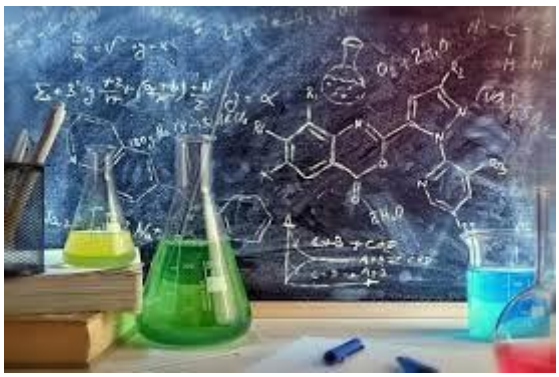
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Matière

Titre

Travaux pratiques : Synthèse des molécules bioactives

Destiné aux étudiants de

Licence: Chimie organique (L3.SM)



Présenté Par :
Dr FEKIH Nadia

Année Universitaire ***2024/2025***

PREFACE

La chimie est une science qui s'intéresse à la description de la matière et de ses transformations qu'elle analyse en termes moléculaires, mécaniques ou physiques. Depuis toujours, l'approche expérimentale et les techniques associées sont au cœur de cette discipline. Les Travaux Pratiques représentent une part très importante de la formation des étudiants. D'autre part, l'entraînement à la démarche expérimentale est un des objectifs essentiels de la discipline

Ce polycopié est le fruit d'une recherche minutieuse. Il s'adresse principalement aux étudiants de troisième année chimie Science de la matière de Semestre 3, système LMD.

Cet ouvrage est donc un support pour transposer et compléter à la paillasse des acquis théoriques, afin que la pratique expérimentale soit mieux comprise et donc mieux réalisée en toute sécurité.

Les TP proposés ont été inspirés de la littérature et sélectionnés dans le sens de rapprocher l'étudiant à la chimie pratique.

Ce fascicule se divise en deux parties, la première partie concerne la synthèse des molécules bioactive en trois TP, et la deuxième partie s'occupe sur la chimie des produits naturels en cinq TP, chaque TP commence par une introduction pour donner des nouvelles notions aux étudiants qui ne sont pas acquit aux cours de leur formation.

Table des matières

2ème partie : Synthése	pages
TP 0 : Initiation aux TP de chimie	**01**
I-Introduction	**01**
II- Objectifs des Travaux Pratiques :	**01**
III-Quelques recommandations	**01**
IV-Définitions et concepts généraux en chimie	**07**
TP 01 : Synthèse de l'arôme de banane	
I-Introduction	**10**
II-But de TP	**10**
III- Mode Opératoire	**10**
IV-Compte rendue	**11**
TP 02 : Synthèse de l'acétate de benzyle arome de jasmin	**12**
I-Introduction	**12**
II- But de TP	**12**
III-Mode Opératoire	**13**
IV- Questions	**13**
TP03 : Condensation ion Aldolique Préparation de la Benzylidenacetophenone (la Chalcone)	
I-Introduction	**16**
II- But de TP	**17**

III- Principe 17

IV- Mode opératoire 17

V- Questions 18

2ème partie : Chimie des produits naturels

TP 01 : Comparaison des différentes méthodes d'extraction

I-Introduction. 19

II-Quelques méthodes d'extraction 19

III-But de TP 20

IV- Mode opératoire 20

V-Questions 21

TP 02 : Screening phythochimique

I-But de TP 22

II-Mode opératoire 22

III-Questions 23

TP N°03 : Dosage des polyphénoles

I-Principe 24

II-Protocole : 24

III-Questions 25

TP 04 : Extraction de molécules volatiles par Hydrodistillation

I. Hydrodistillation 26

II. Protocole expérimental

1.Hydrodistillation

2. Extraction liquide –liquide 27

III -Questions 28

TP 05 : Extraction par soxhlet 29

I- Introduction 29

II-Mode opératoire 29

III-Questions 30

Références bibliographique 31

Liste des figures

	Pages
Figure 01 : Noms de quelques verreries	**05**
Figure 02 : Utilisation de propipette	**06**
Figure 03 : Montage à reflux	**12**
Figure 04 : Spectre infrarouge 1	**14**
Figure 05 : Spectre infrarouge 2	**14**
Figure 06 : Spectre infrarouge 3	**14**
Figure 07: Spectre de RMN du produit	**15**
Figure 08 : Condensation Aldolique	**16**
Figure 09 : Montage d'hydrodistilation	**26**
Figure 10 : Extracteur soxhlet	**29**

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Symboles utilisés sur les étiquettes des produits chimiques ainsi que les risques liés

1ère Partie : Synthèse

TP 0 : Initiation aux TP de chimie

I-Introduction

La réalisation des travaux pratiques de chimie particulièrement chimie organique dans un laboratoire entraîne la réalisation d'expériences et la manipulation de produits chimiques toxiques, inflammables, corrosifs, explosifs … etc nécessitent le respect de règles élémentaires de sécurité afin d'éviter des accidents pouvant avoir des conséquences immédiates ou à long terme.

II- Objectifs des Travaux Pratiques :

- Acquisition de connaissances pratiques, d'un savoir-faire expérimental et des habitudes manuelles permettant de manipuler de façon efficace et précise.
- Connaître le fonctionnement du petit matériel courant utilisé dans un laboratoire de chimie.
- Apprendre aux étudiants que la chimie fait partie de son environnement quotidien. Dans ce cadre, les expérimentations proposées sont simples, pratiques et permettent ainsi de compléter et de concrétiser les notions théoriques de cours.

III-Quelques recommandations

➢ Consignes de sécurité

La sécurité au laboratoire est un problème de tous les instants et ne doit pas quitter l'esprit. La plupart des composés organiques sont inflammables. Quelques-uns dégagent des vapeurs irritantes et toxiques et certaines réactions peuvent devenir violentes. D'une manière générale, il est indispensable de suivre les consignes suivantes :

1. Par mesure d'hygiène, il est interdit de manger dans le laboratoire.

2. Le port de la blouse 100% coton est obligatoire. La blouse doit être de longueur raisonnable et à manches longues.

3. Les étudiants doivent toujours manipuler debout. Aucun objet ne doit encombrer les paillasses.

4. Les tabourets ou les chaises doivent être rangés sous les paillasses afin de ne pas encombrer les allées.

5. Toute manipulation de produits chimiques présentant un risque doit être réalisée sous une hotte ventilée, avec vitres protectrices.

