



N° D'ORDRE :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté et soutenu publiquement
Le 11 juillet 2018

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème :

Contrôle physico-chimique de la caféine obtenue par extraction

Réalisé par

SADDOUN AYOUB TCHOULAK MOHAMMED MOULAI AYMEN

Promotrice : Dr N.HADHOUM

Co-promoteur : Dr M.BOURSOUTI

Membres de jury :

Pr L. MEKACHER	Maitre de conférence en toxicologie	UMMTO	Président de jury
Dr N.HADHOUM	Maitre-assistante en chimie thérapeutique	UMMTO	Promotrice
Dr S.IBOUKHOULEF	Maitre-assistante en hydrobromatologie	UMMTO	Examinatrice
Dr I. MERABET	Assistante en pharmacognosie	UMMTO	Examinatrice
Dr M.BOURSOUTI	Résident en chimie analytique	UMMTO	Co-promoteur

Remerciements

Nous remercions en premier lieu ALLAH le Tout Puissant, de nous avoir illuminé, et ouvert les portes du savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

A notre encadreur, Dr HADHOUM .Nadia, pour ses conseils avisés son suivie et son écoute qui ont été prépondérants pour la bonne réussite de ce mémoire. Nous lui sommes également reconnaissants. Nous avons pris un grand plaisir de travailler avec elle.

Au Docteur MAMOU qui nous a laissé travailler au niveau de son laboratoire de chimie analytique du département de pharmacie de la faculté de médecine de tizi ouzou et Dr boursouti qui nous lui sommes également reconnaissants pour le temps conséquent qu'il nous a accordé, pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, ainsi que pour sa franchise et sa sympathie.

Aux membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche, en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Mme LALAMI : ingénieure du laboratoire de chimie thérapeutique au département de pharmacie de la faculté de médecine de tizi ouzou qui nous a permis de travailler dans les meilleures conditions

A tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents qui ont œuvré pour ma réussite, de par leur amour, leurs soutiens dans les moments les plus difficiles de ma vie et tous leurs sacrifices merci pour tout ce que vous avez enduré pour me faire grandir, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de leur soutien dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure
bonne santé et longue vie.

A mes grands-parents maternels et grands-parents paternels (Paix à leurs âmes)

A tous mes proches amis et cousins ainsi que mon binômes Mohamed et Aymen

A mes chères tantes et à tous les membres de ma famille.

Enfin, mon plus profond respect et ma gratitude sont réservés à mes aimables professeurs de tous les cycles de ma scolarité pour m'avoir ouvert et éclairé la voie
du savoir.

Ayoub

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des figures.....	iii
Introduction	1
Objectifs	2

Revue de la littérature

CHAPITRE I : Généralités sur les alcaloïdes

1. Historique.....	3
2. Définition.....	3
3. Propriétés physico-chimiques	3
3.1. Solubilité.....	3
3.2. Réaction de précipitation	4
4. Propriétés pharmacologiques	4
5. Emploi.....	4

CHAPITRE II : Etude pharmaco-chimique et toxicologique de la caféine

1. Structure chimiques de la caféine	8
2. Propriétés physico-chimique de la caféine.....	8
2.1. Propriétés physiques	8
2.2. Propriétés chimiques	9
3. Méthodes d'obtention de la caféine	9
3.1. Synthèse de la caféine	9
3.1.1. Synthèse chimique de la caféine	9
3.1.1.1. Synthèse chimique par substitution nucléophile.....	10
3.1.1.2. Synthèse à partir de la théobromine	12
3.2. Extraction de la caféine à partir du thé vert.....	13
3.2.1. Les caractères organoleptiques du thé vert	13
3.2.2. Définition selon la Pharmacopée française	13

3.2.3. Composition chimique générale de la feuille du thé vert	14
3.3. Autres voies d'accès à la caféine	15
4. Propriétés pharmacologiques de la caféine	15
5. Mécanisme d'action de la caféine	17
5.1. La caféine est un antagoniste des récepteurs de l'adénosine	17
5.2. La caféine inhibe l'activité des phosphodiesterases	18
5.3. La caféine provoque une mobilisation du calcium intracellulaire	18
5.4. Influence de la caféine sur les effets de certains médicaments	18
6. La pharmacocinétique de la caféine	19
6.1. Absorption digestive	19
6.2. Distribution	19
6.3. Métabolisme	20
6.4. Élimination de la caféine	21
7. Intérêt thérapeutique et utilisation	23
8. Effets indésirables de la caféine	26
9. Consommation de la caféine	28
9.1.1 Évaluation mondiale	29
9.1.2. Consommation individuelle	29
9.1.3. Consommation de la caféine au cours des affections psychiatriques	30
9.1.4 Consommation de la caféine chez les fumeurs	30
9.1.5. Consommation de la caféine chez les buveurs d'alcool	30
10. Intoxication par la caféine ou caféinisme	31

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes	32
1.1 Matériel	32
1.1.1-Appareillage	32
1.1.2. Verrerie et autres	33
1.2 Méthode	34
1.2.1 Extraction de la caféine	34
1.3. Caractérisation et identification de la caféine	44
1.3.1 - Caractères organoleptiques et solubilité	44
1.3.2 - Caractérisation de la caféine par des réactions colorimétriques	46

1.3.3. Identification spectrale de la caféine	50
1.3.4 - Détermination du point de fusion	52
1.3.5 Détermination de la teneur en principe actif par HPLC	53
1.3.6 - Recherche des impuretés par Chromatographie sur couche mince (CCM)	56
1.3.7 – Test d’acidité	58
1.3.8-Perte à la dessiccation	59
1.3.9– Aspect de la solution de la caféine obtenue par extraction	60

2 - Résultats et discussion..... 66

2.1- Rendement de l’extraction	66
2.2- Identification et caractérisation physico-chimique de la caféine extraite	67
2.2.1. Aspect et odeur	67
2.2.2 Solubilité.....	67
2.2.3. Température de fusion.....	69
2.2.4. Identification par des réactions colorimétriques	69
2.2.5– Identification spectrale de la caféine	72
2.2.6 – Chromatographie sur couche mince	76
2.2.7–Perte à la dessiccation :.....	77
2.2.8- Test d’acidité	79
2.2.9– Aspect de la solution de caféine extraite.....	80
2.2.10-Interprétation des résultats HPLC.....	83

CONCLUSION.....85

BIBLIOGRAPHIE.....86

ANNEXES

RESUME

ABSTRACT

Liste des abréviations

CAS : Chemical Abstract Service.

Cm : centimètre

°C : Degré Celsius

[c] : Concentration

Eq : équivalent

g : gramme

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

IR : Infrarouge

IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry,

Kg : kilogramme.

l : litre

ml : millilitre

M : Molarité

m : masse

mg : Milligramme

mol : Mole.

min : minute.

Mr : Masse relative

Nm : nanomètre

Rf : Rapport frontal

R% : Rendement

Pf : point de fusion

Pe : point d'ébullition

µg : Microgramme.

Uv : ultras violet

V : Volume.

Liste des tableaux

Tableau I : Teneur en caféine dans les différents boissons et produits alimentaires.....	26
Tableau II : Evaluation de la consommation mondial annuelle de caféine en 1981-1982.....	27
Tableau III :Appareils utilisés pour l'extraction, la caractérisation et l'identification de la caféine.....	33
Tableau IV: Verrerie et matériel utilisés pour l'extraction de la caféine :	34
Tableau V : Réactifs utilisés pour l'extraction de caféine	35
TableauVII : Teneurs en caféine dans les différents types de thé	44
Tableau VIII: Tableau exprimant la solubilité d'une substance.....	45
Tableau IX : Tableau des réactifs utilisés pour le test de solubilité	46
Tableau X : Les réactifs utilisés pour la réaction avec le réactif de bouchardat	47
TableauXI : Réactifs utilisés pour la réaction à la murexide	49
TableauXII : Réactifs utilisés pour la réaction avec le diméthylaminobenzaldehyde	50
Tableau XIII: Réactifs utilisés pour le dosage de la caféine	54
Tableau XIV : Réactifs utilisé pour la CCM.....	57
Tableau XV : Réactifs utilisés pour le test d'acidité.....	59
Tableau XVI : Réactifs utilisés pour le test d'opalescence.	61
TableauXVII: Préparation des solutions témoins d'opalescence.....	61
Tableau XVIII : Réactifs utilisés pour le test du degré de coloration.....	62
Tableau XIX : Les solutions étalons.....	64
Tableau XX : Les solutions témoins.....	64
Tableau XXI : Principales bandes d'absorption de la caféine dans l'IR	76
Tableau XXII : Volumes équivalents du NaOH	81

Liste des figures

Figure 1: Vue tridimensionnelle de la caféine.....	6
Figure 2: Structure chimique de la caféine.....	6
Figure 3: Mécanisme de la substitution nucléophile d'ordre 2	9
Figure 4: Schéma réactionnel de la synthèse de la caféine à partir de la théobromine. 11	
Figure 5: Schéma de l'extraction de la caféine a partir des feuilles de thé.	12
Figure 6: Caféine (CAF) et récepteurs à l'adénosine (ADO)	15
Figure 7: Métabolisme de la caféine entraînant la formation de diméthylxanthine	18
Figure 8: Schéma sur le metabolisme de la caféine.	20
Figure 9: Action de la caféine sur la phosphodiesterase (PDE).....	22
Figure 10 : Montage du chauffage à reflux.	36
Figure 11 : Filtration et élimination des déchets.....	36
Figure 12: Chauffage de l'eau distillée.....	37
Figure 13: Infusion du thé dans l'eau chaude.	37
Figure 14: Refroidissement du thé préparé.....	38
Figure15: Décantation du mélange réactionnel	39
Figure 16: Phase organique réunie.....	39
Figure17 : Séchage par chlorure de calcium	40
Figure 18: Distillation de la phase organique dans le rotavapeur.	41
Figure19 : Caféine récupéré après distillation au rotarvapeur.....	42
Figure 20: Caféine récupérée après évaporation du dichlorométhane	42
Figure 21 : Caféine récupérée avant la recristallisation.	42
Figure 22 : Caféine récupérée après la recristallisation.....	43
Figure 23: Montage de la filtration sous vide.	43
Figure 24: Caféine finale.....	43
Figure 25 :Solutions nécessaires à la réaction colorimétrique	48
Figure 26: Solutions utilisés dans Réaction avec le diméthylaminobenzaldehyde.....	50
Figure 27: Bain marie utilisé dans la réaction	51
Figure28 : Spectrophotomètre infrarouge PerkinElmer SPECTRUM TWO	51
Figure 29 : Spectrophotomètre UV-VISIBLE Perkin ELmer a balayage lambda 25.....	52
Figure 30 : Appareil de point de fusion Stuart.....	53
Figure 31 : Appareillage HPLC SHIMADZU.....	54

Figure 32 : Pompe d'injection de l'HPLC SHIMADZU	55
Figure 33 : Colonne C18 de l'HPLC SHIMADZU	56
Figure 34 : Détecteur spectrochromatographique UV visible de l'HPLC SHIMADZU ..	56
Figure 35 : Serveur de communication de l'HPLC SHIMADZU.	56
Figure 36 : Chambre de migration et la plaque utilisé pour la CCM.....	58
Figure 37 : Solutions utilisés dans le teste d'acidité.....	59
Figure 38 : Détermination de la perte à la dessiccation	60
Figure.39 : Solutions du test d'opalescence	62
Figure 40 : Solutions primaires du degré de coloration.....	66
Figure 41 : Aspect de la caféine extraite.....	68
Figure 42 ; Test de solubilité.....	69
Figure 43 : Température de fusion.....	70
Figure 44 : Réaction avec le réactif du bouchardat.....	71
Figure 45 :Réaction à a la murexide	71
Figure 46 : Réaction avecle diméthylaminobenzaldehyde	73
Figure 47 : Spectre d'absorption dans l'UV-VISIBLE de la caféine extraite.	74
Figure 48 : Spectre d'absorption dans l' UV-VISIBLE de la caféine référence	75
Figure 49 : Spectre d'absorption dans l'infrarouge de la caféine extraite	76
Figure 50 : Spectre d'absorption dans l'infrarouge de la caféine.	76
Figure 51 : Plaque CCM sous la lampe UV	77
Figure 52 : Distances parcourues par les deux taches des solutions de caféine.....	78
Figure 53 : Résultats de la perte à la dessiccation	80
Figure 54 : Test d'acidité.....	81
Figure 55: Solution de caféine et la gamme étalon brune.....	81
Figure 56: Solution de caféine et la gamme étalon jaune-brune.....	82
Figure 57: Solution de caféine et la gamme étalon jaune	82
Figure 58: Solution de caféine et la gamme étalon jaune-verte	83
Figure 59: Solution de caféine et la gamme étalon rouge.....	83

Introduction

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes, ils jouent un rôle important dans le domaine pharmaceutique, ils sont utilisés comme principes actifs pour la préparation des médicaments. Les alcaloïdes sont utilisés soit tels quels, soit sous forme de dérivés plus actifs, mieux tolérés par l'organisme, ou manifestant des effets différents.

La caféine est un alcaloïde de la famille de méthylxanthine, découverte par le chimiste allemand Friedrich Ferdinand Ring en 1819, elle a été inscrite dans différentes pharmacopées telles que la pharmacopée européenne et la British pharmacopée, différentes formes galéniques ont vu le jour afin de s'adapter aux besoins thérapeutiques.

La caféine est présente dans de nombreux aliments, boissons et médicaments. Elle agit comme stimulant du système nerveux central et du système cardio vasculaire, la connaissance de ses propriétés physico-chimiques de sa toxicité et de son mécanisme d'action est importante.

Dans le cadre de ce mémoire nous nous sommes intéressés à l'étude de cette substance active. L'objectif principal de notre travail était l'obtention de la caféine par extraction liquide – solide (eau chaude et feuilles de thé) suivie d'une extraction liquide-liquide (phase organique et phase aqueuse).

Notre travail est organisé en deux parties :

1. Une partie bibliographique dans laquelle nous abordons des généralités sur les alcaloïdes et une étude pharmaco-chimique et toxicologique de la caféine ;
2. Une partie expérimentale portée sur l'extraction, l'identification et le contrôle de la qualité conformément à la pharmacopée européenne.

Objectifs

Ce travail de fin d'études représente une étape importante dans notre parcours de formation, il nous a permis d'appliquer les connaissances acquises et de toucher au volet de contrôle de la qualité des matières premières.

L'objectif principal de notre travail était l'obtention de la caféine par extraction, ainsi que le contrôle de sa qualité.

Pour atteindre cet objectif principal, différents objectifs secondaires doivent être atteints à savoir :

Purification de la caféine extraite;

Identification et caractérisation de la caféine conformément à la monographie ;

Détermination de la teneur en principe actif ;

Recherche des impuretés ;

Amélioration des connaissances expérimentales en matière de contrôle de la qualité des matières premières ;

Conclusion par rapport à la conformité de la substance active étudiée.

Revue de la littérature

1. Historique

Le terme alcaloïde a été créé en 1819 par un pharmacien De halle Wilhelm.

La connaissance et l'usage des plantes à alcaloïdes comme « Parrot à opium » ou « l'aconit » sont très anciens mais la caractérisation de leurs substances actives remonte au 19^{ème} siècle.

Entre 1817 et 1820, deux pharmaciens français, Pelletier et Caventou, ont découvert une série de composés actifs : caféine, émétine (de l'ipéca), strychnine (de la noix vomique), quinine et cinchonine (de l'écorce de quinquina) [1].

2. Définition

Le terme « alcaloïde » signifie: Alkali = base Oïde = même forme.

Les alcaloïdes Sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées basiques donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs (réactifs des alcaloïdes), sur le plan chimique, ils constituent un groupe très hétérogène, possédant quelques propriétés physiologiques communes, ils portent tous la terminaison « INE ».

Les alcaloïdes sont rencontrés chez de nombreux végétaux, ils peuvent être présents dans tous les organes.

Une plante renferme rarement un seul alcaloïde, ils existent rarement à l'état libre dans les plantes mais, le plus souvent sont combinés à des acides organiques ou à des tanins. Leur teneur est très variable, elle est comprise entre (0.1% à 3 %du poids sec de la drogue) [2].

3. Propriétés physico-chimiques

Les alcaloïdes sont des composés à caractère basique, ils donnent des sels avec les acides.

3.1 Solubilité

Leur solubilité dans les différents solvants varie en fonction du PH c'est à dire selon qu'ils se trouvent à l'état de base ou à l'état de sel.

1. Sous forme de bases ils sont Solubles dans les solvants organiques non polaires (chloroforme, benzène), et dans les solvants organiques polaires (alcool), insolubles dans l'eau.

2. Sous forme de sels : ils sont solubles dans les solvants organiques polaires, insolubles dans les solvants organiques apolaires, et solubles dans l'eau [2].

3.2. Réactions de précipitation

Les alcaloïdes donnent des réactions de précipitation avec certains réactifs spécifiques appelés « réactif des alcaloïdes », ces réactions peuvent avoir lieu dans un milieu légèrement acide :

1. Avec le réactif de valser Mayer : donnent un précipité blanc.
2. Avec le Réactif de dragendroff : donnent un précipité rouge orangé.
3. Avec le réactif de bouchardât : donnent un précipité brun.

Ils précipitent aussi avec les sels des métaux lourds, certains acides et les tanins.

Les alcaloïdes non oxygénés sont liquides à T° ordinaire (nicotine, spartéine).

Les alcaloïdes oxygénés se présentent sous forme de cristaux rarement colorés (berbérine) [2].

4. Propriétés pharmacologiques

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes qui peuvent agir à différents niveaux :

1. Au niveau du système nerveux autonome: les alcaloïdes peuvent avoir un effet sympathomimétique (éphédrine), sympatholytique (yohimbine, certains alcaloïdes de l'ergot de seigle) ou bien parasymphatomimétique, anti cholinergique (atropine, hyoscyamine, scopolamine) et ganglioplégique (sparteine, nicotine). Ils sont aussi des inhibiteurs des cholinestérases ;
2. Au niveau du système nerveux central: ils peuvent avoir un effet dépressur ou stimulant ;
3. Les alcaloïdes peuvent avoir d'autres effets : curarisants, anesthésiques locaux (cocaïne), antifibrillants (quinidine), anti tumoraux (vinblastine, camptothécine), antipaludique (quinine), amoebicides (émétine) [3].

5. Emploi

Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique.

Il est à noter que les alcaloïdes jouent, à faibles doses, le rôle d'anesthésiques locaux (cocaïne), d'analgésiques (morphine), d'antibiotiques, d'antiparasitaires,

d'antipaludiques (quinine), d'anti-tumoraux (vinblastine) et d'amoebicides (émétine) [4].

Ils sont utilisés aussi dans l'industrie pharmaceutique, dans les préparations galéniques (belladone, stramoine, jusquiame noir), utilisés comme matières premières (par l'extraction des alcaloïdes qu'elles renferment morphine de la paille, de pavot ou de l'opium).

Utilisées en héli-synthèse ou en synthèse totale comme la codéine extraite à partir de la morphine et les alcaloïdes de l'ergot de seigle [2].

1. Structure chimique de la caféine

La caféine ou 1, 3,7-triméthylxanthine appelée aussi 1, 3,7-triméthyl-1H-purine-2,6-dione, de formule chimique $C_8H_{10}N_4O_2$, est un pseudo-alcaloïde d'origine végétale appartenant à la famille des bases puriques ou plus précisément des méthylxanthines. Cette molécule est proche de la théophylline et de la théobromine.

Ces trois molécules (caféine, théophylline, théobromine) appartiennent au groupe des méthylxanthines et possèdent ainsi une analogie structurale [5].

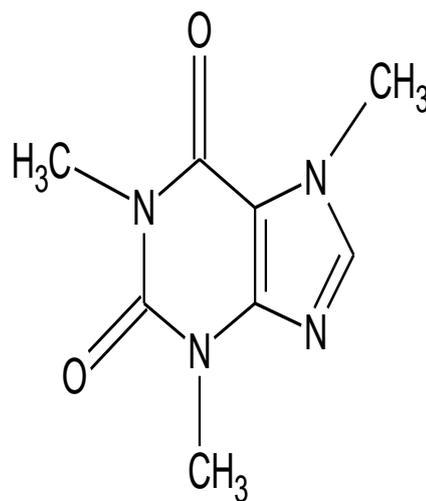
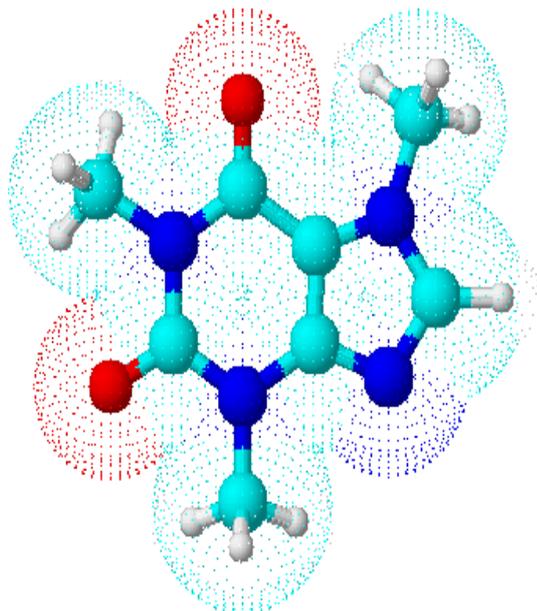


Figure 1: Vue tridimensionnelle de la caféine [6] Figure 2: Structure chimique de la caféine.

1. Les différentes dénominations de la caféine:

- 1, 3,7-triméthylxanthine.
- Méthylthéobromine.

2. Nom chimique selon l'IUPAC :

- 3, 7-dihydro- 1, 3,7-triméthyl-1H-purine-2,6-dione [7].

2. Propriétés physico-chimiques de la caféine

2.1. Propriétés physiques

1. La caféine se présente sous forme de poudre blanche ayant un goût extrêmement amer ;
2. La masse molaire de la caféine est égale à : 194 g/mol ;

3. Le pourcentage des différents composants est :

- Hydrogène: 5, 16 %;

- Carbone: 49, 48 %;

- Azote: 28, 86 %;

- Oxygène: 16, 50 %;

4. La température de fusion de la caféine est de 234 à 236,5 °C [8].

2.2. Propriétés chimiques

La caféine est stable dans les milieux acides et basiques, elle se présente sous forme d'une base faible et peut réagir avec des acides pour donner des sels, cependant dans une solution aqueuse neutre, elle n'est pas ionisée.

Elle absorbe dans l'UV avec un maximum d'absorption à $\lambda = 274$ nm.

La caféine sous forme protonée, est beaucoup plus stable que sous forme non protonée (grâce aux doublets libres de l'azote) [8].

3. Méthodes d'obtention de la caféine

3.1. Synthèse de la caféine

3.1.1. Synthèse chimique de la caféine

On définit la synthèse chimique comme étant l'obtention d'une espèce chimique à partir des composés simples. Le produit obtenu peut être soumis, dans une étape ultérieure, à une autre réaction, avec pour résultat une espèce chimique encore plus complexe.

Des méthodes de synthèse de la caféine ont été décrites dans la littérature et remontent au 19^{ème} siècle.

En 1895, Emil Fisher (Prix Nobel de Chimie, 1902) décrit la première synthèse de la caféine à partir de l'acide urique (Kunz, 2002).

Par la suite, Fisher a rapporté la synthèse de caféine par N-méthylation de la théobromine avec CHI, en présence de NaOH comme base (Fischer, 1898). Plus tard, Biltz et Damm décrivent la N-méthylation en utilisant de la théobromine et le diméthylsulfate (Blitz, 1917).

Récemment, la synthèse de la caféine à partir de la théobromine a fait appel au sulfate de diméthyle en présence d'alumine imprégné de KF dans l'acétonitrile (Yamawaki,1981) [9].

3.1.1.1. Synthèse chimique par substitution nucléophile

Dans les réactions de substitution nucléophile, un réactif nucléophile ayant au moins un doublet d'électrons libres (**Nu**) ou portant une charge négative (**Nu⁻**) attaque un carbone lié à un groupe partant (nucléofuge) **Y** exerçant un effet (-I) ou/et mésomère (-M) source carbone.

Le doublet d'électrons du réactif nucléophile crée la liaison avec le carbone tandis que le groupe partant (nucléofuge) entraîne avec lui le doublet qui le liait au carbone [10].

Substitution nucléophile d'ordre 2

➤ Mécanisme

Dans le mécanisme de cette réaction de substitution, le réactif nucléophile Nu, chargé négativement ou non, attaque le carbone lié à Y de R-Y du côté opposé à Y, c'est une **attaque dorsale** (une attaque du côté de Y aurait été dite frontale) : le nucléophile s'approche du carbone par le côté opposé au nucléofuge, comme le montre la figure 3 ci dessous.

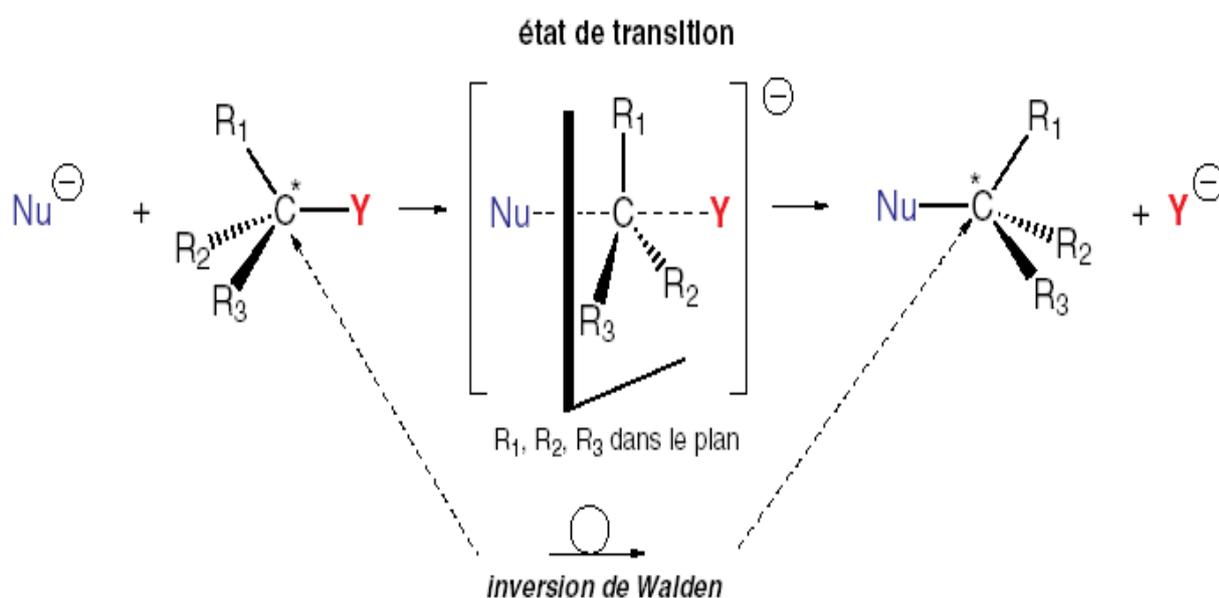


Figure 3: Mécanisme de la substitution nucléophile d'ordre 2

➤ Cinétique

Le mécanisme est donc concerté, il se fait en une seule étape et passe par un état de transition correspondant à un état d'activation maximale de la réaction.

Comme on peut le remarquer, seuls le réactif nucléophile et RY interviennent dans cette réaction, et plus particulièrement, dans l'état de transition, d'où la dénomination de biomoléculaire pour cette substitution.

Le réactif nucléophile et RY ont donc chacun un rôle équivalent dans ce mécanisme, Il s'ensuit que la réaction est du premier ordre pour chacun d'eux, on en déduit que la cinétique de cette substitution S_N2 est d'ordre deux.

➤ Facteurs influençant une S_N2

1. Classe du substrat

Si le carbone est tertiaire, l'approche du Nu^- est rendue difficile en raison de l'encombrement stérique, l'état transitoire est alors difficile à atteindre. Par contre, si ce carbone est tertiaire, primaire ou secondaire, l'approche du Nu^- est facilitée, c'est ce qui explique que le mécanisme S_N2 est spécifique des groupes R tertiaires, primaires et assez souvent, secondaires mais jamais tertiaires.

2. Nature du groupe partant

L'influence du groupe partant est la même que dans une S_N1 : la réactivité du substrat (dérivé halogéné) croît de R-F à R-I.

Les halogènes sont des excellents nucléofuges et leur réactivité varie en fonction de leur taille: $F \ll Cl < Br < I$.

À l'inverse, les dérivés oxygénés ($-OR$) sont de mauvais groupes partants. Leur substitution n'est possible que par des nucléophiles forts (carbanions).

Pour substituer un OH, par exemple, il faudra un milieu acide fort.

3. Nature du réactif nucléophile

Dans un mécanisme S_N1 , la vitesse de réaction ne dépend pas du nucléophile, car la nature de celui-ci n'a pas d'influence. En revanche, un mécanisme S_N2 nécessite au contraire un nucléophile puissant pour chasser le nucléofuge.

- Les nucléophiles chargés (anions: HO^- , CN^- , X^- ...) sont plus forts que les nucléophiles neutres (NH_3 , H_2O , $ROH...$).

- Plus un anion est volumineux, plus ses électrons externes seront mobiles, plus sa nucléophilie sera grande. Cela est attribué à la polarisabilité du doublet électronique. Plus ce doublet est éloigné du noyau atomique, plus la nucléophilie sera grande [11].

4. Influence du solvant

Pour un nucléophile chargé $N\ddot{u}^-$, un solvant polaire protique diminue la vitesse de S_N2 en solvatant le nucléophile par établissement de liaisons hydrogènes diminuant ainsi sa nucléophilie.

En revanche, un solvant apolaire ou polaire mais aprotique (absence de liaisons hydrogène) augmente la vitesse de S_N2 en solvatant le cation du nucléophile. Celui-ci restera alors libre dans le milieu, donc très réactif.

