

**Zeitschrift:** Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles  
**Herausgeber:** Société Vaudoise des Sciences Naturelles  
**Band:** 8 (1944-1946)  
**Heft:** 7

**Artikel:** Contribution à l'étude de la racine fraîche de Valérianne  
**Autor:** Fauconnet, Louis  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-287474>

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

#### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 12.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# MEMOIRES DE LA SOCIETE VAUDOISE DES SCIENCES NATURELLES

N° 57

1946

Vol. 8, N° 7

---

## Contribution à l'étude de la racine fraîche de Valériane<sup>1</sup>

PAR

Louis FAUCONNET

(Présenté à la séance du 3 juillet 1946)

---

### PREMIERE PARTIE RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

#### CHAPITRE I : Aperçu historique et introduction.

Sous le nom de Phu, les anciens (PLINE, 243, DIOSCORIDE, 86) désignaient une plante du genre *Valeriana* actuel, mais il est difficile de préciser si cette plante appartient au groupe *V. officinalis* ou à un groupe plus proche des *Nardotachys*. La question a été discutée par divers auteurs : TSCHIRCH (309), GILDEMEISTER (118), MARZELL (205).

Le nom de *Valeriana* était, semble-t-il, dans le langage parlé, longtemps avant qu'on le trouve écrit pour la première fois chez ISAAC JUDAEUS (X<sup>e</sup> s.).

Les nombreuses dénominations synonymes (TSCHIRCH, 309) qui servent à désigner les Valérianes pendant le moyen âge et dans les temps modernes prouvent l'importance de la drogue, tant fraîche que sèche, surtout en médecine populaire (SCHELENZ, 272). Ici encore la détermination exacte des diverses espèces de Valérianes utilisées aux différentes époques n'est guère possible le plus souvent.

De nos jours, la racine ou le rhizome de Valériane figure dans presque toutes les pharmacopées; mais seules les phar-

<sup>1</sup> Ce travail a été effectué de l'automne 1942 au printemps 1946, sous la direction de M. le professeur A. Girardet, dans les laboratoires de pharmacognosie et de pharmacie galénique de l'Université de Lausanne.

M. le professeur A. Girardet m'a confié l'étude de ce sujet, il a dirigé mes recherches par des conseils judicieux et des critiques fécondes, il m'a soutenu par maints encouragements. Je suis heureux d'exprimer à mon maître ma vive reconnaissance.

M. le professeur V. Demole m'a fait bénéficier de son expérience. Qu'il soit assuré de ma gratitude.

macopées helvétique, française et belge prévoient l'emploi de la drogue fraîche.

Les pharmacologues et les pharmacognostes qui classent les drogues d'après leurs principes actifs placent la Valériane soit parmi les drogues aromatiques (HÉRAIL, 147, FLÜCKIGER, 107, WASICKY, 325) soit parmi celles à acides volatils (TSCHIRCH, 309, MORITZ, 213). Cette classification est-elle assez justifiée pour être maintenue ?

Depuis longtemps on a observé que l'odeur forte et caractéristique de la Valériane ne se manifeste qu'au cours de la dessiccation, tandis que l'odeur de la racine fraîche est assez faible et nettement différente. A la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, on a reconnu l'importance des ferments ou enzymes (TRAUBE, BOURQUELOT, 48), on leur a attribué un rôle primordial dans les transformations chimiques que subit toute drogue pendant sa dessiccation, et on a expliqué par l'action des ferments l'apparition de l'odeur caractéristique de la racine sèche de Valériane.

D'après CHEVALIER (71), il existerait dans la plante fraîche un alcaloïde et un glucoside, doués d'une action narcotique, mais qui seraient détruits par la dessiccation. C'est à la suite des travaux de BOURQUELOT (50), HÉRISSEY (148), CHEVALIER, puis de PERROT et GORIS (235), que la racine stabilisée de Valériane a été introduite dans le Codex français (78), après avoir figuré dans le Supplément au Codex de 1908, et dans la Pharmacopée belge IV (239).

La 5<sup>e</sup> édition de la pharmacopée helvétique (Ph. H. V) a été rédigée par une commission dont la légitime ambition fut de mettre sur pied une œuvre modèle, qui tînt compte des acquisitions scientifiques modernes (GOLAZ, 122). Les principes directeurs concernant les préparations galéniques furent exprimés par TSCHIRCH (310), qui recommanda la préparation d'extraits de plantes fraîches; cette méthode souvent appliquée autrefois, et qui a été reprise par HAHNEMANN (141) pour les médicaments homéopathiques<sup>1</sup>, était alors presque abandonnée; TSCHIRCH relève en outre l'importance et la nécessité d'un contrôle chimique et pharmacologique. « La base de toute pharmacie galénique qui veut être scientifique, est la chimie des drogues; il faudrait même aller plus loin, examiner la plante médicinale fraîche, et les transformations qu'elle subit en séchant. » Ces idées, qui gardent toute leur valeur, ont été en partie réalisées par la Ph. H. V, qui fait préparer une

<sup>1</sup> Pour la Valériane toutefois, la pharmacopée homéopathique allemande prescrit la racine sèche.

teinture alcoolique stabilisée de racine fraîche, selon BOURQUELOT (49, 50) et un extrait sec, par distillation de cette teinture sous pression réduite à une température inférieure à 50°.

Les prescriptions de la Ph. H. V concernant la préparation de ces deux médicaments sont-elles justifiées ? Permettent-elles d'obtenir des produits dont l'activité thérapeutique soit la meilleure possible ? Quels sont les principes actifs de la racine de Valériane ? Connaissant ces principes actifs et leurs propriétés, quels sont les médicaments galéniques les plus efficaces ?

Les essais prévus pour l'examen de l'identité, de la pureté et de la qualité de la teinture et de l'extrait sont-ils suffisants ? Peuvent-ils être perfectionnés ?

Tel est le problème complexe qui fait l'objet de ce travail, telles sont les questions auxquelles je tente de répondre.

L'exposé de mes recherches, de mes résultats et de mes conclusions comporte quatre parties.

La première est consacrée aux recherches bibliographiques et à l'étude critique des publications en rapport avec mon sujet.

Dans la deuxième partie, j'étudie les variations que présentent quelques caractéristiques chimiques et galéniques de la racine fraîche de Valériane, suivant la saison et les conditions météorologiques, pour essayer de connaître la physiologie de la plante.

Dans la troisième partie, sont exposées mes recherches pharmacologiques en vue de préciser la nature des principes actifs de la drogue fraîche.

Dans la quatrième partie, je fais part de mes observations sur les propriétés chimiques et galéniques de la drogue fraîche, et tire mes conclusions.

## CHAPITRE II : Botanique, cultures, localisation de l'essence.

La description botanique et la classification de plusieurs espèces du genre *Valeriana* sont rassemblées dans la flore de HEGI (146) après les travaux de HöCK (152), WINNICKI (340), BEEBY (27). BEILLE (28) décrit *Valeriana officinalis* L., *sensu lato*, tandis que CAMUS (67), DUCLERGET (90) étudient et comparent diverses Valérianes voisines de l'officinale et indigènes en France, UNGER (317) celles de Wurzbourg, HEEGER (145) celles d'Allemagne, KREYER (188) celles de Russie. VAN DE VYVERE (318) compare diverses Valérianes cultivées. DRABBLE et SMITH (87) donnent les caractères distinctifs de deux Valé-

rianes du Derbyshire (Angleterre). MAILLEFER (201) consacre un récent travail à l'étude botanique systématique et critique de *Valeriana officinalis* L. et des espèces affines.

REUTER (256), VIDAL (320), MIGNON (208) décrivent l'anatomie des racines de Valériane, description qu'on trouve aussi dans les ouvrages généraux de pharmacognosie : KÖHLER-PABST (185), FLÜCKIGER (107), TSCHIRCH et ÖESTERLE (313), KOCH et GILG (183), GILG et BRANDT (121), PLANCHON, BRETIN et MANCEAU (242), WASICKY (326), R. FISCHER (104). De remarquables dessins des fragments de la drogue pulvérisée se trouvent dans les ouvrages de KOCH (182) et de MOELLER (211). F. FISCHER (101) étudie l'anatomie des feuilles, tandis qu'AUGUSTIN (13) s'occupe des fruits. SHIMOJAMA et HYRANO (284) décrivent l'anatomie de *Valeriana officinalis* L. var. *angustifolia* MIG., qui pousse au Japon et dont la racine parvient en Europe sous le nom de Kesso. LINDENBERG (198), puis PEYER et DIEPENBROCK (236) décrivent la Valériane indienne : *Valeriana Wallachii* DC. et l'anatomie de sa racine.

*Cultures.* — De nombreux auteurs, dont GEIGER (111), REINBOLDT (254), BOSHART (44), STAUCH (294), WALLNER (324), APPL (6), OESTLING (222), HINNARD et PRADES (151), ADOLF (1), RAWETZKY (252), BAENNINGER (15), REINHOLD (255), BAUER (19), HEEGER (145), SIEGFRIED (287), FLÜCK (106) donnent des renseignements et des conseils au sujet de la culture de la Valériane; les avis et les appréciations diffèrent sur plusieurs points, notamment sur l'abondance des récoltes. BOELMANN (42), RJABINOWSKY et coll. (259), SABALITSCHKA (268), BOSHART (45) étudient l'influence des engrains sur le rendement des cultures; GIRARDET et NEIPP (217) observent l'action de la vitamine B<sub>1</sub> ajoutée à l'eau d'arrosage des Valérianes cultivées en pleine terre. BAUER (19), IHBE (160), HEEGER (145) s'efforcent de sélectionner les variétés les plus avantageuses.

*Localisation et genèse de l'essence dans la racine.* — Sur ces deux points, les avis de différents auteurs sont très divergents; BOUCHARDAT (47) pense que l'essence n'existe pas dans la plante vivante, mais qu'elle est produite par une réaction enzymatique semblable à celle qui donne naissance à l'essence d'amandes amères. Un avis pareil est exprimé par VAN DER WIELEN (336), puis repris par GILDEMEISTER-HOFFMANN (120). D'autre part ZACHARIAS (343), TSCHIRCH et ses collaborateurs ÖESTERLE (313) et NEUBER (312), KOCH (182), ZÖRNIG (346),

ANSELMINO et GILG (5), KARSTEN et BENECKE (170), BRUN (59) prétendent voir l'essence localisée dans les seules cellules de l'assise hypodermique de la racine. UNGER (317), MIGNON (208), PLANCHON, BRETIN et MANCEAU (242) situent l'essence dans toute la zone qui comprend l'hypoderme, le parenchyme amyloïde et l'endoderme de la racine. GILG et BRANDT (121) transcrivent, à deux pages de distance, des opinions contradictoires. WETTERWALD (333) consacre un travail important à la sécrétion de l'essence dans la racine de Valériane. Il estime que les divergences sont explicables par les différentes conditions d'observation et par la sensibilité de la Valériane aux influences du milieu où elle a poussé. Ses recherches le conduisent à distinguer deux sécrétions dans la racine : a) une sécrétion hypodermique qui serait l'essence, b) une sécrétion du parenchyme cortical amyloïde, soluble dans l'eau, peu volatile, colorée en vert par HCl, en brun par KOH, en jaune orangé par la solution de Lugol, d'autant mieux observable que le matériel est plus frais; dans le matériel vieux, la sécrétion est diffuse; sa teneur diminue pendant le stockage de la drogue; la coloration par HCl donne une indication sur l'âge de la drogue. La sécrétion sous-hypodermique des préparations fraîches résiste à plusieurs agents chimiques oxydants; elle serait pauvre en dérivés de l'acide isovalérianique; avec l'âge, les deux sécrétions deviendraient semblables.

### CHAPITRE III : Chimie.

L'étude chimique de la racine de Valériane porta au début sur les substances responsables de son odeur particulière; essence et acides volatils sont d'abord confondus : FR. HOFFMANN, HERM. BOERHAVE, CL.-J. GEOFFROY, aux XVII<sup>e</sup> et XVIII<sup>e</sup> siècles obtiennent leur « essence » à partir soit de racine sèche, soit de racine fraîche; ils ne savent pas en séparer les constituants; GRABERG en donne une première description.

Au début du XIX<sup>e</sup> siècle, TROMMSDORFF (306) isole et caractérise l'acide valérianique, que PENTZ (233) avait préparé à l'état brut, sans bien en reconnaître la nature acide, et que GROTE (132) prenait pour un acide acétique particulier ou modifié par « une teneur en essence ». ASCHOFF (12) reconnaît que l'acide valérianique n'est pas le seul acide volatile de la racine de Valériane, mais qu'il est mélangé à de l'acide acétique. Les divers acides valérianiques isomères sont étudiés par ERLENMEYER et HELL (95), puis par SCHMIDT et SCHACHTLEBEN (276); on sait dès lors que l'acide de la Valériane est l'acide isopropyl-acétique.

D'autres auteurs étudient l'essence insoluble dans l'eau. ROCHLEDER (260) traite l'essence par l'acide nitrique et obtient un « camphre »; est-ce du bornéol (obtenu par simple hydrolyse) ou un produit d'oxydation ?

GERHARDT et CAHOURS (112, 113) distillent l'essence sur de la potasse fondu; ils séparent d'abord un hydrocarbure terpéniqne que PIERLOT (241) appelle valérène, qui est probablement un mélange de pinène et de camphène<sup>1</sup>; GERHARDT obtient ensuite du bornéol, qu'il identifie avec celui de *Dryobalanops Camphora* GAERTN. obtenu par PELOUZE (232) et appelé camphre de Bornéo; les deux corps sont en réalité des antipodes optiques; GERHARDT nomme valérol les fractions de l'essence qui passent en-dessus de 200° à la pression ordinaire, et il pense que ce produit donne par oxydation, à l'air, de l'acide valérianique, ce que PIERLOT conteste.

BRUYLANTS (60) sépare, par distillation fractionnée de l'essence : de l'acide formique, un terpène en C<sub>10</sub> et du bornéol, dans lequel HALLER (142) reconnaît le 1- $\alpha$ -bornéol; BRUYLANTS admet que le bornéol peut être oxydé en camphre, mais aussi en acides formique, acétique et isovalérianique, qui dans l'essence estérifient le bornéol et sont mis en liberté par l'acide sulfurique à chaud; il est probable, à mon avis, que BRUYLANTS a soumis à l'oxydation chromique un bornéol mélangé à ses esters, dont il a libéré les acides par cuisson en milieu sulfurique dilué.

GEROCK (114) précise que l'essence est constituée par 87,3 % de terpènes, 9,5 % d'ester isovalérianique du bornéol, 1 % environ de chacun des esters formique, acétique et butyrique du même alcool.

OLIVIERO (224) étudie l'essence de racine fraîche des Vosges et des Ardennes récoltée en septembre. Son essence ne contient pas d'aldéhyde; elle a une couleur verte d'intensité variable. Il saponifie par KOH alcoolique et obtient beaucoup d'acide acétique, peu d'isovalérianique, des traces de formique et de butyrique; les esters isovalérianiques, moins stables que les acétiques, semblent avoir été hydrolysés lors du premier entraînement à la vapeur. Par distillation fractionnée de l'essence saponifiée, il obtient un mélange de carbures terpéniques, parmi lesquels il caractérise le 1-camphène (un autre constituant de ce mélange est, je pense, le 1- $\alpha$ -pinène), puis du citrène; par distillation des fractions supérieures sous pression

<sup>1</sup> RUTOWSKI et ses collaborateurs (265) semblent avoir réalisé artificiellement la transformation de l- $\alpha$ -pinène en camphène.

réduite, il sépare du bornéol qui cristallise, du terpinéol, puis un alcool sesquiterpénique; les fractions les plus hautes sont fortement lévogyres et se solidifient par refroidissement.

CIONGA (73) étudie les substances qu'il obtient en épuisant à l'éther des drogues sèches stabilisées industriellement en France ou en Belgique; il n'y trouve pas trace de bornéol, ni libre, ni estérifié; il se demande si le bornéol préexiste dans la racine fraîche ou s'il se forme au cours de la dessiccation, par action des fermentations, ou au cours de l'entraînement à la vapeur. D'après les renseignements que nous possédons sur la méthode de stabilisation industrielle, la drogue fraîche est soumise pendant quelques minutes à la vapeur d'eau sous pression, on détend brusquement en laissant s'échapper la vapeur; je pense qu'à ce moment l'essence est entraînée et que CIONGA aurait trouvé le bornéol s'il l'avait recherché dans cette vapeur condensée.

Presque tous les auteurs qui s'occupent de l'essence remarquent la coloration bleue des fractions qui distillent vers 300°; ces fractions sont étudiées par FLÜCKIGER et KOPP (108) qui les appellent Blauöl; puis TSCHIRCH (309) en mesure les raies spectrales et les trouve semblables à celles de l'essence de Kesso, analysée par BERTRAM, GILDEMEISTER et WALBAUM (33, 34); ASAHIKA et ses collaborateurs (11) ont isolé l'azulène de l'essence de Kesso, RUZICKA et HAAGEN SMIT (266) l'ont identifié à leur S-guajazulène; CIONGA (73) a tenté en vain d'en faire autant avec l'essence de Valériane européenne.

En résumé, nous savons d'après ces travaux que l'essence de racine de Valériane contient: des hydrocarbures terpéniques, dont l' $\alpha$ -pinène et le camphène, du terpinéol, du bornéol estérifié par l'acide isovalérianique (10 % d'ester dans l'essence) et par les acides butyrique, acétique et formique (1 % environ de chaque ester), un alcool sesquiterpénique et un azulène; d'autres constituants n'ont pas été identifiés. Les indices de cette essence sont, d'après TSCHIRCH (309) et d'après GILDEMEISTER-HOFFMANN (120):  $d = 0,92$  à  $0,965$ , pour l'essence de racine sèche, tandis que pour celle de racine fraîche,  $d = 0,875$  à  $0,900$ ;  $\alpha_D = -8^\circ$  à  $-14^\circ$ ; indice d'acidité = 5 à 50; indice d'ester 50 à 130; indice de saponification 100 à 150 (TSCHIRCH; THOMS, 302). Ces indices signifient que 1 g d'essence contient 0,09 à 0,9 milliéquivalent d'acide libre, ce qui correspond à 9-92 mg d'acide isovalérianique ou à 5,4-54 mg d'acide acétique libre par g d'essence; si l'indice d'ester concerne seulement les esters du bornéol, les valeurs de cet indice impliqueraient que l'essence contient 17,5 à 45,5 % d'acétate

ou 21,2 à 55,2 % d'isovalérianate de bornyle, valeurs qui sont incompatibles avec les renseignements trouvés dans la littérature.

Les essences d'autres Valérianes que l'officinale ont été analysées. La valériane du Japon, *V. officinalis* L. var. *angustifolia* MIG., appelée Kesso, est plus riche en essence que la drogue européenne : 5 à 8 % dans la racine sèche; cette essence, acceptée officiellement en Allemagne comme succédané de l'essence européenne, contient, d'après BERTRAM, GILDEMEISTER et WALBAUM (33, 34) : de l'aldéhyde isovalérianique, les acides acétique et isovalérianique, pas d'acide formique, du pinène, du dipentène, du terpinéol, du bornéol estérifié, de l'azulène et l'acétate d'un alcool nouveau, l'alcool kessylique, étudié par ASAHIWA et ses collaborateurs (10, 11). SHIMOJAMA et HYRANO (284) ont trouvé de l'acide méthyl-éthyl-acétique dextrogyre, à côté de l'acide isovalérianique ordinaire.

La racine de Valériane indienne (*V. Wallachii* DC.), étudiée par BULLOCK (64), donne une essence qui diffère de celle d'Europe; elle ne contient pas de bornéol, mais des acides gras supérieurs. Il se peut, à mon avis, que l'essence analysée par HAENSEL (137) soit de l'essence de Valériane indienne.

Parmi les substances qui ne font pas partie de l'essence, plusieurs auteurs ont rencontré des corps de nature basique qu'ils ont appelés alcaloïdes, sans avoir toujours vérifié si une activité physiologique justifiait cette dénomination. WALISZEWSKI (323) isole le premier deux de ces corps, qu'il nomme chatinine et valérine; GORIS et VISCHNIAC (125) en reprennent l'étude; ils en obtiennent 0,1 g par kg de racine fraîche. RUSIECKI (264) confirme ces résultats et précise que ces deux alcaloïdes sont détruits par oxydation au cours du séchage de la drogue; BOCHWIC et RUSIECKI (40) trouvent 0,2 g d'alcaloïdes totaux par kg de racine fraîche et en étudient l'action pharmacologique.

CHEVALIER (72) obtient, à partir de racine fraîche stabilisée selon BOURQUELOT (49, 50), un alcaloïde volatil, dont il cristallise le chlorhydrate; il en obtient 0,15 g par kg de drogue fraîche, n'en donne pas les caractéristiques physiques et chimiques, mais il en étudie les effets physiologiques sur la grenouille. CIONGA (73) pense que cet alcaloïde volatil est identique à la méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone qu'il a isolée et identifiée dans l'« essence concrète » de Valériane stabilisée.

JANOT et CIONGA (164) mettent au point une méthode de dosage gravimétrique de la méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone, mais ne semblent pas l'avoir appliquée à l'étude des préparations de Va-

lériane. SCHON et TONNESEN (280) dosent la substance par voie spectrographique; ils n'en trouvent que des traces minimes dans les préparations de Valériane. TSCHITSCHIBABINE et OPA-RINA (314) isolent à partir de la drogue sèche, une base liquide et volatile, d'apparence pyridinique, avec un rendement de 0,11 à 0,13 g par kg de racine sèche (ce qui correspond à environ 0,026 g par kg de racine fraîche).

BLACKIE et RITCHIE (39) isolent un alcaloïde incristallisable (serait-ci qu'il est liquide?); ils en étudient l'action pharmacologique.

CHEVALIER (71) obtient un hétéroside instable, en partant de racine fraîche stabilisée, et confirme ainsi les indications de HARLAY (143), qui s'attache plus spécialement à la recherche du saccharose. KROMER (190) a aussi trouvé du saccharose dans la drogue sèche : 0,3 à 1,42 %.

Dans la première moitié du XIX<sup>e</sup> siècle déjà, RUNGE (262) puis CZYRNIAŃSKI (82) remarquent la présence, dans la racine fraîche de Valériane, de substances sensibles à l'oxydation, parentes des acides « cafétanniques » déjà connus, étudiés par ROCHLEDER (260); la couleur verte que prennent leurs solutions ou leurs sels de plomb exposés à l'air les ont fait appeler « grüngige Säure » et acide chlorogénique; GORTER (126) en reprend l'étude et montre que l'acide chlorogénique se trouve dans de nombreux végétaux; FREUDENBERG (109) en découvre la scission enzymatique et en établit la constitution (acide caféyl-quinique), précisée ensuite par H. FISCHER (102); enfin FICHTER (99) qui étudie les substances fluorescentes de la teinture de Valériane, l'isole par chromatographie et établit son identité. Bien que cette substance ne participe que peu ou pas à l'activité pharmacologique de la drogue et de ses préparations, je lui attribue de l'importance, pour quatre raisons : 1) l'acide chlorogénique, ses dérivés et les substances voisines peuvent expliquer la présence et l'origine de plusieurs corps isolés par les chercheurs, tels que l'acide isoférulique obtenu par CIONGA (73); 2) la fonction réductrice o-diphénol de l'acide caféique a les propriétés d'un antioxygène qui peut protéger des principes actifs sensibles aux oxydations; 3) ces mêmes propriétés réductrices peuvent en faire un indicateur de la bonne conservation ou du degré d'altération de la drogue et de ses préparations; 4) les trois hydroxyles alcooliques libres de l'acide quinique fixent peut-être soit des oses (hétérosides), soit de l'acide iso-valérianique (esters), libérés déjà par l'eau bouillante; ce serait éventuellement l'origine de mes « acides volatils libres ».

Les enzymes de la racine de Valériane posent un problème

qui reste sans solution satisfaisante. CARLES (68) admet la présence d'une oxydase dans la drogue fraîche, qui transformerait en acides gras volatils les aldéhydes, alcools et carbures pendant la dessiccation. Ses expériences ne sont pas décisives; elles permettent de tirer d'autres conclusions que celles auxquelles il s'arrête. Il décèle une oxydase par la réaction de SCHÖNBEIN (279) ou d'ARNOLD (7), coloration bleue de la teinture de gaïac, précipite les ferment bruts par addition d'alcool au suc d'expression; ces ferment bruts contiennent toutes les enzymes qui peuvent se trouver dans le suc: hydrolases diverses aussi bien qu'oxydases. De la racine fraîche mise dans un tube bouché qu'on plonge pendant 10 minutes dans l'eau bouillante ne colore plus la teinture de gaïac; le suc qu'on retire de cette racine désenzymée prend à l'air une odeur de racine sèche; j'en conclus que l'oxydase qui bleut la teinture de gaïac n'est pas nécessaire à la réaction qui fait apparaître l'odeur valérianique. CARLES croit appuyer son hypothèse de l'oxydase en affirmant que les cendres des extraits de racines de Valériane sont riches en Mn; il ne dit pas comment il a recherché, apprécié ou dosé le Mn; les travaux de FLEURY (105), puis de KUBOWITZ (191) ont réduit à néant la théorie de BERTRAND (35) sur le Mn de la laccase; le métal actif est du Cu. CARLES en arrive à considérer son oxydase et le Mn qu'elle contiendrait comme le principe actif de la drogue, ce qui ne saurait être soutenu.

BROOKS (56) confirme plusieurs expériences de CARLES, mais il conteste que l'enzyme qui provoque l'odeur d'acide isovalérianique, soit une oxydase; il observe que l'ébullition en milieu acide libère de l'acide valérianique, et qu'un extrait provoque l'hydrolyse d'une solution d'isovalérianate d'éthyle; il admet la présence d'une hydrolase (lipase); il ne nie pas celle d'une oxydase, mais il limite son rôle à la genèse de l'acide valérianique dans la plante qui croît; l'acide formé serait immédiatement combiné au bornéol.

VAN DER WIELEN (336) suppose que les différences d'odeur et de teinte de la drogue sèche non stabilisée et de la drogue fraîche ou stabilisée sont dues à une peroxydase; il préfère les préparations de racine de Valériane stabilisées, qui sont plus actives.

JARETZKY (165) fait remarquer que la formation d'acide isovalérianique n'est pas seulement fermentaire, puisqu'elle se produit aussi dans l'essence distillée, en absence de tout ferment; l'auteur pense à un processus d'oxydation non enzymatique; je peux confirmer ses observations (v. chapitre XVIII).

*Dosages des acides volatils.* — Dans leurs traités, TSCHIRCH (309) et MORITZ (213) rangent la Valériane parmi les drogues à acide (Säuredrogen) à cause de l'acide isovalérianique, dont l'odeur est caractéristique de la racine sèche non stabilisée. La Ph. H. V, qui fait doser l'acidité de la teinture stabilisée, accorde aussi une importance aux acides libres.

SCHOONBRODT (281) obtient par distillation de racine fraîche une eau neutre et beaucoup d'essence à odeur faible; par exposition à l'air, et surtout lorsqu'on ajoute un peu d'alcali, cette essence devient lentement acide et acquiert une odeur forte; il dose alors 0,6 g d'acide valérianique pour 100 g de racine fraîche; dans le distillat de racine sèche provenant de 100 g de racine fraîche, il en trouve 0,4 g.

KATZ (171), dans ses tentatives d'apprecier les teintures-mères homéopathiques, se heurte avec la teinture de Valériane à des difficultés dans le dosage de l'essence qu'il considère comme le principe actif; dans cette essence, l'acide valérianique et ses esters sont les constituants principaux; il préconise le dosage des acides volatils, après hydrolyse alcaline ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) et distillation en présence d'un excès d'acide phosphorique, et apprécie ainsi la teneur en essence; sa méthode a été adoptée par la pharmacopée homéopathique allemande. Selon CARLES (69), « l'acide valérianique existe dans la racine sèche de Valériane à la fois à l'état libre et à l'état de valérianates; les racines additionnées d'eau et d'acide tartrique ne fournissent guère à la distillation que de l'acide valérianique pur. Mais si on emploie l'acide sulfurique à la place d'acide tartrique, le rendement en acides volatils se trouve considérablement augmenté; il s'élève à 30 g par kg de racines sèches, dont  $\frac{1}{6}$  d'acide valérianique,  $\frac{4}{6}$  d'acide propionique et  $\frac{1}{6}$  environ d'acides acétique et formique. »

TSCHIRCH (309) rapporte les résultats de titrations, effectuées à son instigation par BÜHRER (Clarens, 1909), sur des extraits à l'alcool dilué, de racines fraîches et sèches de diverses provenances; les valeurs correspondent à 1,43 et 4,8 g d'acides libres totaux calculés en acide isovalérianique dans 100 g de racine fraîche. A titre de comparaison, rappelons que la Ph. H. V prescrit que 5 g de teinture de racine fraîche stabilisée doivent être neutralisés par 0,7 à 0,9 cm<sup>3</sup> NaOH n/10 (coloration rouge de la phénolphthaleïne); 1 P. de teinture Ph. H. V correspondant théoriquement à 0,55 P. environ de racine fraîche, la prescription de la Ph. H. V implique que

100 g de racine fraîche stabilisée cèdent à l'alcool dilué environ 0,25 à 0,33 g d'acides libres calculés en acide isoalérianique.

RYDÉN (267) pense que l'activité thérapeutique de la Valériane est due surtout à sa teneur en acide isoalérianique, en ester isoalérianique du bornéol et en esters bornyliques d'autres acides volatils; il attache donc de l'importance au dosage des acides volatils totaux, après saponification par la potasse alcoolique; il en exige au minimum 4 % dans la racine sèche, calculés en acide valérianique. COCX (77) estime au contraire que les principes actifs de la Valériane ne sont pas assez connus pour qu'on puisse les doser chimiquement; il nie l'existence d'un rapport constant entre la teneur en essence et la quantité d'acides volatils. HECHT, HIMMELBAUR et KOCH (144, 150) emploient néanmoins la méthode de RYDÉN (267) pour comparer diverses Valérianes. GRIMME (130) reprend le principe du dosage des acides volatils totaux selon KATZ (171); il commet, à mon avis, la double erreur d'employer un excès de NaOH 0,25 n et le rouge de méthyle comme indicateur; d'une part l'acide carbonique, qui peut se dégager au cours de la distillation en présence d'acide phosphorique, est dosé comme acide valérianique, d'autre part le virage (pH 6 environ) ne correspond pas à la neutralisation exacte des acides volatils (pH 9); de son côté, SÜSSENGUTH (300) reproche à la méthode de doser l'ensemble des acides volatils libres et combinés, alors qu'il estime seuls intéressants ceux qui estérifient le bornéol; je ferai d'autres objections encore dans le chapitre X sur les acides volatils. WASICKI (325) considère les acides volatils libres comme des produits de décomposition; leur dosage ne peut que renseigner sur l'âge et le degré d'altération de la drogue. STRAZEWICZ (296, 297) l'a vérifié; il a effectué des séries de dosages des acides volatils libres dans des drogues sèches; il en a trouvé deux fois plus dans le rhizome que dans les racines; il constate un maximum dans les drogues récoltées en mai-juin et un minimum en automne et au début du printemps.

BREDDIN (54) dose l'acidité libre totale d'extraits fluides de Valériane; la Ph. H. V le fait aussi pour la teinture stabilisée; nous verrons que dans ce dosage, les acides volatils ne comptent que pour une fraction assez faible ( $\frac{1}{4}$ ).

IHBÉ (160) reprend les essais de KATZ (171) et de GRIMME (130); dans de la racine sèche, il trouve 0,48 % d'acides volatils libres entraînés par la seule vapeur d'eau,

1,44 % quand il entraîne en présence d'acide phosphorique (hydrolyse acide), et 3,1 % quand il hydrolyse au carbonate de soude, puis entraîne en présence d'acide phosphorique (hydrolyse alcaline, puis acide); il constate que l'éther de pétrole n'extrait presque pas les substances qui donnent naissance aux acides volatils, que l'alcool les extrait partiellement, mais que la majeure partie des acides volatils restent fixés sur le résidu insoluble. Il a le tort de penser que les acides volatils libérés ne sont que de l'acide isovalérianique.

OLIVIERO (224) et CIONGA (73) n'ont pas entrepris l'étude des acides volatils de la Valériane, mais ils signalent l'un et l'autre que leur analyse systématique est souhaitable.

Le bilan de cette revue de nos connaissances sur les acides volatils de la Valériane est peu satisfaisant. Quantitativement, la présence des acides isovalérianique, butyrique, acétique et formique semble établie; celle de l'acide propionique, très rare chez les plantes supérieures, est peu probable; j'admetts qu'il n'y a pas d'acide propionique dans la racine de Valériane, malgré les conclusions de CARLES (69). Quantitativement, seules des teneurs globales ont été mesurées, aux données de CARLES près, qui demandent à être vérifiées.

#### CHAPITRE IV : Etude galénique.

##### a) Dosage de l'essence.

L'essence de Valériane a pour plusieurs auteurs une importance primordiale, car c'est à elle qu'ils attribuent une partie au moins de l'activité pharmacologique de la drogue.

Avant d'entreprendre son dosage dans la racine fraîche, j'ai étudié systématiquement les diverses méthodes qui ont été proposées pour doser les essences.

Une essence, ou huile essentielle, est l'ensemble des principes volatils et odorants que contient une drogue végétale; on l'obtient le plus souvent par entraînement avec la vapeur d'eau, en appliquant la loi de Dalton. D'après WASICKY (325), les phytobiologistes modernes admettent qu'une essence n'est constituée que par les substances volatiles et fortement odorantes qui se trouvent déjà préformées dans la plante vivante et qui sont généralement élaborées dans des cellules ou groupes de cellules déterminées, appelés glandes. Chimiquement, une essence n'est pas un corps pur, mais un mélange, dans lequel un ou plusieurs constituants dominent par leur masse ou par l'intensité de leur parfum, et sont accompagnés d'autres composés en quantité moindre ou peu odorants. Les cons-

tituants des essences appartiennent à plusieurs classes de la chimie organique : hydrocarbures, alcools, phénols, éthers, aldéhydes, acides, esters, des séries aliphatique, alicyclique, aromatique et hétérocyclique. Par leur genèse dans la plante, les essences sont souvent en rapport avec les hétérosides; la formation des uns et des autres est liée à la présence d'enzymes.

Le dosage exact de substances de composition aussi variée n'est guère possible suivant une méthode unique; c'est la raison pour laquelle la Ph. H. V n'en prescrit pas, mais se contente du dosage chimique d'un constituant essentiel ou important, dans les cas où c'est aisément réalisable. L'appréciation des drogues aromatiques et de leurs préparations galéniques par le dosage de l'essence reste pourtant un problème important (GFELLER, 115) sans solution définitive, malgré les tentatives et les efforts de nombreux auteurs. STRAZEWICZ (298) fait remarquer qu'aucune méthode ne donne la valeur réelle de la teneur en essence d'une drogue : toutes n'indiquent qu'un rendement en essence et n'ont qu'une valeur conventionnelle (DAFERT, 83); c'est pourquoi il propose une correction mathématique des résultats obtenus; en outre il rappelle que les diverses opérations du dosage peuvent modifier qualitativement (oxydation, saponification) et quantitativement (pertes par volatilisation et par solubilité) l'essence que contenait la drogue.