6. Le pipetage à la bouche est interdit. Utiliser les pros pipettes.

7. IL est interdit de regarder de près les récipients contenant des liquides en ébullition.

8. Ne pas respirer le contenu d'un récipient pour l'identifier à son odeur. Reboucher tout flacon immédiatement après usage.

9. Ne jamais prendre de produits solides avec les doigts, utiliser une spatule.

10. Utiliser des verreries résistantes aux hautes températures (verrerie Pyrex) lorsqu'il faut chauffer.

11. Éviter de faire subir des chocs thermiques à la verrerie (ne pas refroidir brutalement un récipient chaud).

12 .Les paillasses doivent être nettoyées au cours de la séance et laissées parfaitement propres et sèches en fin de séance.

13. Il est impératif de se laver soigneusement les mains après manipulation.

14. Il est recommandé de ne jamais jeter dans les éviers de laboratoires, les produits à risque : Verser les solutions dans les flacons de récupération prévus à cet effet. ¬ Produits dangereux et produits toxiques La grande majorité des substances, même celles "naturelles", peuvent être dangereuses suivant l'usage que l'on en fait. Dans un laboratoire, les risques qu'une substance peut engendrer sont signalés sur l'emballage du produit par un pictogramme de risque. La subdivision des produits chimiques en 5 classes de toxicité (de la plus forte, classe 1, à la plus faible, classe 5) n'est plus en vigueur. Les autres dangers que peut présenter une substance suivant qu'elle est explosible **(E)**, inflammable **(I)**, ou comburante **(O)** sont aussi représentés par des pictogrammes de risques.

Tableau 01 : Symboles utilisés sur les étiquettes des produits chimiques ainsi que les risques liés

Pictogrammes de danger	
Pictogramme	**Classe de dangers associés**
 SGH01	*Produits instables* Peuvent exploser au contact d'une flamme, d'une étincelle, d'électricité statique, sous l'effet de la chaleur, d'un choc, de frottements…
 SGH02	*Produits inflammables* Peuvent s'enflammer au contact d'une flamme, d'une étincelle, sous l'effet de la chaleur, de frottements, au contact de l'air, au contact de l'eau, s'il y a dégagement de gaz inflammables…
 SGH03	*Produits comburants* • Peuvent provoquer ou aggraver un incendie. • Peuvent provoquer une explosion en présence de produits inflammables.
 SGH04	*Gaz sous pression* • Peuvent exploser sous l'effet de la chaleur. • Peuvent engendrer des brûlures et blessures cryogéniques (liées au froid).
 SGH05	*Produits corrosifs* • Peuvent attaquer ou détruire les métaux. • Peuvent ronger la peau et/ou les yeux en cas de contact ou projection.
 SGH06	*Produits toxiques* • Peuvent empoisonner rapidement, même à faible dose. • Peuvent provoquer des effets très variés sur la santé (nausées, maux de tête, perte de connaissance, autres troubles entraînant la mort).

- **Les premiers soins aux victimes d'accident**

1. En cas de projection cutanée :
   - Rincer la peau longuement et abondamment à l'eau claire jusqu'à ce que le produit soit éliminé.
   - Attention, ne pas chercher à neutraliser les produits acides ou basiques.
2. En cas de projection oculaire :
   - Rincer immédiatement et abondamment à l'eau froide.
   - Consulter systématiquement un ophtalmologue.

- **Précautions élémentaires**

1. Verrerie :

La verrerie utilisée en laboratoire est en général résistante aux chocs thermiques et très pratiques lorsqu'il s'agit de faire la vaisselle!!! Elle comporte néanmoins quelques inconvénients qu'il s'agit de ne pas minimiser, tels que la fragilité aux chocs et une faible résistance à la pression. Elle peut provoquer des blessures par coupure. Suivre les consignes ci-dessous afin de prévenir tout incident:

- Examiner la verrerie avant utilisation; mettre de côté toute pièce ébréchée ou fendue;
- Chauffer les béchers, ballons, erlenmeyers sur bec Bunsen par l'intermédiaire d'un grillage qui répartit la chaleur;
- Chauffer les tubes à essai sur bec Bunsen en les "promenant" sur la flamme afin d'éviter toute projection due à une surchauffe locale;
- Si une pièce est bloquée (bouchon d'un flacon, rodage, pipette graduée, etc..), ne pas essayer de forcer; appeler le professeur ou l'assistant.

2. **Bec bunsen** :

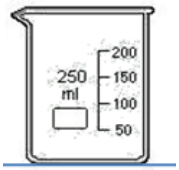
L'utilisation d'une flamme peut provoquer un incendie si des produits inflammables se trouvent à proximité, aucun bec Bunsen ne sera utilisé ans un laboratoire où l'on manipule des produits inflammables. Si l'on doit chauffer un produit inflammable, il faut utiliser une plaque électrique. Un bec Bunsen doit être éteint après usage en fermant l'arrivée de gaz sur le robinet du réseau.



flacon



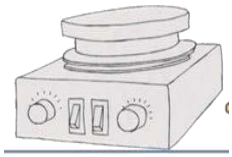
entonnoir



bécher



pissette



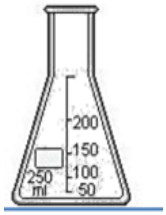
agitateur



balance



tube à essai+support



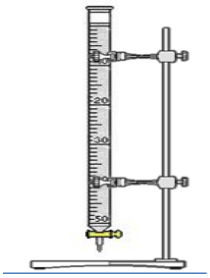
erlenmeyer



fiole jaugée



éprouvette graduée



burette + support



pipette graduée



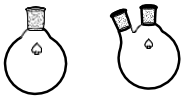
pipette jaugée



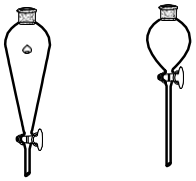
verre de montre



poire



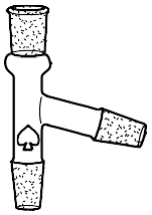
ballons



Ampoules à decanter



Fiole à vide



Tête de distillation



Soxhlet

Figure 01 : Noms de quelques verreries

Utilisation de propipette

Le pipetage à la bouche est strictement interdit en raison du risque d'avaler un solvant toxique ou corrosif. On utilise donc une propipette qui se place à l'extrémité de la pipette:

- Vider la poire en pressant sur la valve "A".
- Enfoncer légèrement l'embout de la pipette dans la propipette.
- Immerger la pipette dans la solution et aspirer le liquide en appuyant sur la valve "S". Vider le liquide dans le bécher en appuyant sur la vanne "E".

