau = +0,25 \pm 0,07$$

Vague I.

Comme l'illustrent les figures 4.21 et 4.23, respectivement à pH 3,56 et 3,75, le potentiel de demi-vague augmente linéairement avec le logarithme du temps de goutte imposé τ . La valeur de cette variation :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +17,5 \pm 3 \text{ mV} \quad (\text{Tableau 4.X})$$

ne dépend de façon sensible ni du pH de la solution (pH compris entre 3,5 et 4,8), ni de la concentration de pyrimidine (concentration comprise entre 10^{-4} et 10^{-2} M), ni de la température (7 à 40°C).

Comme l'illustrent les figures 4.22 et 4.24, respectivement à pH 3,56 et 3,75 les courants limites de la vague I semblent définis par la diffusion de réactif vers l'électrode puisque :

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = +0,29 \pm 0,02 \quad (\text{Tableau 4.X}).$$

Ces résultats sont remarquablement proches de ceux que nous avons obtenus pour la première vague de réduction de l'iodure de

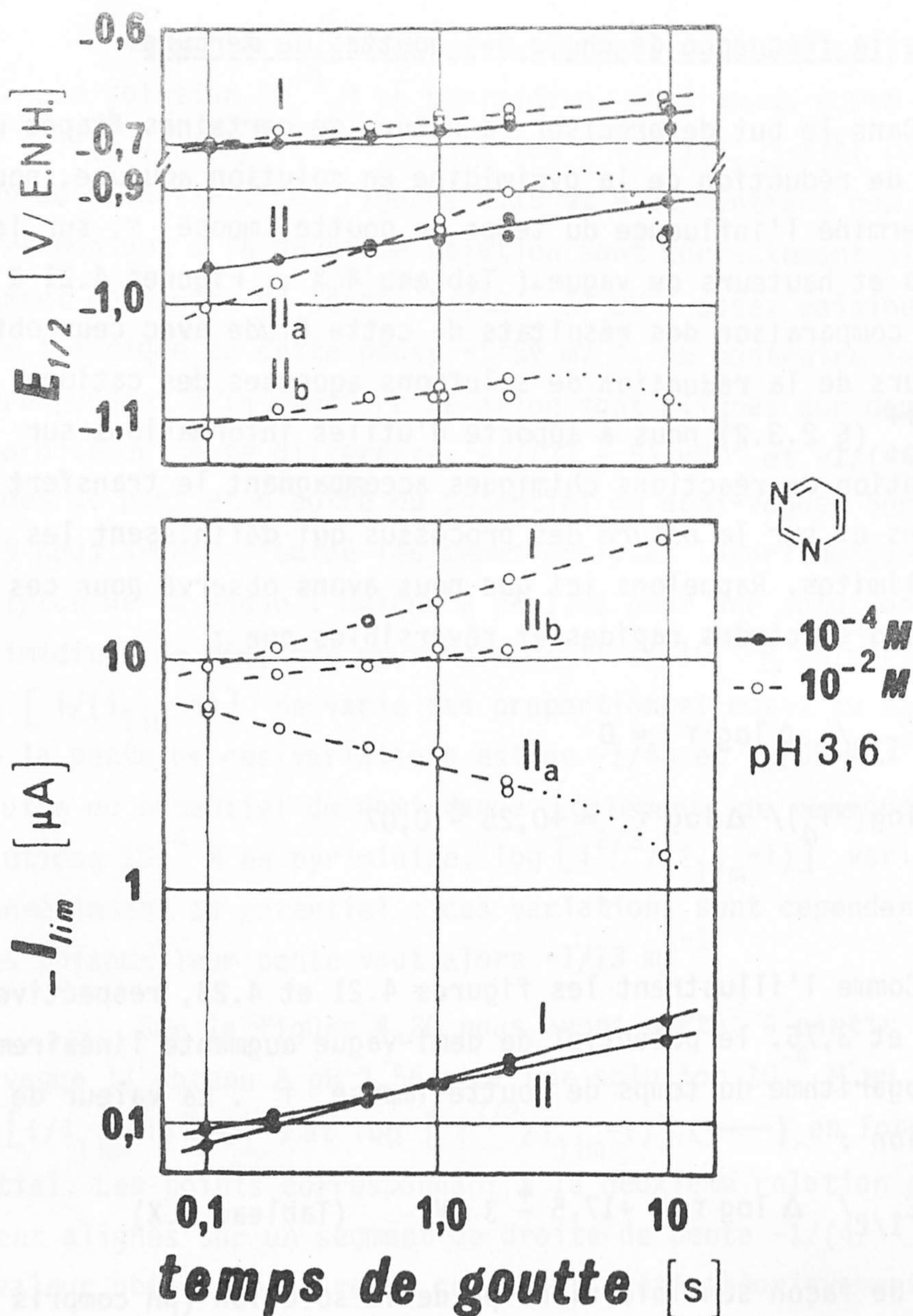


Fig. 4.21 et 4.22 - Influence de la fréquence de chute des gouttes de mercure sur la réduction de la pyrimidine par polarographie à stillation commandée : solutions $10^{-4} M$ (—●—) et $10^{-2} M$ (—○—) en pyrimidine dans un tampon formiate (pH 3,56). Conditions polarographiques : capillaire n°10, 35,0 cm de mercure, $25,0 \pm 0,2^\circ C$.

Fig. 4.21 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

Fig. 4.22 - Relations entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

N_1 méthyl nicotinamide en milieu neutre ou basique (§ 3.2.3.2).

Vague II.

La figure 4.21 à pH 3,56 montre que le potentiel de demi-vague augmente linéairement avec le logarithme du temps de goutte τ . La valeur de cette variation :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = 30 \pm 4 \text{ mV} \quad (\text{Tableau 4.X})$$

ne dépend pratiquement ni du pH de la solution (pH compris entre 3,5 et 4,0), ni de la concentration de pyrimidine (concentration entre 10^{-4} et 10^{-3} M).

La figure 4.22 à pH 3,56 montre que le comportement de la hauteur de la vague II vis-à-vis du temps de goutte imposé τ est normal puisque :

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = 0,30 \pm 0,04$$

Ces résultats sont également remarquablement proches de ceux que nous avons obtenus pour la deuxième vague de réduction de l'iodure de N_1 méthyl nicotinamide en milieu neutre ou basique (§ 3.2.3.2).

Vague II_a .

Les figures 4.21 et 4.23, respectivement à pH 3,56 et 3,75, montrent que le potentiel de demi-vague augmente considérablement avec le temps de goutte imposé τ . Cette variation a pour expression :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = 73 \pm 6 \text{ mV} \quad (\text{Tableau 4.X})$$

et ne dépend ni du pH (pH compris entre 3,5 et 4,8), ni de la température de la solution (7 à 40°C).

Les figures 4.22 et 4.24, respectivement à pH 3,56 et 3,75, montrent que la hauteur de la vague II_a , qui rappelons-le est indépendante de la concentration de pyrimidine, varie aussi anormalement avec le temps de goutte imposé τ . Cette hauteur diminue en effet

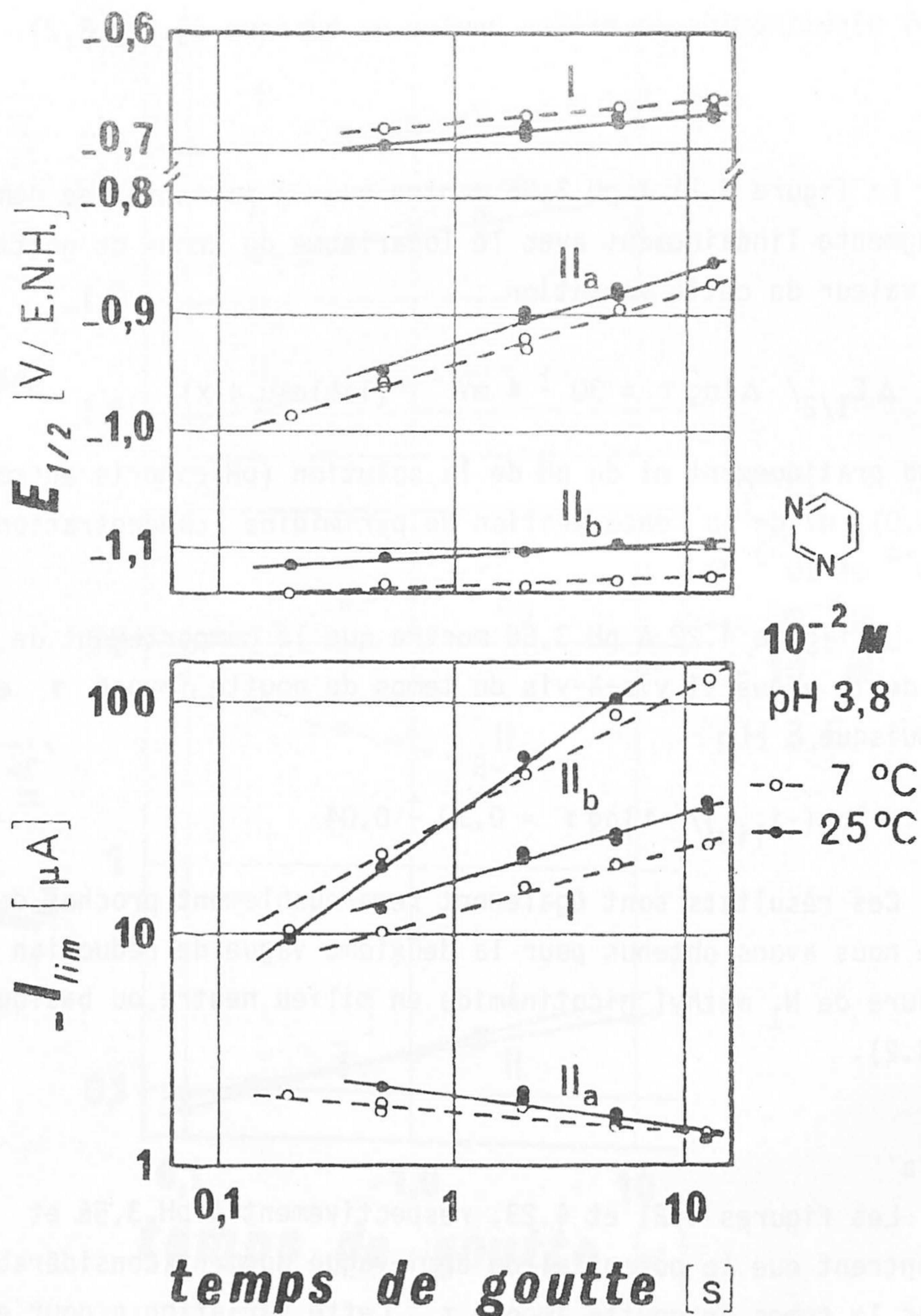


Fig. 4.25 et 4.24 - Influence de la fréquence de chute des gouttes de mercure sur la réduction de la pyrimidine par polarographie à stillation commandée : solution $10^{-2} M$ en pyrimidine dans un tampon oxalate (pH 3,75) à 6,8°C (-o-) et 25°C (-●-). Conditions polarographiques : capillaire n°2, 35,0 cm de mercure.

Fig. 4.23 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

Fig. 4.24 - Relations entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

lorsque le temps de goutte augmente, selon :

$$\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau = -0,14 \pm 0,03 \quad (\text{Tableau 4.X}).$$

Cette variation n'est pas connue avec une grande précision car la vague II_a est toujours assez proche de la vague II_b et la détermination de sa hauteur est moins précise que pour les autres vagues. Le sens général de cette variation, qui ne change pas si la température est abaissée à 7°C (Fig. 4.24) ou 10°C (Tableau 4.X) et si le pH passe de 3,5 à 4,8, pourrait nous conduire à faire quelques hypothèses sur la nature du processus qui définit la hauteur de la vague II_a . Une telle diminution de la hauteur lorsque le temps de goutte augmente est généralement expliquée (105) par l'intervention d'une réaction d'adsorption limitant la vitesse de transfert des électrons. Cette hypothèse doit ici être écartée pour plusieurs raisons :

- comme nous l'avons vu au § 4.2.4, la hauteur de la vague II_a augmente normalement lorsque la température augmente,
- les courbes courant-temps mesurées au cours de la vie de chaque goutte de mercure ont la même forme normale pour la vague II_a et les vagues I et II_b , le courant augmentant régulièrement selon :

$$\Delta \log(-i) / \Delta \log t = +0,27 \pm 0,03$$

Signalons que des variations semblables, c'est-à-dire présentant une même valeur pour $\Delta \log(-i) / \Delta \log t$, ont été observées lors de la réduction de solutions aqueuses de Cd^{++} (182).

Vague II_b .