3.1.1.2. Synthèse à partir de la théobromine

➤ La théobromine

Théobromine, anciennement connue sous le nom xantheose, est un alcaloïde de la plante de cacao. Elle se trouve dans le chocolat, ainsi que dans d'autres aliments, comme les feuilles de thé et le cola.

Elle est classée comme un alcaloïde de la famille des purines, ou plus exactement des méthylxanthines.

Malgré son nom, le composé ne contient pas de brome, théobromine est dérivé de *Théobroma*, le nom du genre de l'arbre de cacao, (qui lui-même est constitué de: **théo** grec «dieu» et **broma** «nourriture», qui signifie «nourriture de Dieu» avec le suffixe **-ine** donné aux alcaloïdes et d'autres composés azotés basiques).

➤ Schéma réactionnel

La synthèse de la caféine à partir de la théobromine se fait selon la réaction ci-dessous:

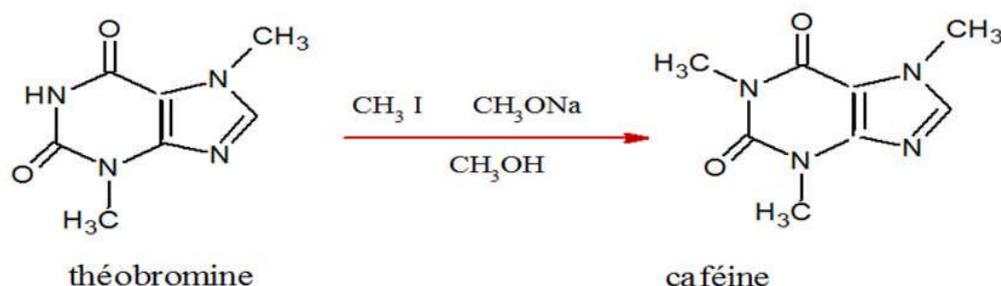


Figure 4: Schéma réactionnel de la synthèse de la caféine à partir de la théobromine.

3.2. Extraction de la caféine à partir du thé vert

Le thé, obtenu par infusion des feuilles de théier ou *Camellia sinensis*, est après l'eau, la boisson la plus consommée dans le monde entier [12,13].

3.2.1. Les caractères organoleptiques du thé vert

Il possède une odeur faible et sa saveur est âcre et astringente. La couleur de l'infusé est jaune pâle. L'arôme du thé vert provient essentiellement de la théanine, un acide aminé, et des poly phénols non oxydés [14].

3.2.2. Définition selon la Pharmacopée française

< La partie utilisée du thé vert est constituée par la feuille, jeune, non fermentée, soumise à une dessiccation rapide à chaud, puis séchée, de *Camellia sinensis*, et de ses variétés cultivées. Le thé vert contient au minimum 2,0 pour cent de caféine, calculés par rapport à la drogue desséchée > [14].

3.2.3. Composition chimique générale de la feuille du thé vert

Depuis longtemps, des chercheurs analysent la composition des feuilles de thé, ainsi que de leur infusion.

Parmi les principaux constituants de la feuille du thé, on trouve:

1. Les polyphénols: il s'agit d'une classe très vaste, regroupant plusieurs familles chimiques:
 - ✓ Les flavonoïdes : catéchines ou flavanols, flavonols;
 - ✓ Les acides-phénols;
 - ✓ Les tanins.
2. Les bases puriques:
 - ✓ La caféine, le composant majeur de cette famille chimique;
 - ✓ La théophylline et la théobromine en concentrations nettement inférieures;
3. Les acides aminés: sont au nombre de 19 dont la théanine, principal acide aminé du thé.

D'autre part, on a pu isoler divers constituants, moins abondants.

4. Des *vitamines*: acide nicotinique, acide ascorbique et vitamines du groupe B;

5. Des composés *minéraux*:

- ✓ Fluor;
- ✓ Potassium;
- ✓ Aluminium et autres.

6. Des glucides, de protéines et lipides;

7. Certains tri terpènes;

8. Des caroténoïdes [14].

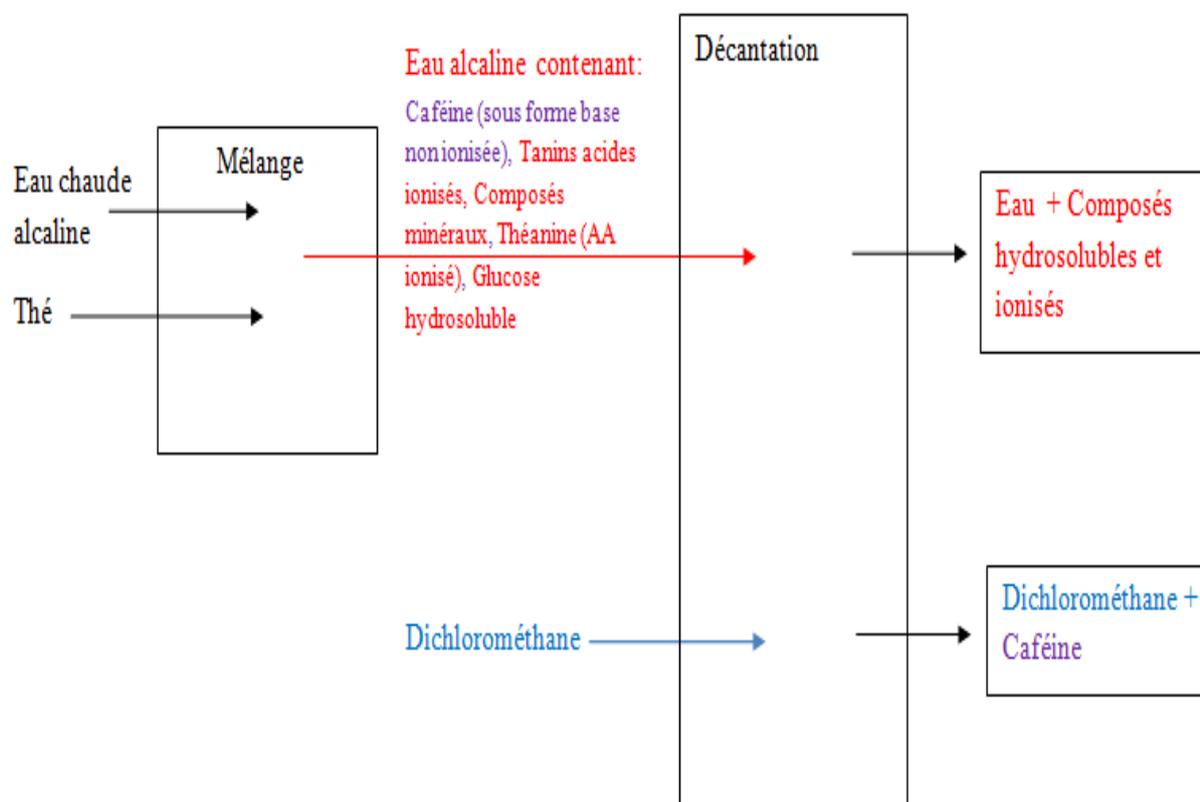


Figure 5: Schéma de l'extraction de la caféine à partir des feuilles de thé.

3.3. Autres voies d'accès à la caféine

3.3.1 Synthèse de la caféine à partir d'uracile

C'est une méthode peu coûteuse et originale, elle se fait en six étapes simples. L'uracile est dans un premier temps converti en 3-diméthyluracile, suivie d'une

nitration, réduction et cyclisation pour donner la théophylline et enfin méthylation de théophylline en caféine [15].

4. Propriétés pharmacologiques de la caféine

La caféine entraîne de nombreux effets :

- Une action bradycardisante sur le cœur par un ralentissement du rythme sinusal de la conduction auriculo-ventriculaire, expliquant son utilisation possible lors de tachycardies;
- Une action vasoconstrictrice sur les artéioles afférentes glomérulaires;
- Une action broncho constrictrice uniquement chez l'asthmatique;
- Une action anticonvulsivante et sédative sur le système nerveux central ainsi, qu'une diminution de la libération des neuromédiateurs. Ces effets sont bloqués suite à la fixation de la caféine sur ce récepteur.

La caféine est une xanthine, ce qui explique son action antagoniste de l'adénosine [16].

Concernant son mode d'action, elle est l'antagoniste des récepteurs de l'adénosine qui est une hormone libérée localement et qui agit sur différents récepteurs pour augmenter ou diminuer les concentrations cellulaires d'AMP cyclique. Les récepteurs de l'adénosine se trouvent dans tout le corps, y compris le cerveau, le système cardiovasculaire, respiratoire, rénales, gastro-intestinale et dans le tissu adipeux.

La caféine bloque les deux récepteurs de l'adénosine de façon compétitive et inhibe l'action de l'adénosine chez les personnes consommant la caféine à partir de sources alimentaires. L'adénosine agit pré-synaptiquement pour inhiber la libération neuronale de l'acétylcholine, la noradrénaline, la dopamine, gamma amino-butyrique, et de la sérotonine. La caféine libère donc la noradrénaline la dopamine et la sérotonine dans le cerveau et augmente la circulation des catécholamines avec une levée de l'effet inhibiteur de l'adénosine sur ces systèmes [17]. La caféine stimule le système nerveux central entraînant une diminution de la somnolence, une augmentation de l'attention, une meilleure réflexion et une meilleure coordination globale du corps [18].

Elle agit aussi sur le système nerveux périphérique en provoquant la contraction du muscle cardiaque [19].

Lorsque la caféine est consommée en grande quantité, elle peut causer des effets secondaires tels que la nervosité, l'irritabilité, l'anxiété, des tremblements, l'insomnie et une tachycardie [20].

Pour un adulte, la dose létale est estimée à 10g / jour (plus de 100 de café).

Même si la dose létale n'est pas atteinte, les effets secondaires néfastes de la caféine peuvent survenir suite à une utilisation à long terme. Des études ont démontré que l'utilisation à long terme de la caféine peut augmenter les risques de crise cardiaque, de mort subite et d'arythmie [21].

5. Mécanisme d'action de la caféine

5.1. Action sur les récepteurs de l'adénosine

La caféine inhibe les récepteur A1 de l'Adénosine présents au niveau du cerveau, du cœur, de la trachée, du rein, et au niveau des cellules adipeuses, ces récepteurs interviennent dans les échanges cellulaires de potassium et de calcium. Ils interviennent dans la régulation de la polarité des membranes cellulaires, de la diurèse, de la sécrétion de la rénine, des neurotransmetteurs et de certaines hormones. Elle inhibe aussi les récepteurs A2 de l'Adénosine responsables de la relaxation des muscles lisses [22].

Elle agit comme un antagoniste compétitif des récepteurs de l'adénosine, c'est-à-dire qu'elle se fixe sur les mêmes récepteurs que celle-ci, empêchant alors sa fixation et bloquant son action (cf. figure n° 25). L'adénosine est un neuro-modulateur qui exerce une action sur la libération des neurotransmetteurs; elle permet notamment de limiter celle des neurotransmetteurs excitateurs [23].

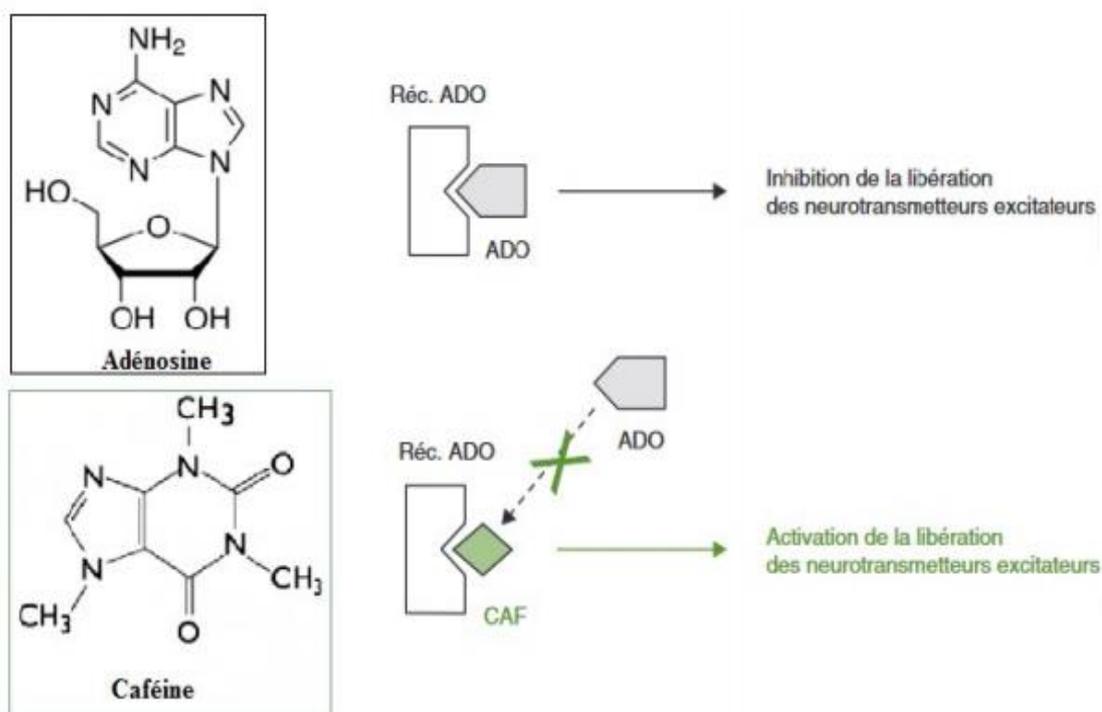


Figure 6: Caféine (CAF) et récepteurs à l'adénosine (ADO) [24].

L'adénosine se fixe sur quatre types de récepteurs couplés à la protéine G : A1, A2A, A2B et A3. Sa fixation sur A1 ou A2 entraîne des effets opposés: la stimulation du récepteur A1 inhibe l'adénylcyclase, entraînant une diminution du taux d'adénosine monophosphate (AMP) cyclique intracellulaire conduisant à une ouverture des canaux potassiques qui se traduira par une baisse de l'entrée du calcium dans la cellule. A l'inverse, une fixation sur A2 provoque une activation de l'adénylcyclase.

La caféine a une affinité particulière pour les récepteurs A1 et A2A, mais ses effets seront plus liés au blocage des récepteurs A1, ce qui permet la levée de l'inhibition sur la libération des neurotransmetteurs excitateurs.

5.2. Action sur les phosphodiésterases

La caféine provoque la relaxation de la trachée et des bronches, c'est pourquoi la caféine a un effet favorable sur la fonction cardiaque avec l'augmentation de flux sanguin dans les artères coronaires [22].

5.3. Mobilisation du calcium intracellulaire

La caféine mobilise le calcium stocké dans le réticulum endoplasmique ce qui entraîne des modifications des fonctions des cellules nerveuses, de la sécrétion des neurotransmetteurs et de la contraction musculaire.

En revanche, le mécanisme d'action de la caféine sur les sécrétions hormonales n'est pas clair puisqu'elle stimule la sécrétion de corticostérone, de rénine, de catécholamine et d'endorphines alors qu'elle diminue celle de la thyrostimuline de l'hormone de croissance et de la thyroxine [25].

5.4. Influence de la caféine sur les effets de certains médicaments

La caféine peut inhiber ou potentialiser les effets de quelques médicaments mais aussi protéger l'organisme contre les effets toxiques de ces derniers.

L'absorption des inhibiteurs de la monoamine oxydase au même temps que la caféine peut provoquer une hypertension artérielle et des céphalées. La consommation d'une quantité importante de caféine n'est pas recommandée lors de traitement par des neuroleptiques, anxiolytiques ou bien des antidépresseurs et des barbituriques. Elle potentialise la réponse de la rénine au traitement par le diazoxide. A la dose de 300mg/j, la caféine réduit la clairance apparente de la théophylline de 29% et son élimination de 31%.

Elle peut Augmenter à une forte dose le risque de neurotoxicité de théophylline chez l'homme [26].

6. Pharmacocinétique de la caféine

6.1. Absorption digestive

Après son ingestion, la caféine est rapidement absorbée par l'intestin (80%), mais aussi par l'estomac (20%), son absorption est complète chez l'homme ,99% de la dose administrée est absorbée au bout de 45 min, le ralentissement de l'évacuation gastrique est dû soit à la présence d'autres aliments énergétiques dans l'estomac, soit à l'action frénatrice de certains médicaments prescrits.

L'absorption digestive de la caféine varie aussi en fonction de son origine. Bien qu'il a été suggéré que les polyphénols de thé retardent l'absorption de la caféine par rapport à celle du café [27].

6.2. Distribution

Le pic plasmatique maximum de la caféine est obtenu au bout de 15 à 20 min chez l'homme, la demi-vie de la caféine dépend de l'espèce et de la dose, chez l'homme recevant 1mg/kg de caféine, la demi-vie est de 2.5 à 4.5 h.

La caféine est une molécule hydrophobe après sa liaison à l'albumine,, elle pénètre à travers toutes les membranes cellulaires ainsi qu'à travers la barrière hémato-encéphalique contrairement à ses métabolite : les diméthylxanthines.

La caféine traverse la barrière foeto-placentaire, elle est présente dans tous les fluides de l'organisme [28].

Elle peut être dosée dans le sang du cordon ombilical, dans la bile et dans la salive par des techniques chromatographiques ou sa concentration varie entre 65% et 85% par rapport à celle du plasma,

6.3. Métabolisme

La caféine subit dans les microsomes hépatiques des déméthylations successives et une oxydation en C8.

La déméthylation donne lieu à la formation de diméthylxanthine comme l'illustre le schéma ci-dessous.

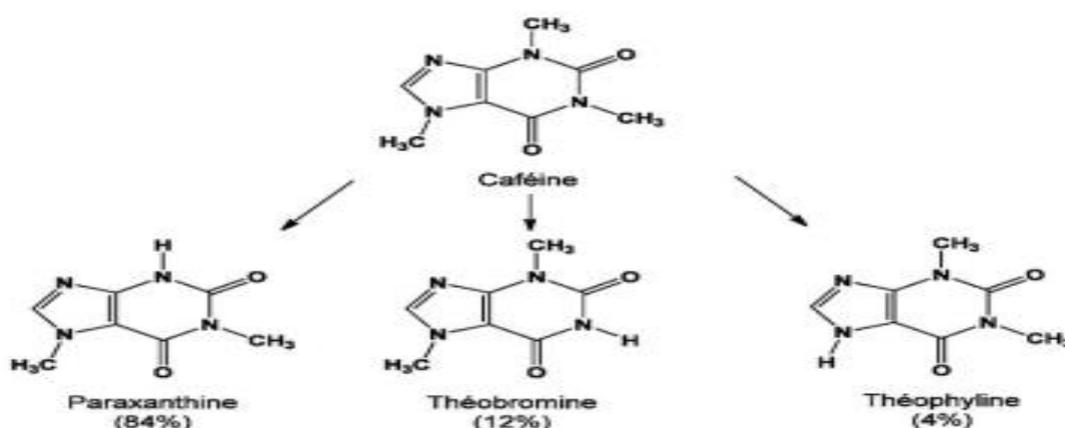


Figure 7: Métabolisme de la caféine entraînant la formation de diméthylxanthine [29].

Le métabolisme de la caféine aboutit à la paraxantine (84%) qui stimule la lipolyse, la théobromine (12%) a un l'effet diurétique et permet la dilatation des vaisseaux sanguins et la théophylline (4%) relaxe les muscles des bronches ; il s'agit ici d'une molécule qui est utilisée dans le traitement de l'asthme, celles-ci seront ensuite métabolisées et excrétées dans les urines.

La 1- méthylxanthine est transformée en acide 1- méthylurique par son oxydation en C8 par la xanthine oxydase. Chez le fœtus et le nouveau-né, l'immaturation de système enzymatique microsomal hépatique explique la demi-vie de la caféine qui est plus longue que chez l'enfant ou l'adulte.

La 3-méthylxanthine, première étape métabolique de la caféine chez l'homme, conduit à la formation de paraxanthine qui représente 72 à 80% du catabolisme de la caféine [30].

Le métabolisme de la caféine est influencé par de nombreux facteurs endogènes et exogènes :

- Au cours de l'exercice physique qui induit une élévation de l'activité des cytochromes P-450 ;
- Durant la gestation : au cours du dernier trimestre, les activités du p-450 1A2 de la xanthine –oxydase et de l'acétyl transférase sont diminuées ;
- La consommation du tabac accélère la déméthylation de la caféine en diméthylxanthine et celle des diméthylxanthines en monométhylxanthine, l'activité de la xanthine oxydase est diminuée chez les fumeurs ;
- Prise des médicaments.

6.4. Elimination de la caféine

La caféine est éliminée sous forme de diméthylxanthine (théophylline, théobromine, para xanthine), de monométhyl-xanthine et des dérivés méthylés d'acide urique.

Certains médicaments modifient la pharmacocinétique de la caféine mais inversement, la caféine peut diminuer ou accroître les effets de certains médicaments [31].

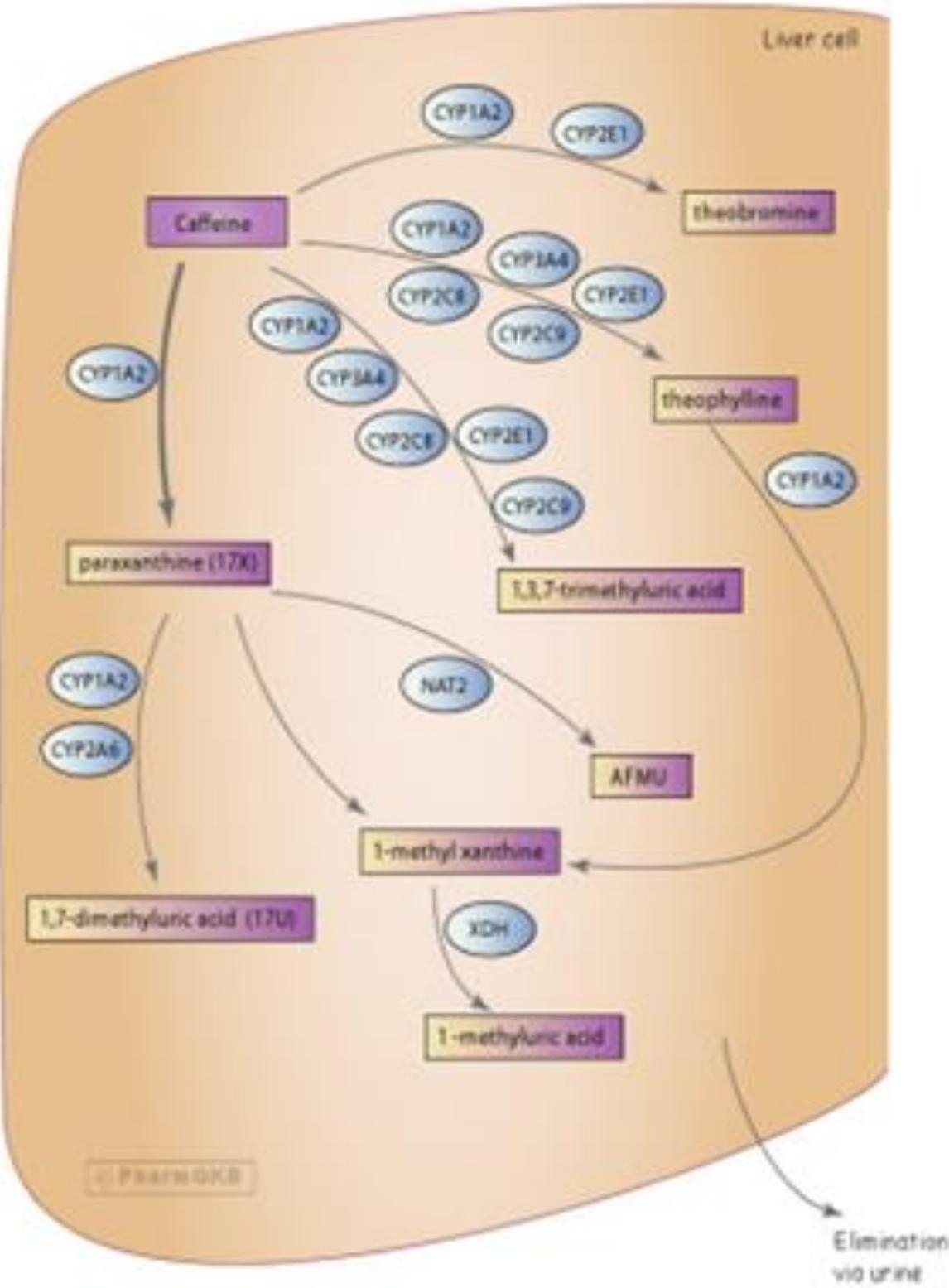


Figure 8: Métabolisme de la caféine.

7. Intérêt thérapeutique et utilisation

La caféine est présente dans les trois boissons chaudes habituellement associées à nos petits-déjeuners : café, thé, le chocolat, on la trouve aussi dans les boissons industrielles comme les sodas de la série du « cola » [32].

Dans le domaine thérapeutique, on peut trouver la caféine sous forme de caféine citrate qui est utilisée en néonatalogie comme stimulant respiratoire centrale en cas d'une apnée du prématuré, car La caféine fait partie des stimulants respiratoires non spécifiques agissant surtout au niveau du cortex [33].

La caféine est un antagoniste de l'adénosine qui est un neurostimulant du système nerveux centrale, sa présence engendre un ralentissement de l'activité nerveuse, donc la caféine exerce un effet opposé de ce dernier en provoquant une vigilance [34].

Des études du Dr Solfrizzi en Italie ont montré que La consommation modérée régulière du café peut avoir un effet neuroprotecteur en s'opposant au développement des plaques de protéine bêta-amyloïde, principal déclencheur de la maladie d'Alzheimer.

Chez l'homme, la caféine améliore aussi la sensibilité à l'insuline, ce qui est intéressant pour le cerveau, car le diabète mal équilibré peut influencer la mémoire [35].

La caféine induit également un léger effet diurétique proposé à des fins amaigrissantes surtout, et provoque une augmentation des sécrétions gastriques.

La caféine va également agir en inhibant la phosphodiesterase (PDE), ce qui bloquera la dégradation de l'AMPc (figure 8):

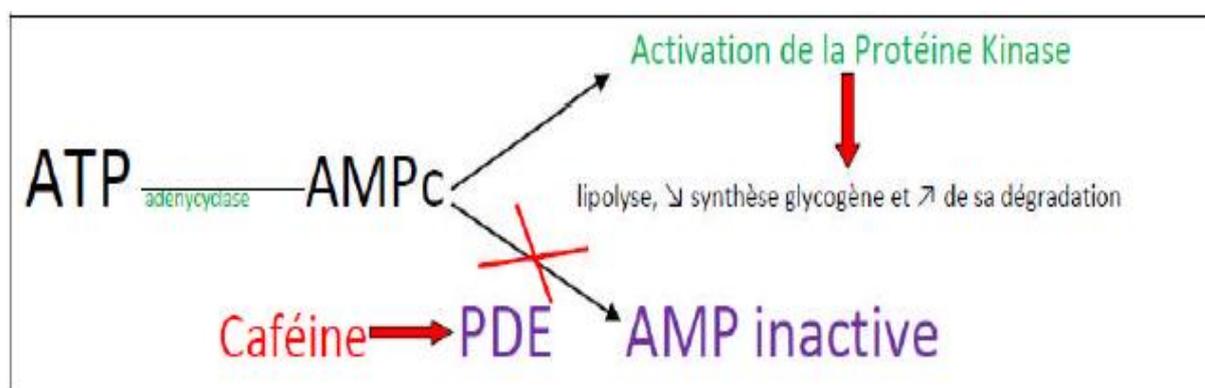


Figure 9: Action de la caféine sur la phosphodiesterase (PDE)

Cette inhibition enzymatique explique l'augmentation de la thermogénèse observée chez l'homme et l'effet lipolytique *in vitro* sur des adipocytes [36, 37].

Cliniquement, la consommation de caféine à raison de (100 à 400 mg/jour) augmente la thermogénèse et la dépense énergétique. Ces résultats sont plus marqués chez les personnes minces qu'obèses [38].

- **Sur le plan digestif**

La caféine a une action relaxante sur les muscles lisses intestinaux, cette action soulage un peu le syndrome de l'intestin irritable qui est aussi nommé syndrome du côlon irritable, il s'agit d'un trouble digestif qui se caractérise par des malaises ou des sensations douloureuses au ventre, ces malaises sont associés à la modification de la vitesse de passage des aliments dans le côlon, appelé aussi gros intestin [36], et cela est dû à une augmentation d'AMPc des cellules musculaires [37].

Par ailleurs chez certaines personnes, la prise d'une tasse de café le matin permet d'assurer une régularité intestinale.

Toutefois, la libération du calcium intracellulaire induite par la caféine provoque une contraction brève des cellules musculaires lisses [39].

- **Sur le foie**

Une corrélation positive entre la consommation du café et l'excrétion urinaire de l'acide D-glucurique a été constatée lors d'une enquête concernant 124 hommes végétariens ne recevant pas de médicaments [39].

La caféine à la dose de 200 mg / j est considéré comme un inducteur des enzymes microsomiales hépatiques, responsables de la stimulation de la voie de l'acide glucuroniques du métabolisme des glucides.

Cet effet de la caféine est utilisé en clinique pour tester l'activité du cytochrome P448 hépatique, enzyme nécessaire pour les réaction de la déméthylation de la caféine [40].

En revanche, la mesure des taux plasmatiques de la caféine ne constitue pas un bon test de la fonction hépatique.

- **Sur l'appareil respiratoire**

L'absorption de la caféine chez un adulte stimule la ventilation, cependant, l'intensité de cette dernière varie en fonction de la quantité et de la fréquence de la consommation du café [41].

Chez les sujets qui sont des buveurs occasionnels du café, la consommation d'une dose équivalente à 250 mg de caféine accroît la fréquence respiratoire de 20 %.

