HAL
open science

Peumus boldus M. : de la botanique à la thérapeutique : état des connaissances en 2012

Maria Rakotonanahary Maldonado

To cite this version:

Maria Rakotonanahary Maldonado. Peumus boldus M. : de la botanique à la thérapeutique : état des connaissances en 2012. Sciences pharmaceutiques. 2012. dumas-00724069

HAL Id: dumas-00724069

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00724069

Submitted on 4 Jan 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER

FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année 2012 N°

Peumus boldus M. De la botanique à la thérapeutique : État des connaissances en 2012

THÈSE PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE DIPLÔME D'ÉTAT

Maria RAKOTONANAHARY épouse MALDONADO

Née le 22 Novembre 1986 À La Tronche

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Le 28 Juin 2012

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury:

Dr Serge KRIVOBOK, Docteur en Pharmacie et Maître de Conférences en Botanique et Mycologie (Directeur de thèse)

Membres :

Dr Frédérique DEVESNE, Docteur en Pharmacie

Dr Stéphane ROSSI, Docteur en Pharmacie

La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

UFR
DE PHARMACIE
DE GRENOBLE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
SCIENCES TECHNOLOGIE MEDECINE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38706 LA TRONCHE CEDEX – France

Directeur de L'UFR : **M. Pr. Christophe RIBUOT**
Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2011-2012

PROFESSEURS A L'UFR DE PHARMACIE (n = 18)

BAKRI	Aziz	Pharmacie Galénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (TIMC-IMAG)
BOUMENDJEL	Ahcène	Chimie Organique (D.P.M.)
BURMEISTER	Wim	Biophysique (U.V.H.C.I.)
CALOP	Jean	Pharmacie Clinique (TIMC-IMAG, PU-PH)
CORNET	Murielle	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH)
DANEL	Vincent	Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)
DECOUT	Jean-Luc	Chimie Inorganique (D.P.M.)
DROUET	Christian	Immunologie Médicale (TIMC-IMAG)
DROUET	Emmanuel	Microbiologie (U.V.H.C.I.)
FAURE	Patrice	Biochimie (HP2/PU-PH)
GODIN-RIBUOT	Diane	Physiologie - Pharmacologie (HP2)
GRILLOT	Renée	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH) (Eméritat)
LENORMAND	Jean-Luc	Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (THEREX, TIMC, IMAG)
MOSSUZ	Pascal	Hématologie (PU-PH)
PEYRIN	Eric	Chimie Analytique (D.P.M.)
SEVE	Michel	Biochimie - Biotechnologie (IAB, PU-PH)
RIBUOT	Christophe	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
WOUESSIDJEWE	Denis	Pharmacotechnie (D.P.M.)

PROFESSEURS ASSOCIES (PAST) (n = 3)

BELLET	Béatrice	Pharmacie Clinique
RIEU	Isabelle	Qualitologie (Praticien Attaché – CHU)
TROUILLER	Patrice	Santé Publique (Praticien Hospitalier – CHU)

UFR
DE PHARMACIE
DE GRENOBLE

UNIVERSITE
JOSEPH FOURIER
SCIENCES TECHNOLOGIE MEDECINE

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CIB : Centre d'Innovation en Biologie
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »
IBS : Institut de Biologie Structurale
JR : Jean Roget
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
PRAG : Professeur Agrégé
TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition
UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

Dernière mise à jour : 05-09-11

UFR
DE PHARMACIE
DE GRENOBLE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
SCIENCES TECHNOLOGIE MEDECINE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38706 LA TRONCHE CEDEX – France

Directeur de L'UFR : **M. Pr. Christophe RIBUOT**
Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

Année 2011-2012

MAITRES DE CONFERENCES DE PHARMACIE (n = 35)

ALDEBERT	Delphine	Parasitologie – Mycologie (L.A.P.M)
ALLENET	Benoît	Pharmacie Clinique (ThEMAS TIMC-IMAG / MCU-PH)
BATANDIER	Cécile	Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)
BOURGOIN	Sandrine	Biochimie – Biotechnologie (IAB)
BRETON	Jean	Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B – LAN)
BRIANCON – MARJOLLET	Anne	Physiologie Pharmacologie (HP2)
BUDAYOVA SPANO	Monika	Biophysique (I.B.S)
CAVAILLES	Pierre	Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)
CHOISNARD	Luc	Pharmacotechnie (D.P.M)
DELETRAZ – DELPORTE	Martine	Droit Pharmaceutique
DEMEILLIERS	Christine	Biochimie (L.B.F.A)
DURMORT – MEUNIER	Claire	Biotechnologies (I.B.S)
GEZE	Annabelle	Pharmacotechnie (D.P.M)
GERMI	Raphaëlle	Microbiologie (U.V.H.C.I / MCU-PH)
GILLY	Catherine	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
GROSSET	Catherine	Chimie Analytique (D.P.M)
GUIEU	Valérie	Chimie Analytique (D.P.M)
HININGER – FAVIER	Isabelle	Biochimie (L.B.F.A)
JOYEUX – FAURE	Marie	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
KHALEF	Nawel	Pharmacie Galénique (TIMC-IMAG)
KRIVOBOK	Serge	Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)
MOUHAMADOU	Bello	Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)
MORAND	Jean-Marc	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
MELO DE LIMA	Christelle	Biostatistiques (L.E.C.A)
NICOLLE	Edwige	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
PERES	Basile	Pharmacognosie (D.P.M)
PEUCHMAUR	Marine	Chimie Organique (D.P.M)

PINEL	Claudine	Parasitologie – Mycologie Médicale (GIN / MCU-PH)
RACHIDI	Walid	Biochimie (L.C.I.B)
RAVEL	Anne	Chimie Analytique (D.P.M)
RAVELET	Corinne	Chimie Analytique (D.P.M)
SOUARD	Florence	Pharmacognosie (D.P.M)
TARBOURIECH	Nicolas	Biophysique (U.V.H.C.I)
VANHAVERBEKE	Cécile	Chimie Organique (D.P.M)
VILLET	Annick	Chimie Analytique (VP Form Adjoint UJF, D.P.M)

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES (AHU) (n = 2)

BUSSER	Benoît	Biochimie (IAB, AHU-Biochimie)
VAN NOOLEN	Laëtitia	Biochimie (HP2, AHU-Biochimie)

ENSEIGNANTS ANGLAIS (n = 3)

FITE	Andrée	Professeur Certifié
GOUBIER	Laurence	Professeur Certifié

ATER (n = 6)

BIROS Camille	ATER	Anglais Master ISM (JR)
DEFENDI Frédérica	ATER	Immunologie Médicale (GREPI-TIMC)
EL BAKKALI Abdellatif	ATER	Pharmacie Galénique (Therex/TIMC, La serve)
HENRI Marion	ATER	Physiologie (HP2, LER)
NGO TOM Esther	½ ATER	Pharmacologie (HP2, LER)
REGENT Myriam	½ ATER	Biochimie Biotechnologie (IAB)

MONITEURS ET DOCTORANTS CONTRACTUELS (n = 8)

BOUCHET	Audrey	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Biotechnologie (GIN, ESRF)
CAVAREC	Fanny	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)
FAVIER	Mathieu	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Laboratoire HP2 (JR)
GRAS	Emmanuelle	(01-10-2010 au 30-09-2013)	Laboratoire HP2 (JR)
HAUDECOEUR	Romain	(01-10-2008 au 30-09-2011)	Chimie Thérapeutique (DPM)
LESART	Anne-Cécile	(01-10-2009 au 30-09-2013)	Informatique C2i
POULAIN	Laureline	(01-10-2009 au 30-09-2012)	Laboratoire HP2 (JR)
THOMAS	Amandine	(01-10-2011 au 30-09-2014)	Laboratoire HP2 (JR)

UFR
DE PHARMACIE
DE GRENOBLE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
SCIENCES TECHNOLOGIE MEDECINE

ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CIB : Centre d'Innovation en Biologie
DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
IAB : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »
IBS : Institut de Biologie Structurale
JR : Jean Roget
LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
PRAG : Professeur Agrégé
TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition
UVHCI : Unit of Virus Host Cell Interactions

Dernière mise à jour : 08/09/2011

REMERCIEMENTS

À Monsieur Serge Krivobok;

Vous m'avez fait l'honneur de diriger ce travail. Merci pour vos encouragements, votre disponibilité et votre aide si précieuse.

Aux membres du jury: Madame Frédérique Devesne et Monsieur Stéphane Rossi;

Merci d'avoir accepté de juger mon travail.

À l'équipe de la Pharmacie du Progrès;

Monsieur Fontaine-Berger, vous m'avez transmis votre savoir-faire dans l'exercice de la pharmacie, merci pour votre confiance depuis tant d'années.

Marie-Odile, grâce à vous le mortier et le pilon n'ont plus de secret pour moi, merci pour tous vos conseils.

Delfina, c'est un plaisir de vous connaître depuis tant d'années.

À toute ma famille;

C'est une grâce d'être née dans une famille où l'Amour règne.

Les mots me manquent pour vous exprimer à quel point je tiens à vous.

Merci à mes parents à qui je dois tout. Vous avez tant fait de sacrifices pour que j'arrive à ce niveau d'études, merci pour cette belle preuve d'amour.

Merci à ma sœur Saraha, mon frère Sam et ma belle-sœur Lisa pour tous les bons moments, fous rires passés ensemble, je vous aime tellement.

À mes beaux-parents: Gérard et Dominique ;

Merci pour vos encouragements pour la rédaction de ce mémoire. Je suis fière d'être votre belle-fille.

À tous mes amis ;

Merci pour votre fidélité malgré mon emploi du temps qui a souvent été bien chargé. Vous m'êtes tous très chers. Mention spéciale à Borbala et Déborah qui ont toujours su me motiver pour le travail.

À mon cher et tendre mari : Timothée;

Tu es une vraie bénédiction et j'ai hâte que tous nos projets se concrétisent. Je t'aime.

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux 1

Liste des figures 2

Liste des abréviations 3

Introduction et historique du boldo 4

Première partie : Botanique de *Peumus boldus* M. 6

I - Classification botanique du boldo 7

I.1 Caractéristiques de la famille des Monimiacées 7

I.2 Description de *Peumus boldus* M. 8

I.2.1 Description botanique du boldo 8

I.2.2 Répartition géographique du boldo 11

I.2.3 Falsification du boldo 11

II - Culture, récolte et production du boldo 12

II.1 Culture : les exigences du sol et les conditions climatiques 12

II.2 Récolte du boldo 12

II.2.1 Date et mode de récolte 12

II.3 Production du boldo 13

II.3.1 Production mondiale 13

II.3.2 Production européenne 13

II.4 Post-récolte 13

II.4.1 Conservation et conditionnement 13

Deuxième partie : Composition chimique de *Peumus boldus* M. 14

I - Identification et composition chimique du boldo 15

I.1 Identification macroscopique et microscopique du boldo 15

I.2 Composition chimique des feuilles et écorce du boldo 15

I.2.1 Composition chimique des feuilles 15

I.2.2 Composition chimique de l'écorce 15

II – Alcaloïdes du boldo 16

II.1 Généralités sur les alcaloïdes 16

II.1.1Définitions 16

II.1.2 Etat naturel, distribution, localisation 17

II.2 Structure des alcaloïdes 19

II.3 Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes 19
II.4 Détection, extraction, séparation et identification des alcaloïdes 20
II.4.1 Détection des alcaloïdes 20
II.4.2 Extraction des alcaloïdes 21
II.4.2.1 Extraction par un solvant en milieu alcalin 21
II.4.2.2 Extraction par un solvant en milieu acide 22
II.4.3 Séparation et identification des alcaloïdes 22
II.4.4 Dosage des alcaloïdes 22
II.5 Alcaloïdes du boldo 22
II.5.1 Composition en alcaloïdes 23
II.5.2 Données qualitatives et quantitatives 24
II.5.3 Distribution des alcaloïdes du boldo 25
II.5.4 Pharmacocinétique de la boldine 25
III - Huile essentielle de boldo 26
III.1 Généralités sur les huiles essentielles 26
III.1.1 Définitions 26
III.1.2 Répartition, localisation 27
III.2 Propriétés physico-chimiques 28
III.3 Extraction, caractérisation, essai 29
III.3.1 Extraction 29
III.3.1.1 Distillation et entraînement par la vapeur d'eau 29
III.3.1.2 Expression à froid 29
III.3.1.3 Autres méthodes industrielles 30
III.3.2 Caractérisation-Essai 30
III.3.2.1 Essais sur les drogues 30
III.3.2.2 Essais sur les huiles essentielles 30
III.4 Composition de l'huile essentielle de boldo 30
III.4.1 Composés oxygénés monoterpéniques 30
III.4.2 Hydrocarbures monoterpéniques 31
IV - Autres composés de *Peumus boldus* M. 31
IV.1 Flavonoïdes 31
IV.2 Acides phénoliques 32
IV.3 Non flavonoïdes 32

Troisième partie : Intérêts thérapeutiques de *Peumus boldus* M. 33
I – Rappels physiopathologiques sur l'insuffisance hépato-biliaire 34
I.1. Foie et voies biliaires 34
I.1.1 Généralités sur le foie 34
I.1.1.1 Anatomie du foie 34
I.1.1.2 Fonctions du foie 36
I.1.2 Généralité sur les voies biliaires et la vésicule biliaire 38
I.1.2.1 Les voies biliaires 38
I.1.2.1.1 Les voies biliaires intrahépatiques 39
I.1.2.1.2 Les voies biliaires extrahépatiques 39
I.1.2.2 La vésicule biliaire 39
I.1.2.2.1 Fonctions de la vésicule biliaire 40
I.2. Pathologies engendrées par cette insuffisance 41
I.2.1 L'insuffisance hépato-cellulaire 41
I.2.2 L'insuffisance biliaire 41
II – Actions sur les troubles digestifs 42
II.1 Cholérétique et Cholagogue 42
II.2 Laxative 43
II.3 Spasmolytique intestinale 43
III – Autres actions du boldo 44
III.1 Effets du boldo sur le système cardiovasculaire 44
III.2 Effets du boldo sur l'utérus 45
III.3 Effets du boldo sur le rein et l'appareil urinaire 45
III.4 Effets du boldo sur le stress oxydant 45
III.5 Effets antimicrobiens du boldo 51
III.5.1 Antiparasitaire 51
III.5.2 Antifongique 51
III.5.3 Antibactérien 51
IV – Toxicologie 51
IV.1 Toxicité aiguë 51
IV.2 Toxicité subchronique 52
IV.3 Mutagénicité 53
IV.4 Cancérogénicité 53
IV.5 Toxicité sur la reproduction 53
IV.6 Contre-indications du boldo 54

IV.7 Interactions médicamenteuses 54

Quatrième partie : Utilisations de *Peumus boldus* 55

I – Utilisations thérapeutiques du boldo 56

I.1. En l'état 56

I.1.1 Infusion et Tisane 56

I.1.2 Poudre 58

I.2 Préparations inscrites à la Pharmacopée 58

I.2.1 Extrait fluide de boldo 58

I.2.2 Teinture de boldo 59

I.2.3 Extrait sec de boldo 59

I.3 Spécialités allopathiques 60

I.4 Spécialités homéopathiques 60

II – Utilisations non thérapeutiques du boldo 62

II.1 Alimentaire 62

II.2 Industrie du cuir et textile 62

II.3 Parfumerie et cosmétique 62

II.4 Insecticide et herbicide 63

Conclusion 64

Bibliographie 66

Glossaire 78

Liste des annexes 80

Serment des Apothicaires 96

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I :	Taxonomie des Monimiacées	7
Tableau II :	Répartition des alcaloïdes dans le règne végétal	17
Tableau III :	Alcaloïdes du boldo de type aporphinoïde	24
Tableau IV :	Alcaloïdes du boldo de type benzyltétrahydroisoquinoléique	24
Tableau V :	Fonctions principales du foie	37
Tableau VI :	Résumé des études sur les propriétés antiradicalaires et antioxydantes de la boldine	47
Tableau VII :	Résumé des actions pharmacologiques de la boldine associées avec son activité antioxydante	49
Tableau VII :	Plantes cholérétiques et cholagogues	62

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	Répartition mondiale des *Monimiaceae*	7
Figure 2:	Planche botanique de *Peumus boldus* (Molina, 1782)	9
Figure 3:	Feuilles de *Peumus boldus*	10
Figure 4:	Fleurs mâles de *Peumus boldus*	10
Figure 5:	Fleurs femelles de *Peumus boldus*	11
Figure 6:	Drupe de *Peumus boldus*	11
Figure 7:	Exemple d'alcaloïdes issus du métabolisme animal	18
Figure 8:	Biogenèse des alcaloïdes	19
Figure 9:	Structure d'alcaloïdes	20
Figure 10:	Principe de l'extraction des alcaloïdes en milieu alcalin	21
Figure 11:	Appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales	29
Figure 12 :	Anatomie des voies biliaires	34
Figure 13 :	Histologie d'un lobule du foie	35
Figure 14:	Circulation du sang et de la bile dans le foie	36
Figure 15 :	Métabolisme de la bilirubine	38
Figure 16 :	Régulation de la sécrétion biliaire	40
Figure 17 :	Diagramme diagnostique de la lithiase biliaire	42

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Ach	acétylcholine
ASAT	alanine aspartate transférase
AT	alcaloïdes totaux
CCK	cholécystokinine
CCM	chromatographie sur couche mince
CHLP	chromatographie liquide haute performance
CPG	chromatographie en phase gazeuse
CPG/SM	chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
DL_{50}	dose létale 50
HE	huile essentielle
IHC	insuffisance hépato-cellulaire
LDH	lactate déshydrogénase
NA	noradrénaline

Introduction et historique du boldo

Dans un contexte où la France réfléchit à une proposition de loi visant à rétablir le diplôme d'herboriste [111] suite à sa suppression en 1941, et où le repas gastronomique français est inscrit au patrimoine de l'UNESCO [112], les plantes favorisant la digestion, tels que le boldo ou (*Peumus boldus* Molina, 1782), présentent un nouvel intérêt.