Les *méthodes indirectes* ont été les premières utilisées : la quantité d'essence est appréciée par différence entre deux déterminations, avant et après l'élimination de l'essence, soit de la drogue, soit d'un extrait par solvant volatil. OSSE (227) semble être le premier qui ait mis au point une méthode un peu précise : il extrait par macération 5 g de drogue sèche en poudre par 25 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole, pré-lève une partie aliquote du liquide limpide, en évapore l'éther de pétrole dans un courant d'air sec, à froid, pèse le résidu, en chasse l'essence dans l'étuve à 110°, jusqu'à poids constant; la perte de poids est approximativement égale au poids de l'essence; OSSE prévoit une correction tenant compte pour chaque drogue des « modifications des résines et corps gras sous l'influence de la chaleur ». RICHARDSON (257), JOHNSTONE (166), WINTON, ODGEN et MITCHELL (341) extraient la drogue dans un appareil de Soxhlet à l'éther éthylique, qui présente l'inconvénient d'extraire aussi l'humidité; un séjour même prolongé à l'exsiccateur ne permet pas de priver l'extrait de son humidité sans perte simultanée d'essence; de l'eau est donc comptée comme essence; cette méthode est néanmoins celle qu'a adoptée la Pharmacopée des U. S. A. XI (240), après l'avoir améliorée en séchant d'abord la drogue à l'exsiccateur; mais ici encore on perd

de l'essence par évaporation, la coloration brun foncé de l'acide sulfurique dans l'exsiccateur en est la preuve. ARNST et HART (8) chassent l'essence de l'extrait éthéré en l'entraînant à la vapeur d'eau, ce qui est préférable au chauffage à sec; le résidu est séché à nouveau et pesé. La méthode a été reprise par ARRAGON (9) et adoptée pour la III<sup>e</sup> édition du Manuel suisse d'analyse des denrées (204); elle a été recommandée à nouveau par HOLDERMANN, RICH et PFAEFFLE (153). CRIPPS et BROWN (80) dosent l'eau selon DUPRÉ (91) en mesurant le volume d'acétylène qu'elle dégage en réagissant avec du carburé de calcium, et la soustraient des substances volatiles à 135° dans un courant d'air. GOLDBERG, WIRTH et coll. (123) critiquent la méthode U. S. P. XI (240) et préconisent de mesurer, sur un premier échantillon de drogue, l'ensemble des constituants volatils à 100°, essence et eau, soit la perte du poids que subit la drogue par chauffage à sec; sur un deuxième échantillon, ils déterminent la teneur en eau par la méthode volumétrique de VAN ITALLIE, KERBOSCH et OLIVIER (161) en entraînant l'eau avec les vapeurs de xylène ou de toluène dans un appareil à extraction continue; l'ensemble de la méthode a été critiqué par VAN GIFFEN (117). BECKMANN et DANCKWORTT (25) proposent une méthode cryoscopique indirecte: ils extraient au bromure d'éthylène la poudre d'épice séchée, avant et après l'avoir soumise à un entraînement à la vapeur; ils déterminent le point de congélation des deux extraits; la différence est proportionnelle à la teneur en essence de la drogue; connaissant l'abaissement du point de congélation que provoque dans le bromure d'éthylène une concentration connue de l'essence étudiée, ils en déduisent le poids de l'essence extraite. On peut aussi extraire au bromure d'éthylène le distillat obtenu en entraînant à la vapeur l'essence de la drogue et mesurer l'abaissement cryoscopique que subit le bromure d'éthylène; à cette méthode directe, BECKMANN préfère toutefois la méthode indirecte; bien que difficile et délicate, la méthode cryoscopique donne de bons résultats (ZAECH, 344).

Parmi les méthodes indirectes, mentionnons encore les tentatives récentes de KISS (176), qui préconise de chauffer la drogue en présence d'un poids connu de charbon adsorbant sec dans un appareil spécial placé à l'étuve à 100°; le charbon fixerait l'eau et l'essence de la drogue; il abandonnerait ensuite l'eau à 60° dans un exsiccateur, tandis qu'à cette température l'essence resterait adsorbée; en pesant alors le charbon et en soustrayant son poids initial, on aurait le poids de l'essence; la méthode mérite une étude critique expérimentale que je n'ai pas entreprise.

*Les méthodes directes* de dosage des essences comprennent les méthodes :

1. gravimétriques,
2. volumétriques,
3. titrimétriques et chimiques en général,
4. optiques, biochimiques et autres.

Dans toutes les méthodes directes proposées, je distingue, avec MORITZ (214), trois étapes : *a)* l'épuisement de la matière première aromatique, *b)* la séparation de l'essence, *c)* la mesure de l'essence obtenue. Une méthode parfaite et idéale doit permettre d'épuiser totalement la matière première, de séparer l'essence sans la modifier et sans pertes, de la mesurer avec exactitude; une telle méthode est nécessairement longue; pratiquement on préfère une méthode rapide, simple et peu onéreuse. Ces conditions idéales nous guideront dans l'étude critique des méthodes que j'ai trouvées dans la littérature.

La drogue est épuisée en général par entraînement de l'essence avec la vapeur d'eau, soit qu'on la mette dans l'eau qui, en distillant, entraîne l'essence, ou que la drogue sèche soit traversée par un courant de vapeur, soit enfin qu'on extraie d'abord la drogue à l'alcool ou à l'éther, pour soumettre ensuite l'extrait alcoolique ou éthéré à une distillation à la vapeur d'eau.

1. *Méthodes gravimétriques.* — En principe, on sépare l'essence par extraction à l'éther éthylique ou à l'éther de pétrole après saturation du distillat aqueux par un sel minéral, on évapore le solvant et pèse le résidu.

Si simple qu'il paraisse, ce procédé comporte quelques difficultés pratiques : pertes d'essence à cause de sa solubilité partielle dans l'eau même saturée de sel (NAVES, SABETAY, 215), et de sa volatilité (OSSE, 227, MANN, 203, REICH, 253, KLASSERT, 178, SERRE, 283); il n'est pas possible de séparer quantitativement l'essence du solvant volatil (REICH, 253).

Pour doser l'essence dans les eaux distillées aromatiques, RANWEZ (250) y dissout 30 % de NaCl, extrait à l'éther éthylique qu'il sèche sur du CaCl<sub>2</sub>, distille lentement dans un ballon taré avec environ 5 g d'huile d'olive, met à l'étuve à 35-40° et insuffle de l'air toutes les 5 minutes jusqu'à perte de poids constante; les résultats sont imprécis, parce que « l'huile retient aussi énergiquement les dernières traces d'éther que l'essence elle-même »; l'huile est donc inutile (SERRE, 283); LENZ (196) propose de remplacer l'éther éthylique par l'éther de pétrole, que DRAGENDORFF avait déjà conseillé à OSSE (227), parce qu'il ne dissout pas l'eau. v. BECKURTZ et FRERICHS ne distillent que partiellement l'éther et séparent les dernières fractions en aspirant dans le ballon un violent courant d'air desséché; l'évaporation des restes d'éther est si rapide que le refroidissement est assez intense pour que du givre se forme à l'extérieur du ballon; les pertes d'essence sont ainsi réduites apparemment à 1-2 %. MANN (203), s'inspirant des procédés de la technique industrielle,

introduit dans les méthodes de dosage l'entraînement de l'essence par un courant de vapeur qui traverse la drogue sèche, et dit obtenir des rendements de 10 à 15 % supérieurs à ceux d'une distillation ordinaire où la drogue est dans l'eau; l'avantage réside surtout dans un épuisement plus rapide de la drogue et dans la diminution de l'action chimique de l'eau bouillante. Après avoir diminué la solubilité dans l'eau en saturant par NaCl, MANN extrait l'essence du distillat aqueux par le rhigolène, p. e. 20-35°, qu'il évapore dans un courant d'air sec dans un récipient spécial à deux tubulures munies de robinets; il conduit les vapeurs d'éther sur une flamme qui lui permet de contrôler la fin de l'évaporation; le récipient fermé peut être pesé exactement sans risque de perdre de l'essence autrement que pendant l'évaporation; lors des expériences de contrôle de la méthode avec des quantités connues de diverses essences, les pertes sont en moyenne de 2,5 %, variables d'une essence à l'autre suivant sa volatilité. Cette méthode de MANN est la plus exacte des méthodes gravimétriques; elle réduit au minimum chacune des causes d'erreur, mais elle est pratiquement délicate et longue, elle prescrit l'emploi de rhigolène, difficile à obtenir et à récupérer; aussi est-elle peu pratiquée. Plusieurs auteurs l'ont éprouvée et lui ont apporté des modifications qui la rendent plus pratique, mais souvent moins exacte. HAERTEL et WILL (138) remplacent le rhigolène par le pentane, p. e. 33-34°. REICH (253) améliore le dispositif pour l'entraînement par le courant de vapeur, essaie de remplacer le rhigolène par l'éther éthylique, le pentane ou un mélange des deux; il rend plus sensible le contrôle de la fin de l'évaporation en ajoutant au solvant une trace de chloroisopropane et en conduisant les vapeurs sur un treillis de cuivre chauffé au rouge sombre: la flamme est verte tant que tout le solvant n'est pas évaporé. Les essences riches en terpènes, qui sont les plus volatiles (cumin, citron, térébenthine), sont dosées avec des pertes inférieures à 10 %. Avec les améliorations de REICH, la méthode gravimétrique a atteint son maximum d'exactitude, mais chaque mesure dure 6 à 8 heures, ce qui exclut son emploi dans des dosages en série.

Au début du siècle, les chimistes des laboratoires de contrôle des denrées d'Allemagne avaient adopté (Vereinbarungen, 319) une méthode gravimétrique conventionnelle et peu exacte, mais simple, assez rapide et jugée suffisante (SPAETH, 292), qu'on trouve décrite dans les manuels. Pour la 6<sup>e</sup> édition du D. A. B. (85), GRIEBEL (129), a mis au point une méthode qui devait être simple, pratique et assez précise; BRANDT (52) l'a commentée, et de nombreux auteurs l'ont critiquée; GRIEBEL lui-même a spécifié qu'elle est conventionnelle, et que, pour les dosages précis que réclament des cas spéciaux, il faut revenir à la méthode MANN-REICH.

Le Codex Gallicus (78) dose l'essence dans les eaux distillées suivant un procédé dont le principe est identique à celui du D. A. B. 6 mais dont la technique en diffère légèrement; PORTIER (244) l'a-

dapte au dosage des essences dans les drogues; il remplace NaCl par  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; appliqué à la Valériane, ce procédé donne, d'après JACQUELIN (162) des résultats peu concordants.

Les principales critiques et modifications à la méthode D. A. B. 6 (85) ont porté sur la séparation quantitative de la saumure et du pentane (R. BAUER, 23), la quantité de distillat (BERGMANN, 30, SPAETH, 292, HORKHEIMER, 158), sur l'évaporation du pentane (PEYER et IF-FINGER, 238, SCHENKER, 273), sur la solubilité de l'essence dans l'eau salée; NYLANDER (221) remplace le pentane par un mélange d'éther éthylique et de pentane, HORKHEIMER (158) augmente la quantité de pentane, KAISER et FUERST (168) remplacent NaCl par  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , dont ils dissolvent la moitié du poids du distillat; STRAZEWICZ (298) termine l'évaporation du pentane sous pression réduite, apprécie les pertes et introduit une correction qui tient compte de la nature et de la quantité de l'essence dosée et dont PANZER (228) met en doute la valeur. Kiss (175) n'admet la méthode D. A. B. 6 que pour le dosage des essences à aldéhyde cinnamique et à eugénol qui sont peu volatiles.

D'autres auteurs préfèrent des méthodes gravimétriques différentes: WILL (337) et SCHOLZ (278) entraînent et séparent l'essence dans l'appareil à circuit fermé de Geyer (WILL, 337), puis la recueillent avec du pentane pour la peser. VAN GIFFEN (116) épouse la drogue à l'éther de pétrole, concentre puis entraîne à la vapeur en présence de saumure, sature à nouveau le distillat par NaCl, en extrait l'essence par l'éther de pétrole, puis par de la Norite qui doit en adsorber les dernières traces pour les céder à l'éther de pétrole; les éthers de pétrole réunis sont finalement distillés sur 1 g de paraffine liquide jusqu'au volume de 10 cm<sup>3</sup> puis évaporés à poids constant dans un courant d'air sec. L'auteur a ensuite modifié sa méthode en saturant l'eau par  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  et en donnant plus d'importance à l'adsorption sur la Norite dont il élue l'essence au moyen d'éther éthylique. Il est douteux que cette méthode compliquée donne de meilleurs résultats que celle de MANN-REICH(253). WASICKY (327), KOFLER (186), MORITZ (214) et d'autres auteurs préfèrent l'épuisement de la drogue sèche par un courant de vapeur d'eau et cherchent à diminuer le volume de l'eau aromatique. NAVES, SABETAY et PALFRAY (216) entraînent l'essence par la vapeur d'eau surchauffée, sous pression réduite; SABETAY (269) distille sous le vide avec l'éthylène-glycol, sépare l'essence du distillat par le pentane après avoir ajouté de l'eau et dissous du sel. Récemment, CZETSCH-LINDENWALD (81) préfère revenir à une méthode proche de celle de RANWEZ (250).

## 2. Les méthodes volumétriques mesurent ou bien :

- a) le volume de l'essence après sa séparation du distillat aqueux par différence de densité, avec ou sans centrifugation, ou
- b) l'augmentation de volume que subit une quantité déter-

minée d'un solvant non miscible à l'eau, qu'on ajoute au distillat, ou

c) la diminution de volume que subit le distillat quand on en extrait l'essence par l'éther de pétrole : méthode de WENDER et GREGOR (331), les premiers, semble-t-il, qui aient procédé à une mesure volumétrique d'essence.

a) *La mesure directe* a été réalisée pour la première fois par CHATTOPADHYAY (70) avec son «taïlamètre» (en sanscrit Taïla=essence), sorte de vase florentin muni d'un col gradué en  $1/10$  cm<sup>3</sup>. WILSON et YOUNG (338), puis VIEHOWER (321) utilisent un simple ballon dont le col porte la même graduation, et favorisent le séparation de l'essence en centrifugeant. DAFERT (83) emploie des tubes du genre butyromètre Gerber, avec divisions de 0,005 cm<sup>3</sup>; la méthode est améliorée par R. FISCHER (103), qui dissout du sel dans le distillat de chaque tube, puis par KOFLER et KRAEMER (187) qui augmentent le volume des tubes, reprennent l'épuisement de la drogue sèche par un courant de vapeur préconisé par MANN (203) et attirent l'attention sur l'importance de l'état de division de la drogue et sur les pertes d'essences lorsqu'on pulvérise les drogues à glandes sécrétrices externes, après que GRAF (128) et AYE (14) eussent remarqué les différences de teneur en essences des drogues entières et pulvérisées. KOFLER et HERRENSCHWAND (186), BUDDLE et LAGIEWSKI (61) appliquent le même principe avec quelques modifications d'appareillage. SAGE et FLECK (270) s'efforcent, par des distillations répétées, de séparer quantitativement l'essence de l'eau, ce que CLEVENGER (74) avait obtenu par cohobation dans son appareil à circuit fermé, comprenant un ballon, chauffé au bain d'huile, où de l'eau, maintenue à l'ébullition en présence de la drogue, entraîne l'essence dans un réfrigérant qui fait couler le distillat dans une burette graduée et reliée au ballon par une tubulure reconduisant l'eau aromatique du bas de la burette dans le col du ballon; au bas de la burette, un robinet permet de faire descendre l'essence dans le tube gradué, puis de la recueillir. KARIYONE et HORINO (169), TSCHERNUCHIN (307), NITSCHIPOROWITSCH (218) procèdent, semble-t-il, de même; SHORT (285), puis COCKING et MIDDLETON (76), modifient la disposition du réfrigérant et y font arriver les vapeurs par le haut. KUHN et SEIFERT (192), la maison Geyer construisent des appareils du même type; SCHOLZ (278), HORKHEIMER (158) en ont comparé le rendement avec celui de la méthode D. A. B. 6 et l'ont trouvé de 10 % environ supérieur. Des améliorations ont été apportées par WASICKY et GRAF (327), UNGER (316) qui y introduit la saturation par NaCl, BAUER, LIMBACH et KAEPPLER (21), qui cherchent à réduire le volume de l'eau aromatique; ULLRICH et SCHNEIDER (315) construisent sur le même schéma, un microappareil avec tube gradué en mm<sup>3</sup>; MIJNHARDT (209) modifie la disposition, et place le tube gradué dans le col du ballon;

l'essence séparée reste donc chaude, ce qui ne semble pas souhaitable; MORITZ (214) propose un appareil où la vapeur d'eau épuise la drogue sèche et se condense dans un réfrigérant descendant; le distillat se sépare en essence qui surnage et eau aromatique qui descend dans le tube gradué et revient dans le col du ballon; ce dispositif permet de saturer de sel l'eau dans le ballon pour que l'essence y soit moins soluble; il n'y a pas à redouter la surchauffe de la drogue, ni la formation d'écume; pour le cas où l'essence est de densité voisine ou égale à celle de l'eau, on peut faciliter sa séparation en ajoutant dans l'appareil un volume connu de pinème (COCKING, 76), de xylène (HOLDERMANN, RICH et PFAEFFLE, 153), ce qui ramène la mesure au procédé b). KOCH (181) apporte des modifications dont MORITZ (214) conteste la valeur. BAUER et POHLOUDEK (22) comparent plusieurs méthodes, modifient les appareils de CLEVENGER, de UNGER et de WASICKY-GRAF et obtiennent les rendements les plus élevés avec les appareils de UNGER et de MORITZ.

b) *Mesure volumétrique indirecte*: STAMM (293), le premier, utilise un volume déterminé d'un solvant volatil non miscible à l'eau, pour faciliter la séparation de l'essence, et mesure l'augmentation de volume due à l'essence; il préconise  $\text{CCl}_4$ ; une série de mesures, avec des quantités connues d'essence isolée, lui permettent de connaître le rendement de son procédé; il en déduit la « vraie teneur » en essence de la drogue étudiée. Ses élèves JAEGERHORN et TIKKANEN (163) semblent avoir employé cette méthode avec succès. WASICKY et ALBER (328) préfèrent la décaline, solvant de densité plus faible que l'eau, ce que KAISER et FUERST (168) ont repris et modifié, en saturant le distillat aqueux par  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . STUEWE (299) ajoute au distillat NaBr et de la glycérine, ce qui permet aussi de séparer l'essence d'un mélange alcool et eau; l'essence est reprise par un volume connu de paraffine liquide. PANZER (228) utilise du bromobenzène dans un appareil à circuit fermé de son invention, que SCHNIDERSCHITSCH (277) a employé avec succès.

### 3. Les méthodes titrimétriques s'efforcent de mesurer la quantité d'essence, qui a été entraînée par la vapeur d'eau, en déterminant certains indices chimiques :

Tentatives de dosages iodométriques de DUREGAZZI (92), de HUERRE (159), de SERRE (283), et d'autres auteurs cités par GILDEMEISTER et HOFFMANN (119), qui d'ailleurs désaprouvent, nouveaux essais de WINKLER (339) et de BOEHME et WAGNER (41), dosages bromométriques et rhodanométriques de KAUFMANN (172), indice de permanganate de SERRE (283).

Seule la méthode de l'oxydation chromique de v. FELLENBERG (97) a donné des résultats largement applicables aux dosages des essences; elle a été mise au point par ZAECH (344), et adoptée pour la IV<sup>e</sup> édition du Manuel suisse d'analyse des denrées; SCHENKER (273) et MEYER (207) en ont amélioré l'appareillage. Cette méthode a le grand avantage de n'utiliser que peu de drogue (0,2 g environ),

d'être rapide et de se prêter à des dosages en séries; son principal inconvénient est de compter comme essence des constituants volatils autres que ceux de l'essence, notamment les acides volatils libres.

La méthode chimique de BROWN (57) procède à l'analyse élémentaire des constituants volatils que la drogue abandonne dans un courant d'air à 135°, méthode difficile, donnant des résultats inexacts.

Je ne relève que les méthodes applicables à toutes les essences et laisse de côté les déterminations qui comportent le dosage d'un seul constituant chimiquement défini.

4. Les *méthodes optiques* sont la plupart peu exactes : méthode colorimétrique de SCHUT (282), méthode néphélométrique de BALDWIN (16), tandis que les méthodes interférométriques et réfractométriques (KLEINMANN, 180) permettent des mesures très précises, mais sujettes à de graves causes d'erreur, dues aux constituants volatils autres que ceux de l'essence.

La *méthode hémolytique* de DAFERT et KWIZDA (84) a l'avantage de ne mettre en œuvre que des quantités minimes de substance, mais elle manque de sécurité et d'exactitude.

Pour de plus amples détails sur les méthodes, nous renvoyons aux publications originales ; les références suivantes indiquent les principales études critiques des diverses méthodes : WENDER et GREGOR (331); REICH (253); BECKMANN et DANCKWORTT (25); PEYER et DIEPENBROCK (236); WILL (337); SCHENKER (273); GOLDBERG, WIRTH et coll. (123); MORITZ (214); PANZER (228); BAUER et POHLOUDECK (22); HAGER (140); SCHIMMEL (275).

#### *Revue des travaux sur le dosage de l'essence dans la racine de Valériane.*

Sur la teneur en essence de la racine *fraîche* de Valériane, la littérature ne contient que des renseignements rares et contradictoires. Dans son premier mémoire (1809) TROMMSDORFF (305) écrit que la racine sèche est plus riche en essence que la racine fraîche; l'auteur parle-t-il de teneurs absolues, sans tenir compte du fait que 1 P. de drogue sèche provient de 4 à 5 P. de racine fraîche ? c'est mon interprétation. BOUCHARDAT (47), VAN DER WIELEN (336) et GILDEMEISTER-HOFFMANN (120), dont nous avons vu l'opinion au chapitre II, n'ont pas dosé l'essence dans la racine fraîche et semblent ignorer que l'essence de racine fraîche a un arôme très différent de celui de la racine sèche, où domine l'odeur de l'acide valérianique. SCHOONBRODT (281), qui étudie et compare plusieurs drogues sèches et fraîches, remarque que la racine fraîche n'a qu'une odeur faible de Valériane (par quoi il faut probablement aussi entendre odeur d'acide isovaléria-

nique), bien qu'elle contienne plus d'essence que la racine sèche; l'essence diminuerait dans la racine sèche par suite d'oxydations avec formation d'acide valérianique. TSCHIRCH (309), après avoir rapporté les observations de SCHOONBRODT, écrit que FR. HOFFMANN (1660-1743), BOERHAAVE (1668-1748), GEOFFROY (1685-1752) savaient déjà que la racine fraîche donne moins d'essence que la racine sèche; serait-il de leur avis ? ZELLER (345) estime que racine fraîche et racine sèche donnent des quantités d'essence équivalentes. D'après BOSHART (45), les racines fraîches sont plus riches en essence que les racines sèches; ce jugement n'est appuyé par aucune donnée expérimentale; il est probablement emprunté à SCHOONBRODT. CIONGA (73) interprète mal les résultats de SÖDERBERG (291), qui n'a pas travaillé avec de la racine fraîche, mais a seulement rapporté à la matière sèche la teneur en essence mesurée dans des drogues contenant de l'humidité. IHBE (160) prétend confirmer l'opinion de TSCHIRCH et de STRAZEWICZ en établissant (il ne dit pas comment) que la racine fraîche est plus riche en essence que la drogue sèche; or je constate que TSCHIRCH (309) rapporte des jugements contradictoires et que STRAZEWICZ (296, 297) ne mentionne aucun dosage d'essence dans la racine fraîche. BAUER (20) seul donne des chiffres qui semblent indiquer que la teneur en essence augmente parfois au cours de la dessiccation, surtout pour les racines récoltées au printemps; dans d'autres racines récoltées en automne, on trouve moins d'essence après la dessiccation que dans la racine fraîche; toutes les teneurs mesurées sont rapportées à la matière sèche.

Les chercheurs qui ont dosé l'essence dans la racine *sèche* sont plus nombreux; les uns ont cherché à quelle époque il faut récolter pour obtenir la drogue la plus riche en essence; d'autres ont étudié l'influence de la nature du terrain sur la teneur en essence, d'autres l'influence des engrâis; d'autres encore ont cherché une relation entre la teneur en essence et diverses caractéristiques galéniques de la drogue. Selon ZELLER (345) l'essence est plus abondante en automne qu'au printemps; cette opinion, rapportée par FLÜCKIGER (107), semble avoir été admise comme un dogme en Allemagne, jusqu'à ce que WASICKY (325) relève les résultats de SÖDERBERG (291), qui trouve plus d'essence au printemps qu'en automne. STRAZEWICZ (297) confirme le maximum de la teneur en essence au printemps, en publiant une série de chiffres; IHBE (160) l'admet aussi et trouve un autre maximum avant la floraison; il estime néanmoins préférable de récolter en automne, parce

que les racines seraient plus développées, et que le rendement commercial serait supérieur; je suis d'un autre avis. BAUER (20) trouve aussi plus d'essence dans les drogues récoltées au printemps que dans celles récoltées en automne; il continue pourtant à préconiser la récolte en automne, le plus tard possible, mais avant le gel. LA FACE (193) rapporte qu'en Italie, on récolte la Valériane du printemps à la fin de l'été; aussi HEEGER (145) estime-t-il que l'époque à laquelle il faut récolter, pour que la drogue soit la plus riche, n'est pas encore déterminée. HEEGER établit encore par des dosages que la réputation dont jouissent les drogues provenant de stations en altitude n'est pas justifiée; MEYER (207) le démontre aussi pour d'autres plantes.

Les terrains secs, rocailleux et sablonneux donnent, d'après FLÜCKIGER (107), une Valériane plus riche en essence que les sols humides; la plupart des auteurs sont du même avis et DUCLERGET (90) l'a vérifié expérimentalement. Toutefois les spécialistes des cultures en grand par les méthodes modernes (BOSHART, 44-46, BOELMANN, 42, KREYER, 189, SABALITSCHKA, 268, RJABINOWSKY et coll., 259, BAUER, 19) donnent la préférence aux terres légères, mais riches et profondes. Les engrais augmentent fortement le poids de la récolte; tantôt ils augmentent (KREYER, 189, RJABINOWSKI, 259) tantôt ils diminuent (BOELMANN, 42) la teneur en essence. Les binages augmentent le poids des racines et leur teneur en essence (KREYER, 189). BULLOCK (63) remarque une grande influence de l'humidité d'une drogue sur la quantité d'essence qu'on en peut extraire par un solvant volatil. Pour STRAZEWICZ (297), la teneur en essence de la drogue sèche est d'autant plus forte que la matière sèche de la racine fraîche est plus faible; exprimé mathématiquement, ce rapport implique, s'il ne se forme pas d'essence pendant la dessiccation, que la teneur en essence de la racine fraîche est constante; en outre, l'auteur dose l'acidité du distillat et la trouve proportionnelle à la teneur en essence de la drogue sèche; je transcris les chiffres de STRAZEWICZ (297): date de la récolte (col. A), % de la matière sèche dans la racine fraîche (col. D), % d'essence dans la drogue sèche (col. M), acidité du distillat (col. X); j'ajoute (col. H) la teneur en essence de la racine fraîche, que j'obtiens par le calcul,  $H = D \cdot M : 100$ , et le rapport de la teneur en essence à l'acidité du distillat  $M/X = k$ , et je constate que, sauf une exception \*, H et k sont constants à 10 % près, alors que D, M et X présentent des variations de 30 % et plus, par rapport aux valeurs moyennes.

1932

Date de la récolte	% mat. sèche de rac. fraîche	% essence de rac. sèche	acidité du distillat	% d'essence de rac. fraîche	$k = M/X$
A	D	M	X	H	
14.4.	24,6	0,83	17,8	0,204*	0,047
25.4.	24,2	1,07	25,4	0,259	0,042
4.5.	18,0	1,42	33,1	0,256	0,043
9.5.	13,5	1,71	38,2	0,231	0,045
14.5.	16,1	1,60	36,9	0,258	0,043
20.5.	16,3	1,46	35,0	0,238	0,042
30.5.	17,2	1,38	31,8	0,237	0,043
10.6.	18,9	1,30	29,4	0,246	0,044
21.6.	20,2	1,27	26,7	0,257	0,048
13.7.	22,0	1,06	21,8	0,233	0,049

KISS (177) dit n'avoir pas pu vérifier le rapport inverse de l'essence à la teneur en extrait; or STRAZEWICZ (297) ne parle pas de teneur en extrait, mais bien de la matière sèche dans la racine fraîche (D ci-dessus). Elle constate d'autre part que la méthode D. A. B. 6 pour le dosage des essences donne pour la racine sèche de Valériane des valeurs toujours plus fortes que les valeurs données par dosage dans l'appareil de UNGER (316), alors que pour les autres drogues, on observe généralement le contraire. C'est que, dans la méthode D. A. B. 6, l'acide isovalérianique passe du distillat saturé de NaCl dans le pentane; il est donc pesé comme essence; Kiss (175) vérifie que les valeurs obtenues par la méthode D. A. B. 6 correspondent à la somme de l'essence mesurée selon UNGER (316) et des acides volatils libres de la drogue, mesurés par titration.

PARIS (230) étudie des Valérianes provenant de diverses cultures; il constate que la Valériane cultivée en Estonie est particulièrement riche en extrait quand l'essence est abondante; les racines contiennent plus d'essence que les rhizomes, tandis que les rhizomes sont plus riches en extrait.

IHBEL (160), HEEGER (145) cherchent à savoir si la teneur en essence est en rapport avec certains caractères morphologiques de la plante qui servent à déterminer les diverses variétés de *Valeriana officinalis* L.; leurs résultats ne semblent pas indiquer que telle variété soit plus régulièrement riche en essence que telle autre; ils sont pourtant parvenus à sélectionner des sortes riches en essence, ce qui semble indiquer que la teneur en essence est un caractère héréditaire, lié à un gène. Selon LIPPERT (199), les Valérianes dont les tiges sont colorées par des anthocyanes ont des racines plus riches en essence.

b) *Teintures et extraits de racine fraîche ou stabilisée.*

Depuis les travaux de BOURQUELOT (49) sur les hétérosides et les enzymes qui leur correspondent, l'école française en étudie l'application dans le domaine des médicaments. Selon BOURQUELOT (51), il faut pour chaque drogue répondre à la question : la stabilisation est-elle nécessaire ? VAN DER WIELEN (335) est du même avis; d'autres auteurs ont tendance à généraliser diverses méthodes dont l'efficacité et la brutalité sont variables : PERROT et GORIS (235) soumettent la drogue pendant 5 minutes à l'action des vapeurs d'alcool sous pression ( $\frac{1}{4}$  atm.); GORIS et ARNOULD (124) emploient la vapeur d'eau à 110° pendant 5 à 10 minutes; LESUEUR (197) revient au procédé original de BOURQUELOT.

La commission de la Ph. H. V reprend l'étude du problème sous la direction de GOLAZ (122), mais la nature, les propriétés et l'action des fermentes ne sont pas exactement élucidées; on cherche une méthode adaptée aux conditions des pharmacies privées pour la préparation de médicaments stabilisés à partir de drogues fraîches.

Pour la Valériane, GOLAZ propose d'abord de pressurer la racine fraîche, et de pasteuriser à 60-65° le suc additionné d'alcool; il obtient un extrait sec en évaporant sous pression réduite. SIEGFRIED (286) rejette d'abord l'idée d'un extrait sec vu la réputation de drogue aromatique de la Valériane; il propose de préparer une teinture stabilisée selon BOURQUELOT et démontre sa supériorité sur les teintures préparées suivant d'autres procédés : acidité libre plus faible, teinte plus claire, odeur plus fine, conservation meilleure; cette teinture est adoptée par la Ph. H. V; on renonce toutefois à deux détails que préconisait BOURQUELOT : 1. on ne met pas la drogue fraîche dans l'alcool bouillant; 2. on ne neutralise pas par  $\text{CaCO}_3$  les acides libérés pendant la cuisson. Ces deux points sont respectés par la Pharmacopée belge IV (239) pour son alcoolature stabilisée de Valériane.

La teinture de Valériane Ph. H. V est pourtant une préparation dont la valeur est reconnue par RUPP (263), GSTIRNER (133) et IHBE (160).

L'extrait sec de la Ph. H. V, obtenu par distillation, puis évaporation de la teinture sous pression réduite, est pratiquement privé des substances volatiles que contenaient la drogue et la teinture. A ma connaissance, cet extrait n'a retenu l'attention d'aucun auteur.

Les prescriptions des diverses pharmacopées pour l'examen

de la teinture de Valériane se réduisent à un contrôle approximatif de l'identité, à la détermination des teneurs en alcool, en résidu sec et en acides libres. La Ph. H. V est à cet égard la plus complète.

## CHAPITRE V : Pharmacologie et emploi thérapeutique.

PLINE (243), DIOSCORIDE (86) et d'autres Anciens décrivent, sous le nom de Phu, une Valériane aromatique (Nard) et vantent ses qualités contre de nombreux maux, notamment contre les mauvais esprits.

Depuis FABIUS COLUMNA (XV s.), la Valériane est employée comme antiépileptique, antispasmodique et tonique nervin. De tout temps, la racine de Valériane est un remède populaire utilisé comme calmant, antihystérique, sédatif, cardiotonique, diurétique, fébrifuge, vermifuge, etc.

Il ne semble pas que l'on ait étudié l'action pharmacologique de la Valériane sur les animaux avant 1870. Les premières expériences sont alors presque uniquement qualitatives : GRISAR (131) constate que l'essence diminue l'excitabilité réflexe de la grenouille; il explique ainsi l'action spasmolytique, que relève aussi BINZ (38). NOTHNAGEL (220) pense que cette action peut confirmer et justifier la valeur curative de la Valériane contre l'épilepsie.

Au début de ce siècle, des essais quantitatifs encore peu précis permettent à KIONKA (173) d'observer que la Valériane a sur l'homme une action inverse suivant les doses : les doses faibles excitent les centres psychiques et le système nerveux central, élèvent la pression sanguine par constriction périphérique, stimulent le cœur; les doses fortes paralysent les centres moteurs et sensibles, avec diminution des réflexes, abaissent la pression sanguine par paralysie des vasomoteurs, dépriment le cœur. Ces résultats sont confirmés par POULSSON (246).

FÉRÉ (98), au cours d'études sur l'influence des médicaments sur les muscles au repos et après le travail (homme), obtient des résultats analogues avec l'extrait de Valériane du Codex d'une part, avec le véronal d'autre part : ses expériences mettent en évidence la phase d'excitation qui se manifeste au début de l'action des calmants à petites doses.

POUCHET (245) et ses élèves (195 bis et 229) étudient l'action du suc d'expression de la drogue fraîche; ils constatent qu'il est antispasmodique, analgésique, qu'il déprime le système nerveux central et calme le cœur (homme).

Pendant le premier quart du siècle, les auteurs allemands

doutent fort de l'action physiologique de la Valériane, dont ils ne connaissent que la drogue sèche, l'essence et les préparations qui en dérivent. D'après MEYER et GOTTLIEB (206), la Valériane n'est qu'un narcotique très faible, elle a perdu son ancien prestige; BORUTTAU (43) nie toute action narcotique sur les animaux à sang chaud, mais reconnaît qu'elle diminue l'excitabilité réflexe et renforce l'action narcotique des barbituriques; LAUDER et BRAUPTEN (195) ne reconnaissent guère à la Valériane qu'une action psychique due à son odeur; CLOETTA (75), GUBLER (135) arrivent à la même conclusion.