Des doses de caféine plus élevées de l'ordre de 300 à 500 mg, augmentent la ventilation par minute (ou bien par jour) chez les malades qui ont une broncho-pneumopathie chronique obstructive [42].

Caféine et asthme :

Selon une enquête épidémiologique italienne concernant 72 248 sujets, la prévalence de l'asthme est inversement proportionnelle à la quantité du café consommé, les auteurs de cette étude suggèrent que la consommation du café à long terme pourrait prévenir les manifestations cliniques de l'asthme.

Les données de la NHANES révèlent que chez les personnes qui boivent régulièrement du café, le risque de présenter des symptômes de la maladie asthmatique est réduit de 29% par rapport aux non consommateurs.

La prise de la caféine à raison de 10 mg/kg provoque chez les jeunes asthmatiques une dilatation des bronches qui survient dans un délai de 2 heures (3 tasses de café = 450 mg de caféine = 200mg de théophylline).

L'augmentation de la production de la prostacycline par la caféine pourrait expliquer son action préventive de la crise d'asthme,

En effet, la prostacycline provoque une vasodilatation bronchique et réduit l'augmentation du gradient thermique dû à l'exercice physique.

- **Sur le système nerveux central**

En ce qui concerne l'action de la caféine sur la mémoire, l'apprentissage et les performances mentales : la mémoire n'est pas améliorée mais la réponse tend à être plus rapide et plus vive [43].

Les performances intellectuelles comme la lecture et le calcul arithmétique sont légèrement améliorés.

La caféine permet l'amélioration de la performance grâce à la diminution de la sensation de la fatigue [44].

L'éveil et la vigilance : La caféine a un effet anti hypnotique, on trouve également des effets sur l'humeur et l'attention, dose-dépendants. Selon les individus et les doses, la caféine peut être un facteur favorisant le trac.

8. Effets indésirables de la caféine

8.1. Sur le système nerveux central

Les grands consommateurs de caféine ont des performances moins bonnes que les plus faibles consommateurs dans un test de raisonnement verbal (un *test psychologique* qui a pour but d'évaluer la capacité de compréhension verbale, la mémoire, la capacité de compréhension numérique aussi la capacité de raisonnement déductif et inductif et motivation...).

La caféine peut induire des tremblements du bras et des mains observés après l'administration de 300 à 900 mg de caféine [45].

Elle peut également aggraver les tremblements du bras et des mains observés dans le cas de la maladie de parkinson ou au cours de traitement par le lithium [46].

Elle potentialise les effets de l'alcool et du tabac [47].

A des doses élevées: la caféine peut rendre l'individu: nerveux et peuvent produire des effets anxiogènes significatifs et des perturbations du sommeil.

8.2. Sur le système cardiovasculaire

La caféine peut agir en synergie avec le stress pour potentialiser ses effets sur le système cardiovasculaire en particulier, sur la pression artérielle en augmentant la résistance vasculaire systémique, et les concentrations plasmatiques du cortisol.

Elle entraîne aussi une accélération du rythme cardiaque pouvant causer des palpitations [48].

Certaines personnes, génétiquement prédisposées, métabolisent la caféine lentement, elles sont plus exposées aux troubles cardiaques que les personnes qui la métabolisent rapidement. Cette particularité génétique dans la population pourrait expliquer les résultats parfois contradictoires obtenus dans les études sur les effets de la caféine [49, 50, 51].

8.3. Phénomène de dépendance et de sevrage

Chez les consommateurs habituels de caféine : la suppression de cette boisson entraîne des symptômes tels qu'une sensation de fatigue, une faiblesse, une somnolence, des maux de tête, tension musculaire accrue, des étourdissements, une irritabilité, ces différents symptômes de Cette dépendance physique disparaissent rapidement après l'absorption de la caféine [52].

8.4. Reflux et ulcère d'estomac

La caféine, en augmentant la production d'acide gastrique dans l'estomac, peut aggraver le reflux gastro-oesophagien et les ulcères d'estomac mais attention, le café décaféiné peut aussi causer des problèmes d'estomac, car d'autres composés du café (méthylxanthines) augmentent également la sécrétion d'acide dans l'estomac [53].

8.5. Déshydratation

Au-delà d'une certaine quantité de caféine par jour, soit 225 mg (1 à 2 tasses de café ou 5 à 6 tasses de thé), il y a une augmentation de la production d'urine, sans toutefois mener à la déshydratation. Cet effet de la caféine peut s'avérer néfaste chez les personnes souffrant d'incontinence urinaire ou d'un problème de prostate [54].

8.6. Caféine, grossesse et allaitement

La caféine stimule le système nerveux de la femme et du fœtus, ce qui peut perturber le sommeil. La caféine peut augmenter le risque d'avortement spontané, communément appelé fausse-couche [54, 55].

8.7. Caféine et interactions alimentaires et médicamenteuses

Le jus de pamplemousse augmente la quantité de caféine circulant dans le sang, ce qui résulte en une amplification des effets négatifs de la caféine, comme l'irritabilité, les maux de tête et l'insomnie.

De même, la prise concomitante de l'alcool, des contraceptifs oraux et des œstrogènes augmente aussi les effets négatifs de la caféine [53].

9. Consommation de caféine

L'évaluation de la consommation de caféine est difficile, En effet ses sources alimentaires ou pharmaceutiques sont diverses, et ses concentrations sont variables dans les différents aliments et boissons [54, 55].

Tableau I : Teneur en caféine dans les différents boissons et produits alimentaires [54, 55].

Produit	Volume(l) ou Poids (kg)	Teneur en caféine (mg)		Référence
		marge de variation	Moyenne	
Café torréfié et percolation	507	64-124	83	Burg (1975 a)
	507	40-170	80	FDA(1984)
Café instantané	507	40-108	59	Burg (1975 a)
	507	30-120	65	FDA(1984)
Sachet de thé	507	-	42	Burg (1975 a)
	507	27-44	-	FDA(1984)
Thé glacé	1207	67-76	70	45 FDA
Feuille de thé	507	30-48	41	Burg (1975 a)
Thé instantané	507	24-31	28	Burg (1975 a)
	507	25-50	30	45 FDA Barone Robert (1984)
Cacao	507	2-20	4	45 FDA
Chocolat en lait	107	1-15	6	45 FDA
Chocolat sucré	107	5-36	50	Zoumas et al (1980)
Chocolat noir mi	107	5-35	20	45 FDA(1984)

sucré				
Chocolat cuit	107	-	35	45 FDA
Cola décaféine	607	traces	-	45 FDA
Cola diététique	607	1-29	-	45 FDA
Orange, Citron, Bière, tonic, gingembre	607	0-traces	-	National soft Drinks Association barone S Robert

9.1. Évaluation de la consommation de caféine

9.1.1 Évaluation mondiale

Selon grilbert en 1981-1982, la consommation mondiale de caféine provenant surtout du café et du thé est resumé dans le tableau II [56].

Tableau II : évaluation de la consommation mondial annuelle de caféine en 1981-1982

Source	Total (tonnes)	Consomation par personne (ng/j)
Café	64 500	38
Thé	51 500	320
Autre	4 000	70
Total	120 000	428

9.1.2. Consommation individuelle

La consommation individuelle de caféine est très variable selon les personnes.

Selon les études réalisées aux états unis et au canada par la méthode des questionnaires, la consommation moyenne de caféine chez l'adulte varie entre 186mg/j et 345 mg/j.

En 1985 à New York, les femmes consommaient 423 mg/j de caféine et les hommes 382 mg/j.

Les boissons douces représentaient 50% de l'apport en caféine chez les adultes âgés entre 18 et 24 ans [57].

9.1.3. Consommation de caféine au cours des affections psychiatriques

La consommation de la caféine est accrue au cours de certaines affections psychiatriques, elle a été estimée à 621 mg/j chez un petit groupe de 20 malades psychiatriques anglais.

Les personnes atteintes d'anorexie mentale ou de boulimie doivent éviter tout abus de boissons caféinées, une consommation de 750 mg/j de caféine a été constatée chez 14.6% des 171 malades présentant des perturbations de leur consommation alimentaire [58].

9.1.4. Consommation de caféine chez les fumeurs

L'augmentation fréquente de la consommation de caféine chez les fumeurs par rapport à celle des non-fumeurs est constamment retrouvée au cours des enquêtes, qu'il s'agit des enquêtes de consommation ou des enquêtes épidémiologiques.

La concentration plasmatique de caféine augmente lorsque la consommation de tabac cesse.

La consommation plus élevée de caféine chez les fumeurs est probablement due à la diminution de la demi-vie plasmatique de la caféine secondaire à l'intoxication nicotinique, cette augmentation de catabolisme de la caféine implique donc une augmentation de la fréquence et de l'importance de sa consommation pour maintenir le taux sanguin de caféine désiré [59].

9.1.5. Consommation de caféine chez les buveurs d'alcool

Les remarques générales qui ont été faites au sujet de l'association de tabac et de caféine sont également valables pour l'association alcool-caféine.

Bien que chez le rat la caféine diminue la consommation spontanée d'alcool, cet effet n'a pas été démontré chez l'homme, la caféine potentialise certains effets nocifs de l'alcool et inhibe d'autres chez le rat et la souris tandis que l'alcool potentialise les effets toxiques de la caféine.

La cholécystokinine réduit chez le rat la consommation d'une solution d'alcool mais ne modifie pas celle d'une solution de caféine [60].

10. Intoxication par la caféine ou caféinisme

Il est bien connu que la consommation excessive de caféine provoque des symptômes

de nervosité, d'agitation, d'anxiété et d'insomnie.

La plupart des patients souffrant de caféinisme développent une variété des symptômes aussi bien nerveux que gastro-intestinaux ou cardiaques après la consommation des quantités variables de caféine mais, en générale supérieure à 250mg.

Le diagnostic du caféinisme inclut des épisodes maniaques, une panique, une anxiété et un hyperthyroïdisme.

Chez l'adulte, la dose aiguë létale de caféine semble se situer aux alentours de 5 à 10g par voie intraveineuse ou orale.

Des doses de 100 mg/ kg de poids corporel représentent un danger d'empoisonnement observé chez les enfants.

Les signes d'empoisonnements observés sont: agitation, excitation, convulsions, tachycardie, coma avec mort par: œdème pulmonaire [61, 62, 63]

Des doses supérieures à 500 mg peuvent provoquer:

- **Sur le tissu cutané et sur les muqueuses:** des manifestations allergiques, il s'agit le plus souvent d'eczéma hyperkératosique ou vésiculaire de la main ou l'eczéma des régions génitales ou anales [64];
- **Sur le tissu dentaire** : la surface de l'émail des premières molaires est insuffisamment minéralisée ce qui pourrait favoriser la survenue des caries dentaires [65];
- **Sur la fonction hypothalamo-hypophysaire:** diminution de la sécrétion de TSH [66];
- **Sur l'appareil urinaire:** la caféine peut aggraver les troubles d'évacuation de la vessie [67];
- **Sur l'appareil oculaire:** des manifestations allergiques oculaires et diminution du flux sanguin au niveau de la circulation maculaire [68];
- **Sur le système cardio-vasculaire** : chez les non consommateurs de café, la pression artérielle s'élève modérément (3 mm Hg) 15 à 90 minute après ingestion de 150 à 970 mg de caféine puis revient à sa valeur initiale 3 à 4 heures plus tard.

Cette augmentation de la pression artérielle est due à l'action vasoconstrictrice des artères périphériques sous l'effet de l'adénosine [69];

- **Sur le métabolisme des glucides:** hyperglycémie chez les sujets obèses ou/et diabétiques par une action inhibitrice directe sur les cellules bêta du pancréas [70];

- **Chez les femmes enceintes:** la consommation de caféine doit être modérée et répartie dans la journée afin d'éviter:

-Un risque d'apnée du nouveau-né lors de sa naissance;

-Un risque de mal formation congénital;

-Risque d'avortement spontané;

-Mort-né;

-Retard de développement et de croissance;

-Faible poids de naissance.

Selon une étude réalisée au Costa Rica, l'absorption quotidienne de caféine par les femmes au cours de la grossesse induit une réduction de l'hémoglobine et de l'hématocrite par rapport à des femmes non consommatrices de caféine, ces résultats montrent que la consommation maternelle de caféine pourrait interférer avec la mobilisation du fer hépatique vers les sites d'hématopoïèses. [71,72,73].

Partie expérimentale

Extraction et caractérisation de la caféine

Dans cette partie, nous allons traiter l'extraction et la caractérisation de la caféine obtenue à partir du thé :

- L'extraction, les réactions chimiques, les tests de coloration, de limpidité, de solubilité ainsi que la perte à la dessiccation ont été réalisés au niveau du laboratoire de chimie thérapeutique du département de pharmacie de la faculté de médecine de l'université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou
- L'analyse par HPLC, par spectrophotomètre UV, le test d'acidité et la CCM ont été réalisés au niveau du laboratoire de chimie analytique de la même faculté.
- L'analyse par spectroscopie infrarouge a été réalisée au niveau du laboratoire de contrôle physico-chimique de l'unité Sidal de gué de constantine à Alger .
- La détermination du point de fusion a été faite au niveau du laboratoire de chimie pharmaceutique au département de chimie de la Faculté Mouloud Mammeri .

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Appareillage

Tableau III : Appareils utilisés pour l'extraction, la caractérisation et l'identification de la caféine

Appareil	Spécifications
Balance analytique	ABT220-5DM,KERN
Machine à glace	Machine à glace
Plaque chauffante	STUART-HEAT-Stir/SB162
Agitateur magnétique	STUART-HEAT-Stir/SB162
Hotte	KOTTERMAN.

Hotte	KOTTERMAN.
Rotavapeur	ROTARY EVAPORATOR.HS-2005V
Pompe à vide	NEUBERGER LABOPORT
ULTRA-SONS	Fisher Brand
Point de fusion	Stuart
Spectrophotomètre UV-Visible	Perkin Elmer
Spectrophotométrie infrarouge	PerkinElmer SPECTRUM TWO
HPLC	HPLC SHIMADZU
Chambre de migration	En gel de silice
Lamp UV	Vilbert lourmart
ETUVE	BINDER
Chauffe ballon	Eurosmart

1.1.2. Verrerie et autres

Tableau IV: Verrerie et matériel utilisés pour l'extraction de la caféine :

Verrerie	Autres
<ul style="list-style-type: none"> - fiole -micropipette - cristallisoirs - Béchers -Verre de montre -Pipette graduée , jaugée -Burette -Eprouvette -Ballon à fond rond -Réfrigérant à reflux -Pince en bois - ampoule a décanté . 	<ul style="list-style-type: none"> -Pissette -Spatule -Papier filtre -Poire -portoirs -porte ballon -pince à ballon et pince à burette -pince en bois

1.2 Méthodes

1.2.1 Extraction de la caféine

- Réactifs utilisés pour l'extraction de la caféine

Tableau V : Réactifs utilisés pour l'extraction de caféine

Réactifs	Provenance	Données physico-chimiques	Précautions
Eau distillée	Préparée avec le distillateur LAB-TECH	-formule brute : H_2O -N cas : 7732-18-5 -Mr : 18g/mol -Pf : 0°C a 1 bar -Pe:100°C -densité: 1g/cm ⁻³	
Dichlorométhane		-formule brute : CH_2Cl_2 -N cas : 75.09-2 -Mr : 84.39g/mol -Pf : -95.1°C -Pe:39.6°C -densité: 1.326g/cm ⁻³	
Chlorure de calcium		-formule brute : $CaCl_2$ -N cas : 10043-52-4 -Mr : 110.98g/mol -Pf : 772°C -Pe:1935°C -densité: 2.15g/cm ⁻³	
Ethanol	SIGMA-ALDRICH	-formule brute : CH_2H_6OH -N cas : 64-17-5 -Mr : 46.07g/mol -Pf : -114°C -Pe:79°C -densité: 0.79g/cm ⁻³	
Carbonate de calcium	SIGMA-ALDRICH	-formule brute : $CaCO_3$ -N cas : 207-439-9 -Mr : 100.087g/mol -Pf : 825°C (decomposition) -Pe:décomposition -densité: 2.9g/cm ⁻³	

➤ **Protocole d'extraction**

- **Préparation du mélange : il s'agit d'une extraction solide-liquide**
- **1^{ère} méthode :**

- Préparer un montage de chauffage à reflux simple comportant : un chauffe ballon, un ballon à fond rond, un réfrigérant à reflux qui limite la perte de matières sous forme de vapeurs ;

- Introduire 15g de feuilles de thé, 8g de carbonate de calcium et 150ml d'eau dans un ballon à fond rond de 250ml ;

- Ajouter quelques pierres ponce et porter à ébullition pendant 30min ;

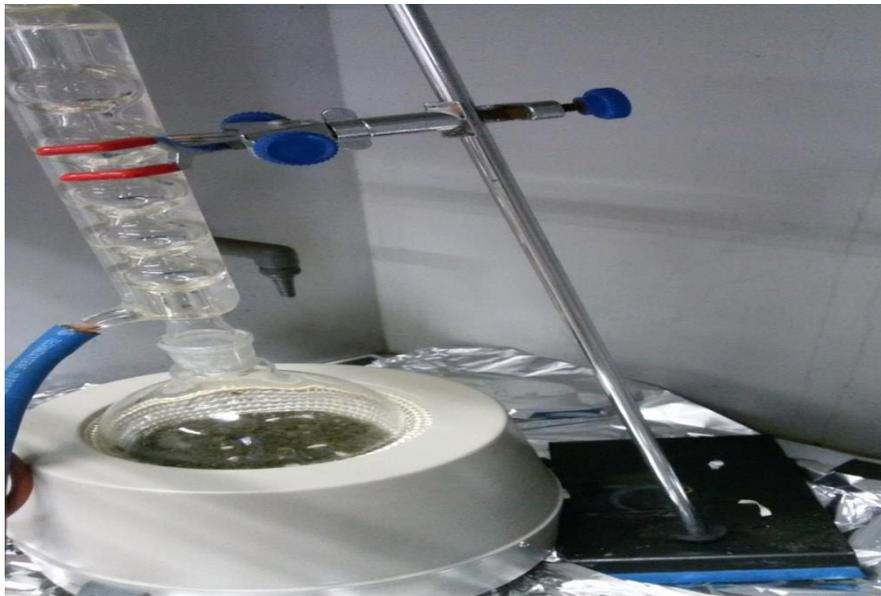


Figure 10 : Montage du chauffage à reflux.

-Laisser le mélange se refroidir dans un bain de glace pendant 5 à 10min ;

-Filtrer les feuilles de thé en les pressant pour enlever tout le liquide qu'elles contiennent, le mélange est destiné pour la décantation ;



Figure 11 : Filtration et élimination des déchets.

- **2ème méthode**

Dans un bécher de 250ml, verser 150ml d'eau et quelques pierres ponce, chauffer sur plaque chauffante pendant 30min à 150 °C.



Figure 12: Chauffage de l'eau distillée.

-Introduire 4 sachets de thé (2g pour chacun) dans le bécher et laisser pendant 5min ;

-Enlever les sachets de thé en les pressant pour récupérer tout le liquide qu'elles contiennent ;

-Verser 2g de carbonate de calcium dans le mélange et laisser pendant 5min.

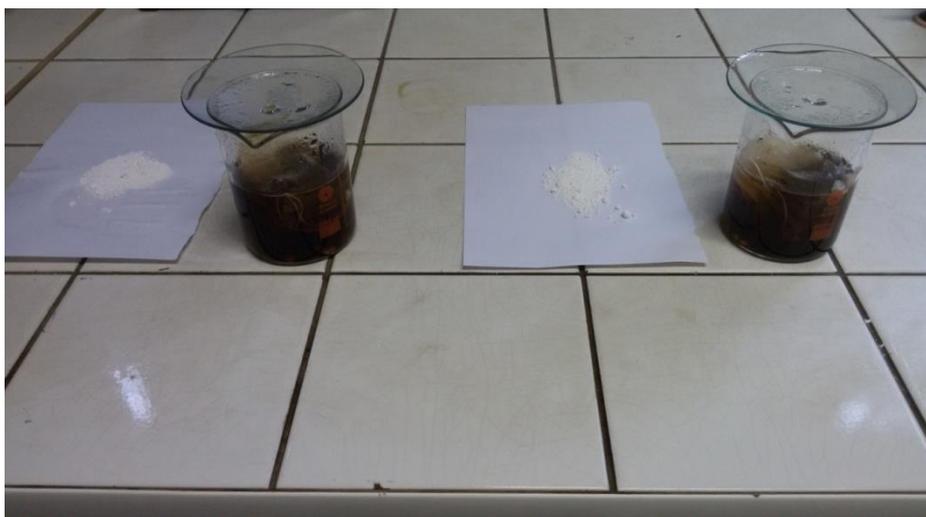


Figure 13: Infusion du thé dans l'eau chaude.

- Laisser le mélange se refroidir dans un bain de glace pendant 5 à 10min.

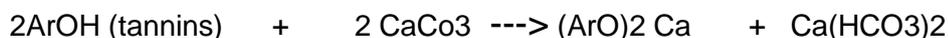


Figure 14: Refroidissement du thé préparé.

-Le mélange est destiné pour la décantation.

- **Rôle du carbonate de calcium**

Dans un milieu basique, le carbonate de calcium permet d'ioniser les composés possédant des fonctions acides (dans ce cas les tanins) et vont rester dans la phase aqueuse alors que la caféine passe dans la phase organique selon la réaction :



- **Rôle des pierres ponce**

Elles n'ont pas de rôle chimique, elles jouent un rôle mécanique dont l'effet est de réguler l'ébullition du mélange : cela permet d'éviter la formation des grosses bulles qui projettent le milieu réactionnel sur les parois du ballon et du réfrigèrent .

➤ **Décantation : il s'agit d'une extraction liquide-liquide**

La décantation est un procédé permettant la séparation de deux phases liquides non miscibles de densités différentes ; afin de procéder à une extraction liquide-liquide ,dans la majorité des cas, l'une des phases est aqueuse, l'autre est organique, la phase organique étant souvent moins dense que la phase aqueuse, excepté pour le cas des solvants halogénés.

Pour séparer les deux phases on utilise l'ampoule à décanter :

- Fixer un anneau à l'aide d'une noix de serrage sur un support et placer l'ampoule à décanter ;

- Verser la solution à extraire dans l'ampoule puis ajouter le solvant d'extraction (20ml de dichlorométhane), fermer avec un bouchon rodé pour éviter l'évaporation du composé volatil ;
- Prendre l'ampoule avec les deux mains ;
- Renverser l'ampoule, l'orienter vers une paroi et ouvrir doucement le robinet afin d'éviter les surpressions, agiter vigoureusement en laissant dégazer de temps en temps, dans tous les cas, bien maintenir le bouchon avec le pouce ;
- Vérifier que le robinet est fermé puis replacer l'ampoule à décanter sur son support et ôter le bouchon ;
- Laisser les liquides non miscibles se séparer : les deux liquides non miscibles se séparent progressivement, jusqu'à ce qu'on observe deux phases bien distincte ;.



Figure15: Décantation du mélange réactionnel

- Récupérer la phase organique dans un bécher ;
- Recommencer l'opération deux fois ;
- Les phases organiques réunies sont ensuite séchées.



Figure 16: Phases organiques réunies.

- **Séchage de la phase organique**

Le séchage d'un composé organique liquide permet d'éliminer les traces d'eau que contient le produit après sa synthèse ou son extraction.

Les desséchants chimiques sont des solides inorganiques qui fixent l'eau lorsqu'ils sont ajoutés au milieu humide. Ils sont choisis parmi des sels anhydres susceptibles de s'hydrater : MgSO_4 (le plus efficace) Na_2SO_4 , CaCl_2 (pour les hydrocarbures et les dérivés halogénés).

Le choix de desséchant tient compte des critères suivants :

- ✓ Il ne doit pas provoquer de réaction chimique avec le liquide organique à sécher ;
- ✓ Il doit avoir un pouvoir desséchant efficace et rapide ;
- ✓ Il ne doit pas se dissoudre dans le liquide à sécher ;
- ✓ Il doit être aussi économique que possible.

Pour sécher la caféine extraite :

- Placer une pointe de spatule de desséchant (on utilise le CaCl_2) dans un erlenmeyer contenant le liquide, agiter doucement ;
- Continuer à ajouter le desséchant jusqu'à ce que les cristaux ne s'agglomèrent plus et forment des cristaux très fins ;
- Boucher l'erlenmeyer et agiter quelques minutes ;
- La solution après séchage doit être limpide ;
- Le desséchant hydraté est éliminé par filtration à l'aide d'un entonnoir posé sur un anneau et muni d'un papier filtre plissé ;
- Le liquide organique est recueilli dans un erlenmeyer sec



Figure17 : Séchage par le chlorure de calcium

- **Distillation de la phase organique et récupération de la caféine**

La distillation est une méthode de séparation basée sur la différence de température d'ébullition des différents liquides qui composent un mélange.

Si on chauffe un mélange de liquides, c'est le liquide le plus volatil : celui qui a la température d'ébullition la plus basse qui s'échappera le premier.

Dans notre travail, nous avons utilisé un évaporateur rotatif et une plaque chauffante.

- **Utilisation du rotavapeur**

- Le rotavapeur permet l'évaporation du dichlorométhane et sa récupération dans le ballon.



Figure 18: Distillation de la phase organique dans le rotavapeur.

- Après évaporation du dichlorométhane, la caféine reste collés sur les parois du ballon .



Figure19 : Caféine récupérée après distillation au rotarvapeur.

- **Utilisation d'une plaque chauffante**

Mettre le bécher contenant le mélange sur une plaque chauffante réglée à 100°C jusqu'à évaporation complète du liquide. La caféine reste dans le bécher.

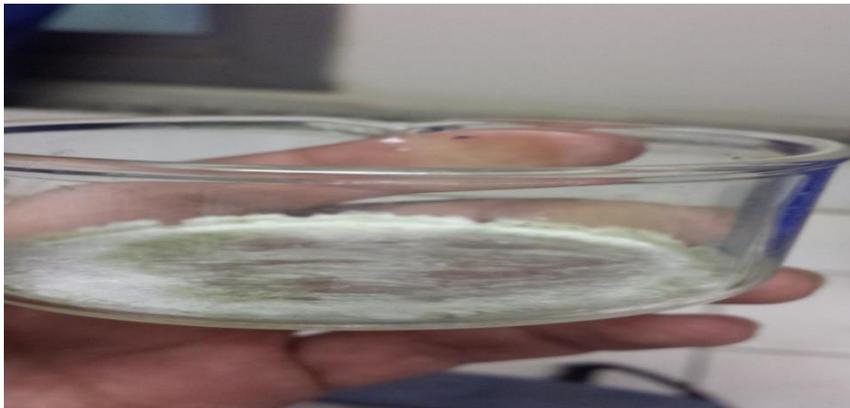


Figure 20 : Caféine récupérée après évaporation du dichlorométhane sur plaque chauffante

- **Purification de la caféine extraite par recristallisation**

- Dissoudre le résidu solide (la caféine), restant au fond du ballon de distillation ou dans le bécher dans 10ml d'éthanol absolu à chaud jusqu'à dissolution complète.



Figure 21 : Caféine récupérée avant la recristallisation.

-Refroidir le mélange dans un bain de glace.



Figure 22 : Caféine récupérée après la recristallisation.

- **Filtration**

-Réaliser une filtration sous vide afin d'éliminer l'éthanol absolu et récupérer la caféine (sur le papier filtre).



Figure 23: Montage de la filtration sous vide.



Figure24: Caféine finale.

- **Calcul du rendement de l'extraction**

-Le rendement est le rapport de masse expérimentale sur la masse théorique. Il est exprimé en pourcentage (%).

$$R\% = \frac{\text{masse expérimentale}}{\text{masse théorique}} \times 100$$

-Masse expérimentale : il s'agit de la masse de la caféine extraite à partir de 100g de thé.

-Théoriquement 100g de thé noir contient 1.16g de caféine alors que 100g de thé vert contient 0.96g.

TableauVII : Teneurs en caféine dans les différents types de thé [74]

Nom du thé	Type	Pays	Poids	T ⁰	Temps	Concentration caféine	en
<i>Darjeeling Sungma</i>	Noir	Inde	5 g	80 °C	3,5 min	58 mg	
<i>Tai ping hou kui</i>	Vert	Chine	5 g	85 °C	6 min	50 mg	
<i>Long jing shi feng</i>	Vert	Chine	5 g	80 °C	4,5 min	48 mg	
<i>Assam banaspaty</i>	Noir	Inde	5 g	95 °C	3,5 min	22 mg	
<i>Darj. sungma d'automne**</i>	Noir	Inde	5 g	95 °C	3,5 min	16 mg	
<i>Perles de dragon (jasmin)</i>	Vert	Chine	5 g	85 °C	3,5 min	13 mg	

1.3. Caractérisation et identification de la caféine

1.3.1 Caractères organoleptique et solubilité

a. Aspect et odeur

Nous avons vérifié l'aspect par une simple observation visuelle du produit extrait ; et nous avons aussi vérifié l'odeur de ce dernier.

b. Test de solubilité

La solubilité d'un composé dans un solvant est la quantité maximale pouvant passer en solution dans un volume donné, au-delà, la solution est saturée et le composé ne se dissout plus, elle est exprimée en g/l ou en mol/l.