Les figures 4.21 et 4.23, respectivement à pH 3,56 et 3,75, montrent que le potentiel de demi-vague augmente linéairement avec le logarithme du temps de goutte imposé τ . La valeur de cette variation :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +26 \pm 10 \text{ mV} \quad (\text{Tableau 4.X})$$

qui comme pour la vague II_a n'est pas définie avec une grande

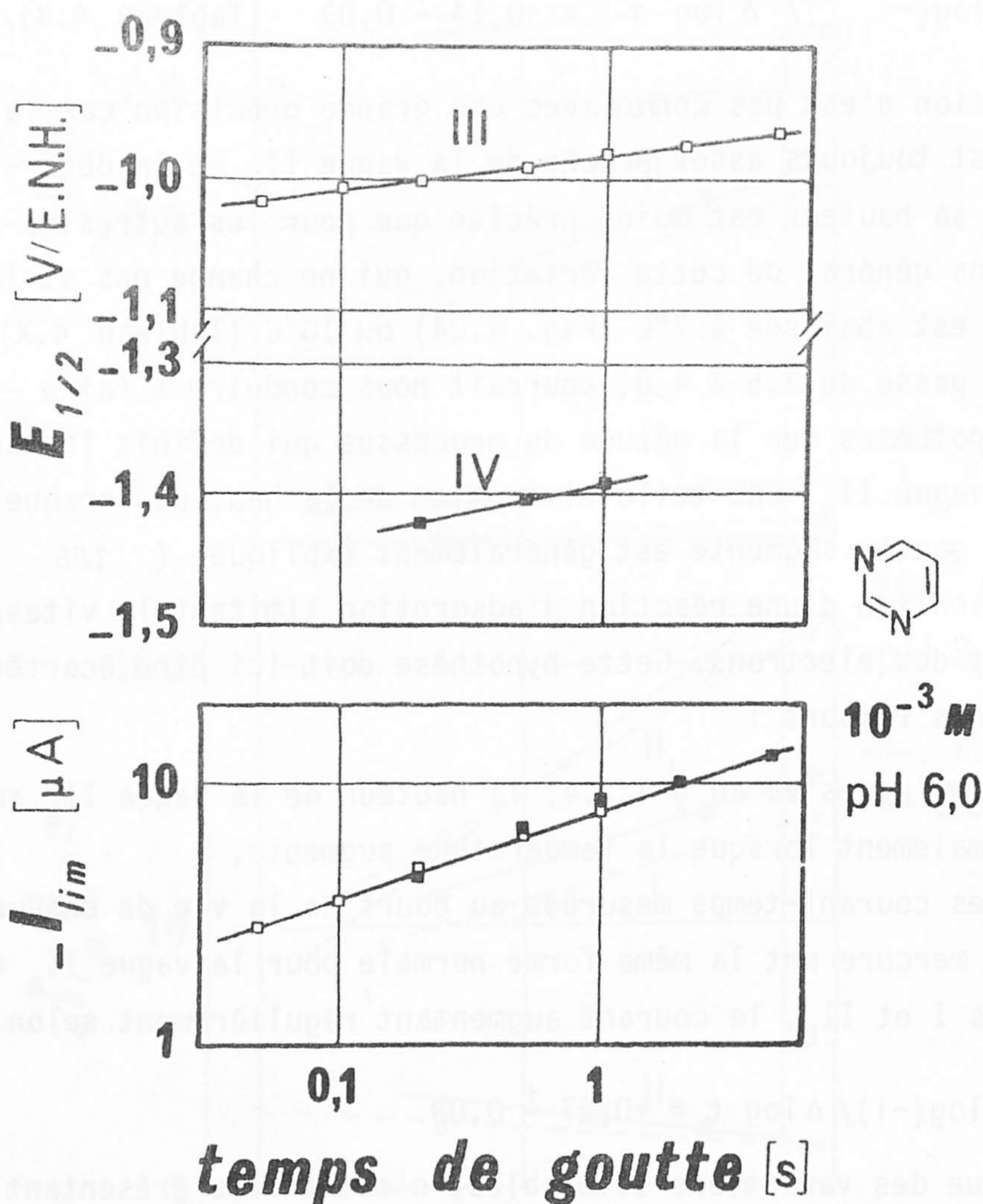


Fig. 4.25 et 4.26 - Influence de la fréquence de chute des gouttes de mercure sur la réduction de la pyrimidine par polarographie à stillation commandée : solution $10^{-3} M$ en pyrimidine dans un tampon citrate (pH 6,0). Conditions polarographiques: capillaire 1', 50,0 cm de mercure, $25,0 \pm 0,2$ °C.

Fig. 4.25 - Relations entre les potentiels de demi-vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

Fig. 4.26 - Relations entre le logarithme des hauteurs de vague et le logarithme du temps de goutte imposé.

précision, semble indépendante du pH de la solution (pH compris entre 3,5 et 4,8) et de la température (7 à 40°C).

Les figures 4.22 et 4.23, respectivement à pH 3,56 et 3,75 montrent que la hauteur de la vague II_b augmente avec le temps de goutte. L'amplitude de cette variation dépend considérablement des conditions expérimentales utilisées (débit de mercure, température, pH) puisque $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau$ présente des valeurs comprises entre +0,1 et +0,8 (Tableau 4.X).

Vagues III et IV.

Nous avons relevé à pH 6,0 l'influence sur les potentiels de demi-vague et hauteurs des vagues III et IV du temps de goutte imposé (Fig. 4.25 et 4.26 pour une solution $10^{-3} M$ en pyrimidine). Les résultats diffèrent suivant la concentration de pyrimidine pour la vague III (Tableau 4.X) et sont assez peu précis pour la vague IV qui, à ce pH, est assez mal définie. Cette étude n'ayant été effectuée que pour une seule solution tampon et pour un seul ensemble de paramètres expérimentaux (débit de mercure, température, pH), nous n'attribuons pas un caractère général aux résultats notés ici.

2.7 - Effet de la nature du matériau d'électrode.

Afin de préciser dans quelle mesure le matériau d'électrode intervient dans les processus de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse, nous avons pu comparer les résultats obtenus sur mercure et sur carbone vitreux.

Les courbes intensité-potentiel relevées avec une méthode électrochimique stationnaire, polarographie à stillation commandée et voltamétrie sur disque tournant de carbone, montrent que la première vague de réduction a dans les deux cas des caractéristiques voisines. Comme l'illustre la figure 4.27, qui donne des tracés obtenus pour une solution $10^{-2} M$ en pyrimidine dans le tampon formiate (pH 3,56), le potentiel de demi-vague relevé sur carbone est de 52 mV plus négatif que celui relevé sur mercure.

Tableau 4.X - Influence du temps de goutte imposé τ sur le potentiel et la hauteur des différentes vagues de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse.

pH (tampon)	Conc. pyri- midine (M)	Vague I		Vague II		Vague II _a		Vague II _b		Vague III		Vague IV		Cap. n°	Hg (cm)	t (°C)
		$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \log \tau}$ (mV)	$\frac{\Delta \log i}{\Delta \log \tau}$	$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \log \tau}$ (mV)	$\frac{\Delta \log i}{\Delta \log \tau}$	$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \log \tau}$ (mV)	$\frac{\Delta \log i}{\Delta \log \tau}$	$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \log \tau}$ (mV)	$\frac{\Delta \log i}{\Delta \log \tau}$	$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \log \tau}$ (mV)	$\frac{\Delta \log i}{\Delta \log \tau}$					
3,56 (formiate)	10 ⁻⁴	+15 +16	+0,27	+27 +33	+0,24									10 2	35 35	25 25
" "	10 ⁻²	+20 +19	+0,29 +0,34	+78 +73	-0,27 -0,1	+35 +29	+0,08 0,65							10 2	35 35	25 25
3,75 (oxalate)	10 ⁻²	+20 +18	+0,30 +0,29	+60 +62	-0,14 -0,08	+12 +7	+0,82 +0,55							2 2	35 35	25 7
4,00 (citrate)	10 ⁻³	+24 +20 +20	+0,31 +0,28 +0,20	+32 +35 +25	+0,30 +0,34 +0,34									1 1 1	30 40 60	25 25 25
4,77 (acetate)	10 ⁻²	+13 +14 +18 +14 +14 +15	+0,28 +0,31 +0,33 +0,27 +0,28 +0,30	+76 +80 +85 +71 +72 +74	-0,15 -0,14 -0,13 -0,16 -0,12 -0,13	+20 +45 +39 +22 +29 +21	+0,63 +0,62 +0,78 +0,50 +0,47 +0,48							3 3 3 3 3 3	35 35 35 70 70 70	10 25 40 10 25 40
6,00 (citrate)	5.10 ⁻⁵			+60	+0,25									1	30	25
"	10 ⁻⁴			+60	0,15									1	30	25
"	10 ⁻³			+26	+0,34									1	30	25

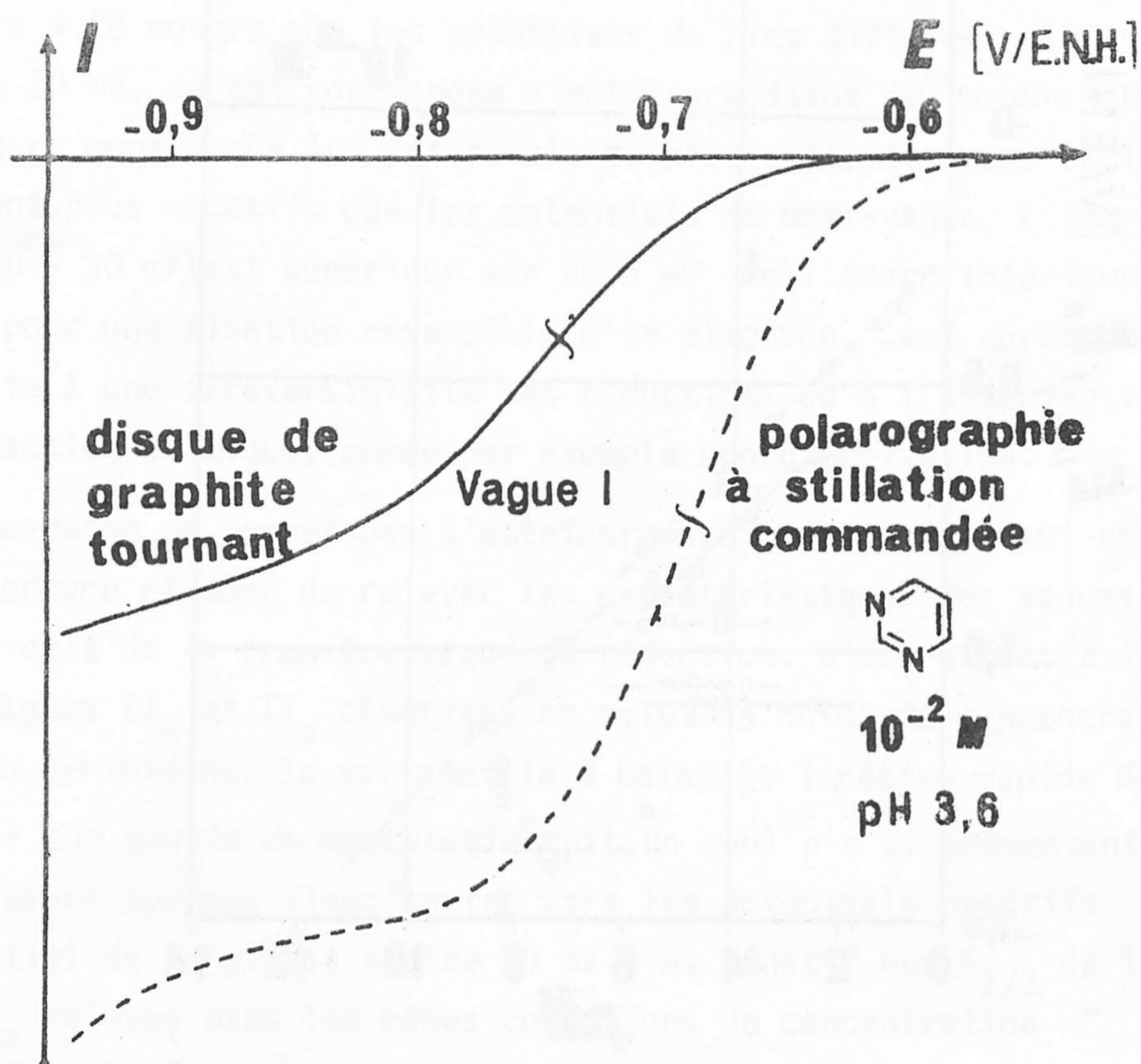


Fig. 4.27 - Effet de la nature du matériau d'électrode sur la réduction de solutions aqueuses 10^{-2} M en pyrimidine à pH 3,56 (tampon formiate) : polarographie à stillation commandée (- -) et voltamétrie sur disque de carbone vitreux tournant (—).