Le boldo, originaire du Chili, appartient à la famille des Monimiacées, inscrit sur la liste A de la Pharmacopée Française Xe édition [83], il fait l'objet de nombreuses monographies dont celles de la Pharmacopée Européenne [71] (feuille et son extrait sec).

Les propriétés thérapeutiques auraient été découvertes par hasard en 1869 par un berger chilien, M. Navarro [114]: certains de ses moutons atteints d'une maladie du foie auraient été renfermés dans un enclos fait avec des branches fraîches de boldo. Les animaux dévorèrent avec avidité les feuilles et l'écorce de leur bercail improvisé et, de suite, leurs malaises disparurent comme par enchantement. Depuis cette découverte la plante a été utilisée par les peuples indigènes du Chili pour les problèmes de foie, d'intestins et de vésicule biliaire. [85]

Des fouilles archéologiques menées dans ce pays ont permis de découvrir que les usages culinaires et médicinaux des feuilles remonteraient à plus de 12.500 ans.

Le mot *Peumus* vient de *peumo*, nom dérivant vraisemblablement de la langue du peuple indigène Mapuche du Chili. Le nom *boldus* rend hommage au botaniste espagnol Boldo.[107]

Le boldo a été décrit pour la première fois par Molina en 1782 sous le nom de *Peumus boldus*. L'espèce prend par la suite différents noms tels que *Ruiza fragans* (Ruiz et Pavon, 1794), *Peumus fragans* (Persoon, 1807), *Boldea fragans* (de Jussieu, 1809), *Boldoa fragans* (Endlicher, Lindley, Gay), *Peumus boldea* (Tulasne) pour finalement reprendre sa dénomination initiale *Peumus boldus* (Baillon, 1869 [113]). [94]

Suite à la guérison du troupeau, le boldo ne tarda pas à acquérir une réputation à l'étranger et est introduit en Europe vers 1870 pour y être étudié avec attention.

Claude Verne, en collaboration avec Edouard Bourgoin [81], isole en 1872 l'huile essentielle et un alcaloïde qu'il nomme « boldine ».

Il s'ensuit de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* permettant de conforter les utilisations thérapeutiques de cette plante dont certaines sont validées par l'Agence du Médicament et la Commission E allemande.

Après l'étude botanique et pharmacognosique du boldo, les actions pharmacologiques, les utilisations thérapeutiques et non thérapeutiques seront traitées dans cette thèse.

PREMIÈRE PARTIE

Botanique de *Peumus boldus* M.

I - Classification botanique du boldo

Le Boldo (*Peumus boldus* Molina, 1782) appartient à la famille des Monimiacées provenant de l'embranchement des Spermaphytes (*sperma*, graine et *phyta*, plantes) ou Spermatophytes ou encore Phanérogames qui détient les végétaux les plus perfectionnés du règne végétal : les plantes à graines.

I.1 Caractéristiques de la famille des Monimiacées [99] [118]

Selon les classifications botaniques classiques pré-moléculaires, la famille des Monimiacées (Tableau I) sont des dicotylédones appartenant à l'ordre des Laurales, ordre qui comprend également les familles suivantes : *Amborellaceae*, *Trimeniaceae*, *Gomortegaceae*, *Calycanthaceae*, *Idiospermaceae*, *Lauraceae* et *Hernandiaceae*.

Plantae, *Tracheobionta* (Plantes vasculaires)
Embranchement : *Spermatophyta* (Plantes à graines) Sous-Embranchement : *Angiospermae* (Plantes à fleurs) Classe : *Magnolopsida* (Dicotylédones) Sous-classe : *Magnoliideae* Ordre : Laurales Famille : *Monimiaceae*

Tableau I : Taxonomie des Monimiacées [118]

À ce jour, elle compte 41 genres (dont le genre *Peumus*) et 450 espèces. Le genre est presque pantropical (Figure 1) mais il faut noter l'absence de cette famille en Inde et sa faible représentation en Afrique.

Figure 1: Répartition mondiale des *Monimiaceae*[118]

Il s'agit d'arbres et d'arbustes ou de lianes persistants dont beaucoup produisent des huiles aromatiques.

Les feuilles sont opposées, simples, à marge dentée ou entière et contiennent des cellules sphériques à huile essentielle dans le limbe. Certaines ponctuations du limbe peuvent être laticifères*.

Les branches sont souvent aplaties au niveau des nœuds.

L'inflorescence peut être axillaire (racèmes[1]*) ou terminale (rarement une fleur solitaire). Les fleurs, de petite taille, sont actinomorphes*, bi- ou unisexuées le plus souvent et présentent un réceptacle généralement très développé. Le périanthe* est généralement peu visible et composé de tépales sépaloïdes ou pétaloïdes. Dans les fleurs mâles, de nombreuses étamines* sont arrangées en spirale ou en verticille*, les filaments courts pouvant être nectarifères à la base et les anthères* dressées et à déhiscence longitudinale ou valvulaire. Les fleurs femelles possèdent de nombreux carpelles (jusqu'à plus de 2.000) uniovulés, sessiles* et libres ou insérés dans le réceptacle.

Les fruits sont des drupes séparées ou des akènes plumeux, soit inclus dans le réceptacle charnu et persistant, soit exposés par de nombreux modes de fendage. Les graines sont à endosperme huileux.

I.2 Description de *Peumus boldus*

Le genre *Peumus* est monoespèce : il ne contient que le boldo. Étymologiquement, le mot *Peumus* vient de «*peumo*», un nom dérivant vraisemblablement de la langue du peuple indigène Mapuche du Chili. Le nom *boldus* rend hommage au botaniste espagnol Boldo.

I.2.1 Description botanique du boldo (76) (95) (119)

Le boldo (Figure 2) est un arbuste dioïque* pouvant atteindre 8 mètres de haut, buissonnant, toujours vert, à branches grêles et étalées. Il présente une écorce fine, marron, se détachant du tronc par plaques arrondies et colorées. Les jeunes rameaux sont légèrement pubescents*.

Les feuilles (Figure 3) opposées sont simples, entières, ovales, le plus souvent légèrement enroulées vers l'intérieur. Lorsqu'on les froisse, elles sont odorantes. Le pétiole est légèrement pubescent. Le limbe est coriace, sclérophylle*, vert foncé et glanduleux* sur la face supérieure, d'un vert plus clair sur la face inférieure. (107)

[1] Les mots suivis par le symbole * ont leur définition dans le glossaire

Figure 2: Planche botanique de *Peumus boldus* (Molina, 1782) [98]

Figure 3: Feuilles de *Peumus boldus* [107] ©C. Smagmulder Villa Thuret INRA PACA

Les fleurs, réunies (par 5 à 12) en grappe de cymes axillaires et terminales sont pâles, jaunâtres ou blanches. Les fleurs mâles (Figure 4) mesurant de 2 à 3 centimètres de diamètre sont en forme de cloches à nombreuses étamines groupées en plusieurs verticilles; elles comprennent un périanthe de 10 à 12 lobules ondulés ou tordus.

Les étamines sont insérées en plusieurs séries sur le réceptacle, les anthères petites et biloculaires sont portées par des filets velus à leur base.

Figure 4 : Fleurs mâles de *Peumus boldus* [115] ©Patricio Novoa ChileBosque

Les fleurs femelles, plus petites, à lobes inégaux, sont constituées d'un périanthe entourant un pistil à plusieurs carpelles uniovulés et ovoïdes (Figure 5).

Figure 5 : Fleurs femelles de *Peumus boldus* [115] ©Patricio Novoa ChileBosque

Le fruit est une drupe verte jaunâtre de taille et forme variable (Figure 6). La graine possède un albumen abondant et des cotylédons arrondis.

Figure 6 : Drupe de *Peumus boldus* [115] ©Diego Alarcón ChileBosque

I.2.2 Répartition géographique du boldo[89] [100]

Originaire de la partie du Chili qui bénéficie d'un climat méditerranéen, on rencontre le boldo en particulier sur les collines sèches et ensoleillés des provinces de Valparaiso, de Santiago et de Concepcion. Il a été acclimaté en Europe à la fin du 19ème siècle dans les zones arides du bassin méditerranéen (notamment en Italie et en Afrique du Nord), ainsi qu'en Amérique du Nord (Californie).

I.2.3 Falsification du boldo[95]

Le boldo peut être confondu avec *Cryptocarya peumus* (Molina) Nees (Famille des *Lauraceae*), à odeur et distribution géographique identiques à celles de *Peumus boldus*. Ses feuilles sont légèrement plus grandes et leur bord, toujours sinueux et recourbé, n'est que peu

enroulé. Les protubérances et les poils en bouquets sont absents ; en revanche, comme chez le boldo, les cellules sécrétrices à huile essentielle sont présentes.

II - Culture, récolte et production du boldo

II.1 Culture : les exigences du sol et les conditions climatiques [58] [107] [108] [109]

Le boldo exige un climat de type méditerranéen. Il pousse spontanément dans les régions centrales du Chili situées entre les latitudes 30° et 41°S et qui bénéficient d'un climat de type méditerranéen. Le sol favorable à sa culture est en général peu profond et rocailleux, de pH entre 5,6 et 7,5 et a besoin de précipitations entre 400 et 800 mm/an.

Le boldo peut être exposé en plein soleil ou en sous-bois et pousse entre 500 et 1.000 m d'altitude.

Il peut résister au gel jusqu'à environ -8°C et peut tolérer d'être occasionnellement recouvert de neige pendant quelques semaines par an.

Récemment, des travaux de Vogel et coll. [58] ont portés sur les exigences de culture du boldo par rapport aux conditions de luminosité, d'humidité du sol et de la densité de plantation. La matière végétale peut être obtenue par la germination de graines provenant de populations de boldo sélectionnées, les semis sont transplantés au champ au bout d'environ un an et les feuilles peuvent être cueillies à partir de la deuxième saison.

Le boldo cultivé nécessite d'être au moins irrigué à 20% de la capacité au champ (représentant la capacité de rétention maximale en eau d'un sol). Cependant, dans de telles conditions, la concentration en huile essentielle est moins importante que chez des plants plus irrigués.

II.2 Récolte du boldo

II.2.1 Date et mode de récolte [101]

Les feuilles de boldo sont récoltées dans ses contrées originelles pendant la période estivale (de décembre à mars). Dans le meilleur des cas, les feuilles sont cueillies manuellement sur des plants sauvages : les branches sont coupées à la base de l'arbuste, puis séchées ; les feuilles sont ensuite enlevées.

Mais pour répondre aux demandes croissantes d'exportation et pour maintenir une production soutenue de feuilles de haute qualité sans détruire les populations naturelles, des travaux sont en cours sur les facteurs influençant la culture du boldo. Cela permettrait d'obtenir une meilleure productivité et de mécaniser la récolte.

II.3 Production du boldo

II.3.1 Production mondiale [102]

Plus de 2.000 tonnes de feuilles séchées de boldo sont exportées chaque année dans le monde. Les exportations chiliennes ont augmenté de 1.173 à 2.251 tonnes entre 2003 et 2009. Le Chili est le premier producteur de boldo, ses pays limitrophes (Argentine, Bolivie et Pérou) représentent aussi une part importante du marché.

Une partie de la production est aussi retrouvée au Brésil et au Maroc.

II.3.2 Production européenne

Seule l'Italie produit du boldo pour répondre en partie à la demande du marché européen pour l'utilisation médicinale des feuilles [100], mais aucune donnée chiffrée sur cette production n'est disponible. Il est rare de retrouver des plants de boldo en dehors des jardins botaniques.

II.4 Post-récolte [95]

II.4.1 Conservation et conditionnement

Les feuilles sont séchées à l'ombre ou dans des séchoirs spéciaux à des températures inférieures à 35°C. Elles sont conservées dans des bocaux en verre foncé (éviter les matières plastiques à cause de l'huile essentielle) hermétiquement clos, au frais et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

DEUXIÈME PARTIE

Composition chimique de *Peumus boldus* M.

I - Identification et composition chimique du boldo

I.1 Identification macroscopique et microscopique du boldo [70] [71]

La feuille mesure environ 5 cm de long. Son limbe, ovale, vert-gris, épais, coriace, cassant, est légèrement émarginé ou mucroné* à l'apex et ses bords entiers, épaissis, sont plus ou moins enroulés vers la face intérieure. La face supérieure du limbe est couverte de protubérances lui donnant un aspect grenu, rugueux au toucher. La face intérieure, finement pubescente, a une nervation pennée à nervures saillantes.

La poudre de feuille, examinée au microscope (hydrate de chloral), présente principalement des poils tecteurs* unicellulaires simples, bifurqués ou en bouquets, à parois plus ou moins épaisses et lignifiées ; des débris de parenchyme lacuneux à grandes cellules oléifères ; des fragments épidermiques à stomates entourés de 4 à 7 cellules ; etc. (Annexe 1).

I.2 Composition chimique des feuilles et écorce du boldo [43] [50] [71]

Les feuilles de boldo contiennent au moins 17 alcaloïdes différents appartenant pour la majorité à la grande famille des dérivés isoquinoléiques.

La boldine est l'alcaloïde majeur (12-19% des alcaloïdes totaux).

I.2.1. Composition chimique des feuilles

Les monographies de la feuille de boldo (Annexe I) et de son extrait sec (Annexe II) sont inscrites à la Pharmacopée européenne. [71]

La feuille contient au minimum 0,1% d'alcaloïdes totaux, exprimés en boldine.

La feuille sèche renferme de 10 à 30 ml/kg d'huile essentielle à composés majoritairement monoterpéniques. On note également la présence de catéchol et d'hétérosides de flavonolols banals (dérivés du rhamnétol, de l'isorhamnétol et du kempférol). Les alcaloïdes de la feuille (0,2-0,5%) sont des aporphinoïdes : boldine, isoboldine, isocorydine, norisocorydine, N-méthyl-laurotétanine, laurolitsine, accompagnés de quelques benzyltétrahydroisoquinoléines (réticuline, coclaurine, etc.).

I.2.2 Composition chimique de l'écorce

L'écorce de boldo contient une concentration supérieure de boldine par rapport aux feuilles. On y retrouve comme alcaloïdes: boldine, isocorydine, N-methyl-laurotétanine, norisocorydine, (R)-pronuciferine, et sinoacutine.

II – Alcaloïdes

II.1. Généralités sur les alcaloïdes

II.1.1 Définitions [70]

Les alcaloïdes représentent le groupe de substance d'intérêt thérapeutique le plus important en termes de nombre, de diversité structurale et de l'éventail de leurs activités pharmacologiques. Le terme d'alcaloïdes a été introduit par W. Meisner au début du XIXe siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe *al kaly*, la soude et du grec *eidos*, l'aspect). Il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes et des autres métabolites azotés naturels.

Il est admis qu'un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées.

On distingue:

- les alcaloïdes vrais qui sont des substances d'origine naturelle et de distribution restreinte, de structure souvent complexe, azotée (atome d'azote inclus dans un hétérocycle) et de caractère basique. Ils existent dans la plante sous forme de sels, ont pour origine biosynthétique un acide aminé et sont dotées d'une activité pharmacologique significative;
- les pseudo-alcaloïdes qui sont des métabolites présentant les caractéristiques des alcaloïdes vrais, excepté leur origine biosynthétique. Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate;
- les proto-alcaloïdes qui sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique, ont une réaction basique et sont élaboré *in vivo* à partir d'acides aminés.

En pratique, il est admis que ne sont pas des alcaloïdes : les amines simples, les bétalaïnes, les peptides, les acides aminés, les amino-sucres, les porphyrines, les alkylamines et les arylakylamines.