Tableau VIII: Tableau exprimant la solubilité d'une substance

Les termes descriptifs	Volumes approximatifs de solvant en ml/g de substance
Très soluble	Inférieur à 1
Facilement soluble	de 1 à 10
Soluble	de 10 à 30
Assez soluble	De 30 à 100
Peu soluble	De 100 à 1000
Très peu soluble	De 1000 à 10000
Pratiquement insoluble	Plus de 10000

2 Réactifs utilisés

Tableau IX : Tableau des réactifs utilisés pour le test de solubilité

Réactifs	Données physico-chimiques	Précautions
Eau distillé	<p>Formule brute : H_2O Masse molaire : 18 g/ mol Moment dipolaire : 1.8546 D <pka =="" pke="14.0<br/"> T° fusion : 0 °C à 1,013 25 bar T° ébullition : 100 °C à 1,013 25 bar₂, 100,02 °C± 0,043 Masse volumique : 1 000,00 kg·m-3 à 4 °C 998,30 kg·m-3 à 20 °C 958,13 kg·m-3 à 100 °C (liquide) 726,69 kg·m-3 à 300 °C - 15,5 MPa₂</pka></p>	
Ether de pétrole	<p>Formule brute : $CH_2-(CH_2)_n-CH_3$ Point d'ébullition: 40-60 °C (1013 hPa) Densité: 0,645-0,665g/cm³ (20 °C) Température de stockage: Température ambiante Point de fusion : <-80 °C</p>	
Dichloromethane	<p>Formule brute : CH_2Cl_2 Moment dipolaire : 1,14 D₂ Masse molaire : 84,933 ± 0,005 g/mol C 14,14 %, H 2,37 %, Cl 83,48 %, Masse volumique : 1,33 g·cm-3₁ T° fusion : -95,1 °C₁ T° ébullition : 40 °C₁ Miscibilité : non miscible avec l'eau point critique : 63,0</p>	
Ethanol	<p>liquide incolore, d'odeur agréable miscible à l'eau et à de nombreux solvants organiques. Formule brute : CH_3-CH_2OH Masse moléculaire : 46,07 g Température de fusion : -114,1 °C Température d'ébullition : 78,3 °C</p>	

2.Mode**opérateur**

- Dans des tubes à essai, nous avons dissout 0,1g de caféine extraite dans 2 ml d'eau distillée à froid, 2 ml d'eau distillée à chaud, 2 ml d'éthanol à 96 %, 2 ml de dichlorométhane, 2 ml d'acétone et 2 ml d'éther de pétrole.- Refaire la même chose avec la caféine de référence.- Agiter à l'aide d'un vortex les différents tubes et noter l'observation.

1.3.2 Caractérisation de la caféine par des réactions colorimétriques**a.Réaction avec le réactif de Bouchardat**

- Réactifs utilisés

Tableau X : Réactifs utilisés pour la réaction avec le réactif de Bouchardat.

Réactifs	Données physico-chimiques	Précautions
Eau distillée		
Hydroxyde de sodium	Formule brute : NaOH N° cas : 1310-73-2 Mr : 40 g/mol Pf : 318 °C Pe : 1390 °C Densité : 2.1 g/cm ⁻³	
Iode	Formule brute : I ₂ N° cas : 7553-56-2 Mr : 234 g/mol Pf : 113.7°C Pe : 184.4°C Densité : 4.93g/cm ⁻³	
Iodure de potassium	Formule brute : KI N° cas : 7681-11-10 Mr : 166 g/mol Pf : 686°C Pe : 1330°C Densité : 3.13 g/cm ⁻³	
Acide chlorhydrique	Formule brute : HCl N° cas : 7647-01-0 Mr : 36.46g/mol Pf : -30°C Pe : 48°C Densité : 1.19 g/cm ⁻³	

- **Préparation des solutions nécessaires pour la réaction colorimétrique**

Solution d'iodure de potassium iodée : dissoudre 2g d'iode et 4 g d'iodure de potassium dans 10 ml d'eau, après dissolution, compléter à 100ml avec l'eau distillée ;

Solution d'acide chlorhydrique diluée : prélever 20g d'acide chlorhydrique qui est à 46.6 ml et compléter à 100ml avec de l'eau distillée.

Solution d'hydroxyde de sodium diluée : dissoudre 8.5g d'hydroxyde de sodium dans l'eau et compléter à 100ml avec le même solvant.

Solution saturée de caféine : sachant que 1g de caféine se dissout dans 46ml d'eau à 20c⁰, une solution de 22g/l est saturée en caféine.



Figure 25 :Solutions nécessaires à la réaction colorimétrique

- **Méthode**

- Dans un récipient propre, introduire 2ml de la solution saturée de caféine avec 0.05ml de solution d'iodure de potassium iodé et 0.1ml d'acide chlorhydrique ;
- Noter l'observation ;
- Ajouter quelques ml de la solution diluée d'hydroxyde de sodium (0.1M) et noter l'observation.

B- Réaction à la Murexide

• Réactifs utilisés

TableauXI : Réactifs utilisés pour la réaction à la murexide

Réactifs	Donnés physico-chimiques	Précautions
Peroxyde d'hydrogène 10%	Formule brute : H_2O_2 N° cas : 7722-84-1 Mr : 34.01 g/mol Pf : -6 °C Pe : 102 °C Densité : 1.03 g/cm ⁻³	
Acide chlorhydrique		
Ammoniaque	- formule brute : NH_3 (aq) - N °cas : 1336-21-6 - Mr : 35.0658 g/mol - Pf : -58°C -Pe : 38 °C - Densité : 0.88 g/cm ³	
Eau distillée		

• Méthode

-Dans un verre de montre en pyrex, introduire quelques mg de caféine et ajouter 0.1 ml de solution concentrée de peroxyde d'hydrogène et 0.3ml de acide chlorhydrique dilué (50%) ;

-Evaporer sur un bain de sable ;

-Noter l'observation ;

-Ajouter 0.1ml d'ammoniaque diluée ;

-Noter l'observation.

C – Réaction avec le diméthylaminobenzaldehyde

• Réactifs utilisés

TableauXII : Réactifs utilisés pour la réaction avec le diméthylaminobenzaldehyde

Réactifs	Donnés physico-chimiques	Précautions
Diméthylaminobenzaldehyde	Formule brute : $C_9H_{11}NO$ N° cas :100-10-7 Mr :149.19 g/mol Pf :74°C Pe :176 °C Densité :1.1 g/cm ⁻³	
Acétylacétone	Formule brute : $C_5H_8O_2$ N° cas :123-54-6 Mr :100.11 g/mol Pf :-23°C Pe :140 °C Densité :0.92 g/cm ⁻³	
Hydroxyde de sodium		
Acide chlorhydrique		
Eau distillé		

• Mode opératoire

➤ Préparation des deux solutions A et D

- Solution A : contient 0.5 ml de l'acétylacétone , 5 ml de la solution diluée d'hydroxyde de sodium ,chauffer le tout 7 min au bain marie à 80 °C et laisser refroidir .

- Solution D : contient 0.2 g de diméthylaminobenzaldehyde , 4.5 ml d'eau distillée et 5.5 ml d'acide chlorhydrique.

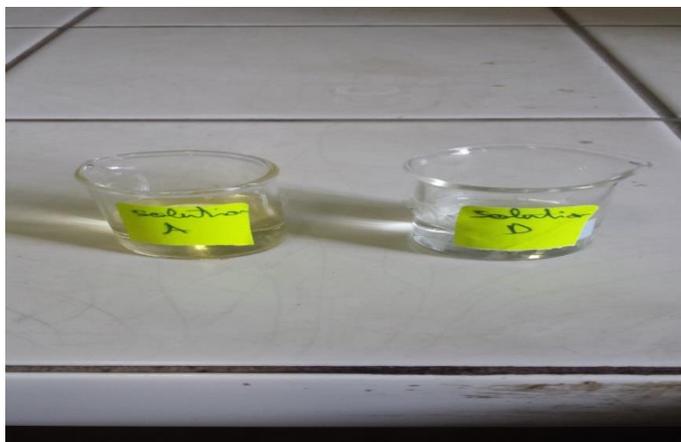


Figure 2: Solutions utilisées dans la Réaction avec le diméthylaminobenzaldehyde

- Protocole proprement dit
 - Ajouter à 0.25 ml de la solution A à l'aide d'une micropipette à 10 mg de caféine et laisser chauffer 10 minute à 80 °C au bain marin ;
 - Laisser refroidir ;
 - Ajouter 0.5 ml de la solution D et chauffer 7 minutes à 80°C ;
 - Laisser refroidir ;
 - Ajouter 10 ml d'eau distillée ;
 - Noter l'observation.

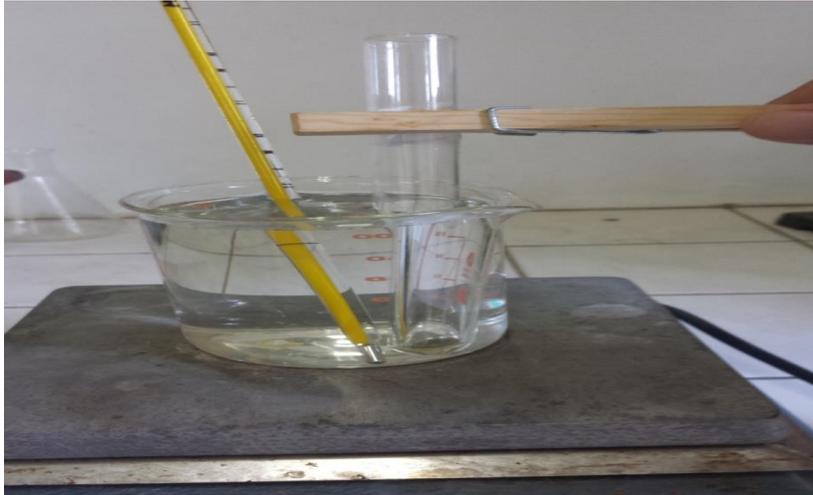


Figure 27: Bain marie utilisé dans la réaction colorimétrique.

1.3.3. Identification spectrale de la caféine

A . Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge

Il suffit de lever le bras et d'introduire quelques mg de notre poudre de caféine et le remettre, On obtient le résultat sous forme de spectre.



Figure28 : Spectrophotomètre infrarouge PerkinElmer SPECTRUM TWO

B. Spectroscopie d'absorption dans l'UV –VISIBLE

Figure 29 : Spectrophotomètre UV-VISIBLE Perkin ELmer a balayage lambda 25

- **Méthode**

- Préparation de la solution échantillon de la caféine

- Solubiliser 20mg de la caféine extraite dans une fiole de 100 ml contenant environ 80ml d'eau distillée.
- Mettre aux ultra-sons pendant 15 minutes, puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le même solvant ;
- Effectuer une dilution au 1 /10 de la solution mère dans une fiole de 50 ml ;
- Faire passer un blanc d'eau distillée et éliminer son absorbance ;
- Réaliser trois balayages pour la caféine extraite entre 200 et 700 nm.

1.3.4 Détermination du point de fusion

La température de fusion d'une espèce chimique correspond à la température à laquelle la dernière particule solide de la substance passe à l'état liquide. C'est une constante sure, dont la détermination pourra permettre à la fois l'identification de la substance ainsi que la confirmation de la pureté

- **Méthode**

-Allumer l'appareil et le chauffer à moins 5°C de la température de fusion de la caféine c'est-à-dire à 227 °C ;

-Remplir les deux tubes capillaires avec la caféine extraite ainsi que la caféine de référence environ un tiers de tube et faire chuter la caféine au fond en tapotant ;

-Noter la température de fusion lorsque l'appareil sonne .



Figure 30 : Appareil de point de fusion Stuart

1.3.5 Détermination de la teneur en principe actif par HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance)



Figure 31 : Appareil HPLC SHIMADZU

- **Réactifs utilisés**

Tableau XIII: Réactifs utilisés pour le dosage de la caféine

Réactifs utilisés	Propriétés chimiques	physico-chimique	Précaution
Méthanol HPLC grade	Formule chimique : CH_3OH Masse molaire : 32.04 g/mol PE : 64.6 °C (1013HPa) Densité : 0.79g/cm ³ (20 °C) Point d'éclair : 11 °C		  

b. Méthode :**• Préparation de la phase mobile**

-Dans une fiole de 100 ml , verser 40 ml de méthanol grade HPLC ;

-Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge ;

-Filtrer la solution préparée à l'aide du dispositif de filtration sous-vide en utilisant des filtres SUPELCO, fermer la fiole après filtration afin d'éviter l'évaporation du méthanol ;

-Verser la solution dans le réservoir de la phase mobile (40% méthanol / 60% eau distillée).

• Préparation de la solution échantillon (caféine extraite)

-Solubiliser 20mg du produit d'extraction dans une fiole de 100 ml contenant environ 80ml d'eau distillée ;

-Mettre aux ultra-sons pendant 15 minutes, puis compléter jusqu'au trait de jauge avec le même solvant (eau distillée) ;

-Effectuer une dilution au 1 /10 de la solution mère dans une fiole de 50 ml ;

-Remplir les viols et passer à l'analyse par HPLC.

• La formule utilisée pour le calcul de la teneur en principe actif

$$\text{Titre(\%)} = (\text{Aire échantillon} / \text{Aire standard}) \times [\text{standard}] / [\text{échantillon}] \times \text{Titre de la substance active (estimer à 100\%)}$$

C. Caractéristiques

- **volume d'injection** : 20 microlitres.
- **débit d'injection** : 1 ml/min.



Figure 32 : Pompe d'injection de l'HPLC SHIMADZU

- colonne : C18 (figure33)



Figure 33 : Colonne C18 de l'HPLC SHIMADZU

- longueur d'onde : 283 nm(
- mode de détection spectrophotométrique : Ultra-violet Visible



Figure 34 : Détecteur spectrochromatographique UV visible de l'HPLC SHIMADZU .



Figure 35 : Serveur de communication de l'HPLC SHIMADZU.

1.3.6 Recherche des impuretés par Chromatographie sur couche mince (CCM)

- Réactifs utilisés :

Tableau XIV : Réactifs utilisés pour la CCM

Réactifs	Données physico-chimiques	Précautions
Méthanol	- formule brute : CH_3OH - N °cas : 67-56-1 Mr : 32.0419 g/mol - Pf : -98°C -Pe : 65 °C - Densité : 0.792g/cm^3	 
Acétone	- formule brute : $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ - N °cas : 67-64-1 - Mr : 58.0791g/mol - Pf : -94.6°C -Pe : 56.05°C - Densité : 0.784g/cm^3	 
Ammoniaque	- formule brute : $\text{NH}_3(\text{aq})$ - N °cas : 1336-21-6 - Mr : 35.0658g/mol - Pf : -58°C -Pe : 38°C - Densité : 0.88g/cm^3	 
Butanol	- formule brute : $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ - N °cas : 71-36-3 - Mr : 74.1216g/mol - Pf : -90°C -Pe : 117°C - Densité : 0.81g/cm	

Dichlorométhane	<ul style="list-style-type: none">- formule brute :- N °cas :- Mr :-Pf :- Pe :-Densité :	
-----------------	---	---

- **Préparation des solutions**

-Solution témoin : dissoudre 0.2 mg de caféine de référence SCR dans un mélange de 4 ml de méthanol et 6 ml de chlorure de méthylène, compléter à 10 ml avec le même mélange de solvants.

-Solution à examiner :dissoudre de 0.2 mg de caféine extraite dans un mélange de 4 ml de méthanol et 6 ml de chlorure de méthylène, compléter à 10 ml avec le même mélange de solvants.

- Phase mobile :est un mélange de 10 ml d'ammoniaque concentrée, 30 ml d'acétone, 30 ml de chlorure de méthylène et 40 ml de butanol.

- **Mode opératoire**

-Utiliser une plaque recouverte de gel de silice ;

-Satuer la chambre avec la phase mobile avant de passer à la migration ;

-Déposer 10 microlitre de la solution témoin et 10 microlitre de la solution à examiner ;

-Développer sur un parcours de 15 cm ;

- Sécher la plaque à l'air libre ;

-Développer la plaque sous la loupe UV.



Figure 36 : Chambre de migration et la plaque utilisé pour la CCM

1.3.7 Test d'acidité

- Réactifs utilisés

Tableau XV : Réactifs utilisés pour le test d'acidité

Réactifs	Données physico-chimiques	Précautions
Bleu de bromothymol	- formule brute : $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ - N °cas : 76-59-5 - Mr : 624.38g/mol - Pf : 204 °C - Densité : 1.25 g/cm ³	
Ethanol		
Eau distillé		
Hydroxyde de sodium		

- Mode opératoire

a-Préparation des réactifs utilisés

-Préparation de la solution d'hydroxyde de sodium 0.1 M (S) : dans une fiole de 100ml contenant 10 ml d'eau distillée, dissoudre 400mg de NaOH, compléter le volume jusqu'au trait de jauge avec le même solvant ;

-Préparation de la solution d'Hydroxyde de sodium 0.02 M et 0.01M à partir de la solution (S), on prépare deux dilutions consécutives ;

-Préparation de la solution de bleu de bromothymol : dans une fiole de 50 ml faire dissoudre 25mg de bleu de bromothymol dans un mélange de 2ml de NaOH 0.02M et 10ml de Ethanol 96%, compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée ;

-Préparation de la solution de la caféine (solution A) : dans une fiole de 20 ml, peser 0.2g de caféine extraite A1 et de référence A2, compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée.



Figure 37 : Solutions utilisées dans le teste d'acidité

b-Protocole de dosage

- A 10ml de solution A, ajoutez 0,05 ml de *solution de bleu de bromothymol R1*. La solution est verte ou jaune ;
- Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium 0.01M préalablement préparée ;
- Le point d'équivalence est déterminé par un virage de l'indicateur coloré (bleu de bromothymol) de vert (ou jaune) vers le bleu.

1.3.8 Perte à la dessiccation

- Elle est déterminée en mettant de la caféine de référence et celle extraite dans l'étuve à 105 °c pendant une heure ;
- A l'aide d'une balance peser 0.3 g de caféine dans un verre de montre ;
- Introduit dans l'étuve à 105 °c ;
- Refaire la pesée une heure après.

- Détermination de la perte à la dessiccation:

La perte de poids par dessiccation est la perte de poids exprimée en pourcentage p/p et déterminée par la méthode suivante :

$$T \% = (\Delta m / m) \times 100 \quad T \% = [(p1 + m - p2) / m] \times 100$$

m : Prise d'essai pour notre matière première P1 : poids de verre de montre vide
P2 : poids de verre de montre et la matière première après une heure à l'étuve

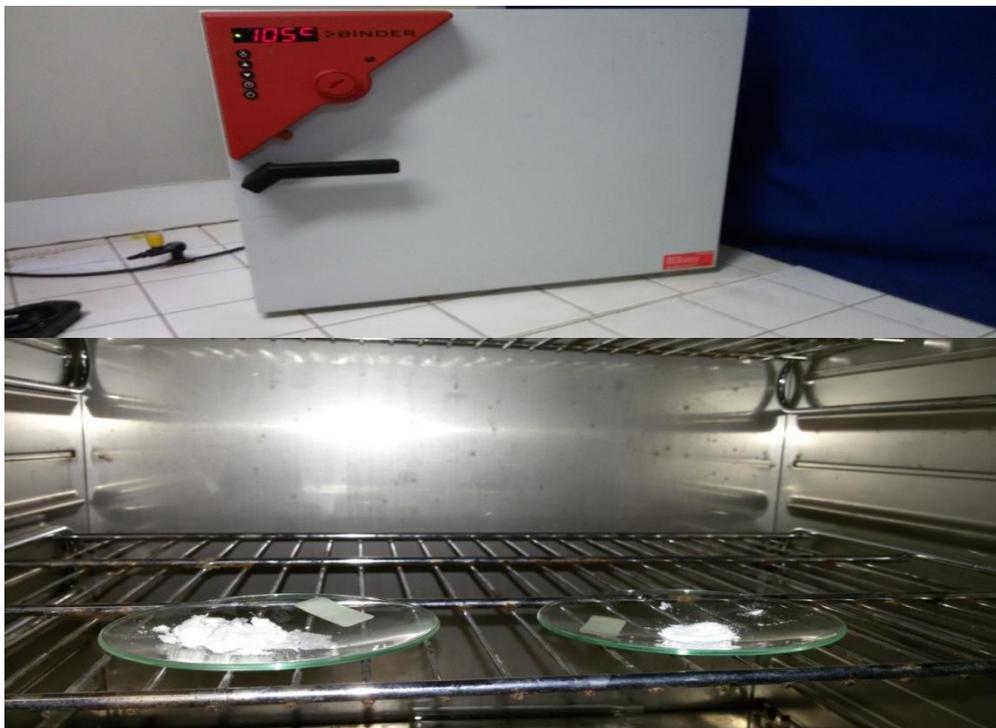


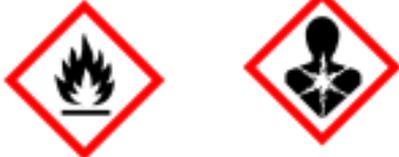
Figure 38 : Détermination de la perte à la dessiccation.

1.3.9 Aspect de la solution de caféine obtenue par extraction

a. Degré d'opalescence

- Réactifs utilisés

Tableau XVI : Réactifs utilisés pour le test d'opalescence.

Réactifs	Données physicochimiques	Précautions
Sulfate d'hydrazine	Formule brute : $H_6N_2O_4S$ N° CAS : 10034-93-2 Mr : 130.2 g/mol PF : 254 °C $\rho = 1.37$ g/cm-3	
Hexaméthylènetétramine (Méthénamine)	Formule brute : $C_6H_{12}N_4$ N° CAS : 100-97-0 Mr : 140.17g/mol PF : > 263 °C PE : 260 °C $\rho : 1.33$ / cm-3	
Eau distillée		

- Préparation des solutions

- Solution S

Dissoudre 0,5g de caféine dans 50ml d'eau exempte de dioxyde de carbone préparée à partir d'eau distillée. Laisser refroidir et compléter à 50ml avec le même solvant.

- Préparation de la solution de Sulfate d'hydrazine :

Dissoudre 1 g de sulfate d'hydrazine dans de l'eau, puis compléter à 100 ml avec le même solvant. Laisser reposer pendant 5h.

- Préparation de la solution d'hexaméthylènetétramine :

Dans une fiole de 100ml à bouchon rodé, dissoudre 2.5 g de l'hexaméthylènetétramine dans 25 ml d'eau.

- Préparation de la suspension-mère d'opalescence

Introduire 25 ml de la solution de sulfate d'hydrazine dans la fiole contenant la solution d'hexaméthylènetétramine, puis mélanger et laisser reposer pendant 24 heures.

- Préparation de l'étalon d'opalescence

Prélever 15 ml de la suspension-mère d'opalescence et compléter à 1000 ml avec de l'eau. Cette solution est préparée au moment de l'utilisation.

- Préparation des solutions témoins

Les solutions témoins d'opalescence sont préparées comme le montre le tableau ci-dessous

TableauXVII: Préparation des solutions témoins d'opalescence.

Témoin	Témoin I	Témoin II	Témoin III	Témoin IV
Etalon d'opalescence (ml)	5	10	30	50
Eau (ml)	95	90	70	50

▪ Méthode

- Comparer par la suite l'opalescence de la solution à examiner S aux cinq témoins préparés à lumière diffuse du jour et à l'eau distillée (Figure.39).

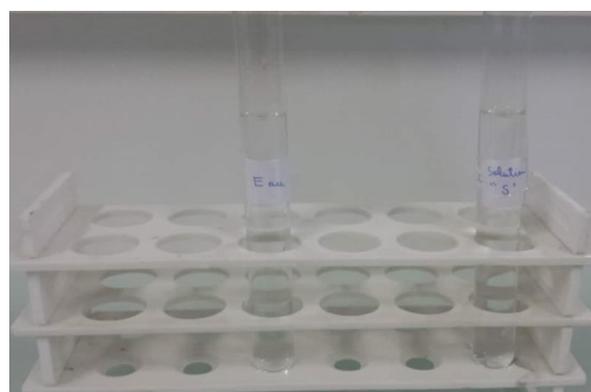
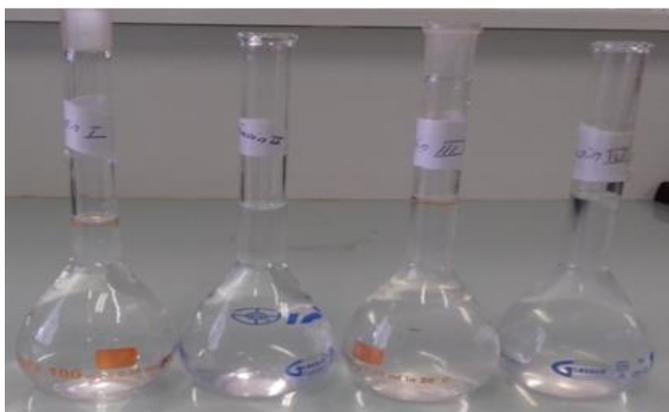


Figure.39 : Solutions du test d'opalescence

a. Degré de coloration

▪ Réactifs utilisés :

Tableau XVIII : Réactifs utilisés pour le test du degré de coloration.

Réactifs	Données physicochimiques	Précautions
Chlorure ferrique	Formule brute : FeCl_3 N° CAS : 7705-08-0 Mr : 162.2 g/mol PF : 306 °C PE : 315 °C	

Chlorure de cobalt	Formule brute : CoCl_2 N° CAS : 7646-79-9 Mr : 129.84 g/mol PF : > 263 °C PE : 1049 °C ρ : 3.36 / cm-3	
Sulfate du cuivre	Formule brute : CuSO_4 N° CAS : 7758-98-7 Mr : 159.6 g/mol PF: 110 °C PE : 650 °C ρ : 3.6 g / cm-	
Acide chlorhydrique	Formule brute : HCl N° CAS : 7647-01-0 Mr : 36.46 g/mol PF: -30 °C PE : 48 °C ρ : 1.19 g / cm-	
Eau distillée		

a) Préparation des solutions

➤ Solutions primaires

❖ Solution jaune

Dissoudre 46g de chlorure ferrique dans 900ml d'un mélange de 25ml d'acide chlorhydrique et de 975ml d'eau distillée, compléter à 100ml avec le même mélange.

❖ Solution rouge

Dissoudre 60g de chlorure de cobalt dans 900ml d'un mélange de 25ml d'acide chlorhydrique et de 975ml d'eau distillée, compléter à 100ml avec le même mélange.

❖ Solution bleue

Dissoudre 63g de sulfate de cuivre dans 900ml d'un mélange de 25ml d'acide chlorhydrique et de 975ml d'eau distillée, compléter à 100ml avec le même mélange.

➤ **Solutions étalons**

A partir des trois solutions primaires, nous procédons à la préparation des solutions étalons qui sont au nombre de cinq résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau XIX : Solutions étalons du degré de coloration.

Solution étalon	Volumes en millilitres			
	Solution jaune (ml)	Solution rouge (ml)	Solution bleue (ml)	Acide chlorhydrique à 10g/l de HCl (ml)
B (brun)	3.0	3.0	2.4	1.6
JB (jaune-brun)	2.4	1.0	0.4	6.2
J (jaune)	2.4	0.6	0.0	7.0
JV (jaune-vert)	9.6	0.2	0.2	0.0
R (rouge)	1.0	2.0	0.0	7.0

➤ **Solutions témoins**

Les solutions témoins sont préparées à partir des solutions étalons comme le démontre le tableau ci-dessous.

Tableau XX : Les solutions témoins du degré de coloration

Solutions témoins B		
Solution témoin	Solution étalon B (ml)	Solution chlorhydrique à 1% P/V en HCl (ml)
B1	75.0	25.0
B2	50.0	50.0
B3	37.5	62.0
B4	25.0	75.0
B5	12.5	87.5
B6	5.0	95.0
B7	2.5	97.5
B8	1.5	98.5
B9	1.0	99.0
Solution témoin JB		
Solution témoin	Solution étalon JB (ml)	Solution chlorhydrique à 1% P/V en HCl (ml)

JB1	100.0	0.0
JB2	75.0	25.0
JB3	50.0	50.0
JB4	25.0	75.0
JB5	12.5	87.5
JB6	5.0	95.0
JB7	2.5	97.5
Solution témoin J		
Solution témoin	Solution étalon JB (ml)	Solution chlorhydrique à 1% P/V en HCl (ml)
J1	100.0	0.0
J2	75.0	25.0
J3	50.0	50.0
J4	25.0	75.0
J5	12.5	87.5
J6	5.0	95.0
J7	2.5	97.5
Solution témoin JV		
Solution témoin	Solution étalon JV (ml)	Solution chlorhydrique à 1% P/V en HCl (ml)
JV1	25.0	75.0
JV2	15.0	85.0
JV3	8.5	91.5
JV4	5.0	95.0
JV5	3.0	97.0
JV6	1.5	98.5
JV7	0.75	99.25
Solution témoin R		
Solution témoin	Solution étalon JB (ml)	Solution chlorhydrique à 1% P/V en HCl (ml)
R1	100.0	0.0
R2	75.0	25.0
R3	50.0	50.0
R4	37.5	62.5

R5	25.0	75.0
R6	12.5	87.5
R7	5.0	95.0

➤ **Solution à examiner S**

Dissoudre 0,5g de caféine dans 50ml d'eau exempte de dioxyde de carbone préparée à partir d'eau distillée. Laisser refroidir et compléter à 50ml avec le même solvant.

▪ Méthode

- Dans des tubes à essai identiques, de verre neutre, incolores et transparents, à fond plat, comparer la solution S aux solutions témoins de coloration ;
- Apprécier les nuances à la lumière diffuse du jour par examen dans l'axe du tube et sur un fond blanc.



Figure 40 : Solutions primaires du degré de coloration.

2 - Résultats et discussion

2.1- Rendement de l'extraction

$$R\% = \frac{\text{masse expérimentale}}{\text{masse théorique}} \times 100$$

-Masse expérimentale : il s'agit de la masse de la caféine extraite à partir de 100g de thé .

- Théoriquement 100g de thé noir contient 1.16g de la caféine alors que 100g de thé vert contient 0.96g.

a – Rendement de la 1^{ère} méthode en utilisant le thé vert

A partir de 15 g du thé nous avons récupéré 0.04 g de caféine.

Masse expérimentale : 0.04 g

- Calcul de la masse théorique de la caféine qui correspond à 15 g du thé vert

Théoriquement 100g de thé vert contient 0.96 g

$$\begin{array}{ccc} \text{Masse théorique : 0.96 g} & \longrightarrow & 100\text{g} \\ & \times & \\ & \longrightarrow & 15\text{g} \end{array}$$

Masse théorique calculée = 0.14 g

$$R\% = \frac{0.04}{0.14} \times 100 = 28.5 \%$$

B . Rendement de la 2^{ème} méthode en utilisant le thé noir

à partir de 8 g (4infusions) du thé nous avons récupéré 0.07 g de caféine.