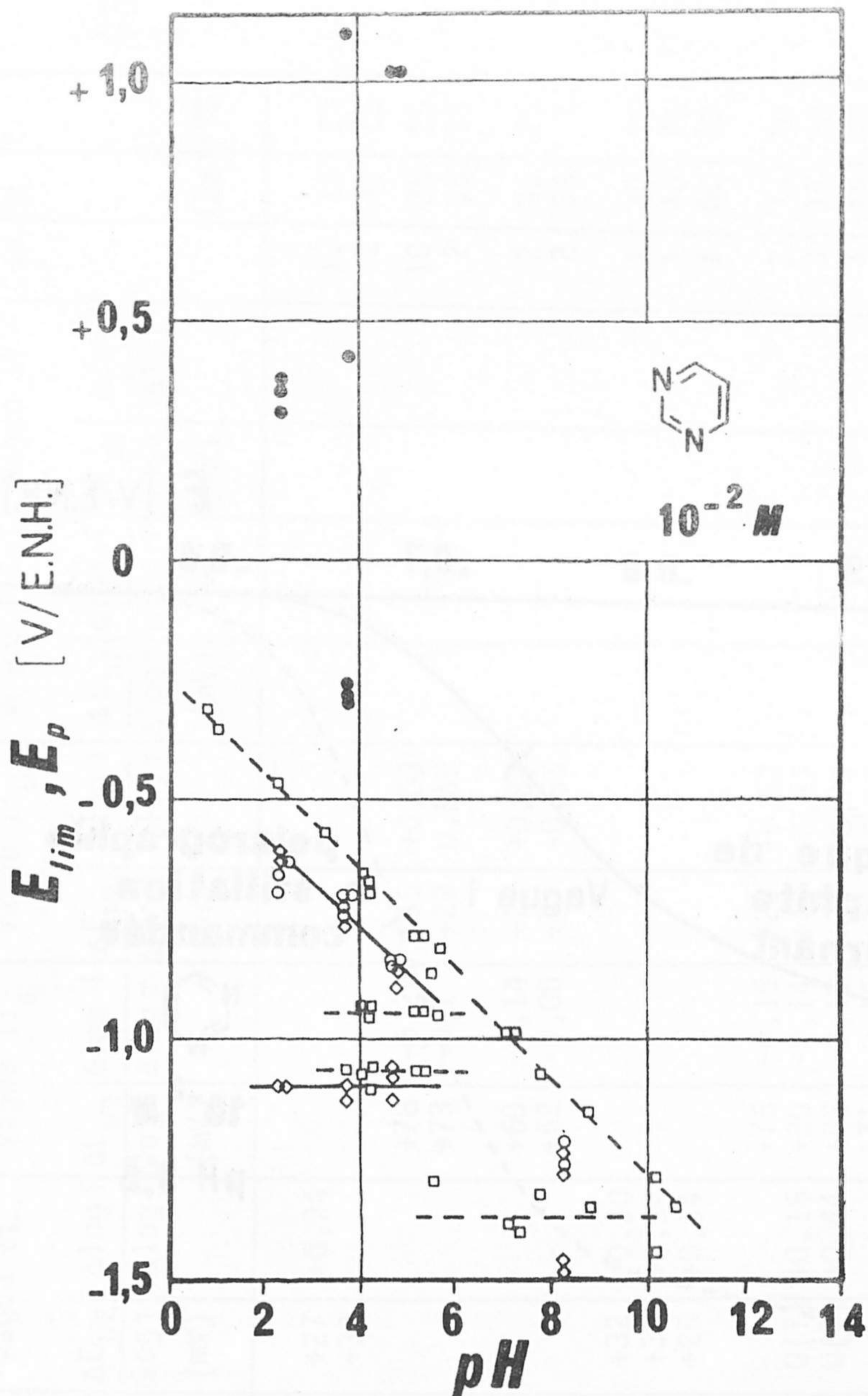


Fig. 4.28 - Réduction de solutions aqueuses $10^{-2} M$ en pyrimidine par polarographie à stillation commandée (\square) et par voltamétrie à balayage linéaire de potentiel ($1 V/s$) sur électrode immobile à disque de carbone vitreux, polie mécaniquement avant chaque tracé (\circ) et sur goutte de mercure en stillation commandée (\diamond). Pic de réoxydation (\bullet) observé en voltamétrie cyclique sur disque immobile de carbone vitreux (vitesse aller et retour $1 V/s$). Influence du pH de la solution sur les potentiels de demi-vague (polarographie) et sur les potentiels de pic (voltamétrie).

Les courbes intensité-potentiel relevées avec les méthodes transitoires comme la voltamétrie à balayage linéaire rapide de potentiel sont également très voisines si l'électrode est soit une goutte de mercure à stillation commandée, soit un disque immobile de carbone vitreux. Ces comparaisons ont été effectuées avec une même vitesse de balayage des potentiels (1 V/s).

Les résultats obtenus sur ces deux électrodes sont très proches pour la vague I (pH 2,3, 3,6 et 4,8) et pour la vague III (pH 8,2). La figure 4.28 montre que les potentiels de pics diffèrent alors de moins de 20 mV, ce qui correspond à notre précision de mesure. Cette même figure montre que les potentiels de pics voltamétriques sont généralement plus négatifs que les potentiels de demi-vague. L'écart observé (130 ± 30 mV) est supérieur aux 28,5 mV de l'écart théorique déterminé pour une fixation réversible d'un électron. Ceci correspond sans doute à une irréversibilité des réductions ou à l'intervention d'une réaction chimique, comme par exemple une dimérisation.

Le carbone ne permet pas d'atteindre des potentiels aussi négatifs que le mercure et donc de relever les caractéristiques des vagues situées au-delà de la première vague de réduction. D'autre part, à la place des vagues II_a et II_b observées en solution acide de concentration élevée en pyrimidine, la voltamétrie à balayage linéaire rapide de potentiel sur goutte de mercure fournit un seul pic II présentant un épaulement sur son flanc tourné vers les potentiels positifs. Le potentiel de ce pic II est de 30 mV plus négatif que $E_{1/2}$ de la vague II_a relevée dans les mêmes conditions de concentration (Fig. 4.28). A pH 8,2 un deuxième pic de réduction a été observé à un potentiel de 100 mV plus négatif que $E_{1/2}$ de la vague IV.

Enfin en milieu acide la voltamétrie cyclique sur disque immobile de carbone vitreux fournit au cours du balayage retour un pic anodique distant de 1,0 à 1,5 V du pic de réduction I.

En conclusion, les résultats des expériences électrochimiques menées sur goutte de mercure ont bien un caractère général, relativement indépendant de la nature du matériau d'électrode utilisé. En effet, chaque fois que nous avons comparé les comportements de la

pyrimidine sur mercure et sur carbone vitreux, nous avons obtenu, si toutes les autres conditions expérimentales étaient identiques, des résultats très voisins.

1.3 - Discussion et interprétation des résultats relatifs à la réduction électrochimique de solutions aqueuses de pyrimidine.

1.3.1 - Comparaison avec les données antérieures.

Les données électrochimiques que nous avons réunies sur la réduction de la pyrimidine en solution aqueuse, confirment les données antérieures lorsque de telles données existent. Ces dernières concernent seulement la réduction polarographique de solutions de concentration comprise entre 0,3 et 5 mM en réactif, et de pH compris entre 0,5 et 13. Nous avons par conséquent comparé ces données à celles que nous avons obtenues par polarographie à stillation commandée de solution 10^{-3} M en réactif (Fig. 4.29). Les valeurs de potentiel de demi-vague relevées par ELVING et coll. (128,131) sont très proches des nôtres puisque les écarts maxima sont de 20 mV pour la vague I et la vague III, de ± 45 mV pour les vagues IV et V. Seules les valeurs relevées pour la vague II sont systématiquement 65 mV supérieures aux nôtres. Il est important de noter cette similitude de résultats bien que les méthodes expérimentales soient sensiblement différentes puisque nous avons utilisé la polarographie à stillation commandée au lieu de la polarographie à stillation libre, et surtout des mélanges tampons de nature et de concentration différentes.

Les données électrochimiques que nous avons réunies apportent d'autre part plusieurs types de résultats nouveaux :

- la variation de la concentration de pyrimidine entre 10^{-5} et 10^{-2} M fait apparaître des déplacements caractéristiques des vagues de réduction en milieu acide et un dédoublement de la vague II si cette concentration est supérieure à 2,3 mM. La vague II est alors remplacée par les vagues II_a et II_b dont la somme des hauteurs relatives est égale à la hauteur relative de la vague II bien que la vague II_a ait une hauteur indépendante de la concentration de pyrimidine,
- la variation du temps de goutte imposé entre 0,1 et 10 s fait apparaître également des déplacements caractéristiques des vagues de réduction en milieu acide,

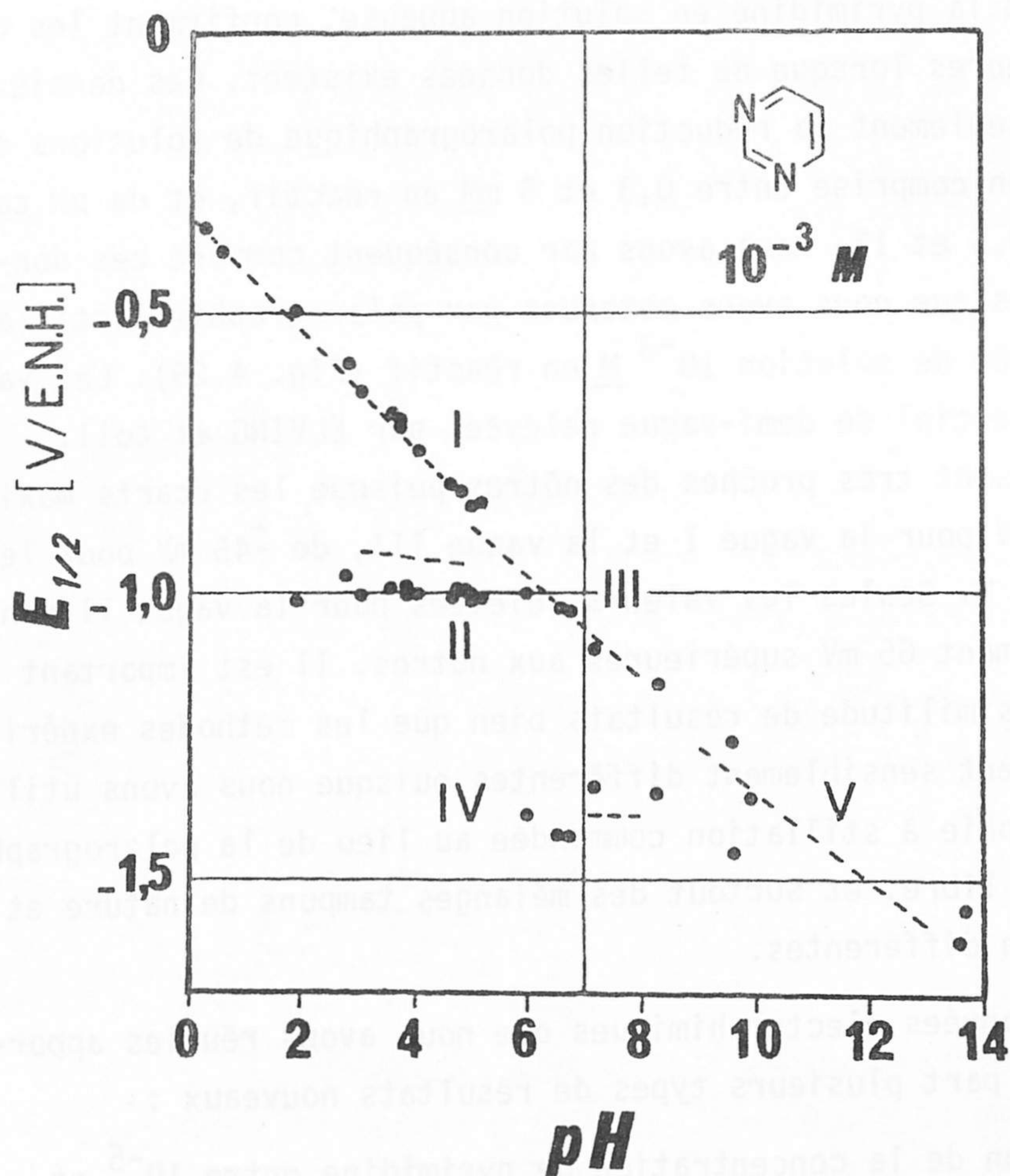


Fig. 4.29 - Réduction électrochimique de solutions aqueuses environ 10^{-3} M en pyrimidine. Comparaison des résultats antérieurs relevés par ELVING et coll. (128,131) par polarographie classique de solutions de concentration comprise entre 0,3 et 5 mM (---) avec les résultats obtenus par polarographie à stillation commandée de solutions 1 mM en pyrimidine (●).