Peu à peu les techniques d'observation s'affinent : WOLFF (342) cite la Valériane comme type de sédatif général, parce qu'elle diminue l'excitabilité de l'écorce cérébrale et des centres réflexes, en plus de son activité par suggestion; elle agit en outre sur la circulation et le système gastro-intestinal. BIJLSMA (37) affirme que les bonnes préparations de Valériane ont une action sédative indépendante de la suggestion. WASICKY (325) attribue à une action sédative centrale la plupart des effets de la Valériane contre les troubles nerveux, l'hystérie, la dysménorrhée; cette action sédative centrale expliquerait aussi les effets antiémétiques, antidiurétiques, antihydrotiques. BECK (24) constate par diverses méthodes (sur des organes isolés) des actions tantôt dépressives, tantôt toniques, sur le cœur, la respiration, le péristaltisme intestinal; il observe sur la grenouille et le lapin une diminution des crampes provoquées par la strychnine — alors que CADEAC et MEUNIER (66) observaient une augmentation de ces crampes — et un renforcement de l'action des narcotiques faibles, par synergie d'après BÜRGI (62). WEGER (329) observe sur le lapin que la Valériane renforce l'action antithermique de l'antipyrine; il en déduit que la Valériane a une action paralysante sur le centre vasomoteur.

D'autres auteurs mettent en évidence l'action sédative centrale de la Valériane en l'opposant à celle d'excitants centraux. EICHOLTZ et KRAUTH (94) emploient la cocaïne sur le rat, GUBERMANN (134), la caféine sur la souris, d'autres la strychnine. BAM (17) étudie l'influence de la Valériane sur les réflexes conditionnés chez le singe; l'action qu'il observe correspond à une « combinaison de bromures et de caféine ».

A la suite des succès remportés par les dosages biologiques des digitales, plusieurs auteurs se sont efforcés de mettre au point une méthode qui permette de doser l'activité pharmacologique de la Valériane. HAFFNER (139) détermine la

dose létale pour la souris; ANDREAS (4) essaie la toxicité sur le têtard; NOLLE (219) utilise l'action narcotique sur la grenouille. Ces premiers essais portent sur l'action profonde et toxique de la drogue, très différente de celle qu'on utilise en thérapeutique; il est contestable que la toxicité d'une drogue soit proportionnelle à son activité sédative, car l'une peut être due à un groupe de substances, l'autre à un autre groupe; différentes sortes d'une même drogue peuvent être les unes plus riches en substances toxiques, les autres plus riches en substances sédatives. C'est pourquoi d'autres auteurs ont cherché des tests où l'action de la Valériane se révèle à des doses très inférieures aux doses toxiques: ORDINSKY (226) fait taire des grenouilles; DRUCKREY et KÖHLER (88) enregistrent l'activité spontanée de la souris, qui diminue sous l'influence de la Valériane; KOCHMANN et KUNZ (184) utilisent l'antagonisme de la Valériane et de la caféine chez le lapin, dont ils enregistrent les mouvements; EICHHOLTZ et KRAUTH (94) déterminent la dose de préparation de Valériane qui supprime les crampes provoquées par la cocaïne sur le rat; MODRAKOWSKY et MAJCHERCZYK (210) procèdent de même sur la souris; MOHR (212) fait courir des rats dans un labyrinthe imaginé par MACHT et MORA (200) et réussit à mettre en évidence une action inhibitrice de la Valériane sur l'activité de la zone corticale du cerveau (siège des réflexes conditionnés), à des doses environ 20 fois plus faibles que les doses narcotiques; RUSIECKY (264) applique la méthode de HONDELINK (157) sur les oiseaux; von WERZ et HOMANN (332) essaient de mesurer sur l'homme l'action de substances excitantes (caféine) et l'antagonisme de sédatifs, parmi lesquels la Valériane se révèle active. Aucune de ces méthodes de dosage biologique n'a pu s'imposer; l'appréciation quantitative dépend à tel point de l'expérimentateur que les résultats diffèrent beaucoup d'un laboratoire à l'autre où la même méthode est utilisée.

L'étude de ces nombreuses tentatives permet de conclure que, malgré les grandes difficultés que comporte son appréciation quantitative, l'action de la Valériane sur les centres nerveux supérieurs est définitivement démontrée. Cette action est complexe. Les auteurs n'ont pas pu la définir qualitativement de manière satisfaisante. D'après EICHHOLTZ (93), les bonnes préparations de Valériane ont une action marquée sur l'encéphale, dont elles atténuent certaines fonctions, surtout lorsqu'elles sont fortement excitées, ceci longtemps avant de paralyser les centres inférieurs; souvent la Valériane a une

action remarquable dans les insomnies d'origine psychique et les troubles «fonctionnels» du cœur d'origine nerveuse.

Les données pharmacologiques que nous avons résumées légitiment l'étude des principes actifs de la drogue et font présumer que son activité physiologique est attribuable à plusieurs corps chimiques différents.

L'action physiologique de la Valériane a d'abord été attribuée aux substances qui lui confèrent son odeur particulière : l'acide isovalérianique et l'essence. En 1840, SOBERNHEIM (290), le premier, formule des restrictions à propos de l'action pharmacodynamique de l'essence et affirme qu'elle n'a pas les mêmes effets que la drogue ou sa teinture.

GRISAR (131) et BINZ (38) s'en tiennent néanmoins à l'étude de l'essence qu'ils trouvent spasmolytique. SIKORSKA (288) constate à nouveau que l'extrait et l'essence ont des actions différentes. Au début de ce siècle, KIONKA et LIEBRECHT (174) étudient l'action du valérianate de bornyle et de divers autres esters naturels et synthétiques. Dans leur étude du suc frais, POUCHET et ses élèves (195 bis, 229, 245) s'arrêtent à ces mêmes substances; d'après POUCHET, l'odeur d'acide isovalérianique se développe quand les esters actifs sont décomposés; l'activité physiologique serait en raison inverse de l'odeur et de la teneur en acides libres; la drogue sèche et ses préparations seraient peu actives.

CHEVALIER (71, 72), après avoir collaboré aux recherches de POUCHET, étudie l'action de substances peu stables, alcaloïdes et hétéroside isolés de la plante fraîche, mais il n'envisage pas assez le problème sous son angle quantitatif : les quantités de substances administrées correspondent à 50 ou 100 g de racine fraîche par kg d'animal; les faits observés ne suffisent pas à expliquer l'action des préparations de Valériane aux doses courantes (1 à 10 g pour 60 kg environ).

SMODLAKA (289) estime que les principes actifs sont nombreux et mal définis, mentionne des résines dans la drogue stabilisée et ramène ainsi l'attention sur les constituants autres que l'essence.

OESTLING (223) étudie des extraits à l'alcool de concentrations diverses et préfère ceux à l'alcool fort; tandis qu'ORDINSKY (226) affirme que la teinture à l'alcool dilué (70 %) a la plus grande activité; les essais d'OESTLING sur le suc d'expression de la drogue fraîche (non stabilisée) ne lui révèlent pas de différence avec les préparations de drogue sèche; d'après RICHAUD et HAZARD (258) la drogue sèche est plus

antispasmodique que le suc frais; l'acide isovalérianique est sans action, mais ses dérivés naturels et synthétiques sont actifs.

Durant le premier quart du siècle, les auteurs allemands, dont HOLSTE (155), RATH (251), GOTTLIEB (127) ne reconnaissent d'action qu'aux constituants de l'essence, esters du bornéol et dérivés de l'acide isovalérianique; ils préfèrent souvent les produits synthétiques aux préparations galéniques de Valériane; ils ne connaissent ni la drogue fraîche ni les préparations stabilisées. En 1929, NOLLE (219) démontre par ses essais quantitatifs que l'action sédative centrale dépend d'autres constituants que ceux de l'essence. WASICKY (325) admet encore que l'essence est le principe actif le plus important, mais relève les différences qualitatives et quantitatives entre les drogues fraîche et sèche; il suppose que l'isovalérianate de bornyle se trouve dans la racine sous forme d'hétéroside.

ORDINSKY (226) déclare qu'il n'y a pas de relation directe entre l'activité et les teneurs en essence et en acides volatils. BIJLSMA (37) refuse de reconnaître l'essence comme seul principe actif, mais ne peut pas préciser la nature d'autres substances actives.

Au cours de l'élaboration de la Ph. H. V, la teinture et l'extrait sec, adoptés par la sous-commission des produits galéniques (voir chapitre IV) devaient être l'objet d'études pharmacologiques et cliniques systématiques; rien de tel ne semble avoir été réalisé, et une rapide enquête que j'ai entreprise<sup>1</sup> a révélé que les pharmaciens n'ont pu obtenir des médecins que des appréciations dépourvues de précision.

En 1935, CIONGA (73) isole la méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone à partir de sous-produits de la stabilisation industrielle de racine fraîche de Valériane; cette cétone, probablement identique à « l'alcaloïde volatile » de CHEVALIER (72), est connue depuis que SCHIFF (274) l'a obtenue par synthèse en 1877; RABENNO (249), puis SUPNIEWSKY, JANUZ et TASCHNER (301) en ont fait l'étude pharmacologique; qualitativement au moins, son action se rapproche beaucoup de celle des préparations de Valériane; dès lors les auteurs français considèrent la méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone comme la principale substance active de la Valériane; SCHON et TONNESEN (280) ont pourtant prouvé que la drogue et ses préparations galéniques n'en contiennent pas

<sup>1</sup> Je remercie à ce propos M. le professeur Casparis et M. Freudweiler, membres de la Commission fédérale pour la Ph. H., des renseignements qu'ils m'ont aimablement communiqués.

des quantités suffisantes pour justifier cette hypothèse (voir chapitre III b).

DRUCKREY et KÖHLER (88) étudient sur la souris l'action sédatrice de la racine sèche; ils la décèlent à des doses 20 fois plus faibles que les doses toxiques; l'infusion aqueuse est la préparation la plus active, la teinture éthérée, la moins active; aussi ces auteurs mettent-ils en doute les affirmations des Français, la méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone étant plus soluble dans les liquides organiques que dans l'eau. Pour KOCHMANN et KUNZ (184) il y a deux substances narcotiques différentes : l'une, soluble dans l'eau froide, agit sur l'encéphale; l'autre, soluble dans l'eau bouillante, agit sur le cerveau moyen; toutes deux sont solubles dans l'alcool.

Devant l'imprécision des données chimiques et la difficulté des autres méthodes de dosages, BAUER (20) et IHBE (160) se contentent de doser l'essence pour avoir un critère d'après lequel ils puissent sélectionner les Valérianes cultivées.

Au cours d'une polémique, SÜSSENGUTH (300) attribue l'activité pharmacologique de la Valériane aux camphène, pinène, bornéol, et non à l'acide isovalérianique — sans toutefois apporter d'arguments expérimentaux —; la méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone a une importance reconnue par BAUER (20). Récemment, EICHHOLTZ (93) estime que le principe actif ne se trouve pas dans l'essence, mais bien dans l'extrait et, dans une moindre mesure, dans la teinture; il n'exclut pas la méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone, ni les alcaloïdes de la drogue fraîche.

A Berne, FELDMANN (96) mesure la toxicité d'après HAFFNER (139) et sur le cœur de grenouille isolé; il trouve que les substances toxiques passent surtout dans les extraits à l'alcool fort et à l'éther acétique. GUBERMANN (134) constate sur la souris excitée à la caféine, que le suc de racine fraîche évaporé dans le vide donne un extrait inactif, de même que l'extrait alcoolique de la racine exprimée.

L'extrait alcoolique «total»<sup>1</sup> (Ph. H. V ?) de racine fraîche diminue l'activité spontanée de la souris; cet extrait, épuisé successivement par l'éther et l'eau, donne trois fractions : les substances solubles dans l'éther sont les plus actives, celles qui sont solubles dans l'eau sont peu actives, tandis que le résidu insoluble aurait une activité intermédiaire. Récemment FREY (110) étudie des extraits obtenus en épousant de la drogue stabilisée sèche successivement par l'éther, l'alcool 95 %

<sup>1</sup> Il s'agit d'un extrait sec, dont les principes volatils (essence) ont été éliminés au cours de la distillation sous pression réduite.

et l'eau; l'extrait aqueux a sur la souris normale ou caféinée une action sédatrice à partir de doses correspondant à 3,5 g de racine fraîche par kg de souris; les doses triples sont parfois létalières, l'extrait alcoolique agit le mieux à des doses qui correspondent à 20 g environ de racine fraîche par kg de souris; cette action est très faible; l'extrait éthéré est peu sédatif, rapidement toxique.

Dès 1937, plusieurs auteurs polonais ont abordé le problème et obtenu des résultats intéressants.

MAJCHERCZYK (202) constate que la drogue sèche est 4 fois moins active que la drogue fraîche, et que la «stabilisation» par les vapeurs d'alcool sous 2,5 atm. pendant 15 minutes supprime l'activité physiologique; par une stabilisation sous 1,5 atm. pendant 5 minutes, elle obtient une drogue légèrement plus active que la drogue sèche ordinaire, mais qui a perdu la moitié de l'activité de la drogue fraîche; les extraits de racine sèche sont d'autant moins actifs qu'ils sont plus riches en alcool; l'extrait de drogue fraîche à l'alcool chaud est 2 fois moins actif que la macération dans l'eau froide; celle-ci perd son activité par chauffage à 82° pendant 20 minutes; épuisé par l'alcool et l'éther, l'extrait aqueux ne perd que  $\frac{1}{6}$  à  $\frac{1}{4}$  de son activité. RUSIECKI (264) affirme que l'essence n'a qu'une action faible et lente à se manifester; après sélection de *V. officinalis* var. *latifolia*, basée sur l'activité pharmacologique, une race particulièrement active était pauvre en essence et en acides volatils, relativement aux autres races; par contre les substances volatiles solubles dans l'eau, encore indéterminées, ont une importance plus grande; leur activité est le  $\frac{1}{10}$  de celle de l'alcoolysat (teinture stabilisée ?) qui est la préparation la plus active.

BOCHWIC et RUSIECKI (40) étudient l'action des alcaloïdes qui se trouvent dans la racine fraîche, peut-être dans l'extrait alcoolique, ce qui pourrait expliquer sa différence avec les autres préparations.

## DEUXIEME PARTIE

### VARIATION DES CARACTERISTIQUES CHIMIQUES ET GALENIQUES.

#### **Remarque préliminaire et introduction :**

A la suite des travaux de BOURQUELOT (49), l'école française a étudié les hétérosides et les holosides contenus dans de nombreuses plantes fraîches; l'attention est ainsi ramenée sur les drogues fraîches.

La pharmacopée belge IV (239), la première, prescrit l'emploi de quelques drogues fraîches, dont la racine de Valériane, pour la préparation de médicaments; la Ph. H. V (1934) mentionne six drogues fraîches; le Codex Gallicus (1938) prévoit l'emploi de plusieurs plantes fraîches ou stabilisées, dont plusieurs figuraient dans le supplément de l'édition de 1908. Malgré cette faveur croissante accordée aux drogues fraîches, ces pharmacopées ne précisent guère que la saison de la récolte, et il n'existe pas de monographie qui rassemble les caractères morphologiques, anatomiques, histochimiques et biologiques, les propriétés chimiques et galéniques de drogues fraîches.

Il y a là une lacune dans le domaine de la pharmacognosie; la combler répondrait en partie aux vœux que TSCHIRCH a formulés dans son traité (308) sous le titre «Pharmakophysiologie». Remarquons que les chimistes chargés du contrôle des denrées alimentaires ont depuis longtemps fixé les normes auxquelles doivent répondre les légumes et les fruits (Vereinbarungen, 319, Ordonnances fédérales, BEYTHIEN, HARTWICH et KLIMMER, 36).

Le premier point de mon programme de recherches sur la racine fraîche de Valériane comportait l'étude de la variation saisonnière de quelques caractéristiques de cette drogue fraîche : teneurs en eau et matière sèche, extraits aqueux et alcoolique, substances insolubles dans l'eau, teneurs en essence et en acides volatils. Pour chaque récolte, j'ai déterminé quelques indices de la Teinture Ph. H. V : résidu sec, indice d'acidité, indice de saponification, afin de voir dans quelle mesure la teinture a des propriétés qui varient avec les caractéristiques de la drogue fraîche à partir de laquelle elle a été préparée.

Entre le début de 1943 et le printemps 1945, j'ai fait

des séries de déterminations sur une trentaine de lots de racine fraîche. La plupart de ces lots ont été récoltés sur le même terrain du Signal (Lausanne), où, pendant quatre ans, des Valérianes ont été cultivées pour fournir le matériel nécessaire aux diverses recherches entreprises dans les laboratoires de l'Ecole de pharmacie. Sept des lots étudiés provenaient d'autres terrains : jardins du Pavement et de La Rosiaz (Lausanne), cultures dans la région de Flüelen et dans la plaine du Rhône (Aigle).

Les résultats numériques sont rassemblés dans un tableau général (v. page 388). J'expose ici les méthodes employées pour chaque genre de détermination, les problèmes qu'elles ont posés, les solutions que j'ai apportées et les conclusions que je tire des résultats obtenus.

Enfin je tente de mettre certaines variations des caractéristiques étudiées en relation avec les conditions météorologiques qui les ont accompagnées ou précédées.

#### CHAPITRE VI : Matière sèche et teneur en eau.

Par matière sèche, il faut entendre ce qu'on obtient après avoir éliminé l'eau de la drogue fraîche. Pour en faire la détermination quantitative, on chauffe le plus souvent à 100-105°, un poids connu de la drogue jusqu'à poids constant; la perte de poids est due à l'eau; on l'exprime en pour cent de la drogue fraîche.

D'après la Ph. H. V, les drogues contenant des essences doivent être séchées sans chauffage, dans un exsiccateur à anhydride phosphorique; cette méthode est longue et onéreuse. La racine fraîche de Valéiane contient peu d'essence (moins de 1 %); une partie de cette essence est peu volatile et fortement retenue par le tissu qui la contient; pendant le chauffage prolongé à quelques degrés au-dessus de 100°, j'ai constaté une altération qui se traduit par un brunissement et par une perte de poids lente qui empêche d'obtenir un poids restant constant après quelques pesées. Ces constatations m'ont fait adopter une solution moyenne, réalisée dans la méthode suivante.

Je pèse 100 g de racine fraîche entière, lavée et essuyée, laisse sécher à l'air libre du laboratoire pendant 3 à 4 jours, puis termine l'élimination de l'eau sur l'acide sulfurique concentré dans un exsiccateur à vide (15 mm Hg env.) que je place dans une étuve réglée à 45°; matin et soir je change l'acide sulfurique et pèse la drogue; au bout de 2 à 3 jours la différence entre deux pesées consécutives est inférieure à 1 cg, soit moins de 0,1 %

de la matière sèche; la précision est très suffisante. La perte de poids que subissent au cours de ces opérations les 100 g de racine fraîche traités est à peu près égale à la teneur en eau, car dans ce cas la perte de poids due à l'essence (au maximum 0,2 g) est négligeable puisqu'elle représente environ 2 % de la quantité d'eau mesurée (80 g). La racine séchée d'après cette méthode perd moins de 1 % de son poids par chauffage pendant une heure à 105°, et cette perte de poids doit être attribuée à des décompositions plus qu'à une évaporation d'eau.

Au cours d'essais de contrôle, j'ai constaté que plusieurs détermination faites sur le même lot de racine fraîche peuvent donner des écarts de 2 à 5 % si les échantillons de drogue traités ne sont pas homogènes. J'ai alors constaté (récolte du 2-11-43) les teneurs en eau et matière sèche ci-dessous :

	Eau	Mat. sèche
Racines jeunes (blanches)	79,2 %	20,8 %
» plus vieilles (brun-jaune)	76,1 %	23,9 %
Rhizomes (sans racine)	75,8 %	24,2 %
Echantillon moy. de la drogue	77,8 ; 77,6 %	22,2 ; 22,4 %

Même si la valeur de ces déterminations n'est que relative, elle suffit pour les comparaisons auxquelles elles sont destinées, puisque toutes les mesures ont été effectuées de la même façon.

Une des opérations que je soupçonne le plus d'apporter une cause d'erreur était *l'essuyage* des racines fraîches lavées à grande eau. Je me suis fixé une technique précise :

Je sors de l'eau de rinçage 500 à 800 g de racine fraîche et entière, égoutte dans un linge en secouant jusqu'à ce qu'il ne tombe plus d'eau, étends les racines sur un linge sec, recouvre d'un autre linge sec et roule à plusieurs reprises pendant 5 minutes sans presser fortement; je pèse alors la racine et la répartis en lots homogènes de 100 g pour les diverses déterminations. Pour savoir combien cette racine lavée et essuyée contient encore d'humidité due au lavage, j'ai laissé un de ces lots de 100 g de racine humide étendu à l'air du laboratoire; au bout de 2 heures, la drogue n'est plus humide, mais pas encore flétrie; elle pèse 95 g; je la retrempe dans l'eau, l'égoutte et l'essuie à nouveau comme ci-dessus et la pèse : 100 g ± 0,5 g.

J'en conclus que la racine fraîche, lavée et essuyée, que j'utilise contient 5 % d'humidité et 95 % de racine fraîche; toutes les valeurs mesurées ou calculées devraient théoriquement être corrigées en les divisant par 0,95, ce qui correspond approximativement à une augmentation de 5 % ; pratiquement,

j'y ai renoncé, considérant que mes conditions de travail sont proches de celles d'un pharmacien praticien qui doit lui aussi utiliser la drogue sitôt après le lavage. Du même essai, nous pouvons conclure que de la racine fraîche lavée ou non, peut attendre 2 heures, et peut-être plus, avant d'être utilisée, sans qu'on ait à craindre que sa composition chimique de drogue fraîche soit altérée<sup>1</sup>.

D'autre part, j'ai constaté (récolte du 8-11-43) que la racine fraîche, lavée et essuyée, augmente son poids de 5 % environ si on la laisse tremper pendant 24 heures dans l'eau froide; la variation correspondante de la teneur de la racine fraîche en eau et en matière sèche est de 1 % environ. Il est probable que cette imbibition peut être plus forte quand la drogue est récoltée après une longue période sèche, en été, dans un terrain sec et léger, tandis qu'elle serait presque nulle quand la racine est récoltée dans un terrain saturé d'eau.

A l'examen des deux séries de valeurs mesurées (colonnes C et D) et des courbes C et D obtenues en portant ces valeurs en ordonnées sur un graphique où les mois de l'année sont en abscisses, je constate d'abord que les valeurs fournies par les lots récoltés sur les divers terrains s'intègrent dans la courbes des valeurs des cultures du Signal (Lausanne), sans y provoquer d'accident; nous pourrons faire la même constatation à propos des autres indices étudiés. La conséquence imprévue qu'il faut en tirer est l'influence minime du terrain sur la composition chimique générale de la racine fraîche; l'influence de la saison et des conditions météorologiques est au contraire prépondérante.

Ces résultats, qui portent sur plus de deux ans et varient entre 12,5 % et 37,7 % pour la matière sèche (87,5 % et 62,3 % pour la teneur en eau), peuvent être schématisés pour la matière sèche par une courbe annuelle qui présente un minimum (15 %) à fin avril, un maximum (25 à 35 %) en août, un minimum (20 %) à fin septembre et un nouveau maximum (25 %) au début de novembre. La variation de la teneur en eau est représentée par une courbe semblable mais inversée, les maxima correspondant aux minima de la matière sèche et vice versa. Les points qui s'écartent de cette courbe schématique peuvent être expliqués par les conditions météorologiques momentanées correspondantes; ainsi le point A (18,3 % de matière sèche et 81,7 % d'eau le 28-7-44) peut

<sup>1</sup> Nous verrons plus loin que, conservée humide pendant 24 heures, de la racine fraîche entière ne contient pas plus d'acides volatils « libres » que la racine fraîche traitée immédiatement après l'arrachage.

être justifié par le défaut d'insolation et l'abondance de la pluie au cours de ce mois, il est probable qu'une mesure faite le 23-8-44, après un mois très sec et très chaud, aurait révélé 25 à 30 % de matière sèche (70-75 % d'eau).

Mon interprétation de la courbe est la suivante : le minimum de matière sèche à fin avril correspond à la forte imbibition qui coïncide avec la mobilisation des réserves; puis l'assimilation fait à nouveau augmenter la matière sèche jusqu'au maximum d'août qui correspond à l'anthèse ; la maturation des fruits et les pluies de septembre expliquent le minimum à fin septembre, tandis que l'accumulation des réserves dans la racine au cours de l'automne, où les feuilles restent vertes, est manifestée par le maximum du début de novembre.

Si l'on veut tenir compte de ces résultats pour déterminer le mois qui convient à la récolte de la racine de Valérian, on préférera — qu'il s'agisse de la drogue fraîche ou de la drogue sèche — les époques où la racine est la plus riche en matière sèche, soit les mois d'août et de novembre; mais récolter au mois d'août ne serait avantageux ni pour le cultivateur, ni pour le pharmacien, car à cette époque les racines sont de taille très réduite et de vilaine apparence, vidées, semble-t-il, de leurs réserves au profit des fleurs et des fruits; le rendement de la culture serait faible. En novembre au contraire, les racines ont accumulé des réserves au cours de l'automne; les mêmes plantes donnent 3 à 5 fois plus de drogue qu'en août, et nous verrons, en étudiant les autres indices que la qualité est supérieure aussi.

## CHAPITRE VII : Extrait aqueux et substances insolubles dans l'eau.

Pour la détermination des substances extractives des drogues, la Ph. H. V ne donne pas de méthode générale d'extraction; ses prescriptions varient d'une drogue à l'autre : tantôt (*Folium Theae*) elle fait épuiser selon PRITZKER (248), par digestion prolongée et répétée avec beaucoup d'eau, tantôt (*Radix Liquiritiae*) elle fait macérer un quart d'heure à froid, puis digérer la drogue dans 10 fois son poids d'eau une demi-heure au bain-marie, ou bien (*Pulpa Tamarindi cruda*) elle fait macérer à froid pendant 2 heures dans 10 parties d'eau, ou bien (*Radix Gentianæ*) elle ne prescrit que les quantités de poudre (5 g tamis V) et d'eau (50 cm<sup>3</sup>) sans préciser le mode d'extraction.

Je n'ai pas trouvé dans la littérature des travaux où l'extrait aqueux ait été dosé sur des plantes fraîches; BRIEGER (55) précise même que les dosages des substances extractives doivent être faits à partir de la drogue sèche. J'ai néanmoins déterminé sur mes lots de racine fraîche la quantité de matières extractives solubles dans l'eau, ce que j'appelle plus simplement *l'extrait aqueux*.

Pour cette détermination, je fais bouillir 200 g d'eau dans un ballon taré, j'y introduis 100 g de racine fraîche, maintiens l'ébullition pendant 20 minutes («stabilisation»); après refroidissement je décante le liquide, hâche les racines, remets le tout dans le ballon, chauffe de nouveau pendant 20 minutes à l'ébullition et laisse refroidir; après avoir complété à 300 g avec de l'eau distillée, j'exprime, laisse reposer pendant 2 jours à la glacière le liquide gris beige très trouble et détermine son résidu sec sur 10,00 g suivant la méthode de la Ph. H. V.

Par les déterminations du chapitre précédent, nous connaissons les quantités d'eau C et de matière sèche D que contiennent 100 g de la drogue fraîche étudiée; admettons que les 300 g contenus dans le ballon se répartissent en (200 + C) g d'eau et D g de matière sèche, dont E g sont insolubles dans l'eau et F g solubles; l'extrait aqueux F est dissous dans (200 + C) g d'eau, ce qui donne théoriquement (200 + C + F) g de solution dont je détermine le résidu sec f %. Posons alors :

$$F = \frac{f(200 + C + F)}{100}, \text{ d'où } F = \frac{f(200 + C)}{100 - f}.$$

Les substances insolubles dans l'eau sont ici surtout de l'amidon et de la cellulose; elles représentent la majeure partie des réserves que la plante accumule dans la racine. Déterminons-les par différence entre l'extrait aqueux et la matière sèche :  $E = D - F$ .

Les valeurs de E et de F ainsi déterminées sont transcrites dans le tableau général; elles sont comprises entre 4,25 et 8,72 % pour l'extrait aqueux, 8,3 et 29 % pour les substances insolubles dans l'eau.

La courbe E, qui représente, pour la racine fraîche, la variation des substances insolubles dans l'eau, suit de près la courbe D de la matière sèche; elle a la même forme générale avec un minimum (8 %) à fin avril, un maximum (16 à 17 %) en novembre; en été, elle dépend surtout des condi-

tions météorologiques qui la font osciller entre 12 et 29 % ; aussi ai-je renoncé à établir une courbe générale pour cette saison.

La courbe F de l'extrait aqueux diffère un peu des deux précédentes; ici aussi les variations en été diffèrent beaucoup (entre 5 et 9 %) d'une année à l'autre avec les conditions météorologiques; en automne et au printemps la variation peut être schématisée par une courbe qui présente un minimum (5 %) à fin avril, moment où apparaissent les premières feuilles vertes, où la plante commence à assimiler.

Les rapports E/D et F/D des substances insolubles dans l'eau (E) et de l'extrait aqueux (F) à la matière sèche (D) correspondent, si on les exprime en pour cent, aux quantités de substances insolubles (I) et solubles (K) dans l'eau contenues dans 100 g de racine sèche. Les valeurs de I varient entre 60 et 77 % soit relativement peu; la courbe qui représente leur variation est la courbe inversée de K qui représente la variation de l'extrait aqueux de la matière sèche. Les valeurs de K oscillent entre 23 et 40 %; elles varient donc presque du simple au double; leur courbe a une forme voisine de celle de F; toutefois le maximum (40 %) de la fin de l'hiver s'étend jusqu'au début de mars, les réserves deviennent en partie solubles, l'amidon se transforme en sucres, dont la concentration est alors probablement maxima; au cours de mars, qui est en général l'époque où la vie des plantes reprend, les substances extractives de la matière sèche diminuent très rapidement, les sucres sont utilisés par les tissus qui croissent. De mai à septembre, I et K, qui représentent l'état des réserves, varient beaucoup avec l'assimilation, qui dépend elle-même directement des conditions météorologiques.

Pour déterminer l'époque de la récolte d'après les indices étudiés dans ce chapitre, on préférera les mois où la racine est la plus riche en matières de réserve, soit novembre (maximum des substances insolubles) ou mieux encore février (maximum des substances solubles), alors que l'extrait est le plus abondant. En pratique il est très difficile, parfois impossible, d'arracher en février, lorsque le terrain est gelé ou recouvert de neige. J'ai pu constater (récolte du 2-3-44, sous plus de 10 cm de neige), que, dès le dégel du terrain, avant la fonte complète de la neige, la racine commence à s'imbiber d'eau; le maximum recherché est alors déjà dépassé. Le mieux est donc de récolter la racine en automne, le plus tard possible avant que le terrain gèle.

### CHAPITRE VIII : Extrait alcoolique Ph. H. V.

Dans la Ph. H. V., la teinture de Valériane mérite une mention particulière : elle est, avec l'extrait sec qui en dérive, la seule préparation galénique obtenue par stabilisation d'une drogue fraîche, selon la méthode due à BOURQUELOT (49, 50) et à ses élèves.

Cette teinture, dont nous verrons la haute valeur pharmacologique dans la troisième partie de ce travail, connaît la faveur de nombreux médecins et aussi du public. Son étude sera l'objet d'un prochain chapitre ; je ne considère ici que la teneur de la teinture en résidu sec aux divers mois de l'année, ce qui permet, connaissant les quantités d'eau et de matière sèche que contient la drogue fraîche, de calculer la quantité théorique d'extrait alcoolique sec que donnent 100 g de drogue fraîche ; je prépare la teinture d'après la Ph. H. V., sauf que je n'introduis la racine fraîche et entière que lorsque l'alcool bout au bain-marie électrique.

Si la drogue fraîche qui sert à préparer la teinture contient C % d'eau et G % d'extrait alcoolique sec, 100 g de drogue fraîche donnent théoriquement  $(100 + C + G)$  g de teinture Ph. H. V., dont je désigne par  $\alpha$  la teneur en résidu sec, exprimée en %.

$$G = \frac{\alpha(100 + C + G)}{100}, \text{ d'où } G = \frac{\alpha(100 + C)}{100 - \alpha}$$

Le résidu sec  $\alpha$  est déterminé sur 10 g de teinture, suivant la méthode de la Ph. H. V.; il convient toutefois de remarquer qu'à 103-105° le résidu de la teinture est lentement décomposé : sa teinte devient plus foncée, la masse solide et cassante à froid devient molle à chaud et laisse échapper quelques bulles ; il se dégage une odeur pénétrante rappelant celle de la drogue sèche ; en général après trois pesées, la perte de poids devient constante, de l'ordre de 2 mg. Si l'on veut obtenir des résultats précis, il convient ici, comme dans le cas de la matière sèche, de terminer la dessiccation dans le vide sulfurique à 45°, au lieu de sécher à 103-105° comme le prescrit la Ph. H. V.; on obtient alors facilement un poids constant à moins de 1 mg près, de quelques mg supérieur à celui qu'on obtient par la méthode de la Ph. H. V après trois chauffages d'une demi-heure à 103-105°. On pourrait aussi apporter une correction au résultat obtenu selon la Ph. H. V. : après  $n$  chauffages d'une demi-heure à 103-105°, la perte de poids  $p$  devient constante ; on ajoute alors  $n \cdot p$

au dernier poids  $P_n$  pour obtenir le poids théorique  $P_o$  du résidu sec :  $P_o = P_n + n \cdot p$ .

Dans la pratique, l'exactitude de la méthode de la Ph. H. V est suffisante pour le contrôle de la teinture; après quatre à cinq pesées, l'écart entre  $P_n$  et  $P_o$  est de l'ordre de 10 mg; le poids du résidu varie, suivant les teintures, entre 190 et 400 mg (d'après la Ph. H. V : 180 et 260 mg); l'erreur possible est donc au maximum de 5 % environ, alors que la grandeur à mesurer peut varier du simple au double, soit de 100 %.

L'extrait alcoolique G, tel qu'il a été défini et mesuré, varie entre 3,52 et 8,6 % comme le montrent les valeurs transcrives dans le tableau général; la courbe G, obtenue en portant ces valeurs en ordonnée d'un graphique, est très semblable à la courbe F de l'extrait aqueux; de fin septembre à fin juin la variation de l'extrait alcoolique peut être schématisée par une courbe avec maximum (7 %) en février et minimum (3,5 à 4 %) à fin avril.

Comme pour l'extrait aqueux dans le chapitre précédent, j'ai rapporté à la matière sèche les quantités d'extrait alcoolique contenues dans la drogue fraîche, en calculant le rapport  $L = G/D$ ; j'ai transcrit dans le tableau les valeurs de L, qui varient entre 17,7 et 35,3 %, soit du simple au double, avec maximum (33 % environ) en février et minima au début de l'automne (septembre-octobre) et du printemps (mars-avril); la courbe L est très semblable à la courbe K de l'extrait aqueux.

Pour fixer la saison de la récolte, nous arrivons donc aux mêmes conclusions qu'au chapitre précédent : le plus tard possible en automne.

#### CHAPITRE IX : Essence.

*Choix d'une méthode de dosage.* — Les exigences qu'on impose à une méthode de dosage, sont le plus souvent d'ordres différents et s'excluent parfois dans leur réalisation pratique. Suivant le but des recherches auquel le dosage doit conduire, on attribuera une plus grande importance à l'exactitude absolue, quelle que soit la durée d'une mesure, ou bien on se contentera d'une exactitude relative, mais constante. Suivant la nature de l'essence étudiée, les diverses causes d'erreur auront une importance différente; on en tiendra compte dans le choix d'une méthode appropriée au but poursuivi. Les méthodes exactes sont en général les plus compliquées; elles serviront de référence pour l'appréciation de méthodes plus sim-

ples et plus rapides, employées dans la pratique courante et dans les recherches qui comportent des dosages en séries.