- Masse expérimentale : 0.07 g

- Calcul de la masse théorique de la caféine qui correspond à 8g du thé.

Théoriquement 100g de thé noir contient 1.16 g

$$\begin{array}{ccc} 100 \text{ g} & \longrightarrow & 1.16 \text{ g} \\ & & \\ 8 \text{ g} & \longrightarrow & X \end{array}$$

Masse théorique calculée = 0.09

$$R\% = \frac{0.07}{0.09} \times 100 = 77.8 \%$$

La 1^{ère} méthode a donné un rendement très faible moins de 30 % par contre la 2^{ème} méthode a donné un excellent rendement supérieur à 70 %

2.2. Identification et caractérisation physico-chimique de la caféine extraite

2.2.1. Aspect et odeur

Le produit que nous avons extrait est une poudre cristalline blanche Inodore, ce résultat est conforme aux spécifications de la pharmacopée européenne.



Figure 41 : Aspect de la caféine extraite.

2.2.2 Solubilité

-La caféine extraite est facilement soluble dans le dichlorométhane , pratiquement insoluble dans l'éther de pétrole ;

- Elle est peu soluble dans l'Ethanol à 96% ;

- Dans l'eau distillée à froid : assez soluble et à chaud, elle est facilement soluble ;

Ces résultats répondent aux exigences de la pharmacopée européenne.

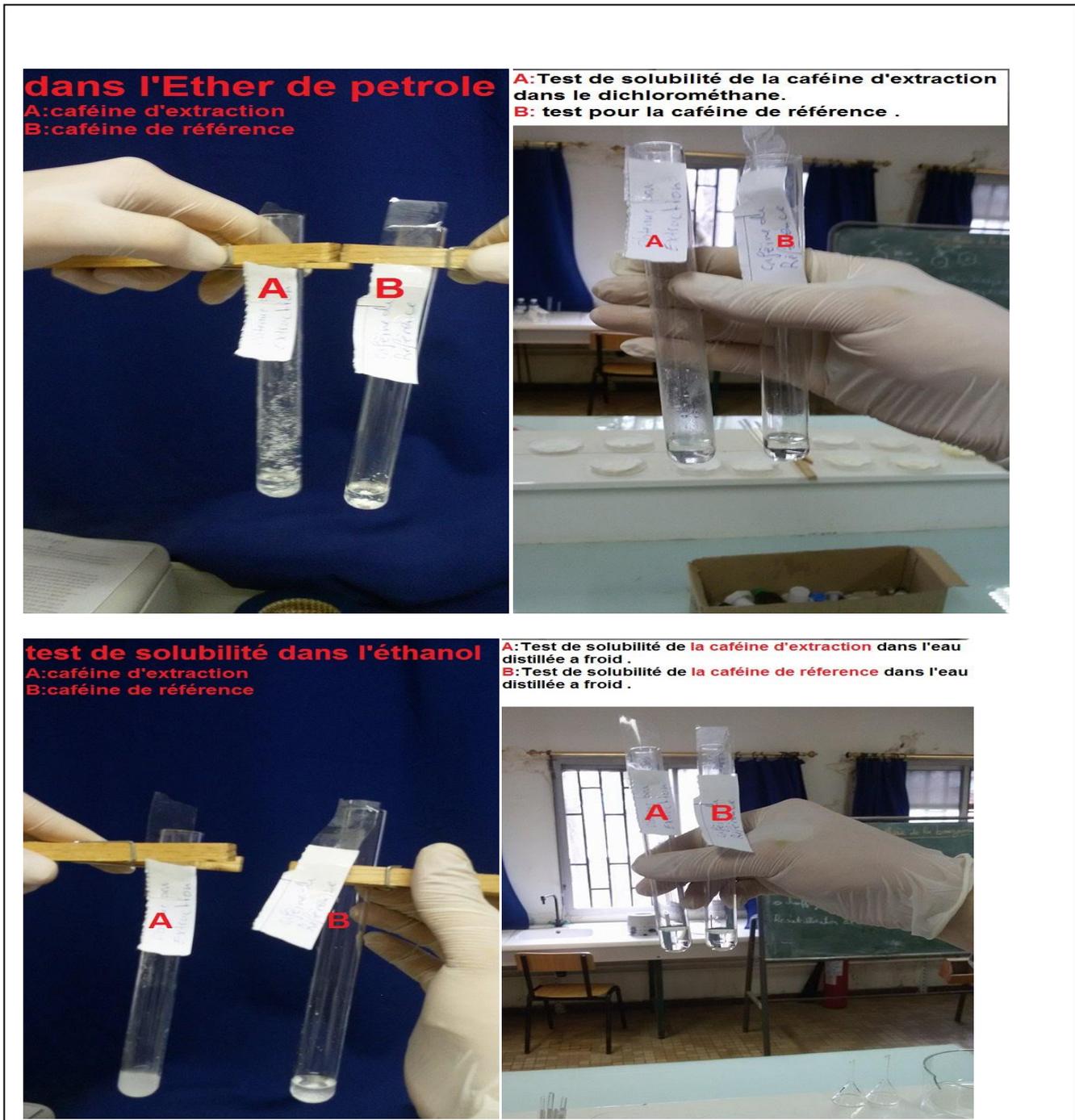


Figure 42 ; Test de solubilité

2.2.3. Température de fusion

Les températures de fusion obtenues avec la caféine (extraite et de référence) sont

Caféine de référence : 222.8 °C

Caféine extraite : 222.4°C

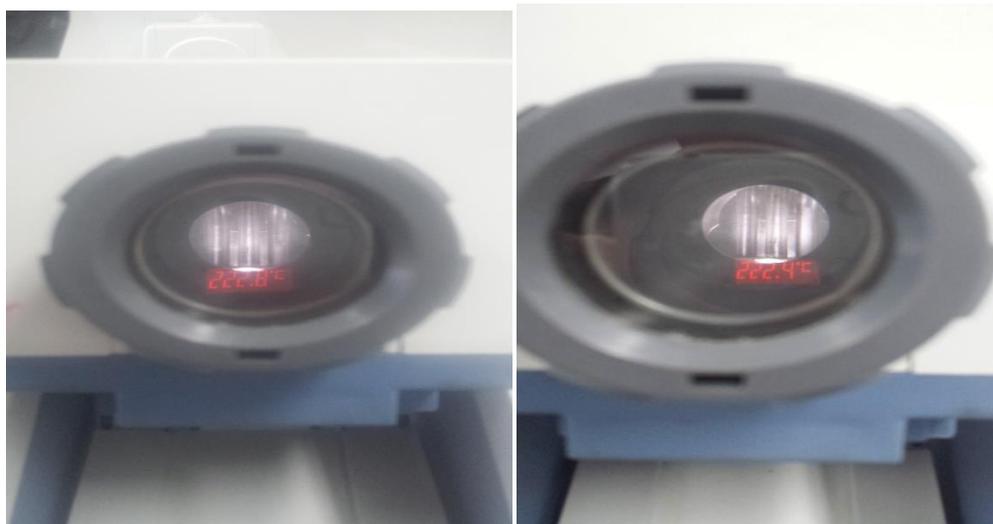


Figure 43 : Température de fusion.

Les températures de fusion de la caféine extraite et de référence sont proches de la valeur exigée par la pharmacopée européenne.

2.2.4. Identification par des réactions colorimétrique

2.2.4.1 Réaction avec le réactif de bouchardat

- La solution saturée de caféine en présence d'iodure de potassium dans un milieu acide a donné un précipité brun.

-Le précipité brun se dissout après neutralisation par la solution diluée d'hydroxyde de sodium.

Ce résultat est conforme aux exigences de la monographie.

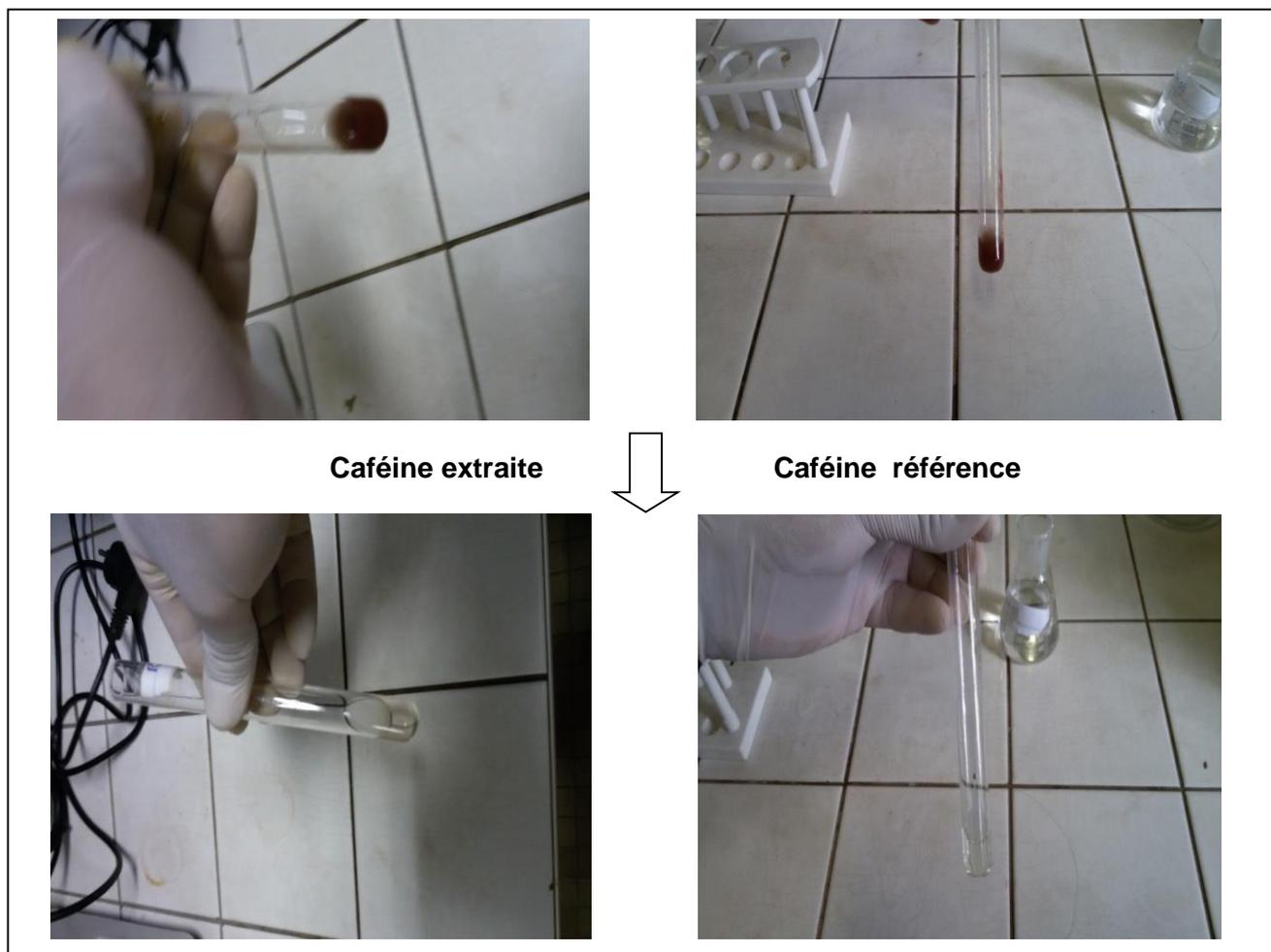


Figure 44 : Réaction avec le réactif du bouchardat

2.2.4.2 Réaction à la Murexide

La réaction à la murexide avec la caféine extraite et la caféine de référence a donné une coloration jaune-violet après l'ajout de l'ammoniaque diluée ce qui est conforme aux exigences de la pharmacopée européenne

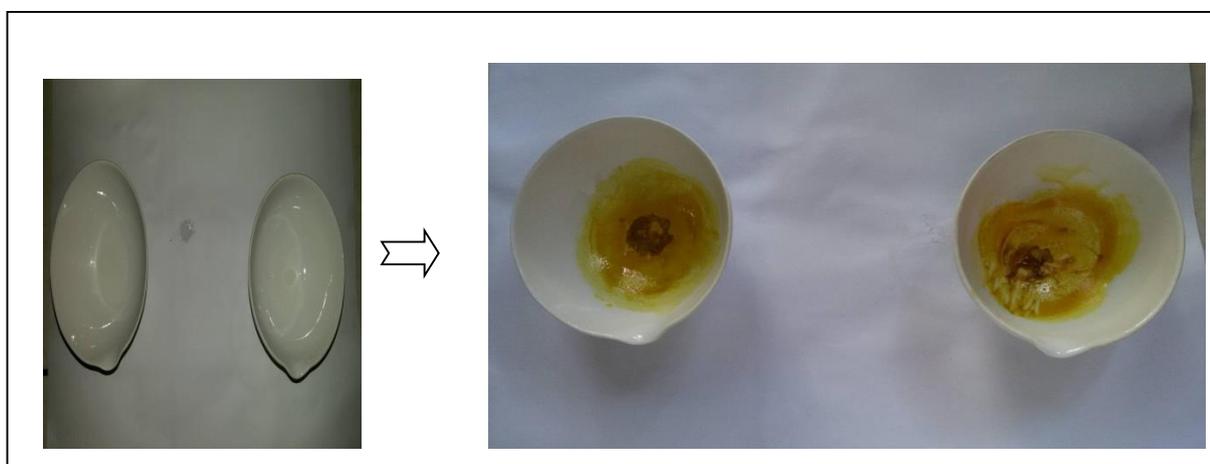


Figure 45 : Réaction à la murexide

2.2.4.3 Réaction à la diméthylaminobenzaldehyde

La réaction de la caféine extraite et la caféine de référence avec le diméthylaminobenzaldehyde a donné une coloration bleu intense ce qui est conforme aux exigences de la pharmacopée européenne .

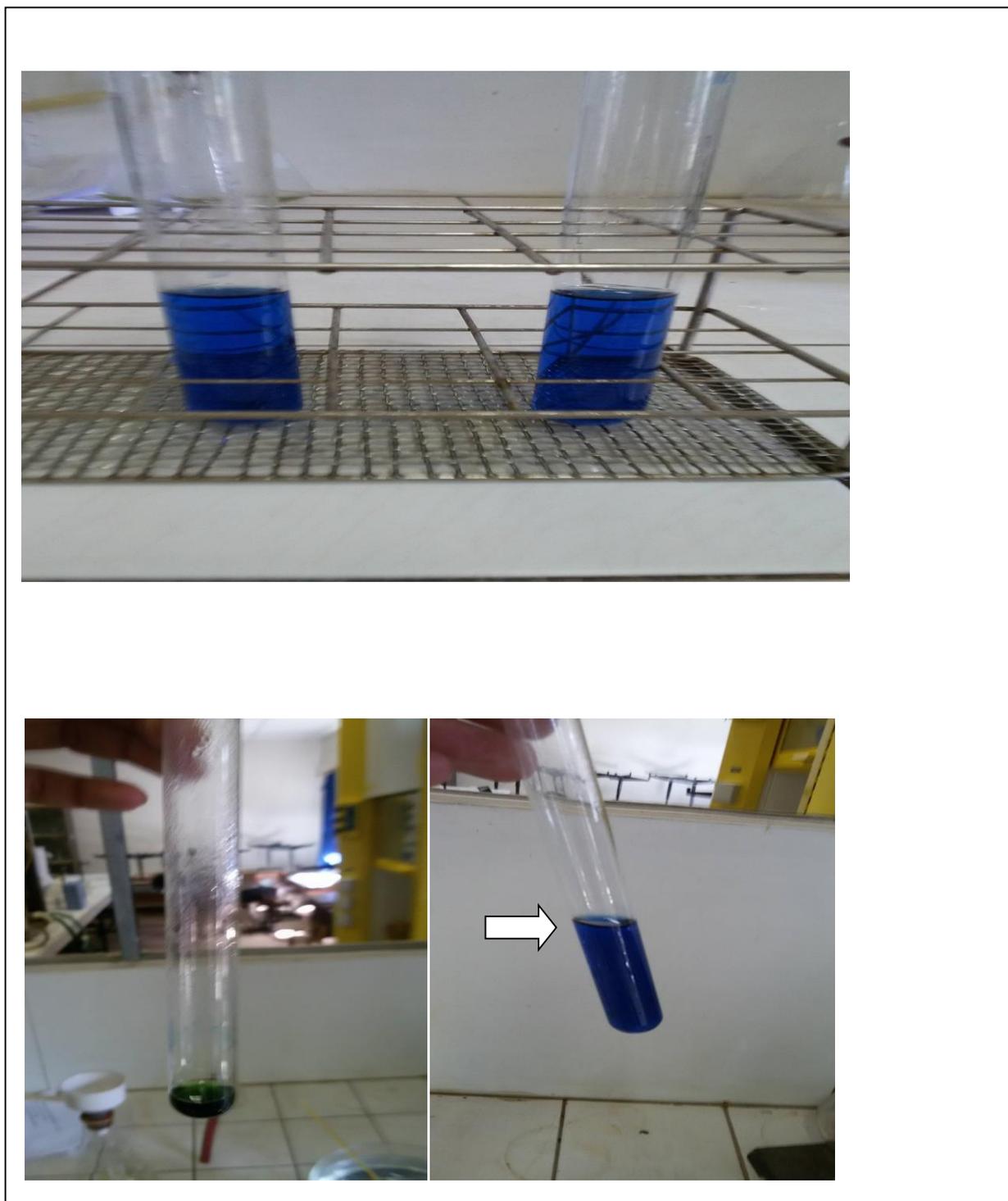


Figure 46 : Réaction avec le diméthylaminobenzaldehyde .

2.2.5 Identification spectrale de la caféine

2.2.5.1– Identification par spectrophotométrie d'absorption dans l'UV-visible

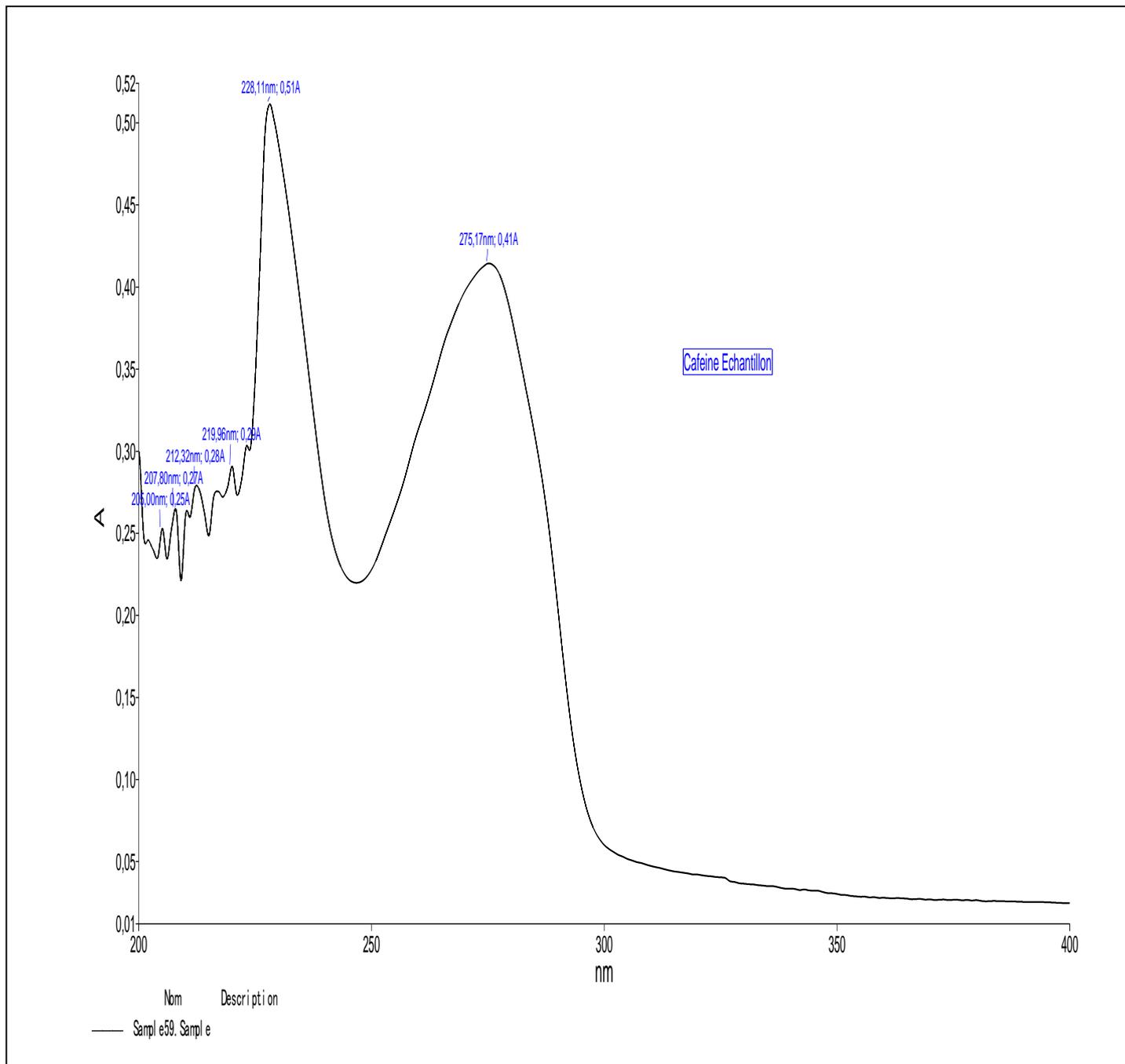


Figure 47 : Spectre d'absorption dans l'UV-visible de la caféine extraite.

Le spectre d'absorption dans l'UV de la caféine obtenue par extraction montre que cette dernière absorbe dans l'UV. Le maximum d'absorption caractéristique de la caféine est retrouvée (~275nm).

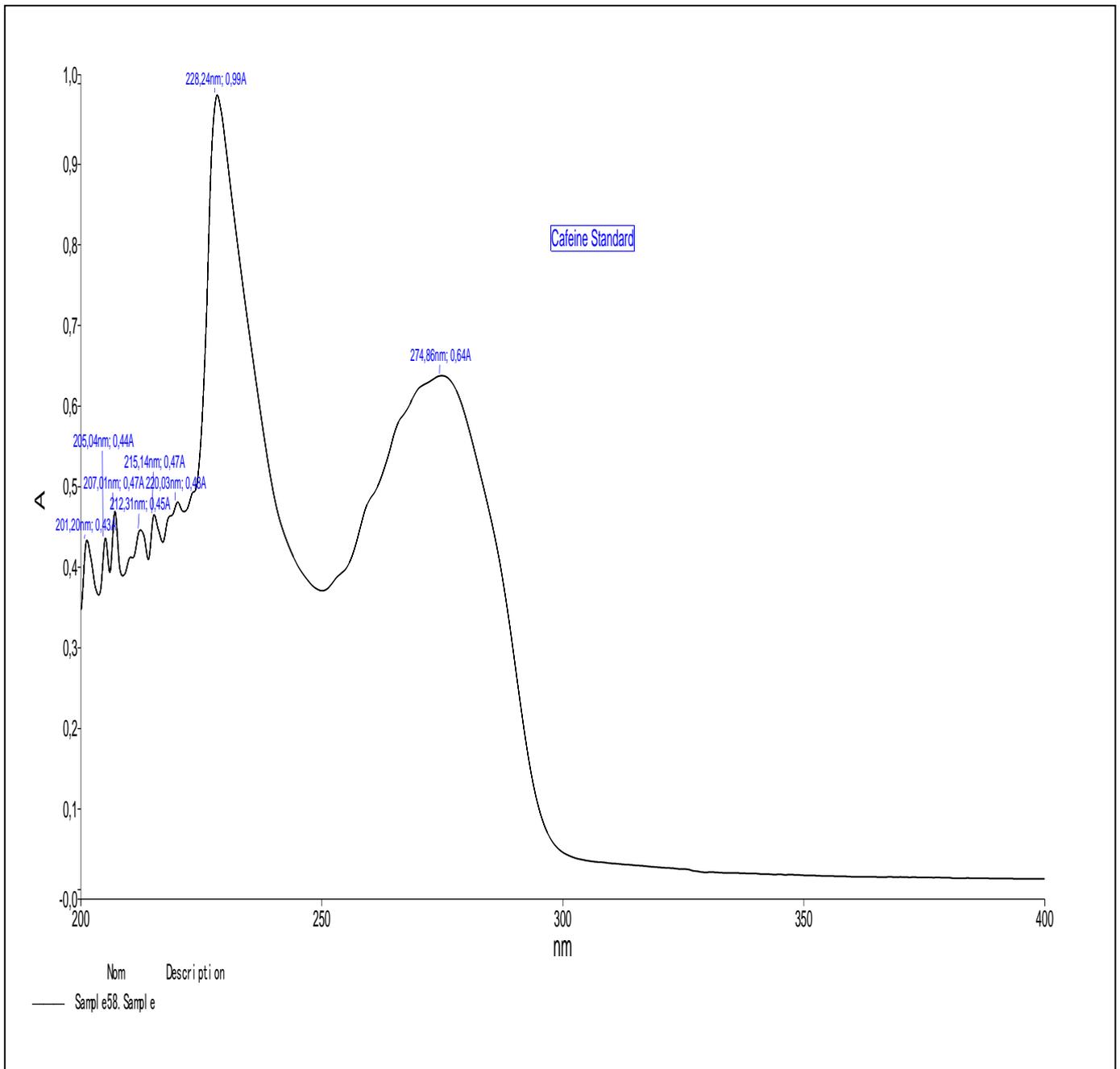


Figure 48 : Spectre d'absorption dans l'UV-visible de la caféine référence .

Le spectre d'absorption dans l'UV de la caféine référence, montre que cette dernière absorbe dans l'UV. Le maximum d'absorption caractéristique de la caféine est retrouvée (~275nm).

Les spectres d'absorption dans l'UV de la caféine obtenue par extraction et la référence ont la même allure et le même maximum d'absorption.

2.2.5.1 Analyse par spectroscopie d'absorption dans L'infrarouge

La figure ci-dessous représente le spectre d'absorption dans l'IR de la caféine extraite.

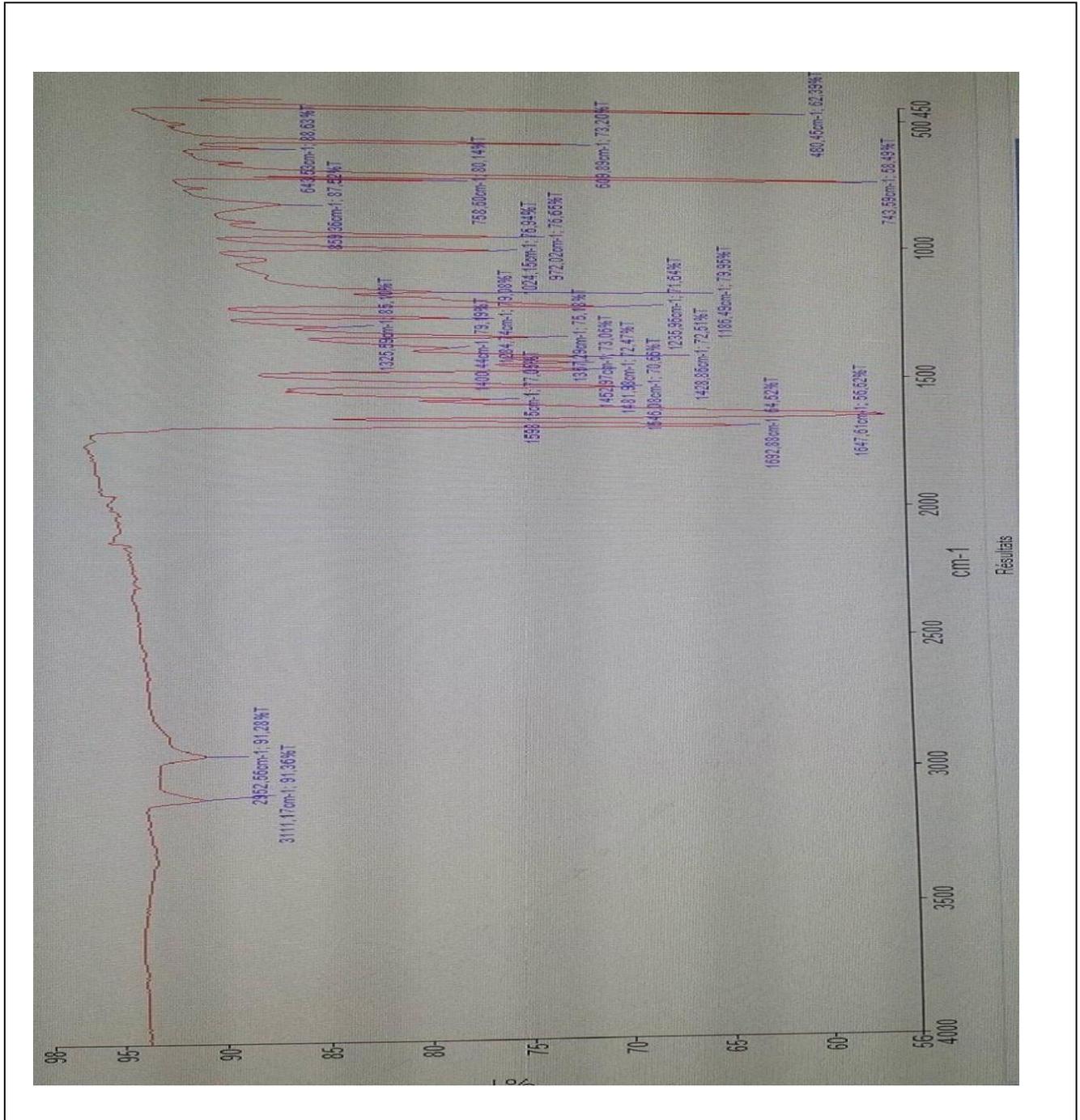


Figure 49 : Spectre d'absorption dans l'infrarouge de la caféine extraite

Le spectre IR de la caféine obtenue par extraction montre les principales bandes d'absorption de cette dernière dans l'IR comme le montre le tableau XXI .