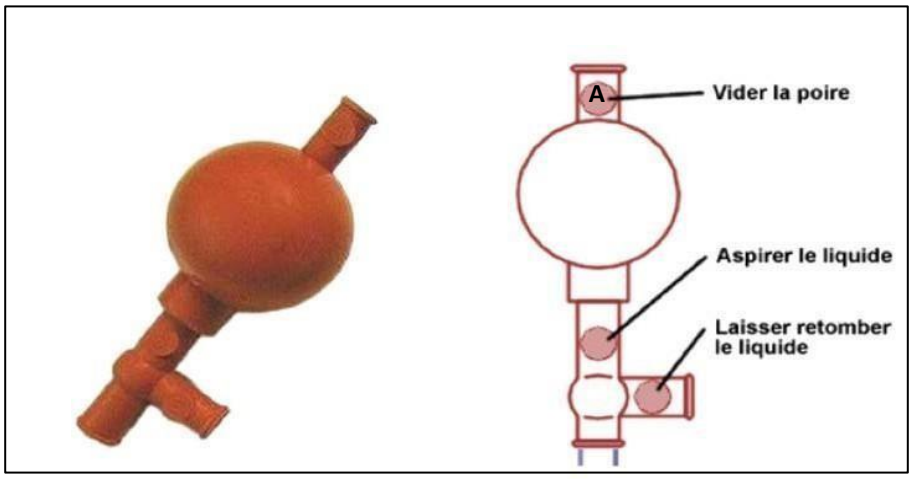
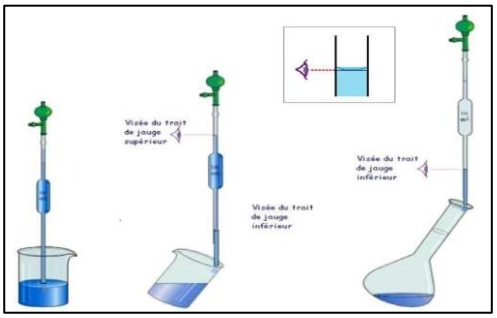


Figure 02 : Utilisation de propipette

- Afin que le liquide ne se déverse pas trop rapidement, faire un angle de 45° entre le bécher et la pipette en plaçant la pointe de celle-ci contre la paroi du bécher tout en la gardant bien verticale.
- La lecture au trait doit s'effectuer à hauteur des yeux.
- Veiller à ne pas introduire de liquide à l'intérieur de la poire.



- **Elimination des déchets :**

D'abord il apprendre aux étudiants de protéger leurs environnement - L'élimination des produits chimiques doit être soigneusement planifiée. En général, de petites quantités de substances solubles dans l'eau et peu toxiques peuvent être éliminées par l'égout de l'évier, en faisant circuler l'eau. Pour recueillir les autres types de déchets chimiques, on doit disposer de récipients résistants, en plastique ou en métal, pour les entreposer avant de les éliminer. - Il est souvent possible de rendre inoffensif un produit chimique toxique par un traitement approprié et de pouvoir ainsi l'éliminer par l'égout de l'évier.

Exemples:

1. Une solution de pH compris entre 0 et 6 doit être basifiée par une solution de soude.

2. Une solution de pH compris entre 8 et 14 doit être acidifiée par de l'acide chlorhydrique.

3. Une solution de dibromure est détruite par une solution de soude ou de thiosulfate de sodium.

4. Eliminer les copeaux de magnésium restant par ajout d'une solution légèrement acide.

IV-Définitions et concepts généraux en chimie

1. Solvant :

Un solvant est un liquide qui a la propriété de dissoudre et de diluer d'autres substances sans les modifier chimiquement et sans lui-même se modifier. Ils permettent de dissoudre les réactifs et d'amener les réactifs en contact, sans réagir chimiquement avec eux (on dit qu'ils sont inertes). Le terme solvant organique se réfère aux solvants qui sont des composés organiques qui contiennent des atomes de carbone. Habituellement les solvants s'évaporent facilement. Ils ont souvent une odeur caractéristique (ne pas le sentir !!) et sont souvent des liquides transparents. Les solvants peuvent aussi être utilisés pour extraire les composés solubles d'un mélange, l'exemple le plus connu étant l'infusion de thé dans l'eau chaude. Pour les solutions liquides (phase uniforme liquide contenant plusieurs espèces chimiques), si l'une des espèces est largement majoritaire (au moins un facteur 100), on l'appelle solvant. C'est le cas de l'eau pour les solutions aqueuses.

2. **Soluté** : Substance dissoute dans un solvant

3. **Réactif** :

Lors d'une réaction chimique, un réactif est une espèce chimique présente dans le système réactionnel qui tend à diminuer au cours du temps : les réactifs sont consommés, les atomes se réarrangent pour former de nouvelles molécules : les produits de cette réaction.

4. **Masse moléculaire**

La masse moléculaire est le rapport entre la masse d'une molécule et l'unité de masse des atomes (uma, équivalente à 1/12 de la masse d'un atome de carbone 12). La masse molaire est équivalente à autant de g qu'il y a d'unités dans la masse moléculaire.

5. **Masse molaire :**

La masse molaire est la masse d'une mole d'un composé chimique exprimée en grammes par mole (g.mol-1 ou g/mol).

$n = m / M$

n : nombre de moles (mol) m : masse (g) M : masse molaire (g/mol)

Attention : toujours noter les unités des éléments d'une formule ! Vérifier l'homogénéité de la formule (c'est à dire le fait que les unités correspondent bien). Vérifier l'homogénéité peut également être une méthode pour retrouver la formule en cas d'oubli.

Le calcul de la masse molaire d'un produit chimique peut être effectué par lecture du tableau périodique (cette donnée est également fournie sur les pots et flacons, ainsi que sur les fiches toxicologiques des produits).