Des essais de dosages gravimétriques m'ont montré que l'essence de racine fraîche de Valériane contient des substances très volatiles; les unes distillent en même temps que l'éther de pétrole, qui garde après distillation une odeur rappelant celle de la racine fraîche; d'autres passent avec les dernières fractions d'éther de pétrole en quantité appréciable, ce qui exclut une séparation quantitative de l'essence avec le solvant dont je dispose; l'éther éthylique n'a pas donné de meilleurs résultats.

La méthode cryoscopique de BECKMANN (25) ne permet pas de doser séparément l'essence et les acides volatils; elle ne tient aucun compte des variations saisonnières que subit la composition chimique de l'essence, et que STRAZEWICZ (297) a mises en évidence; les deux mêmes raisons m'ont fait renoncer aussi à la méthode titrimétrique de ZAECH (344).

Pour les dosages mensuels de l'essence de la racine fraîche de Valériane, j'ai choisi la méthode volumétrique au moyen d'un appareil à cohobation du type CLEVENGER (74); cette méthode présente les avantages suivants :

1. Exactitude relative satisfaisante : l'écart entre plusieurs mesures sur la même drogue est de 2 à 5 %, avec un rendement de 80 à 90 % en essence de Valériane fraîche isolée (variable avec la quantité mise en œuvre).

2. Séparation automatique de l'essence et des acides gras volatils (isovalérianique surtout), qui passent en partie de l'eau dans l'éther de pétrole au cours du dosage gravimétrique, et qui, dans la méthode titrimétrique de ZAECH (344) sont comptés comme essence.

3. Simplicité et rapidité des manipulations, permettant des dosages en séries.

*Essais de contrôle de l'appareil.* — Trois dosages effectués sur un même lot de racine fraîche réparti en trois parts de 100 g ont donné les volumes : 0,145 cm<sup>3</sup>, 0,155 cm<sup>3</sup>, 0,152 cm<sup>3</sup>. La première valeur est plus faible parce que l'appareil n'est pas «saturé» d'essence ; d'autres essais du même genre ont donné des écarts variant entre 2 et 5 %.

163 mg d'essence obtenue dans le même appareil, lors d'autres opérations, pesée dans un petit godet et mise dans le ballon avec 200 g d'eau distillée, chauffés à ébullition pendant une heure, donnent 0,150 cm<sup>3</sup> d'essence dans le tube gradué, ce qui correspond à 138 mg ; l'eau aromatique que contient le ballon, saturée par NaCl, puis extraite par 2 fois 25 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole, donne, par distillation et évaporation de l'éther de pétrole, 10 à 20 mg

d'essence à odeur cétonique rappelant celle de l'absinthe ou des pousses fraîches de tomate; cette essence est très volatile; une partie a passé avec l'éther de pétrole pendant la distillation (on perçoit nettement son odeur dans l'éther de pétrole récupéré).

Pour supprimer cette cause d'erreur due à la solubilité de l'essence dans l'eau, je remplace les 200 g d'eau distillée par 200 g d'eau aromatique provenant d'une opération précédente, j'ajoute 282 mg de la même essence que ci-dessus, chauffe pendant une heure et obtiens 0,277 cm<sup>3</sup> (255 mg) d'essence, ce qui correspond à un rendement de 90 % environ.

103 mg de la même essence, traités de même, donnent 0,090 cm<sup>2</sup> (83 mg), donc un rendement approximatif de 80 %.

Les différences sont du même ordre de grandeur quand on travaille avec la racine fraîche au lieu de l'essence isolée: un même lot de racine fraîche est réparti en 4 parts homogènes de 100 g. Je chauffe la première avec 150 g d'eau bouillante pendant une heure dans l'appareil et mesure 0,088 cm<sup>3</sup> d'essence. Sans vider l'essence du tube gradué, je décante l'eau du ballon, sors les racines, chauffe à nouveau l'eau décantée (150 g) et y mets la deuxième part de racine fraîche; après une heure de chauffage, je lis 0,196 cm<sup>3</sup> d'essence; la deuxième part a donc donné 0,108 cm<sup>3</sup> d'essence. J'obtiens de même avec la troisième part un total de 0,306 cm<sup>3</sup> d'essence (3<sup>e</sup> part = 0,110 cm<sup>3</sup>) et avec la 4<sup>e</sup> part un total de 0,418 cm<sup>3</sup> d'essence (4<sup>e</sup> part = 0,112 cm<sup>3</sup>).

*Séparation de l'essence et des acides volatils.* — 6,6 cm<sup>3</sup> d'eau aromatique se trouvant sous l'essence, additionnée de 1 goutte de solution de phénolphtaléine, sont neutralisés par 2,50 cm<sup>3</sup> Ba(OH)<sub>2</sub> n/10; cette eau contient donc 3,85 % d'acides volatils calculés en acide isovalérianique (p. m. 102).

378 mg de l'essence qui surnageait cette eau aromatique, dissous dans 5 cm<sup>3</sup> d'alcool contenant une goutte de phénolphtaléine, sont neutralisés par 0,35 cm<sup>3</sup> KOH alcoolique n/10, ce qui correspond à 0,94 % d'acide isovalérianique libre dans l'essence.

D'après ces deux valeurs, le coefficient de partage de l'acide isovalérianique entre l'eau aromatique et l'essence est de 3,86/0,94 = 4,1.

Ces essais de contrôle renseignent sur le fonctionnement de l'appareil et les propriétés de l'essence isolée: l'eau aromatique qui se trouve dans le ballon à la fin d'un dosage contient 0,01 à 0,02 % d'essence isolable par l'éther de pétrole après saturation par NaCl et neutralisation des acides libres; en outre l'éther de pétrole récupéré par distillation à température inférieure à 45°, a une odeur caractéristique rappelant celle de la racine fraîche de Valériane et due à une ou deux substances très volatiles que je n'ai pas étudiées.

L'essence séparée dans l'appareil contient moins de 1 % d'acides libres calculés en acide valérianique.

*Stabilisation.* — Désirant connaître la teneur en essence de la racine fraîche, je me suis efforcé d'éliminer toute action des enzymes dont le rôle dans la formation de l'essence n'est d'ailleurs pas connu; l'essence obtenue et mesurée est celle que contient la racine vivante, ou au moins celle qui est libérée des tissus vivants par la seule vapeur d'eau à 100°, indépendamment de toute réaction fermentaire contribuant à la désagrégation du complexe cellulaire et à la mort des tissus.

Dans un ballon de 500 cm<sup>3</sup>, je fais bouillir 150 ou 250 g d'eau distillée; je retire du feu et introduis rapidement 100 g de racine fraîche entière, lavée et essuyée; la vapeur d'eau qui tend à s'échapper du ballon se condense sur les racines qui garnissent le col pendant tout le remplissage; les pertes en essence sont pratiquement nulles; j'adapte immédiatement le ballon au dispositif prêt à distiller l'essence, réfrigérant ou appareil pour le dosage volumétrique, et je porte à l'ébullition le plus rapidement possible; le contenu du ballon ne descend pas à une température inférieure à 70°, pendant le remplissage qui dure moins d'une minute.

*Essais de dosage gravimétrique.* — Dans l'appareillage prescrit par D. A. B. 6, je fais bouillir 250 g d'eau distillée, y introduis comme ci-dessus 100 g de racine fraîche et distille 200 cm<sup>3</sup> que je reçois dans une ampoule à décanter; je neutralise par la soude jusqu'au début de coloration rose de la phénolphtaléine, dissous 60 g de NaCl et agite avec 40 cm<sup>3</sup>, puis 3 fois 20 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole qui a rincé le réfrigérant. Les éthers de pétrole réunis dans un ballon taré avec un fragment de porcelaine poreuse sont distillés au bain-marie à 50° jusqu'au volume de 5 cm<sup>3</sup>, puis évaporés selon MANN (203) dans un courant d'air sec, que j'interromps toutes les cinq minutes pour peser le ballon bouché.

La perte de poids d'une pesée à l'autre diminue d'abord fortement, mais elle est encore, pour chaque durée de 5 minutes, de 5 à 10 mg pour un poids d'essence de 150 mg environ; en outre l'éther de pétrole récupéré par distillation a une odeur nette rappelant celle de la racine fraîche.

En remplaçant dans les mêmes opérations l'éther de pétrole par l'éther éthylique, la perte de poids est aussi forte, alors que toute odeur d'éther est imperceptible.

*Dosage volumétrique.* — L'appareil du type CLEVENGER (74) avec lequel j'ai dosé l'essence correspond au schéma de l'appareil modifié par WASICKY, dans HAGER (140). Entièrement en verre, il comprend un ballon de 500 cm<sup>3</sup>, à col rodé, que je chauffe sur cône amianté de Babo avec un bec Bunsen, un tube de 10 mm de diamètre intérieur conduisant les vapeurs au bas d'un réfrigérant

à boule vertical, relié à l'appareil par un rodage, une ampoule pour la séparation de l'essence et de l'eau aromatique, directement sous le réfrigérant, un tube gradué en  $0,02 \text{ cm}^3$ , long de 20 cm, qui permet de lire aisément le volume de l'essence à  $0,01 \text{ cm}^3$  près, et d'apprécier la 3<sup>e</sup> décimale, un robinet de vidange et un tube pour le retour de l'eau aromatique au tube surmontant le ballon, à une hauteur qui maintient le niveau de séparation de l'essence dans l'ampoule à sa partie la plus large. Pour effectuer une mesure, je remplis le tube gradué et l'ampoule de séparation en y versant  $15 \text{ cm}^3$  d'eau distillée, jusqu'à ce qu'elle coule par le tube de retour. Dans le ballon de  $500 \text{ cm}^3$  je chauffe à ébullition 150 g d'eau distillée, introduis rapidement 100 g de racine fraîche, selon la description sous «stabilisation», j'adapte le ballon à l'appareil et maintiens à ébullition pendant une heure : après avoir laissé l'appareil se refroidir pendant une heure, je fais descendre l'essence dans le tube gradué en prélevant de l'eau aromatique par le robinet de vidange et lis le volume de l'essence après deux heures de repos. En multipliant le volume par la densité moyenne de l'essence de racine fraîche de Valériane 0,92, j'obtiens le poids de l'essence fournie par 100 g de racine fraîche.

*Résultats.* — Les teneurs en essence transcris dans le tableau général (colonne H) et portées en ordonnées pour construire la courbe H de variation saisonnière sont, exprimées en g d'essence par kg de racine fraîche, celles que les mesures volumétriques ont fournies, calculées pour une densité moyenne d'essence de 0,92; je n'ai pas introduit une correction que les essais de contrôle permettraient de calculer; ces chiffres ont ainsi, pensons-nous, une valeur documentaire plus grande. Si l'on désire des teneurs en essence qui se rapprochent davantage de la véritable teneur en essence de la racine fraîche, on peut ajouter 0,2 à 0,25 aux valeurs du tableau, ce qui correspond aux pertes par volatilisation, et 0,2 à 0,3 correspondant à l'essence qui reste dissoute dans l'eau.

L'essence mesurée ainsi ne contient pas tous les principes volatils et odorants de la racine fraîche; j'admets néanmoins que mes résultats ont une valeur relative intéressante.

D'après ces mesures, la racine fraîche de Valériane contient de 0,5 à 2,2 g d'essence par kg; la variation de cette teneur en essence est représentée par la courbe H; cette courbe n'est guère semblable à elle-même d'une année à l'autre; les seuls caractères qui se retrouvent dans les trois années étudiées sont un maximum à la fin de l'hiver (février-mars) et un minimum à la fin du printemps (mai-juin); en été et en automne, les variations sont de grande amplitude; je tenterai de les mettre en rapport avec les conditions météorolo-

giques. Pour schématiser la variation au cours d'une année, on peut se servir de la surface hachée sur laquelle tous les points mesurés viennent s'inscrire; on y retrouve le maximum de février-mars et le minimum de mai-juin.

Rapportée par le calcul à la matière sèche, la teneur en essence prend des valeurs M qui varient entre 2,18 et 11,2 g par kg de racine sèche. La courbe M qui représente cette variation a une forme semblable à la courbe H de l'essence dans la racine fraîche; elle s'inscrit aussi sur une aire hachée dont la forme met en évidence un maximum en février-mars et un minimum en mai-juin.

Le maximum de la fin de l'hiver coïncide avec le début de la végétation, le minimum de la fin du printemps, avec l'époque où les réserves épuisées sont remplacées par les produits de l'assimilation des feuilles vertes; les variations de l'essence, représentées par les courbes H et M, suivent approximativement, avec un léger retard, les variations des extraits aqueux et alcooliques, représentées par les courbes F, G, K et L; j'en déduis que l'essence se forme en même temps que les réserves et qu'elle disparaît peu après elles, utilisée ou éliminée sous une forme que je ne saurais préciser.

Si on considère l'essence comme le principe actif intéressant dans la drogue — ce que font la plupart des auteurs allemands — ces résultats indiquent qu'il faudrait récolter en février-mars, pour avoir une drogue aussi riche que possible en essence; la récolte en novembre-décembre, préconisée plus haut, apparaît presque aussi avantageuse, d'après les graphiques.

#### CHAPITRE X : Acides volatils libres et combinés.

Je distingue les acides volatils «libres» obtenus directement par entraînement à la vapeur de la racine fraîche stabilisée, et les acides volatils «combinés» que j'obtiens par entraînement à la vapeur en milieu acide, après hydrolyse alcaline du même lot de racine fraîche.

*Acides volatils «libres».* — J'introduis rapidement 100 g de racine fraîche entière dans un ballon contenant 200 g d'eau bouillante, adapte un réfrigérant à reflux et chauffe à faible ébullition pendant 20 minutes («stabilisation»). Après refroidissement, je hache les racines, remets le tout dans le ballon, entraîne par un courant de vapeur d'eau et recueille une première tranche A<sup>I</sup> de distillat de 500 cm<sup>3</sup>, puis une seconde tranche A<sup>II</sup> de 250 cm<sup>3</sup>. Ce qui distille ensuite ne contient que de faibles quantités d'acides volatils que je néglige.

*Acides volatils « combinés ».* — J'ajoute dans le ballon, qui contient les racines hachées épuisées par la vapeur d'eau, 4 g de Natrium carbonicum siccatum Ph. H. V; je plonge le ballon pendant une heure dans un bain-marie bouillant, puis laisse refroidir, acidifie par 6 g d'acide tartrique et entraîne à la vapeur 500 cm<sup>3</sup> = B<sup>I</sup>, puis 250 cm<sup>3</sup> = B<sup>II</sup>.

Ces divers distillats me permettent de déterminer par dosage de parties aliquotes, l'ensemble des acides volatils, soit « libres » soit « combinés ».

Par hydrolyse alcaline, puis acide de 100 g de racine fraîche hachée, j'obtiens, en procédant comme pour les acides « combinés », des quantités d'acides volatils totaux égales chaque fois à la somme des acides volatils « libres » et « combinés », avec des écarts inférieurs à 10 %.

J'ai préféré l'acide tartrique à l'acide phosphorique employé par KATZ (171), GRIMME (130) et IHBE (160), car FINCKE (100) a montré que, dans des conditions semblables, les sucres sont faiblement décomposés avec formation d'acides volatils, dont l'acide formique (voir aussi CONRAD et GUTZEIT, 79). L'acide tartrique, moins fort, est capable toutefois de déplacer entièrement les acides volatils à chaud; la formation d'acides volatils selon FINCKE est alors négligeable.

Au cours de mes premiers essais, j'ai constaté que, lors de la titration par la baryte décinormale en présence de phénolphthaléine, le virage n'est pas net; j'attribue ce défaut à la présence d'acide carbonique dans les distillats contenant les acides « combinés ». Pour l'éliminer, je fais bouillir à reflux pendant quelques minutes le liquide à titrer, refroidis le ballon dans l'eau courante et rince le réfrigérant; le virage est alors net et les valeurs obtenues dans des essais de contrôle correspondent aux valeurs théoriques.

Les résultats de mes dosages des acides volatils « libres », « combinés » et totaux retirés de la racine fraîche de Valériane aux divers mois de l'année sont rassemblés dans le tableau général; les valeurs inscrites sont le plus souvent des moyennes de plusieurs mesures; elles sont exprimées en milliéquivalents d'acides volatils pour 100 g de racine fraîche.

Portées en ordonnées sur un graphique où les mois sont en abscisses, ces valeurs donnent trois courbes N, O et P dont l'allure est semblable.

Les acides volatils « libres » représentent approximativement le tiers des acides volatils totaux, les acides « combinés » environ les deux tiers. Ces rapports ne sont constants qu'à 25 % près.

Mes mesures, qui ne portent guère ici que sur une année, ne permettent pas de dégager l'allure générale d'une courbe qui représenterait schématiquement la variation des acides volatils avec la saison. En rapprochant les trois courbes N, O et P de la courbe H de l'essence, je constate que les acides volatils diminuent en général quand l'essence augmente dans la racine fraîche et vice-versa; une telle relation n'apparaît pas entre les valeurs Q, R et S des acides volatils rapportés à la matière sèche et les valeurs M qui concernent l'essence ( $M = H/D$ ;  $Q = N/D$ ;  $R = O/D$ ;  $S = Q + R$ ).

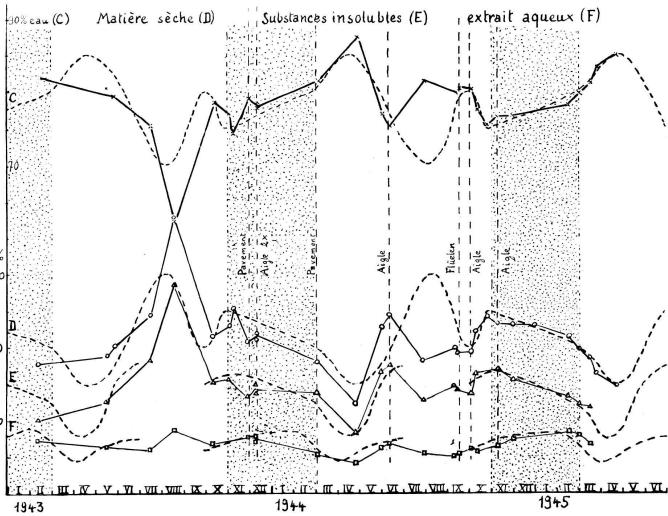
Le rapport constaté entre les teneurs de la racine fraîche en acides volatils (N, O et P) et en essence (H) n'est que qualitatif; il ne semble pas justifier la relation quantitative simple que divers auteurs ont tenté d'établir entre les teneurs en acides volatils et en essence de la racine sèche.

Nous verrons dans un autre chapitre s'il est possible d'expliquer les variations des acides volatils par celles des conditions météorologiques.

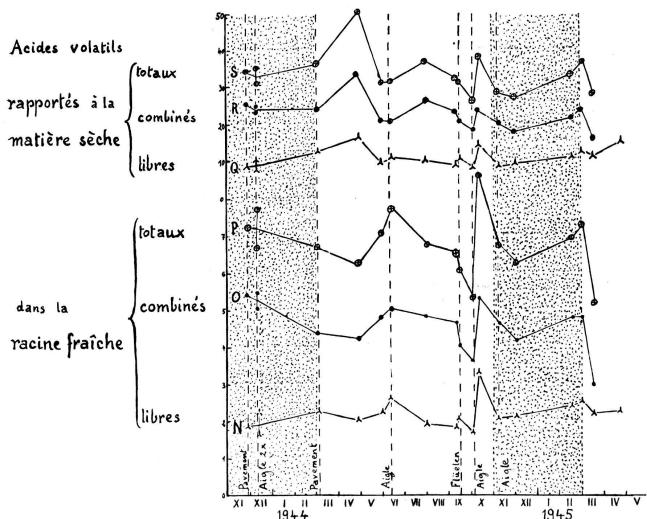
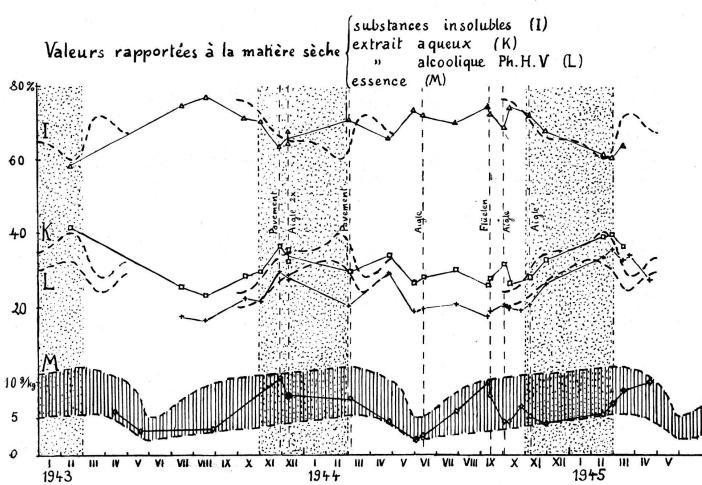
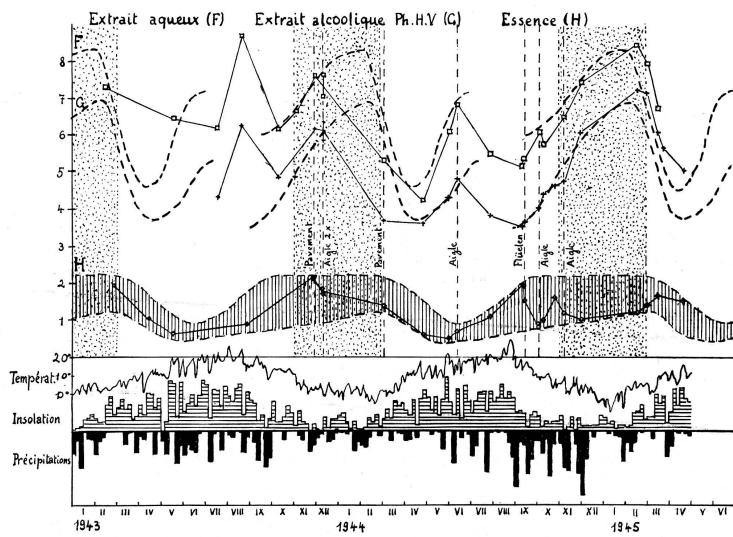
*Remarques.* — Les acides volatils «libres» le sont-ils véritablement dans la plante vivante? Quelques observations me permettent de le nier. La réaction du suc cellulaire vivant est beaucoup moins acide que celle d'une solution aqueuse de ces acides purs; les distillats ont un pH compris entre 3,5 et 4,0, tandis qu'en trituant rapidement de la racine fraîche dans peu d'eau, je mesure un pH de 5,8 à 6,0. Les acides «libres» sont donc soit partiellement neutralisés par les bases minérales ou organiques de la plante, soit à l'état d'esters peu stables. Après le traitement à l'eau bouillante, le liquide où baignent les racines et la pâte fluide obtenue après le broyage des racines ont un pH de 4,7 à 4,8; l'acidité de cette pâte n'est pas due exclusivement aux acides volatils, car je neutralise cette acidité par 30 cm<sup>3</sup> environ de Ba(OH)<sub>2</sub> n/10 pour 100 g de racine fraîche, tandis que les acides volatils «libres» de 100 g de la même racine sont neutralisés par 20 cm<sup>3</sup> environ de la même liqueur alcaline. La racine hachée, épuisée par le courant de vapeur d'eau, a un pH de 4,8 à 4,9; pour neutraliser cette acidité, il faut 10 à 12 cm<sup>3</sup> de baryte décinormale.

Les acides volatils «libres» que je dose sont en réalité ceux qui sont libérés dans la racine par l'action hydrolysante de l'eau bouillante pendant deux heures environ que dure leur extraction.

## Tableau général : Valeurs numériques des indices de la racine fraîche de Valériane



Mémoires de la Soc. suisse Sc. nat., No 57, Vol. 8, No 7, 1946.



De la racine fraîche, hachée et laissée à macérer dans deux fois son poids d'eau à la température ordinaire, augmente progressivement d'acidité; j'en ai mesuré le pH au moyen de papiers indicateurs Lyphan :

Immédiatement	pH = 5,8 à 6,0
Après 1 heure	5,8
» 5 heures	5,6 à 5,7
» 20 »	5,2
» 2 jours	4,8 à 4,9
» 3 »	4,8

Puis l'acidité n'augmente plus sensiblement; elle est d'ailleurs pratiquement égale à celle du liquide qui baigne les racines entières «stabilisées» par l'eau bouillante pendant 20 minutes.

D'autre part, j'ai titré les acides (volatils et fixes) solubles dans la macération aqueuse de racine fraîche hachée, à différentes dates de l'hiver et du printemps; les résultats sont exprimés en cm<sup>3</sup> Ba(OH)<sub>2</sub> n/10 par g de racine fraîche :

Date	Après 1 h.	2 h.	6 h.	12 h.	1 jour	3 jours	10 jours
1-12-44	0,20	0,30	—	0,35	0,50	0,75	0,75
1- 3-45	0,20	—	0,35	0,45	0,65	0,70	0,75
15- 3-45	0,15	—	—	—	0,50	0,80	0,90
22- 3-45	0,20	—	—	0,30	0,70	0,85	0,85
21- 4-45	0,20	—	—	0,35	0,50	0,60	0,65

J'attribue cette libération progressive d'acides à l'activité de ferments de la racine fraîche; il semble, à comparer les valeurs ci-dessus, que l'activité de ces ferments ne varie guère de la période du repos hivernal à celle où la végétation est devenue active (apparition des premières feuilles vertes en avril).

Comparée à l'action hydrolysante de l'eau bouillante pendant la stabilisation, l'action de ces ferments est la plus forte : dans la macération aqueuse, 100 g de racine fraîche libèrent en 10 jours en moyenne 8,0 milliéquivalents d'acides dont 2,3 milliéquivalents d'acides volatils, alors que la même quantité de racine stabilisée contient 3,0 milliéquivalents d'acides libres, dont 2,0 sont volatils; par hydrolyse alcaline, 100 g de racine fraîche donnent en moyenne 7 milliéquivalents d'acides volatils totaux. Les ferments ne libèrent donc guère plus d'acides volatils que l'eau bouillante; ils libèrent surtout des acides non volatils. Si les acides volatils sont dans la plante vivante à l'état de sels, les ferments libèrent des acides non volatils qui déplacent les acides volatils; l'odeur

forte et caractéristique de la Valériane apparaît alors, due à l'acide isovalérianique libre. Si les acides volatils «libres» sont à l'état d'esters peu stables, ils peuvent être libérés soit par action fermentaire directe, une estérase scindant ces esters, soit par simple hydrolyse dans le milieu acide qui résulte de l'action de ferments ne libérant que d'autres acides forts, comme dans le premier cas. Enfin on pourrait supposer que l'acide isovalérianique est le résultat non d'une hydrolyse, mais d'une oxydation fermentaire. Je pense pouvoir éliminer cette dernière hypothèse en m'appuyant sur les faits suivants : un même lot de racine fraîche est divisé en deux parts égales que je hâche rapidement ; l'une des parts est mise immédiatement dans un ballon avec de l'eau où barbote un courant d'azote ; la racine hachée macère ainsi dans l'eau en absence d'oxygène ; l'autre part est mise dans une quantité égale d'eau où barbote un courant d'air ; au bout de deux jours, les deux macérations ont le même pH et sont neutralisées par des quantités égales d'alcali ; l'oxygène de l'air n'a donc pas favorisé la formation des acides. Nous verrons dans un autre chapitre que de l'acide isovalérianique prend naissance par oxydation de l'essence, sans l'intervention de ferments.

Ces augmentations des acides libres confirment l'opinion de WASICKY (325), qui considère les acides volatils libres comme des produits de décomposition, leur dosage ne pouvant que renseigner sur l'âge et le degré d'altération de la drogue.

Les résultats des dosages d'acides libres dans la racine fraîche effectués par BÜHRER et rapportés par TSCHIRCH (309) peuvent, à mon avis, être interprétés comme dus à l'action plus ou moins prolongée des ferments : les racines récoltées en Suisse ont donné des extraits à l'alcool dilué dont les acides ont été neutralisés par 1,4 et 1,6 cm<sup>3</sup> NaOH n/10 par g de racine fraîche, tandis que des racines provenant d'Alsace ont donné des extraits neutralisés par 3,7 cm<sup>3</sup>, simplement parce que le voyage plus long a permis aux ferments d'agir plus longtemps, et non à cause de la nature du terrain, comme semble le supposer TSCHIRCH.

A propos de mes propres dosages d'acides volatils «libres», on peut se demander si les variations constatées d'un mois à l'autre correspondent dans la racine fraîche à autre chose que :

1. au temps qui sépare la récolte et le traitement des racines et qui n'est pas toujours le même;

2. à la température ambiante, variable d'un mois à l'autre et plus ou moins favorable à l'activité des ferment;
3. à l'activité des enzymes, qui serait variable avec la saison;
4. à l'état de stabilité plus ou moins grande des combinaisons où sont fixés les acides volatils et à l'état biologique de la plante au moment de la récolte, états variables avec la saison, les conditions météorologiques et l'heure du jour. Quelques expériences me permettent d'éliminer trois de ces possibilités :

1. De la racine fraîche d'un même lot, traitée moins d'une heure après l'arrachage, donne autant d'acides volatils «libres» qu'après 24 heures.

Le 29-11-43, j'arrache, lave, essuie et pèse 200 g de racine, la partage en deux parts homogènes de 100 g dont l'une est traitée immédiatement, l'autre laissée pendant 24 heures sous un linge humide en vase clos à la température du laboratoire (15°). Les distillats sont neutralisés par 18,5 et 18,7 cm<sup>3</sup> Ba(OH)<sub>2</sub> n/10; la différence, de l'ordre de 1 %, est pratiquement négligeable.

2. J'admet a priori que des températures plus basses que celles de mon expérience n'auront pas une influence plus grande sur la formation des acides «libres».

3. Les expériences de la p. 389 montrent que la vitesse des processus fermentaires dans la racine fraîche ne varie guère d'une saison à l'autre.

Pour la pratique, je conclus que, si l'on en juge d'après la quantité d'acides «libres» reconnue comme critère déterminant, le pharmacien dispose de 24 heures au moins entre l'arrachage de la racine et sa cuisson dans l'alcool pour la stabiliser et en préparer la teinture Ph. H. V.

## CHAPITRE XI : Indices de la teinture Ph. H. V.

Dans quelle mesure les variations étudiées dans les chapitres précédents se retrouvent-elles dans la teinture stabilisée de racine fraîche ? Pour le savoir, j'ai déterminé pour chacune des teintures préparées aux divers mois de l'année l'indice d'acidité, l'indice d'ester et le résidu sec. L'examen organoleptique n'a pas révélé des différences de teinte suffisantes pour justifier des mesures colorimétriques; quelques essais préliminaires de mesures néphélométriques, après addition d'eau à la teinture, n'ont pas été encourageants; j'ai aussi pensé à des mesures fluorimétriques, mais là encore,

il s'agit d'un vaste domaine où je n'ai pas pénétré, vu la complexité du problème révélée par des essais préliminaires.

*Indice d'acidité.* — La Ph. H. V en prescrit la mesure : 5 g de teinture dilués à 100 cm<sup>3</sup> avec de l'eau, doivent être neutralisés par 0,7 à 0,9 cm<sup>3</sup> de soude caustique n/10 (phénolphtaléine); je procède suivant cette prescription; le virage est délicat à saisir avec exactitude, mais la pratique permet d'y parvenir; j'ai vérifié plusieurs mesures en répétant le dosage avec une méthode potentiométrique. Je réalise une pile à concentration en ions H<sup>+</sup>, constituée par deux électrodes à la quinhydrone : dans un godet je verse une solution tampon de pH = 8 (acide borique + borate + KCl, par exemple); dans un autre godet plus grand, je verse 5 g de teinture diluée à titrer; dans les deux godets j'ajoute de la quinhydrone en excès (quelques cg); les godets sont reliés entre eux par un pont de solution saturée de KCl; dans chacun des deux liquides trempe une lame de Pt, l'une reliée au pôle +, l'autre au pôle — d'un appareil électrique de zéro (microampèremètre, électromètre capillaire ou galvanomètre).

Dans le godet qui contient la teinture à titrer, je laisse couler goutte à goutte d'une burette graduée, une solution d'alcali décimolaire et remue continuellement; quand l'appareil électrique ne réagit plus, le potentiel aux bornes de la pile est nul, le pH des solutions contenues dans les deux godets est égal à 8; je note la quantité d'alcali employée; elle est égale, à 5 % près, à celle du dosage avec la phénolphtaléine.

Les résultats sont rassemblés dans la colonne T du tableau général, exprimés en mg d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser (pH 8) 1 g de teinture; cette notation, conforme aux prescriptions générales de la Ph. H. V, est préférable à celle que propose W. UNGER (317), qui appelle indice d'acidité d'une teinture le nombre de mg de KOH neutralisant 10 g de teinture.

Les valeurs mesurées oscillent entre 0,78 et 1,29, avec une moyenne de 1,01; la teinture du 2-3-44 avait une acidité exceptionnelle de 1,96 que j'attribue à un accident de laboratoire, d'ailleurs indéterminé; je n'en tiens pas compte; à part les deux autres valeurs extrêmes du 22-3-45 = 0,78 et du 21-4-45 = 1,29, l'indice d'acidité de la teinture ne varie qu'entre 0,90 et 1,12; comme les trois valeurs extrêmes correspondent à des drogues récoltées en mars et avril, je conclus que la racine fraîche de Valériane récoltée pendant la période de repos de la plante (novembre à février) donne une teinture stabilisée dont l'indice d'acidité est égal à 1,00 ± 0,12. A part les trois écarts constatés au printemps, la variation saisonnière est pratiquement nulle. Il ne semble

pas exister de relation entre les acides volatils « libres » N de la racine fraîche et l'indice d'acidité T de la teinture.

*Indice d'ester.* — Pour le déterminer, je pèse 5 g de teinture, ajoute 10 cm<sup>3</sup> de solution de baryte décinormale et fais cuire à reflux pendant 30 minutes; après refroidissement, j'acidifie par 10 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique décinormal pour précipiter Ba<sup>++</sup> et libérer les acides organiques totaux, que je titre par la méthode potentiométrique exposée ci-dessus. La quantité d'alcali employée, diminuée de celle qui neutralise les acides libres (voir indice d'acidité), permet de calculer l'indice d'ester de la teinture, que j'exprime selon la Ph. H. V en mg de KOH nécessaire pour neutraliser (pH 8) les acides combinés de 1 g de teinture.

Des essais préliminaires ont révélé que si je cuis pendant une heure, au lieu d'une demi-heure, la quantité d'acides libérés n'est pas plus forte. J'ai obtenu des résultats plus constants avec la baryte qu'avec la potasse alcoolique, par ailleurs moins agréable.

Les résultats rassemblés dans la colonne U du tableau général oscillent entre 3,92 et 5,32; les deux valeurs inférieures à 4,3 correspondent, l'une à la teinture du 2-3-44 que je considère comme suspecte, l'autre à une teinture récoltée en été (11-9-44). Les teintures récoltées entre novembre et février ont en moyenne un indice d'ester de 4,72; les variations autour de cette moyenne sont au maximum de  $\pm 0,6$  (13 %), donc faibles.

Il n'est possible de dégager aucun rapport entre l'indice d'ester U et la teneur en essence H ou les teneurs en extraits F et G.