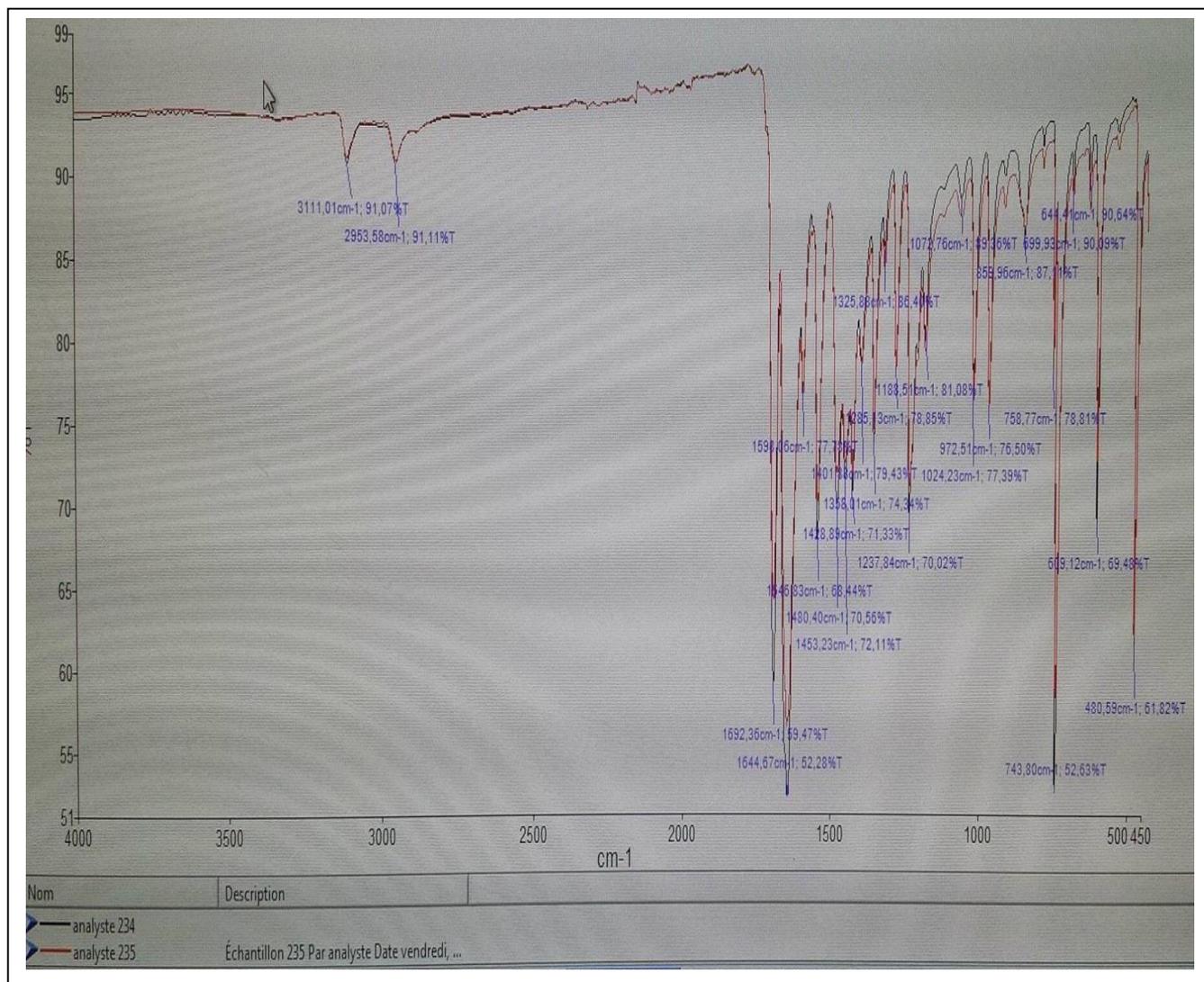


Figure 50 : Spectre d'absorption dans l'infrarouge de la caféine extraite (en rouge) et la caféine référence (en noir).

Le spectre IR de la caféine obtenue par extraction est superposable au spectre IR de la caféine référence avec les mêmes bandes d'absorption.

Tableau XXI : Principales bandes d'absorption de la caféine dans l'IR

Liaisons	Bandes d'absorption (cm-1) Caféine obtenue par extraction	Bandes d'absorption (cm-1) Caféine de référence
C-H	3111,17 2952,56	3111,01 2952,58

C=O	1692,98	1692,36
	1647,6	1644,67
C=C	1598,15	1599,05
	1546,08	1548,93
C-N	1325,59	1325,86

2.2.6 Chromatographie sur couche mince

Après migration, la plaque CCM a été développée sous la lampe UV

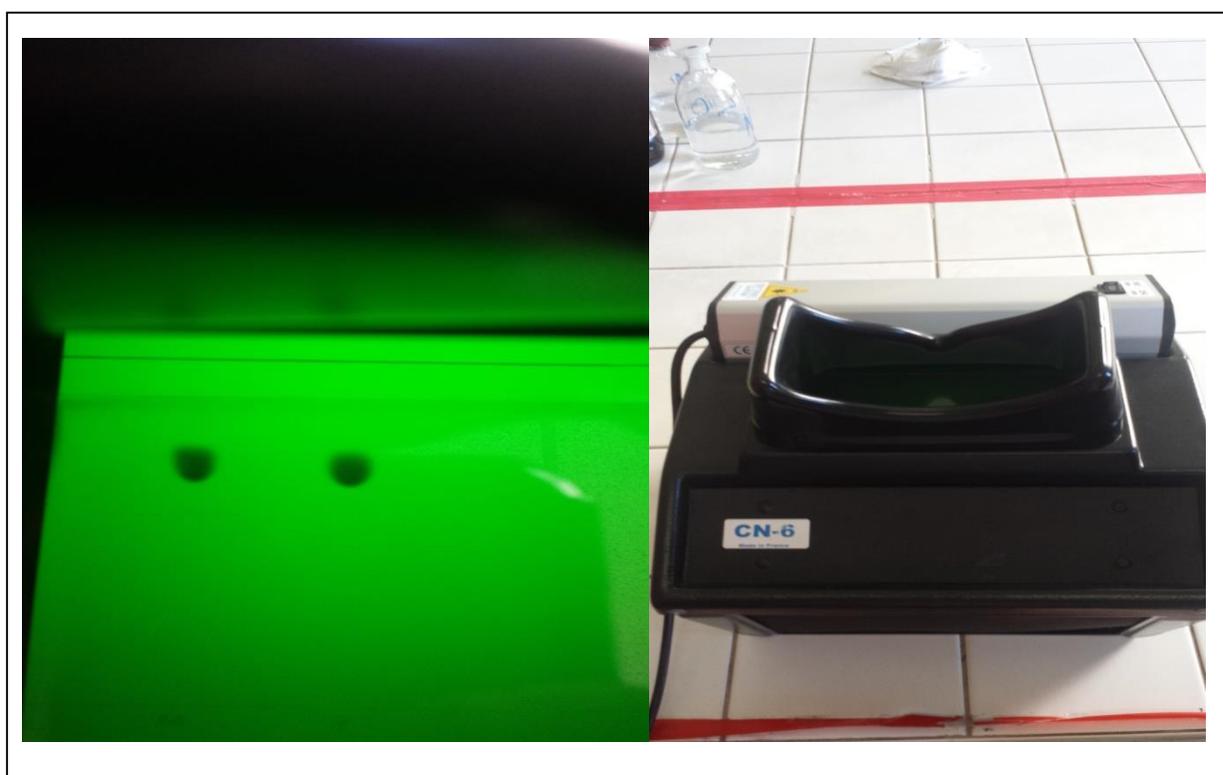


Figure 51 : Plaque CCM sous la lampe UV

Nous avons obtenu une seule tache de migration pour la caféine extraite ainsi que pour la caféine de référence, cette tache correspond au principe actif (caféine), aucune impureté n'a pu être mise en évidence par CCM.

- **Calcul du rapport frontal**

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant (milieu de la tache)}}{\text{Distance parcourue par le front du solvant}}$$

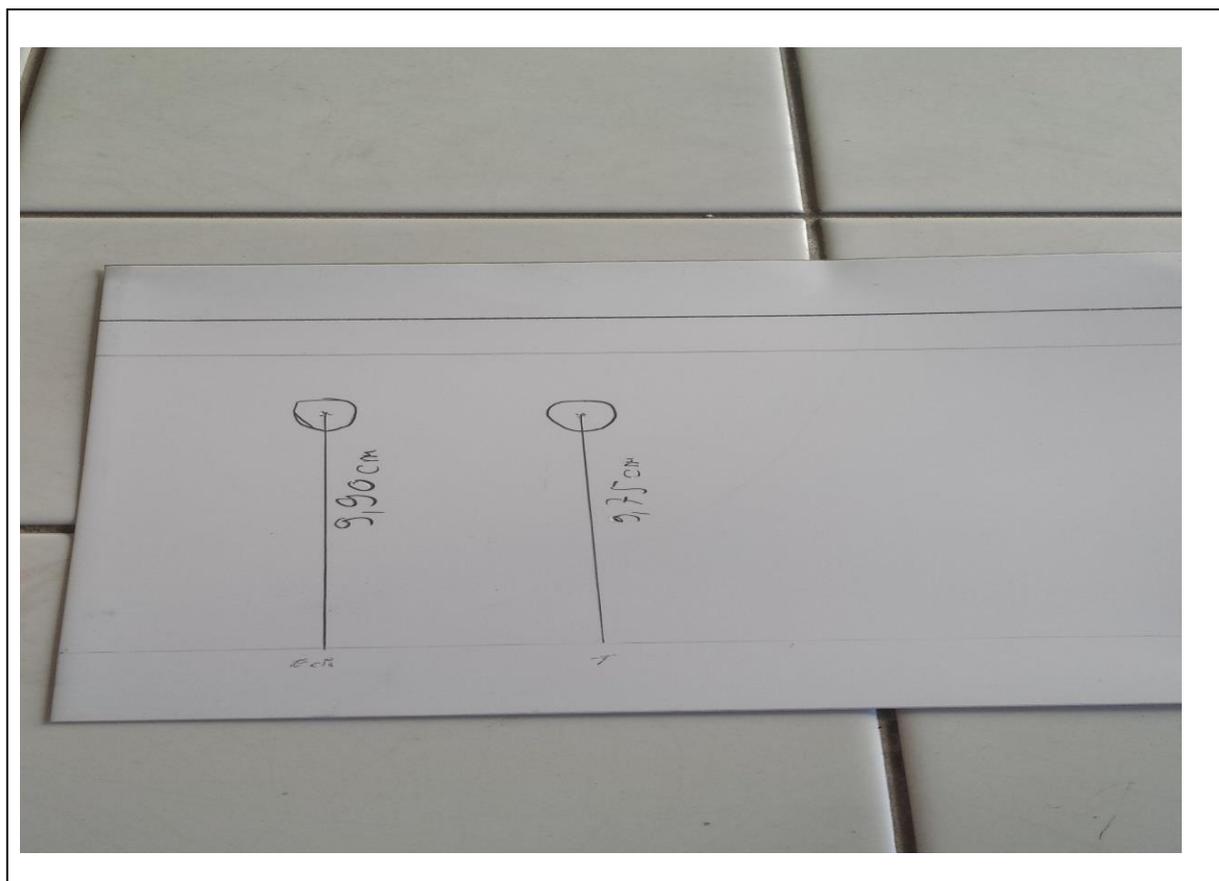


Figure 52 : Distances parcourues par les deux taches des solutions de caféine

$$Rf \text{ témoin} = \frac{9.75}{12.75} = 0.764$$

$$Rf \text{ échantillon} = \frac{9.90}{12.75} = 0.776$$

Nous avons remarqué que les deux rapports frontaux sont très proches, cela signifie que les deux solutions de mêmes concentrations sont d'une même nature.

2.2.7 Perte à la dessiccation

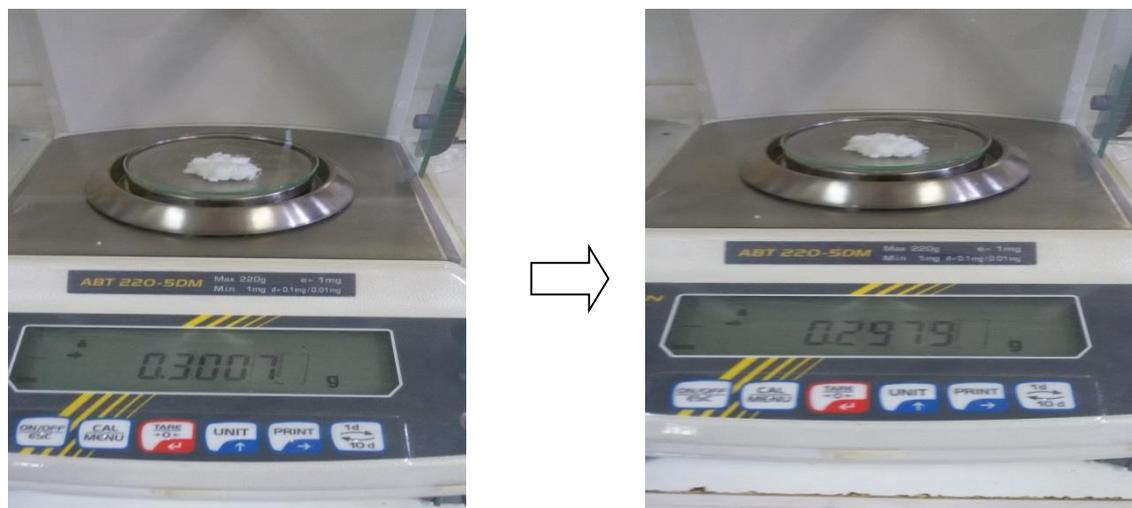
Après une heure dans l'étuve à $105 \text{ } ^\circ\text{C}$, nous avons refait la pesée de la caféine de référence et la caféine extraite.

$$T \% = (0.0047 / 0.3006) \times 100 \quad T \% = 1.56 \%$$

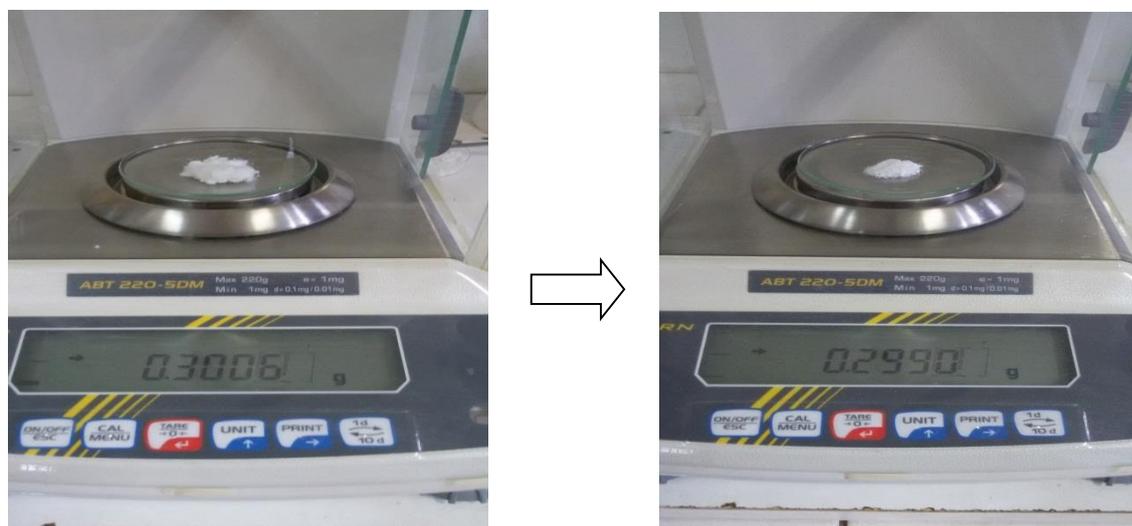
$$0.3 \text{ g} \longrightarrow 1.56 \%$$

$$1 \text{ g} \longrightarrow X \quad \text{donc une perte de } 5.1 \% \text{ pour } 1 \text{ g}$$

Selon la pharmacopée européenne la perte à la dessiccation doit être entre 5% et 9%, donc la perte à la dessiccation répond aux exigences de la monographie.



Caféine référence avant et après la dessiccation



Caféine extraite avant et après la dessiccation

Figure 53 : Résultats de la perte à la dessiccation

2.2.8 Test d'acidité

Nous avons titré la solution de caféine par la solution d'hydroxyde de sodium 0.01 M et le point d'équivalence se détermine par un virage de l'indicateur coloré (bleu de bromothymol) du vert (ou jaune) vers le bleu.



avant titrage



apres

Figure 54 : Test d'acidité

Les volumes équivalents de NaOH sont représentés dans le tableau XXII

Tableau XXII : Volumes équivalents de NaOH

Volumes eq	Volume équivalent moyen.
0.15	0.13
0.12	
0.09	
0.16	

Le volume équivalent moyen calculé est de 0.13 ml < 0.2 ml ce qui est conforme aux données de la monographie.

2.2.9 Aspect de la solution de caféine extraite

2.2.9.1. Degré d'opalescence

Après comparaison visuelle de la solution S de la caféine extraite avec les solutions témoins d'opalescences préparées et le solvant utilisé (l'eau distillée), nous avons constaté que la solution S est limpide, ce qui est conforme à l'exigence de la pharmacopée européenne par rapport à l'opalescence de la solution de caféine.

2.2.9.2. Degré de coloration

- ✓ Comparaison de la solution S de caféine à la gamme étalon brune



Figure 55 : Solution de caféine et la gamme étalon brune.

Après comparaison de la solution de caféine avec la gamme étalon brune, nous avons remarqué qu'elle ne présente pas une coloration brune.

✓ **Comparaison de la solution S de caféine à la gamme étalon jaune-brune**



Figure 56: Solution de caféine et la gamme étalon jaune-brune

Après comparaison de la solution de caféine avec la gamme étalon jaune-brune, nous avons remarqué qu'elle ne présente pas une coloration jaune-brune.

✓ **Comparaison de la solution S de caféine à la gamme étalon jaune**



Figure 57: Solution de caféine et la gamme étalon jaune

Après comparaison de la solution de caféine avec la gamme étalon jaune, nous avons remarqué qu'elle ne présente pas une coloration jaune.

- ✓ Comparaison de la solution S de caféine à la gamme étalon jaune-verte



Figure 58: Solution de caféine et la gamme étalon jaune-verte

Après comparaison de la solution de caféine avec la gamme étalon jaune-verte, nous avons remarqué qu'elle ne présente pas une coloration jaune-verte.

- ✓ Comparaison de la solution S de caféine à la gamme étalon rouge



Figure 59: Solution de caféine et la gamme étalon rouge

Après comparaison de la solution de caféine avec la gamme étalon rouge, nous avons remarqué qu'elle ne présente pas une coloration rouge.

⇒ Après comparaison visuelle entre la solution témoin S et les témoins de coloration, nous avons constaté que la solution S est incolore, ce qui correspond à l'exigence de la pharmacopée européenne.

2.2.10 Interprétation des résultats HPLC

Les chromatogrammes obtenus avec la caféine référence et celle obtenue par extraction sont représentés dans la figure ci-dessous.

<Chromatogram>

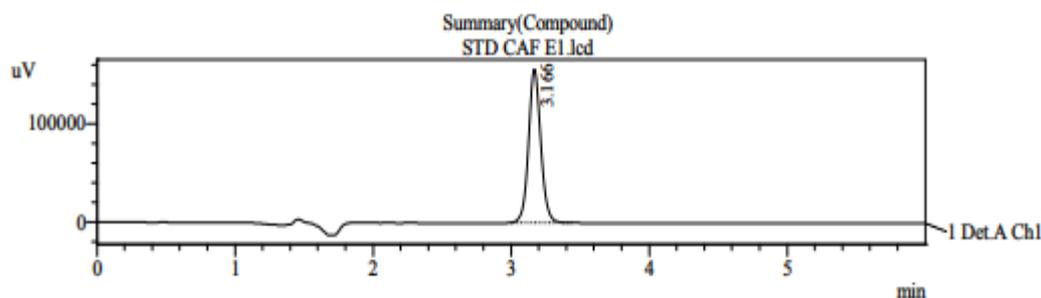
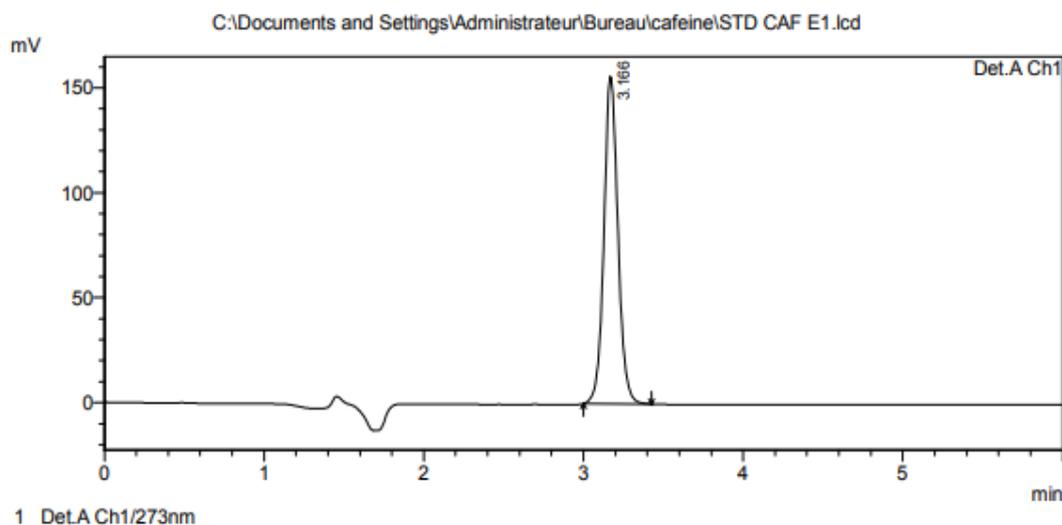


Figure 60 : Chromatogrammes de la caféine analysée.

-Le temps de rétention de la caféine référence est : 3.152 min

-Le temps de rétention de la caféine extraite est : 3.166 min

- **Calcul de la teneur en principe actif :**

- Titre(%) = (Aire échantillon / Aire standard) X [standard] / [échantillon] X Titre de la substance active (Estimer a 100%).

- Aire échantillon : 1113862
- Aire standard : 1149410
- [Standard]= 0.0000242g/l
- [Échantillon] = 0.000025 g/l
- Titre du standard Estimer : 100%

$$\text{Titre\%} = (1113862/1149410) * [0.0000242/0.000025] * 100\%$$
$$\text{Titre\%} = 0.94 * 100\% = \mathbf{94\%}$$

La teneur en substance active est de 94%.

Les normes exigées par la pharmacopée européenne 8^{ème} Edition : 105% - 95%.
Le titre obtenu est légèrement inférieur aux normes de la monographie, il faut insister sur l'étape de purification pour avoir un dosage conforme.

Conclusion

L'objectif principal de notre travail était l'extraction de la caféine et son contrôle physico-chimique selon la monographie.

La caféine extraite était obtenue avec un rendement acceptable dans la 2^{ème} méthode, le cas où nous avons utilisé la plaque chauffante. Les tests de caractérisation de notre poudre cristalline blanche tels que la solubilité (dans l'eau, l'éthanol, le dichlorométhane et l'éther de pétrole) et la température de fusion (222.4°C) sont conformes aux exigences de la pharmacopée européenne.

Les réactions colorimétriques ont orienté vers la présence d'un alcaloïde (bouchardat), d'une xanthine (murexide) et d'un indole (diméthylamino-benzaldéhyde). L'identification spectrale (IR, UV-visible) a montré la présence des pics caractéristiques de la caféine et a confirmé la structure de cette dernière.

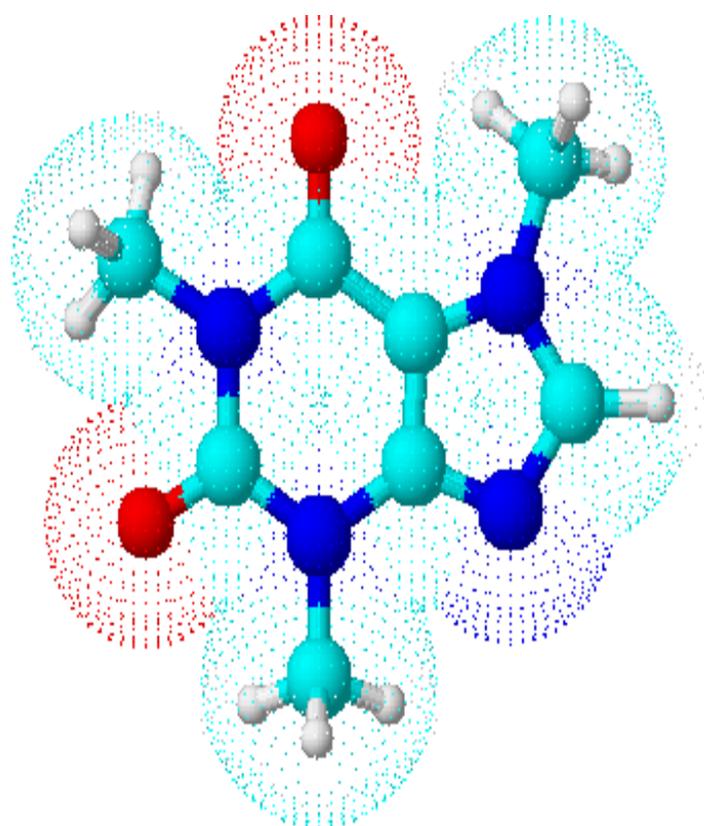
Le degré de coloration, l'opalescence et le taux d'acidité de la solution de caféine sont conformes aux exigences de la pharmacopée européenne,

La perte à la dessiccation est dans les normes par contre la teneur en principe actif après analyse par HPLC est légèrement inférieure aux normes de la monographie.

En perspective nous souhaitons :

1. Une amélioration du procédé d'extraction en se basant sur l'élimination des tanins.
2. Proposer des techniques fiables pour la purification de la caféine ;
3. Synthétiser la caféine et comparer ses propriétés par rapport à celle qui est obtenue par extraction ;
4. Un élargissement sur le plan pharmaco-industriel de son utilisation thérapeutique en se basant sur ses propriétés inhibitrices de la lipogénèse (contre la cellulite)

BIBLIOGRAPHIE



[1] Organisation mondiale de la Santé. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2002-2005 (référence WHO/EDM/TRM/2002 .

[2] Définition d'alcaloïde [internet]. [28 décembre 2015] disponible sur : <http://www.plantes-botaniques.org/f-cucurbitaceae>.

[3] A) Beloued A Plantes médicinales d'Algérie, OpU Alger 1998, b) Sallé J. L, "Le Totum en Phytothérapie, Approche de phytothérapie. Ed Frison-Roche. Paris 1991 , c) Valnet, J. «Aromathérapie-Traitement des maladies par les essences de plantes », Ed. Vigor, 2001.

[4] Bruneton, J., "Pharmacognosie, Plantes médicinales Ed Lavoisier, Techniques et documentation, Paris, 1999, p405.

[5] Zoom sur la caféine ». Consulté le 22 octobre 2012. <file:///C:/Users/Adeline%20Huyghe/Desktop/cafeine/CONSULTE%20LE%2010JUN2012/plante%20+-%20effets.htm>

[6] «Kola». Consulté le 10 avril 2013. http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=kola_nitida_ps.

[07] Bryant J. suicide by ingestion of caffeine. *archpathol lab med* 1981;105:685-670.

[08] « Composition chimique de la caféine - TPE Sur la Caféine ». Consulté le 22 octobre 2012. <http://tpe-1s-cafeine.e-monsite.com/pages/i-1-composition-chimique-de-la-cafeine.html>.

[9] Davir González-Calderón., Carlos A González-González., Aydeé Fuentes-Benites., Carlos González-Romero. 2015. Synthesis of caffeine from theobromine: Bringing back an old experiment in a new setting. *EDUCACIÓN QUÍMICA* n°26(1), p 9-12 (Universidad Nacional Autónoma de México)

[10] Mendel F. die schadlichen folgen des chronischen kaffeemissbrauchs, *berl klin wochenschr* 1989;26:877-880.

[11] Creighton SM, Stanton SL caffeine: does it affect your bladder? *Br J urol* 1990;66:613-614.

[12] VINOD T.K., HART D J., CRAINE L E., HART H. Laboratory Manual for Organic Chemistry: A Short Course, 13th, p 48

[13] BOULEKRAS Nadia. 2010. Extraction de la caféine des feuilles de thé. Travaux Pratiques de Chimie Organique.

[14] KRIEPS Marthe.2009. LE THE: Origine, Actualité et potentialités. Thèse de doctorat
Pharmacie: Université HENRI POINCARÉ - NANCY 1, p 67

[15] MATTHEW A. ZAJAC., ANTHONY G. ZAKRZEWSKI., MARK G. KOWAL., SARASWATHI NARAYAN. 2003. A Novel Method of Caffeine Synthesis from Uracil. *SYNTHETIC COMMUNICATIONS*, Vol. 33, No. 19, pp. 3291–3297

[16] Moussally K, Oraichi D, Berard A, Moussally K, Oraichi D, Berard A. Herbal products use during pregnancy: prevalence and predictors. *Pharmacoepidemiology & Drug Safety* 2009;18.

