

Pharmacologie

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Mémoires de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **8 (1944-1946)**

Heft 7

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

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)¹ ou demandés à d'autres laboratoires ne nous ont pas permis de confirmer ou d'infirmer 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

¹ 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.

écarts 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 tricaïne. Plusieurs laboratoires utilisent couramment le poisson comme animal test dans l'étude des somnifères, des analeptiques, 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 hâchée; 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 hâchée, 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 cm³ 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 poisson 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 cm³ 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 premières 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. A 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).

		nulle	0
		très faible	=
2. <i>Activité spontanée</i>	}	diminuée	—
3. <i>Réaction à une excitation de la vue</i>		normale	N
4. » » <i>de l'ouïe</i>		augmentée	+
5. » » <i>du toucher</i>		exagérée	++
		spasmodique	S ou SS
	}	ne vacille pas en nageant	0
		vacille à peine	—
6. <i>Equilibre :</i>		vacille peu	+
		vacille fortement	++
		est immobile sur le flanc	/
	}	non	0
7. <i>Stabilité :</i> se laisse-t-il retourner sur le dos ?		difficilement	—
		facilement	+ ou ++
	}	non	0
8. <i>Stupeur :</i> est-il entraîné par un courant d'eau ?		à peine	—
		partiellement	+
		entièrement	++
	}	se débat vivement	0
9. <i>Narcose au sortir de l'eau :</i>		se débat faiblement	—
		ne fait que qq. mouvements	+
		est immobile	++

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 béchers 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

de racine fraîche de Valériane 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				Série B							
N° du test	minutes					minutes					
	5	10	20 30 45 60			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	TEINTURE RECONSTITUEE		N	-	-	o	o	o
4	N	+	S	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	-	-	-	-	S
3	o	o	o	TEINTURE RECONSTITUEE		N	-	±	o	o	o
4	-	S	±	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	30	60	S intermittent irrégulier	VI	XVI	25	30	45	55	60	
2	-	-	S			+	-	-	±	S	
3	±	-	o	MACERATION DE		N	-	-	o	o	
4	+	±	S	RACINE FRAICHE		+	±	±	±	±	
5	-	-	-	dans l'alcool froid		N	-	-	-	-	
6	-	+	/	(1+1)		-	+	+	++	++	
7	+	++	+++	20 g/l	10 g/l	-	+	+	++	++	
8	+	++	+++			+	+	+	++	++	
9	-	-	+			-	-	-	o	-	
	minutes: 5 10 15 20					minutes: 5 10 20 30 45 60					
1	S	S	S (faible)	VII	XVII	0	0	30	55	40	
2	o	±	o			-	-	o	o	o	
3	o	o	o	TEINTURE CUITE		-	o	o	o	o	
4	+	±	o	10 minutes seulement		N	N	±	-	-	
5	-	±	o	20 g/l	10 g/l	-	-	o	o	o	
6	+	+	/			+	+	+	++	++	
7	+	++	+++			+	++	++	++	++	
8	+	+	+++			+	++	++	++	++	
9	+	+	+++			-	-	+	+	+	
1	30	50	50 60	VIII	XVIII	0	20	30	55	45	
2	±	-	±			N	-	-	o	o	
3	-	o	o	TEINTURE CUITE		-	o	o	o	o	
4	±	+	+	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_2 . 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 hâchée 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 déterpéné 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^e 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 béciers de 8 cm de diamètre contenant chacun 250 cm³ 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. A 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 (g/kg)	Acides volatils libres	Acides volatils* combinés	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 hâchée : 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 hâchée, 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 sédatrice totale.

L'ester acétique du bornéol, aux mêmes concentrations que l'ester isovalérianique, n'a qu'une faible action sédatrice, 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 sédatrice, 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 sédatrice apparaît aux doses 5 fois plus fortes; il n'est pas possible d'égaliser l'action sédatrice de 10 g de teinture par litre; des symptômes toxiques troublent 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 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'aidant 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°)^(I), le benzène^(II), l'éther éthylique^(III) 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 épuisée 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 épuisée 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 graduelle, 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 cm³ 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- α -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 hâchée dans l'alcool froid : dépression générale, avec stupeur et incoordination plus graves qu'avec les préparations stabilisées, peu ou pas d'action sédative, convulsions. Tout se passe comme si le 4^e 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^e 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- α -

pyrryl-cétone de CIONGA (73) peuvent expliquer en partie l'activité de la teinture stabilisée de racine fraîche; ils se rattachent à mon 4^e groupe. Les «résines» de SMOĐLAKA (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^e 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^e 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 immergés : un poisson de 50 g dans 250 cm³ 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 sédatif, due au groupe 4 surtout, soit égale ; bien plus, les substances de ce groupe 4 semblent diminuer l'action toxique 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.