II.1.2 État naturel, distribution, localisation des alcaloïdes[65]

Etat naturel

Pendant longtemps, les alcaloïdes ont été considérés comme des produits du métabolisme des seuls végétaux (Tableau II). En fait, les structures alcaloïdiques existent également chez les animaux (Figure 7).

Règne végétal

6%	Bactéries	Pyocyanine de *Pseudomonas aeruginosa*
	Champignons	Psilocine des champigons hallucinogènes Ergoline des Claviceps Amanitine des Amanites
	Ptéridophytes	Alcaloïdes des *Lycopodiaceae*
	Gymnospermes	Alcaloïdes de *Cephalotaxus*
16%	Monocotylédones	*Amaryllidaceae* *Colchicaceae*
78%	Dicotylédones	*Annonaceae, Apocynaceae, Lauraceae, Loganiaceae, Magnoliaceae, Menispermaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Solanaceae*, etc.

Tableau II : Répartition des alcaloïdes dans le règne végétal [65]

Parmi les 400.000 espèces d'Angiospermes recensées, 10 à 15% synthétisent des alcaloïdes.

Règne animal

Dans certains cas, ce sont des produits formés à partir des alcaloïdes contenus dans les végétaux inclus dans la ration alimentaire de l'animal, tels que:

- la castoramine issue de la métabolisation des alcaloïdes des nénuphars que consomme le castor ;
- les alcaloïdes pyrrolizidiniques présents chez certains papillons.

Dans d'autres cas, les alcaloïdes isolés semblent être des produits du métabolisme de l'animal : c'est en particulier le cas chez des Amphibiens (salamandres, crapauds..), Arthropodes, Hyménoptères, Coléoptères, Neuroptères, Myriapodes…

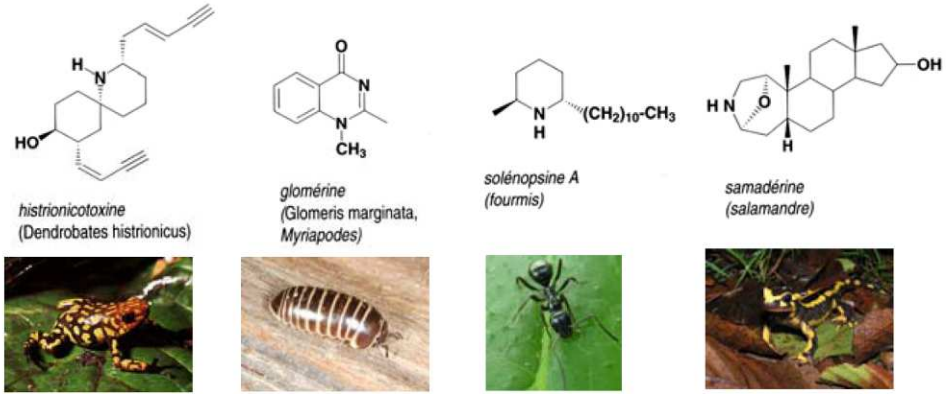


Figure 7: Exemple d'alcaloïdes issus du métabolisme animal [65] ©Annelise Lobstein

Distribution

Certains alcaloïdes existent dans plusieurs genres appartenant à des familles différentes, parfois très éloignées taxonomiquement comme pour le cas de la caféine retrouvée dans le café (*Rubiaceae*), le thé (*Ternstroemiaceae*), le kolatier (*Sterculiaceae*), le maté (*Aquifoliaceae*), le guarana (*Sapindaceae*).

D'autres sont caractéristiques d'un nombre limité de genres à l'intérieur d'une famille (hyoscyamine - famille des *Solanaceae*) ou d'un groupe d'espèces à l'intérieur d'un genre (thébaïne – genre *Papaver*) ; certains sont étroitement spécifiques (morphine de *Papaver somniferum* Linné).

La teneur en alacaloïdes varie dans de larges limites : de quelques ppm comme dans le cas des alcaloïdes antitumoraux de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus* Linné), à plus de 15% pour les écorces de tronc du quinquina (*Cinchona ledgeriana* Moens).

Les plantes à alcaloïdes ne renferment que très rarement un seul alcaloïde, elles livrent, le plus souvent, un mélange complexe, éventuellement dominé par un composé majoritaire. Il n'est pas rare que plusieurs dizaines d'alcaloïdes soient présents dans une même plante.

Localisation

Pour une plante donnée, la teneur en alcaloïdes peut être très inégale selon les organes, certains pouvant en être dépourvus.

Les alcaloïdes sont retrouvés sous forme solubles, sels (citrates, malates, tartrates, méconates, isobutyrates, benzoates) ou sous forme complexée avec des tanins.

Ils sont le plus souvent localisés dans les tissus périphériques : assises externes des écorces de tige et de racine, téguments des graines, etc. La basicité et les actions antimétabolites de la plupart de ces molécules imposent leur compartimentation : elles sont normalement stockées dans les vacuoles cellulaires, que ces dernières s'effectuent au niveau de sites précis

(laticifères) ou non. Le plus souvent, la synthèse de ces alcaloïdes s'effectue au niveau de site précis (racine en croissance, cellules spécialisées de laticifères, chloroplastes) ; ils sont ensuite transportés dans leur site de stockage.

II.2 Structure des alcaloïdes

Rappelons que les alcaloïdes vrais dérivent d'acides aminés (Figure 8) : ornithine, lysine, phénylalanine, tyrosine, tryptophane, histidine, acide anthranilique.

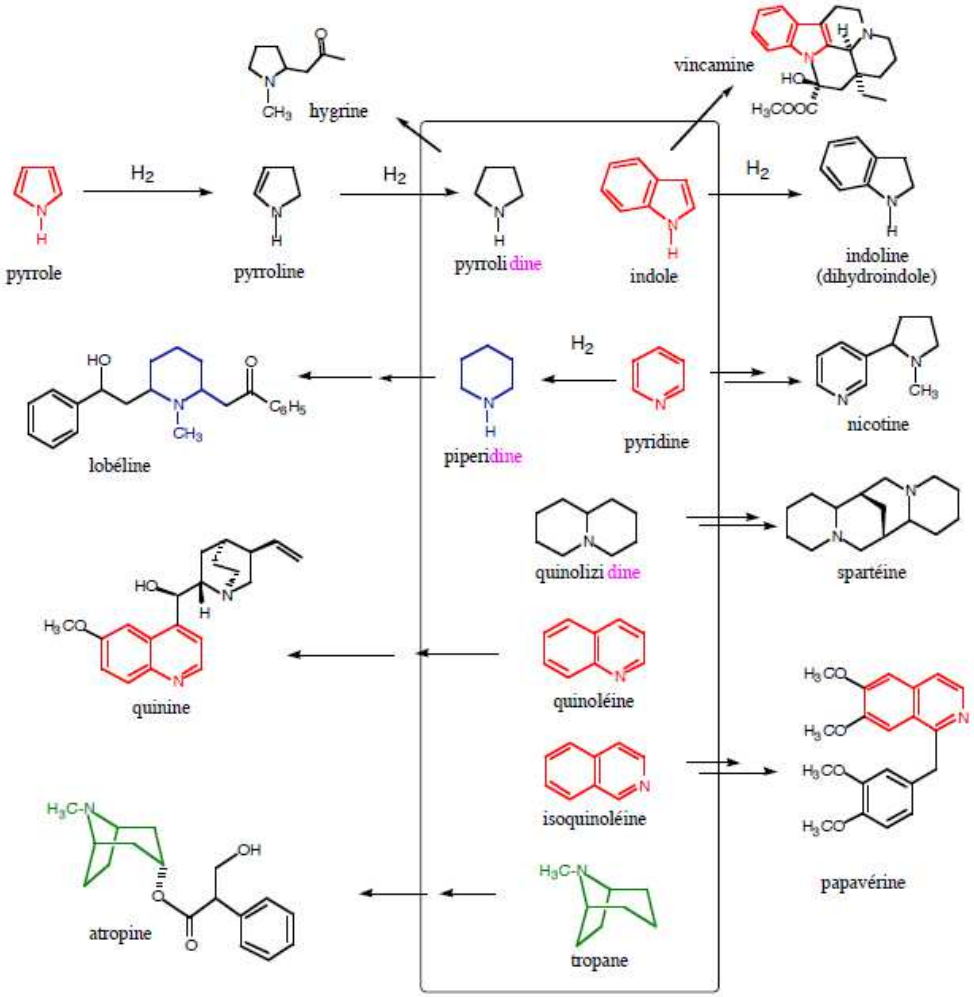


Figure 8: Biogénèse des alcaloïdes [66] ©Joseph Vercauteren

II.3 Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes [70]

Leurs masses moléculaires varient entre 100 à 900 g/mol.

La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire (nicotine, sparténite, coniine) ; celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont normalement des solides cristallisables, rarement colorés.

Ces derniers dévient la lumière polarisée et ont des points de fusion nets, sans décomposition et surtout au dessous de 200°C.

Les alcaloïdes bases sont insolubles ou très peu solubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, solubles dans les alcools de titre élevé.

La basicité des alcaloïdes est très variable, étroitement fonction de la disponibilité du doublet libre de l'azote. Des groupements électro-attracteurs adjacents à l'atome d'azote diminuent la basicité, des groupements électro-donneurs l'exaltent. Pour la pyrrolidine, l'hétérocycle est insaturé, la basicité est forte.

Chez la pyridine à 6 six électrons π ainsi que chez la quinoléine et l'isoquinoléine où le doublet de l'azote est disponible, la basicité est nette.

Dans le cas du pyrrole et de l'indole où le doublet de l'azote participe à l'aromaticité, la basicité est nulle.

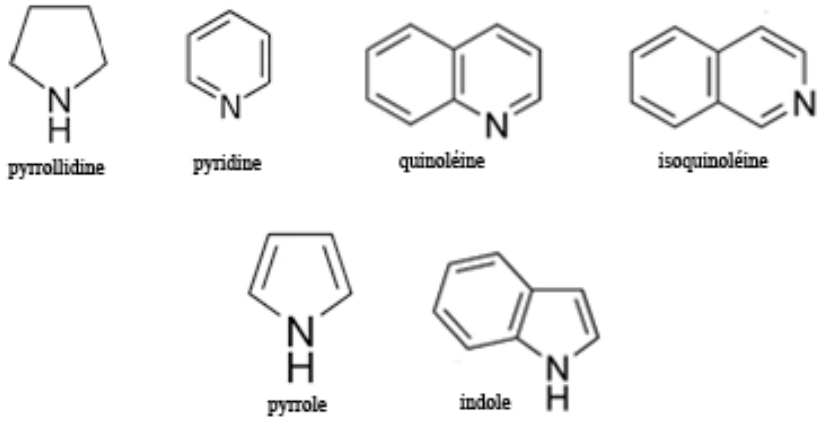


Figure 9 : Structure d'alcaloïdes

La basicité est également influencée par des contraintes stériques, elle est un facteur d'instabilité pour ces molécules qui, à l'état de base et en solution, sont sensibles à la chaleur, à la lumière, à l'oxygène.

II.4 Détection, extraction, séparation et identification des alcaloïdes [70]

II.4.1 Détection des alcaloïdes

Elle se fait sur un extrait total (macération dans l'alcool) ou un extrait enrichi.

Le principe est d'obtenir une précipitation en milieu acide, en présence de réactifs appropriés. Ces derniers contiennent des métaux ou des métalloïdes qui se combinent avec les alcaloïdes.

Les plus utilisés sont les suivants :

- Mayer : solution de tétraiodomercurate de potassium,
- Dragendorff : solution de tétraiodobismuthate de potassium,
- Bertrand : réactif silico-tungstique (oxydes de tungstène et silicium),
- solutions d'iodoplatinates alcalins.

Il faut noter que la spécificité de ces réactifs n'est pas absolue, en effet, des protéines, des α-pyrones, certaines coumarines et des hydroxy-flavones, des lignanes et autres composés peuvent donner des réactions faussement positives avec le réactif de Dragendorff.

II.4.2 Extraction des alcaloïdes

II.4.2.1 Extraction par un solvant en milieu alcalin

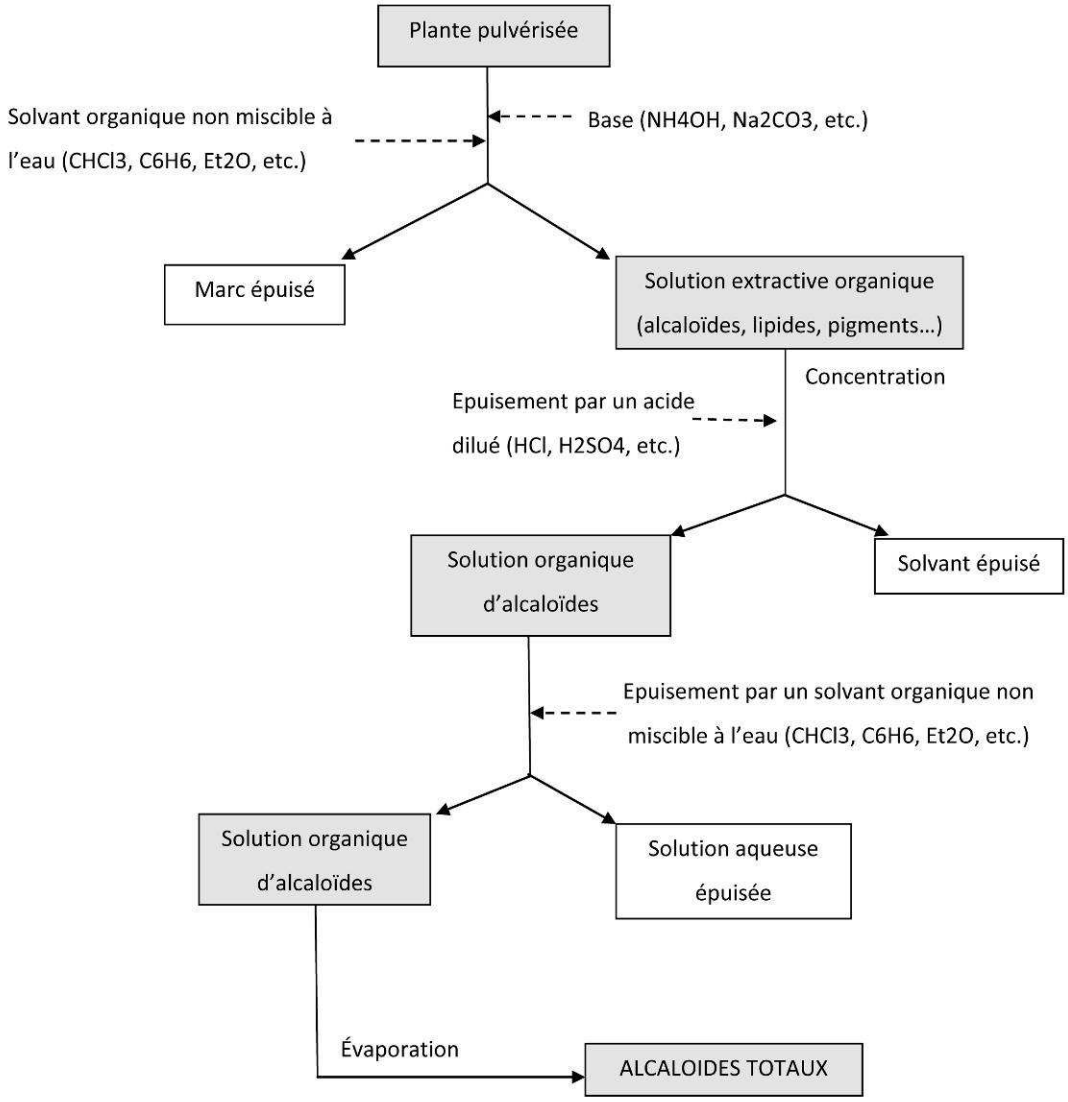


Figure 10 : Principe de l'extraction des alcaloïdes en milieu alcalin. [70]

II.4.2.2 Extraction par un solvant en milieu acide

Deux cas peuvent se présenter : dans le premier, la plante ou partie de la plante pulvérisée est directement épuisée par de l'eau acidifiée (cas des alcaloïdes du boldo); dans le second cas, c'est avec une solution alcoolique ou hydro-alcoolique acidifiée qu'est réalisé l'épuisement, Dans ce cas de figure, l'extraction est suivie d'une distillation sous vide qui élimine l'alcool et laisse une solution aqueuse acide de sels d'alcaloïdes.

Dans les deux cas, on a donc une solution aqueuse de sels d'alcaloïdes qu'il faut purifier.