6. **Masse volumique** :

Pour toute substance homogène, le rapport de la masse m correspondant à un volume V de cette substance est indépendante de la quantité choisie : c'est une caractéristique du matériau appelée **masse volumique: $\rho = m/V$**

7. **Densité** :

La densité est un nombre sans dimension, égal au rapport d'une masse d'une substance homogène à la masse du même volume d'eau pure à la température de 3,98 °C. Par définition, la densité de l'eau pure à 3,98 °C est égale à 1 ; la valeur de la densité permet de déterminer la flottabilité d'un matériau dans de l'eau pure : si cette valeur est inférieure à 1 (celle de l'eau), un bloc de matériaux flottera (puisqu'à volume égal, il subira immergé dans l'eau une poussée supérieure à son propre poids). La définition de la densité permet sa mesure en laboratoire. Elle peut aussi se calculer en divisant la masse volumique de la substance par 1000 kg/m3, masse volumique de l'eau pure à 3,98 °C.

8. **Concentration massique** :

La concentration massique d'une solution est la masse de soluté que l'on a dissous pour obtenir un litre de solution.

9. **Concentration molaire** :

La concentration molaire d'une solution est la quantité de matière (= nombre de moles) de soluté que l'on a dissous pour obtenir un litre de solution.

pH :

En chimie, le pH mesure l'activité de protons (H+) solvatés. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

TP 01 : Synthèse de l'arôme de banane

I-Introduction

On appelle « arôme » le principe odorant d'un aliment ou d'une boisson perçu lors de son absorption. Les arômes naturels sont souvent des mélanges très complexes, renfermant quelquefois plus d'une centaine d'espèces chimiques. L'acétate d'isoamyle est un exemple d'arôme. C'est une molécule naturelle, mais qui peut également être synthétisée au laboratoire. Un arôme de synthèse est souvent constitué d'une seule espèce chimique : il est moins riche en odeur et en saveur que l'arôme naturel.

II-But de TP

Nous allons préparer l'acétate de 3-méthylbutyle (ou acétate d'isoamyle ou encore éthanoate d'isoamyle!), espèce chimique principale de l'essence artificielle de banane.

Cet ester est utilisé dans la fabrication de peintures, ou pour aromatiser certains médicaments mais surtout des denrées alimentaires (bonbons, yaourts, boissons.....).

III- Mode Opératoire

1. Première étape : Estérification

Dans le ballon bien sec, introduire avec précaution et sous la hotte : 3,5 mL d'acide éthanoïque ; 3,5 mL d'alcool isoamylique ; quelques gouttes d'acide sulfurique concentré et quelques grains de pierre ponce

• Réaliser le montage du chauffage à reflux, faire vérifier le montage par le professeur avant de chauffer.

• Maintenir une ébullition douce pendant 35 min (thermostat à mi-échelle).

• Commencer à répondre aux questions pendant le temps de chauffage

2. Deuxième étape : Refroidissement

Arrêter le chauffage, abaisser le chauffe-ballon (vérifier le maintien du ballon au réfrigérant!) afin de laisser refroidir à température ambiante.

3. Troisième étape : isolement (rinçage puis séparation)

• Verser dans le ballon environ 30 mL de solution d'hydrogénocarbonatedesodium à10%. Ajouter la solution de carbonate de sodium par petites portions, du fait du dégagement gazeux.
• Verser le contenu du ballon à l'aide d'un entonnoir dans l'ampoule à décanter (dont le robinet est fermé!), en veillant à bien laisser les grains de pierre ponce dans le ballon.

• Rincer l'intérieur du ballon avec un peu d'eau distillée puis verser dans l'ampoule à décanter.
• Verser dans l'ampoule environ 50 mL d'eau salée.

• Agiter, dégazer puis laisser reposer. Séparer avec soin les deux phases liquides afin d'éliminer la phase aqueuse. Récupérer la phase organique dans un erlenmeyer bien sec préalablement taré. Observer l'aspect de la phase recueillie. Déterminer la masse du liquide ainsi recueilli, considéré comme le produit brut, notée mexp, à indiquer sur votre compte-rendu.

4. Étapes ultérieures

On pourrait améliorer la qualité du produit obtenu en procédant d'une part à un séchage de la phase organique en ajoutant du sulfate de sodium anhydre suivi d'une filtration. D'autre part on pourrait purifier l'ester en procédant à une distillation.

IV-Compte rendue

1. Quel est le rôle de la solution d'hydrogénocarbonate de sodium? Quelle est la nature du gaz qui se dégage?
2. À l'aide du tableau des données physico-chimiques, calculer les masses et les quantités de matière de chacun des réactifs.
3. Quel réactif a-t-on choisi de mettre en excès? Justifier ce choix.
4. Quelle est la masse théorique maximale d'ester que l'on peut obtenir? Interpréter l'écart entre cette masse et la masse de produit brut obtenue expérimentalement.
5. Le rendement η d'une synthèse est défini comme le rapport de la masse expérimentale de produit obtenu par la masse maximale théorique (si les conditions de la synthèse étaient optimales). Donner l'expression du rendement puis calculer sa valeur exprimée en pourcentage.
6. Quelles sont les impuretés éventuelles dans le produit brut recueilli?
7. Expliquer comment l'étape de distillation (non réalisée) permet de purifier l'ester. À quelle température doit-on recueillir l'ester?

TP 02 : Synthèse de l'acétate de benzyle arome de jasmin

I-Introduction

Le jasmin présente des fleurs à molécules odorantes mais très fragiles, d'où le coût élevé. La synthèse du jasmonate de méthyle présent dans l'essence de jasmin (1962), puis d'un dérivé, l'hédione au parfum doux « fleuri-jasmin » donne aux compositions de parfums un remarquable effet d'amplification. C'est Dior qui le premier dans son parfum « Eau Sauvage » (1966) a utilisé ce parfum synthétisé, puis Chanel dans « N° 19 de Chanel » (1970), Cacharel dans « Anaïs Anaïs » (1979) suivis ensuite de nombreuses copies.

II- But de TP

L'objectif de ce TP est de réaliser la synthèse et l'analyse de l'acétate de benzyle. Deux aspects sont essentiels dans une synthèse organique : la pureté du produit et le rendement de la réaction. Nous nous intéresserons tout particulièrement à la question du rendement.

III-Mode Opératoire

- Dans un ballon de 100 mL, verser 5 mL d'alcool benzylique, 10 mL d'acide éthanoïque pur et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré.