- l'analyse logarithmique de la forme des vagues I et II en milieu acide montre que celles-ci sont déformées probablement à cause d'une dimérisation du produit de réduction de la vague I.

Enfin au cours de cette étude de la réduction électrochimique de la pyrimidine nous avons clairement mis en évidence l'influence sur le potentiel et la hauteur des vagues, et plus généralement sur le tracé des courbes intensité-potentiel, des facteurs expérimentaux ou des caractéristiques techniques suivantes :

- pH de la solution,
- concentration de pyrimidine,
- nature et concentration des espèces chimiques tamponnant le pH de la solution,
- température de la solution,
- temps de goutte imposé,
- nature du matériau d'électrode.

C'est grâce à la combinaison de ces résultats expérimentaux que nous pouvons envisager de reprendre et de préciser les hypothèses relatives aux mécanismes des différentes étapes de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse.

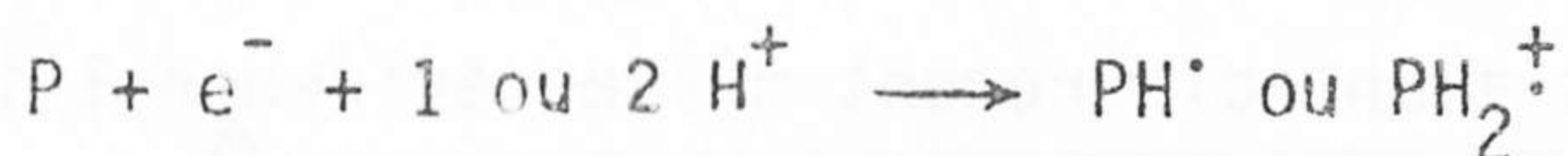
3.2 - Interprétation des résultats en termes de mécanismes de réaction.

Vague I.

A pH inférieur à 6 la première étape de réduction de la pyrimidine, tant sur goutte de mercure à stillation commandée que sur disque de carbone vitreux, est celle pour laquelle les résultats sont les plus nombreux et les plus concordants.

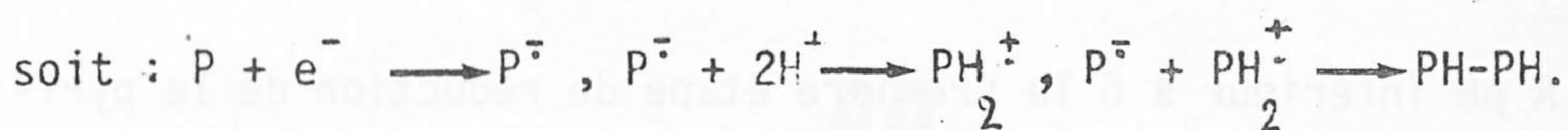
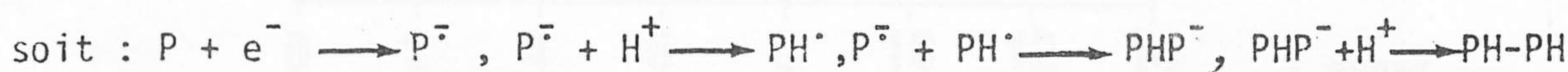
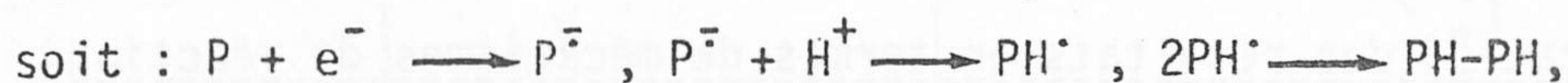
L'existence d'un effet du pH sur le potentiel de cette vague montre que la réduction fait intervenir un échange de protons avant ou peu après le transfert des électrons. La valeur de cet effet ($\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 100 \text{ mV}$) ne permet cependant pas de conclure quant au nombre de protons fixés. L'absence de cassure des diagrammes potentiel-pH et courant-pH au voisinage du pK_a de la pyrimidine (1,3) semble exclure l'intervention d'une protonation de la pyrimidine préalable à sa réduction. L'analyse logarithmique de la forme de

cette vague I, en accord avec les coulométries effectuées sur son palier de diffusion (128, 131) permet de supposer qu'un seul électron est alors fixé sur une molécule de pyrimidine. On aurait donc :



La valeur de l'effet de la concentration de réactif, du temps de goutte et de la température sur la hauteur de la vague I prouve que le processus limitant cette réaction, comme pour la réduction de Tl^+ ou Cd^{++} , est la diffusion du réactif vers l'électrode.

L'analyse logarithmique de la forme de la vague I et l'existence d'un effet de la concentration C de réactif et du temps de goutte imposé τ sur le potentiel de demi-vague montrent d'autre part que la réduction est accompagnée par une réaction chimique. Les valeurs relevées tant pour $\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$ que pour $\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau$, respectivement $+20 \pm 5$ et $+17,5 \pm 3$ mV, sont en excellent accord avec la valeur théorique de ces deux coefficients (+ 19,7 mV) qui correspond à une réaction consécutive de dimérisation. Le dimère ayant probablement pour structure PH-PH plusieurs mécanismes peuvent être envisagés pour passer de la pyrimidine P à ce dimère PH-PH



Les données disponibles ne permettent pas de choisir entre ces différentes successions de réactions celle qui s'effectue réellement. Notons que la vitesse de dimérisation n'est pas assez élevée pour être énergétiquement intégrée à la réduction. En effet si cela était le cas, $E_{1/2}$ augmenterait de 60 mV par décade de concentration et non de 20 mV.

Nous pouvons admettre que la vague I a pour expression celle que propose VOLKE (110) pour un processus réactionnel semblable (réduction des sels de N_1 alkyl pyridinium)

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \text{Log} \frac{i_d^{2/3}}{i_d - i} i_d^{1/3} + \frac{RT}{3nF} \text{Log} \frac{Ck\tau}{1,51}$$

conduisant à

$$E_{1/2} = E^{\circ} - 0,36 \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{3nF} \text{Log} Ck\tau = E^{\circ} - \frac{RT}{3nF} \text{Log} \frac{Ck\tau}{3,27}$$

La détermination de la constante de dimérisation k permettrait d'atteindre le potentiel normal de réduction noté ici E° .

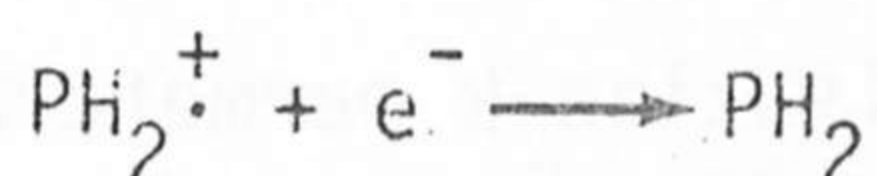
Vague II.

Aux pH compris entre 2 et 6, la deuxième étape de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse est située à un potentiel si négatif qu'elle ne peut être observée que sur électrode de mercure. Ses caractéristiques sont tellement complexes qu'il n'est pas possible de définir complètement et avec sûreté les mécanismes de réaction qui lui correspondent. La similitude des hauteurs des vagues I et II conduit à penser que, lors de cette deuxième étape de réduction, un seul électron est à nouveau fixé sur une molécule de pyrimidine. L'absence d'effet du pH sur le potentiel et la hauteur de la vague II montre que la réduction ne fait intervenir d'échange de proton ni avant, ni après le transfert des électrons. Les valeurs de l'effet de la concentration de réactif, du temps de goutte et de la température sur la hauteur de la vague II prouvent que le processus limitant la réaction, comme pour la réduction de Tl^{+} et Cd^{++} , est la diffusion du réactif vers l'électrode.

L'analyse logarithmique de la forme de la vague II et l'existence d'effets de la concentration C de réactif et du temps de goutte imposé τ sur le potentiel de demi-vague montrent, d'autre part, que la réduction est accompagnée par une réaction chimique. La valeur relevée pour $\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$, soit 35 ± 7 mV, est en bon accord avec la valeur théorique de ce coefficient (40 mV) correspondant à une réaction concurrente de dimérisation. La valeur de la pente $\Delta E / \Delta \log \left\{ \frac{i^{3/2}}{(i_{lim} - i)} \right\}$ n'est cependant pas égale au double de $\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$ comme il est théoriquement prévu

dans un tel cas (113).

Il est fort probable que le produit formé finalement après ces deux étapes de réduction soit un dérivé dihydro PH_2 . Une hypothèse possible pour le mécanisme correspondant à la vague II serait alors



en concurrence avec



Aucun argument expérimental ne permet cependant de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

Vagues II_a et II_b .

Lorsque le pH de la solution est compris entre 3 et 6, la vague polarographique II se dédouble dès que la concentration de pyrimidine est supérieure à 2,3 mM. La hauteur de la première vague dédoublée II_a est indépendante de la concentration de pyrimidine alors que la somme des hauteurs des deux vagues est proportionnelle à cette concentration.

Un tel ensemble de phénomènes a été rencontré par BRDIČKA (183 à 185) lors de la réduction de la riboflavine et du bleu de méthylène. Il est généralement interprété comme résultant d'une adsorption du produit de réduction sur l'électrode (105). Les vagues II et II_a correspondraient donc au même processus de formation de pyrimidine réduite adsorbée sur la goutte de mercure. La hauteur constante de la vague II_a serait alors déterminée par le nombre maximal de molécules de pyrimidine réduite qui pourraient être adsorbées sur l'électrode. La valeur de cette hauteur nous permettrait de connaître la surface moyenne A occupée par chaque molécule puisque

$$i_a = \frac{13,5 \text{ n m}^{2/3}}{A \tau^{1/3}}$$

si i_a est la moyenne du courant limite de la prévague II_a

$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{nF} \text{Log} \frac{i_d^{2/3}}{i_d - i} i_d^{1/3} + \frac{RT}{3nF} \text{Log} \frac{Ck\tau}{1,51}$$

conduisant à

$$E_{1/2} = E^{\circ} - 0,36 \frac{RT}{nF} + \frac{RT}{3nF} \text{Log} Ck\tau = E^{\circ} - \frac{RT}{3nF} \text{Log} \frac{Ck\tau}{3,27}$$

La détermination de la constante de dimérisation k permettrait d'atteindre le potentiel normal de réduction noté ici E° .

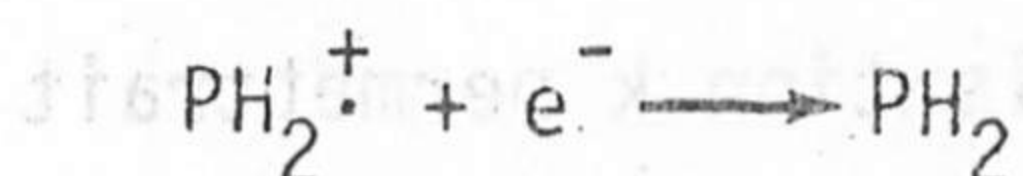
Vague II.

Aux pH compris entre 2 et 6, la deuxième étape de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse est située à un potentiel si négatif qu'elle ne peut être observée que sur électrode de mercure. Ses caractéristiques sont tellement complexes qu'il n'est pas possible de définir complètement et avec sûreté les mécanismes de réaction qui lui correspondent. La similitude des hauteurs des vagues I et II conduit à penser que, lors de cette deuxième étape de réduction, un seul électron est à nouveau fixé sur une molécule de pyrimidine. L'absence d'effet du pH sur le potentiel et la hauteur de la vague II montre que la réduction ne fait intervenir d'échange de proton ni avant, ni après le transfert des électrons. Les valeurs de l'effet de la concentration de réactif, du temps de goutte et de la température sur la hauteur de la vague II prouvent que le processus limitant la réaction, comme pour la réduction de Tl^{+} et Cd^{++} , est la diffusion du réactif vers l'électrode.

L'analyse logarithmique de la forme de la vague II et l'existence d'effets de la concentration C de réactif et du temps de goutte imposé τ sur le potentiel de demi-vague montrent, d'autre part, que la réduction est accompagnée par une réaction chimique. La valeur relevée pour $\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$, soit 35 ± 7 mV, est en bon accord avec la valeur théorique de ce coefficient (40 mV) correspondant à une réaction concurrente de dimérisation. La valeur de la pente $\Delta E / \Delta \log \left\{ \frac{i^{3/2}}{(i_{lim} - i)} \right\}$ n'est cependant pas égale au double de $\Delta E_{1/2} / \Delta \log C$ comme il est théoriquement prévu

dans un tel cas (113).