On peut :

- alcaliniser la solution et extraire les bases par un solvant organique non miscible : on est ramené au cas précédent (cas des alcaloïdes du boldo) ;
- fixer sélectivement les alcaloïdes contenus dans la solution sur une résine échangeuse d'ions puis les éluer à l'aide d'un acide fort ;
- précipiter les alcaloïdes sous la forme d'iodomercurates. Le complexe formé est récupéré par filtration, solubilisé dans un mélange hydro-alcoolo-acétonique et décomposé par passage sur une résine échangeuse d'ions.

II.4.3 Séparation et identification des alcaloïdes

Quelle que soit la méthode choisie pour extraire les alcaloïdes, ce ne sont pas des produits purs qui sont obtenus mais des alcaloïdes totaux, mélanges complexes de bases qu'il est nécessaire de séparer.

Dans le meilleur des cas, l'un des alcaloïdes est majoritaire et peut être obtenu par cristallisation directe (exemple de la quinine qui est cristallisée sous forme de sulfate basique par simple neutralisation des liqueurs acides d'extraction par du carbonate de sodium jusqu'à pH 6).

Dans d'autres cas, les divers alcaloïdes du mélange ont des basicités différentes permettant d'envisager des réextractions par une phase non miscible et ce à des pH variables. Souvent, il est obligatoire de recourir aux méthodes classiques de résolution d'un mélange complexe, en particulier aux techniques chromatographiques (sur silice, alumine, résines échangeuses d'ions, etc.).

II.4.4 Dosage des alcaloïdes

On distingue le dosage des alcaloïdes totaux et celui d'un alcaloïde particulier dans une plante ou une partie de plante donnée.

Alcaloïdes totaux (AT)

Il est réalisé à partir d'un mélange d'alcaloïdes après extraction en milieu alcalin, en s'assurant que l'épuisement a été total à chaque phase.

Deux principales méthodes sont utilisées :

- le dosage pondéral (gravimétrique). Il est facile à mettre en œuvre, mais la simple pesée du résidu d'AT manque de précision ;
- le dosage volumétrique, on opère soit par acidimétrie directe, soit le plus souvent, par acidimétrie en retour : dissolution du résidu dans un excès d'acide titré et dosage en retour de l'excès d'acide par une base de titre connu en présence d'un indicateur coloré (*Solanaceae* mydriatiques, boldo, etc.).

Dosage d'un groupe d'alcaloïdes ou d'un alcaloïde purifié

Les techniques spectrophotométriques, colorimétriques, fluorométriques, densitométriques et chromatographiques sont utilisées. Les méthodes spectrophotométriques sont très sensibles et assez fréquemment préconisées : dosage des alcaloïdes de type quinine et cinchonine par mesure de l'absorbance à deux longueurs d'onde dans les écorces de quinquina, dosage de la caféine dans la feuille de thé, etc.

Le plus souvent, la chromatographie liquide remplace avantageusement les méthodes « classiques » ; par exemple, la Pharmacopée Européenne a remplacé le dosage acidimétrique des alcaloïdes de la feuille de boldo par une technique de ce type. Toutefois, les dosages « classiques » demeurent en vigueur pour de nombreuses plantes inscrites à la Pharmacopée Française.

II.5 Alcaloïdes du boldo

II.5.1 Composition en alcaloïdes [119]

Le boldo contient plusieurs composés chimiques doués d'activité biologique, mais les alcaloïdes représentent la classe majoritaire : ils sont au moins au nombre de 17, l'alcaloïde prépondérant étant la boldine.

Les alcaloïdes du boldo dérivent tous de 2 types de structures chimiques bien précises :

- type aporphinoïde (Tableau III)
- type benzyl tétrahydroisoquinoléine (Tableau IV).

Nom	1	2	3	6	9	10	11
Boldine	OCH_3	OH	H	CH_3	OH	OCH_3	H
Isoboldine	OH	OCH_3	H	CH_3	OH	OCH_3	H
Isocorydine	OCH_3	OCH_3	H	CH_3	H	OCH_3	OH
N-oxyisocorydine	OCH_3	OCH_3	H	OCH_3	H	OCH_3	OH
Nor-isocorydine	OCH_3	OCH_3	H	H	H	OCH_3	OH
N-methyllauretatine	OCH_3	OCH_3	H	CH3	OH	OCH_3	H
Laurotetanine	OCH_3	OCH_3	H	H	OH	OCH_3	H
Laurolitsine	OCH_3	OH	H	H	OH	OCH_3	H

Tableau III : Alcaloïdes du boldo de type aporphinoïde [43] [119]

Nom	2	4	5	6	7
Réticuline	CH_3	OCH_3	OH	OCH_3	OH
Coclaurine	H	OH	H	OCH_3	OH

Tableau IV : Alcaloïdes du boldo de type benzyltétrahydroisoquinoléique[43]

II.5.2 Données qualitatives et quantitatives

D'après la Pharmacopée Européenne [71], la feuille entière ou fragmentée séchée du boldo doit contenir au minimum 0,1% d'AT exprimés en boldine.

De même, l'extrait préparé à partir des feuilles doit contenir :

- pour les extraits aqueux : au minimum 0,5% d'AT, exprimés en boldine ;
- pour les extraits hydroalcooliques : au minimum 1,0% d'AT, exprimés en boldine.

L'équipe de Vogel et coll. [58] a étudié la teneur en alcaloïdes sur différentes populations chilienne de boldo du Nord (33°S), du Centre (35°S) et du Sud (39°S), dans leur habitat naturel. Les feuilles provenant du Nord présente une concentration plus grande que celle du Sud et du Centre. De plus, les plants sauvages ont des concentrations plus importantes en alcaloïdes que celles obtenues dans les plants cultivés.

La variation phénotypique dans le contenu en alcaloïdes est due aux facteurs environnementaux plutôt qu'aux traits génétiques.

La même équipe a de nouveau étudié quelques années plus tard les effets de l'intensité de l'exposition à la lumière, de l'humidité du sol et de la densité de plantation sur des plants

cultivés de boldo : il n'y pas de différence significative sur le contenu en composés actifs et donc sur la teneur en alcaloïdes.[58]

II.5.3 Distribution des alcaloïdes du boldo [50]

Les alcaloïdes du boldo sont retrouvés dans les feuilles et l'écorce. Les feuilles contiennent entre 0,4 et 0,5% d'au moins 17 alcaloïdes différents. La boldine est l'alcaloïde majoritaire représentant 12 à 19% des alcaloïdes totaux.

L'écorce contient une concentration supérieure en boldine par rapport à la feuille ; on y retrouve jusqu'à 6% du poids sec, la boldine représentant environ 75% des alcaloïdes de l'écorce. En dehors de la boldine, on retrouve plusieurs autres alcaloïdes de structure analogue parmi lesquels la glaucine, fome O-diméthylée de la boldine et l'analogue insaturé de la boldine, la 6a,7-didehydroboldine.

Parmi les alcaloïdes non aporphinoïdes, on retrouve la réticuline, benzyl-tétra-hydro-isoquinoline qui est un précurseur de certaines aporphines. L'écorce contient aussi un mélange de (R)- et (S)- coclaurines qui sont des précurseurs d'alcaloïdes dérivés de la benzylisoquinoline. On retrouve également deux autres alcaloïdes isoquinoléiques : la sinoacutine et la proaporphine (R)-pronuciferine.

II.5.4 Pharmacocinétique de la boldine [74]

L'étude la pharmacocinétique de la boldine a été étudiée tardivement. À l'heure actuelle, il n'existe aucune étude sur l'être humain, seuls les modèles animaux ont été étudiés *in vitro* et *in vivo*.

Études *in vitro*

L'ajout de boldine à 200 µM à une suspension d'hépatocytes isolés de rats a été suivi d'une accumulation précoce et rapide de boldine dans les cellules, de 1.600 µM en 2 minutes. Au bout de 60 minutes d'incubation, la concentration intracellulaire de boldine était de 344 µM soit une augmentation de 50% par rapport à la concentration initialement présente dans la suspension. Injectée par voie portale à des foies isolés de rats, la boldine est éliminée du milieu extracellulaire de façon concentration-dépendante à des taux de 6,6, 10,4 et 16,2 nmol/min/0,1 g de foie pour respectivement 50, 100 et 200µM.

Études *in vivo*

La boldine a été retrouvée dans les urines de rats après administration *per os* d'un extrait hydro-alcoolique de boldo à 400 et 800 mg/kg. L'absorption de la boldine a été rapide après administration à des rats à la dose de 25, 50 ou 75 mg/kg, les concentrations maximales

plasmatiques étant atteintes au bout de 15 à 30 minutes ; la boldine s'est préférentiellement concentrée dans le foie. Les concentrations plasmatiques de la boldine ont diminué rapidement avec une demi-vie moyenne de 31 minutes ; l'élimination semble suivre une cinétique de premier ordre.

III - Huile essentielle de boldo

III.1 Généralités sur les huiles essentielles [70] [117]

III.1.1 Définitions

D'après la Pharmacopée Européenne, une huile essentielle est « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécaniquement approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. La matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée, à l'exception des fruits du genre *Citrus* qui sont toujours à l'état frais. »

L'Association Française de Normalisation de normalisation la définit (norme NF T 75-006) comme « le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

Ces définitions par procédés sont restrictives : elles excluent les produits obtenus par extraction à l'aide de solvants ainsi que ceux obtenus par tout autre procédé (gaz sous pression, enfleurage). On peut définir quatre autres types de produits :

- **concrète :** extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique. Dans la pratique, on parle d'essence concrète ou d'essence ;
- **pommade florale :** corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs soit par « enfleurage à froid » (diffusion des constituants odorants des fleurs dans le corps gras), soit par « enfleurage à chaud » (digestion ou immersion des fleurs dans le corps gras fondu) ;
- **résinoïde :** extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique. Le terme résinoïde est surtout

employé en parfumerie alors que celui d'oléorésine d'extraction est utilisé en aromatisation alimentaire et en parfumerie ;

- **absolue :** produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires ; l'éthanol est ensuite éliminé par distillation.

Pour certains auteurs, il est important de distinguer essences et huiles essentielles :

- **essence** : sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers type d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée.
- **huile essentielle** : extrait naturel de matières premières d'origine végétale, obtenu par distillation par la vapeur d'eau.

III.1.2 Répartition, localisation

Les huiles essentielles sont retrouvées exclusivement chez les Spermaphytes : familles des Conifères, Lamiaciées, Myrtacées, Apiacées, Lauracées, Rutacées et Astéracées. Elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices qui se situent dans un ou plusieurs organes de la plante, à savoir :

- **les poils sécréteurs ou trichomes** qui peuvent se présenter sous quatre formes : ils peuvent se composer de plusieurs cellules sécrétrices associées pour constituer un plateau porté par un pédicelle* court, poils peltés*, poils capités* à pieds court ou long ou bosselé. Les poils sécréteurs peuvent être externes ou bien internes, comme dans les divers eucalyptus ;
- **les cellules épidermiques**: il s'agit de cellules plus petites que les autres cellules épidermiques. Elles sont davantage perméables car leur paroi ne contient pas de cutine ; ce type de cellules se rencontre généralement dans les pétales de fleurs ;
- **les poches sécrétrices** : leur genèse débute par la division d'une cellule parenchymateuse en quatre cellules, qui forment en leur centre une poche.

Dès lors, il existe deux voies d'évolution pour cette poche :

  - soit les cellules entourant la poche, continuent à se diviser tout en formant une seule rangée tout autour ; la poche est qualifiée de schizogène ;
  - soit les cellules, entourant la poche, vont se diviser et s'organiser pour constituer des rangées successives autour de la poche, avec un phénomène de lyse pour les cellules de la rangée la plus interne formant alors une poche schizolysigène ;

- **les canaux sécréteurs.**

III.2 Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont généralement liquides à température ambiante, très rarement colorées (sauf azulènes), elles peuvent conférer leur odeur à l'eau (donnant les eaux distillées aromatisées). Elles sont entraînables par la vapeur d'eau, solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau.

Elles ont une densité inférieure à celle de l'eau (sauf girofle, cannelle).

Leur indice de réfraction et pouvoir rotatoire sont très élevés.

Elles sont altérables (conservation limitée à 1 an).

Les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses. Ainsi, par l'analyse instrumentale moderne (chromatographie gazeuse capillaire, couplage chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse), il n'est pas rare de reconnaître plusieurs dizaines voire une ou deux centaines et parfois plus de constituants dans une huile essentielle (huiles essentielles de vétiver, de patchouli, de géranium). Par contre, certaines huiles ne contiennent que quelques composés, avec généralement, la prédominance d'un composé. Enfin, les propriétés odorantes de ces huiles sont souvent sous l'influence de plusieurs composés qui ne sont présents qu'à de très faibles proportions.

L'ensemble de ces composés peut être divisé en deux grands groupes:

- les hydrocarbures terpéniques (monoterpènes, sesquiterpènes),
- les composés oxygénés qui sont considérés comme substances aromatiques, de type phénylpropanoïde.

D'autres composés n'appartenant pas à ces deux groupes, peuvent se rencontrer dans les huiles essentielles : des acides gras, des lactones (dérivés des acides cinnamiques), des alcaloïdes de faible poids moléculaire et des composés résultant de l'hydrolyse enzymatique des hétérosides.

Le point de départ de la synthèse de l'ensemble de ces composés se situe au niveau du métabolisme des glucides.

Les principales voies de synthèse sont de deux principaux groupes :

- synthèse des composés terpéniques à partir de l'acide mévalonique,
- synthèse des composés phénylpropanoïques à partir de l'acide shikimique.

III.3 Extraction, caractérisation, essai

III.3.1 Extraction

III.3.1.1 Distillation et entraînement par la vapeur d'eau

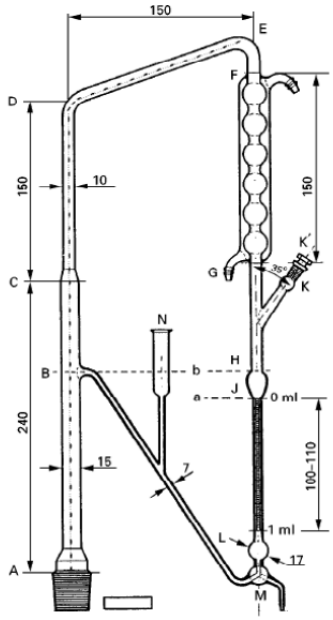


Figure 11 : Appareil pour la détermination des huiles essentielles dans les drogues végétales (dimensions en mm) [71]

Le mode opératoire est le suivant :

On introduit dans un ballon le volume de liquide indiqué pour l'entraînement à la vapeur d'eau et quelques fragments de pierre poreuse. On adapte au ballon l'appareil de condensation. On verse de l'eau R par le tube de remplissage (N) jusqu'à l'affleurement en (B). On enlève ensuite le bouchon (K') et on introduit la quantité prescrite de xylène R avec une pipette, en appuyant la pointe au fond de la tubulure (K). On replace le bouchon (K') en vérifiant que les deux orifices coïncident. On chauffe le liquide du ballon jusqu'au début d'ébullition et on distille à la vitesse de 2-3 ml/min pendant 30 minutes. Le volume de xylène est lu après au moins 10 minutes au niveau du tube gradué.

On introduit ensuite dans le ballon la quantité de drogue prescrite et on procède à l'entraînement à la vapeur. On arrête le chauffage et on procède à la lecture du volume de xylène après 10 minutes. Le volume d'huile essentielle est obtenu par soustraction du volume de xylène déterminé précédemment. Le résultat sera ensuite exprimé en ml/kg.

III.3.1.2.Expression à froid

Cette méthode est utilisée pour l'extraction des huiles essentielles des *Citrus* (citrons, oranges, mandarines, bergamotes) issues du fruit ou de l'écorce.

III.3.1.3 Autres méthodes industrielles

Il existe d'autres techniques d'extraction des HE comme l'enfleurage ou l'extraction par solvant ou encore par des fluides supercritiques tels que le CO_2 supercritique.

III.3.2 Caractérisation-Essai

III.3.2.1 Essais sur les drogues

En accord avec la Pharmacopée, des vérifications botaniques, morphologiques, microscopiques (mises en évidence sur les coupes) sont réalisées.

III.3.2.2 Essais sur les huiles essentielles

Des essais sur les huiles essentielles sont réalisés et concernent les :

- propriétés physiques : caractères organoleptiques (couleur, odeur), solubilités dans les alcools, densité, polarimétrie, indice de réfraction, CCM, chromatographie en phase gazeuse simple (CPG) ou couplée à divers spectomètres tel que celui de masse (CPG/SM),
- caractères chimiques : indice d'acide, d'esters, d'hydroxyle ; dosage d'un constituant majoritaire.