- Porter le mélange à reflux pendant 30 minutes sous agitation magnétique (schéma ci-contre).
- Laisser refroidir le mélange réactionnel d'abord à l'air ambiant puis en plongeant le ballon dans de l'eau froide.

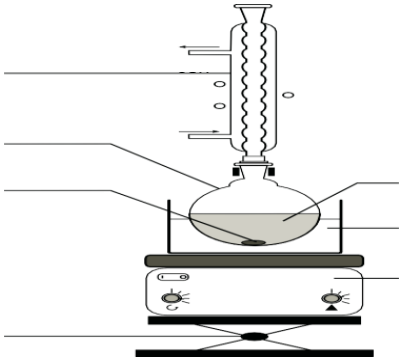


Figure 03 : Montage à reflux

- **Extraction :**

On souhaite extraire le produit d'intérêt du mélange réactionnel obtenu.

Verser le contenu du mélange réactionnel dans l'ampoule à décanter, ajouter 50 mL d'eau salée et 20 mL d'éther diéthylique.

- Agiter l'ampoule à décanter en prenant soin de dégazer, puis éliminer la phase aqueuse. - Récupérer la phase organique dans un erlenmeyer et ajouter 50 mL d'une solution d'hydrogénocarbonate de sodium.

- Lorsque le dégagement gazeux s'atténue, verser le mélange dans l'ampoule à décanter et laver la phase organique.

- Séparer les deux phases et sécher la phase organique sur sulfate de magnésium anhydre (MgSO4).

- Filtrer sur coton ou papier filtre et évaporer le solvant.

- **Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM)**

Une fois le produit isolé et séché, une chromatographie sur couche mince est réalisée à fin de tester sa pureté. Dans une cuve à élution, verser l'éluant (mélange cyclohexane/éther diéthylique en proportions 1/1).

Préparer une plaque de chromatographie sur couche mince en y déposant les solutions suivantes:

- le brut de réaction en solution dans 1 mL d'éther diéthylique

- de l'alcool benzylique commercial en solution dans l'éther diéthylique

- de l'acétate de benzyle commercial en solution dans l'éther diéthylique.

Éluer la plaque puis la révéler en UV.

IV- Questions

1. Quel est le rôle de la première étape ? Quel est son nom ?
2. Justifier le dégagement gazeux observé lors de l'étape de lavage en écrivant une équation chimique.

3. Quels produits attend-on dans chacune des phases ? Schématiser l'ampoule à décanter en identifiant les deux phases et leur contenu.
4. Calculer le rendement de la réaction en considérant que le produit obtenu est pur. La réaction est-elle totale ?
5. On donne les spectres infrarouges (IR) des différents composés impliqués dans la réaction, ainsi que le spectre de résonance magnétique nucléaire (RMN) du produit obtenu, après purification.

5.1.Proposer une technique de purification qui pourrait être mise en œuvre.

5.2. Attribuer les bons spectres aux bons réactifs/produits, en justifiant.

5.3. À partir du spectre de RMN du produit, montrer que l'éthanoate de benzyle peut correspondre à ce spectre en associant les protons aux différents pics.

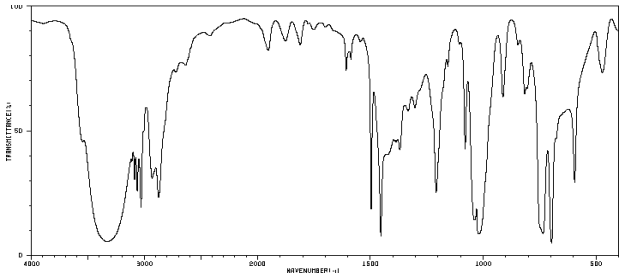


Figure 04 : Spectre infrarouge 1

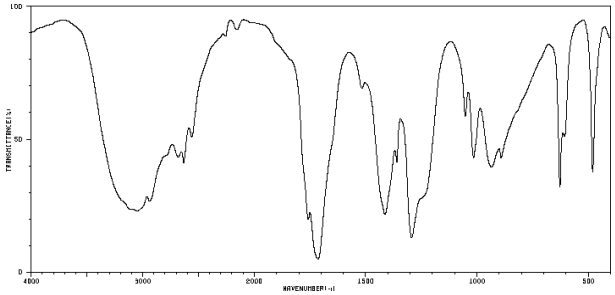


Figure 05 : Spectre infrarouge 2

Figure 06 : Spectre inf

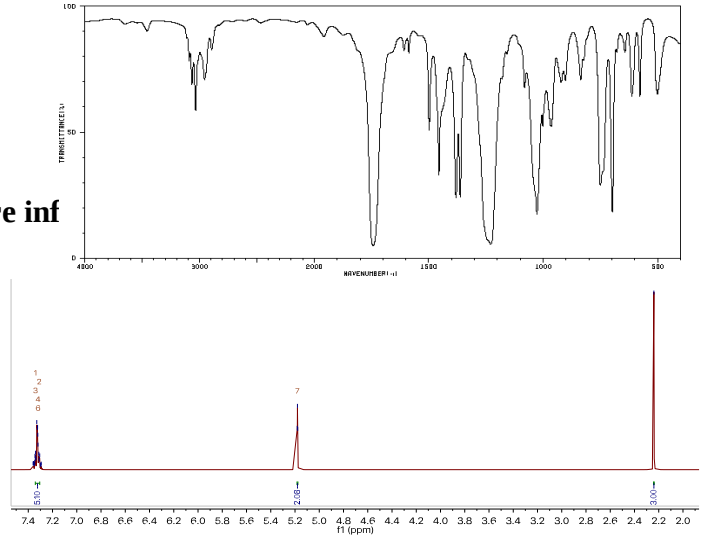


Figure 07 : Spectre de RMN du produit

TP03 : Condensation ion Aldolique
Préparation de la Benzylidenacetophenone
(la Chalcone)

I-Introduction

La chalcone est une énone aromatique, qui est le noyau d'une classe de composés chimiques au rôle important en biologie, les chalcones. Elle est constituée d'une molécule de prop-2-ènal ou acroléine liée à chaque extrémité à un groupe phényle. La chalcone existe donc sous la forme de deux stéréoisomères (Z et E) en fonction de la disposition des substituants autour de la double liaison centrale.