Il est fort probable que le produit formé finalement après ces deux étapes de réduction soit un dérivé dihydro PH_2 . Une hypothèse possible pour le mécanisme correspondant à la vague II serait alors



en concurrence avec



Aucun argument expérimental ne permet cependant de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

Vagues II_a et II_b.

Lorsque le pH de la solution est compris entre 3 et 6, la vague polarographique II se dédouble dès que la concentration de pyrimidine est supérieure à 2,3 mM. La hauteur de la première vague dédoublée II_a est indépendante de la concentration de pyrimidine alors que la somme des hauteurs des deux vagues est proportionnelle à cette concentration.

Un tel ensemble de phénomènes a été rencontré par BRDIČKA (183 à 185) lors de la réduction de la riboflavine et du bleu de méthylène. Il est généralement interprété comme résultant d'une adsorption du produit de réduction sur l'électrode (105). Les vagues II et II_a correspondraient donc au même processus de formation de pyrimidine réduite adsorbée sur la goutte de mercure. La hauteur constante de la vague II_a serait alors déterminée par le nombre maximal de molécules de pyrimidine réduite qui pourraient être adsorbées sur l'électrode. La valeur de cette hauteur nous permettrait de connaître la surface moyenne A occupée par chaque molécule puisque

$$i_a = \frac{13,5 \text{ n m}^{2/3}}{A \tau^{1/3}}$$

si i_a est la moyenne du courant limite de la prévague II_a

exprimé en μA ,

- . n est le nombre d'électrons échangé, ici probablement 1 ,
- . m est le débit de mercure exprimé en mg/s,
- . A est la surface occupée par chaque molécule en Å^2 ,
- . τ est le temps de goutte exprimé en s.

En utilisant les valeurs du courant limite obtenues pour des couples de valeurs déterminées du débit de mercure et du temps de goutte imposé, nous aurions :

$$3,0 \leq A \leq 6,6 \text{ Å}^2$$

Cette hypothèse est soutenue par plusieurs observations expérimentales :

- la hauteur de la vague II_a dépend du débit de mercure m de la même façon que la vague "normale" I et que les vagues de réduction des cations Tl^+ et Cd^{++} . Cette variation $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log m$ a cependant pour valeur $+0,75 \pm 0,04$, $0,80 \pm 0,10$ et $+0,85$ respectivement pour les vagues II_a , I de la pyrimidine et pour les vagues de Tl^+ et Cd^{++} , au lieu de la valeur théorique commune $2/3$,
- contrairement aux hauteurs de toutes les autres vagues de réduction de la pyrimidine, la hauteur de la vague II_a diminue lorsque le temps de goutte augmente. Le sens de cette variation est bien celui prévu par la théorie mais la valeur de $\Delta \log(-i_{lim}) / \Delta \log \tau$ obtenue pour cette vague II_a , $-0,14 \pm 0,03$, est assez différente de la valeur théorique $-1/3$.

Cette hypothèse est par contre infirmée par deux types d'observations expérimentales :

- la hauteur de la vague II_a augmente avec la température or l'adsorbabilité des matériaux diminue généralement lorsque la température augmente, ce qui entraîne la diminution et même la disparition des vagues d'adsorption,
- le courant instantané devrait diminuer au cours de la durée de vie de la goutte selon

$$i_{inst.} = \frac{2/3 \cdot 0,85 \cdot m^{2/3} \cdot nF}{A \cdot t^{1/3}}$$

puisque la vitesse de formation de surface nouvelle de mercure diminue selon

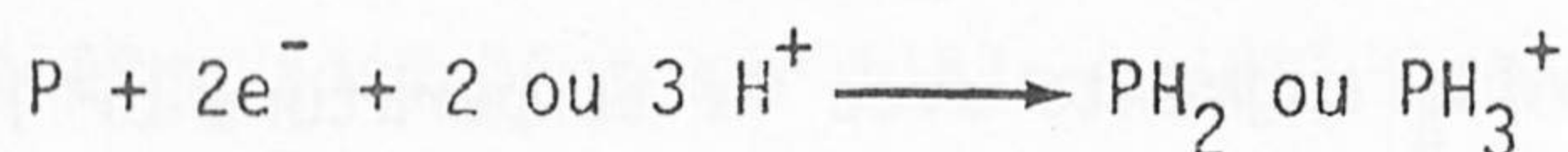
$$\frac{ds}{dt} = \frac{2}{3} \cdot 0,85 \text{ m}^{2/3} t^{-1/3}$$

Ceci n'est pas le cas puisque lorsque le potentiel imposé est égal ou voisin de $E_{1/2}$ de la vague II_a , le courant instantané croît régulièrement $\Delta \log(-i_{inst}) / \Delta \log t$ ayant des valeurs semblables pour les vagues I, II_a et II_b respectivement $+0,30 \pm 0,05$, $+0,25 \pm 0,05$ et $+0,24 \pm 0,05$.

L'ensemble des résultats obtenus pour les vagues II, II_a et II_b ne permet donc pas de proposer d'interprétation solide pour ce phénomène de dédoublement de la deuxième vague de réduction de la pyrimidine en milieu acide.

Vague III.

Aux pH compris entre 6 et 10, l'existence d'un effet de ce pH sur le potentiel de la première vague de réduction de la pyrimidine montre que celle-ci fait intervenir un échange de protons avant ou peu après le transfert des électrons. La valeur de cet effet ($\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 85 \text{ mV}$) ne permet cependant pas de conclure quant au nombre de proton fixé. La comparaison des hauteurs des vagues III et I, à même concentration, $\{ (i_{lim})_{III} / (i_{lim})_I = 2,0 \}$ montre que l'on peut raisonnablement supposer que deux électrons sont alors fixés sur une molécule de pyrimidine. L'analyse logarithmique et la pente de cette vague ne conduisant pas à ce résultat, nous pouvons supposer que le transfert des électrons est lent et irréversible. On aurait donc :



bien que la fixation quasi simultanée d'un tel nombre de particules paraisse improbable.

Les effets de la concentration de réactif et du temps de goutte sur la hauteur de la vague III prouvent que le processus limitant la réduction est, comme pour la réduction des cations Tl^+ et Cd^{++} , la diffusion de réactif vers l'électrode. L'absence d'effets

significatifs de la concentration de réactif et du temps de goutte sur le potentiel de cette vague III montre que la réduction n'est pas comme pour la vague I accompagnée par une réaction chimique de dimérisation.

Vague IV.

Aux pH compris entre 6 et 10, la deuxième vague de réduction de la pyrimidine présente des caractéristiques qui varient assez considérablement avec les conditions expérimentales et techniques utilisées sans souvent qu'un comportement général puisse être dégagé. Le potentiel de cette vague IV ne semble pas dépendre du pH de la solution et nous pouvons donc supposer qu'elle correspond à un transfert d'électrons seuls. Le rapport de la hauteur des vagues IV et III ne conduit pas à un nombre défini d'électrons échangés puisque à une même concentration $(i_{lim})_{IV}/(i_{lim})_{III}$ varie de 0,6 à 1,0 d'un pH à l'autre. La valeur de l'effet de la concentration et du temps de goutte sur la hauteur de cette vague IV permet seulement d'affirmer que la vitesse de réduction est limitée par la diffusion de réactif vers l'électrode.

L'ensemble, pourtant considérable, des données expérimentales relatives aux vagues de réduction de la pyrimidine en solution aqueuse, ne permet finalement pas de proposer avec sûreté un mécanisme pour chaque étape de réaction observée. Il a cependant permis de démontrer l'existence, jusqu'alors seulement supposée, de réaction de dimérisation entre les deux étapes de réduction en milieu acide. L'utilisation de méthodes comme la voltamétrie cyclique à balayage linéaire rapide de potentiel et la voltamétrie sur électrode disque-anneau devrait permettre de compléter et de préciser les mécanismes que nous avons proposés.

3.3 - Effets spécifiques de certains milieux.

Les résultats obtenus dans la plupart des solutions tampons utilisées sont cohérents, c'est-à-dire peuvent être reliés les uns aux autres par continuité en tenant compte de la seule valeur du pH imposé et non en outre de la nature du tampon. C'est cette continuité des

phénomènes observés d'un tampon à l'autre que nous avons précédemment exploitée pour dégager des hypothèses interprétatives. Il est cependant nécessaire de revenir maintenant sur les anomalies qui semblent liées à l'emploi de tampons particuliers.

Le tampon phosphate (pH 6,71) entraîne un effet particulier de la concentration de réactif sur la première vague de réduction (vague III) puisque celle-ci se dédouble dès que cette concentration est supérieure à environ 3,7 mM. La somme des hauteurs relatives de ces deux vagues est égale à la hauteur relative de la vague III alors que la hauteur de la première vague dédoublée est indépendante de la concentration. Le tampon borate (pH 9,7) entraîne un effet d'un autre type: la hauteur de la vague III est alors proportionnelle à la concentration de pyrimidine à la puissance 1,3.

Il nous semble donc important de tenter par la suite de déterminer le mode d'action des borates et surtout des orthophosphates sur la réduction électrochimique du composé modèle étudié des pyrimidines et purines biologiques. Ainsi pourrait-on peut-être appréhender le rôle des phosphates dans les propriétés électroniques des nucléosides et nucléotides.

CHAPITRE CINQ

CONCLUSION GENERALE

.1 - Problèmes d'ordre électrochimique posés par les résultats obtenus.

a - Si nous considérons en premier lieu l'expérimentation électrochimique mise en oeuvre, notre travail met nettement en relief que deux types de causes se superposent pour définir les grandeurs directement délivrées par l'expérience.

D'une part, certains effets sont intrinsèquement dûs aux propriétés du soluté dans le solvant étudié. Ce sont ces contributions seules qui doivent être sélectionnées en vue de l'application de ces résultats, en particulier à l'interprétation de faits biochimiques.

D'autre part, certains effets sont liés à l'expérimentation électrochimique utilisée, c'est-à-dire au choix de la technique et des paramètres de mise en oeuvre de celle-ci: conditions de stillation ou vitesse de rotation de l'électrode et plus généralement mode d'apport des réactifs à l'électrode, nature du matériau d'électrode, etc... Le premier problème qu'il importe donc de résoudre consiste à séparer les premiers effets des seconds.

Afin d'illustrer la façon dont ceci a pu être fait, prenons par exemple le cas de la première étape de réduction de la pyrimidine en milieu acide ou de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en milieu neutre ou basique.

Pour ces étapes de réduction, nous avons observé que le potentiel de demi-vague dépend en solution très diluée du temps de stillation τ des gouttes de mercure. Cet effet n'a pas une grande amplitude ($\Delta E_{1/2} / \Delta \log \tau = +20 \text{ mV}$) mais montre cependant que les potentiels de demi-vague relevés ne constituent pas des propriétés totalement intrinsèques des réactifs à une concentration et dans une solution donnée. L'importance de l'effet de ce paramètre expérimental a pu être évalué pour la première étape de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en milieu neutre ou basique. Le potentiel de demi-vague

Tableau 5.I - Résumé des propriétés électrochimiques intrinsèques relevées sur les hétérocycles polyconjugués azotés étudiés.

①- Iodure de N₁ méthyl nicotinamide en solution aqueuse.

-Réduction électrochimique :

. $3 \leq \text{pH} \leq 10$ vague ou pic II :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 0 \pm 5 \text{ mV}$$

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \log C = +19 \pm 1 \text{ mV (si } C \leq 10^{-3} \text{ M)}$$

$$E^\circ = E_{1/2} - \frac{RT}{3nF} \log \frac{C \cdot k \cdot \tau}{2,95}$$

$$E^\circ = -0,83 - 0,020 \log \frac{10^{-4} \cdot 10^{+7} \cdot 0,5}{3} = -0,87 \text{ V/E.N.H.}$$

si $k \simeq 10^7 \text{ l.mole}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (85)

. $8 \leq \text{pH} \leq 10$ vague III :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = -60 \pm 5 \text{ mV} \quad \Delta E_{1/2} / \Delta \log C = +44 \pm 4 \text{ mV}$$

-Réoxydation électrochimique :

. $6 \leq \text{pH} \leq 10$ pic II₀ : $\Delta E_p / \Delta \text{pH} = 0$

②- Nicotinamide en solution aqueuse (Réduction électrochimique).

. $0 \leq \text{pH} \leq 10$ vague I : $\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = -75 \pm 5 \text{ mV (si } C \leq 2 \cdot 10^{-4} \text{ M)}$

③- Pyrimidine en solution aqueuse (Réduction électrochimique).