III.4 Composition de l'huile essentielle de boldo [100] [119]

Les feuilles sèches du boldo contiennent 2 à 3% d'huile essentielle qui est produite par les cellules sécrétrices isolées, présentes dans le mésophylle*. D'après la Pharmacopée Européenne, la drogue anhydre renferme au maximum 40 ml/kg d'huile essentielle. C'est un liquide jaunâtre, peu visqueux, à odeur caractéristique d'ascaridole, soluble dans l'éther, l'alcool et le chloroforme, de saveur chaude et aromatique.

III.4.1 Composés oxygénés monoterpéniques

Ce sont les composés majoritaires de l'HE. En général, environ 30% de l'HE sont composés d'ascaridole et de 1-8 cinéole (eucalyptol). En plus petite quantité, on retrouve du linalool (9%) et du terpinéol (2,6%).

À moins de 1%, on trouve les autres substances suivantes :

- aldéhyde cuminique ;
- benzoate de benzyle ;
- camphre ;
- decan-2-one ;
- farnésol ;

- fenchone ;
- alpha fenchol ;
- méthyl-éther-eugénol ;
- myrtenal ;
- para cymen-7-ol ;
- thymol ;
- trans verbenol.

III.4.2 Hydrocarbures monoterpéniques

Le principal hydrocarbure de ce type contenu dans l'huile essentielle est le p-cymène (entre 26 et 29% de l'huile essentielle).

À plus faibles quantités, on retrouve :

- camphène ;
- car-3-ène ;
- alpha methy ionène ;
- limonène ;
- alpha pinène ;
- beta pinène ;
- 2-para-tolyl-propène ;
- Sabinène ;
- gamma terpinène ;
- terpinolène.

La composition de l'huile essentielle peut être très diverse selon l'origine régionale de la drogue. Par exemple, les feuilles du nord du Chili renferment surtout de l'ascaridole alors que celles du sud comportent par contre beaucoup de p-cymène et de 1-8 cinéole.

IV - Autres composés de *Peumus boldus*

Les composés minoritaires retrouvés dans la feuille de boldo sont les polyphénols.

Ces derniers n'ont été que peu étudiés.

IV.1 Flavonoïdes [50][90] [119]

Ce sont pour la plupart des hétérosides du rhamnétol, de l'isorhamanétol et du kaempférol.

Cinq d'entre eux ont été identifiés :

- Pneumoside (ou glucoside A) : arabinosido 3' rhamnosido 3 rhamnétol ;
- Boldoside (ou glucoside B) : glucosido 7 rhamnosido 3 isorhamnétol ;

- Glucoside C : glucosido 7 rhamnosido 3 kaempférol ;
- Fragoside (ou glucoside D) : dirhamnosido 3,7 isorhamnétol ;
- Glucoside E: arabinosido 3 rhamnosido 7 isorhamnétol.

On retrouve aussi des glycosides de la quercétine et des proanthocyanidines.

IV.2 Acides phénoliques [90]

On retrouve les acide hydroxychlorogénique et caféique dans les plants mâles et femelles alors que l'acide syringique est seulement retrouvé dans les plants mâles.

IV.3 Non flavonoïdes

On trouve la coumarine à hauteur de 0,5%.

Troisième partie :

Intérêts thérapeutiques de *Peumus boldus*

I – Rappels physiopathologiques sur l'insuffisance hépato-biliaire

I.1 Foie et voies biliaires

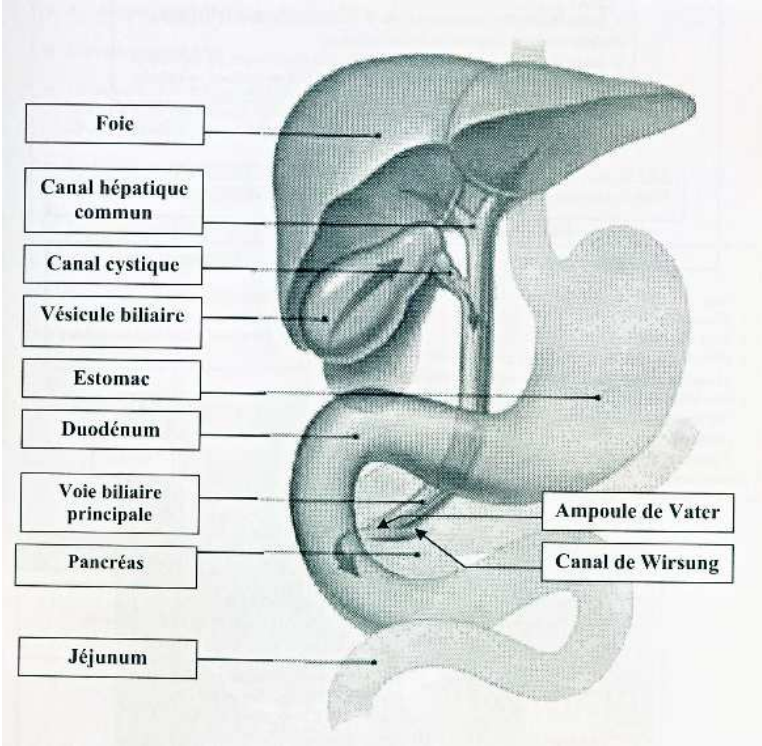


Figure 12: Anatomie des voies biliaires [91]

I.1.1 Généralités sur le foie

I.1.1.1 Anatomie du foie

Le foie est le plus gros des organes humains et la plus volumineuse des glandes annexes du tube digestif.

Son poids est d'environ 1.500 g chez le cadavre (environ 2% du poids corporel) et en fait plus élevé, de l'ordre de 2.400 g chez le vivant car gorgé de sang. [8]

Il est situé dans la partie supérieure droite de la cavité abdominale, entouré par une capsule fibreuse (capsule de Glisson) et maintenu par de nombreux ligaments.

Le foie est divisé en deux parties, droite et gauche, par la fosse de la vésicule biliaire et la veine cave inférieure. Le lobe droit du foie est un grand lobe unique, alors que le lobe gauche est plus petit et comprend le lobe carré et le lobe caudé (ou de Spiegel).

Ces lobes sont eux-mêmes divisés en unité fonctionnelle appelées « lobules hépatiques » (Figure 13), de forme polyédrique, délimités par des espaces portes. C'est dans ces derniers qu'a lieu une double circulation en sens inverse: sanguine et biliaire (Figure 14).

Le foie est constitué de différents types de cellules : [64] [103]

- **les hépatocytes** : cellules épithéliales, de forme polyédriques, disposées en travées (travées de Remak) séparées les unes des autres par les capillaires sinusoïdes. Leur noyau est central, ils sont parfois binucléés. Ils sont très riches en organites intracellulaires tels l'appareil de Golgi, les réticulums endoplasmiques lisse et granulaire, les mitochondries et contiennent d'abondants grains de glycogène. Cette richesse en organites cytoplasmiques témoigne d'une grande activité métabolique. La formation et l'excrétion de la bile ont lieu dans les hépatocytes ;
- **les cellules endothéliales des capillaires sinusoïdes** : elles sont séparées des hépatocytes par l'espace de Disse ;
- **les cellules de Kuppfer** : elles ont des fonctions de macrophages. Elles sont en particulier impliquées dans la phagocytose des hématies âgées et dans la dégradation de l'hémoglobine ;
- **les cellules de Ito** : appelées aussi « stellaires », elles sont localisées dans l'espace de Disse et impliquées dans de nombreux processus métaboliques;
- **les cellules des canaux biliaires**.

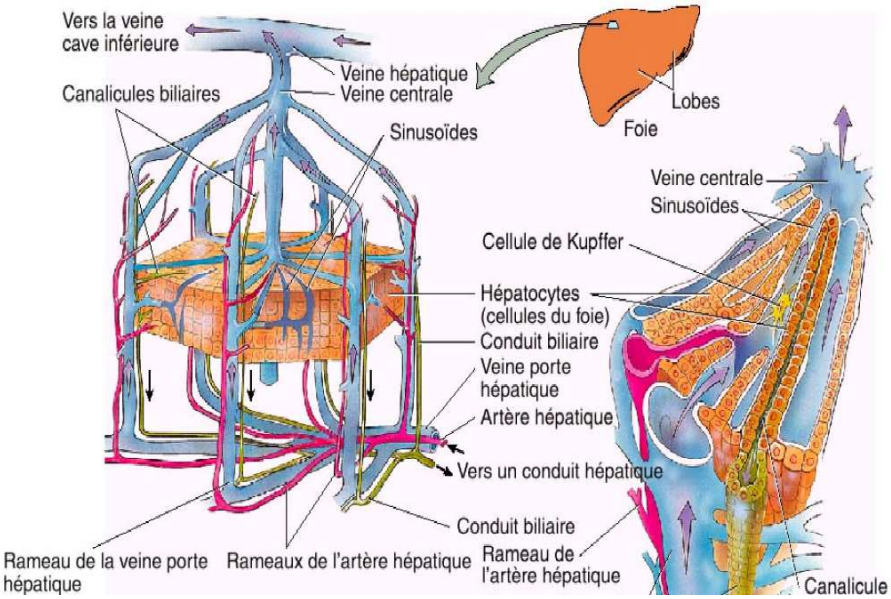


Figure 13 : Histologie d'un lobule du foie [93]

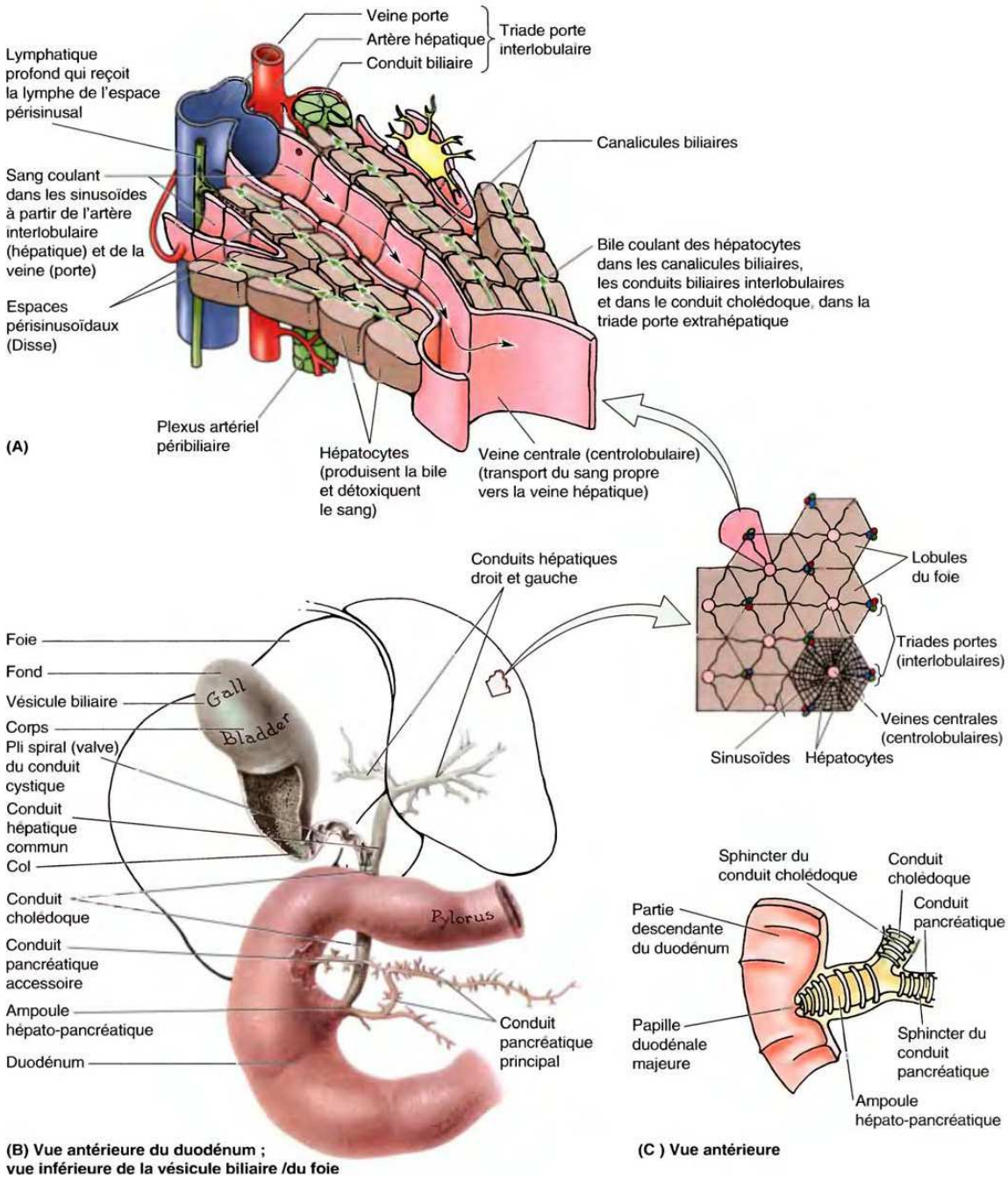


Figure 14 : Circulation du sang et de la bile dans le foie [84]

Légende : A. La vue d'une partie d'un lobule du foie illustre les constituants de la triade porte interlobulaire et la position des sinusoïdes et des canalicules biliaires. L'agrandissement de la vue de la surface d'un bloc de parenchyme du foie, dans la partie B, montre la structure hexagonale des lobules et la place de la partie A dans ce schéma de distribution. B.Voies biliaires extrahépatiques, de la vésicule biliaire et des conduits pancréatiques. C. Le conduit cholédoque et le conduit pancréatique entrent dans l'ampoule hépato-pancréatique qui s'ouvre dans la partie descendante du duodénum.

I.I.1.2 Fonctions du foie

Le foie est doué de fonctions métaboliques complexes et indispensables à la vie. Ses fonctions sont résumées dans le tableau suivant (Tableau V).

Fonctions principales du foie
Métabolisme glucidique
Néoglucogenèse
Synthèse et catabolisme du glycogène
Métabolisme lipidique
Synthèse des acides gras
Synthèse et excrétion du cholestérol
Synthèse des lipoprotéines
Cétogenèse
Synthèse des acides biliaires
25-hydroxylation de la vitamine D
Métabolisme protidique
Synthèse des protéines plasmatiques (incluant quelques facteurs de la coagulation mais pas les immunoglobulines)
Synthèse de l'urée
Métabolisme hormonal
Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes
Métabolisme des hormones polypeptidiques
Médicaments et substances étrangères
Métabolisme et excrétion
Stockage
Glycogène
Vitamine A
Vitamine B_{12}
Fer
Métabolisme et excrétion de la bilirubine

Tableau V : Fonctions principales du foie [82]

La bile, sécrétée continuellement, est un fluide complexe iso-osmotique au plasma composé d'eau, d'électrolytes, d'acides biliaires, de cholestérol, de phospholipides et de bilirubine. Elle est essentielle à l'excrétion de nombreux déchets endogènes tels que la bilirubine, de médicaments et de toxiques ainsi que des immunoglobulines A. La bile, par les sels biliaires, est également essentielle à l'absorption lipidique intestinale et joue un rôle clef dans le contrôle de la balance du cholestérol. Les hépatocytes élaborent une bile riche en composés organiques enrichie secondairement en eau et bicarbonates par l'épithélium des voies excrétobiliaires. Les sels biliaires, tauro et glycuroconjugués de nombreux acides biliaires, synthétisés par les hépatocytes à partir du cholestérol, sont réabsorbés par l'iléon, recaptés par les hépatocytes et de nouveau sécrétés dans la bile (cycle entérohépatique).

L'exemple du métabolisme de la bilirubine (Figure 15) illustre bien la fonction biliaire de l'hépatocyte.

La bilirubine qui dans le plasma est liée à l'albumine, est captée à l'intérieur des hépatocytes, conjuguée dans le réticulum endoplasmique lisse et excrétée par les canaux biliaires dans l'intestin où elle est transformée en urobilinogène. La majorité de l'urobilinogène est oxydée en stercobiline dans le côlon et excrétée dans les selles. Une petite portion d'urobilinogène est absorbée au niveau de l'intestin grêle et passe dans la circulation entérohépatique. Alors que la plus grande partie est excrétée dans la bile, une fraction passe dans la circulation systémique puis est excrétée dans l'urine.