*Résidu sec.* — Il a été déterminé suivant la méthode de la Ph. H. V, comme je l'ai exposé au chapitre VIII. Les résultats se trouvent dans la colonne V du tableau général. Ils varient à peu près comme la teneur de la drogue fraîche en extrait alcoolique Ph. H. V (colonne et courbe G du chapitre VIII). La Ph. H. V exige pour la teinture une teneur en résidu sec comprise entre 1,8 et 2,6 %. Parmi mes teintures, toutes celles qui ont moins de 2,6 % de résidu sec correspondent à des drogues récoltées de mars à octobre; celles que j'ai préparées de novembre à février ont toutes un résidu sec supérieur à 2,6 %; la moyenne pour ces dernières s'élève à 3,2 %. D'après ces résultats les normes fixées par la Ph. H. V sont nettement trop basses; je propose de les remplacer par 2,5 à 4 %.

*Teneur en alcool.* — La Ph. H. V prescrit pour la teinture de Valériane une teneur en alcool de 54 à 60 vol. %, ou 46,3 à

52,15 % en poids. Pour autant qu'on prépare la teinture avec de l'alcool conforme aux prescriptions de la Ph. H. V (95 vol. % = 92,5 % en poids), sa teneur en alcool A % en poids ne dépend que de la teneur en eau C % de la drogue fraîche utilisée et de la teneur en résidu sec V % de la teinture :

$$A = \frac{92,5}{\frac{100 + C + \frac{V(100 + C)}{100 - V}}{100 - V}} = \frac{92,5(100 - V)}{100(100 + C)}$$

Or, j'ai admis que le résidu sec V de la teinture peut varier de 2,5 à 4 %; la teneur en eau C de la drogue récoltée de novembre à février peut varier, d'après les déterminations du chapitre VI, entre 74,4 et 82,5 %. Remplaçons V et C par ces valeurs dans la formule ci-dessus, nous obtenons :  $A_{\min.} = 48,6$  et  $A_{\max.} = 51,6$  % en poids Ces valeurs sont dans les limites fixées par la Ph. H. V qui laisse une marge de 5,85 % en poids, alors que je prévois une variation possible de 3 % seulement.

## CHAPITRE XII : Influence des conditions météorologiques sur les indices de la racine fraîche.

Si nous comparons, sur les courbes de variation des indices et caractéristiques de la racine fraîche, les segments qui vont du printemps 1943 au printemps 1944 et les segments correspondants du printemps 1944 au printemps 1945, nous constatons des différences parfois très marquées; les points déterminés par mes mesures s'écartent plus ou moins de la courbe idéale par laquelle j'ai schématisé la variation saisonnière; en été surtout, les écarts sont si grands que j'ai plusieurs fois renoncé à établir une courbe idéale pour cette saison.

J'attribue ces différences de variation aux conditions météorologiques différentes d'une année à l'autre. Aussi ai-je cherché si des relations simples peuvent être établies entre les conditions météorologiques et les valeurs que j'ai mesurées.

Dans les archives de la station météorologique du Champ de l'Air à Lausanne, j'ai relevé : 1. la température journalière moyenne calculée en divisant par 4 la somme des températures enregistrées à  $7\frac{1}{2}$ ,  $13\frac{1}{2}$ ,  $21\frac{1}{2}$  h., cette dernière étant comptée à double; 2. la quantité d'eau tombée chaque jour (en mm d'eau); 3. la durée d'insolation (nombre d'heures).

A l'aide de ces données, j'ai établi la courbe de la tem-

pérature journalière moyenne, et, en calculant la moyenne mensuelle, une courbe de température moyenne mensuelle.

J'ai groupé les précipitations et l'insolation en 6 périodes de 5 jours pour chaque mois; les surfaces qui les figurent sont, pour chaque période de 5 jours, proportionnelles à la quantité d'eau tombée et à la durée de l'insolation.

La représentation schématique obtenue indique clairement les différences d'une année à l'autre.

Rapprochons-la de la courbe D (matière sèche): nous voyons que le maximum du 19-8-43 correspond à la fin d'une période très chaude, assez sèche et très ensoleillée; le minimum du 11-10-43 vient après un mois moins chaud, très arrosé, peu ensoleillé; le mois d'octobre 1943, très sec, doux, bien ensoleillé explique le maximum du 2-11-43, tandis que le minimum du début de décembre 1943 suit une quinzaine froide, très arrosée, presque sans soleil. En 1944, nous avons un maximum en juin, après des mois d'avril et mai doux, très secs et très ensoleillés; le minimum du 28-7-44 tombe après d'abondantes pluies que nous retrouvons en septembre; je suppose qu'une récolte faite le 20-8-44 aurait fourni une drogue à plus de 25 % de matière sèche. En octobre et novembre, malgré une température moyenne inférieure à 6°, des pluies abondantes et peu de soleil, la plante reconstitue des réserves dans sa racine et nous retrouvons un maximum.

Les courbes E des matières insolubles dans l'eau, F et G des extraits aqueux et alcoolique, ont des formes semblables à celles de la matière sèche D; le même commentaire leur est applicable.

La courbe H de l'essence, bien qu'incomplète, apparaît très différente dans les hivers 1943-44 et 1944-45; les valeurs plus fortes de novembre et décembre 1943 suivent un automne sec, tandis qu'en 1944, le maximum du 11-9, expliqué par le mois d'août très chaud, très sec et très ensoleillé, est suivi de segments plus bas pendant un automne très pluvieux; le détail de la courbe est d'ailleurs difficile à expliquer.

## TROISIEME PARTIE

### PHARMACOLOGIE

#### CHAPITRE XIII : Essais sur la Souris.

L'étude des principes actifs d'une drogue végétale et leur identification chimique ne sont possibles que si on dispose d'un test qui permette de suivre les substances recherchées au cours des opérations de fractionnement qui doivent conduire à ces substances isolées à l'état pur.

J'ai d'abord tenté de reproduire, pour les vérifier, les résultats obtenus par GUBERMANN (134). Des cages à plancher mobile, construites selon STORM VAN LEEUWEN (295), permettent d'enregistrer sur un cylindre tournant les mouvements de souris; l'étude des courbes enregistrées permet d'apprécier l'activité des animaux. Une préparation est sédative si elle diminue l'activité spontanée de la Souris, ou si elle supprime l'excitabilité provoquée par une injection de caféine.

Des essais préliminaires ont permis d'apprécier à quel point il est difficile d'obtenir des résultats nets avec un nombre restreint d'expériences. Les résultats individuels varient d'une souris à l'autre et, pour la même souris, d'un jour à l'autre à tel point que seul un grand nombre d'expériences pour chaque essai permettrait d'éliminer les comportements individuels extrêmes et de ne considérer que les moyennes.

Nos conditions de laboratoire ne permettent pas de satisfaire aux exigences d'une telle méthode. Les essais que nous avons effectués (70 courbes enregistrées)<sup>1</sup> ou demandés à d'autres laboratoires ne nous ont pas permis de confirmer ou d'inflimer les résultats de GUBERMANN (134).

#### CHAPITRE XIV : Essais sur le Cyprin doré.

Les résultats négatifs des essais sur la Souris d'une part, la nécessité de disposer d'un test physiologique pour poursuivre mes recherches d'autre part, m'ont incité à tenter des essais dans une autre direction; j'ai choisi le poisson rouge, *Carassius auratus* ou Cyprin doré.

Ce poisson d'étang est facile à obtenir en été, il est peu exigeant quant à l'eau et à la nourriture, supporte de grands

<sup>1</sup> Monsieur le Dr R. Lapp, médecin, assistant du professeur J.-L. Nicod, a bien voulu se charger d'une partie de ces essais; je l'en remercie vivement.

écart de température, ce qui en fait le plus banal des poissons d'aquarium. Pour des essais pharmacologiques de médicaments destinés à la thérapeutique humaine et devant agir sur les centres nerveux supérieurs d'un des vertébrés les plus évolués, on peut objecter qu'un poisson est très éloigné de l'homme dans la classification phylogénétique et que les conclusions tirées des faits observés ne peuvent pas être appliquées directement à l'homme. Je connais ces objections de principe et fais remarquer que l'animal auquel j'ai recours doit avant tout servir de réactif, révéler dans une fraction donnée la présence ou l'absence d'une substance pourvue d'une action physiologique déterminée, et permettre éventuellement une appréciation quantitative. Une fois la substance isolée et connue, son étude pharmacologique et clinique permettra de décider si elle peut être utilisée en thérapeutique humaine. Au reste l'emploi des poissons dans des études pharmacologiques n'est pas nouveau et a fourni la preuve de sa valeur : TIFFENEAU (304) les a utilisés pour étudier l'action d'anesthésiques, BAUDIN (18) et SANDOZ (271) pour étudier celle de la tricaine. Plusieurs laboratoires utilisent couramment le poisson comme animal test dans l'étude des somnifères, des analgétiques, des hormones, etc.

*Essais préliminaires.* — Un Cyprin doré, long de 5 à 7 cm, pesant 4 à 6 g, est mis dans un litre d'eau où ont macéré pendant 12 heures 50 g de racine de Valériane fraîche hachée; le Cyprin s'immobilise progressivement; sa respiration se ralentit, et au bout de 30 minutes, il est couché sur le flanc, sans mouvement et se laisse prendre à la main. Remis dans l'eau fraîche, il retrouve sa position normale en 30 minutes, mais se laisse encore entraîner par un courant d'eau; au bout d'une heure, son comportement est redevenu tout à fait normal. Avec une dose de 25 g de racine fraîche hachée, par litre d'eau, le même résultat est obtenu en 5 ou 6 heures.

D'autre part, un Cyprin de même taille est endormi plus rapidement encore (en 20 minutes) dans de l'eau qui contient 20 g de teinture de Valériane Ph. H. V par litre, ce qui correspond à 11 g de racine fraîche et à 10 g d'alcool par litre; dans un bain qui ne contient que de l'alcool à la même concentration, un Cyprin se montre très nettement excité. Remis dans l'eau pure, tous les poissons retrouvent un comportement normal en une demi-heure.

Le Cyprin est donc sensible à une action narcotique de

la Valériane administrée par voie branchiale; nous pouvons déjà relever que sous la forme de teinture stabilisée, et en présence d'alcool, la Valériane est plus active que sous la forme de macération dans l'eau froide; il faudra préciser le rôle de l'alcool. Cette première méthode présente un inconvénient: elle ne permet pas d'évaluer les quantités de substances que le poisson absorbe, donc pas non plus d'exprimer l'activité physiologique ou la toxicité des préparations étudiées en g par kg d'animal.

J'ai alors cherché un mode d'administration plus favorable à un dosage et essayé la voie rectale. A des Cyprins dorés de grosse taille (20 à 40 g), il est facile d'introduire dans l'anus une pipette effilée et d'injecter ainsi 1 à 2 cm<sup>3</sup> de liquide qu'ils gardent très bien. J'ai constaté avec étonnement que de l'alcool administré de cette manière reste sans effet marqué, même quand la concentration de l'alcool atteint 25 %: le rythme respiratoire n'est pas modifié, les réactions à des excitations extérieures sont à peine moins vives, l'équilibre est peu altéré. Pour m'assurer que l'alcool administré n'est pas rejeté, je l'ai coloré par le bleu de méthylène: la moindre goutte perdue par le poison laisse dans l'eau une trace bleue facile à repérer. En outre, la résorption est assez rapide: si on sonde l'anus 5 minutes après injection d'alcool coloré, on retire quelques gouttes de liquide coloré; après 10 minutes, on ne retire que quelques mucosités colorées en bleu; après 15 minutes, le liquide est incolore.

De la caféine administrée par voie rectale, en solution aqueuse à 1 % n'a donné que des résultats négatifs. La dose injectée, 1 cm<sup>3</sup> à un Cyprin de 20 g, correspond à une dose de 0,5 g par kg d'animal. Or, d'après la littérature, pour le Cobaye et la Souris, la dose léthale, par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée, est de 0,25 g par kg d'animal. Cette inefficacité sur le poisson peut tenir à différentes causes. Je ne les discuterai pas. Un fait doit être retenu: la voie rectale ne se prête pas à nos recherches.

Après ces essais infructueux, j'ai repris les essais par voie branchiale. On sait qu'avec les animaux à sang froid, il est nécessaire de tenir compte de la température à laquelle on opère. La négligence de ce fait important peut fausser complètement la standardisation de la digitale sur la grenouille. J'ai moi-même observé que la température a une influence marquée sur la réactivité des poissons à l'égard des substances ajoutées à l'eau de leur bain. Une série d'expériences avec les mêmes substances aux températures de 12°, 15°, 18°, 20° a montré qu'à 20° les poissons sont plus sensibles qu'aux

températures inférieures. Aussi je maintiens au moyen d'un dispositif de régulation thermique l'eau des cuves où vivent mes poissons à une température constante de 20°, pendant et entre les expériences.

Au début mes recherches ont été troublées par le fait que l'alcool utilisé d'ordinaire dans nos laboratoires est dénaturé au benzène; malgré la faible concentration (2 % de celle de l'alcool), l'action du benzène, d'abord un peu excitante, puis dépressive, a faussé mes première observations. Une partie des teintures préparées avec cet alcool a été utilisée moyennant certaines réserves. Après quelques mois mes poissons sont morts dans l'espace d'une semaine, sans cause déterminée; aucune lésion organique n'était visible à l'autopsie. Les renseignements donnés par ZUNZ (347), PÉRONNET (234) et JORDI (167) sur l'action physiologique et toxique du benzène me font attribuer cet accident à l'action lente du benzène, qui altère la formation des globules sanguins et celle des anticorps, affaiblit en conséquence la résistance aux infections.

Dès lors je n'utilise que de l'alcool non dénaturé.

*Méthode.* — Dès les premiers essais, j'ai pu constater que le Cyprin ne permet pas de répondre toujours par oui ou par non à la question : telle préparation a-t-elle une action physiologique ? Rares sont les préparations qui sont dénuées de toute influence sur l'animal; un produit qui est sans action visible à faibles doses, en manifeste généralement une si on augmente assez les doses; souvent il suffit alors de tenir compte des quantités mises en jeu pour distinguer les fractions les plus actives. À doses égales ou correspondantes, deux préparations peuvent exercer sur l'animal des actions d'une intensité semblable, par exemple immobiliser un poisson pendant une demi-heure, mais par des phénomènes différents que révèle l'analyse de l'action physiologique des produits envisagés.

Pour différencier ces actions, j'ai imaginé neuf tests qui permettent de préciser le comportement du Cyprin soumis à l'action d'une préparation de Valériane. Je fais subir au poisson les tests dont on trouvera l'énumération dans le tableau I, dans l'ordre indiqué, renouvelant mes observations 5, 10, 20, 30, 45 et 60 minutes après le début de l'expérience.

Le tableau I énumère les tests et fait mention des signes conventionnels utilisés; le tableau II résume le résultat de mes essais.

## TABLEAU I

**Tests et signes conventionnels utilisés pour l'étude pharmacologique de la racine de Valériane sur le Cyprin doré.**

1. *Rythme respiratoire* (nombre des mouvements des opercules par minute. Spasmes S ou SS).

2. <i>Activité spontanée</i>				
3. <i>Réaction à une excitation de la vue</i>				
4.       »       »       » <i>de l'ouïe</i>				
5.       »       »       » <i>du toucher</i>				
6. <i>Equilibre</i> :				
7. <i>Stabilité</i> : se laisse-t-il retourner				
<i>sur le dos</i> ?				
8. <i>Stupeur</i> : est-il entraîné par un				
<i>courant d'eau</i> ?				
9. <i>Narcose au sortir de l'eau</i> :				

Chaque expérience porte sur un groupe de 5 poissons; j'ai porté dans le tableau II la réaction moyenne du groupe.

Une partie de mes préparations de Valériane sont des solutions alcooliques (teintures) desquelles il n'est pas possible d'éliminer l'alcool par distillation sans perdre une partie des principes actifs volatils; d'autre part les produits exempts d'alcool (extraits, essence) sont le plus souvent insolubles dans l'eau, mais solubles dans l'alcool dilué. C'est pourquoi toutes mes expériences sont effectuées dans de l'eau qui contient finalement 0,5 % ou 1 % pds d'alcool pur; cet alcool est apporté par la teinture, il sert à dissoudre l'extrait ou l'essence ou bien il est ajouté pur.

Pour une expérience, je prépare 1,25 l d'eau à 20° contenant une dose connue de préparation de Valériane et 0,5 % ou 1 % d'alcool; je répartis ce liquide dans 5 bêchers de 8 cm de diamètre et dans chacun je mets un Cyprin doré long de 5 à 7 cm, pesant 4 à

6 g; au bout de 5 minutes, je note mes observations; je les répète après 10, 20, 30, 45 et 60 minutes.

Les tests 1 à 5 concernent des fonctions simples, les tests 6 à 9 des fonctions générales; les premiers peuvent fournir des renseignements sur l'atteinte de certains organes, les autres sur la coordination des fonctions. Par spasmes, j'entends soit des contractions vives ou prolongées (cloniques ou toniques), soit des réactions de défense plus ou moins incoordonnées. Il est parfois difficile de distinguer les unes des autres, elles sont l'indice du début de l'intoxication.

**RESULTATS EXPERIMENTAUX.** — Considérons une **première série** d'expériences A où l'alcool est toujours à la concentration de 1 %.

*L'alcool pur à 1 % (essai I)* provoque une excitation générale, accélère la respiration jusqu'à provoquer des spasmes dans les muscles de la mâchoire, augmente les réactions aux excitations extérieures (tests 1 à 5); puis on observe une altération générale de la coordination qui se manifeste par des troubles de l'équilibre (test 6) ou par de la stupeur (test 8); il n'apparaît pas d'action narcotique.

*L'extrait sec Ph. H. V*, dont 0,5 g correspond à 20 g de teinture provenant de 11 g de racine fraîche, dissous dans l'alcool 1 % à raison de 0,5 g/l (essai II), ralentit un peu, puis paralyse partiellement la respiration, diminue l'activité spontanée et les réactions aux excitations, trouble l'équilibre, provoque de la stupeur et une narcose partielle.

*L'essence de racine fraîche* a une action différente suivant qu'elle a été préparée en été ou en hiver. La dose choisie, 15 mg/l, correspond à une moyenne de 11 g de racine fraîche ou 20 g de teinture par l. L'essence d'été (essai IIIb) apparaît plus active et plus toxique: la respiration est paralysée après 45 minutes, la perte d'équilibre, la stupeur et les spasmes apparaissent plus tôt qu'avec l'essence d'hiver à la même dose (essai IIIa); celle-ci ne semble pas influencer le centre respiratoire.

*La teinture Ph. H. V* (essai IV), à la concentration de 20 g/l, correspondant aussi à 11 g de racine fraîche par litre, a une action beaucoup plus forte que les produits précédents, qu'elle contient d'ailleurs. Elle endort un poisson en 20 minutes, sans que la narcose soit totale, mais aussi sans convulsions; la respiration passe par deux phases de dépression, l'une pendant

## Tableau II: Effets physiologiques des préparations

Température de l'eau 20°. — Chaque chiffre ou signe conventionnel représente

Série A : essais I à VIII. — Alcool 1%. — Equivalence } Teinture Ph. H. V: 20 g/l  
} Racine fraîche; 11 g/l

N° du test	minutes	Série A						Série B					
		5	10	20	30	45	60	5	10	20	30	45	60
1	80 90 95 100 S S							70 80 85 90 90 95					
2	N + + + + +							N + N N ± ±					
3	N + + + + +	I						+ ++ + + ++ +					
4	N N + + + +							+ ++ + + + +					
5	N N + + + +							N N N N + ±					
6	o o - ± + +							o o o - - -					
7	o o o - - -							o o o o - -					
8	o o - - ± ±							o o o o - -					
9	o o o o o o							o o o o o o					
1	80 60 65 intermittent							65 75 70 65 60 65					
2	N N - - o	II						N N - - - -					
3	± N - o o							N N - - o o					
4	N N ± ± ±							N - - - - ±					
5	N N - - o							N ± - - - -					
6	- - + ++ +		0,5 g/l					o - + + + +					
7	+ + + ++ +							o - - + + +					
8	+ + + ++ +							o - - + + +					
9	o - - + +							o o - - - -					
1	70 65 80 80 80 75							65 65 65 65 65 70					
2	N N ± ± ± S	III a						N N N N N ±					
3	- - - o o o							N N - - - o					
4	N N + + ± -							- - - N ± ±					
5	N - - - - S							N - - - - ±					
6	- - + + ++ +	ESSENCE D'HIVER (1943)						o o o - - +					
7	o + + + ++ +	15 mg/l						- + + - + +					
8	o o - + + +							o o o - - -					
9	o o - - - +							o o - - - -					
1	60 70 70 50 0							60 60 60 65 50 55					
2	+ + - - o	III b						N N N - S -					
3	- - o o o							N N - - o o					
4	N N ± - S							N N + ± + S					
5	± - - - o							N N - - o o					
6	- + + ++ /	ESSENCE D'ETE (1944)						- - + + ++					
7	- + + + + +	15 mg/l						- + + + + + +					
8	- - + + + +							- - - + + +					
9	o o - - +							o o - - - -					
1	45 70 50 intermittent							10 35 40 40 35					
2	- - o	IV						N - o - o					
3	- o o							N - o o o					
4	± ± -							N N - ± -					
5	N - o							N - - o o					
6	+ + /	TEINTURE Ph. H. V						- - + + +					
7	+++ +	(50 % d'alcool)						- + + + + +					
8	+ +++	20 g/l						- + + + + +					
9	- + +							o - - - +					

\* Description des tests dans le tableau I.

# de racine fraîche de Valérian sur le Cyprin doré

le résultat moyen d'un groupe de 5 poissons. Effets observés après 5 à 60 minutes

**Série B:** essais XI à XVIII. — Alcool 0,5%. — Equivalence Teinture Ph. H V: 10 g/l  
Racine fraîche: 11 g/l

## Série A

N° du test      minutes  
5 10 20 30 45 60

1	70 70 50	V a	XV a	75 65 70 70 70 70
2	+ - -			N N N - - +
3	- - o			N - - o o o
4	N + S	TEINTURE RECONSTITUEE avec essence d'hiver		N N N N N N
5	- - s	Extr. sec 0,5 g/l Extr. sec 0,25 g/l		- - ± - - ±
6	+ + ++	Essence d'hiver Essence d'hiver		o - - + + +
7	+ +++	15 mg/l 7,5 mg/l		- + + + + +
8	+ +++	Alcool 1%	Alcool 0,5%	- - - - + +
9	- + +			o o o - - -

1	50 45 25	V b	XV b	60 70 50 70 55 25
2	+ - o			N - - - - §
3	o o o			N - ± o o o
4	- s §	TEINTURE RECONSTITUEE avec essence d'été		N - ± ± s s
5	- s o	Extr. sec 0,5 g/l Extr. sec 0,25 g/l		N - - - o o
6	+ + /	Ess. 15 mg/l Ess. 7,5 mg/l		o - + + + +
7	+ +++	Alcool 1%	Alcool 0,5%	- - + + + + +
8	- + +			- - - + + + +
9	- - +			o - - + + +

1	s s intermittent irrégulier	VI	XVI	25 30 45 55 60
2	- - §			+ - - ± §
3	± - o			N - - o o
4	+ ± s	MACERATION DE RACINE FRAICHE dans l'alcool froid (1+1)		+ ± ± ± ±
5	- - -			N - - - -
6	- + /			- + + + + +
7	+ + ++			- + + + + + +
8	+ +++	20 g/l	10 g/l	+ + + + + +
9	- - +			- - - o -

	minutes: 5 10 15 20			minutes: 5 10 20 30 45 60
1	s s 55 (faible)	VII	XVII	0 0 30 55 40
2	o ± o o			- - o o o
3	o o o o			- o o o o
4	+ ± o o	TEINTURE CUITE 10 minutes seulement		N N ± - -
5	- ± o o	20 g/l	10 g/l	- - o o o
6	+ + / /			+ + + + + +
7	+ ++++			+ +++ + + +
8	+ + + +			- - + + +
9	+ + + +			

1	s s s	VIII	XVIII	0 20 30 55 45
2	± - ± o			N - - o o
3	- o o o			- o o o o
4	± + + -	TEINTURE CUITE 10 minutes, puis 1 heure		- - o ± -
5	- o o -	20 g/l	10 g/l	- - o o o
6	+ ++++			- + + + + +
7	+ +++ +			+ + + + + +
8	+ + + +			+ + + + + +
9	+ + + +			- - - + +

les 5 à 7 premières minutes, l'autre au bout de 15 minutes environ; cette dépression du centre respiratoire n'est pas profonde : un poisson dont la respiration est ralentie ou même arrêtée par la teinture de Valériane, fait une polypnée aussi intense qu'un poisson non traité, quand il est plongé dans de l'eau où a barboté du CO<sub>2</sub>. L'excitabilité est rapidement supprimée; la sensibilité visuelle (test 3) est toujours la première atteinte, la sensibilité tactile (5) l'est ensuite, l'auditive (4) est toujours la dernière à subsister. L'équilibre (6) et la stabilité (7) sont rapidement atteints, mais la narcose (9) n'est complète que longtemps après que le poisson a été immobilisé (2, 6, 8); il n'apparaît pas de convulsions (S).

J'ai tenté de reconstituer la teinture en associant aux doses convenables l'extrait sec et l'essence dans l'alcool dilué (essais Va et Vb). L'effet obtenu n'est pas identique à celui de la teinture originale; les différences se retrouvent entre l'essence d'hiver (essai Va) et l'essence d'été (essai Vb), comme dans les essais avec les essences seules (essais IIIa et IIIb); l'action dépressive semble moins forte qu'avec la teinture (essai IV); des spasmes apparaissent avec les deux essences; le centre respiratoire est différemment influencé.

En cherchant la cause de ces différences, j'ai constaté qu'une cuisson prolongée diminue l'activité de la teinture (essai VIII). Il est pourtant nécessaire de traiter les racines fraîches par l'alcool bouillant: la trituration de racine fraîche dans son poids d'alcool froid, qui a macéré à température ordinaire pendant trois jours, donne après expression un liquide brun-rouge foncé, dont l'odeur est moins «fraîche» et moins agréable que celle de la teinture Ph. H. V; l'action physiologique (essai VI) est différente, plus toxique: action dépressive plus profonde sur le centre respiratoire (1), qui n'est plus facilement excité par l'acide carbonique, alors qu'il l'est encore chez un poisson traité à la teinture Ph. H. V; l'action stupéfiante (8) est plus forte, l'altération de l'équilibre (6) et l'incoordination des mouvements (2, 7) apparaissent plus tôt et sont plus fortes (S); l'excitation de l'ouïe et du toucher provoque des réactions qui ont souvent l'aspect de convulsions (S); ces différents symptômes que j'estime toxiques, n'apparaissent avec les teintures stabilisées que tardivement ou même pas du tout.

Une teinture obtenue en ne faisant cuire que 10 minutes (essai VII) est plus active que la teinture Ph. H. V (essai IV), qui est cuite deux fois 20 minutes.

Dans une **deuxième série** d'expériences B, l'alcool est tou-

jours à la même concentration de 0,5 % et les divers produits de la Valériane à des doses qui correspondent toujours à 5,5 g de racine fraîche ou 10 g de teinture Ph. H. V par l. Les différences entre ces teintures apparaissent développées et souvent plus nettes à ces doses deux fois plus faibles (essais XI à XVIII).

La racine fraîche hachée et macérée pendant 12 heures dans son poids d'eau froide donne après expression un liquide brun-rougeâtre dont l'odeur est plus forte et moins fine que celle de la teinture stabilisée; cette macération aqueuse, diluée dans de l'alcool étendu dont la concentration finale est 0,5 %, n'a d'action appréciable au bout d'une heure sur le Cyprin doré qu'à des concentrations qui correspondent à environ 30 g de racine fraîche par litre; cette action diffère beaucoup de celle de la teinture stabilisée et se rapproche plutôt de celle de la macération de racine fraîche dans l'alcool froid. J'ai agité la macération aqueuse avec de l'éther de pétrole, pour lui enlever l'essence qu'elle contient, soit dissoute, soit en suspension; le liquide aqueux déterpéne que j'ai obtenu n'a aucune action visible sur le Cyprin doré, même à des doses correspondant à 100 g de racine fraîche par litre; si j'ajoute de l'alcool jusqu'à la concentration de 1 %, les Cyprins se comportent presque comme dans l'alcool pur de même concentration. L'action de la macération aqueuse froide semble donc être due surtout à l'essence.

Une décoction de racine fraîche dans l'eau (deux cuissons de 20 minutes) n'a qu'une très faible action dépressive sur le Cyprin, à des doses qui correspondent à 50 g de racine fraîche par litre. Evaporée à sec, cette décoction donne un extrait aqueux entièrement inactif. Ici encore je suppose que la faible action de la décoction est due à un peu d'essence qui n'a pas été éliminée au cours de la cuisson à reflux.

Enfin une teinture stabilisée, puis diluée dans l'eau à raison de 10 à 20 g par litre et laissée à l'air libre, devient peu à peu brun-verdâtre et perd son action physiologique, qui devient nulle en une semaine; conservée à l'abri de l'air et au frais, la teinture diluée ne change pas de teinte et conserve son activité physiologique pendant plusieurs semaines.

J'ai répété ces expériences, notamment avec des produits préparés tous à partir d'un seul lot de racine fraîche et j'ai confirmé mes résultats; je me suis alors efforcé de les préciser par des expériences quantitatives, dont le but est d'établir l'importance relative des divers principes actifs mis en évidence dans la teinture stabilisée de racine fraîche.

Dès maintenant nous pouvons noter que plusieurs substances ou groupes de substances sont responsables de l'activité pharmacologique; les unes sont volatiles, les autres non volatiles. Certaines substances actives, qu'on peut extraire par l'alcool, se révèlent très sensibles, soit à l'action des enzymes de la racine fraîche, soit à des traitements peu énergiques, puisqu'elles sont altérées en solution aqueuse diluée, à froid, en présence d'air, ou par ébullition prolongée dans l'alcool à 50 %, et plus encore dans l'eau bouillante.

### CHAPITRE XV : Essais quantitatifs, dosage biologique.

Dans le chapitre précédent, j'ai établi que la teinture Ph. H. V est une des préparations de Valériane les plus actives sur le Cyprin doré par voie branchiale. Mes essais pharmacologiques sur ce poisson m'ont permis de compléter l'étude des variations saisonnières des indices de la teinture (voir 2<sup>e</sup> partie de ce travail) par une étude comparative de l'action physiologique de teintures préparées avec de la racine fraîche récoltée à divers mois de l'année.

*Méthode de dosage.* — J'ai adapté la série des tests décrits dans le chapitre précédent : pour doser l'activité physiologique d'une préparation de Valériane, je détermine quelle quantité de cette préparation il faut dissoudre dans un litre d'alcool à 0,5 % pour obtenir un effet égal à celui d'une préparation choisie comme étalon. Chaque essai est effectué sur un lot de 5 Cyprins dorés longs de 5 à 7 cm, pesant 4 à 6 g, dans 5 bêchers de 8 cm de diamètre contenant chacun 250 cm<sup>3</sup> de liquide à la température de 20°.

Pour disposer d'animaux dont les réactions soient homogènes, j'ai soumis tous mes Cyprins à deux expériences-test, et observé le comportement de chacun dans : 1. l'alcool pur à 1 %, 2. un bain contenant 10 g de teinture de Valériane par litre. J'ai éliminé les Cyprins dont les réactions s'écartaient de la moyenne.

*Sensibilité de la méthode.* — Pour apprécier la valeur de la méthode, j'ai fait une série d'observations en faisant varier les doses d'une préparation stabilisée de Valériane ajoutées à de l'eau dont la teneur en alcool est constante (0,5 %). J'ai observé que les doses correspondant à 2 ou 3 g de racine fraîche par litre ne permettent pas de mettre en évidence des différences inférieures à 30 % : sous forme de teinture diluée, 3,7 g de racine fraîche par litre ont une action à peine plus forte que 2,8 g de racine fraîche par litre. Avec des doses deux fois plus fortes (environ 5 g de racine fraîche par litre), la méthode devient plus sensible : des doses de teinture correspondant à 4,44 g, 5,55 g, 6,28 g et 7,2 g de racine fraîche par litre agissent sur le Cyprin de façon nettement différente ; les doses intermédiaires de 5,0 g, 5,9 g et 6,75 g de

racine fraîche par litre se différencient aussi nettement entre elles, mais si nous considérons la série 4,44 g, 5,0 g, 5,55 g, 5,9 g, 6,28 g, 6,75 g, 7,2 g, les différences d'une dose à l'autre ne sont pas nettes. À des doses plus fortes, l'action devient brutale, les résistances individuelles des poissons diffèrent davantage, les appréciations sont moins précises.

Cette étude préliminaire montre que la méthode est la plus sensible à des doses de teinture correspondant à 5 ou 6 g de racine fraîche par litre (9 à 11 g de teinture Ph. H. V par litre); les différences appréciables sont alors de l'ordre de 20 %.

Les mêmes expériences répétées à plusieurs mois de distance avec la même teinture, mais sur des poissons différents, m'ont donné des résultats qui ne diffèrent pas de façon appréciable. J'en tire trois conclusions encourageantes : 1. la teinture Ph. H. V ne change pas d'activité en plusieurs mois; 2. les Cyprins dorés réagissent de manière constante ; 3. ma façon d'observer et d'apprécier le comportement de mes poissons ne se modifie pas. Ces deux derniers faits témoignent de la valeur de la méthode.

*Applications.* — Pour savoir si l'activité pharmacologique de la Valériane varie avec la saison de la récolte, j'ai comparé sur le Cyprin doré l'action de 8 teintures Ph. H.V, préparées à partir de racine fraîche récoltée dans nos cultures.

Dans le tableau suivant, ces teintures sont rangées dans l'ordre de leur activité décroissante, avec les caractéristiques qui leur correspondent :

Date de récolte	Racine fraîche					Teinture Ph. H. V.		
	% mat. sèche	% extr. Ph. H. V.	Essence libres	Acides combinés	* volatils	résidu sec	acidité	ester
11- 9-44	19,9	3,52	2,0	1,9	4,8	1,93	0,90	4,9
17- 2-45	21,7	7,24	1,2	2,45	4,9	3,9	1,04	4,65
15- 3-45	18,7	6,05	1,65	2,2	3,0	3,23	0,95	4,1
21- 4-45	15,0	4,05	1,5	2,3	—	2,14	1,4	4,15
1-12-44	23,1	6,05	1,0	2,15	4,2	3,31	0,95	4,54
12- 6-44	24,4	4,81	0,70	2,7	5,2	2,67	1,06	5,0
1- 6-44	22,9	4,35	0,5	2,3	4,9	2,39	1,02	4,4
9-10-44	22,2	4,41	1,0	3,4	5,4	2,42	0,98	4,32

\* Les acides volatils libres et combinés de la racine fraîche sont calculés en acide isovalérianique et exprimés en g par kg de racine fraîche.

Les différences de l'activité physiologique manifestées par le comportement du Cyprin doré sous l'influence de ces tein-

tures sont faibles : 9 g des teintures du 11-9-44 ou du 17-2-45, qui sont les plus actives, agissent environ comme 11 g des teintures du 12-6, du 1-6 ou du 9-10-44, qui sont les moins actives ; la différence entre les plus actives et les moins actives est de l'ordre de 20 % seulement.

Si nous considérons le tableau des caractéristiques des racines, nous constatons que les quatre premières teintures, qui sont les plus actives, correspondent aux drogues les plus riches en essences (1,2 à 2,0 g/kg), tandis que les quatre dernières, qui sont les moins actives, correspondent aux drogues les plus pauvres en essence (0,5 à 1,0 g/kg) ; mais l'essence ne semble pas être seule à conditionner l'activité : la drogue du 17-2-45, plus active que les deux suivantes du 15-3-45 et du 21-4-45, est moins riche en essence, alors que l'extrait alcoolique est plus abondant ; entre celles du 1-12-44 et du 9-10-44, qui ont même teneur en essence (1 g/kg) la première l'emporte, plus riche en extrait (6,05 contre 4,41). Les autres caractéristiques, soit de la racine fraîche, soit de la teinture, ne semblent pas être en rapport direct avec l'activité physiologique. Remarquons encore que ces essais pharmacologiques ne semblent pas indiquer plus impérieusement que les caractéristiques chimiques et galéniques une saison précise pour la récolte de la racine de Valériane ; il semble toutefois préférable de récolter pendant la période de repos de la végétation (novembre à avril).