. $0 \leq \text{pH} \leq 5,2$ vague ou pic I :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = -100 \pm 5 \text{ mV} \quad \Delta E_{1/2} / \Delta \log C = +18 \pm 3 \text{ mV}$$

. $2 \leq \text{pH} \leq 5,2$ vague II (si concentration C inférieure à 2,3 mM):

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 0 \pm 5 \text{ mV} \quad \Delta E_{1/2} / \Delta \log C = -35 \pm 7 \text{ mV}$$

. $5,2 \leq \text{pH} \leq 10$ vague III :

$$\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = -85 \text{ mV}$$

est de 40 mV plus élevé que le potentiel normal correspondant (Tableau 5.I). L'effet de ce temps de goutte imposé ne dépendant pas du pH de la solution, la pente du diagramme potentiel-pH est alors une caractéristique intrinsèque du réactif.

Nous avons rassemblé dans le tableau 5.I les résultats qui ne dépendent pas des facteurs expérimentaux précédemment énumérés et qui par conséquent peuvent à titre d'hypothèse être considérés comme quantitativement intrinsèques. Ce sont ces résultats qui doivent servir de base principale à l'élaboration des mécanismes de réaction.

b - En second lieu, l'ensemble des résultats obtenus montre à quelle complexité de mécanismes de réaction il faut faire appel pour donner une image correcte de toutes les observations expérimentales.

Les mécanismes d'oxydo-réduction complets ne peuvent être déduits que du rassemblement d'un grand nombre d'expériences relatives à l'influence de tous les facteurs expérimentaux. En voltamétrie ou en polarographie il est par exemple nécessaire de déterminer l'effet sur le potentiel de demi-pic ou de demi-vague, sur la hauteur des pics ou vagues et plus généralement sur toutes les caractéristiques des courbes intensité-potentiel :

- du pH de la solution, ce qui est en général réalisé dans les études en milieu aqueux mais l'est rarement en milieu aprotique (186),
- de la nature du tampon, ce qui est assez rarement réalisé surtout lorsque des tampons mixtes tels que les tampons de MICHAELIS (barbital-acétate), de KOLTHOFF (borax-phosphate et borax-acide succinique), de THEORELL et STENHAGEN (acide citrique-phosphate-borate) et de McILVAINE (acide citrique-phosphate) sont utilisés (187, 188)
- de la concentration du tampon, ce qui est également rarement réalisé, le souci principal de nombreux expérimentateurs étant plutôt de maintenir la force ionique à une valeur constante,
- de la vitesse de balayage en voltamétrie à balayage linéaire de potentiel ou du temps de goutte en polarographie,
- de la température de la solution,
- de la concentration de réactif.

L'influence de ces trois derniers paramètres expérimentaux sur les hauteurs de vagues ou de pics est fréquemment utilisée pour distinguer les différents types de processus contrôlants (diffusion, cinétique lente, adsorption, catalyse). Par contre, leur influence sur les potentiels n'est que rarement envisagée. Pourtant nos résultats en particulier montrent que de telles études peuvent apporter d'utiles informations sur l'intervention et le type de réaction chimique qui est susceptible de suivre le transport électronique.

D'autre part, les processus électrochimiques qui sont le plus souvent étudiés expérimentalement concernent soit la réduction, soit l'oxydation mais jamais ces deux types de réaction dans un même travail. Dans les rares cas, comme par exemple celui des coenzymes pyridiniques ou de leurs composés modèles, où les réactions de réduction et d'oxydation ont été étudiées, un grand nombre des mécanismes avancés se révèlent mutuellement incompatibles. Cette incompatibilité se révèle surtout lors de la confrontation des données énergétiques liées aux mécanismes de réaction envisagés. Ce contrôle doit être fait sur l'ensemble des mécanismes relatifs au couple global envisagé (par exemple NAD^+/NADH), tant en réduction qu'en oxydation. Ce contrôle doit, de plus, tenir compte des effets des paramètres expérimentaux sur les potentiels utilisés dans cette confrontation. Nous avons vu au § 3.2.5.3 que les écarts aux lois d'additivité énergétique que nous avons rencontrés (730 et 370 mV) sont de loin supérieurs à la différence entre les potentiels de demi-vague ou de demi-pic et les potentiels normaux correspondants (40 mV).

Il apparaît donc que ces différents points de vue discutés ici, les conclusions auxquelles nous sommes parvenus sont en grande partie destructives par rapport aux interprétations mécanistiques fréquemment avancées. En fait le résultat essentiel réside dans la sélection des interprétations qui subsistent après les multiples contre-épreuves expérimentales et énergétiques mises en oeuvre. Ces interprétations constituent alors des données plus solides pour un développement ultérieur de l'étude électrochimique et la recherche d'applications organique ou biochimique.

5.2 - Comparaison des matériaux étudiés.

La comparaison des propriétés oxydo-réductrices des hétérocycles polyconjugués azotés sur lesquels a porté notre étude personnelle et bibliographique conduit en outre à quelques considérations générales d'ordre chimique.

La première étape de réduction électrochimique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide en milieu neutre ou basique présente plusieurs caractéristiques (influence de la concentration de réactif, du temps de goutte, de la température) qui sont identiques à celles de la première étape de réduction électrochimique de la pyrimidine en milieu acide. Ces étapes ne diffèrent que par l'intervention de réaction de protonation dans le premier cas ($\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 100 \text{ mV}$) qui n'apparaît pas dans le deuxième ($\Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = 0$).

La deuxième étape de réduction de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide est en milieu neutre et basique située à un potentiel voisin de celui de la première et seule étape de réduction de la nicotinamide aux mêmes pH. La quaternisation de l'azote pyridinique qui a pour effet de faciliter la fixation d'un premier électron sur l'hétérocycle ne modifie donc ici que peu l'énergétique des électronations ultérieures.

La comparaison des mécanismes que nous avons été amenés à proposer tant pour la première étape de réduction électrochimique de l'iodure de N₁ méthyl nicotinamide à pH compris entre 3 et 10 que pour celle de la pyrimidine aux pH inférieurs à 5,2, montre que la dimérisation constitue une propriété assez générale dans ces séries de matériaux. Dans les deux cas, le type de dimérisation semble identique : il correspondrait à une réaction d'association assez rapide entre des radicaux neutres formés à l'électrode.

5.3 - Signification biologique des résultats.

Les trois hétérocycles polyconjugués azotés que nous avons personnellement étudiés ont chacun une importance biologique.

Le N₁ méthyl nicotinamide est le composé modèle le plus simple et électrochimiquement le plus connu des coenzymes pyridiniques NAD⁺ et NADP⁺. Ces derniers interviennent in vivo conjointement par l'oxydo-réduction de substrats (alcool, aldéhydes ou cétones) et par leur intégration dans la chaîne de transfert des électrons en liaison avec la phosphorylation oxydative.

La nicotinamide non substituée intervient biochimiquement dans la dégradation du NAD⁺.

La pyrimidine non substituée est enfin le composé modèle le plus simple et électrochimiquement l'un des plus connus des bases nucléiques et des pyrimidines médicamenteuses (189). L'intervention directe des propriétés oxydo-réductrices de ces matériaux n'est pas certaine malgré quelques hypothèses (120 à 122) relatives au rôle qu'elles pourraient jouer lors du passage du NADH ou NAD⁺. Ces propriétés peuvent cependant éventuellement être prises en considération pour apporter des éclaircissements sur d'autres propriétés électroniques qui leur sont liées. C'est ainsi que la recherche de conduction électronique de ces matériaux en liaison avec les hypothèses émises par SZENT-GYORGYI (1 à 4) et PULLMAN (5 à 7) à ce sujet constitue en partie l'origine de l'intérêt que nous leur avons porté.

Face à cet ensemble d'objectifs biochimiques, le point sur lequel les résultats que nous avons obtenus apportent le plus d'informations, est certainement la discussion des conditions dans lesquelles le couple NAD⁺-NADH intervient in vivo.

En premier lieu, l'examen des résultats relatifs aux réactions d'oxydo-réduction des substrats biologiques et du couple NAD⁺-NADH conduit à quelques considérations sur le rôle des catalyseurs biologiques. Les potentiels thermodynamiques d'oxydation de ces substrats sont en général supérieurs au potentiel le plus élevé auquel commence la réduction électrochimique du NAD⁺. Ceci montre donc que

la réduction biologique du NAD^+ doit intégrer énergétiquement plusieurs et peut-être la totalité des étapes que la réduction électrochimique permet de mettre en évidence. Remarquons, à ce propos, la quasi identité des résultats obtenus sur le NAD^+ et sur les composés modèles. Ce n'est donc probablement pas l'ensemble ribose-pyrophosphate-adénosine qui assure cette intégration catalytique des étapes réactionnelles. Ceci suggère qu'en fait le catalyseur enzymatique ait pour rôle essentiel d'améliorer la vitesse des protonations consécutives aux électronations. L'énergie de ces étapes acide-base serait alors intégrée dans le processus de réduction. Un travail récent sur les propriétés des milieux riches en fonctions peptides (190) permettrait effectivement de comprendre pourquoi le transport de l'énergie de neutralisation pourrait être assuré plus efficacement par l'intervention des liaisons hydrogènes des groupes $-\text{CO}-\text{NH}-$ que dans l'eau.

En second lieu, notre travail apporte également un point de vue nouveau concernant la mise en réserve d'énergie, par exemple de condensation, au cours de processus d'oxydo-réduction comme la phosphorylation oxydative. Dans toute oxydation ou réduction électrochimique mettant en oeuvre à la fois des électrons et des protons, l'énergie des premières étapes du mécanisme impose qu'interviennent des potentiels de réduction plus faibles et des potentiels d'oxydation plus élevés que ceux qui correspondent thermodynamiquement à la réaction globale. Les produits intermédiaires, formés au cours de ces premières étapes, portent donc une énergie supplémentaire liée à la différence des potentiels mentionnés. Cette énergie peut être utilisée lors de réactions sur d'autres composés, ni oxydants, ni réducteurs, présents dans le milieu. De telles réactions peuvent donc avoir lieu au cours d'étapes chimiques consécutives aux électronations. L'énergétique des processus électrochimiques, relevés en présence de substrats susceptibles de réagir sur les espèces intermédiaires, doit être différente de celle relevée en leur absence. Or nous avons précisément relevé que le comportement du NAD^+ est anormal en présence de phosphates. Toutefois il faut noter ici que les études que nous avons réalisées sont relatives aux

processus de réduction du NAD^+ ou de composé modèle, alors que la phosphorylation oxydative accompagne in vivo l'oxydation du $NADH$. Nous ne pouvons actuellement introduire l'idée précédente qu'à titre de principe définissant l'origine de l'énergie mise en oeuvre dans un processus redox. Les résultats précis que nous avons obtenus ne sauraient donc nous permettre de conclure sur la phosphorylation oxydative.

En second lieu, notre travail apporte également un point de vue nouveau concernant la mise en réserve d'énergie, par exemple de condensation, au cours de processus d'oxydo-réduction comme la phosphorylation oxydative. Dans toute oxydation ou réduction électrochimique mettant en oeuvre à la fois des électrons et des protons, l'énergie des premières étapes du mécanisme impose qu'interviennent des potentiels de réduction plus faibles et des potentiels d'oxydation plus élevés que ceux qui correspondent thermodynamiquement à la réaction globale. Les produits intermédiaires, formés au cours de ces premières étapes, portent donc une énergie supplémentaire liée à la différence des potentiels mentionnés. Cette énergie peut être utilisée lors de réactions sur d'autres composés, ni oxydants, ni réducteurs, présents dans le milieu. De telles réactions peuvent donc avoir lieu au cours d'étapes chimiques consécutives aux électroactions. L'énergie des processus électrochimiques, relevés en présence de substrats susceptibles de réagir sur les espèces intermédiaires, doit être différente de celle relevée en leur absence. Or nous avons précisément relevé que le comportement du NAD^+ est anormal en présence de phosphates. Toutefois il faut noter que les études que nous avons réalisées sont relatives aux

gènes des groupes $-CO-NH-$ que dans l'eau. En second lieu, notre travail apporte également un point de vue nouveau concernant la mise en réserve d'énergie, par exemple de condensation, au cours de processus d'oxydo-réduction comme la phosphorylation oxydative. Dans toute oxydation ou réduction électrochimique mettant en oeuvre à la fois des électrons et des protons, l'énergie des premières étapes du mécanisme impose qu'interviennent des potentiels de réduction plus faibles et des potentiels d'oxydation plus élevés que ceux qui correspondent thermodynamiquement à la réaction globale. Les produits intermédiaires, formés au cours de ces premières étapes, portent donc une énergie supplémentaire liée à la différence des potentiels mentionnés. Cette énergie peut être utilisée lors de réactions sur d'autres composés, ni oxydants, ni réducteurs, présents dans le milieu. De telles réactions peuvent donc avoir lieu au cours d'étapes chimiques consécutives aux électroactions. L'énergie des processus électrochimiques, relevés en présence de substrats susceptibles de réagir sur les espèces intermédiaires, doit être différente de celle relevée en leur absence. Or nous avons précisément relevé que le comportement du NAD^+ est anormal en présence de phosphates. Toutefois il faut noter que les études que nous avons réalisées sont relatives aux

5.4 - Perspectives.