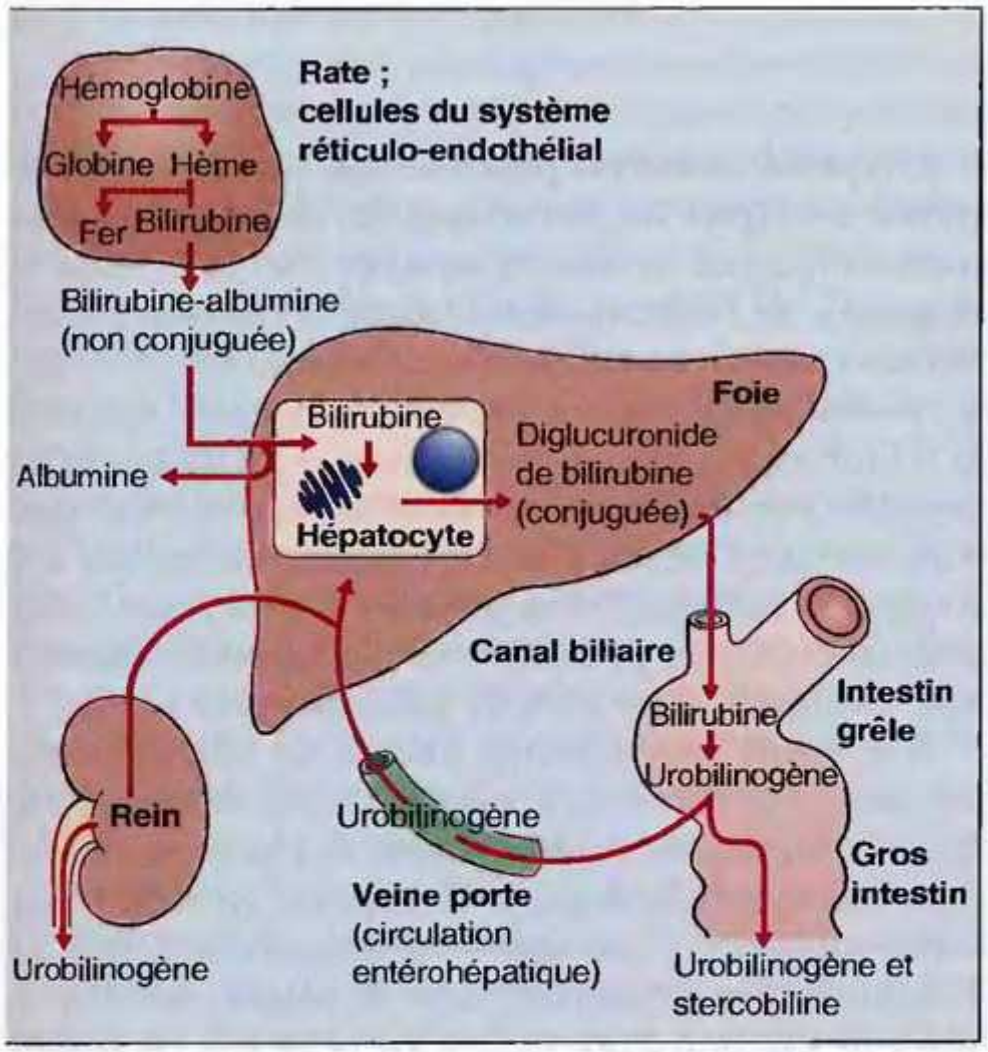


Figure 15: Métabolisme de la bilirubine [82]

I.1.2 Généralités sur les voies biliaires et la vésicule biliaire

I.1.2.1 Les voies biliaires [86]

Les voies biliaires amènent la bile dans le duodénum, la vésicule biliaire stockant et concentrant la bile. Les voies biliaires se divisent en une partie intrahépatique et une partie extrahépatique. Elles pénètrent dans le foie par le hile hépatique.

I.1.2.1.1 Les voies biliaires intrahépatiques

Les voies biliaires intrahépatiques sont organisées de la façon suivante : les cellules hépatiques déversent la bile directement à l'intérieur de canalicules intralobulaires situés à l'intérieur des lobules hépatiques. Les canalicules sont chargés de bile. Ils gagnent la périphérie du lobule puis les espaces portes où ils se regroupent en canalicules périlobulaires. Ces derniers confluent en canaux de plus en plus volumineux jusqu'à former deux troncs, les canaux hépatiques droit et gauche. Chaque canal hépatique draine la moitié correspondante du foie. Les deux canaux hépatiques sortent du foie par le pédicule hépatique. Dès leur sortie, ils sont considérés comme les voies biliaires extrahépatiques.

I.1.2.1.2 Les voies biliaires extrahépatiques

Les voies biliaires extrahépatiques naissent au niveau du hile hépatique. Les canaux hépatiques droit et gauche se réunissent pour former le canal hépatique commun. Le canal cystique, qui est le canal excréteur de la vésicule biliaire, s'abouche à angle aigu dans le canal hépatique commun. Le canal hépatique commun et le canal cystique forment alors le canal cholédoque.

Le canal cholédoque passe en arrière du bulbe duodénal et atteint la partie descendante du duodénum. Là, il s'abouche avec le canal pancréatique (canal de Wirsung) au niveau de l'ampoule de Vater. Cette dernière est fermée par un sphincter : le sphincter d'Oddi. Celui s'ouvre lorsqu'au cours de la digestion, la bile doit être éjectée dans le duodénum.

I.1.2.2 La vésicule biliaire [73]

Piriforme, longue de 8 à 10 cm, large de 3 à 4 cm, elle est située à la face viscérale du foie dans une fosse entre les lobes droit et carré. Son volume varie de 30 à 50 ml. Elle comporte une muqueuse, musculeuse (faisceaux de tissu musculaire lisses) et adventice et présente :

- une extrémité arrondie (fond de la vésicule biliaire), qui peut se projeter au niveau du bord inférieur du foie ;
- une partie principale (corps de la vésicule biliaire), située dans la fosse, en rapport avec le côlon transverse et la partie supérieure du duodénum ;
- une partie étroite (col de la vésicule biliaire) avec des replis muqueux formant un coude. C'est à ce niveau que s'ouvre la lumière du canal cystique, canal excréteur de la vésicule.

I.1.2.2.1 Fonctions de la vésicule biliaire [78] [79]

La vésicule biliaire a une fonction de stockage de la bile en période inter-prandiale évitant d'exposer inutilement la muqueuse digestive, pendant la période de jeûne, aux sels biliaires qui sont toxiques pour les entérocytes.

Pendant sa période de remplissage, la vésicule va modifier la composition de la bile hépatique produisant ainsi la bile vésiculaire. La muqueuse de la vésicule réabsorbe de l'eau, des bicarbonates et des chlorures. Ces anions sont, dans la bile vésiculaire, tout au plus à la concentration sérique ou à une concentration inférieure, alors que tous les composants organiques ainsi que K, Na et Ca sont en moyenne 6 à 10 fois plus concentrés que dans la bile hépatique. De plus, la muqueuse sécrète des mucopolysaccharides, responsables de l'augmentation de la viscosité de la bile.

Le caractère concentré et riche en mucus de la bile vésiculaire explique le risque plus élevé de formation de calculs de cholestérol, notamment en cas de stagnation prolongé de la bile dans la vésicule.

En période post-prandiale, l'arrivée des lipides et des acides aminés dans le duodénum déclenche la vidange vésiculaire par l'intermédiaire de la cholécystokinine (CCK) libérée par les cellules endocrines du duodéno-jéjunum (Figure 16). La CCK agit par voie endocrine et se fixe sur des récepteurs spécifiques situés sur la membrane cellulaire des fibres musculaires lisses de la vésicule. Il s'ensuit une contraction vésiculaire, l'apparition d'ondes péristaltiques le long du cholédoque et la relaxation du sphincter d'Oddi. Cette séquence motrice permet la vidange de plus de 50% de la bile vésiculaire dans le duodénum, 15 minutes seulement après la prise d'un repas gras ou riche en acides aminés.

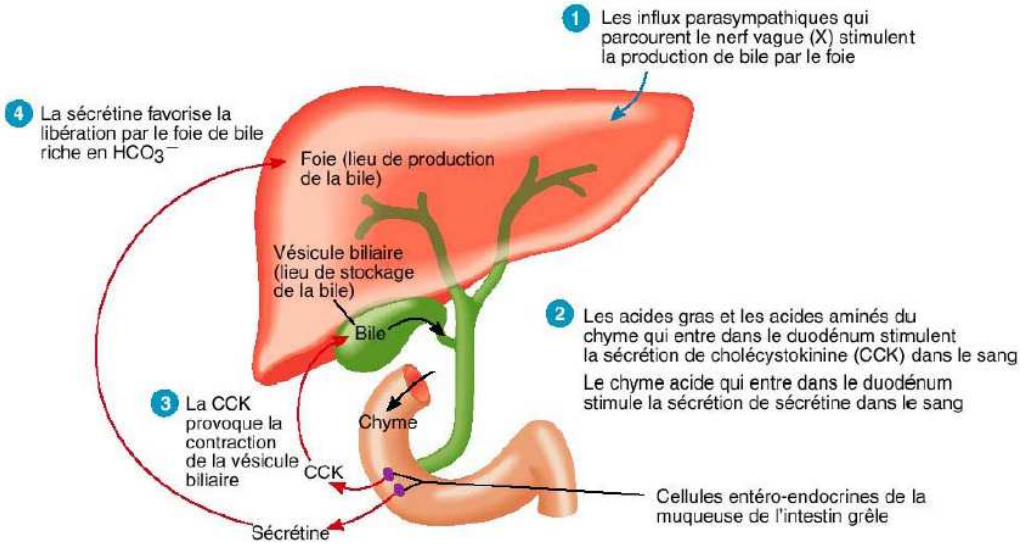


Figure 16 : Régulation de la sécrétion biliaire [93]

I.2 Pathologies engendrées par cette insuffisance

L'insuffisance hépato-biliaire, comme son nom l'indique, se définit par une insuffisance hépatique (ou hépato-cellulaire) et une insuffisance biliaire.

I.2.1 L'insuffisance hépato-cellulaire

L'insuffisance hépato-cellulaire (IHC) désigne les manifestations cliniques et biologiques liées à la diminution et à la suppression de l'activité des hépatocytes : altérations des fonctions de synthèse, d'épuration et de sécrétion biliaire. Elle provoque plus souvent et plus précocement des anomalies biologiques que des manifestations cliniques. [96]

La cause la plus fréquente est la cirrhose au cours de laquelle l'IHC est chronique.

Les causes d'IHC aiguë sont les hépatites cytolytiques virales (hépatite A, B, C, etc.) toxiques (tétrachlorure de carbone), médicamenteuses (méthotrexate) ainsi que l'hépatite alcoolique aiguë.

L'IHC peut être due à d'autres affections rares comme le syndrome de Budd-Chiari, la stéatose aiguë gravidique ou l'ischémie hépatique aiguë.

I.2.2 L'insuffisance biliaire

L'insuffisance biliaire peut être liée à l'IHC étant donné que la bile se forme au niveau des hépatocytes.

Elle peut être de trois types principaux [17]:

- une insuffisance de transformation de la bile hépatique en bile utile à la digestion : cela peut entraîner un échauffement des parois intestinales et engendrer des spasmes intestinaux ;
- une insuffisance d'excrétion biliaire par absence de fluidité de la bile ;
- une insuffisance d'excrétion biliaire par une insuffisance de motilité de la vésicule biliaire.

Les symptômes sont : une lourdeur après repas et somnolence, digestion lente, un goût amer dans la bouche, des selles molles claires plus ou moins grasses et collantes, des ballonnements abdominaux, parfois une douleur de l'hypochondre droit.

L'insuffisance d'excrétion biliaire peut être à l'origine de la formation de calculs biliaires pouvant engendrer une lithiase. Le schéma suivant (Figure 17) montre les principales pathologies en cause.

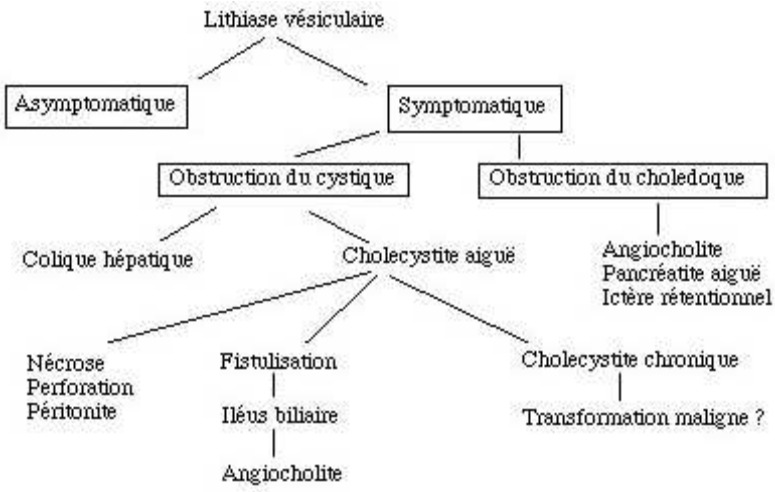


Figure 16 : Diagramme diagnostique de la lithiase biliaire [104]

La phytothérapie ne permet pas de traiter les tumeurs des voies hépato-biliaires [16] ; par contre, c'est l'une des seules solutions médicamenteuses pour l'insuffisance biliaire non lithiasique. Des drogues cholagogues et cholérétiques comme le boldo sont utilisées ; elles sont contre-indiquées en cas d'obstruction des voies biliaires.

II – Actions sur les troubles digestifs

La Commission E allemande [68], l'ESCOP (*European Scientific Cooperative on Phytotherapy*) [74], et l'EMEA (*European Medicines Agency*)[116] valident l'utilisation du boldo en thérapeutique pour traiter la dyspepsie, la constipation et les spasmes du tractus gastro-intestinal.

II.1 Cholérétique et cholagogue [43]

Une substance cholérétique entraîne l'augmentation de la sécrétion de la bile alors qu'une substance cholagogue facilite l'évacuation de la bile.

Kreitmair [27] indique que chez un chien, après administration *per os* de boldine à la dose de 0,1 g/kg, la sécrétion biliaire peut augmenter jusqu'à 5 fois par rapport à la production normale. Ce phénomène s'accompagne de salivations et de malaises, effets qui disparaissent au bout d'une heure.

D'autres études sur les rats rapportent une activité cholérétique signifiante, en mesurant la sécrétion biliaire après l'administration intraduodénale d'un extrait éthanolique purifié (250 et 500 mg/kg), d'un extrait éthanolique (2,5 g/kg) ou d'une infusion de feuilles de boldo.

La plupart de ces actions promues par les préparations à base de boldo sont retrouvées par l'administration de la boldine pure.

La boldine [13] donnée à des chiens à la dose de 2 mg/10 kg double presque le contenu total en solide de la bile, sans modifier le volume biliaire.

L'application directe de boldine [34] dans le duodénum de la souris, à la dose de 50 ou 100 mg/kg, augmente le flux biliaire de 15 et 60% respectivement.

Après administration parentérale de boldine chez le rat [11], l'effet cholérétique est proportionnel à la dose administrée : l'augmentation du débit biliaire atteint 43% à la dose de 5 mg/kg, 75% à 20 mg/kg et 140% à 40 mg/kg.

La boldine apparaît donc cholérétique mais cette activitée serait liée pour partie aux polyphénols. [34]

Il faut noter que des expériences ultérieures [32] n'ont pas confirmé l'activité cholérétique du boldo : aucune augmentation significative du flux biliaire n'a été observée après l'administration orale d'un extrait hydro-alcoolique à des rats à la dose de 400 ou 800 mg/kg, ou intraduodénale à des cobayes à la dose de 200 ou 800 mg/kg, ou après l'administration intraveineuse d'un extrait sec alcoolique (4:1) correspondant à 125-500 mg/kg de feuilles de boldo.

II.2 Laxative

Un effet laxatif a été décrit chez des rats après l'administration orale d'un extrait hydro-alcoolique à la dose quotidienne de 400 ou 800 mg/kg pendant 8 semaines. [36] Cet effet pourrait être dû à l'augmentation de l'excrétion des sels biliaires modifiant la motilité du côlon.

II.3 Spasmolytique intestinale

Plusieurs études démontrent les effets relaxants de la boldine sur les muscles lisses au niveau intestinal.

Delourme [12] montre l'action inhibitrice de la boldine sur l'activité musculaire intestinale chez le chat anesthésié. Cette inhibition entraîne une chute du tonus et une diminution de l'amplitude des contractions intestinales, aboutissant à l'arrêt du péristaltisme.

Les laboratoires Houdé ont mené une étude sur l'action de la boldine sur le transit intestinal chez des souris [119] : le transit est prolongé.

Speisky et coll. [52] ont montré que la boldine a un effet relaxant, concentration-dépendant, sur la contraction des muscles lisses d'iléon de rats, induite par l'acétylcholine (Ach). Ce blocage résulte d'un mécanisme d'antagonisme compétitif.

Dans une étude double-aveugle contre placebo, douze volontaires sains ont été traités quotidiennement par

- soit 2,5 g d'un extrait sec de boldo (éthanol 60% V/V), contenant 0,4% d'alcaloïdes totaux et 0,12% de boldine,
- soit un placebo (glucose) pendant deux périodes successives de quatre jours à un intervalle de dix jours.