*Etude comparative de diverses préparations de racine fraîche.* — Pour apprécier l'importance des principes actifs volatils (dont les constituants de l'essence) et de ceux qui restent dans l'extrait sec Ph. H. V après distillation de la teinture sous pression réduite à température inférieure à 40°, j'ai comparé l'action physiologique de la teinture Ph. H. V et celle de l'extrait sec correspondant. Sous forme de solution à même teneur en alcool (0,5 %) la teinture est nettement plus active que l'extrait sec : à une concentration de 8 g par litre (correspondant à 4,5 g de racine fraîche par litre), la teinture a une action du même ordre de grandeur que celle de l'extrait à une concentration correspondant à 13,3 g de teinture par litre (ou 7,5 g de racine fraîche par litre). L'activité de l'extrait sec est donc à peu près les  $\frac{3}{5}$  de celle de la teinture correspondante ; en outre les deux activités diffèrent un peu qualitativement. J'ai comparé les teintures préparées selon d'autres prescriptions que celles de la Ph. H. V, à une teinture officinale prise comme étalon.

a) Trituration de racine fraîche dans son poids d'alcool et macération à température ordinaire pendant trois jours : nous avons vu dans le chapitre précédent que l'action physiologique sur le Cyprin diffère qualitativement de celle des teintures stabilisées : à des doses correspondant à 10 g de racine fraîche par litre, elle produit des symptômes toxiques (incoordination, stupeur, convulsion); à des doses plus faibles, aucune action sédative ne se manifeste.

b) Teinture de racine fraîche stabilisée comme la teinture Ph. H. V, mais en ne cuisant que 10 minutes au lieu de 2 fois 20 minutes; elle a les mêmes caractères et les mêmes propriétés que la teinture officinale, mais elle est régulièrement plus active (environ 20 %).

c) Teinture préparée de même, mais en ne cuisant que 5 minutes : peu après la préparation, elle a une activité physiologique égale à celle de la teinture précédente, mais elle se conserve mal (voir chap. XVIII).

d) Teinture préparée comme celle de la Ph. H. V, mais en réduisant le temps d'ébullition à 2 fois 5 minutes, une fois pour la racine entière, la seconde fois après que la racine a été hachée : elle est en tous points identique à celle du type b); sa conservation est mieux assurée, car la stabilisation faite en deux temps, dont l'un après que la racine a été hachée, exclut plus sûrement l'action indésirable des enzymes.

e) L'essence a une activité qui diffère qualitativement de celle de la teinture stabilisée; la comparaison quantitative n'est donc pas aisée; j'ai néanmoins observé une action du même ordre avec 10 à 12 mg d'essence d'hiver récemment préparée et dissoute dans 1 litre d'alcool à 0,5 %, et 10 g de teinture Ph. H. V par litre; cette teinture contient environ 0,07 % d'essence, soit 7 mg dans 10 g; d'après ces chiffres, l'essence contribuerait pour les  $\frac{2}{3}$  environ à l'activité de la teinture stabilisée.

f) L'ester isovalérique du bornéol est, d'après la plupart des auteurs, responsable d'une partie au moins de l'action pharmacologique de la Valériane; selon GEROCK (114), il constitue environ 10 % de l'essence de Valériane; 10 g de teinture en contiendrait donc 0,7 mg; or 0,7 mg d'isovalérianate de bornyle dissous dans 1 litre d'alcool à 0,5 % n'a pas sur le Cyprin doré une action différente de celle de l'alcool pur à 0,5 %; il faut une concentration de 4 à 5 mg/l pour qu'une action sédative se manifeste nettement; à la

concentration de 10 à 12 mg/l, l'action est à peu près équivalente à celle de 10 g de teinture Ph. H. V par litre.

Cet ester est donc loin d'être le principe actif le plus important de la Valériane; son action n'est que le  $\frac{1}{15}$  de l'activité sédative totale.

L'ester acétique du bornéol, aux mêmes concentrations que l'ester isovalérianique, n'a qu'une faible action sédative, alors que l'action toxique est au moins aussi forte (incoordination, stupeur).

Le bornéol lui-même, à la concentration de 10 mg/l d'alcool à 0,5 %, ne semble pas avoir d'action sédative, mais bien renforcer l'action excitante de l'alcool éthylique.

g) L'acide isovalérianique libre n'a pas une action appréciable aux concentrations qui correspondent à celles où il se trouve dans la teinture Ph. H. V, soit environ 14 mg/l d'alcool à 0,5 %; une action sédative apparaît aux doses 5 fois plus fortes; il n'est pas possible d'égaler l'action sédative de 10 g de teinture par litre; des symptômes toxiques troubent l'observation.

Enfin deux « teintures de Valériane Ph. H. V » du commerce, dont j'ai observé l'action physiologique sur le Cyprin doré, se sont révélées l'une aussi active que mes teintures Ph. H. V, l'autre ressemblait plutôt à la macération dans l'alcool froid décrite sous a); cette deuxième teinture semble n'avoir pas été stabilisée avec assez de soin, ou avoir été préparée avec de la racine récoltée depuis plusieurs jours, qui avait déjà subi l'action des enzymes.

Une préparation de Valériane fraîche dialysée du commerce n'a manifesté sur le Cyprin doré qu'une faible action, d'ailleurs qualitativement très différente de celle de la teinture Ph. H. V; je n'en ai pas approfondi l'étude.

## CHAPITRE XVI : Séparation des principes actifs en quatre groupes.

Pour étudier la nature chimique des principes actifs de la teinture stabilisée de racine fraîche de Valériane, j'ai d'abord cherché à concentrer cette teinture par évaporation de l'alcool et d'une partie de l'eau qu'elle contient. La distillation ordinaire ne convient pas, puisque la teinture perd une partie de son activité si on la chauffe à plus de 50°; la distillation sous pression réduite élimine une partie des principes volatils que les réfrigérants ordinaires ne suffisent pas à condenser. J'ai obtenu des résultats satisfaisants en éva-

porant 100 g de teinture dans un exsiccateur à vide (15 mm Hg), sur  $\text{CaCl}_2$ , à température ordinaire : l'extrait semi-fluide obtenu est brun foncé, il a la même odeur que la teinture ; repris par de l'alcool dilué de manière à obtenir 100 g d'un liquide de même teneur en alcool que la teinture originale, il redonne une teinture qui a une activité physiologique à peine diminuée par rapport à celle de la teinture originale. Pour évaporer de plus grandes quantités de teinture, j'ai travaillé à température ordinaire, à la pression atmosphérique, en m'aïdant d'un courant d'air sec ; en une semaine, 500 g de teinture sont concentrés en une masse de 75 g qui n'est pas homogène : une matière semi-fluide brun-noir se sépare du liquide aqueux brun ; la teinture régénérée par dissolution de cet extrait dans de l'alcool dilué a une action sur le Cyprin, égale à celle de la teinture originale, à l'exactitude de la méthode près (différence inférieure à 20 %), bien que l'odeur soit un peu plus faible.

1000 g de teinture stabilisée par 10 minutes de cuisson, que j'ai concentrés suivant cette méthode, ont fourni 100 g d'extrait encore liquide que j'ai épuisé successivement par l'éther de pétrole (p. éb. 50 à 65°)<sup>(1)</sup>, le benzène<sup>(II)</sup>, l'éther éthylique<sup>(III)</sup> et le chloroforme en agitant dans une ampoule à robinet. Par évaporation des solvants à froid dans un courant d'air sec, j'ai obtenu

1,79 g d'extrait I à l'éther de pétrole, sirupeux, brun-verdâtre clair, d'odeur aromatique, de saveur fortement brûlante et amère ;  
 1,13 g d'extrait II au benzène, solide, un peu gluant, brun, d'odeur faiblement aromatique, de saveur très amère ;  
 0,32 g d'extrait III à l'éther éthylique, semi-fluide, jaune-brun, d'odeur faible, non spécifique, de saveur amère ;  
 0,105 g d'extrait au chloroforme, visqueux, jaune-brun, presque inodore, de saveur amère.

Avec chacun de ces extraits j'ai préparé 100 g de solution alcoolique ; j'ai mélangé 5 g de chaque solution à 5 g de la phase aqueuse épuisée par les solvants organiques, puis ramenée par addition d'eau à 100 g ; ce mélange, dilué à 50 g par de l'alcool et de l'eau de façon à retrouver le titre alcoolique de la teinture originale, représente une teinture reconstituée dont j'ai comparé l'action physiologique sur le Cyprin à celle de la teinture originale ; je l'ai trouvée égale, d'où je conclus qu'aucun principe important n'a été perdu ou altéré.

Etudions maintenant l'action de chaque fraction séparément et comparons-la à l'action de la teinture originale.

L'extrait I à l'éther de pétrole déprime, puis paralyse la respiration, diminue fortement l'activité spontanée, diminue aussi l'excitabilité mais moins vite que la teinture; il est un peu plus stupéfiant et narcotique que la teinture.

L'extrait benzénique II est beaucoup moins actif : il n'influence pas la respiration, il est légèrement sédatif, car il supprime l'effet excitant de l'alcool; il est environ 3 fois moins narcotique que la teinture et encore moins stupéfiant.

L'extrait éthéré III ne manifeste guère qu'une faible action narcotique un peu stupéfiante, lente à apparaître.

L'extrait chloroformique a une action sédatrice à peine appréciable, même à fortes doses.

Enfin la phase aqueuse épousée par les solvants organiques a une action sédatrice nette : elle supprime l'excitation générale de l'alcool ; la respiration est un peu déprimée au début, au lieu d'être accélérée par l'alcool; l'activité spontanée est diminuée au lieu d'être augmentée par l'alcool, l'excitabilité des organes des sens aussi; une action narcotique qui reste faible apparaît aussi tôt qu'avec la teinture.

Tandis que cette phase aqueuse épousée contient encore tous les principes hydrosolubles ou lyophiles de la teinture, l'ensemble des quatre extraits obtenus par les solvants organiques représente toutes les substances lipophiles; comparée à celle de la teinture originale, l'action de ces dernières en diffère légèrement : l'action narcotique finale est à peu près équivalente, mais l'action toxique et stupéfiante semble n'être pas atténuée par les substances solubles dans l'eau, qui paraissent modérer l'action plus brutale des substances liposolubles.

J'entrevois deux possibilités : a) l'action des substances solubles dans l'eau, atténuant celle des liposolubles, est due à des phénomènes purement pharmacologiques : antagonisme physiologique des substances sédatives hydrosolubles et des substances stupéfiantes liposolubles. b) l'action des substances solubles dans l'eau est d'ordre physicochimique : les substances liposolubles seraient fixées par les substances de l'extrait aqueux, comme une essence sur une résine; l'ensemble serait absorbé par le poisson, mais les substances liposolubles, dont l'action est prépondérante sur le système nerveux, ne seraient libérées que graduellement de leur support lyophile; par ce mécanisme l'action narcotico-stupéfiante serait plus gradauelle, moins brutale.

*Influence de la chaleur sur les principes actifs.* — Nous avons vu que la teinture stabilisée devient moins active quand on la chauffe longtemps. Pour savoir à quel groupe appartiennent les substances thermolabiles, j'ai procédé comme suit : de chaque extrait, obtenu après avoir épuisé par les solvants organiques la teinture concentrée, j'ai pesé une quantité équivalente à 10 g de teinture originale; je l'ai dissoute dans de l'alcool de façon à obtenir pour chaque extrait 10 g de solution dont la teneur en alcool est égale à celle de la teinture; ces 10 g de solution, répartis dans deux ampoules de 10 cm<sup>3</sup> que j'ai scellées, ont été mis pendant une heure dans de l'eau bouillante; après refroidissement, j'ai examiné l'action sur le Cyprin doré et l'ai comparée à celle de 10 g de teinture soumise au même traitement. Les actions des extraits benzénique (II), éthéré (III) et chloroformique ne sont pas sensiblement modifiées. L'extrait à l'éther de pétrole (I) ne paralyse plus le centre respiratoire, mais il supprime l'excitation de l'alcool sur la respiration, comme le faisait le résidu aqueux épuisé; les autres effets de cet extrait I ne sont pas modifiés. Le résidu aqueux épuisé ne déprime plus du tout le centre respiratoire; il inhibe moins fortement l'excitation de l'alcool sur la respiration; l'action sédative, à peine narcotique, est un peu altérée. La teinture originale maintient, après chauffage, la respiration à son rythme normal; l'action dépressive a disparu ici aussi, l'action sédative qui inhibe l'excitation de l'alcool est un peu diminuée, l'action narcotique et stupéfiante subsiste inchangée.

*Interprétation.* — En résumé, notre étude des principes actifs de la teinture stabilisée nous permet d'y distinguer quatre groupes, d'après leur action sur le Cyprin doré.

1. un paralysant de la respiration, liposoluble, peu ou pas volatil, thermolabile ;
2. un narcotique stupéfiant liposoluble et volatil, qui passe dans l'essence, thermostable ;
3. un narcotique stupéfiant liposoluble non volatil, stable dans l'alcool bouillant, mais détruit par cuisson prolongée dans l'eau ;
4. un sédatif faiblement narcotique, hydrosoluble, non volatil, lentement thermolabile dans l'alcool, détruit par l'eau bouillante, altéré par les enzymes de la drogue fraîche.

En outre il n'est pas exclu que des substances très volatiles, hydrosolubles, aient aussi une légère action sédative.

Précisons que ces quatre groupes de principes actifs ne correspondent pas aux quatre fractions obtenues au moyen des solvants organiques à partir de la teinture concentrée.

Les corps considérés jusqu'à présent par divers auteurs comme les principes actifs : acide isovalérianique, esters du bornéol, méthyl- $\alpha$ -pyrryl-cétone, ne sont actifs qu'à des concentrations 10 à 100 fois plus fortes que celles où ils se trouvent dans la teinture; ils ne participent donc que dans une faible proportion à l'action de la drogue et de ses préparations galéniques.

Les résultats de mes expériences me permettent d'interpréter et de coordonner les données souvent contradictoires des divers auteurs. Il convient d'abord de souligner la grande différence entre l'action d'une préparation stabilisée de drogue fraîche, comme celles que j'ai surtout étudiées, et l'action des produits provenant de la drogue sèche ou fraîche non stabilisée; l'action des préparations non stabilisées sur le Cyprin doré est du type de celle que j'ai décrite à propos de la macération de racine fraîche hachée dans l'alcool froid : dépression générale, avec stupeur et incoordination plus graves qu'avec les préparations stabilisées, peu ou pas d'action sédatrice, convulsions. Tout se passe comme si le 4<sup>e</sup> de mes groupes de principes actifs était altéré par les enzymes de la racine et n'exerçait plus son action modératrice et antitoxique sur les trois premiers groupes; il n'est en outre pas exclu que, sous l'effet des enzymes, les substances de ce 4<sup>e</sup> groupe soient transformées en substances narcotico-stupéfiantes, et toxiques des trois premiers groupes, bien que la démonstration n'en soit pas faite.

De plus, l'action varie qualitativement suivant le solvant utilisé; la répartition des divers principes actifs change d'un extrait à l'autre et l'effet prédominant est dû tantôt aux substances d'un groupe, tantôt à celles d'un autre.

Tandis que pendant longtemps la plupart des auteurs n'ont attribué d'importance qu'à l'essence (groupe 2), SOBERNHEIM (290) et SIKORSKA (288) ont reconnu le rôle des substances non volatiles (groupes 1 et 3, éventuellement 4).

POUCHET et ses élèves (195 bis, 229, 245) ont reconnu qu'une préparation non stabilisée est d'autant plus active qu'elle est plus fraîche; j'attribue à l'action des enzymes sur le groupe 4 la diminution de l'activité; la drogue sèche dont ces auteurs ont disposé n'avait, semble-t-il, pas été préparée et conservée dans de bonnes conditions.

Les corps isolés par CHEVALIER (71, 72), et la méthyl- $\alpha$ -

pyrryl-cétone de CIONGA (73) peuvent expliquer en partie l'activité de la teinture stabilisée de racine fraîche; ils se rattachent à mon 4<sup>e</sup> groupe. Les «résines» de SMODLAKA (289), semblent correspondre à mes groupes 3 et 4. Les résultats contradictoires d'OESTLING (223), d'ORDINSKY (226), de DRUCKREY et KOEHLER (88), qui préconisent d'extraire l'un à l'alcool fort, l'autre à l'alcool dilué, les autres à l'eau, sont expliqués par les propriétés des groupes 3 et 4; ces derniers auteurs disposaient, semble-t-il, d'une drogue séchée dans des conditions assez favorables pour ne pas anéantir les principes du groupe 4; il en est de même pour KOCHMANN et KUNZ (184) dont la substance narcotique soluble dans l'eau froide appartient à notre 4<sup>e</sup> groupe; en chauffant à l'ébullition, ils l'altèrent en partie et constatent un changement d'action correspondant.

Mes conclusions confirment les résultats de FELDMANN (96): les substances les plus toxiques passent dans les solvants organiques (groupes 1, 2 et 3). Les résultats de GUBERMANN (134) peuvent aussi être expliqués: le suc d'expression est actif par les groupes 1, 2 et 3 en suspension ou en solution colloïdale, et par le groupe 4, s'il est très frais; par évaporation dans le vide (probablement à 50°), le groupe 1, thermolabile, est détruit, le groupe 2, volatil, est éliminé, ce qui restait du groupe 4 est détruit par les enzymes qui restent actives jusqu'à 50°; il ne reste que les substances du groupe 3 qui forment une masse insoluble, et par là-même sans action appréciable; l'extrait alcoolique sec de racine fraîche a, nous l'avons vu, une action plus faible que la teinture stabilisée, par les groupes 3 et 4; l'extrait éthéré et le résidu insoluble de GUBERMANN correspondent à notre groupe 3, avec en plus des traces éventuelles de 2 qui n'auraient pas été entièrement volatilisées; son extrait aqueux correspond à mon 4<sup>e</sup> groupe, en partie altéré par l'évaporation à sec. L'extrait éthéré de FREY (110) est mon groupe 2, son extrait alcoolique correspond à peu près à mon groupe 3 et son extrait aqueux à mon groupe 4.

La «stabilisation» aux vapeurs d'alcool sous 2,5 atm. dont parle MAJCHERCZYK (202) semble avoir le même effet que la cuisson dans l'eau: le groupe 1 est détruit, le groupe 2 entraîné par les vapeurs, les groupes 3 et 4 sont rendus inactifs par chauffage en-dessus de 100°; une stabilisation plus courte et moins brutale laisse subsister une partie des principes 2, 3 et 4; d'après cet auteur, le groupe 4 perdrait déjà son activité quand on le chauffe dans l'eau à 80° pendant 20 minutes,

et l'extraction aqueuse de racine (stabilisée ?) contiendrait des substances des groupes 2 et 3 responsables du  $\frac{1}{6}$  ou du  $\frac{1}{4}$  de son activité. L'alcoolysat de RUSIECKI (264) semble être l'équivalent de ma teinture stabilisée.

Les résultats que j'obtiens avec le Cyprin doré peuvent donc être comparés qualitativement à ceux que d'autres auteurs obtiennent avec d'autres animaux, notamment sur des mammifères (souris, rat, lapin, cobaye), plus proches de l'homme dans la classification. Il semble donc possible d'atténuer les restrictions formulées au début du chapitre XIV : le Cyprin paraît utilisable pour l'étude pharmacologique des préparations de Valériane, et pour leur dosage physiologique.

Même du point de vue quantitatif, on peut faire des rapprochements dignes de remarque : alors que FREY (110) administre à ses souris des doses correspondant à 3-10 g de racine fraîche par kg d'animal, je travaille avec mes poissons dans de l'eau qui contient des quantités qui correspondent aussi à 3-10 g de racine fraîche par litre. Les poissons réagissent suivant la *concentration* du liquide dans lequel ils sont immersés : un poisson de 50 g dans 250 cm<sup>3</sup> d'eau additionnée de 10 g de teinture par litre subit la même action qu'un poisson de 5 g dans 1 litre du même liquide; d'autre part, la même dose de teinture agit très différemment sur le poisson suivant qu'elle est diluée dans un volume d'eau plus ou moins grand, et même si cette eau a une teneur constante en alcool.

Si mes conclusions sur les propriétés des divers groupes de principes actifs de la Valériane sont vérifiées, la méthode de HAFFNER (139) pour le dosage biologique de la Valériane n'est pas acceptable; elle mesure la toxicité sur la souris. Or d'après mes résultats, les principes sédatifs les plus intéressants (groupe 4) sont détruits rapidement par les enzymes et lentement par la chaleur, tandis que les substances toxiques (groupes 1, 2 et 3) résistent aux enzymes et (groupe 1 excepté) à la chaleur; deux préparations peuvent donc avoir même toxicité sans que leur action sédative, due au groupe 4 surtout, soit égale; bien plus, les substances de ce groupe 4 semblent diminuer l'action毒ique des groupes 1 à 3.

La plupart des méthodes pour le dosage biologique des cardiotoniques emploient aussi la toxicité. Ma critique ne les concerne pas, car les cardiotoniques ont une action très spécifique qui est celle dont meurent les animaux.

**QUATRIEME PARTIE**  
**ETUDE DES PRINCIPES ACTIFS**

**CHAPITRE XVII : Observations d'ordre chimique.**

*Etude qualitative des acides volatils de la racine fraîche.* — Après avoir neutralisé par la baryte les distillats A et B du chapitre X, obtenus par entraînement à la vapeur, j'évapore à sec au bain-marie, mets à l'étuve à 115° pour chasser les substances volatiles autres que les acides; en ajoutant à ces sels de baryum des quantités équivalentes d'acide sulfurique, j'obtiens après filtration, des solutions pures des acides volatils.

Pour la recherche de l'acide formique, j'ai employé trois réactions d'identité : la réduction du nitrate d'argent à chaud en solution aqueuse neutralisée, la réduction du sublimé en calomel en milieu légèrement acétique, enfin la réaction de FINCKE (100); après réduction par le magnésium en milieu chlorhydrique, les solutions qui contenaient de l'acide formique donnent avec le lait et le chlorure ferrique une coloration violette, caractéristique de l'aldéhyde formique.

Avec les acides volatils «libres», les réactions de l'acide formique sont nulles ou très faibles, tandis qu'avec les acides volatils «combinés» ces réactions sont nettement positives.

Mes tentatives de prouver la présence d'acide butyrique ou isobutyrique dans mes mélanges d'acides volatils n'ont pas abouti : les réactions sont négatives (pas de formation de cristaux caractéristiques) ou masquées par la présence des autres acides volatils. Il s'agit là d'un problème délicat, dont l'étude complète sortirait du cadre de ce travail.

La présence des acides isovalérianique et acétique est assez établie pour que je n'en apporte pas une nouvelle preuve.

*Analyse quantitative des acides volatils.* — J'ai cherché par quelle méthode on peut doser les acides volatils les uns à côté des autres, surtout les acides formique, acétique, butyrique et isovalérianique qui nous intéressent plus particulièrement.

Grâce à ses propriétés réductrices marquées, l'acide formique peut être l'objet de plusieurs dosages gravimétriques ou titrimétriques dont la plupart sont possibles en présence d'autres acides gras volatils; de nombreuses méthodes sont mentionnées ou décri-

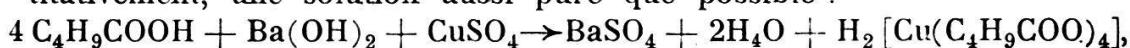
tes dans les manuels de BEILSTEIN (29), BERL-LUNGE (31) et KLEIN (179); HOLMBERG et LINBERG (154) donnent aussi de nombreuses références sur ce sujet.

L'acide acétique est très stable vis-à-vis des oxydants; ses propriétés chimiques n'offrent aucune possibilité de le doser à côté de ses homologues. Les acides butyriques peuvent être dosés par divers oxydants dans des conditions déterminées, mais l'acide isovalérianique fausse toujours les résultats. L'acide isovalérianique ne peut être dosé qu'après avoir été isolé des autres acides volatils, par exemple grâce à la solubilité de son sel sodique dans l'acétone (HOLZMANN, 156).

Les anciennes méthodes, d'après lesquelles on sépare les divers acides d'un mélange par précipitation et cristallisation fractionnées de différents sels (Ag, Ba, Zn, Pb, Cu, quinine, etc.) sont très longues, souvent peu précises, exigent de grandes quantités de matériel à analyser et donnent des résultats inconstants et inégaux; celle de HABERLAND (136) en est un exemple. La méthode de LANGHELD et ZEILEIS (194) qui oxyde par le mélange chromique par étapes, à diverses températures et pèse le CO<sub>2</sub> dégagé, est délicate et compliquée.

Ce bref aperçu suffit pour montrer que les méthodes chimiques décrites ne permettent pas de doser aisément les divers acides gras volatils les uns en présence des autres; quelques auteurs (BRAUN, 53, POWER et KLEBER, 247, THOMS et MOLLE, 303, HILL et SIRKAR, 149, ONODERA, 225) ont tenté de le faire et ne semblent pas avoir obtenu des résultats satisfaisants sans mettre en œuvre des moyens que les dosages en séries excluent.

AGULHON (2) analyse des mélanges d'acides gras volatils en mettant à profit les différences de solubilité des sels cupriques et ferriques dans divers solvants organiques. J'ai vérifié les résultats d'AGULHON, puis j'ai tenté d'adapter sa méthode à la séparation des acides volatils; mais les complexes qui se forment ne passent pas quantitativement dans les solvants organiques; leur stabilité est insuffisante pour qu'ils résistent à l'action dissociante de l'eau; l'équilibre qui s'établit ne peut pas être entièrement déplacé en faveur du complexe. Les expériences de SCHMIDT et SCHACHTLEBEN (276), de RUDORF (261) et de BüTTGENBACH (65), qui ont préparé et décrit des sels cupriques complexes d'acides gras volatils, laissaient entrevoir la faible stabilité de ces composés. J'ai pu toutefois améliorer la séparation de l'acide isovalérianique sous forme de composé cuprique soluble dans le benzène: alors qu'AGULHON prescrit l'emploi d'une solution neutralisée à la phénophtaléine (pH 8), je ne neutralise que jusqu'au pH de 4,5, ce qui correspond à une demi-neutralisation; à un équivalent d'acide, j'ajoute un demi-équivalent de base. En outre j'emploie la baryte au lieu d'une base alcaline; précipitant ainsi les ions sulfate du sel cuprique, j'obtiens, en travaillant quantitativement, une solution aussi pure que possible:



complexe hypothétique, soluble dans le benzène qui est coloré en bleu-vert. A un pH < 4, le complexe n'est pas stable et le benzène ne se colore pas; à un pH > 6, le cuivre précipite sous forme de sel basique, insoluble dans le benzène. La réaction ci-dessus n'est pas quantitative : une extraction au benzène enlève à la phase aqueuse 41,5 % de l'acide isovalérianique au pH de 4,5; en répétant deux fois l'extraction au benzène, j'augmente ce rendement à 67 %, alors que j'obtiendrais 80 % par trois extractions si le taux d'extraction demeurait égal à 41,5 %; la phase aqueuse est trouble, elle laisse déposer un précipité floconneux bleuâtre. A la suite de ces essais, je conclus que la méthode d'AGULHON permet l'analyse qualitative d'un mélange d'acides gras, mais pas la séparation quantitative des divers acides.

ALLGEIER, PETERSON et FRED (3) indiquent une méthode colorimétrique pour le dosage de l'acide butyrique sous forme de complexe cuprique extractible par le chloroforme; je n'ai pas obtenu de coloration du chloroforme avec une solution d'acide butyrique pur dans les conditions indiquées.

J'ai encore cherché si des complexes semblables à ceux du cuivre se forment avec d'autres ions métalliques; AGULHON (2) indique le fer, mais les propriétés des complexes ferriques dont il fait mention ne sauraient m'être utiles. J'ai pensé en outre au cobalt, au nickel et au chrome; mais les rares données de la littérature sur ce point semblent indiquer que les complexes des acides gras volatils avec ces cations sont instables (PASCAL, 231); les résultats négatifs de mes essais confirment cette prévision.

Une des méthodes les plus sûres pour la séparation des acides gras volatils est la distillation fractionnée de leurs esters méthyliques ou éthyliques; les opérations sont longues et exigent des quantités de matériel incompatibles avec mes conditions d'expérience.

Plusieurs auteurs ont cherché à séparer les acides gras volatils par la distillation fractionnée de leurs solutions aqueuses, mais sans succès.

DUCLAUX (89), le premier, établit que :

1. la marche de la distillation d'un acide volatil pur en solution aqueuse est caractéristique de cet acide;
2. il existe un rapport constant entre la concentration de l'acide dans la solution à distiller et sa concentration dans des fractions déterminées du distillat;
3. si deux acides sont mélangés, chacun se comporte comme s'il était seul et suit les lois de sa distillation propre.

DUCLAUX tire de ces constatations une méthode d'analyse qualitative et quantitative pour les solutions d'un acide volatil ou de deux acides mélangés, par comparaison des courbes qui représentent la marche de la distillation. Les mélanges plus complexes donnent des courbes dont l'interprétation n'est pas aisée.

*Théorie de la distillation isotherme des solutions aqueuses d'acides gras volatils.* — BROWN (57) avait déjà supposé que pour chaque acide, le rapport des nombres de molécules d'eau et d'acide qui passent dans la vapeur est proportionnel au rapport des nombres de molécules d'eau et d'acide qui sont dans la phase liquide.

WIEGNER (334) reprend cette hypothèse et la développe avec l'aide des mathématiques. Il désigne par  $y$  le poids de l'acide dans la solution et par  $x$  le poids de l'eau dans la même solution. A chaque instant, il distille  $dy$  d'acide et  $dx$  d'eau, qui passent de la phase liquide dans la phase vapeur. Le rapport des quantités d'acide et d'eau qui passent dans la vapeur étant proportionnel au rapport des quantités d'acide et d'eau que contient la solution, WIEGNER pose  $dy/dx = k \cdot y/x$ , où  $k$  est une constante, caractéristique de chaque acide volatil. Par intégration de cette équation, il obtient  $\ln y = k \cdot \ln x + \text{constante}$ ; la constante d'intégration ne dépend que du choix des unités de mesure. Il est simple et commode d'égaler à 100 les quantités totales d'acide et d'eau au début de la distillation :  $y_0 = 100$ ,  $x_0 = 100$ . Ce choix d'unités est préférable à celui de DUCLAUX (89), qui désigne par 100 les  $100 \text{ cm}^3$  qui passent d'abord quand on distille en partant de  $110 \text{ cm}^3$  de solution acide, ce qui est théoriquement maladroit.

Les unités choisies donnent  $\ln y = k \cdot \ln x + 4,6052 - 4,6052 k$ , ou en remplaçant les logarithmes naturels par les logarithmes vulgaires de Brigg :  $\log y = k \cdot \log x + 2 - 2k$ .

Cette relation permet soit de déterminer  $k$  expérimentalement, soit, connaissant  $k$ , de calculer l'évolution de chaque distillation dans des limites de concentration où  $k$  est constant, c'est-à-dire où la température d'ébullition reste constante; cette constance est réalisée avec les solutions aqueuses diluées (1 à 2 %) d'acides volatils.

Pour deux mesures successives, où  $x_1$  et  $x_2$  désignent les quantités d'eau dans la phase liquide,  $y_1$  et  $y_2$  les quantités d'acide restant dans la phase liquide, on a la relation :

$$\frac{\log y_1 - \log y_2}{\log x_1 - \log x_2} = k.$$

Dans les distillations de solutions diluées, les valeurs absolues des concentrations n'entrent pas en ligne de compte; seul le rapport des concentrations intervient (DUCLAUX).

*Application de la théorie à la détermination quantitative des constituants de mélanges d'acides gras volatils.* — Quand on distille un mélange d'acides gras volatils en solution aquueuse diluée, chaque acide se comporte au cours de la distillation comme s'il était seul en solution, et suit la loi  $dy/dx = k \cdot y/x$  avec une valeur propre de  $k$ . Connaissant  $k$  pour chaque acide, on peut, par une seule distillation fractionnée, en dosant autant de fractions qu'il y a de constituants dans le mélange d'acides gras étudié, déterminer quantitativement les constituants du mélange. S'il y a  $n$  acides gras volatils différents dans le mélange, on dosera  $n$  fractions de poids déterminés; avec les valeurs obtenues, on pourra établir un système de  $n$  équations à  $n$  inconnues, les inconnues étant les quantités de chaque acide gras volatile en solution au début de la distillation.

VIRTANEN et PULKKI (322) généralisent la théorie à toutes les substances organiques volatiles et solubles dans l'eau : acides, amines, phénols, aldéhydes, alcools, etc. Ils ont fixé des conditions expérimentales, que j'ai adoptées.

Dans le cas des acides volatils de la Valérianne, j'admetts la présence des acides isovalérianique, butyrique, acétique et formique.

Par distillation de solutions des acides purs dans les conditions fixées par VIRTANEN et PULKKI, j'ai mesuré, pour les quatre acides considérés, les quantités d'acide qui passent dans le premier quart du distillat ( $t$ ), dans la première moitié ( $u$ ) et dans le troisième quart ( $v$ ); j'interromps alors la distillation et dose, à titre de contrôle, l'acide resté dans le dernier quart ( $r$ ) du liquide que contient encore le ballon; la somme de  $u$ ,  $v$  et  $r$  doit être égale à  $z$ , la quantité totale d'acide mise en jeu, connue par une titration préalable; chacune des valeurs  $t$ ,  $u$  et  $v$  permet de calculer la constante  $k$  de l'acide et de la comparer avec les valeurs de  $k$  trouvées dans la littérature.

Voici les valeurs moyennes de mes mesures exprimées en % :

ACIDES	$t$ mes. %	$u$ mes. %	$v$ mes. %	$r$ mes. %
F formique	10,5	23,6	18,6	57,8
A acétique	17,8	37,5	23,7	38,9
B butyrique	42,3	73,15	19,3	7,5
V valérianique Ph. H. V	61,3	88,6	9,9	1,5
I isovalérianique purifié	63,3	90,6	8,2	1,15

En calculant

$$k = \frac{\log y_1 - \log y_2}{\log x_1 - \log x_2}, \text{ où } y_1 = 100, y_2 = 100 - t, 100 - u, \text{ etc.} \\ x_1 = 200, x_2 = \text{resp. } 150, 100, 50$$

je trouve :

pour F : k = 0,385	0,388 et 0,389	j'admet k = 0,388 (const. à 1 % près)
» A : 0,681	0,678 et 0,681	» k = 0,680 (const. à 0,3 % près)
» B : 1,92	1,90 et 1,87	» k = 1,92 (const. à 2,5 % près)
» V : 3,27	3,14 et 2,82	k n'est manifestement pas constant,
» I purifié 3,45	3,35 et 3,22	j'admet k = 3,40
avec k = 0,388 je calcule pour F : t = 10,5	u = 23,6 v = 18,5 r = 57,9	
» k = 0,680	» A : 17,8 37,6 23,4 59,0	
» k = 1,92	» B : 42,5 73,5 19,5 7,0	
» k = 3,40	» I : 62,5 90,5 8,6 0,90	

Pour l'analyse d'un mélange des 4 acides, je dispose d'un système de 4 équations à 4 inconnues, *F*, *A*, *B* et *I*, qui sont les quantités de chacun des 4 acides volatils mélangés :

$$\begin{aligned} z &= I + B + A + F \\ t &= 0,625 I + 0,425 B + 0,178 A + 0,105 F \\ u &= 0,905 I + 0,735 B + 0,376 A + 0,236 F \\ v &= 0,086 I + 0,195 B + 0,234 A - 0,185 F \end{aligned}$$

Je résous le système et trouve :

$$\begin{aligned} I &= -0,381 z + 19,926 t - 12,923 u + 7,231 v. \\ B &= 1,389 z - 40,292 t + 28,256 u - 20,684 v. \\ A &= -4,817 z + 48,382 t - 31,810 u + 39,160 v. \\ F &= 4,909 z - 28,016 t + 16,477 u - 25,707 v. \end{aligned}$$

Des calculs de contrôle m'ont permis d'apprécier à 0,3 % par rapport à *z* les erreurs dues à l'approximation des seuls calculs. Pour apprécier la valeur expérimentale de la méthode, je l'ai appliquée à un mélange de composition connue : 7,88 cm<sup>3</sup> d'acide isovalérianique n/10 + 3,90 cm<sup>3</sup> d'acide acétique n/10, que je dilue à 200 cm<sup>3</sup> et soumets à la distillation fractionnée dans l'appareillage décrit par VIRTANEN et PULKKI.