La chalcone est naturellement synthétisée par un grand nombre de plantes suivant la voie métabolique des phénylpropanoïdes. La phénylalanine est d'abord transformée en acide cinnamique, lui-même transformé en acide paracoumarique qui forme alors un thioester avec le coenzyme A, le 4-coumaroyl-CoA. Ce dernier réagit alors avec 3 molécules de malonyl-coenzyme A qui finissent par se cycliser et former un second groupe phényle, formant ainsi la chalcone.

En laboratoire, la chalcone peut être préparée par crotonisation (condensation aldolique) du benzaldéhyde avec l'acétophénone, réaction catalysée par une base, en général de la soude :

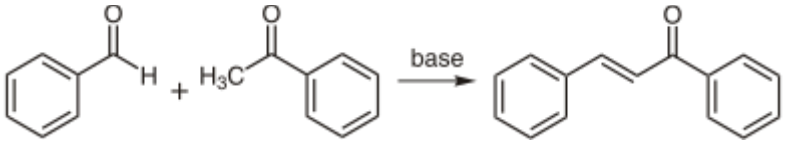


Figure 08 : Condensation Aldolique

Cette réaction s'est révélée marcher également sans solvant, c'est-à-dire une réaction en phase solide. Cette réaction entre un benzaldéhyde substitué et l'acétophénone a servi de modèle dans le cadre de la chimie verte. Cette réaction, dans ce cadre a aussi été effectuée, à partir des mêmes réactifs, dans l'eau à haute température (entre 200 et 350 °C).

II- But de TP

- Préparer la Chalcone, antimitotique utilisée dans le traitement des tumeurs, par réaction d'aldolisation mixte entre le benzaldéhyde et l'acétophénone (Phényléthanone) suivie d'une Crotonisation.
- Mettre en évidence le caractère acide des hydrogènes en α du groupement carbonyle.
- Mettre en évidence le caractère Nucléophile des énolates.

III- Principe :

La réaction de condensation aldolique est l'une des voies synthétiques la plus importante qui permet la formation de la liaison carbone-carbone. La première étape est une réaction acido-basique entre une base forte telle que l'ion hydroxyde et un hydrogène en alpha d'un groupe carbonyle (cétone ou aldéhyde). L'acidité relative de l'espèce organique est fonction de la stabilisation de la base conjuguée (énolate) formée. Dans la seconde étape, l'énolate attaque le groupe carbonyle (aldéhyde) d'une autre molécule. Le β-hydroxycarbonyle subit une déshydratation qui résulte de la perte de l'hydrogène acide en alpha, suivi de la perte de OH considéré ici comme un groupe partant (une singularité vraie en chimie organique) pour donner un enal ou enone.

IV- Mode opératoire :

Dans un ballon rodé de 250 ml muni d'une agitation, surmonté d'un réfrigérant à reflux, dissoudre 3 g d'hydroxyde de potassium dans 20 ml d'eau. Ajouter ensuite 15 ml d'éthanol absolu avec précaution (la réaction est exothermique). Ajouter en une seule fois 6,17 g d'acétophénone, puis ajouter goutte à goutte 5.14 g de benzaldéhyde pur (l'addition doit durer 15mn).

Agiter et porter au reflux pendant une heure. Refroidir ensuite le mélange réactionnel dans un bain de glace, tout en agitant. La Chalcone précipite (gratter les parois avec une baguette de verre si le produit reste huileux). Attendre pour obtenir un maximum de produit (au minimum une demi-heure). Le précipité est filtré et lavé avec de l'eau glacée jusqu'à pH neutre, puis avec 10 ml d'éthanol glacé. Filtrer les cristaux sur Büchner. Laisser sécher à l'air. La Chalcone est recristallisée dans 37 ml d'éthanol.

V- Questions :

1- Calculer la masse théorique de la Chalcone.
2- Calculer le rendement de votre synthèse.
3- Pourquoi obtient-on principalement le composé de configuration E.
4- Donner en nomenclature systématique le nom de la Chalcone
5- Pourquoi rince-t-on avec un peu d'éthanol glacé.
6- Pourquoi faut-il ajouter tout doucement le benzaldéhyde.
7- Quel produit parasite aurait-on pu obtenir par autocondensation ? Pourquoi ce produit n'est-il pas obtenu ?
8- Prédire le produit de la condensation aldolique de l'acétophenone.
9- Quelle est la différence entre la réaction de Cannizzaro et celle de l'aldolisation. Préciser le rôle de OH^- dans les deux réactions.
10- Déterminer le point de fusion du produit recristallisé.
11- Donner le mécanisme détaillé de la réaction mise en jeu

2ème Partie : Chimie des produits naturels

TP 01 : Comparaison des différentes méthodes d'extraction

I-Introduction

L'extraction est utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange initial, sur la base de propriétés chimiques ou physiques. L'homme utilise des colorants, des parfums, des arômes, et des extraits de produits naturels depuis la haute Antiquité, par différentes techniques.

II-Quelques méthodes d'extraction

- **Le pressage:**

Consiste à exercer une pression sur une orange pour obtenir le jus, ou à écraser des fleurs pour extraire les arômes.

- **L'enfleurage:**

Est une forme d'extraction utilisée en parfumerie. Il repose sur le pouvoir d'absorption d'une huile essentielle par les corps gras. Par exemple, les fleurs fragiles sont posées sur des cadres enduits de graisse animale très pure et inodore qui absorbe le parfum des fleurs au contact; en fin de séchage, les graisses sont imprégnées de substances odorantes.

- **La décoction:**

Cette méthode est très ancienne. Elle consiste à chauffer la racine ou l'écorce d'une plante avec de l'eau; jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante et les constituants se dissolvent.

- **L'infusion:**

Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur des plantes (les feuilles ou les fleurs) finement broyées puis les laisser tremper pour dissoudre leurs principes actifs.

- **La macération:**

Consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide.

- **L'extraction par solvant:**

C'est un procédé qui permet d'extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau.

III-But de TP

Le but de ce travail est réalisé quatre méthodes d'extraction et comparer ces méthodes.