[17] Santos IS, Matijasevich A, Valle NC. Mate drinking during pregnancy and risk of preterm and small for gestational age birth. *J Nutr* 2005;135:1120-3.

[18] Fernandes O, Sabharwal M, Smiley T, Pastuszak A, Koren G, Einarson T. Moderate to heavy caffeine consumption during pregnancy and relationship to spontaneous abortion and abnormal fetal growth: a meta-analysis. *Reprod Toxicol* 1998;12:435-44.

[19] Molimard R. Tabac et café, nicotine et caféine. In: Societe de tabacologie. France.

[20] Firoozi F, Lemiere C, Beauchesne MF, Perreault S, Forget A, Blais L. Impact of maternal asthma on perinatal outcomes. *Eur Respir J* 2010.

[21] Chen CH, Lin HC. Prenatal care and adverse pregnancy outcomes among women with depression: a nationwide population-based study. *Can J Psychiatry* 2011;56:273-80.

[22] Arnaud MI. Metabolism of caffeine and other components of coffee. In: S.Garattini Ed. Caffeine, coffee and Health, Ravenpreis, Newyork 1993, 43-93.

Allain P. Les médicaments. 2000.

[24] Adapté de : Nehlig A. Cahiers agricultures. 2012. Op.cit

[25] Daly Iw. Mechanism of action of caffeine. In: S.Garattini Ed caffeine, coffee and Health, Raven prers, New York, 1993, 97-150.

[26]. Brown NJ, Ryder D, Apharmacology Interaction between caffeine and phenyl propanolomine.

[27] Marks V.Kelly IF, Absorption of caffeine from tea, coffee and coca cola, lancet, 1973, 1:827.

[28] Christensen HD, Manio CV, Kling OR. Caffeine kinetics during late pregnancy. In: LF Soyka and TP Redmond Eds. Drug Metabolism of the Innature Humman. Ravenpress, New York, 1981, 163-181.

[29] Société Chimique de France. Caféine, [en ligne], <http://www.societechimiquedefrance.fr/produit-dujour/caffeine.html>, consulté le 9 mars 2016

[30] Visitisenk , lofts poulsen HE, cytochrome P450 1A 2 activity in man measured by caffeine metabolism: effect of smoking, broccoli andercice, In: IV, Witmer et al. Eds 4e Intern symp on Biological reactive intermediste, Tucson 1990, plenum press, New York 1990, 407-411.

[31] Thorn CF, Aklillu E, McDonagh EM, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: caffeine pathway. Pharmacogenet Genomics 2012; 22:389-95.

[32] *Le Café*, Collection « Que sais-je ? le 15 mai 2015. <https://www.chapitre.com/BOOK/jacques-felix-henri-l-89650/cafe-que-sais-je-n-139,25650728.aspx>

[33] RCPCH (Royal college of paediatrics and child health). Medicines for Children, 2e Ed, London: RCPCH Publications, 2003 / Taketomo CK et al (Ed). Pediatric and neonatal Dosage Handbook.

[34] De Leone *al.* 2004 –Gurpeguiet *al.* 2004. le 22 mai 2016 disponible sur https://www.researchgate.net/publication/7792334_A_meta-

[35] Ann Fam Med, 2015. À lire Café & Médecine en 20 questions, 3e édition Éditions Expressions Santé.

[36] PfaffamanMa ,Mcfreland . the effects of the caffeine of the contractile activity of taenia coli 1971.

[37] Kroeger EA. Role of cyclllique nucleotide in modulating smooth muscle fonction 1986.

[38] Agence européenne du médicament. Herbalmedicines for human use. www.ema.europa.eu.

- [39] Leitjen PA ,Van breeman c . the effects of caffeine on noradrenaline sensitive calcium store 1948.
- [40] kyle E , carper A caffeine consumption and vegetarian diet affect D-glucuric 1987.
- [41] Cushny AR . on the pharmacology of respiratory center , J pharmacolthrp 1913.
- [42] Richmond GH action of caffeine as respiratory stimulant in man 1949 .
- [43] Clubey M , Bye Ce effect of caffeine and cyclizine alone and in combination on human performance 1979.
- [44] Lieberman Hr , wurtmanrj the effect of caffeine and aspirin on mood and performance 1987.
- [45] webb D ,levine TE .effects of caffeine on DRL performance in thrmouse.pharmacolbiochembehav 1978;9:7-10.
- [46]Jefferson JW .lithium tremor and caffeine intake:two cases of drinking less and shaking more.Jklinpsychiatr 1988;49:72-73.
- [47]nuottoE,mattila MJ konno K. coffee and caffeine and alcohol effects on psychomotor functions.clinpharmacolther 1982.
- [48]lovalloWR,pincombGA,sungBH,passeyRB,sausenkP,WilsonMF.caffeine may potentiate adrenocortical stress responses in hypertention-pronmen.hypertention 1989;14:170-176.
- [49] Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A. The impact of coffee on health.Maturitas. 2013 May;75(1):7-21.
- [50] Greenwood DC, Alwan N, Boylan S, Cade JE, Charvill J, Chipps KC, Cooke MS, Dolby VA, Hay AW, Kassam S, Kirk SF, Konje JC, Potdar N, Shires S, Simpson N, Taub N, Thomas JD, Walker J, White KL, Wild CP. Caffeine intake during pregnancy, late miscarriage and stillbirth. Eur J Epidemiol. 2010 Apr;25(4):275-80.
- [51] Mesas AE, Leon-Muñoz LM, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E. The effect of coffee on blood pressure and cardiovascular disease in hypertensive individuals: a systematic review and meta-analysis. American Journal of Clinical Nutrition 2011;94:1113–26.

- [52] Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A. The impact of coffee on health. *Maturitas*. 2013 May;75(1):7-21.
- [53] Gleason JL, Richter HE, Redden DT, Goode PS, Burgio KL, Markland AD. Caffeine and urinary incontinence in US women. *IntUrogynecol J*. 2013 Feb;24(2):295-302.
- [54] Anonyme, cpfféine in soft drinks, *lancet* 1988;1:1238.
- [55] Barone SL, Roberts H. Human consumption of caffeine. In: pB, Deurs, ed *caffeine*, springer verlag, Berlin 1984, 59-73.
- [56] Grilbert LM, Marshman IA, Schweider M, Berg R, caffeine content of bererage as consumed. *Can Med Assoc*, 1976: 114: 205-208.
- [57] Graham DM, caffeine its identify, dietary sources, intake and biological effects, *Nutr Rev*, 1978;36:97-102.
- [58] Greden IF, Fonction p, luberZky M, Chamberlink, Anxiety and depression associated, with cofféinnism among. *Psychiatric in- patients*, *Am I psych*, 1978;135:963-966.
- [59] Oliveto AH, Hughes IR, terry, sy, BichelWk, Higgins ST, peppers I, Fenwich IW, Effects of caffeine an tobacco with drawal. *Clinpharmacoltherap*, 1991;50:157-164.
- [60] Elsner I, Alder s, Zbinden G, Interaction bet wieeneranolans caffeine in operant behavior of rats, *psychopharmacol*, 1988;96:194-205.
- [61] Griffiths RR, woodson PP. caffeine physical dependence: a review of human and laboratory animal studies. *psychopharmacology* 1988;94:437-451.
- [62] greden JF. caffeinism and caffeine withdrawal. in: JH lowinson, Preizeds, substance abuse: clinical problems and perspectives. williams and wilkens, Baltimore, 1982, 274-286.
- [63] Bryant J. suicide by ingestion of caffeine. *archpathol lab med* 1981;105:685-686.
- [64] veien NK, hattel T, justensen O, norholm A. dermatoses in coffedrinkers. *cutis* 1987;40:421-422.

- [65] chanJT,yipTT,jeskeAH.the role of caffeinated beverages in dental flourosis.medhypoth 1990;33:21-22.
- [66] spindle ER, wurtmanRJ.neuroendocrine effect of caffeine in rat and man in caffeine.PB dewes,ed.springer-verlag,berlin,1984,119-128.
- [67] CreightonSM,StantonSLcaffeine:does it affect your bladder? Br J urol 1990;66:613-614.
- [68] De ZottiR,patussiV,FioritoA,LareseF .sensitization to green coffe (GCB)and castor bean (CB) allergens among dock workers.archoccup environ health 1988;61:7-12.
- [69] Robertson D,frolicJC,carrRK,WatsonJT,holifieldJW,shandDJ,oatesJA.effects of caffeine on plasma rennin activity,chatecholamine and blood pressure.N ENGEL J med 1978;298:181-186.
- [62] GiuglianoD,TorellaR,passarieloN,sgambatoS.somatostatin and insulin secretion in man.the effect of theophylline.actdiabet 1979;16:353-358.
- [70] Munoz LM,IonnerdalB,keenCL,deweyKJ,coffe consumption as a factor in iron deficiency anemia among pregnant women and therenfants in costa rica.am Jklinnutr 1988;48:645-651.
- [72] Parsons Wd AJVNAH. Elimination of transplacentally acquired caffeine in fullterm neonates. In: Pediatr Res; 1976.
- [73] Bowmer CJ, Yates MS. Therapeutic potential for new selective adenosine receptor ligands and metabolism inhibitors. Trends P.harmacolsci 1989;10:339-41.
- [74] Camellia Sinensis, livre Théhistoire - terroirs–saveurs partie le thé et la santé page 250 ,
- [75] Evaporateur rotatif (internet) le 2 juin 2005 .Disponible sur :<http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php>.
- [76] wiki des techniques-mesure de point de fusion(internet).Disponible sur :<https://wiki-des-techniques.wikispace.com/mesure+du+point+de+fusion>.
- [77] Francis Rouessac , Annick Rouessac avec collaboration de Daniel Cruché.ANALYSE CHIMIQUE Méthode et techniques instrumentales modernes.6^{ème} edition.DUNOD.

[78] METHODS IN MOLECULAR BIOLOGYTM: HPLC of Peptides and Proteins Volume 251 (Methods and Protocols) HPLC of Peptides and Proteins; Edited by Marie-Isabel Aguilar p3.

[79] Francis Rouessac , Annick Rouessac avec collaboration de Daniel Cruché. ANALYSE CHIMIQUE Méthode et techniques instrumentales modernes. 6^{ème} édition. DUNOD.

[80]] C. N. BANWELL and E. M. MCCASH. *Fundamentals of Molecular Spectroscopy*. McGraw Hill, **1994**.

[81] P. C. PAINTER and M. M. COLEMAN. *The Theory of Vibrational Spectroscopy and Its Applications to Polymeric Materials*. Wiley Interscience, **1982**.

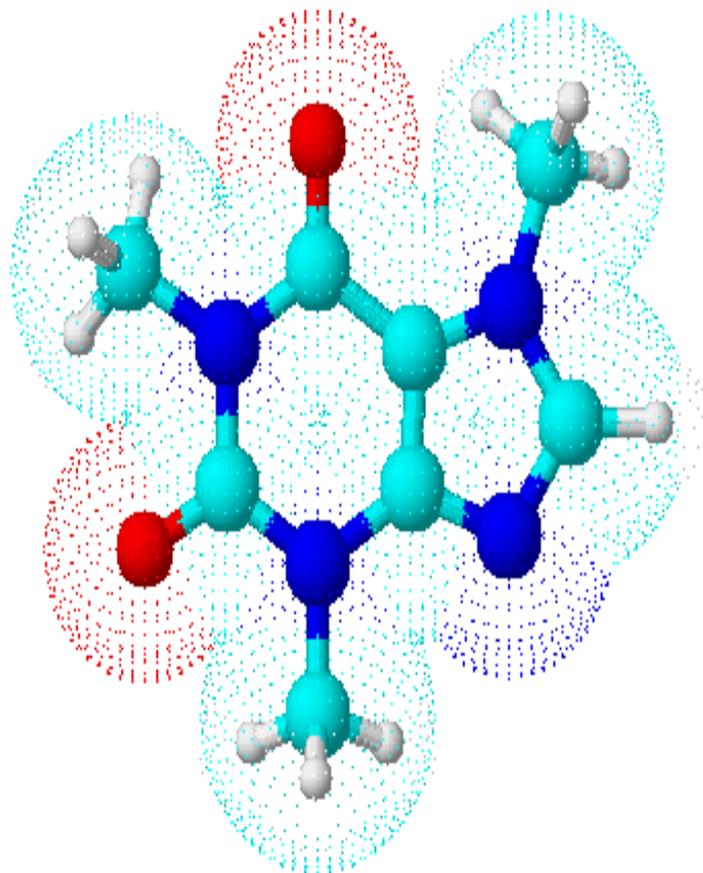
D. I. BOWERS and W. F. MADDAMS. *The Vibrational Spectroscopy of Polymers*. Cambridge University Press, **1989**

[82] J. M. CHALMERS and P. R. GRIFFITHS. *The Handbook of Vibrational Spectroscopy*, volume 1–2. John Wiley & Sons, Ltd., **2002**.

[83] V. P. TOLSTOY, I. V. CHERNYSHOVA, and V. A. SKRYSHEVSKY. *Handbook of Infrared Spectroscopy of Ultrathin Films*. Wiley-Interscience, **2003**

[85] B. SCHRADER. *Raman & Infrared Atlas of Organic Compounds*. VCH, **1989**. A. H. KUPTSOV and G. N. ZHIZHIN. *Handbook of Fourier Transform Raman and Infrared Spectra of Polymers*. Elsevier, **1998**.

ANNEXES

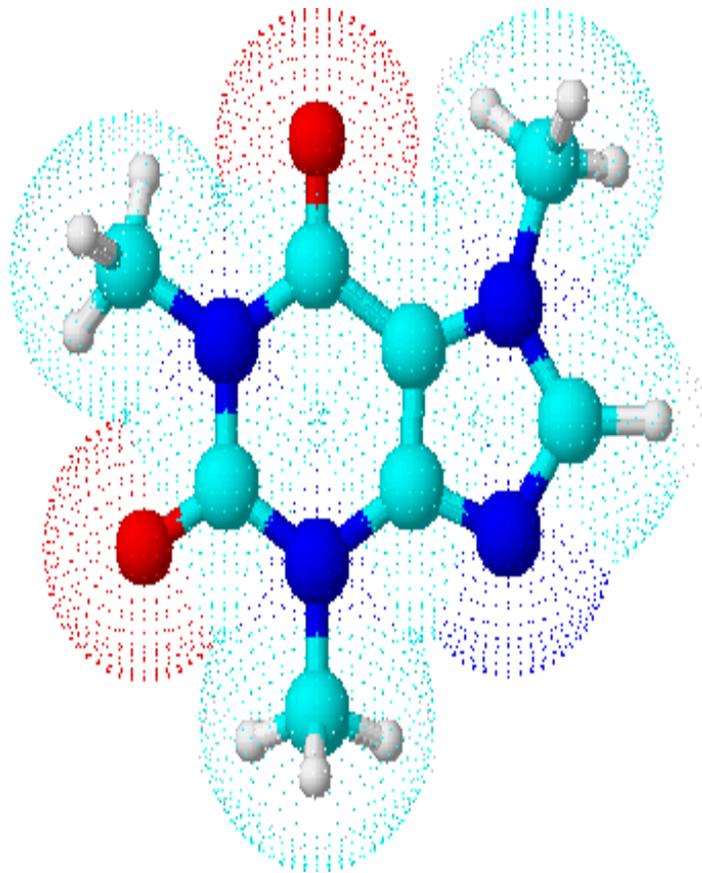


ANNEXES

LISTE DES ANNEXES	
ANNEXE I	Monographie de la caféine : pharmacopée européenne 8^{ème} édition.
ANNEXE II	Principes des techniques utilisées.
ANNEXE III	Pictogrammes de sécurité.
ANNEXE IV	Procédure d'analyse physico-chimique de caféine.
ANNEXE V	Liste des médicaments contenant la caféine.

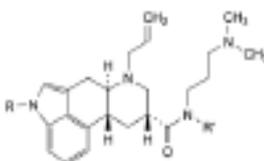
ANNEXE I

MONOGRAPHIE DE LA CAFEINE



Caffeine

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

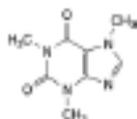


- B. $R = \text{CO-NH-C}_2\text{H}_5$, $R' = \text{H}$: (6a*R*,9*R*,10a*R*)-*N*°-[3-(dimethylamino)propyl]-*N*°-ethyl-7-(prop-2-enyl)-6a,7,8,9,10,10a-hexahydroindolo[4,3-*fg*]quinoline-4,9(6*H*)-dicarboxamide,
- C. $R = R' = \text{CO-NH-C}_2\text{H}_5$: (6a*R*,9*R*,10a*R*)-*N*°-[3-(dimethylamino)propyl]-*N*°-ethyl-*N*°-(ethylcarbamoyl)-7-(prop-2-enyl)-6a,7,8,9,10,10a-hexahydroindolo[4,3-*fg*]quinoline-4,9(6*H*)-dicarboxamide,
- D. $R = R' = \text{H}$: (6a*R*,9*R*,10a*R*)-*N*°-[3-(dimethylamino)propyl]-7-(prop-2-enyl)-4,6,6a,7,8,9,10,10a-octahydroindolo[4,3-*fg*]quinoline-9-carboxamide.

04/2008:0267

CAFFEINE

Coffeinum



$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$
[58-08-2]

M, 194.2

DEFINITION

1,3,7-Trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purine-2,6-dione.

Content: 98.5 per cent to 101.5 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or silky, white or almost white, crystals.

Solubility: sparingly soluble in water, freely soluble in boiling water, slightly soluble in ethanol (96 per cent). It dissolves in concentrated solutions of alkali benzoates or salicylates. It sublimates readily.

IDENTIFICATION

First identification: A, B, E.

Second identification: A, C, D, E, F.

A. Melting point (2.2.14): 234 °C to 239 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: caffeine CRS.

C. To 2 mL of a saturated solution add 0.05 mL of iodinated potassium iodide solution R. The solution remains clear. Add 0.1 mL of dilute hydrochloric acid R; a brown precipitate is formed. Neutralise with dilute sodium hydroxide solution R; the precipitate dissolves.

D. In a ground-glass-stoppered tube, dissolve about 10 mg in 0.25 mL of a mixture of 0.5 mL of acetylacetone R and 5 mL of dilute sodium hydroxide solution R. Heat in a water-bath at 80 °C for 7 min. Cool and add 0.5 mL of dimethylaminobenzaldehyde solution R2. Heat again in a water-bath at 80 °C for 7 min. Allow to cool and add 10 mL of water R; an intense blue colour develops.

E. Loss on drying (see Tests).

F. It gives the reaction of xanthines (2.3.1).

TESTS

Solution S. Dissolve 0.5 g with heating in 50 mL of carbon dioxide-free water R prepared from distilled water R, cool and dilute to 50 mL with the same solvent.

Appearance of solution. Solution S is clear (2.2.1) and colourless (2.2.2, Method II).

Acidity. To 10 mL of solution S add 0.05 mL of bromothymol blue solution R1; the solution is green or yellow. Not more than 0.2 mL of 0.01 M sodium hydroxide is required to change the colour of the indicator to blue.

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29).

Test solution. Dissolve 0.100 g of the substance to be examined in the mobile phase and dilute to 50.0 mL with the mobile phase. Dilute 1.0 mL of this solution to 10.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (a). Dilute 2.0 mL of the test solution to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 1.0 mL of this solution to 10.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (b). Dissolve 5 mg of caffeine for system suitability CRS (containing impurities A, C, D and F) in the mobile phase and dilute to 5 mL with the mobile phase. Dilute 2 mL of this solution to 10 mL with the mobile phase.

Column:

– size: $l = 0.15$ m, $\varnothing = 4.6$ mm;– stationary phase: base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel for chromatography R (5 μm).

Mobile phase: mix 20 volumes of tetrahydrofuran R, 25 volumes of acetonitrile R and 955 volumes of a solution containing 0.82 g/L of anhydrous sodium acetate R previously adjusted to pH 4.5 with glacial acetic acid R.

Flow rate: 1.0 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 275 nm.

Injection: 10 μL .

Run time: 1.5 times the retention time of caffeine.

Identification of impurities: use the chromatogram supplied with caffeine for system suitability CRS and the chromatogram obtained with reference solution (b) to identify the peaks due to impurities A, C, D and F.

Retention time: caffeine – about 8 min.

System suitability: reference solution (b):

– resolution: minimum 2.5 between the peaks due to impurities C and D and minimum 2.5 between the peaks due to impurities F and A.

Limits:

- unspecified impurities: for each impurity, not more than 0.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.10 per cent);
- total: not more than 0.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.1 per cent);
- disregard limit: 0.25 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.05 per cent).

Sulfates (2.4.13): maximum 500 ppm, determined on 15 mL of solution S.

Prepare the standard using a mixture of 7.5 mL of sulfate standard solution (10 ppm SO_4) R and 7.5 mL of distilled water R.

Heavy metals (2.4.8): maximum 20 ppm.

1.0 g complies with test C. Prepare the reference solution using 2 mL of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

Loss on drying (2.2.32): maximum 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C for 1 h.

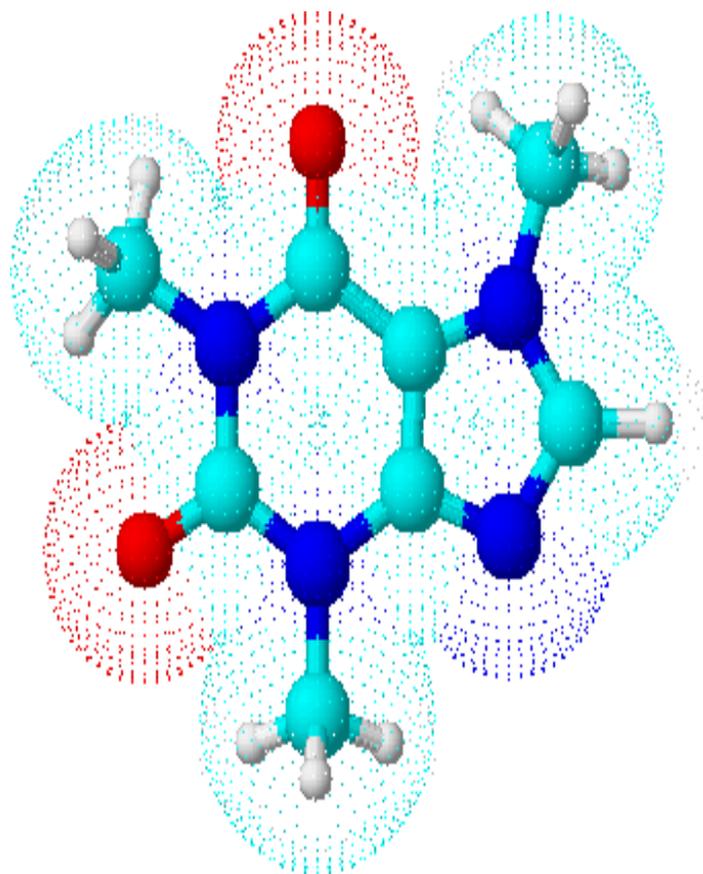
Sulfated ash (2.4.14): maximum 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

Dissolve 0.170 g with heating in 5 mL of anhydrous acetic acid R. Allow to cool, add 10 mL of acetic anhydride R and 20 mL of toluene R. Titrate with 0.1 M perchloric acid, determining the end-point potentiometrically (2.2.20).

ANNEXE II

PRINCIPES DES TECHNIQUES UTILISEES



1. Rotavapeur

Le principe de cet appareil est basé sur une distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant dans lequel se trouve un soluté qui, une fois le solvant évacué, pourra se présenter sous forme liquide ou solide.

- Pour ne pas perdre trop de produit, il faut que le solvant et le liquide qu'on veut récupérer aient des températures d'ébullition très différentes.
- Pour ne pas risquer de détruire le produit par un chauffage trop important, on opère avec un chauffage léger et sous aspiration : la baisse de pression permet d'abaisser la température d'ébullition du solvant [75]

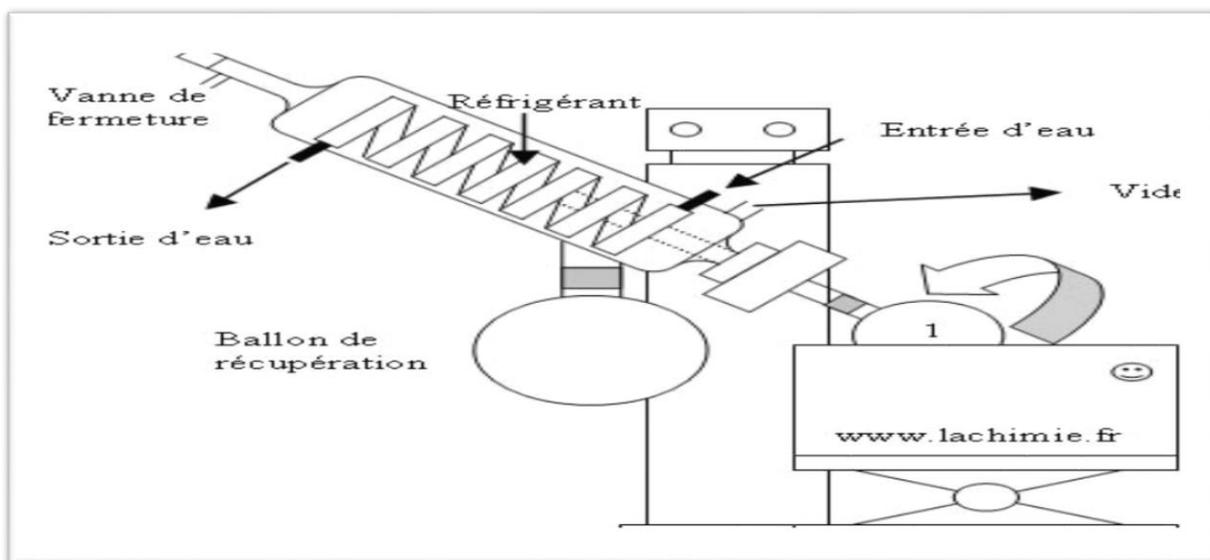


Figure 60: Schéma de rotavapeur

2. point de fusion

Le point de fusion ou la température de fusion d'un corps représente la température à laquelle un élément pur ou un composé chimique fond c'est-à-dire passe de l'état solide à l'état liquide.

Il existe principalement deux types d'appareils qui permettent la mesure de la température de fusion : l'appareil chauffant (banc kofler) et l'appareil capillaire [85].

2.1. Principe de l'appareil capillaire

Le principe de fonctionnement de cet appareil est basé sur le fait que, à l'état cristallin, les substances réfléchissent la lumière reçue, alors qu'elles la laissent passer à l'état fondu. Il est alors possible de déterminer le point de fusion à partir de comportement optique. Ainsi au cours de la fusion, l'intensité lumineuse mesurée par une cellule photoélectrique augmente et le chauffage est arrêté lorsque la transparence de l'échantillon atteint un seuil donné, à cet instant, la température du four est retenue, corrigée et affichée comme la température de fusion réelle [76].

3. Spectroscopie UV-VISIBLE

Ce domaine spectral est divisé en trois plages de longueurs d'onde appelées proche UV (185-400 nm), visible (400-700nm) et très proche infrarouge (700-1100nm).

3.1. Principe

Une transition UV-visible correspond à un saut d'un électron d'une orbitale moléculaire fondamentale occupée à une orbitale moléculaire excitée vacante. La matière absorbe alors un photon dont l'énergie correspond à la différence d'énergie entre ces niveaux. Les spectromètres UV/Visible permettent d'obtenir le spectre des composés examinés sous forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance en fonction des longueurs d'onde repérées en abscisse [77,79].

3.2. Loi de BEER-LAMBER

L'absorption de la lumière est directement proportionnelle à la fois à la concentration du milieu absorbant et à l'épaisseur de la cuve où se trouve le milieu.

-La transmittance (**T**) est une mesure de l'atténuation d'un faisceau lumineux monochromatique basée sur la comparaison entre l'intensité lumineuse transmise (**I**) et l'intensité incidente (**I₀**) selon que l'échantillon est placé ou non sur le trajet optique entre la source et le détecteur.

T est exprimée par un nombre fractionnaire ou sous forme de pourcentage :

$$T = I_0/I \text{ ou } T\% = I_0/I \times 100$$

L'absorbance est la grandeur définie par :

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right) = -\log T = \varepsilon \cdot l \cdot c_f$$

Avec :

-A:absorbance

- ε :le coefficient d'absorption molaire en(L.mol⁻¹.cm⁻¹)

-l:la largeur de cuve en cm

- c_f : la concentration de la solution en mol/L

4. La spectroscopie infrarouge

Le domaine infrarouge s'étend de 0.8 μ m à 1000 μ m. Il est arbitrairement divisé en 3 catégories : le proche infrarouge (0.8à2.5 μ m soit 12500-4000cm⁻¹), le moyen infrarouge (2.5à25 μ m soit 4000-400cm⁻¹) et le lointain infrarouge (25à1000 μ m soit 400-10 cm⁻¹).

La spectrométrie infrarouge est principalement utilisée pour analyse qualitative d'une molécule en mettant en évidence la présence de liaison entre les atomes (fonctions et groupements).

La majorité des applications se situe entre 2.5 et 15 μ m soit en nombre d'ondes de 4000cm⁻¹

à 670 cm⁻¹ (IR moyen).

4.1. Principe

La spectrométrie infrarouge est la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde. Ce rayonnement dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs.

4.2. Modes de vibrations moléculaires

L'absorption du rayonnement IR par les composés organique correspond à deux types principaux de vibration :

- Vibration de valence où d'élongation

- Vibration de déformation angulaire

4.2.1. Vibration de valence ou d'élongation

Une vibration de valence (d'allongement ou d'élongation) est un mouvement des atomes le long de l'axe de la liaison. Ce mouvement implique une variation de la distance interatomique. Elles sont représentées par « ν ».

Ces vibrations se situent dans la région du spectre allant de 4000 à 1000 cm^{-1} .