Je sépare 4 fractions de 50 cm<sup>3</sup> et les dose par la baryte décinormale :

t = 5,32;	5,43 cm <sup>3</sup> Ba(OH) <sub>2</sub> n/10;	moy.	5,375 soit 46,9 % de <i>z</i> (calc. t = 47,75 °C)
u - t = 2,80;	2,90	»	2,85 donc
u = 8,12;	8,33	»	8,225 soit 71,8 % (calc. u = 73,05 °C)
v = 1,55;	1,60	»	1,575 soit 13,75 % (calc. v = 13,5 °C)
r = 1,65;	1,65	»	1,65 soit 14,4 % (calc. r = 13,45 °C)
z = 11,32;	11,58	»	11,45 au lieu de 11,78; écart moyen -0,32 cm <sup>3</sup> soit ∞

Je remplace *z*, *t*, *u* et *v* par les valeurs numériques expérimentales et trouve :

I = 8,1 cm <sup>3</sup> n/10 (soit 68,0 % de <i>z</i> = 11,78) au lieu de 7,88 (66,9%)		
B = -0,73	» -6,3 %	» 0,0
A = 4,69	» 39,8 %	» 3,9 (33,1 %)
F = -0,69	» -5,9 %	» 0,0

L'écart entre les quantités trouvées et les quantités mises en jeu atteint donc 7 % de la quantité totale des acides volatils. L'acide isovalérianique utilisé n'était pas pur; il est en partie responsable de l'inexactitude des résultats. Pour augmenter la précision de la méthode, je propose de doser un plus grand nombre de fractions de distillats : 8 ou 10 au lieu de 4; on obtiendrait ainsi des systèmes de 8 ou 10 équations à 4 inconnues, auxquels on pourrait appliquer les méthodes du calcul des probabilités, ce qui permettrait d'obtenir les valeurs les plus probables des inconnues avec une précision accrue.

*Application aux acides volatils de la racine fraîche de Valériane.* — Lors de chacune des séries de déterminations faites aux divers mois de l'année sur des racines fraîches, j'ai soumis chacun des distillats A<sup>I</sup>, A<sup>II</sup>, B<sup>I</sup> et B<sup>II</sup> à des distillations fractionnées selon WIEGNER-VIRTANEN, en suivant la technique exposée ci-dessus.

Les résultats de mes mesures peuvent être résumés comme suit :

Les moyennes générales des distillations fractionnées de A sont :

$$\begin{aligned} t &= 55,8 \% \text{ (écart max. } +2,9 \text{ et } -1,3\text{)} \\ u &= 82,6 \% \quad " \quad +2,1 \text{ et } -2,7 \\ v &= 11,8 \% \quad " \quad +1,9 \text{ et } -1,5 \\ r &= 5,6 \% \quad " \quad +1,0 \text{ et } -1,9 \end{aligned}$$

Par des essais qualitatifs, j'ai constaté que les distillats A ne contiennent pas d'acide formique (ou tout au plus des traces); j'admet F = 0; il reste à résoudre le système

$$\begin{aligned} (z) \quad I + B + A &= 100 \\ (t) \quad 0,625 I + 0,425 B + 0,178 A &= 55,8 \\ (u) \quad 0,905 I + 0,735 B + 0,376 A &= 82,6 \\ (v) \quad 0,086 I + 0,195 B + 0,234 A &= 11,8 \end{aligned}$$

Si je ne considère que les trois dernières équations pour la résolution, je trouve : I = 84,75; B = 0,5; A = 14,75. Pour ces valeurs, v = 10,83 au lieu de 11,8 (écart de 10 %).

Si je résous au moyen des équations z, u, et v, je trouve : I = 74,2, B = 16 et A = 9,0, valeurs pour lesquelles t = 70,5, au lieu de 55,8; l'écart de 25 % est beaucoup plus fort; j'estime que les premières valeurs sont préférables, d'autant plus que dans la distillation fractionnée, t est mesuré avec plus d'exactitude que v. Ces valeurs de I, B et A n'ont qu'une valeur approximative, puisqu'elles sont entachées d'erreurs de l'ordre de 5 à 10 unités; elles indiquent que B est faible, quelques pour cent seulement, que I est le constituant principal (75 à 80 %), accompagné de 10 à 15 % d'acide acétique A.

Par de nombreux calculs, j'ai pu vérifier qu'à peu d'exceptions

près les valeurs mesurées lors de mes distillations fractionnées correspondent aux valeurs suivantes :

Acides	Distillats A <sup>I</sup>	Distillats A <sup>II</sup>
I entre 70 et 85, en moy.	78,5 %	entre 50 et 70, moy.
A » 1 et 17 »	10,5 %	« 3 et 30 » 10 %
B » 4 et 15 »	11,0 %	« 20 et 45 » 30 %

Comme A<sup>I</sup> contient approximativement  $2 \times 3 = 6$  fois plus d'acides volatils que A<sup>II</sup>, je calcule que les acides volatils « libres » se répartissent comme suit :

67 à 82 % d'acide isovalérianique	(moy. 76 %)
1,25 à 19 % » butyrique	(moy. 10 %)
8,5 à 20,3 % » acétique	(moy. 14 %)

Dans leur ensemble, les acides volatils « libres » de la racine fraîche de Valériane ont donc la composition moyenne suivante :

Acides	Proportions	
	stœchiométriques	pondérales
isovalérianique	76 %	81,9 %
butyrique	10 %	9,3 %
acétique	14 %	8,8 %

Ces résultats doivent être considérés comme une première approximation, car la méthode utilisée laisse une marge d'erreur de 5 à 10 % de la quantité totale d'acides volatils « libres ». Quand un constituant est en faible quantité, comme l'acide butyrique, nous ne sommes renseignés que sur son ordre de grandeur, l'erreur possible étant presque égale à la valeur trouvée. Divers recoupements m'ont permis de constater que les différentes valeurs trouvées sont en accord avec la théorie; l'exposé et la discussion de ces considérations théoriques sortiraient du cadre de ce travail.

Pour l'analyse des acides volatils « combinés », la même méthode m'a donné les résultats suivants :

Acides	Distillats B <sup>I</sup>	Distillats B <sup>II</sup>
I entre 15 et 27, moy.	22,4 %	pratiquement nulles 0 %
B » 2 et 8 »	4,65 %	» » 0 %
A » 63 et 75 »	67,60 %	85 et 90 moy. 88 %
F » 2 et 10 »	5,35 %	5 et 15 » 12 %

Je calcule que les acides volatils « combinés » sont donc constitués par

12 à 22 %, en moy.	18 % d'acide isovalérianique, ou 27,1 % en pds
1,6 à 6,4 % »	3,7 % » butyrique 4,8 % »
67,4 à 78 % »	71,7 % » acétique 63,6 % »
2,6 à 11 % »	6,7 % » formique 4,5 % »

*En résumé*, 100 g de racine fraîche de Valériane contiennent en moyenne 2,22 milliéquivalents d'acides volatils «libres» dont :

76 %	est de l'acide isovalérianique,	soit 172 mg,
10 %	» butyrique,	» 19,5 mg,
14 %	» acétique,	» 18,6 mg,

et 4,41 milliéquivalents d'acides volatils «combinés», dont environ :

18 %	est de l'acide isovalérianique,	soit 81 mg,
4 %	» butyrique,	» 15 mg,
72 %	» acétique,	» 190 mg,
6 %	» formique,	» 13 mg.

*Transformation de l'essence en acides.* — Des distillats aqueux de racine fraîche préparés en été 1944 et abandonnés pendant six mois, sans que l'essence en ait été séparée, ont fourni, par épuisement à l'éther de pétrole, puis distillation du solvant, une essence sentant très fortement l'acide isovalérianique; l'indice d'acidité de cette essence s'élève à 236, ce qui correspond à 43 % d'acide isovalérianique, alors qu'une essence fraîchement préparée a un indice d'acidité de 25 environ. J'ai agité cette essence avec du carbonate de soude pour en séparer les acides; après avoir séparé l'essence débarrassée des acides, j'ai entraîné à la vapeur en présence d'un excès d'acide tartrique et retrouvé dans le distillat la totalité des acides que contenait l'essence; l'acidité de l'essence était donc due exclusivement à des acides volatils. J'ai analysé le mélange de ces acides volatils par la méthode de WIEGNER-VIRTANEN (distillation fractionnée de la solution aqueuse) et trouvé des valeurs qui correspondent à 86 % d'acide isovalérianique et 14 % d'acide acétique.

Ces acides semblent s'être formés aux dépens de l'essence; la transformation s'est produite en présence d'eau dans un flacon bouché et plein; il semble donc qu'ici encore (v. chap. X), il s'agisse d'une hydrolyse plutôt que d'une oxydation; toute action enzymatique est ici exclue; cette observation confirme les indications de JARETZKY (165).

*Acides libres et combinés de la teinture Ph. H. V.* — Nous avons vu (chapitre XI) que la teinture stabilisée a un indice d'acidité de 1,0 environ et un indice d'ester de  $4,7 \pm 0,6$ , ce qui correspond, pour 100 g de teinture, à 1,96 milliéquivalent d'acides libres et à 8,4 m. éq. d'acides combinés.

Pour savoir dans quelle mesure les acides volatils sont responsables de l'acidité de la teinture, j'ai distillé sous pres-

sion réduite 100 g de teinture contenant 1,9 m. éq. d'acides libres, en faisant plonger l'extrémité du réfrigérant dans un excès connu de baryte décinormale, de façon à retenir les acides volatils; j'en trouve 0,9 m. éq.; le contenu du ballon, repris par l'alcool 50 % et dilué dans l'eau, est neutralisé par 1,1 m. éq. de baryte; 0,1 m. éq. d'acide a été libéré au cours de l'opération; je pense qu'il s'agit d'une saponification partielle des esters volatils par la baryte où j'ai recueilli le distillat.

100 g de drogue fraîche contenaient (1-12-44) 2,10 m. éq. d'acides volatils «libres»; à partir de 100 g de drogue fraîche, on obtient théoriquement  $(100 + C + F)$  g de teinture Ph. H.V; dans le cas présent,  $(100 + C + F)$  g = 184,38 g de teinture, qui contiennent au maximum  $0,9 \cdot 1,844 = 1,66$  m. éq. d'acides volatils. L'entraînement à la vapeur d'eau libère donc plus d'acides volatils «libres» (2,10) que la cuisson dans l'alcool (1,66).

L'analyse des acides volatils libres de la teinture indique qu'ils sont constitués par 90 % d'acide isovalérianique et 10 % d'acide acétique environ.

Les acides combinés de la teinture (8,4 m. éq. dans 100 g) ne sont qu'en partie volatils (3,3 m. éq. dans 100 g de teinture); je n'en ai pas fait l'analyse.

*Hétérosides.* — Quelques essais, effectués avec la méthode biochimique de BOURQUELOT (49) pour la recherche des hétérosides dédoublables par l'émulsine, me font supposer que la teinture stabilisée contient de faibles quantités d'un hétéroside dédoublé par l'émulsine, à côté de saccharose que dédouble l'invertine. Ces substances sont déjà signalées par HARLAY (143), CHEVALIER (71) et KROMER (190). Je n'en ai pas entrepris l'étude systématique.

### CHAPITRE XVIII : Observations galéniques.

Nous avons vu (chapitre XIV) que la teinture stabilisée est la préparation dont l'action semble la plus intéressante; cette teinture perd une partie de son activité si on la chauffe longtemps.

Pour savoir comment il faut préparer une teinture qui soit aussi active et aussi peu toxique que possible, j'ai préparé, à partir d'une même récolte de racine fraîche, les teintures suivantes :

*Ph. H. V)* Teinture stabilisée par 2 fois 20 minutes de cuisson.

a) Teinture non stabilisée, préparée par macération de la racine fraîche, hachée dans son poids d'alcool froid pendant 5 jours.

b) Teinture stabilisée par cuisson de la racine entière pendant 10 minutes dans son poids d'alcool.

c) Teinture préparée de même, mais en ne cuisant que 5 minutes.

d) Teinture stabilisée par 2 fois 5 minutes de cuisson, une fois avant et une fois après avoir haché.

Dans le chapitre XV, j'ai étudié l'activité physiologique de ces teintures sur le Cyprin doré. Le tableau suivant donne les caractéristiques de ces cinq teintures :

	Résidu sec %	Indice d'acidité	Indice d'ester	Indice de saponif.	Teinte
Ph. H. V	3,82	0,95	4,7	5,65	brun clair verdâtre
a)	3,67	0,98	11,0	11,98	brun-rouge foncé
b)	3,85	0,80	5,0	5,8	
c)	3,89	0,70	5,35	6,05	plus claire que la
d)	3,86	0,75	5,1	5,85	Teinture Ph. H. V

La teinture a), non stabilisée, a une action différente, moins sédative, plus toxique; je l'étudie ici pour savoir si elle présente des caractères qui permettent de la distinguer des teintures stabilisées sans recourir à l'essai pharmacologique. Elle a une saveur brûlante et amère, une odeur aromatique plus forte et moins fine que celle des teintures stabilisées, rappelant plutôt celle de la drogue sèche que celle de la racine fraîche.

La teinture b), de 20 % environ plus active que celle de la Ph. H. V, a une teinte à peine plus claire, jaune-verdâtre, la saveur et l'odeur ne diffèrent pas de celles de la teinture Ph. H. V; sa conservation n'est pas parfaite dans les conditions ordinaires : au bout d'un an, à la lumière et à la température ordinaire, dans un flacon bouché, sa teinte est devenue un peu plus foncée, l'indice d'acidité a passé de 0,80 à 1,23, l'indice d'ester a baissé de 5,0 à 4,35. Cette même teinture conservée un an à l'abri de la lumière et à basse température (2° à 4°), ne s'est pas modifiée.

La teinture c) n'est pas sensiblement plus active que la teinture b); elle se conserve encore moins bien : au bout de 2 mois elle est devenue nettement plus foncée, son acidité a augmenté et son indice d'ester a diminué.

La teinture d) a une activité égale à celle de b) et c); elle semble se conserver aussi bien que celle de la Ph. H. V. Je n'ai toutefois pas fait d'essais rigoureusement parallèles

qui permettent une comparaison exacte : après un an, à température ordinaire, cette teinture *d*) a augmenté son acidité de 0,76 à 0,90, ne dépassant donc pas l'acidité de la teinture Ph. H. V stable; l'indice d'ester a passé de 5,1 à 4,85, reste ainsi supérieur à celui de la teinture Ph. H. V.

Rappelons que la teinture *b*) ou *d*), cuite à reflux pendant une heure ou davantage, a une activité diminuée; elle abandonne un précipité brun-noir au cours de la cuisson; son résidu sec est diminué d'autant.

Les chiffres du tableau, comparés entre eux, montrent que plus on prolonge la cuisson, plus le résidu sec et l'indice d'ester baissent, tandis que l'acidité augmente; comme l'indice de saponification baisse deux fois moins (6,5 %) que l'indice d'ester (13 %), je suppose que la chaleur altère les esters complexes de la plante, dans lesquels les acides volatils sont, semble-t-il, fixés peu énergiquement sur des substances du résidu sec (groupe 4 du chapitre XVI); ces dernières deviennent insolubles et physiologiquement inactives; les acides libérés sont à nouveau estérifiés en partie par l'alcool éthylique de la teinture. Un processus analogue peut expliquer les indices de la teinture non stabilisée *a*): les enzymes scindent les substances actives du groupe 4 et les rendent insolubles dans l'eau (et l'alcool dilué), les acides libérés se combinent à l'alcool; c'est ainsi que le résidu sec est plus faible, l'indice d'ester beaucoup plus élevé, tandis que l'indice d'acidité reste le même; nous serions en présence d'un équilibre semblable à celui qu'on connaît bien dans le cas de Spiritus Formicæ Ph. H. V, par exemple.

Une autre observation confirme mon hypothèse de l'équilibre acide + alcool  $\rightleftharpoons$  ester + eau dans la teinture : diluée dans l'eau, la teinture perd une partie de son activité en une semaine et devient plus acide : l'eau déplace l'équilibre vers la gauche de l'équation, les esters actifs sont scindés et l'alcool éthylique n'est plus assez concentré pour se combiner aux acides libérés.

*Stabilité des teintures.* — Avant de leur faire subir l'épreuve du temps, j'ai essayé de voir si mes teintures «stabilisées» étaient modifiées par oxydation à l'air. 100 g de teinture, mis dans un flacon de 250 cm<sup>3</sup> bouché, sont agités mécaniquement pendant 10 jours; l'air enfermé dans le flacon contient environ 32 mg O<sub>2</sub>, ou 4 m. éq. d'oxygène, soit assez pour transformer 1 m. éq. d'alcool ou 2 m. éq. d'aldéhyde en acide; l'augmentation d'acidité correspondante serait facile à

déceler. (1 à 2 cm<sup>3</sup> de solution alcaline 0,1 n pour 10 g de teinture). Or les deux teintures stabilisées se sont montrées en tous points semblables à elles-mêmes avant et après ce traitement; j'en conclus qu'elles ne sont guère sensibles à l'oxydation par l'air.

*Réaction colorée de contrôle.* — J'ai remarqué que les teintures diluées et neutralisées pour la mesure de l'indice d'acidité deviennent vertes, si on les laisse quelques heures à l'air libre. La coloration n'apparaît pas à l'abri de l'air, ni avec les teintures non stabilisées; j'explique cette coloration par l'oxydation à l'air de l'acide chlorogénique, que seules les préparations stabilisées contiennent; dans les teintures pas ou mal stabilisées, l'acide chlorogénique est détruit par l'action des oxydases qui sont parmi les fermentes les plus résistants à la chaleur. Une teinture du commerce que j'ai examinée ne donnait pas la coloration verte; son action sur le Cyprin doré ressemblait plus à celle d'une teinture non stabilisée du type a) qu'à celle de la teinture Ph. H. V.

Je propose donc d'utiliser la réaction de coloration verte de la teinture neutralisée laissée 3 heures à l'air libre, comme réaction de contrôle de la teinture de Valériane stabilisée.

*Racine stabilisée.* — J'ai essayé de stabiliser de la drogue fraîche suivant les prescriptions du Codex Gallicus (78): dans un autoclave, je verse 500 cm<sup>3</sup> d'alcool, dispose sur des dia-phragmes superposés 300 g de racine fraîche, recouvre le tout d'un dôme de papier pour empêcher l'alcool condensé sur le couvercle de tomber sur la drogue, ferme l'autoclave, relie le tube à dégagement à un réfrigérant et chauffe au gaz aussi fort que possible. La distillation commence au bout de 3 à 4 minutes; quand elle est régulière, l'air est purgé, je ferme le robinet. En 4 minutes la pression atteint 1,5 atm. et le thermomètre marque 103°; je baisse la flamme, de façon à maintenir la pression à 1,5 atm.; le thermomètre monte lentement à 108° au bout de 5 minutes; je coupe le chauffage, refroidis en plongeant l'autoclave dans l'eau courante; le manomètre baisse rapidement et indique une dépression de 1/2 atm. environ. Au bout de 15 minutes tout est froid, je retire 220 g de racine humide (73 % du poids de la drogue fraîche). Au fond de l'autoclave, je recueille 400 cm<sup>3</sup> de liquide alcoolique vert foncé (par l'acide chlorogénique oxydé et extrait?), de poids spécifique = 0,85, ce qui correspond à 80 % poids d'alcool; l'indice d'acidité de ce liquide est de 0,87; il a un indice d'ester de 2,9 et 1,62 % de résidu

sec; 100 g de racine fraîche ont ainsi perdu 1,7 g de leur extrait alcoolique, soit le 28,1 % (récolte du 15-3-45).

La drogue ainsi «stabilisée», séchée à l'étuve à 40°, donne 51 g de drogue sèche, de teinte gris-noir, soit 17 % de la drogue fraîche, alors qu'en séchant la drogue fraîche pour en déterminer la matière sèche, j'obtiens 18,7 %; la différence de 1,7 % correspond exactement à l'extrait trouvé au fond de l'autoclave.

La méthode de PERROT et GORIS (235), modifiée par WEISFLOG et Büchi (330) n'améliore que partiellement le résultat : au fond de l'autoclave je retrouve 142 g de liquide vert plus foncé que celui de l'expérience précédente, laissant 2,93 % de résidu sec; 100 g de racine ont donc abandonné 1,39 g soit 24,8 % de l'extrait alcoolique, ce qui représente une perte inacceptable.

#### CHAPITRE XIX : Conclusions.

Les recherches bibliographiques et l'étude critique des publications qui se rapportent à la Valériane (première partie) sont une mise au point de nos connaissances sur la racine de Valériane fraîche et sèche; j'ai relevé des lacunes, des erreurs et des contradictions; plusieurs points mériteraient encore d'être repris. Je passe aussi en revue les méthodes proposées pour le dosage de l'essence dans les drogues.

L'étude de la variation des caractéristiques chimiques et galéniques de la drogue fraîche (deuxième partie) permet de préciser à quelle époque de l'année on récolte la drogue de la meilleure qualité : je propose de récolter le plus tard possible en automne, ou en hiver avant le départ de la végétation, qui se produit parfois au début de mars déjà, sous la neige. La drogue récoltée de novembre à février a un maximum de matière sèche, d'extrait, d'essence (pas toujours). Le terrain n'a qu'une faible influence sur la composition chimique générale de la drogue fraîche, tandis que la saison et les conditions météorologiques ont une influence prépondérante. Une drogue récoltée après une période sèche et ensoleillée est en général de qualité supérieure à celle d'une drogue récoltée après une période pluvieuse, dans un terrain détrempé.

Des teintures Ph. H. V préparées avec de la drogue fraîche récoltée aux divers mois de l'année ne diffèrent guère que par leur teneur en résidu sec; les indices d'acidité, de saponification et d'ester de la teinture ne donnent guère d'indications sur la valeur de la teinture; le résidu sec semble au

contraire déterminant. Les normes prévues par la Ph. H. V sont trop basses; au lieu de 1,8 à 2,6 %, je propose d'exiger 2,5 à 4 %.

Les recherches pharmacologiques de la troisième partie ont révélé l'utilité du poisson rouge (Cyprin doré) pour l'étude qualitative et quantitative (dosage biologique) des préparations de Valériane. Grâce à la méthode mise au point, je démontre la supériorité des préparations stabilisées de Valériane telles que la teinture Ph. H. V; je prouve que l'activité sédatrice de la teinture stabilisée n'est pas proportionnelle à la teneur en essence de la drogue employée; je parviens enfin à distinguer quatre groupes de substances actives dans la Valériane, d'après leur action sur le Cyprin doré.

Les propriétés de chaque groupe : volatilité, résistance à la chaleur, aux actions enzymatiques, permettent d'interpréter et de coordonner les observations souvent contradictoires des divers auteurs qui ont étudié l'action pharmacologique de la Valériane et des préparations qui en dérivent.

Les recherches et observations chimiques de la quatrième partie précisent la composition des acides volatils de la Valériane, les conditions dans lesquelles ils sont libérés et formés, leurs rapports avec les acides non volatils de la drogue et des préparations galéniques. Je peux confirmer la présence de faibles quantités d'hétéroside dans la racine fraîche et sa teinture stabilisée. La Valériane est, à mon avis, une drogue qui ne se laisse guère classer comme l'ont fait HÉRAIL, FLÜCKIGER, WASICKY (drogue à essence) et TSCHIRCH, MORITZ (drogue à acides volatils), car ses principes actifs sont nombreux et divers.

Nos recherches galéniques nous font proposer de modifier les prescriptions de la Ph. H.V pour la préparation de la teinture et pour son examen. Voici le texte proposé :

#### TINCTURA VALERIANAE

Syn. *Alcoholatura Valerianae stabilisata*. Teinture de Valériane, Baldriantinktur. Tintura di valeriana.

1 P. de teinture correspond à 0,55 P.<sup>1</sup> env. de racine fraîche de Valériane.

PRÉPARATION :	Rhizoma Valerianae recens	1000 P.
	Spiritus	q. s.

*Il faut récolter la racine fraîche et préparer la teinture aux mois de novembre à février.*

<sup>1</sup> Malgré les corrections officiellement apportées à la Ph. H.V, BERNOULLI et THOMANN (32) transcrivent encore 1 P. de teinture = 1 P. de racine fraîche.

Dans un ballon de verre à large col, muni d'un réfrigérant à reflux, faites bouillir au bain-marie 1000 P. d'alcool; dans l'alcool bouillant, introduisez aussi rapidement que possible, sans interrompre l'ébullition de l'alcool, 1000 P. de racine de Valériane fraîche, non coupée, mais bien lavée. Quand toute la racine est introduite, maintenez encore à l'ébullition pendant 5 minutes, puis laissez refroidir; décantez le liquide alcoolique et mettez-le de côté; hâchez finement les racines et remettez la pâte obtenue dans le ballon avec le liquide alcoolique; complétez à 2000 P. avec de l'alcool, chauffez de nouveau le mélange au bain-marie bouillant et maintenez l'ébullition à reflux pendant 5 minutes. Après refroidissement, complétez, si c'est nécessaire, à 2000 P. avec de l'alcool, décantez le liquide alcoolique et exprimez le marc; réunissez les liquides décantés et exprimés, laissez reposer pendant 8 jours au froid et filtrez.

**EXAMEN :** Liquide limpide, brun clair à peine verdâtre, qui a nettement l'odeur et la saveur de la racine fraîche.

La teinture de Valériane donne avec 3 fois son volume d'eau un mélange très légèrement opalescent, de réaction faiblement acide, qui se trouble par l'addition de quelques gouttes d'acide acétique dilué R. On ne doit pas déceler de métaux lourds dans cette solution.

1 cm<sup>3</sup> de teinture de valériane additionnée de 1 goutte de chlorure ferrique R. prend une coloration verte; au bout d'un certain temps, ce mélange laisse déposer un précipité vert sale.

Diluez 5 g de teinture de Valériane avec de l'eau jusqu'à 100 cm<sup>3</sup>; ajoutez 5-6 gouttes de phénolphtaléine; il faut employer 0,7 à 1,0 cm<sup>3</sup> de soude caustique 0,1 n pour obtenir une coloration rouge nette; cette solution neutralisée, laissée à l'air, doit se colorer en vert dans l'espace de 3 heures.

Le résidu sec de la teinture, déterminé sur 10 g doit être de 2,5 à 4,0 %.

La teneur en alcool doit être de 54 à 60 vol. %.

**CONSERVATION :** A l'abri de la lumière, en flacon bien bouché, si possible à la glacière.

BIBLIOGRAPHIE <sup>1</sup>

- 1 ADOLF, N. — *Heil-Gewürz-pfl.* 12, 23 (1930).
- 2 AGULHON, H. — *Bl.* [4] 13, 404 (1913).
- 3 ALLGEIER, R.-J., PETERSON, W.-H. et FRED, E.-B. — *J. Bacteriol.* 17, 79 (1929), dans *C.* 1930 I, 3703 et dans KLEIN (179).
- 4 ANDREAS, S. — Thèse Tubingue 1938, dans *Ber. Schimmel* 1940, 68.
- 5 ANSELMINO, O. et GILG, E. — Komm. D. A. B. 6, 2, 352 (1928).
- 6 APPL, J. — *Heil-Gewürz-pfl.* 7, 93 et 109 (1923).
- 7 ARNOLD et MENTZEL. — *B.* 35, 2902 (1902).
- 8 ARNST, TH. et HART, F. — *Z. ang. Ch.* 6, 136 (1893).
- 9 ARRAGON, CH. — *J. S. P.* 53, 222 (1915).
- 10 ASAHIWA, Y. et HONGO, C. — *J. pharm. Soc. Jap.* 506, 227 (1924), dans *C.* 1924 II, 673.
- 11 ASAHIWA, Y. et NAKANISHI, S. — *J. pharm. Soc. Jap.* 536, 823 (1926); 544, 485 (1927); 551, 1 (1928), dans *C.* 1927 I, 429; 1927 II, 1036; 1928 I, 1861; 1929 I, 2530.
- 12 ASCHOFF, L. — *Ar.* 98, 275-279 (1846).
- 13 AUGUSTIN, B. — *Heil-Gewürz-pfl.* 12, 86 (1929).
- 14 AYE, D. — *Mitt. D. pharm. Ges.* 1930, 111.
- 15 BÄNNINGER. — *J. S. P.* 76, 13-15 (1938).
- 16 BALDWIN, E.-J. — *C.* 1927 II, 1773 et *Ber. Schimmel* 1928, 152.
- 17 BAM, L. — *Ber. Physiol.* 116, 140 (1940).
- 18 BAUDIN, L. — *C. r. Soc. biol.* 109, 731 (1932); 115, 510 (1934).
- 19 BAUER, K.-H. — *P. C. H.* 83, 361-364 (1942).
- 20 BAUER, K.-H. — *P. C. H.* 83, 256 (1942).
- 21 BAUER, K.-H., LIMBACH, L. et KAEPPLER. — *P. C. H.* 76, 501 (1935).
- 22 BAUER, K.-H. et POHLOUDEK, R. — *P. C. H.* 84, 221 (1943).
- 23 BAUER, R. — *Pharm. Ztg.* 73, 920 (1928), dans *C.* 1928 II, 1242.
- 24 BECK, E. — *Schweiz. med. Wschr.* 11, 1180 (1930).
- 25 BECKMANN, E. et DANCKWORTT, P. — *Ar.* 245, 211-234 (1907); 247, 110 (1909).
- 26 BECKURTZ, VON et FRERICHS, G. — *Apoth. Ztg.* 12, 563 (1897).
- 27 BEEBY. — *Journ. Bot.* 1888.
- 28 BEILLE, L. — Précis de bot. pharm. 2, 1594-1600 (1934).
- 29 BEILSTEIN, F.-K. — Handbuch der organischen Chemie E I, 2, 135; E II, 2, 18 (1942).
- 30 BERGMANN, M. — *P. C. H.* 71, 785 (1930).
- 31 BERL-LUNGE. — Chemisch-technische Untersuchungsmethoden 5, 349 (1934).
- 32 BERNOULLI, E. et THOMANN, J. — Arzneimitt. 4<sup>e</sup> éd. (Bâle 1943), 32.

<sup>1</sup> Les abréviations qui désignent les périodiques sont celles de BEILSTEIN, Handb. der org. Chemie E II, 1, IX (1941). Le premier des nombres est le numéro du volume, le suivant celui de la page.

33. BERTRAM, J. et GILDEMEISTER, E. — *Ar.* 228, 483-492 (1890).
34. BERTRAM, J. et WALBAUM. — *J. pr.* [2] 49, 18 (1894).
35. BERTRAND, GAB. — *C. r.* 124, 1032, 1035 (1897).
36. BEYTHIEN, A., HARTWICH, C. et KLIMMER, M. — *Handbuch der Nahrungsmitteluntersuchung* 1, 446-521 (1914).
37. BIJLSMA, U.-G. — *Pharm. Weckbl.* 72 (5-10-35), dans *J. Pharm. Belg.* 17, 976 (1935).
38. BINZ, C. — *Ar. Pth.* 5, 109 (1876).
39. BLACKIE, J.-J. et RITCHIE, D. — *Pharm. J.* 142, 299 (1939), dans *C. 1939 I*, 4503.
40. BOCHWIC, B. et RUSIECKI, W. — *Acta Polon. pharm.* 2, 46-48 (1938), dans *C. 1938 II*, 549.
41. BÖHME, H. et WAGNER, J. — *Ar.* 276, 242 (1938).
42. BOELMANN, H.-A.-C. — *Heil-Gewürz-pfl.* 15, 30 (1933).
43. BORUTTAU. — *Dtsch. med. Wschr.* 44, 1109 (1918), dans *C. 1918 II*, 968.
44. BOSHART, K. — *Heil-Gewürz-pfl.* 3, 57 (1919) et 9, 153 (1927).
45. BOSHART, K. — *Ibid.* 6, 81 (1924) et 21, 112 (1942).
46. BOSHART, K. — *Pharm. Ind.* 8, 405 (1941), dans *C. 1942 I*, 1530.
47. BOUCHARDAT. — *Manuel de matière médicale* 1, 290 (1865).
48. BOURQUELOT, EM. — *J. P. C.* [6] 4, 481-5 (1896).
49. BOURQUELOT, EM. — *J. P. C.* [6] 14, 481-7 (1901) et 23, 369-375 (1906).
50. BOURQUELOT, EM. — *J. P. C.* [7] 3, 145-161 (1911).
51. BOURQUELOT, EM. et HÉRISSEY, H. — *J. P. C.* [6] 12, 421 (1900).
52. BRANDT, W. — *Ar.* 264, 636 (1926).
53. BRAUN. — *Ar.* 235, 1 et 18 (1897).
54. BREDDIN. — *Pharm.-Ztg.* 1936, № 9, dans W. KERN, *Angewandte Pharmacie*, 2<sup>e</sup> éd., Berlin 1937, p. 52.
55. BRIEGER, R. — KLEIN, *Handbuch der Pflanzenanal.* 1, 566 (1931).
56. BROOKS, B. — *Am. Soc.* 34, 67-74 (1912); *C. 1912 I*, 833.
57. BROWN, F.-D. — *Trans. Chem. Soc.* 1879, 550; 1880, 304; 1881, 517.
58. BROWN, J.-A. — *Analyst* 35, 392 (1910); *C. 1910 II*, 1168.
59. BRUN, P. — *Précis de matière médicale*, (Paris 1936), p. 560.
60. BRUYLANTS, G. — *B.* 11, 453 (1878).
61. BUDDLE, TH. et v. LAGIEWSKI, G. — *Apoth.-Ztg.* 51, 1600 (1936), dans *Ber. Schimmel* 1938, 160 et *C. 1937 I*, 1979.
62. BÜRGI, EM. — *Die Arzneikombination*, Berlin 1938.
63. BULLOCK, K. — *Pharm. J.* 113, 109-113 (1924), dans *P. C. H.* 66, 43 (1925).
64. BULLOCK, K. — *Pharm. J.* 115, 122-5 (1925); 117, 152-7 (1926); dans *C. 1925 II*, 1768 et *1926 II*, 1545.
65. BUTTGENBACH. — *Fr.* 145, 141 (1925).
66. CADEAC et MEUNIER. — Cité par BECK (24).
67. CAMUS, E.-C. — *B. S. P.* 3, 57 (1901).
68. CARLES, P. — *J. P. C.* [6] 12, 148-150 (1900).
69. CARLES, P. — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* (1903), dans *J. P. C.* [6] 18, 610-612 (1903).