IV- Mode opératoire

a- Extraction par macération dans l'éthanol –eau (extraction solide/liquide)

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la végétale dans l'éthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Le protocole de la macération de cette plante est le suivant **:**

- Peser 10 gramme de la matière végétale ;
- Chauffer l'éthanol aqueux (70:30) dans un bécher de 500 ml jusqu'à ébullition ;

Mettre la matière végétale (10 g) sur le méthanol aqueux bouillant (70:30) ;

- Agiter de temps en temps jusqu'à parfaite refroidissement ;
- Laisser macérer pendant 24 h, ensuite filtrer sur un papier filtre Wathman (n°:1) ;
- Récupérer le filtrat dans un flacon ;

b- Extraction avec de l'eau chaude (extraction solide/liquide)

Le protocole de cette étape est le suivant

- Peser 10 gramme de la matière végétale ;
- Ajouté la matière végétale broyée au 200 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement ;
- Chauffer le mélange dans un bain-marie à 77 °C pendant 30 minutes.
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante ;
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1;

c- Extraction par la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction)

Le protocole de cette pour chaque plante est le suivant:

- Peser 10 gramme de feuilles séchées;
- Ajouté les feuilles séchées au 200 ml eau distillée puis agiter manuellement et doucement ;
- Chauffer le mélange dans un bain-marie bouillant pendant 30 minutes.
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante ;
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n°1;

d- Evaporation

Les trois solutions obtenues ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif, qui permet a éliminé le solvant sous vide.

V-Questions

1-Calculer les rendements de chaque type d'extraction

2-Comparer les trois techniques d'extractions

3- Citer d'autres techniques d'extraction permettant d'obtenir le même extrait.

4-Pourquoi doit-on broyer le matériel végétal avant son extraction et utiliser de l'eau bouillante pour l'extraction au lieu de l'eau à température ambiante?

5-Quelle est la différence apparente entre les deux extraits obtenus ?

TP 02 : Screening phythochimique

I-But de TP

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale des extraits. Ces tests sont basés sur les réactions de colorations et de précipitations.

II-Mode opératoire

- **Les alcaloïdes :**

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait, acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl à 1% puis ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5 ml de réactif de Wagner dans le deuxième tube. La formation d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes.

- **Les polyphénols :**

- **Les tannins :**

Dans un tube à essai, introduire 1ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ (2%), incuber 15min à température ambiante. L'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre indique la présence des tannins.

- **Les flavonoïdes :**

Dans un tube à essai, introduire 1ml d'extrait à tester, 1ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune indique la présence des flavonoïdes.

- **Les quinones libres :**

Introduire 1ml de l'extrait dans un tube à essai plus 100µl de lessive de soude (NaOH 10%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet révèle la présence des quinones libres.

- **Les coumarines :**

Dans un tube à essai, ajouter 500µl de NH_4OH à 10% à 1ml de l'extrait, prélever une goutte puis déposer sur un papier filtre et la lecture ce fait sous U.V. à 366 nm.

Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

- **Les anthraquinones :**

Dans un tube à essai, déposer 1ml de l'extrait, 1ml de NH_4OH à 10% puis agité. Une coloration violette indique la présence d'anthraquinones libres.

- **Les terpénoïdes :**

Test de Slakowski : Sur 1ml de l'extrait, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique leur présence.

- **Les saponines :**

Test de mousse : Dans un tube à essai, introduire 10ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence des saponines.

III-Questions

Dans un tableau donner les différents changements

TP N°03 : Dosage des polyphénoles

I-Principe :

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode adaptée de Singleton et Ross en 1965 avec le réactif Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes de tungstène bleu et de molybdène. La couleur obtenue, qui a une absorption à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

II-Protocole :

- Un volume de 200 µl de chaque extrait est mélangé avec 500 µl du réactif Folin – Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué).
- Après 5 min, ajouter 800 µl de la solution de carbonate de sodium à 7.5% Tout est agité par un vortex.
- Le mélange obtenu est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 1heures.
- La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm.
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard à différentes concentrations.

L'acide gallique est utilisé pour la courbe d'étalonage.

La quantité des phénols totaux est calculée par l'équation suivante :

$$\mathbf{C = c.\ V/m}$$

C : contenu total des polyphénols (mg équivalent acide gallique /g d'extrait plante).

c : concentration d'acide gallique (mg/ml).

V : volume de l'extrait (ml).

m : masse de la plante (g).

III-Questions

1- Tracer la courbe d'étalonnage.

2- Déterminer le taux des polyphénoles

TP 04 : Extraction de molécules volatiles par Hydrodistillation

I. Hydrodistillation

La distillation consiste à séparer par évaporation les solides et les différents constituants volatils d'un mélange.

On chauffe un mélange d'eau et de végétaux odoriférants. La vapeur d'eau entraîne les éléments odorants dans lacolonne de distillation avant d'être refroidie dans un **serpentin** (la vapeur se condense) puis recueillie dans un **vase florentin** ou un **essencier** (vase de décantation pour les huiles essentielles). Par **décantation** (séparation par différence de densité), l'eau se sépare des éléments odorants, qui sont alors récoltés et nommés **huiles essentielles** (on trouve également le nom "essences" mais il n'est pas rigoureux).

L'hydrodistillation est l'un des procédés d'extraction les plus anciens. Cette opération s'accomplit dans un **alambic**. Les matières premières à distiller peuvent nécessiter une « préparation physique » : hachage, rabotage en sciure, trempage avec fermentation...

II. Protocole expérimental

1. Hydrodistillation

Le montage à réaliser serait le suivant :

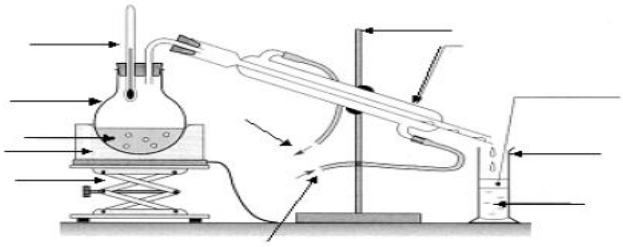


Figure 09 : Montage d'hydrodistilation

- Introduire l'écorce d'orange coupé en petites morceaux (10 g environ) dans le ballon avec 250 mL d'eau distillée.

• Placer le ballon dans le chauffe-ballon posé sur un élévateur.

• Assembler la colonne de distillation (réfrigérant) au-dessus du ballon

• Faire circuler l'eau dans le réfrigérant et porter lentement le contenu du ballon à ébullition.

