

Étude des principes actifs

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.

QUATRIÈME PARTIE

ÉTUDE DES PRINCIPES ACTIFS

CHAPITRE XVII : Observations d'ordre chimique.

Étude 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-

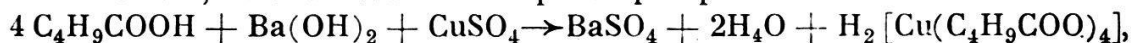
tes dans les manuels de BEILSTEIN (29), BERL-LUNGE (31) et KLEIN (179); HOLMBERG et LINBERG (154) donnent aussi de nombreuses références sur ce sujet.

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 CO₂ 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 $\text{pH} < 4$, le complexe n'est pas stable et le benzène ne se colore pas; à un $\text{pH} > 6$, 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'égaliser 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 cm³ qui passent d'abord quand on distille en partant de 110 cm³ 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 Briggs : $\log y = k \cdot \log x + 2 - 2k$.

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 aqueuse 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 volatil 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 Valériane, j'admets 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'admets $k = 0,388$	(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'admets $k = 3,40$	
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 cm³ d'acide isovalérianique n/10 + 3,90 cm³ d'acide acétique n/10, que je dilue à 200 cm³ et soumetts à la distillation fractionnée dans l'appareillage décrit par VIRTANEN et PULKKI.

Je sépare 4 fractions de 50 cm³ et les dose par la baryte décimale :

$t = 5,32$;	5,43 cm ³ Ba(OH) ₂ n/10;	moy. 5,375	soit 46,9 %	de z (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 ³ soit ∞ ε

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

$$\begin{aligned} I &= 8,1 \text{ cm}^3 \text{ n/10 (soit 68,0 \% de } z = 11,78) \text{ au lieu de } 7,88 \text{ (66,9\%)} \\ B &= -0,73 \quad \text{»} \quad -6,3 \% \quad \text{»} \quad 0,0 \\ A &= 4,69 \quad \text{»} \quad 39,8 \% \quad \text{»} \quad 3,9 \text{ (33,1 \%)} \\ F &= -0,69 \quad \text{»} \quad -5,9 \% \quad \text{»} \quad 0,0 \end{aligned}$$

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^I, A^{II}, B^I et B^{II} 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 :

$t = 55,8 \%$	(écarts max. + 2,9 et - 1,3)
$u = 82,6 \%$	» + 2,1 et - 2,7
$v = 11,8 \%$	» + 1,9 et - 1,5
$r = 5,6 \%$	» + 1,0 et - 1,9

Par des essais qualitatifs, j'ai constaté que les distillats A ne contiennent pas d'acide formique (ou tout au plus des traces); j'admets $F = 0$; 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 ^I	Distillats A ^{II}
I	entre 70 et 85, en moy. 78,5 %	entre 50 et 70, moy. 60 %
A	» 1 et 17 » 10,5 %	« 3 et 30 » 10 %
B	» 4 et 15 » 11,0 %	« 20 et 45 » 30 %

Comme A^I contient approximativement $2 \times 3 = 6$ fois plus d'acides volatils que A^{II}, 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 ^I	Distillats B ^{II}
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, hâchée 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 hâché.

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 desaponif.	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	} plus claire que la Teinture Ph. H. V
c)	3,89	0,70	5,35	6,05	
d)	3,86	0,75	5,1	5,85	

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 Formicae Ph. H. V, par exemple.

Une autre observation confirme mon hypothèse de l'équilibre $\text{acide} + \text{alcool} \rightleftharpoons \text{ester} + \text{eau}$ 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 cm³ bouché, sont agités mécaniquement pendant 10 jours; l'air enfermé dans le flacon contient environ 32 mg O₂, 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 cm³ 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 ferments 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 cm³ d'alcool, dispose sur des diaphragmes 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 cm³ 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 sédative 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.¹ 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.

¹ 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 cm³ 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 cm³; ajoutez 5-6 gouttes de phénolphtaléine; il faut employer 0,7 à 1,0 cm³ 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.