70. CHATTOPADHYAY, P. — *J. Soc. chem. Ind.* 32, 968 (1913), dans *C.* 1914 I, 727 et *Ber. Schimmel* 1914, 118.
71. CHEVALIER, J. — *C. r.* 144, 154-157 (1917); *Pharm. J.* [4] 24, 554 (1907).
72. CHEVALIER, J. — *Bull. gén. Thérap.* 153, 815 à 825 (1907).
73. CIONGA, E. — Recherches chimiques sur la Valériane officinale, thèse, Paris 1936, *C. r.* 200, 780-782; 201, 1152-1154 (1935).
74. CLEVENGER, J.-F. — *J. am. ph. Assoc.* 17, 345-349 (1928), dans *Ber. Schimmel* 1929, 150; *C.* 1928 II, 1272.
75. CLOETTA. — Cité par BECK (24).
76. COCKING, T. et MIDDLETON, G. — *Perf. essent. Oil Rec.* 23, 310 (1932); 26, 207 (1935); dans *Ber. Schimmel* 1933, 98; 1936, 145; *C.* 1933 I, 3375 et *C.* 1936 I, 3175.
77. COCX, M.-A. — *Pharm. Weekbl.* 56, 735-755 (1919), dans *C.* 1919 IV, 165.
78. CODEX GALLICUS (éd. 1937), p. 33, 287 et 758.
79. CONRAD, M. et GUTZEIT, M. — *B.* 18, 439, 2905 (1885); 19, 2568, 2575 (1886).
80. CRIPPS, R.-A. et BROWN, J.-A. — *Analyst* 34, 519 (1909), dans *C.* 1910 I, 691.
81. CZETSCH-LINDENWALD, H. v. — *P. C. H.* 81, 73 (1940); *Südd. Apoth. Ztg.* 81, 485 (1941).
82. CZYRNIANSKI, E. — *A.* 71, 21 (1849).
83. DAFERT, O. — *Ztschr. landw. Vers. in D.Oesterr.* 26, 105 (1923), dans *C.* 1924 I, 2642.
84. DAFERT, O. et KWIZDA. — *Heil-Gewürz-pfl.* 8, 129 (1936).
85. DEUTSCHES ARZNEIBUCH (D. A. B.) 6<sup>e</sup> éd. (1926), p. XL.
86. DIOSCORIDE. — *Mat.med.* 1, cap. 10.
87. DRABBLE, E. et SMITH, U. — *Pharm. J.* [4] 19, 1794 (1904), dans *B. S. P.* 11, 61 (1909).
88. DRUCKREY, H. et KOEHLER, G. — *Ar. Pth.* 183, 106 à 109 (1936).
89. DUCLAUX, E. — Traité de microbiologie, 3, 385-395 (1900); 4, 685 (1901).
90. DUCLERGET, J. — Etude botanique de la Valériane, thèse Nancy 1921, dans *B. S. P.* 28, 530 (1921).
91. DUPRÉ, P.-V. — *Analyst* 31, 213-218 (1906); *C.* 1906 II, 913.
92. DUPREGAZZI, A. — *J. P. C.* [3] 37, 365 (1860).
93. EICHHOLTZ, FR. — Lehrbuch der Pharmakologie (1944), p. 173.
94. EICHHOLTZ, FR. et KRAUTH. — *Ar. Pth.* 184, 667 (1937).
95. ERIENMEYER, EM. et HELL, C. — *A.* 160, 257-272 (1871).
96. FELDMANN. — Thèse méd. Berne 1935.
97. FELLENBERG, TH. v. — *T. C. A.* 13, 290-296 (1927).
98. FÉRÉ, CH. — *C. r. Soc. Biol.* 58, 981 (1905).
99. FICHTER, M. — *Pharm. Acta. Helv.* 14, 163 à 170 (1939).
100. FINCKE, H. — *Z. U. N. G.* 25, 386 (1913).
101. FISCHER, F. — Thèse Bâle 1937; *Heil-Gewürz-pfl.* 18, 46 (1938).
102. FISCHER, H.-O.-L. — *B.* 54, 775 (1921); 65, 1009, 1037 (1932).
103. FISCHER, R. — *Apoth. Ztg.* 44, 435 (1929); WASICKY, *Pharm. Untersuchung* 1, 120 (1936).

104. FISCHER, R. — Praktikum der Pharmakognosie (Vienne 1942), p. 238.
105. FLEURY, P. — *C. r.* 178, 814, 1027; 179, 709 (1924); *Bl. Soc. Chim. biol.* 6, 436, 536, 592 (1924).
106. FLÜCK, H. — *J. S. P.* 82, 38 (1944); 83, 169 (1945).
107. FLÜCKIGER, F.-A. — Grundriss der Pharmakognosie (Berlin 1884), p. 218.
108. FLÜCKIGER, F.-A. et KOPP. — *Ar.* 209, 204 (1876).
109. FREUDENBERG, K. — *B.* 53, 233 (1920), et dans KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse 3, 366 (1932).
110. FREY, B. — Pharmakologie des Baldrians, thèse Berne 1943.
111. GEIGER, H. — *Heil-Gewürz-pfl.* 1, 36 (1917).
112. GERHARDT, C. — *J. pr.* [1] 27, 124 (1842); 28, 34 (1843); A. 45, 29 (1843); *Ann. Ch. et Phys.* [3] 7, 275 (1843).
113. GERHARDT, C. et CAHOURS. — *Ann. Ch. et Phys.* [3] 1, 60 (1841).
114. GEROCK, J.-E. — *J. Pharm. Als. Lor.* 19, 82-84 (1892), dans GILDEMEISTER et HOFFMANN (120).
115. GFEILLER, H. — *Pharm. Acta. Helv.* 4, 200 (1929).
116. GIFFEN, H.-J. VAN. — *Pharm. Weekbl.* 73, 641 (1936); 74, 812 (1937).
117. GIFFEN, H.-J. VAN. — *Ibid.* 76, 189-195 (1939); 77, 367-370 (1940).
118. GILDEMEISTER, E. et HOFFMANN, FR. — Die ätherische Oele, 3<sup>e</sup> éd., Leipzig 1928-1931, 1, 66 et 206-214 (1928).
119. Id. — *Ibid.* 1, 716-717 (1928).
120. Id. — *Ibid.* 3, 936 (1931).
121. GILG, E., BRANDT, W. et SCHÜRHOFF, N.-P. — Lehrbuch der Pharmakognosie, 4<sup>e</sup> éd., p. 425-429 (1927).
122. GOLAZ, H. — *J. S. P.* 61, 127, 229 (1923); 62, 16 (1924).
123. GOLDBERG, L., WIRTH, E.-H. et collab. — *J. Am. pharm.* 27, 385-392 (1938); *Pharm. Weekbl.* 77, 367-370 (1940).
124. GORIS, A. et ARNOUD. — *B. S. P.* 14, 159-161 (1907).
125. GORIS, A. et VISCHNIAC, CH. — *B. S. P.* 28, 493 (1921); *C. r.* 172, 1059-1061 (1921).
126. GORTER, K. — A. 358, 327-348 (1907); 359, 217-235, 237-240; 242-244 (1908); *Ar.* 247, 184-200 (1909).
127. GOTTLIEB. — *Farmaceutisk Tidende* 1927, 333, dans *P. C. H.* 68, 647 (1927).
128. GRAF, FR. — *Pharm. Ztg.* 1928, 1167.
129. GRIEBEL, C. — *Z. U. N. G.* 51, 321 (1926).
130. GRIMME, CL. — *P. C. H.* 74, (1933).
131. GRISAR. — Pharmakodyn. der äther. Oele, thèse Bonn 1873.
132. GROTE, J.-N. — *Ar.* 33, 160 (1830); 38, 4-8 (1831).
133. GSTIRNER, FR. — Handbuch der galenischen Pharm., Berlin-Stuttgart, 1936, p. 682-696.
134. GUBERMANN, CH. — Pharmakol. Unters. einiger aus dem Baldrian hergestellten Extrakte, thèse méd. Berne 1939.
135. GUBLER. — Cité par BECK (24).
136. HABERLAND, K.-R. — *Fr.* 38, 217 (1899).
137. HAENSEL. — *C.* 1909 II, 1556.

138. HAERTEL, F. et WILL, R. — *Z. U. N. G.* 14, 567-571 (1907).
139. HAFFNER, F. — *Münch. med. Wschr.* 76, № 7, 1 (1929).
140. HAGER, H.-H. — Handbuch der Pharm. Erg.-bd. 843 (1944).
141. HAHNEMANN, S. — Dans Homöopathisches Arzneibuch, 2<sup>e</sup> éd., Leipzig 1934, p. 1-5; SCHELENZ (272).
142. HALLER. — *C. r.* 103, 151 (1886).
143. HARLAY, M. — Le saccharose dans les organes végétaux souterrains, thèse pharm. Paris 1905.
144. HECHT, W. — *Heil-Gewürz-pfl.* 12, 97 (1929); 14, 15 (1931); 121 (1932); 16, 1 (1934).
145. HEEGER, E.-F. — *Heil-Gewürz-pfl.* 21, 1-35 (1942).
146. HEGI, G. — Illustr. Flora von Mittel-Europa 6, 267-277 (1918).
147. HÉRAIL, J. — Traité de matière médicale, 3<sup>e</sup> éd. 1927, p. 252.
148. HÉRISSEY, H. — *J. P. C.* [8] 16, 513 (1932).
149. HILL, E.-G. et SIRKAR, A.-P. — *Soc.* 107, 1437 (1915).
150. HIMMELBAUR, W., KOCH, W. et HECHT, W. — *Heil-Gewürz-pfl.* 14, 139-140 (1931).
151. HINNARD, G. et PRADES. — *B. S. P.* 37, 469-477 (1930).
152. HÖCK, F. — *Englers Bot. Jahrb.* 3, 1 (1882).
153. HOLDERMANN, RICH et PFAEFFLE, H. — *Apoth. Ztg.* 57, 142 (1942).
154. HOLMBERG, B. et LINDBERG, S. — *B.* 56, 2048 (1923).
155. HOLSTE. — *Dtsche med. Wschr.* 1916, 599.
156. HOLZMANN, S. — *Ar.* 236, 409-441 (1898).
157. HONDELINK, H. — *Ar. Pth.* 163, 662-671 (1932).
158. HORKHEIMER, PH. — *Pharm. Ztg.* 80, 148-149 (1935), dans *C.* 1935 I, 3010.
159. HUERRE, R. — *J. P. C.* [7] 20, 216 (1919).
160. IHBE, H. — Populationsanalyse von Valeriana officinalis hercynica, thèse Leipzig 1937.
161. ITALLIE, L. VAN, KERBOSCH, M. et OLIVIER, A.-P. — *Pharm. Weekbl.* 52, 205 (1915), dans *C.* 1915 I, 858.
162. JACQUELIN, J. — Thèse pharm. Paris 1939, p. 58.
163. JAEGERHORN, E. et TIKKANEN, E. — *Pharmacia* 1926, № 5, dans *C.* 1927 II, 1520.
164. JANOT, M. et CIONGA, EM. — *B. S. P.* 42, 349-351 (1935).
165. JARETZKY, K. — Lehrbuch der Pharmakognosie (1937).
166. JOHNSTONE, W. — *Analyst* 14, 41 (1889), dans *C.* 1889 I, 481.
167. JORDI, A. — *Praxis* 1944, 121, dans *J. S. P.* 82, 549 (1944).
168. KAISER, H. et FUERST, E. — *Südd. Apoth. Ztg.* 76, 265 (1936), dans *C.* 1936 II, 335..
169. KARIYONE, T. et HORINO, K. — *J. Pharm. Soc. Jap.* 50, 28-31 (1930), dans *Ber. Schimmel* 1927, 163 et *C.* 1930 II, 1741.
170. KARSTEN, G. et BENECKE, W. — Lehrb. der Pharmakognosie, Jena 1928, p. 102-104.
171. KATZ, J. — *P. C. H.* 42, 291 (1901).
172. KAUFMANN, H.-P. — *Ar.* 267, 1-27 et 249-267 (1929).
173. KIONKA. — *Arch. int. Ph. et Thérap.* 13, 215 (1904), dans *B. S. P.* 11, 195 (1905).

174. KIONKA et LIEBRECHT. — *Dtsche med. Wschr.* 1901, № 49.
175. KISS, M. — *Ber. Ung. Pharm. Ges.* 2, 137-169 (1933); 3, 305-337; 4, 408-436 (1934); *P. C. H.* 84, 61 (1943).
176. KISS, M. — *Ber. Ung. Pharm. Ges.* 17, 305-335 (1941), dans *C* 1942 I, 80 et *Ber. Schimmel* 1942, 75.
177. KISS, M. — *Ber. Ung. Pharm. Ges.* 17, 474-478 (1941), dans *C*. 1942, 1530.
178. KLASSERT, M. — *Z. U. N. G.* 17, 131-132 (1909).
179. KLEIN, G. — Handb. der Pflanzenanal. 2, 376 sq. (1932).
180. KLEINMANN, H. dans KLEIN (179), p. 411.
181. KOCH, K. — *Apoth. Ztg.* 54, 310 (1939).
182. KOCH, L. — Mikroskopische Analyse der Drogenpulver 2, p. 251 (Leipzig 1903).
183. KOCH, L. et GILG, E. — Pharmakogn. Praktikum (Berlin 1907) p. 132-134.
184. KOCHMANN, M. et KUNZ. — *Ar. Pth.* 181, 421-434 (1936); *P. C. H.* 77, 762 (1936).
185. KÖHLER-PABST. — Med. Pfl.-Atlas 1, Tafel 47 (Gera 1884).
186. KOFLER, L. — *Ar.* 273, 388 (1935).
187. KOFLER, L. et KRAEMER, F.-I. — *Ar.* 269, 416 (1931).
188. KREYER, G.-K. — *Bull. Appl. Bot. Genetics a. Plant-Breeding* 23, 123-133 (1930); *Heil-Gewürz-pfl.* 12, 23 (1929).
189. KREYER, G.-K. — *Heil-Gewürz-pfl.* 12, 24 (1929); 13, 20 (1930).
190. KROMER, N. — *P. C. H.* 49, 397 (1908).
191. KUBOWITZ, F. — *Biochem. Z.* 292, 221-229 (1937); 296, 443 (1938).
192. KUHN, A. et SEIFERT, R. — *Jahrb. Madaus* 1932, p. 43; *Pharm. Ztg.* 79, 99 (1934).
193. LA FACE, F. — *Pharm. Ind.* 1942, fasc. 6.
194. LANGHELD, K. et ZEILEIS, A. — *B.* 46, 1171 (1913); KLEIN (179).
195. LAUDER et BRAUPTEM. — Dans SMODLAKA (289).
- 195 bis LEGRAS, M. — Contrib. à l'ét. physiol. et chim. du bornéol, de ses esters et de l'essence de Valériane, thèse méd. Paris 1906.
196. LENZ, W. — *Fr.* 32, 496 (1893).
197. LESUEUR. — *J. P. C.* [6] 30, 49 (1909); [7] 1, 239, 285, 432, 484 (1910).
198. LINDBERG, J. — *Pharm. Zschr. f. Russl.* 25, 32 (1886).
199. LIPPERT, F. — Zur Praxis des Heilpflanzenanbaus, Dresden 1939.
200. MACHT et MORA. — *J. Pharm. exper. Therap.* 16, 17 (1921).
201. MAILLEFER, A. — *Mém. Soc. vaud. Sc. nat.* 8, 277-340 (1946).
202. MAJCHERCZYK, J.-R. — *Acta Polon. Pharm.* 3, 57-78 (1939); *P. C. H.* 81, 187 (1940).
203. MANN, C. — *Ar.* 240, 149 (1902).
204. *Manuel suisse d'analyse des denrées*, 3<sup>e</sup> éd., p. 226 (1917-1919). 4<sup>e</sup> éd., p. 262 (1937-1939).
205. MARZELL, H. — *Heil-Gewürz-pfl.* 3, 88 (1919); 13, 37 (1930).
206. MEYER, H. et GOTTLIEB, R. — Die experimentelle Pharmacologie, 3<sup>e</sup> éd. (Berlin-Wien 1914).

207. MEYER, O. — Höhenlage und Wirkstoffgehalt, thèse E. P. F. Zurich 1936.
208. MIGNON, P. — Etude anatomique de la racine de Valérianne, thèse Paris 1920.
209. MIJNHARDT, H.-TH. — *Pharm. Weekbl.* 73, 791 (1936).
210. MODRAKOWSKI, J. et MAJCHERCZYK, J.-R. — *Bull. Acc. Polon. Sc. cl. Méd.* 1937, 779.
211. MOELLER, J. — Pharmakognostischer Atlas, Berlin 1892, 426.
212. MOHR, P. — Ueber die Auswertung von Baldrianpräparaten, thèse Heidelberg 1937.
213. MORITZ, O. — Einführung in d. all. Pharmakognosie (Jena 1936).
214. MORITZ, O. — Ar. 276, 368 (1938); *Apoth. Ztg.* 55, 507-509; 516-518 (1940).
215. NAVES, Y.-R. — *Helv.* 25, 1506 (1942); 27, 1103 (1944).
216. NAVES, Y.-R., SABETAY, S. et PALFRAY. — *Ann. Ch. anal et appl.* [3] 19, 201-227 (1937).
217. NEIPP, L. — *Pharm. Acta Helv.* 18, 510 (1943).
218. NITSCHIPOROWITSCH, A. — C. 1930 II, 3470.
219. NOLLE, J. — Ar. *Pth.* 145, 248-254 (1929), dans *B. S. P.* 37, 525 (1930).
220. NOTHNAGEL, H. — ZIEMSEN'S Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie 12 II, 274 (Leipzig 1875); dans DARMSTAEDTER, *Heil-Gewürz-pfl.* 15, 16 (1933).
221. NYLANDER, A. — *Farm. Revy* 1935, № 32-34, dans *Pharm. Ztg.* 80, 1031 (1935).
222. OESTLING, G.-J. — *Heil-Gewürz-pfl.* 8, 157 (1926).
223. OESTLING, G.-J. — *Heil-Gewürz-pfl.* 10, 189 (1927); *Dansk Tidskrift for Farmaci* 1927, 363, 374, dans *P. C. H.* 68, 646 (1927).
224. OLIVIERO, M. — C. r. 117, 1096-1097 (1893); *Bl.* [3] 11, 150-152 (1894); 13, 917-926 (1895); Etude chimique de l'essence de Valérianne, thèse pharm. Paris 1895.
225. ONODERA, J. — C. 1920 IV, 271.
226. ORDINSKY, S.-I. — *Arb. allruss. Inst. exp. Med.* 1, 161-691 (1934), dans C. 1936 II, 2166.
227. OSSE, O. — Ar. 207, 104-124 (1875).
228. PANZER, H. — Bestimm. von aeth. Oelen, thèse Jena 1939.
229. PARANT, E. — Etude physiologique et clinique de la Valérianne, thèse méd. Paris 1905.
230. PARIS, H. — *Acta Comment. Univ. Tartuensis* 36, 211 (1940). dans C. 1942 I, 1658.
231. PASCAL, P. — Traité de chimie minérale 8, 493 (1933); 10, 406, 597-679, 681 (1933).
232. PELOUZE. — C. r. 11, 365 (1841).
233. PENTZ, H. — Ar. 28, 337-338 (1829).
234. PERONNET, M. — *J. P. C.* [8] 21, 503-513 (1935).
235. PERROT, E. et GORIS, A. — *Bull. Ac. Méd.* [3] 62, 97-99 (1909); *B. S. P.* 16, 381 (1909).

236. PEYER, W. et DIEPENBROCK, F. — *Apoth. Ztg.* 41, 201 et 209 (1926).
237. PEYER, W. et DIEPENBROCK, F. — *P. C. H.* 68, 481 (1927).
238. PEYER, W. et IFFINGER, H. — *Apoth. Ztg.* 46, 740 (1931).
239. *Pharmacopée belge*, 4<sup>e</sup> éd. (1930), p. 571.
240. *Pharmacopéy of the U. S. A.*, 11<sup>e</sup> éd. (1936), p. 473-475.
241. PIERLOT, M. — *C. r.* 48, 1018 (1859); *Ann. Ch. et Phys.* [3] 14, 295 (1845); 56, 291-297 (1859).
242. PLANCHON, L., BRETIN, Ph. et MANCEAU, P. — *Précis de matière médicale*, 4<sup>e</sup> éd. (Paris 1937), 2, 1495.
243. PLINE. — *Nat. Hist. lib. XII, cap. XII.*
244. POTTIER, R. — Dosage des essences, thèse Paris 1939, dans JACQUELIN (162).
245. POUCHET, G. et CHEVALIER, J. — *Bull. gén. Thérap.* 147, 139-146 (1904); 159, 25-27 (1905); *B. S. P.* 11, 13\* (1905).
246. POULSSON, E. — *Lehrbuch der Pharmacologie* (1930).
247. POWER et KLEBER. — *Ar.* 232, 642 (1894).
248. PRITZKER, Y. et JUNGKUNZ, R. — *T. C. A.* 30, 256-282 (1939); *Pharm. Acta Helv.* 16, 153 (1941); 18, 651 (1943); 19, 47 (1944).
249. RABBENO, A. — *Ar. int. Pharm. et Thérap.* 35, 377-423; 36, 172-204 (1929); 39, 387-424 (1930); *Ar. Farm. sper. et Sc. aff.* 48, 1-17 (1929).
250. RANWEZ. — *Bl. Ac. roy. Méd. Belg.* [4] 6, 757 (1892), dans *J. P. C.* [5] 27, 58 (1893) et *Fr.* 32, 495 (1893).
251. RATH, E. — *Ar. Pth.* 142, 162-165 (1929), dans *Apoth. Ztg.* 45, 238 (1930).
252. RAWETZKY, A. — *Heil-Gewürz-pfl.* 15, 135 (1933).
253. REICH, R. — *Z. U. N. G.* 16, 498-507 (1908); 18, 402 (1909).
254. REINBOLDT, H. — *Heil-Gewürz-pfl.* 3, 1 et 33 (1919).
255. REINHOLD. — *Pharm. Ind.* 8, 330 (1941).
256. REUTER. — *Ar.* 227, 492 (1889).
257. RICHARDSON, CL. — *Foods a. foodadulterants 2, Spices a. Condiments*, *Bull.* № 13, p. 206 (Washington 1887).
258. RICHAUD, A. et HAZARD, R. — *Précis de Thérapeutique et de Pharmacologie*, 7<sup>e</sup> éd. (Paris 1935), p. 891.
259. RJABINOWSKY, LEPNOVA, CHIERNAVIN et collab. — *Heil-Gewürz-pfl.* 17, 50 (1934).
260. ROCHLEDER, F. — *A.* 44, 1 (1842); 59, 300-310 (1846).
261. RUDORF, FR. — *B.* 21, 279 (1888).
262. RUNGE. — Dans CZYRNIANSKY (82).
263. RUPP, E. — *Apoth. Ztg.* 50, 712 (1934); *J. S. P.* 73, 325 (1935).
264. RUSIECKI, W. — *Farmacja współczesna* 6, 3-11, 98-106 (1937); dans *C.* 1938 II, 885; 1939 I, 1404; *J. S. P.* 76, 193 (1938); *P. C. H.* 78, 634 (1937).
265. RUTOWSKI, B.-N. et collab. — *J. Chim. appl. (russe)* 13, 576-578 (1940), dans *C.* 1940 II, 3037.
266. RUZICKA, L. et HAAGEN SMIT, A.-J. — *Helv.* 14, 1104-1132 (1931).

267. RYDEN, TH. *Swensk Farm. Tids' rift* 1917, 525-529, dans *Apoth. Ztg.* 32, 588 (1917).
268. SABALITSCHKA, TH. — *Sc. pharm.* 8, 104-107 (1937), dans *C.* 1938 I, 935.
269. SABETAY, S. — *Ann. Ch. anal. et appl.* [3], 21, 173-176 (1939); 22, 95 (1940).
270. SAGE, E. et FLECK, H.-R. — *Analyst* 59, 614 (1934), dans *Ber. Schimmel* 1935, 123 et *C.* 1935 I, 2701.
271. SANDOZ, M. et STRZYZOWSKI, C. — *Bull. Soc. vaud. Sc. nat.* 53, 288 (1920).
272. SCHELENZ, H. — *Geschichte der Pharmacie*, Berlin 1904.
273. SCHENKER, E. — *Die Bestimmung der aetherischen Oele*, thèse E. P. F., Zurich 1933.
274. SCHIFF, R. — *B.* 10, 1500-1503 (1877).
275. SCHIMMEL-Berichte 1942/43, 74.
276. SCHMIDT, E. et SCHACHTLEBEN, R. — *A.* 193, 94 (1878).
277. SCHNIDERSCHITSCH, N. — *Ar.* 281, 294 (1943).
277. SCHOLZ, G. — *Apoth. Ztg.* 49, 1690 (1934).
279. SCHOENBEIN, C.-F. — *Pogg. Ann.* 67, 97, 233 (1846); 75, 75, 351-357 (1848); *J.pr.* 105, 198 (1868).
280. SCHON, S.-A. et TONNESEN, M. — *Dansk Tidskr. Farm.* 11, 344-348 (1937), dans *C.* 1938 I, 3499.
281. SCHOONBRODT. — *J. méd. Bruxelles* 45 et 46 (1867), dans TSCHIRCH (309).
282. SCHUT, W. — *Ch. Weekbl.* 22, 344 (1924), dans *Ber. Schimmel* 1926, 187 et *C.* 1925 II, 1317.
283. SERRE, J. — *Eaux distillées aromatiques*, thèse pharm. Montpellier 1923.
284. SHIMOJAMA, Y. et HYRANO, K. — *Apoth. Ztg.* 7, 440 (1892).
285. SHORT, G.-R.-A. — *Perfum. essent. Oil Rec.* 22, 208 (1931), dans *Ber. Schimmel* 1922, 112.
286. SIEGFRIED, K. — *B. S. P.* 33, 313-319 (1926); *J. S. P.* 65, 641-643 et 657-659 (1925).
287. SIEGFRIED, K. — *Pharm. Acta Helv.* 18, 541 (1943) et Communication particulière (20-10-43).
288. SIKORSKA (1899). — Dans PLANCHON, BRETIN et MANCEAU (242).
289. SMODLAKA, N. — *Pharm. J.* 107, 402 (1921); *B. S. P.* 36, 511 (1929).
290. SOBERNHEIM. — *Arzneimittellehre*, Berlin 1840.
291. SÖDERBERG. — *Swensk Farm. Tidskrift* 1917, 481; dans *J. S. P.* 56, 161 (1918) et *Ber. Schimmel* 1918, 7.
292. SPAETH, E. — *Z. U. N. G.* 10, 20 (1905); ABDERHALDEN, *Handbuch IV*, 8, 426 (1923).
293. STAMM, G. J. — *Tschirch-Festschrift* (1926), p. 283; *Pharmacis* 1926, № 5 (5 p.), dans *C.* 1927 II, 2759; *Heil-Gewürz-pfl.* 11, 99 (1928).
294. STAUCH, F. — *Heil-Gewürz-pfl.* 5, 32 (1922).
295. STORM-VAN LEEUWEN, W. — *Studien* (Leyde 1925).

296. STRAZEWICZ, W. J. — Der Baldrian und seine galenischen Präparate, thèse Wilna 1932; *B. S. P.* 43, 100 (1936); *P. C. H.* 76, 726 (1935); *C.* 1935 I, 746.
297. STRAZEWICZ, W. J. — *P. C. H.* 74, 134 (1933).
298. STRAZEWICZ, W.-J. — *P. C. H.* 77, 81 (1936).
299. STUEWE, W. — *Apoth. Ztg.* 53, 874 (1938), dans *Ber. Schimmel* 1939, 138.
300. SÜSSENGUTH, A. — *P. C. H.* 83, 255 (1942).
301. SUPNIEWSKI, JANUSZ, W. et TASCHNER, E. — *Bull. Int. Ac. polon. Sc. Cl. Méd.* 1935, 1-2 et 627-640; *Ber. Physiol.* 95, 380 (1936).
302. THOMS, H. — *Handbuch der Pharmazie* 5, 1621 (1931).
303. THOMS, H. et MOLLE, B. — *Ar.* 242, 161 (1904).
304. TIFFENEAU, M. — *C. r.* 176, 1943 (1923); 178, 237 (1924).
305. TROMMSDORFF, J.-B. — *J. de Pharm.* 18, 3-27 (1809).
306. TROMMSDORFF, J.-B. — *Neues J. d. Pharm.* 24, 134-147 (1832); 26, 1-41 (1833); *Ann. Chim. et Phys.* [2] 54, 208-216 (1833); [3] 6, 176-202 (1833); 10, 213-227 (1834).
307. TSCHERNUCHIN, A. — *Jahresber. der Pharm.* 1927, 138, dans *C.* 1928 I, 762.
308. TSCHIRCH, A. — *Handbuch der Pharmakognosie*, 2<sup>e</sup> éd. 1 (1933).
309. TSCHIRCH, A. — *Handb. der Pharmakogn.* 2, 511-523 (1912).
310. TSCHIRCH, A. — *Pharm. Acta Helv.* 1, 40 (1926).
311. TSCHIRCH, A. — Harze und Harzebehälter 1 (1933).
312. TSCHIRCH, A. et NEUBER. — Dans *Tschirch* (309).
313. TSCHIRCH, A. et OESTERLE, O. — Anat. Atlas der Pharmakognosie (Leipzig 1900), p. 259.
314. TSCHITSCHIBABINE, A.-E. et OPARINA, M.-P. — *C. r. U. R. S. S.* 1. 119-122 (1934), dans *C.* 1934 I, 261 et *Chem. Abstr.* 28, 2715 (1934).
315. ULLRICH, H. et SCHNEIDER, M. — *Z. physiol. Ch.* 245, 181-184 (1935).
316. UNGER, F. — *Pharm. Ztg.* 81, 1400 (1936).
317. UNGER, W. — *Apoth. Ztg.* 27, 1021 (1912).
318. VANDE VYVERE, P. — *Heil-Gewürz-pfl.* 18, 51 (1935); *J. Pharm. Belg.* 13, 1-5 (1931).
319. Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurtheilung von Nahrungs- und Genussmittel für das Deutsche Reich, Heft 2, Berlin 1899.
320. VIDAL, L. — *B. S. P.* 7, 410 (1903).
321. VIEHOEVER. — *J. Ass. Off. Agric. Ch.* 3, 381 (1920), dans *Ber. Schimmel* 1920, 94.
322. VIRTANEN, A. et PULKKI, L. — *Am. Soc.* 50, 3139 (1928).
323. WALISZEWSKI, S. — *Un. pharm.* 32, 109 (1891); *Apoth. Ztg.* 6, 186 (1891).
324. WALLNER, R. — *Heil-Gewürz-pfl.* 6, 63 (1923).
325. WASICKY, R. — Physiopharmakognosie (Vienne 1929), p. 69-73; 131-132.

326. WASICKY, R. — Pharmakognostische Untersuchung (1936), p. 294.
327. WASICKY, R. et GRAF, F. — *Sc. pharm.* 6, 101-106 (1935), dans *Ber. Schimmel* 1936, 146 et *C.* 1936 I, 1660.
328. WASICKY, R., ROTTER, G. et ALBER, T. — *Pharm. Ztg.* 78, 843 (1933), dans *Ber. Schimmel* 1934, 115.
329. WEGER, P. — *Ar. Pth.* 165, 652-658 (1932), dans *B. S. P.* 40, 554 (1933).
330. WEISFLOG, G. et BUECHI, J. — *Pharm. Acta Helv.* 19, 430 (1944).
331. WENDER, N. et GREGOR, G. — *Z. U. N. G.* 3, 456 (1900); 4, 43 (1901).
332. WERZ, R. von, et HOMANN, G. — *Ar. Pth.* 193, 272-280 (1939).
333. WETTERWALD, FR. — Die Entstehung der ätherischen Oele, thèse E. P. F. Zurich, 1939.
334. WIEGNER, G. — *T. C. A.* 10, 156 (1919).
335. WIELEN, P. VAN DER. — *Pharm. Weekbl.* 53, 425-440 (1916) dans *Apoth. Ztg.* 31, 231 (1916).
336. WIELEN, P. VAN DER. — *Pharm. Weekbl.* 53, 866-869 (1916) dans *Apoth. Ztg.* 31, 348 (1916).
337. WILL, H. — *Apoth. Ztg.* 47, 216 (1932); 49, 1499 (1934).
338. WILSON, P. et YOUNG. — *J. Ind. Eng. Chem.* 9, 959-960 (1917), dans *Ber. Schimmul* 1918, 105 et *J. Soc. Chem. Ind.* 36, 1247 (1917).
339. WINKLER, L.-W. — *P. C. H.* 68, 433 (1927).
340. WINNICKI, CL. — Beitr. zur Entwicklungsgeschichte der Blüten einiger offiz. Pflanzen, thèse Berne 1907, p. 10-23.
341. WINTON, A.-L. ODGEN, A.-W. et MITCHELL, W.-L. — *22. Ann. Report Connecticut Agr. Exp. Stat.* 2, 184-217 (1898), dans *Z. U. N. G.* 2, 942 (1899).
342. WOLFF, P. et v. DER VELDEN. — Handbuch der praktischen Therapie (1927).
343. ZACHARIAS. — *Bot. Ztg.* 1879, 617.
344. ZAECH, CH. — *T. C. A.* 22, 72-92 (1931).
345. ZELLER, G.-H. — Studien über die aeth. Oele I : Chemie, (Landau 1850); II et III (Stuttgart 1855); dans GILDEMEISTER-HOFFMANN (118).
346. ZÖRNIG, H. — Arzneidrogen (Leipzig 1909), p. 549-550.
347. ZUNZ, E. — Eléments de pharmacodynamie spéciale (Paris 1932), p. 726.

## TABLE DES MATIERES

	Pages
<b>PREMIÈRE PARTIE : RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
Chapitre I : Aperçu historique et introduction . . . . .	341
» II : Botanique, cultures, localisation de l'essence . .	343
» III : Chimie . . . . .	345
» IV : Etude galénique : essence, teinture, extrait . . .	353
» V : Pharmacologie et emploi thérapeutique . . . . .	366
<b>DEUXIÈME PARTIE : VARIATION DES CARACTÈRES CHIMIQUES ET GALÉNIQUES . . . . .</b>	<b>373</b>
Chapitre VI : Matière sèche et teneur en eau . . . . .	374
» VII : Extrait aqueux et substances insolubles dans l'eau . . . . .	377
» VIII : Extrait alcoolique Ph. H. V . . . . .	380
» IX : Essence . . . . .	381
» X : Acides volatils libres et combinés . . . . .	386
» XI : Indices de la teinture Ph. H. V . . . . .	391
» XII : Influence des conditions météorologiques sur les indices de la racine fraîche . . . . .	394
<b>TROISIÈME PARTIE : RECHERCHES PHARMACOLOGIQUES . . . . .</b>	<b>396</b>
Chapitre XIII : Essais sur la Souris . . . . .	396
» XIV : Essais sur le Cyprin doré . . . . .	396
» XV : Essais quantitatifs ; dosage biologique . . . .	406
» XVI : Séparation des principes actifs en quatre groupes . . . . .	410
<b>QUATRIÈME PARTIE : ÉTUDE DES PRINCIPES ACTIFS . . . . .</b>	<b>417</b>
Chapitre XVII : Observations d'ordre chimique . . . . .	417
» XVIII : Observations d'ordre galénique . . . . .	426
» XIX : Conclusions . . . . .	430
<b>BIBLIOGRAPHIE . . . . .</b>	<b>433</b>