En premier lieu, il importe que des renseignements complémentaires soient apportés quant à la définition des mécanismes d'oxydo-réduction. Ceci peut être acquis par l'utilisation de techniques telles que la voltamétrie cyclique et la voltamétrie sur électrode tournante disque-anneau, qui permettent l'étude électrochimique des produits de réduction intermédiaire à durée de vie brève. En voltamétrie cyclique, les produits intermédiaires de réduction peuvent être réoxydés, au cours d'un balayage retour, avant d'avoir quitté, par diffusion, le voisinage de l'électrode immobile. En voltamétrie sur électrode tournante disque-anneau, le traitement des produits intermédiaires formés sur l'électrode principale en forme de disque est assuré sur une électrode annulaire très voisine. Quelques essais préliminaires présentés aux § 3.2.4 et 4.2.7 nous amènent à fonder des espoirs importants sur ces méthodes.

En second lieu, il importe de développer maintenant l'étude du NAD^+ , du NADH et de leurs composés modèles en s'attachant plus particulièrement aux réactions d'oxydation et à l'influence sur celles-ci de la présence de phosphates. Nous partons en effet de l'idée, précédemment exposée, qu'il ne peut y avoir de mise en réserve d'énergie redox que si l'étape initiale d'oxydation du NADH se fait à potentiel plus élevé que le potentiel d'équilibre de la réaction d'oxydation. Nous sommes alors conduits à rechercher dans quelle mesure la succession des mécanismes d'oxydation du NADH en NAD^+ est différente en présence de certains substrats condensables en particulier d'orthophosphates ou d'ensemble thiol-acide organique. Il devrait être possible d'aboutir par cette voie à une interprétation de la phosphorylation oxydative, plus satisfaisante que celles actuellement en faveur (191, 192).

BIBLIOGRAPHIE

1. A. SZENT-GYORGYI, Nature, 148,157,(1941).
2. A. SZENT-GYORGYI, Sci.,93,609,(1941).
3. A. SZENT-GYORGYI, Nature, 157,875,(1946).
4. A. SZENT-GYORGYI,
Bioelectronics, Academic Press, New York,(1968).
5. B. PULLMAN et A. PULLMAN,
Quantum Biochemistry, Interscience Publ., New York,London ,(1963),
p.62, 185 et 503.
6. A. PULLMAN et B. PULLMAN,
dans Horizons in Biochemistry éd. M.KASHA et B. PULLMAN,Academic
Press, New York,(1962),p.553.
7. B. PULLMAN,
dans Theoretical Physics and Biology, éd.M. MAROIS,North-Holland,
Amsterdam,(1969),p.113.
8. P. ZUMAN
dans Progress in Polarography ,éd. P. ZUMAN et I.M. KOLTHOFF,
Interscience, New York,(1962),vol.II,p.583-600.
9. J. HEYROVSKY
Polarographie, Springer-Verlag,Vienne,(1941).
10. J. HEYROVSKY
Polarographisches Praktikum dans Anleitung für die chemische Labo-
ratorium-praxis,Springer-Verlag,Berlin,(1948),vol.IV.
11. I.M. KOLTHOFF et J.J. LINGANE
Polarography , Interscience,New York,(1952),2^e éd.,Vol.I et II.
12. M. von STACKELBERG
Polarographische Arbeits-methoden,Walter de Gruyter and Co.,Berlin,
(1950).
13. P. ZUMAN et I.M. KOLTHOFF
Progress in Polarography,Interscience,New York,(1962),Vol.I et II.

14. G. CHARLOT, J. BADOZ-LAMBLING et B. TREMILLON
Les Réactions Electrochimiques, Méthodes Electrochimiques d'Analyse,
Masson, Paris, (1959).
15. L. MEITES
Polarographic Techniques, Interscience, New York, 2^e éd., (1965).
16. T. KAMBARA
Modern Aspects of Polarography, Plenum Press, New York, (1966).
17. P. POINTEAU et J. BONASTRE
Elements de Polarographie, Masson, Paris, (1970).
18. E. SCARANO, M. FORINA, M.G. BONICELLI, M. MIOSCU
J. Electroanal. Chem., 21, 279-294 (1969).
19. M.P. LEVEQUE
J. Chim. Phys., 46, 480-484, (1949).
20. L. AIREL et A.A. SMALES
Analyst., 75, 287-304, (1950).
21. O.H. MULLER
Chem. Eng. News, 27, 847, (1949).
22. D.A. BERMAN, P.R. SAUNDERS et R.J. WINZLER
Anal. Chem., 23, 1040-1041, (1951).
23. I.M. KOLTHOFF, Y. OKINAKA et T. FUJINAGA
Anal. Chim. Acta, 18, 295, (1958).
24. J. SMOLER
J. Electroanal. Chem., 6, 465-479, (1963).
25. L. HOLLECK, M. HEYROVSKY et S. VAVRIČKA
J. Electroanal. Chem., 17, 293-297, (1968).
26. D. WOLF
Z. Angew. Chem., 72, 449-454, (1960).
27. M. von STACKELBERG, D. WOLF et H. SCHMIDT
dans Modern Aspects of Polarography, éd. T. KAMBARA, Plenum Press,
New York, (1966), p. 41-49.

28. M. von STACKELBERG, D. WOLF et H. SCHMIDT
Rev. Polarog. (Kyoto), 11(1-2), 41, (1963).
29. D. WOLF
J. Electroanal. Chem., 5, 186-194, (1963).
30. H. SCHMIDT et R. von SCHORLEMER
J. Electroanal. Chem., 5, 345-349, (1963).
31. J. SIMAO, D. WOLF et M. von STACKELBERG
J. Electroanal. Chem., 20, 365-374, (1969).
32. S.G. MAIRANOVSKII
Katalitic and Kinetic Waves in Polarography, éd. ZUMAN, Plenum
Press, New York, (1968), p.3-4.
33. C. MAIRANOVSKII et M. NEIMAN
Izv. Akad. Nauk. SSSR, Otd. Khim. Nauk, n°3, 420-424, (1955).
34. I.M. KOLTHOFF et J.J. LINGANE
Polarography, Interscience, New York, (1952), 2e éd. Vol. I, p.52.
35. C. CARRUTHERS et J. TECH
Arch. Biochem. Biophys., 56, 441-447 (1955).
36. V. MORET
Giorn. Biochim., 4, 192-205 (1955).
37. F.L. RODKEY
J. Biol. Chem., 213, 777-786 (1955).
38. V. MORET
Giorn. Biochim., 5, 318-327 (1956).
39. B. KE
Biochim. Biophys. Acta, 20, 547-552 (1956).
40. J. NAKAYA
Nippon Kagaku Zasshi, 81, 1459-1465 (1960).
41. J. BERGMAN
dans Proceedings IIIrd Intern. Congress of Polarography, (1964),
éd. G.J. HILLS (1966), Vol. II, p.985-991.
42. J.M. BURNETT et A.L. UNDERWOOD
Biochem., 4, (10), 2060-2064 (1965).

43. V.P. SKULACHEV et L.I. DENISOVITCH
Biokhimiya, 31, (1), 132-136 (1966).
44. A.J. CUNNINGHAM et A.L. UNDERWOOD
Biochem., 6, (1), 266-271 (1967).
45. R.F. POWNING et C.C. KRATZING
Arch. Biochem. Biophys., 66, 249-251 (1951).
46. T. KONO et S. NAKAMURA
Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 22, (6), 399-403 (1958).
47. F.L. RODKEY et J.A. DONOVAN
J. Biol. Chem., 234, 677-680 (1959).
48. B. JANIK et P.J. ELVING
Chem. Rev., 68, (3), 295-319 (1968).
49. I. YAMAZAKI, K. YOKOTA et R. NAKAJIMA
Biochem. Biophys. Res. Comm., 21, (6), 582-586 (1965).
50. A.J. CUNNINGHAM
Diss. Abstr., 27 B, 2265 (1967).
51. A.J. CUNNINGHAM et A.L. UNDERWOOD
Arch. Biochem. Biophys., 117, 88-92 (1966).
52. J.N. BURNETT et A.L. UNDERWOOD
J. Org. Chem., 30, 1154-1158 (1965).
53. P. KARRER et F. BLUMER
Helv. Chim. Acta, 30, 1157 (1947).
54. P. KARRER, G. SCHWARZENBACH, F. BENZ et U. SOLMSEN
Helv. Chim. Acta, 19, 811-828 (1936).
55. W. CIUSA, P.M. STROCCHI et G. ADAMO
Gazz. Chim. Ital., 80, 604-608 (1950).
56. S.J. LEACH, J.H. BAXENDALE et M.G. EVANS
Australian J. Chem., 6, 395-408 (1953).
57. J.N. BURNETT
Diss. Abstr., 26, (4), 1888 (1965).
58. B. KE
Arch. Biochem. Biophys., 60, 505-506 (1956).
59. A.N. KOTELNIKOVA et V.V. SOLOMATINA
Biokhimija, 30, (4), 816-824 (1965).

60. P.A. LOACH
dans Handbook of Biochemistry, The Chemical Rubber Co., Cleveland,
Ohio (1968), p.J.27-J.34.
61. J. KUTA et J. DRABEK
Chem.Listy,49,23 (1955),
62. J. VOLKE
dans Physical Methods in Heterocyclic Chemistry, éd. A.R. KATRITZKY,
Academic Press, Londres (1963),Vol.I, p.296-297.
63. J. VOLKE
Talanta,12,1081-1103 (1965).
64. R. KALVODA
Chem.Zvesti,18,347 (1964).
65. C. PARKANYI et R. ZAHRADNIK
Bull.Soc.Chim.belges,73,57 (1964).
66. R. KALVODA
Chem. Zvesti,18,347-354 (1964).
67. K. WENIG et M. KOPECKÝ
Chem.Zentr. ,34 (1944).
68. Y. OKAZAKI, J. OTSUKI, K. MIYASAKA et J. NABIKAWA
Japan Analyst,17,1228-1233 (1968).
69. R. POINTEAU et J. BONASTRE
Elements de Polarographie, Masson, Paris (1970)p.316.
70. F. ŠORM
Coll. Czechoslov. Chem. Commun., 13, 57-73 (1948).
71. K. WALLENFELS et M. GELLRICH
Berichte,92,1406-1415 (1959).
72. Y. PAISS et G. STEIN
J. Chem.Soc.,1958,2905-2909 (1958).
73. G. STEIN et G. STIASSNY
Nature, 176,(4485),734-735 (1955).
74. A.J. SWALLOW
Biochem.J., 60,443-447 (1955).
75. M.B. YARMOLINSKY et S.P. COLOWICK
Biochim.Biophys.Acta, 20,177-189 (1956).

76. J.J. LINGANE et O.L. DAVIS
J.Biol.Chem., 137, 567-574 (1941).
77. P.C. TOMPKINS et C.L.A. SCHMIDT
Univ.Calif.(Berkeley), Publ.Physiol., 8, 237-245 (1943).
78. F. ŠORM et Z. ŠORMOVA
Chem.Listy, 42, 82-87 (1948).
79. A.M. WILSON et D.G. EPPLE
Biochem., 5, 3170-3175 (1966).
80. Handbook of Chemistry and Physics
The Chemical Rubber Co, Cleveland, Ohio, (1967-1968) p. D.87 à D.91.
81. W.P. JENCKS et J. REGENSTEIN
Handbook of Biochemistry, The Chemical Rubber Co, Cleveland, Ohio,
(1958) p. J.150-189.
82. A. ALBERT
dans Physical Methods in Heterocyclic Chemistry, éd. A.R. KATRITZKY,
Academic Press, Londres (1963), Vol.I, p.1-108.
83. D.D. PERRIN
Dissociation constants of organic bases in aqueous solution,
Butterworths, London (1965).
84. R.W. BURNETT et A.L. UNDERWOOD
Biochem., 7, 3328-3333 (1968).
85. E.J. LAND et A.J. SWALLOW
Biochim.Biophys.Acta, 162, 327-337 (1968).
86. R.F. POWNING et C.C. KRATZING
Arch.Biochem.Biophys., 66, 249-251 (1951).
87. B. KE
J.Am.Chem.Soc., 78, 3649-3651 (1956).
88. R.G. HAAS
Diss.Abstr., 31, (4), 1777B (1970).
89. W.J. BLAEDEL et R.G. HAAS
Anal.Chem., 42, (8), 918-927 (1970).
90. E.S. GUZMAN BARRON
Physiological Rev., 19, 184-239 (1939).