Attention ! en l'absence d'utilisation de pierre ponce pour homogénéiser l'ébullition et d'agitation àl'aide d'un barreau aimanté, une surveillance permanente de l'ébullition est requise !

• Noter dans le compte-rendu tous les évènements se produisant (début de l'ébullition, évolution de la distillation, condensation de la vapeur…)

• A la fin de la distillation (1 heure), arrêter le chauffage, laisser refroidir le mélange

• Filtrer à l'aide d'un entonnoir et de papier filtre le mélange présent dans le ballon, le recueillir dans un erlenmeyer

2. Extraction liquide –liquide

• Ajouter une spatule de chlorure de sodium au distillat.

• Agiter jusqu'à dissolution complète.

• Verser le distillat dans une ampoule à décanter.

• Boucher et agiter. Très régulièrement, surtout au début, retourner l'ampoule et ouvrir le robinet afin de dégazer.

• Continuer ainsi tant que l'on entend du gaz sortir.

• Repérer la phase organique puis la recueillir dans un erlenmeyer.

• Récupérer la phase aqueuse dans un second erlenmeyer

3. Obtention de l'absolue d'eau aromatique :

• Verser dans l'erlenmeyer contenant la phase aqueuse 15 mL d'éther diéthylique ou cyclohéxane.

• Verser le mélange dans une ampoule à décanter.

• Boucher et agiter. Très régulièrement, surtout au début, retourner l'ampoule et ouvrir le robinet afin de dégazer.

• Continuer ainsi tant que l'on entend du gaz sortir.

• Repérer la phase organique puis la recueillir dans un erlenmeyer

• Effectuer une deuxième extraction en rajoutant dans l'ampoule 15 mL de solvant.

• Recueillir la phase organique dans le même erlenmeyer.

• Eventuellement (suivant le déroulement du TP) évaporer le solvant dans un ballon à l'évaporateur rotatif : on obtient l'absolue d'eau aromatique

III -Questions:

1. Faire un schéma légendé de l'expérience. Légender également le schéma théorique donné sur cet énoncé.

2.. Expliquer en quelques lignes cette technique d'extraction

3. Pourquoi faut-il toujours placer le chauffe-ballon sur un support élévateur ?

4. A quoi servent la pierre ponce dans le ballon ?

5. A quoi sert le tube réfrigérant ?

6. Qu'est-ce qui rentre dans le tube réfrigérant ? Qu'est-ce qui en sort ?

7. Pourquoi l'eau froide du robinet doit-elle entrer par l'entrée basse du réfrigérant ?

8. Quel est l'aspect du distillat obtenu ? (couleur, odeur, …)

9. Quel solvant doit-on choisir pour effectuer l'extraction par décantation ? Pourquoi ?

10 Faire la liste des précautions à prendre lorsque l'on manipule l'ampoule à décanter d'après les risques liés au solvant (préciser la signification des pictogrammes de sécurité).

11. Schématiser l'ampoule à décanter et son contenu.

 Où se trouve la phase aqueuse ? Justifier

 Où se trouve le solvant ? Justifier

 Dans quelle phase se trouve l'eugénol (phase que l'on souhaite recueillir) ? Pourquoi ?

12 Pourquoi ajoute-t-on du sel au distillat ?

TP 05 : Extraction par soxhlet

I- Introduction

L'extraction par soxhlet est un procédé mixte dans lequel l'échantillon à extraire est macéré dans un compartiment alors que dans l'autre la solution est chauffée à l'ébullition.

Sous l'effet de l'ébullition, les vapeurs de solvant montent de **A** passent par **B** est arrivent au réfrigérant **R** où elles se condensent pour tomber dans les vases communiquant C et D. Une fois C et D remplis, le trop-plein provoque, par effet de capillarité, un siphonage qui vide C dans A et le cycle recommence.

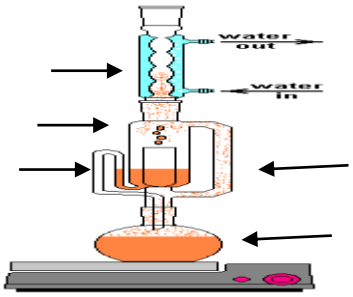


Figure 10 : Extracteur soxhlet

II- Mode opératoire

1. Prendre une cartouche de cellulose et un becher.
2. On pèse 15 g de poivre moulu dans la cartouche en cellulose.
3. On place 150 ml d'éther de pétrole dans le ballon.
4. Placer la cartouche dans le soxhlet
5. Graissage et Réalisation du montage (verrerie) et vérification par l'animateur
6. Chauffage
7. On laisse l'extraction se poursuivre (3 passages sur le soxhlet).
8. Arrêter le chauffage et descendre la chauffe ballon
9. poser le chauffe ballon a côté de la paillasse.
10. Laisser refroidir le ballon quelques minutes
11. Démonter le montage (verrerie), commencer par débrancher l'arrivée d'eau.

12. refaite la même chose avec le dicloromethane
13. On évapore les deux ballons à l'évaporateur rotatif.

III- Questions

1. Trouver la définition des termes écrits en gras : **extracteur de Soxhlet**, **percolation**.
2. Quelles sont les inconvenants de l'extraction par soxhlet
3. Calculer et comparez les deux rendements.
4. Quelle est l'aspect de chaque produit.
5. Expliquer l'effet de polarité sur le rendement.

Références bibliographiques

1. N. Margossian, Glossaire du risque chimique, sciences et techniques, édition Dunod, 2011.
2. A. Picot, J. Ducret, Sécurité et prévention des risques en laboratoire de chimie et de biologie, 3ème édition eBook, 2013.
3. N. Fekih; H.Allali ; C. Ziani-cherif; F. Guido . *Agriculturae Conspectus Scientificus.* ,2023 , 88 (4) :301 -306.
4. D. Villemin, Z. Belhadj, N. Cheikh, N. Choukchou-Braham, N. Bar and J.-F. Lohier, *Tetrahedron Letters* 2013, 54, 1664-1668.
5. R. Leardi, *Chemometrics in Food Chemistry*: Chapter 2. *Experimental Design*, Elsevier Inc. Chapters, 2013, p.
6. K. Murugesan, V. G. Chandrashekhar, T. Senthamarai, R. V. Jagadeesh and M. Beller, *Nature* p*rotocols* 2020, 15, 1313-1337.