Au 4e jour, 20 g de lactulose est administré et l'hydrogène expiré collecté toutes les 15 minutes. Le temps de transit intestinal, défini par le temps écoulé pour que le taux d'hydrogène expiré augmente de 20 ppm par rapport au taux à jeun, est significativement ($p<0,05$) prolongé après l'administration d'extrait sec de boldo en comparaison avec le placebo (112,5 ± 15,4 et 87 ± 11,8 minutes respectivement). [18]

Cependant, les limites méthodologiques de cette petite étude ne permettent pas de tirer des conclusions sur les effets du boldo. [67]

III – Autres actions du boldo

III.1 Effets du boldo sur le système cardiovasculaire

Chulia et coll. [10] ont mené une étude pour montrer l'activité de la boldine sur l'aorte de cobaye ; les aortes isolées sont maintenues dans des bains spéciaux puis contractées par différents agents : après ajout de la boldine, on observe les effets induits. La boldine entraîne une relaxation dose-dépendante de l'aorte contractée par de la noradrenaline (NA).

Des résultats similaires ont été obtenus après la contraction de l'aorte par du chlorure de potassium et par du calcium. [119] Cette étude plus poussée a mis en évidence l'influence de la boldine sur les évolutions des concentrations des inositol-phosphates, ces derniers ont un rôle de phosphorylation et agissent avec l'adénosine monophosphate cyclique sur la libération du calcium induisant la contraction des muscles lisses.

L'expérience consiste en la contraction de l'aorte par la NA suivi de l'ajout de boldine. Après centrifugation et mesure par chromatographie liquide haute performance, on peut connaître les différentes concentrations en inositol-phosphates. Après contractions par la NA, elles sont relativement élevées mais diminuent fortement après l'addition de boldine.

Eltze et coll. [14] confirment les propriétés d'antagonisme des canaux calciques chez le rein de rat perfusé par une préparation de boldine. Cette expérience montre que la boldine bloque efficacement la vasoconstriction causée par l'élévation du potassium extracellulaire. Dans la même étude, il est aussi montré que sur une préparation de cœur de cobaye, la boldine

augmente le débit coronaire et diminue la force de contraction et le rythme cardiaque. Ces actions sont obtenues grâce aux blocages des récepteurs α1-adrénergiques.

Les résultats de ces expériences suggèrent que la boldine peut être considérée comme une molécule antihypertensive. C'est ce que Lau et coll.[33] ont voulu montrer, administrant 20 mg/kg/j de boldine pendant sept jours à des rats hypertendus et normotendus, ils montrent ques le traitement par la boldine diminue significativement la pression systolique chez les animaux hypertendus.

III.2 Effets du boldo sur l'utérus

La couche musculeuse interne de la paroi utérine est constituée de muscles lisses. Ivorra et coll. [21] ont mené une étude pour observer si la boldine avait une action sur l'utérus isolé de rate. Après sacrifice des animaux, les utérus prélevés sont maintenus dans des bains physiologiques auxquels est ajouté un agent entraînant des contractions utérines (chlorure de potassium, Ach ou ocytocine). Après obtention des contractions, est ajouté soit de la boldine, soit du verapamil ou du diltiazem. Cette étude a été menée dans deux conditions expérimentales, avec et sans calcium dans le bain, et en comparant les effets de la boldine avec ceux obtenus par les antagonistes calciques verapamil et diltiazem. Les auteurs concluent que la boldine possède une action relaxante sur le myomètre et agit comme un antagoniste calcique au niveau des récepteurs α1 adrénergiques.

III.3 Effets du boldo sur le rein et l'appareil urinaire

Malgré la note explicative de l'Agence du médicament admettant qu'il est possible de revendiquer l'indication thérapeutique « traditionnellement utilisé pour faciliter les fonctions d'élimination urinaire » [70], peu d'études ont été faites sur ce sujet.

Kreitmair [27] observe une action diurétique de la boldine sur le chien, l'excrétion urinaire étant augmentée de 50%.

III.4 Effets du boldo sur le stress oxydant

Les recherches menées dans le début des années 1990 ont permis de découvrir que la boldine est l'un des plus puissants antioxydants naturels [43]. L'article récapitulatif d'O'Brien et coll.[43] liste de manière exhaustive les différentes études sur ce sujet. Cependant, plus récemment Schmeda-Hirschmann et coll. [48] ont conclu que les flavonoïdes contribuent plus à l'activité antioxydante attribuée au boldo que la boldine.

Lanhers et coll. [32] montrent qu'un extrait hydroalcoolique de boldo (correspondant à 0,5 et 1 mg/ml de boldine) ainsi que la boldine (33 µg/ml) présente un effet hépatoprotecteur vis à vis de l'hépatotoxicité induite par l'hydroperoxyde de tert-butyle.

Cederbaum et coll. [9] montrent que la boldine inhibe de 50% la péroxydation microsomale lipidique hépatique du rat à la concentration de 1,5 µM.

La boldine inhibe les dommages cellulaires (observés par le bleu tryptan et l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH)) induits par l'hydroperoxyde de tert-butyle de façon concentration dépendante chez des hépatocytes de rat isolés. La pré-incubation par de la boldine ou l'ajout simultané de boldine (200 µM) et de d'hydroperoxyde de tert-butyle (0,87 mM) protègent totalement la viabilité des cellules. [4]

La boldine protège les érythrocytes de rat, de façon concentration et temps dépendant, contre les dommages hémolytiques induits par le 2,2'-azobis (2-amidinopropane) hydrochloride (AAPH) qui est un initiateur radicalaire (25 et 50 mM). [24]

Reiniger et coll. [46] montrent que l'effet létal sur des cultures d'*Escherichia coli* induit par le chlorure stanneux à 25 µg/ml (produisant des espèces réactives à l'hydrogène par une réaction du type Fenton) est réduit par la présence de boldine à 0,50 mM. De plus, la conformation du plasmide pUC 9,1 n'a pas été modifiée par le chlorure stanneux à 100 µg/ml en présence de boldine (1,5 mM) Ces effets peuvent être expliqués par l'activité antioxydante de la boldine.

Speisky et coll [51] démontrent les propriétés antioxydantes de la boldine par la prévention de l'auto-oxydation de l'homogénat de cerveau de rat, prévention de la péroxydation lipidique des membranes des globules rouges induite par l'AAPH et la prévention de l'inactivation du lysozyme induite par l'AAPH.

Kringstein et Cerdebaum [28] montrent que la boldine prévient la péroxydation catalysée par l'ATP ferrique sur les microsome hépatiques humain et l'inactivation du cytochrome p450E1.

Ces résultats cités ne représentent qu'une partie des études ayant permis de confirmer les propriétés antioxydantes de la boldine. Les tableaux suivants (Tableaux VI et VII) résument ces différentes études et les actions pharmacologiques de la boldine qui pourraient découler de ces propriétés.

Générateur de radicaux libres/système oxydant	Substrat de l'oxydation	Paramètre mesuré	Références
AAPH peroxyl	Membrane des érythrocytes	Recapture d'O_2	(51)
	Suspension d'érythrocytes	Perte d'hémoglobine	(24)
Auto-oxydation	Homogénat de cerveau	Recapture d'O_2 Chimiluminescence/TBARS	(51) (51) (7)
t-BOOH	Membranes de microsomes hépatiques	TBARS	(9)
	Hépatocytes isolés	TBARS/ perte de LDH	(32) (4)
		Viabilité cellulaire (exclusion du bleu tryptan)	(4)
CCl4/NADPH	Membranes de microsomes hépatiques	TBARS	(9) (28)
Fe^{2+}/cystéine	Membranes de microsomes hépatiques	TBARS	(37) (9)
NAD(P)H/Fe^{3+}–ATP	Membranes de microsomes hépatiques	Recapture d'O_2	(9)
Fe^{2+}seul ou NAD(P)H/Fe^{3+}–ATP	Membranes de microsomes hépatiques humains	TBARS	(28)

Générateur de radicaux libres/système oxydant	Substrat de l'oxydation	Paramètre mesuré	Références
AAPH peroxyl	Lysozyme	Fluorescence des groupes carbonyls associée au tryptophane	(25)
		Activité enzymatique	(51, 7, 25, 35)
Fe^{3+}–EDTA–H_2O_2	Désoxyribose	TBARS	(54)
Fe^{3+}–EDTA– H_2O_2–ascorbate	Désoxyribose	TBARS	(23) (59)
Induit par la catécholamine	Mitochondrie du cerveau	Perméabilité mitochondriale, tuméfaction, potentiel de membrane et libération du cytochrome C, oxydation des thiols	(59)
Induit par la catécholamine	Cellules PC12	Viabilité cellulaire (MTT) apoptose (activité de la caspase-3)	(59)
Irradiation aux UV	Lymphocytes T humains	Viabilité cellulaire	(45)
Oxygène singulé généré par les UV	Tryptophane	Produits d'oxydation de la boldine	(60)
Hypoxanthine–xanthine oxydase	Luminol	Chimiluminescence	(39)

Tableau VI : Résumé des études sur les propriétés antiradicalaires et antioxydantes de la boldine [43]

Légende : MTT= sel de tétrazolium (bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium). TBARS = substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. t-BOOH = hydroperoxyde de tert-butyle.

Action pharmacologique	Modèle	Effets	Références
Anti-inflammatoire	Œdème de la patte d'un cobaye induit par la carraghénane. Administration orale de boldine	Réduction de l'œdème	(3)
	Dommages coliques induits par l'acide acétique chez des rats. Administration intrarectale de boldine	Prévention de l'œdème, des dommages tissulaires et de l'infiltration des neutrophiles	(3)
	Production d'ERO induite par la f-MLP chez des granulocytes humains isolés	Prévention *in vitro* de la production chez des granulocytes humains	(39)
	Anneaux d'aorte de rat isolés	Inhibition *in vitro* de la biosynthèse des prostaglandines (6-céto-PGF)	(3)
Antipyrétique	Hyperthermie chez le lapin induite par un pyrogène bactérien. Administration orale de boldine	Prévention de l'hyperthermie	(3)
Antidiabetique	Dommages cellulaires pancréatiques induits par la STZ. Administration orale de boldine	Prévention de l'hyperglycémie et de la perte de poids. Réduction des TBARS et des taux de carbonyles dans divers tissus. Normalisation des enzymes mitochondriales antioxydantes	(23)
Anti-athéromateux	Oxydation *in vitro* des LDL induite par le cuivre	Inhibition de l'oxydation de LDL humaines isolées.	(47)
	Dommages athéromateux chez des souris LDLR−/− induits par un régime athérogénique. Administration orale de la boldine	Réduction des lésions aortiques athéromateuses	(47)

Action pharmacologique	Modèle	Effets	Références
Antiplaquettaire	Agrégation plaquettaire induite *in vitro* par l'acide arachidonique et le collagène	Inhibition de l'agrégation	(59)
Anti-promotion tumorale	Down-régulation de la GJIC induite par le tPA dans les cellules épithéliales hépatiques de rat WB-F344	Inhibition de la down-régulation induite par le tPA en partie due à la capacité à réduire l'accumulation croissante d'oxydants intracellulaires.	(20)
Photo-protection	Peau de souris irradiées par les UV	Prévention de la hausse de température de la peau	(19)
Photo-protection	Peau de dos humains irradiés par les UV	Prévention de la formation d'érythème cutané	(45)
Hépatoprotection	Hépatotoxicité induite par du CCL_4 chez des rats. Administration intraperitonéale de boldine	Prévention des dommages hépatiques (ALAT plasmatique)	(32)

Tableau VII : Résumé des actions pharmacologiques de la boldine associées avec son activité antioxydante [43]

Légende : ERO = espèces réactives à l'oxygène. f-MLP = n-formyl-méthionine-leucine-phénylalanine. GJIC = communication intercellulaire via les jonctions gap. STZ= Streptozotocine. tPA = activateur tissulaire du plasminogène.

III.5 Effet antimicrobien du boldo

III.5.1 Antiparasitaire

La boldine (500 µM) entraîne l'inhibition de la croissance de *Trypanosoma cruzi*, agent responsable de la maladie de Chagas (trypanosomiase américaine). Les recherches ont été menées sur les souches Tulahuen, LQ et DM de *T. cruzi* : l'action pourrait être due à l'inhibition de la chaîne de transport d'électrons dans la mitochondrie. Cet effet pourrait être corrélé avec les propriétés antioxydantes de la boldine. [41]

L'ascaridole présente également des propriétés antihelmintiques. [26]

III.5.2. Antifongique

L'huile essentielle de boldo présente une activé antifongique faible. [6] Elle est active sur le *Candida albicans*.[38], activité qui serait due au 1,8-cineole, à l'ascaridole [49], au linalool et au terpinen-4-ol.

III.5.3. Antibactérien [15] [1]

Il n'y a pas eu d'études concluantes sur le boldo montrant ses vertus antibactériennes ; cependant, plusieurs études ont montré l'activité antibactérienne de certains composants retrouvés dans l'huile essentielle du boldo. Le linalool et le 1-8,cinéole sont actifs contre *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus*, le farnesol étant également actif sur cette dernière souche pathogène.

IV – Toxicologie

IV.1 Toxicité aiguë

L'administration orale d'un extrait hydroalcoolique de boldo à des rats à doses uniques jusqu'à 3g/kg de poids corporel n'a pas causé de décès, ni de symptômes toxiques particuliers. [36]

La dose létale 50 (DL_{50}) intrapéritonéale d'un extrait fluide alcoolique de boldo à 80% a été trouvée à 6 g/kg chez la souris. [34]

Lorsque la boldine a été administrée *per os*, des doses de 500 à 1.000 mg/kg étaient nécessaires pour entraîner respectivement le décès de la souris et du cobaye. [27] De même, une dose de 15 g a été nécessaire pour tuer un chien de 12 kg. [29]

Chez la souris ; les DL_{50} intrapéritonéales des alcaloïdes totaux et de la boldine pure ont été déterminées à 420 et 250 mg/kg, correspondant à 75 et 125 g/kg de feuilles de boldo respectivement. [34]

Chez le chien, l'injection sous cutanée de 5 mg/kg d'alcaloïdes totaux a produit des vomissements, de la diarrhée et, 40 minutes après, des symptômes épileptiques (durant environ 7 minutes) suivis d'une amélioration. [27]

L'HE de boldo est connue pour être l'une des HE les plus toxiques ; son application non diluée sur le dos rasé de souris provoque un effet irritant. [44] En effet, cette huile contient des terpènes irritants tel que le terpinen-4-ol, principal irritant des genévriers (*Juniperus sp.*).

La valeur de la DL_{50} *per os* de l'HE de boldo est de 0,13 g/kg de poids corporel chez le rat, avec des doses de 0,07 g/kg provoquant des convulsions. La DL_{50} dermique a été établie entre 0,625 et 1,25 g/kg chez le lapin. [44]

Comme vu précédemment, l'un des composants majeurs de l'huile est l'ascaridole, monoterpène bicyclique comportant un groupe peroxyde. C'est aussi le composant majeur (90%) de l'HE de la fausse ambroisie (*Chenopodium ambrosioides* L.) qui la rend très toxique. L'HE de *Chenopodium* a entraîné des cas d'intoxication humaine et des empoisonnements fatals[71] : les effets toxiques incluent l'irritation des muqueuses et de la peau, maux de tête, vertiges, nausées, vomissements, constipation, acouphènes, surdité temporaire, diplopie et cécité, stimulation transitoire suivie d'une dépression du système nerveux central menant à un délire et coma, convulsions occasionnelles, collapsus circulatoire dû à une vasoplégie, et parfois un œdème pulmonaire. L'huile de *Chenopodium* est aussi toxique pour les reins, le foie et des signes d'hématurie, albuminurie et jaunisse ont été observés. Plusieurs cas d'empoisonnement fatal ont été rapportés chez des enfants.