91. J. POLONOVSKI
dans Traité de Biochimie générale, Masson, Paris (1964), Tome II,
fasc.2, p.566-678.
92. T. BRUICE et S.J. BENKOVIC
Biorganic Mechanisms, W.A. Benjamin, Inc., New York, Amsterdam (1966),
Vol.II, p.301-349.
93. H. SUND
dans Biological Oxidations, éd.T.P. SINGER, Interscience, New York,
London (1968) p. 603 à 639.
94. D. THÉVENOT et G. HAMMOUYA
Electrochemical properties of model compounds of NAD in aqueous solutions.
Symposium on biological aspects of electrochemistry, Rome (1971)
A paraître dans *Experientia*.
95. S.G.A. ALIVISATOS, F. UNGAR et G.J. ABRAHAM
Biochem., 4, (12), 2616-2630 (1966).
96. L. MEITES
Polarographic Techniques, Interscience, New York, 2^e éd. (1965)
p. 288-289.
97. G. CHARLOT et R. GAUGUIN
Les méthodes d'analyse des réactions en solution,
Masson, Paris (1951), p.124.
98. G. CHARLOT, J. BADOZ-LAMBLING et B. TREMILLON
Les réactions électrochimiques, Masson, Paris (1959), p.116.
99. I.M. KOLTHOFF et J.J. LINGANE
Polarography, Interscience, New York (1952), Vol.I, p.202.
100. L. MEITES
Polarographic techniques, Interscience, New York (1965), p.228-229.
101. S.G. MAIRANOVSKII
Catalytic and Kinetic waves in polarography, éd. P. ZUMAN, Plenum
Press, New York (1968), p.216.

102. I.M. KOLTHOFF et J.J. LINGANE
Polarography, Interscience, New York, 2^e éd. (1952), Vol.I, p.90-93.
103. P. ZUMAN
dans Progress in Polarography, éd. P. ZUMAN et I.M. KOLTHOFF,
Interscience, New York (1962), Vol.II, p.583-600.
104. L. MEITES
Polarographic Techniques, Interscience, New York, 2^e éd. (1965), p.138-140
105. S.G. MAIRANOVSKII
Catalytic and Kinetic waves in Polarography, éd. P. ZUMAN, Plenum
Press, New York (1968), p.12 et p.85-93.
106. S.G. MAIRANOVSKII
Dokl.Akad.Nauk SSSR, 110, 593-596 (1956).
107. J.M. SAVÉANT et E. VIANELLO
C.R.Acad.Sci., 256, 2597-2600 (1963).
108. W. KEMULA, Z. GRABOWSKI et M. KALINOWSKI
Naturwiss., 47, 514 (1960).
109. S.G. MAIRANOVSKII et V.N. PAVLOV
Zh.Fiz.Khim., 38, 1804-1810 (1964).
110. J. VOLKE, M. NAAROVA et V. VOLKOVA
21st C.I.T.C.E. Meeting, Prague (1970).
111. C.P. ANDRIEUX et J.M. SAVÉANT
J. Electroanal.Chem., 26, 223-235 (1970).
112. J. KOUTECKY et V. HANUS
Coll.Czech.Chem.Comm., 20, 124-137 (1955).
113. S.G. MAIRANOVSKII
Catalytic and Kinetic waves in polarography, Ed.P.ZUMAN,
Plenum Press, New York (1968), p.227-239.
114. M.L. OLMSTEAD, R.G. HAMILTON et R.S. NICHOLSON
Anal.Chem., 41, (2), 260-267 (1969).
115. M.L. OLMSTEAD et R.S. NICHOLSON
Anal.Chem., 41, (6), 851-852 (1969).
116. C.P. ANDRIEUX, L. NADJO et J.M. SAVÉANT
J.Electroanal.Chem., 26, 147-186 (1970).

117. C.P. ANDRIEUX
Thèse, Paris (1971).
118. L. NADJO
Thèse, Paris (1971).
119. R.N. ADAMS
Electrochemistry at solid electrodes, M. Dekker, New York (1969)
p. 126.
120. V.P. SKULACHEV
Nature, 198, 444-446, (1963).
121. V.P. SKULACHEV
Angewandte Chemie, 77(2), 103, (1965).
122. J.A. BARLTROP, P.W. GRUBB et B. HESP
Nature, 199, 759-761, (1963).
123. J. DUCHESNE, P. MACHMER et M. READ
C.R.Acad.Sci., 260, 2081-3, (1965).
124. P. MACHMER et J. DUCHESNE
Nature, 206, 618, (1965).
125. M.J. MANTIONE et B. PULLMAN
C.R.Acad.Sci., D. 262(13), 1492-1494, (1966).
126. B. PULLMAN et A. PULLMAN
Quantum biochemistry, Interscience Publ., New York, (1969), p. 135-138.
127. B. PULLMAN et A. PULLMAN
Quantum biochemistry, Interscience Publ., New York, (1969), p. 205-209.
128. P.J. ELVING, W.A. STRUCK et D.L. SMITH
Mises au point de Chimie Anal.Organ., Pharmac.et Bromatolog.,
14, 141-179, (1965).
129. L.F. CAVALIERI et B.A. LOWY
Arch.Biochem.Biophys., 35, 83-92, (1952).
130. D.L. SMITH et P.J. ELVING
Anal.Chem., 34, 930-936, (1962)

131. D.L. SMITH et P.J. ELVING
J.Am.Chem.Soc., 84, 2741-2747, (1962).
132. J.E. O'REILLY et P.J. ELVING
J.Electroanal.Chem., 21, 169-179, (1969).
133. G. DRYHURST et P.J. ELVING
Talanta, 16, 855-874, (1969).
134. J.E. O'REILLY et P.J. ELVING
J.Am.Chem.Soc., 93, 1871-1879, (1971).
135. P.J. ELVING et S.J. PACE
Proceedings of the "Symposium on the biological aspects of electrochemistry", Rome, (1971). A paraître dans *Experientia*.
136. D.L. SMITH et P.J. ELVING
J.Am.Chem.Soc., 84, 1412-1420, (1962).
137. V. VETTERL
Abhandl.Deut.Akad.Wiss.Berlin, Kl.Med., 493-500, (1966).
138. P.J. ELVING
Communication privée, (1968).
139. B. JANIK et P.J. ELVING
J.Electrochem.Soc., 116(8), 1087-1097, (1969).
140. E. PALEČEK et B. JANIK
Chem.Zvesti, 16, 406-409, (1962).
141. J.C. HEATH
Nature, 158, 23, (1946).
142. D. HAMER, D.M. WALDRON et D.L. WOODHOUSE
Arch.Biochem.Biophys., 47, 272-281, (1953).
143. N.G. LUTHY et B. LAMB
J.Pharm. and Pharmacol., 8, 410-416, (1956).
144. E. PALAČEK
Naturwiss., 45, 186-187, (1958).
145. F.A. MCGINN et G.B. BROWN
J.Am.Chem.Soc., 82, 3193-3195, (1960).

146. P.J. ELVING et D.L. SMITH
Anal.Chem., 32, 1849-1854, (1960).
147. K. UEHARA, T. MIZOGUCHI et S. HOSOMI
J.Biochem.(Tokyo), 59(6), 550-560, (1966).
148. G. DRYHURST et P.J. ELVING
J.Electrochem.Soc., 115(10), 1014-1020, (1968).
149. B. JANIK et P.J. ELVING
J.Am.Chem.Soc., 92(2), 235-243, (1970).
150. E. PALEČEK
Progr.Nucleic Acid Res., 9, 31-73, (1969).
151. C.R. WARNER et P.J. ELVING
Coll.Czech.Chem.Comm., 30(12), 4210-4218, (1965).
152. V. VETTERL
J.Electroanal.Chem., 19, 169-173, (1968).
153. J.B. MACON et R. WOLFENDEN
Biochemistry, 7(10), 3453-3458, (1968).
154. S. FRIEDMAN et J.S. GOTS
Arch.Biochem.Biophys., 39, 254-260, (1952).
155. E. KNOBLOCH
Coll.Czech.Chem.Comm., 12, 581-593, (1947).
156. H. RABER
Sci.Pharm., 34(3), 202-208, (1966).
157. J. PECH
Coll.Czech.Chem.Comm., 6, 126-186, (1934).
158. T.J.DELIA et G.B. BROWN
J.Org.Chem., 31(1), 178-181, (1966).
159. W.A. STRUCK et P.J. ELVING
Biochem., 4(7), 1343-1353, (1965).
160. R. SHAPIRO et S.C. AGARWAL
Biochem.Biophys.Res.Comm., 24(3), 401-405, (1966).

161. B. JANIK et E. PALEČEK
Z.Naturforsch., 21 B(12), 1118-1119, (1966).
162. V. VETTERL
Coll.Czech.Chem.Comm., 34, 673-677, (1969).
163. K. SUGINO, K. SHIRAI, T. SEKINE et K. ODO
J.Electrochem.Soc., 104(11), 667-672, (1957).
164. Y. ASAHI
Yahugaku Zasshi, 80, 1222-1230, (1960).
165. D. COHEN, M. KOENIGSBUCH et M. SPRECHER
Israel J.Chem., 6, 615-630, (1968).
166. E. PALEČEK et B. JANIK
Arch.Biochem.Biophys., 98, 527-528, (1962).
167. B. JANIK et E. PALEČEK
Abhandl.Deut.Akad.Wiss.Berlin, Kl.Med., 513-518, (1966).
168. J. HOLIAN et W.M. GARRISON
Nature, 212(5060), 394-395, (1966).
169. O. MANOUŠEK et P. ZUMAN
Coll.Czech.Chem.Comm., 20, 1340-1342, (1955).
170. W.A. STRUCK et P.J. ELVING
J.Am.Chem.Soc., 86, 1229-1235, (1964).
171. G. DRYHURST et G.F. PACE
J.Electrochem.Soc., 117(10), 1259-1264, (1970).
172. G. DRYHURST
J.Electrochem.Soc., 116(10), 1411-1412, (1969).
173. S. KWEE et H. LUND
Proceedings of the "Symposium of the biological aspects of electrochemistry", Rome, (1971).
A paraître dans *Experientia*.
174. H. SOHR, K.H. LOHS et G. KÖNIG
J.Electroanal.Chem., 27(3), 421-430, (1970).
175. V. VETTERL
J. Electroanal.Chem., 19, 169-173, (1968)

176. V. VETTERL
Collect.Czech.Chem.Comm., 34, 673-677, (1969).
177. D. THÉVENOT, G. HAMMOUYA et R. BUVET
C.R.Acad.Sci.Paris, 268, 1488-1491, (1969).
178. D. THÉVENOT, G. HAMMOUYA et R. BUVET
J.Chim.Phys., 66(11-12), 1903-1912, (1969).
179. D. THÉVENOT
Journées d'Electrochimie Organique, Thiais, (1969).
180. D. THÉVENOT
Third Intern.Biophysic Congress, Boston, Mass., (1969).
181. D. THÉVENOT et G. HAMMOUYA
Electrochemical properties of model compounds of nucleic hetero-
cycles in aqueous solutions. Proceedings of the "Symposium on
Biological aspects of Electrochemistry", Rome, (1971).
A paraître dans *Experientia*.
182. I.M. KOLTHOFF et J.J. LINGANE
Polarography, Interscience, New York, 2^e ed., (1952), vol. I, p.75.
183. R. BRDIČKA et E. KNOBLOCH
Z.Electrochem., 47, 721, (1941).
184. R. BRDIČKA
Z.Electrochem., 48, 278, (1942).
185. R. BRDIČKA
Coll.Czech.Chem.Comm., 12, 522, (1947).
186. R. BUVET, P. DUPUIS, J. NEEL et J. PERICHON
Bull.Soc.Chim., 1969, 3991, (1969).
187. R.G. BATES
dans Handbook of Biochemistry, The Chemical Rubber Co. Cleveland, Ohio,
p.J.190 à J.199, (1968).
188. P.J. ELVING, J.M. MARKOWITZ et I. ROSENTHAL
Anal.Chem., 28, (7), 1179-1180, (1956).

189. A. LEFEVRE
Thèse pharmacie, Lille (1968).
190. S. SIBILLE, M. RIEUL et J. PERICHON
A paraître dans *Experientia*, (1971) .
191. E.C. SLATER.
IIIrd International Biophysics Congress, Boston, Mass., USA, (1969) .
192. L. ERNSTER
Colloque International sur les membranes biologiques, D.G.R.S.T.,
Pont-à-Mousson, France, (1969) .
193. R. N. ADAMS
Electrochemistry at solid electrodes , M. Dekker, New-York, (1969)
p 19 - 29.