4.2.2. Vibration de déformation angulaire

Une vibration de déformation est un mouvement des atomes en dehors de l'axe de la liaison. Lors de se mouvement, la distance interatomique reste constante. Elles peuvent se réaliser dans le plan ou perpendiculairement au plan. Ces vibration sont représentées par « σ ».

Les vibrations de déformations sont d'intensité plus faible que celle des vibration de valence. Elles constituent la région du spectre dite « empreinte digitale » (1000 à 600 cm^{-1})[80]

5. HPLC (chromatographie liquide à haute performance)

Principe :

Dans la chromatographie liquide haute performance, les particules de la phase stationnaire de la colonne ont des diamètres plus petits que dans les systèmes par gravité ou à basse pression, ce qui donne une plus grande surface et augmente ainsi la résolution. De plus, les pressions plus élevées produisent des temps d'exécution plus courts. Le niveau de pression utilisé dépend de la capacité des pompes dans le système et de la pression nominale de la colonne et de l'emballage [32].

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant).

Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans la colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique.

Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne et grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [32].

Appareillage

La phase mobile est pompée à partir d'une bouteille et parcourt en permanence le chromatographe : l'injecteur, la colonne dans le four et le détecteur.

La température du four est maintenue constante.

Le signal du détecteur est amplifié et enregistré [78].

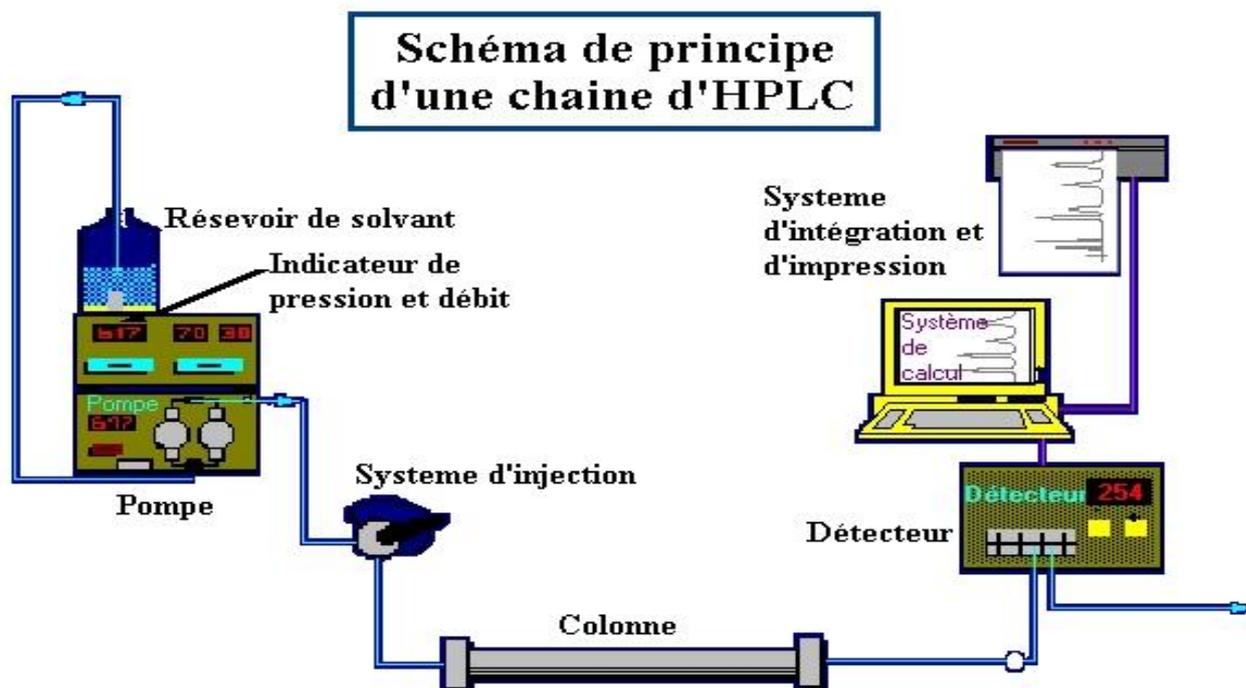


Figure 60 : Principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC

6. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Il s'agit là d'une technique d'analyse, très utile et simple à mettre en œuvre.

On l'utilise en général pour suivre l'avancement d'une réaction, pour connaître la composition d'une fraction séparée sur colonne ou visualiser la pureté d'un produit.

1. Principe

La chromatographie sur couche mince repose sur les phénomènes d'adsorption et d'interactions.

On place un composé sur un support solide (appelé phase stationnaire) et l'on applique alors un solvant (phase mobile) qui, par capillarité, va 'monter' et se déplacer sur la phase stationnaire.

Le phénomène de capillarité est très simple à montrer puisqu'il suffit de plonger le bout d'un mouchoir dans un liquide. On voit alors ce dernier monter dans le mouchoir par.... capillarité !

La phase mobile, en montant dans la phase stationnaire, va entraîner le composé que l'on avait déposé, et ce à une hauteur variant en fonction du composé et du solvant.

En effet, le composé va développer des interactions non seulement avec le solvant (phase mobile) mais également avec le support (phase stationnaire).

Ainsi le composé montera haut (on parle de migration) s'il a peu d'interactions avec le support ou bien s'il a une forte affinité pour le solvant.

La question est alors sur toutes les lèvres... Qu'elles sont ces interactions ?

Il s'agit ici d'interactions électrostatiques. Les composés sont soit polaires soit apolaires.

La phase stationnaire est ici polaire (silice, alumine).

Puisque ce sont les interactions qui sont responsables de la hauteur de migration, un composé polaire sur un support polaire se sentira comme chez lui et migrera moins haut qu'un composé apolaire, qui lui ne sera pas du tout à son aise sur ce support et donc qui cherchera à 'foutre le camp'...

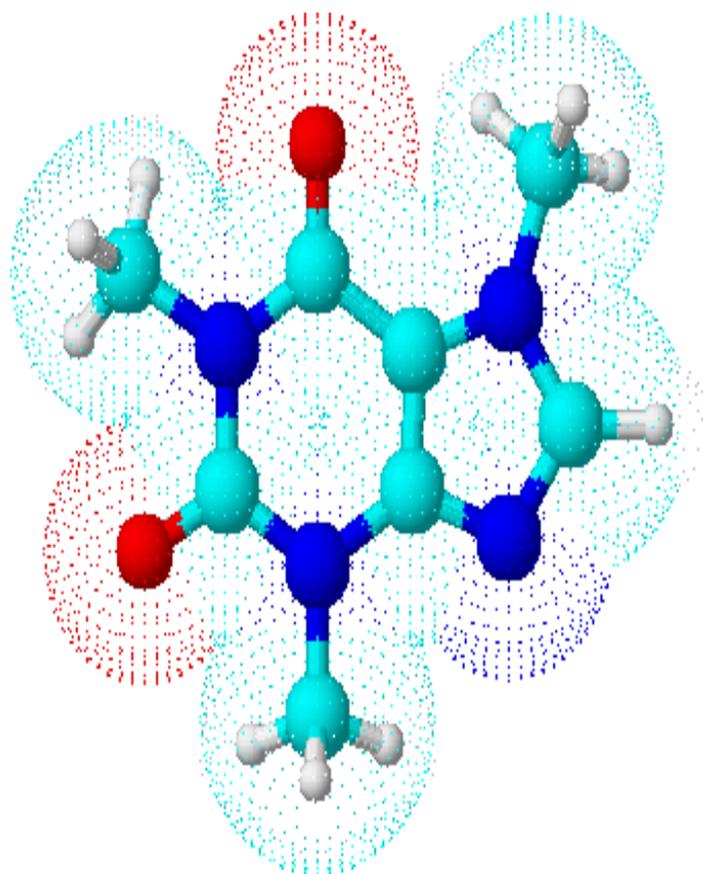
Le solvant entre lui aussi en compte puisqu'il va faire migrer le composé ; on classe donc les solvants en fonction de leur pouvoir éluant.

Prenons comme exemple une phase stationnaire polaire, un composé polaire et un solvant polaire. Le solvant polaire possède un pouvoir éluant élevé, fortement adsorbé, il déplace le composé. En revanche, un solvant apolaire possèdera un mauvais pouvoir éluant, mais entraînera un soluté apolaire.

Il existe ainsi des tables classant les différents solvants en fonction de leur force éluotrope (pouvoir éluant).

ANNEXE III

Pictogrammes de sécurité





Explosif



Inflammable



Comburant



Gaz sous pression



Corrosif



Toxique



Toxique, irritant, sensibilisant, narcotique

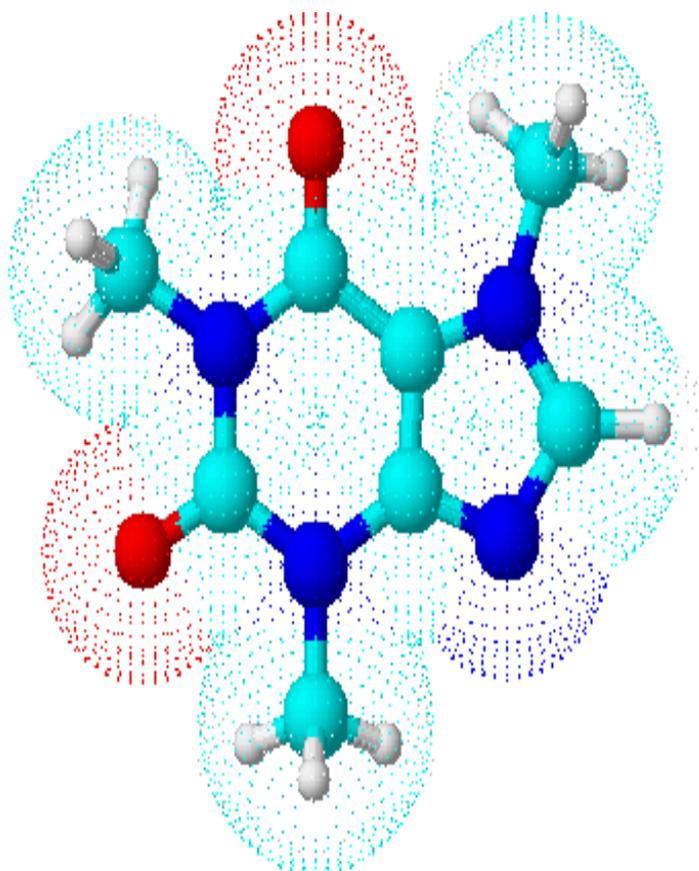


Sensibilisant, mutagène, cancérogène, reprotoxique



ANNEXE IV

Procédure d'analyse physico-chimique de la caféine



PROCEDURE d'analyse physicochimique de la caféine

I. OBJECTIFS

Cette procédure a pour but de décrire les méthodes d'extraction et de contrôle physico-chimique de la caféine.

II. DOMAINES D'APPLICATION

Cette procédure est spécifique à la caféine qui décrite dans la pharmacopée européenne 8^{ème} édition.

III. RESPONSABILITES

Tchoulak mohamed, Saddoun ayoub et Moulai aymen

Encadrés par Dr. N.HADHOUM ; maitre assistante en chimie thérapeutique.

IV. DEFINITIONS

1.3.7-triméthyl-1H-purine-2.6-dione

V. APPLICATION

1. Caractères

- **Aspect:** poudre cristalline blanche Indore mais de saveur amère.

- Solubilité

Assez soluble dans l'eau distillée à froid et facilement soluble à chaud

La caféine extraite est facilement soluble dans le dichlorométhane, pratiquement insoluble dans l'éther de pétrole.

Elle est peu soluble dans l'éthanol à 96%.

Température de fusion: 222.4%.

2. Identification

A. A 2 ml d'une solution saturée de caféine, ajoutez 0,05 ml de *solution d'iodure de potassium iodée R*. La solution reste limpide. Ajoutez 0,1 ml d'*acide chlorhydrique dilué R*. Il se forme un précipité brun qui se dissout après neutralisation par la *solution diluée d'hydroxyde de sodium R*.

Préparation des solutions nécessaires :

1-Solution d'iodure de potassium iodée : dissoudre 2g d'iode et 4 g d'iodure de potassium dans 10 ml d'eau, après dissolution, compléter à 100ml avec l'eau distillée.

2-Solution d'acide chlorhydrique diluée : prélever 20g d'acide chlorhydrique qui est équivalent en ml à 46.6 et compléter à 100ml avec de l'eau distillée.

3-Solution d'hydroxyde de sodium diluée : dissoudre 8.5g d'hydroxyde de sodium dans l'eau et compléter à 100ml avec le même solvant.

4-Solution saturée de caféine (de référence et extraite) : sachant que 1g de caféine se dissout dans 46ml d'eau à 20c, une solution de 22g/l est saturée en caféine.

B. Dans un tube à bouchon rodé, dissoudre environ 10 mg de caféine dans 0,25 ml d'un mélange de 0,5 ml d'*acétylacétone R* et de 5 ml de *solution diluée d'hydroxyde de sodium R*. Chauffer au bain-marie à 80 °C pendant 7 min. Laisser refroidir et ajouter 0,5 ml de *solution de diméthylaminobenzaldéhyde R2*. Chauffer de nouveau au bain-marie à 80 °C pendant 7 min. Laisser refroidir et ajouter 10 ml d'*eau R*. Il se développe une coloration bleu intense.

Préparation des solutions nécessaires :

1. Solution de diméthylaminobenzaldéhyde R2

Dissoudre à froid 0,2 g de *diméthylaminobenzaldéhyde R* dans un mélange de 4,5 ml d'*eau R* et de 5,5 ml d'*acide chlorhydrique R*. Préparer extemporanément.

C. Réaction à la murexide (réaction des xanthines) avec la caféine extraite et la caféine de référence a donné une coloration jaune-violet après l'ajout de l'ammoniaque diluée

D. Perte à la dessiccation : Après une heure dans l'étuve à 105 °C, nous avons refait la pesée de la caféine de référence et la caféine extraite.

E. Chromatographie sur couche mince :

Dépôt de 10 ul de la solution témoin (caféine de référence) ainsi que 10 ul de la solution à examiner (caféine extraite) sur une plaque de gel de silice qui est ensuite incorporée dans une phase mobile.

Après migration, la plaque CCM a été développée sous la lampe UV. Nous avons obtenu une seule tache de migration pour la caféine extraite ainsi que pour la caféine de référence, cette tache correspond au principe actif (caféine), aucune impureté n'a pu être mise en évidence par CCM.

1. préparation des solutions :

-Solution témoin : dissolution de 0.2 de caféine de référence SCR dans un mélange de 4 ml de méthanol et 6 ml de chlorure de méthylène, compléter à 10 ml avec le même mélange de solvants.

-Solution à examiner : dissolution de 0.2 de caféine dans un mélange de 4 ml de méthanol et 6 ml de chlorure de méthylène, compléter à 10 ml avec le même mélange de solvants.

- Phase mobile : un mélange de 10 ml d'ammoniaque concentrée, 30 ml d'acétone et 30 ml de chlorure de méthylène et 40 ml de butanol.

F. Spectroscopie d'absorption dans l'infrarouge :

Il suffit de lever le bras et d'introduire quelques mg de notre poudre de caféine et le remettre, l'analyse se fait brièvement. Nous avons obtenu le résultat sous forme de spectre.

Le spectre IR de la caféine obtenue par extraction est superposable au spectre IR de la caféine référence avec les mêmes bandes d'absorption. [79]

G. Spectrophotométrie d'absorption dans l'UV-visible

Réaliser 03 balayages de 200 à 700 nm, et noter l'absorbance du produit extrait

Le spectre d'absorption dans l'UV de la caféine référence montre que cette dernière absorbe dans l'UV. Le maximum d'absorption caractéristique de la caféine est retrouvée (~275nm).

Les spectres d'absorption dans l'UV de la caféine obtenue par extraction et la référence ont la même allure et le même maximum d'absorption. [80,81]

3. Essai

Solution S : Dissoudre à chaud 0,5 g de caféine dans 50 ml d'eau exempte de dioxyde de carbone R préparée à partir d'eau distillée R. Laisser refroidir et compléter à 50 ml avec le même solvant.

3.1. Aspect de la solution

A. Degré d'opalescence

Après comparaison visuelle de la solution S de la caféine extraite avec les solutions témoins d'opalescences préparées et le solvant utilisé (l'eau distillée), nous avons constaté que la solution S est limpide.

Méthode : comparer l'opalescence de la solution à examiner S aux cinq témoins préparés à la lumière diffuse du jour et à l'eau distillée.

Préparation de la solution de Sulfate d'hydrazine :

Dissoudre 1 g de sulfate d'hydrazine dans de l'eau, compléter à 100 ml avec le même solvant. Laisser reposer pendant 5h.

Préparation de la solution d'héxaméthylènetétramine :

Dans une fiole de 100ml à bouchon rodé, dissoudre 2.5 g de l'héxaméthylènetétramine dans 25 ml d'eau.

Préparation de la suspension-mère d'opalescence :

Introduire 25 ml de la solution de sulfate d'hydrazine dans la fiole contenant la solution d'héxaméthylènetétramine, mélanger et laisser reposer pendant 24 heures.

-Préparation de l'étalon d'opalescence :

Prélever 15 ml de la suspension-mère d'opalescence et compléter à 1000 ml avec de l'eau. Cette solution est préparée au moment de l'utilisation.

-Préparation des solutions témoins :

Les solutions témoins d'opalescence sont préparées comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau I : Préparation des solutions témoins d'opalescence.

Témoin	Témoin I	Témoin II	Témoin III	Témoin IV
Etalon d'opalescence (ml)	5	10	30	50
Eau (ml)	95	90	70	50

B. Degré de coloration

Après comparaison visuelle de la solution témoin S et les témoins de coloration, nous avons constaté que la solution S est incolore.

Méthode

- Dans des tubes à essai identiques, de verre neutre, incolores et transparents, à fond plat, comparer la solution S aux solutions témoins de coloration ;
- Apprécier les nuances à la lumière diffuse du jour par examen dans l'axe du tube et sur fond blanc.

Préparation des solutions :

.Solutions primaires

5. **Solution jaune** : Dissoudre 46g de chlorure ferrique dans 900ml d'un mélange de 25ml d'acide chlorhydrique et de 975ml d'eau distillée, compléter à 100ml avec le même mélange.

6. **Solution rouge** : Dissoudre 60g de chlorure de cobalt dans 900ml d'un mélange de 25ml d'acide chlorhydrique et de 975ml d'eau distillée, compléter à 100ml avec le même mélange.

7. **Solution bleue** : Dissoudre 63g de sulfate de cuivre dans 900ml d'un mélange de 25ml d'acide chlorhydrique et de 975ml d'eau distillée, compléter à 100ml avec le même mélange.

Solutions étalons : A partir des trois solutions primaires, nous procédons à la préparation des solutions étalons qui sont au nombre de cinq.

Solutions témoins : Les solutions témoins sont préparées à partir des solutions étalons.

C. Test d'acidité : Le volume moyen obtenu dans le titrage de la solution de la caféine extraite et qui est de 0.13 ml et le volume obtenu dans le titrage de la solution de la caféine référence qui est de 0.1 sont conformes à l'exigence de la pharmacopée qui fixe ce volume à moins 0.20 ml.

Méthode

-A 10 ml de solution A, ajouter 0,05 ml de *solution de bleu de bromothymol R1*. La solution est verte ou jaune ;

-Titrer par la solution d'Hydroxyde de sodium 0.01M préalablement préparé ;

-Le point d'équivalence est déterminé par un virage de l'indicateur coloré (bleu de bromothymol) du vert (ou jaune) vers le bleu.

Préparation des réactifs utilisés :

-Préparation de la solution d'Hydroxyde de sodium 0.1 M (S) :

Dans une fiole de 100ml contenant 10 ml d'eau distillé, dissoudre 400mg de NaOH et compléter le volume jusqu'au trait de jauge avec le même solvant.

- Préparation de la solution d'Hydroxyde de sodium 0.02 M et 0.01M :

A partir de la solution (S) préparer deux dilutions consécutives.

- Préparation de la solution de bleu de bromothymol :

Dans une fiole de 50 ml, dissoudre 25mg de bleu de bromothymol dans un mélange de 2ml de NaOH 0.02M et 10ml d'éthanol 96%, compléter au trait de jauge avec de l'eau distillé.

- Préparation de la solution de la caféine (solution A) :

Dans une fiole de 20 ml, peser une masse (m) =0.2g de caféine extraite A1 et de référence A2, compléter au trait de jauge avec de l'eau distillé .[82,83]

D. Dosage par HPLC : Le temps de rétention de la caféine référence est : 3.152 min

-Le temps de rétention de la caféine extraite est : 3.166 min

-Calcul de la teneur en principe actif :

-Titre(%) = (Aire échantillon / Aire standard) X [standard] / [échantillon] X Titre de la substance active (Estimer a 100%).

Aire échantillon : 1113862

Aire standard : 1149410

[Standard]= 0.0000242g/l

[Échantillon] = 0.000025 g/l

Titre du standard estimé à 100% (matière première conforme)

Application numérique : Titre%= (1113862/1149410) * [0.0000242/0.000025]*100%

Titre%= 0.94*100% = **94%**

La teneur en substance active est de 94%.

-Interprétation du titre :

Selon les normes exigées par la pharmacopée européenne 8^{ème} Edition (105% ; 95%), le titre obtenu est légèrement inférieur aux normes de la monographie, il faut insister sur l'étape de purification pour avoir un dosage conforme.

Méthode :

Préparation de la phase mobile :

-Dans une fiole de 100 ml, verser 40 ml de méthanol HPLC grade ;

- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'a trait de jauge ;

-Filtrer la solution préparée a l'aide du dispositif de filtration sous-vide en utilisant des filtres SUPELCO, fermer la fiole après filtration afin d'éviter l'évaporation du méthanol ;

-Verser la solution dans le réservoir de la phase mobile (40% méthanol /60% eau distillée).

Préparation de la solution échantillon (caféine d'extraction) :

-Solubiliser 20mg du produit d'extraction dans une fiole de 100 ml contenant environ 80ml d'eau distillée ;

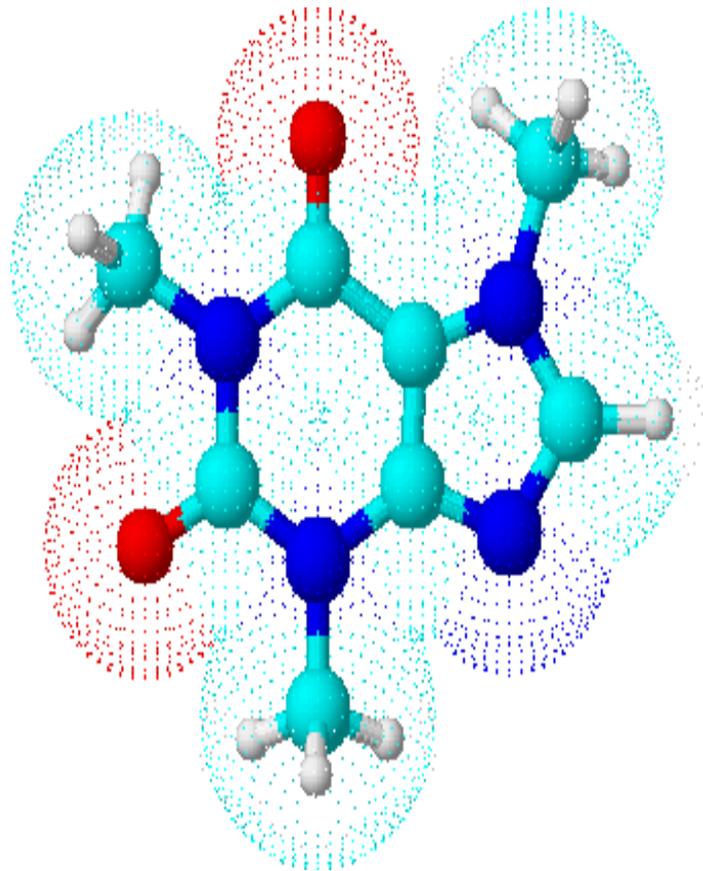
-Mettre aux ultra-sons pendant 15 minutes, compléter jusqu'au trait de jauge avec le même solvant (eau distillée) ;

-Effectuer une dilution au 1 /10 de la solution mère dans une fiole de 50 ml ;

-Remplir les viols et passer à l'analyse par HPLC.

ANNEXE V

Liste des médicaments contenant la caféine



Dénomination commune internationale	Concentration de la caféine	PA / excipient	Forme galénique du produit	La classe pharmacothérapeutique
Acide acétylsalicylique Paracétamol Caféine (ACTRON®)	40 mg	PA	comprimé effervescent	Antalgique /antipyrétique Traitement symptomatique des douleurs d'intensité légère a modérée et/ou des états fébriles.
Phénobarbital Caféine (ALEPSAL®)	3.75/12.5/25/37.5 mg	PA	Comprimé	Antiépileptique Traitement des crises d'épilepsies partielles /généralisés
Paracétamol Povidone (E1201) Caféine (ALGODOL CAFEINE®)	50mg	PA	Comprimé	Antalgique /antipyrétique Traitement symptomatique des douleurs d'intensité légère a modérée et/ou des états fébriles.
AC. acétylsalicylique AC. ascorbique (E300) Caféine (ANTIGRIPPINE A L'ASPIRINE ETAT GRIPPAL®)	10 mg	PA	Comprimé	Antalgique/antipyrétique Traitement symptomatique des affections douloureuses et des affections fébriles.
Ac. acétylsalicylique Caféine (ASPRO CAFEINE®)	50 mg	PA	Comprimé effervescent sécable	Antalgique/antipyrétique Traitement symptomatique des affections douloureuses et des affections fébriles.
Paracétamol Caféine (CLARADOL CAFEINE®)	50 mg	PA	Poudre orale (sachets)/ comprimé sécable pelliculé	Antalgique/antipyrétique Traitement symptomatique des affections douloureuses et des affections fébriles.
Citrate de caféine Cooper	50 mg	PA	Solution injectable et buvable	Traitement de l'apnée du nouveau-né prématuré
Glucuronamide+AC. ascorbique+Caféine (GCFORM®)	50 mg	PA	Comprimé effervescent	Traitement d'appoint de l'asthénie fonctionnelle

Tartrate d'ergotamine Caféine anhydre (GYNERGEN CAFEINE®)	100mg	PA	Comprimé	Traitement en dernière intention de la crise de migraine en cas d'échec caractérisé des traitements recommandés (anti inflammatoires non stéroïdiens et/ou triptans)
Paracétamol Opium Caféine (LAMALINE®)	30 mg	PA	Gélule Suppositoire	Traitement symptomatique des douleurs d'intensité modérée à intense et/ou ne répondant pas à l'utilisation d'antalgiques périphériques utilisés seuls
Caféine (LIPOFEINE 5%, gel)	5g pour 100 g de gel	PA	Gel	Traitement symptomatique des surcharges adipeuses sous-cutanées localisées
Dimenhydrinate, caféine (MERCALM ®)	10mg	PA	Comprimé pelliculé sécable	Prévention et traitement du mal des transports
Paracétamol Caféine Codéine (PRONTALGINE ®)	50mg	PA	Comprimé	Traitements de douleurs aiguës d'intensité modérée en cas d'échec par d'autres antalgiques comme le paracétamol ou l'ibuprofène (seul)
AC acétylsalicylique Caféine Codéine (SEDASPIR®)	50mg	PA	Comprimé	Traitement symptomatique des douleurs d'intensité modérée à intense et/ou ne répondant pas à l'utilisation d'antalgiques périphériques utilisés seuls

Résumé

La caféine est un composé chimique naturellement présent dans les constituants de plantes, c'est un stimulant mineur du système nerveux central.

L'objectif de notre travail était l'extraction de la caféine à partir des feuilles du thé, puis son identification et sa caractérisation physicochimique conformément à la pharmacopée européenne 2008.

Nous avons obtenu la caféine par une extraction liquide-solide (Eau/feuilles du thé) suivie d'une extraction liquide-liquide (dichlorométhane/ Eau) et en faisant appel à un chauffage à reflux, une filtration sous vide, une décantation par le dichlorométhane et une élimination du solvant volatil par le rota vapeur. Le meilleur rendement était obtenu en travaillant sur les infusions du thé. Le spectre IR obtenu était superposable avec le spectre de référence, les réactions colorimétriques étaient positives, le spectre uv-visible a montré la présence du maximum d'absorption caractéristique de la caféine. La valeur obtenue du point de fusion était comprise dans l'intervalle exigée par la monographie, le titre était légèrement inférieur aux normes.

Donc dans l'ensemble, la caféine extraite répondait aux exigences de la pharmacopée européenne 2008, les résultats étaient satisfaisants, il faut juste insister sur la purification pour avoir un titre conforme.

Abstract

Caffeine is an alkaloid from methylxanthine family, it can be founded in many foods which acts as a psychotropic stimulant and mild diuretic.

Our work focused on the extraction of caffeine from tea leaves, then the identification and physicochemical characterization of this molecule by adapting series of tests, also reactions described in the European pharmacopoeia 2008⁷ and ⁸, including the HPLC test.

We obtained caffeine by liquid-solid (water/tea leaves) and liquid-liquid (dichloromethane/water) extraction using the various techniques necessary to obtain the caffeine powder (reflux heating, vacuum filtration, decantation with dichloromethane, retro-steam drying).

The best yield was obtained by working on tea infusions.

The extraction of caffeine obtained in the form of white crystalline powder undergoing physicochemical control and analysis of the solubility in different solvents (water/ethanol) (ether, dichloromethane) which were in accordance with European pharmacopoeia data.

For the sake of identification, we used spectral methods (IR and UV-Vis, HPLC), colorimetric reactions such as reactions with dimethylbenz aldehyde and determination of the melting point.

The IR spectrum obtained was stackable with the reference spectrum. The UV-Vis Spectrum showed the presence of the two maximum absorption characteristic of caffeine.

The value obtained from the melting point was within the range required by the monograph.

In general, our caffeine extraction met the requirement of the 2008 PE 7 and 8 edition, and the results were also satisfactory.