IV.2 Toxicité subchronique

L'administration orale quotidienne (200 mg/kg/j) d'un extrait sec éthanolique (92,8%) de feuilles de boldo ou de boldine à des rats pendant 90 jours a causé des réductions significatives ($p<0,05$) des taux sanguins de cholesterol, ASAT (alanine aspartate transférase), bilirubine totale, glucose et urée, bien que les taux de cholesterol et d'ASAT aient augmenté 30 à 60 jours après le début de l'étude ($p<0,05$). Par contre, il n'y a pas eu de changement significatif du taux de créatinine. Des doses de 50 mg/kg/j n'ont pas entraîné de modification significative de ces paramètres sur une période de 90 jours. À partir d'études histologiques, ni l'extrait de boldo, ni la boldine n'ont causé de signe manifeste de toxicité au niveau cardiaque ou rénal, mais une stéatose a été observée sur deux animaux à la dose de 800 mg/kg. [2]

IV.3 Mutagénicité

La boldine n'a pas montré d'activité génotoxique sur le chromotest SOS avec *Escherichia coli* (jusqu'à 10 µg de boldine), ni de potentiel mutagénique sur le test d'Ames utilisant les souches TA 98, TA 100 et TA 102 de *Salmonella typhimurium*, avec ou sans activation métabolique. De plus, la boldine n'a pas induit de mutations dans les cellules haploïdes de *Saccharomyces cerevisiae* (jusqu'à 200 µg/ml de boldine). Ces résultats indiquent que la boldine n'est pas mutagène chez les organismes procaryotes et eucaryotes. [42] De plus, elle n'a pas induit d'augmentation statistiquement significative de la fréquence des aberrations chromosomiques ou d'échanges entre chromatides sœurs sur lymphocytes *in vitro* (jusqu'à 40 µg/ml de boldine) ou *in vivo* sur cellules de la moelle osseuse de souris (jusqu'à 900 mg/kg pc de boldine *per os*). [53]

Une autre étude a confirmé que la boldine, administrée par voie intrapéritonéale à des doses sublétales, n'induit pas de génotoxicité *in vivo* au niveau des cellules de la moelle osseuse de souris. [50]

IV.4 Cancérogénicité

Actuellement, aucune étude n'a été faite dans ce domaine.

IV.5 Toxicité sur la reproduction

Un groupe de 20 rates enceintes a été traité *per os* par un extrait sec éthanolique (92,8%) de feuilles de boldo ou par de la boldine à 500 ou 800 mg/kg pc à J1, J5 ou à J7, J12 de la grossesse (un total de 12 groupes incluant 4 groupes contrôles). Après un examen à J19 des utérus et des ovaires, Almeida et coll.[2] observent qu'à des doses journalières de 500 mg/kg d'extrait de feuille de boldo ou de boldine, aucune toxicité fœtale n'est observée mais le poids du fœtus est réduit de 28 à 40%.

Cependant, des doses journalières de 800 mg/kg d'extrait de feuille de boldo ou de boldine produisent l'apparition d'une activité abortive et tératogénique : une résorption significative ($p<0,5$), une faible incidence de malformations fœtales (1,5% chez les groupes de J1 à J5 ; 3,6% chez les groupes de J7 à J12) et aussi une diminution du poids fœtal de 29-40%.

Ces observations indiquent qu'à cette dose de 800 mg/kg/j, l'extrait de feuille de boldo et la boldine ont des effets néfastes en début de formation de l'œuf mais aussi durant son implantation. [2]

Aucune étude n'a été menée chez les femmes enceintes ou allaitantes, mais au vue de ces résultats, l'utilisation du boldo devrait être évitée pendant les périodes de grossesse et d'allaitement.

IV.6 Contre-indications du boldo

L'hypersensibilité au boldo est la première contre-indication. Un cas d'anaphylaxie suivant la prise d'une infusion de boldo a été rapporté.[40] Le boldo est contre-indiqué en cas d'obstruction des voies biliaires et de maladies hépatiques sévères. Un avis médical est recommandé dans le cas de calcul biliaire. [68,74]

IV.7 Interactions médicamenteuses

Les données disponibles sont limitées. Un cas isolé rapporte l'interaction potentielle entre la warfarine et le mélange boldo-fénugrec entraînant l'augmentation de l'INR et de ce fait, l'augmentation de l'effet anticoagulant. Le patient prenait une préparation liquide de feuilles de boldo et des capsules de fénugrec. L'INR s'est normalisé lorsque le patient a arrêté de prendre ces produits à base de plantes. [30] Le boldo et le fénugrec contiennent tous les deux des coumarines qui pourraient exercer une action anticoagulante. L'échelle de probabilité de Naranjo, utilisée pour l'évaluation de la causalité d'une réaction indésirable, suggère une possible association entre le boldo/fénugrec et l'augmentation des saignements chez les patients traité par la warfarine. [22]

Une autre interaction entre le boldo et les antihypertenseurs diurétiques est soupçonnée d'entraîner une hypovolémie, une hypotension et une difficulté à contrôler l'hypertension. [31]

L'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM ex-AFSSAPS) mentionne une interaction entre les hypokaliémiants et le boldo [63] qui entraînerait un risque majoré d'hypokaliémie, facteur favorisant l'apparition de troubles du rythme cardiaque (torsades de pointes, notamment) et augmentant la toxicité de certains médicaments tel que la digoxine.

Quatrième partie

Utilisations de *Peumus boldus*

I – Utilisations thérapeutiques du boldo

I.1 En l'état

L'écorce de boldo peut être utilisée pour en extraire la boldine ; cependant, la partie la plus utilisée, pour une utilisation en nature reste la feuille séchée. Inscrite sur la liste A (« Plantes médicinales utilisées traditionnellement ») de la Pharmacopée Française, la feuille de boldo est surtout utilisée sous forme de tisane seule ou en association avec d'autres plantes (pouvant être aussi pulvérisée pour en faciliter son emploi).

I.1.1 Infusion et tisane

L'infusion de boldo s'obtient en versant de l'eau frémissante sur 1 à 2 g de feuilles ; filtrer après 10 minutes et boire 2 à 3 fois par jour pour un effet cholérétique. [95]

L'infusion peut aussi se préparer à froid à raison de 1,5 cuillère à café (1 cuillère à café = 1,5g) de drogue pour un verre d'eau que l'ont fait infuser 8 heures. [17]

Des études ont montré qu'en fonction des conditions d'extraction (pH du solvant d'extraction, teneur en éthanol, température), les pertes en boldine peuvent aller jusqu'à 80%. Par conséquent, les préparations standardisées devront être privilégiées.

D'après la Pharmacopée Française [83], la tisane est une préparation aqueuse de plante médicinale entière ou fragmentée administré à des fins thérapeutiques. Elle se prépare selon différents modes : infusion, décoction, macération, digestion ou lixiviation.

On retrouve des tisanes simples de boldo ou en association avec d'autres plantes ; on peut citer pour exemples :

- **la Tisane Boldoflorine®**
    - Associé à : foliole de séné, écorce de bourdaine, feuille de romarin, écorce de bourdaine, pulpe de pomme, feuille de frêne, feuille de noisetier, feuille de châtaigner, racine d'aunée, fruit de coriandre, racine de réglisse, feuille de menthe.
    - Utilisée comme traitement symptomatique de la constipation;
    - préparer une infusion avec 1 sachet-dose pour 1 tasse d'eau frémissante. Laisser infuser 5 à 10 minutes.
    - Adulte : 1 à 4 tasses par jour. Durée limitée à 10 jours.

- **la Tisane Médiflor n° 5 Hépatique®**
    - Associé à : romarin, kinkéliba, mauve.

- Utilisée pour favoriser la production de bile par le foie et sa sécrétion dans l'intestin.
- La tisane est préparée avec 1 sachet-dose dans une tasse d'eau frémissante, en infusion pendant 10 à 15 minutes.
- Adulte : 1 ou 2 tasses par jour, en cure de 2 à 3 semaines.

- **La Tisane hépatique de Hoerdt®**
  - Associé à : absinthe, petite centaurée, sauge, achillée millefeuille, aigremoine, chiendent, ményanthe.
  - Utilisé pour favoriser la production de la bile par le foie et sa sécrétion dans l'intestin.
  - Préparer une infusion avec 1 sachet-dose et 1 tasse d'eau frémissante. Laisser infuser quelques minutes.
  - 1 tasse, 3 fois par jour.

- **Tisane Saint-Urbain®**
  - Feuille de boldo : excipient
  - utilisée dans le traitement symptomatique de la constipation.
  - Préparer une infusion avec 1 sachet-dose pour 1 tasse d'eau frémissante. Laisser infuser 5 à 10 minutes.
  - Adulte : 1 tasse après le repas, 1 ou 2 fois par jour. Durée limitée à 10 jours.

- **Tisane proposée par le Dr Stéphane Rossi**
  - Utilisée pour faciliter la digestion.

Plante	**Drogue**	**Teneur**
Tilleul	aubier	25 g
Boldo	feuille	20 g
Coriandre	fruit	30 g
Citron jaune	péricarpe	19 g
Camomille romaine	capitule	5 g
Limette	HE	1 g

  - Préparation : 2 cuillères à café (environ 10 g) pour 1 L d'eau frémissante. Laisser infuser pendant 5 à 10 min.

Dose : au moins une tasse par prise ; boire 1 litre dans la journée. Cure de 3 semaines.

I.1.2 Poudre

La poudre est une préparation dans laquelle les drogues végétales sont amenées à un degré de division suffisant pour en assurer leur homogénéité et pour faciliter leur administration. [72]

Utilisation : pulvériser la drogue à l'aide d'un moulin à café et prendre une petite cuillère à café de cette poudre avant chaque repas avec un peu de miel ou de confiture. [88]

On retrouve maintenant ces poudres principalement dans les gélules ou comprimés.

On peut citer :

- **Arkogélules Boldo®**
    - traditionnellement utilisé pour favoriser la sécrétion de bile dans l'intestin et pour faciliter les fonctions d'élimination digestive et rénale
    - gélules doivent être avalées avec un grand verre d'eau, avant les repas.
    - Adulte : 1 gélule, 3 fois par jour ; jusqu'à 5 gélules par jour si nécessaire.

- **MUCINUM® à l'extrait de cascara – comprimés**
    - Associé à : poudre d'anis vert, extrait sec d'écorce de cascara, extrait sec de feuille de séné
    - Traitement de courte durée de la constipation occasionnelle de l'adulte
    - Adulte : 1 à 2 comprimés le soir au coucher. Durée limitée à 10 jours.

I.2 Préparations inscrites à la Pharmacopée [83] [77]

Il faut noter que les monographies de l'extrait fluide et de la teinture de boldo ne sont plus présentes dans la dernière Pharmacopée Française. Cependant, ces préparations sont retrouvées dans certaines spécialités disponibles en officine.

I.2.1 Extrait fluide de boldo [77]

Un extrait résulte de l'évaporation jusqu'à consistance fluide, molle, ferme ou sèche d'un suc ou d'une solution obtenue en traitant une substance végétale par un véhicule vaporisable tel que l'éther, l'alcool ou l'eau. [72]

L'avantage d'un extrait est d'obtenir sous un plus petit volume, les principes actifs des substances médicamenteuses.

L'extrait fluide est obtenu par lixiviation des feuilles pulvérisées.

On peut citer :

- **ÉLIXIR SPARK® - solution buvable**
    - Associé à l'extrait fluide d'artichaut

- traditionnellement utilisé pour favoriser la production de bile par le foie dans le traitement symptomatique des troubles digestifs.
- Ce médicament doit être pris dans un demi-verre d'eau, le matin à jeun et au coucher.
- 1 cuillère à café, 2 fois par jour.

I.2.2 Teinture de boldo [77]

La teinture alcoolique résulte de l'action extractive exercée par l'éthanol sur des drogues ou des mélanges de drogues.

La teinture de boldo est préparée par lixiviation des feuilles contusées.

Elle est constituée de :

- Feuilles de boldo contusées : 200 g
- Alcool à 80° qsp 1.000 g

Les doses usuelles chez l'adulte sont de 0,5 à 1 g pour une dose et de 1 à 3 g par 24 heures.

On peut citer :

- **STAGO ® - Solution buvable**
  - Associée aux teintures de kinkéliba, camomille, solidage
  - traditionnellement utilisé pour faciliter la production de bile par le foie dans le traitement des troubles digestifs.
  - Adulte : 4 à 6 cuillères à soupe, en plusieurs prises, sans dépasser 20 cuillères à soupe par jour.
  - Enfant de 12 à 15 ans : 1 à 2 cuillères à soupe, à renouveler, sans dépasser 10 cuillères à soupe par jour.

I.2.3 Extrait sec de boldo [71]

L'extrait est obtenu à partir de feuilles de boldo en utilisant de l'eau chaude au minimum à 65°C ou un solvant hydroalcoolique équivalent en concentration d'éthanol à 45-75 pour cent V/V.

Les extraits secs sont des préparations solides, obtenues par évaporation du solvant ayant servi à leur production. Les extraits secs ont généralement une perte à la dessiccation ou une teneur en eau qui est au maximum de 5 % m/m.

On peut citer :

- **Elusanes boldo® - gélules**
  - Extrait sec aqueu**x**

- traditionnellement utilisé pour favoriser la production de bile par le foie et sa sécrétion dans l'intestin et pour faciliter les fonctions d'élimination digestive et rénale
- les gélules doivent être avalées avec un verre d'eau
- Adulte : 1 gélule, matin et soir. Durée limitée à 2 semaines.

I.3 Spécialités allopathiques [97]

On retrouve la boldine dans quelques spécialités pharmaceutiques :

- **Boldoflorine® - comprimés**
  - Associé à l'extrait sec de feuille de séné et à l'extrait sec de romarin
  - Traitement symptomatique de la constipation
  - Adulte : 1 à 3 comprimés par jour, après le repas du soir. Durée limitée à 10 jours.

- **Maalox digestion difficile® - comprimés**
  - Associé au sulfate de sodium anhydre et phosphate monosodique anhydre
  - Utilisé dans les troubles dyspeptiques (lenteur à la digestion, ballonnements) chez l'adulte et l'enfant de plus de 15 ans
  - 1 comprimé 3 fois par jour, avant les principaux repas ou au moment des troubles. Durée limitée à 7 jours.

- **Oxyboldine® - comprimés**
  - Associé au sulfate de sodium anhydre et au dihydrogénophosphate de sodium
  - Traitement d'appoint des troubles dyspeptiques (lenteur à la digestion, ballonnements)
  - Adulte : dissoudre dans un verre d'eau 1 comprimé, avant les 3 principaux repas ou au moment des troubles.

I.4 Spécialités homéopathiques [97]

On retrouve le boldo chez les laboratoires Boiron®, Lehning® et Weleda® soit seul, sous forme de granule ou teinture mère, soit associé avec d'autres souches homéopathiques.

Il existe une monographie à la Pharmacopée Française pour les préparations homéopathiques (Annexe IV).

On peut citer :

- **L 114® des laboratoires Lehning – Solution buvable**
    - Composition : *Dolichos* D3, *Nux vomica* D3, *Lycopodium* D3, *Amylium hydratum* D4, *Leptandra* D3, *Podophyllum peltatum* D4, *Carduus marianus* D3, *Chelidonium* TM, *Peumus boldus* TM.
    - Traditionnellement utilisé comme cholérétique et cholagogue et dans les troubles dyspeptiques.
    - Posologie : 30 gouttes, 3 fois par jour. À prendre dans un peu d'eau, de préférence en dehors des repas.

- **Aesculus Complex® N°103 des laboratoires Lehning – Solution buvable**
    - Composition : *Aesculus* TM, *Hamamelis* TM, Boldo TM, *Verbascum* D2, *Nux vomica* D3, *Paeonia officinal* D3, *Collinsonia* D3, *Teucrium scordium* D3, *Natrum nitricum* D3, *sulfur* D4, *Aloe* D4.
    - Traditionnellement utilisé dans le traitement des hémorroïdes non compliquées.
    - Posologie : 30 gouttes, 3 fois par jour. A prendre dans un peu d'eau, de préférence en dehors des repas.

- **Poconéol® n°7 des laboratoires Pierre Fabre Médicament – Solution buvable**
    - Composition: *Laurus persea* 5 CH, *Ruizia fragrans* 5 CH, *Cassia occidentalis* 5 CH, *Piper umbellatum* 5 CH, *Achras sapota* 5 CH
    - Utilisé comme draineur du foie et des reins
    - Posologie : 5 à 15 gouttes par jour dans un demi-verre d'eau à répartir en une ou plusieurs prises, de préférence loin des repas.

Il faut noter l'existence de l'élixir floral de boldo préparé à partir d'un mélange de fleurs mâles et femelles, selon la méthode originelle du Dr Bach, et utilisé pour la réconciliation avec soi et la guérison des émotions. La posologie usuelle est de 3 gouttes au moins 3 fois par jour à renouveler sans limite.

D'autres plantes possèdent des activités cholérétiques et/ou cholagogues ; le tableau suivant liste ces dernières.

Plantes	Drogue
Artichaut	Feuille
Curcuma	Rhizome
Eupatoire	Racine
Chardon-marie	Semence
Chrysantellum	Herbe
Kinkéliba	Feuille
Immortelle	Fleurs
Harpagophytum	Racine
Chélidoine	Herbe
Menthe	Feuille
Gingembre	Rhizome
Piloselle	Herbe
Pissenlit	Racine
Romarin	Feuille/racine
Schizandra chinensis	Fruit
Phyllantus niruri, P. amarus	Herbe
Orthosiphon	Feuille
Radis noir	Racine

Tableau VIII : Plantes cholérétiques et cholagogues [16]

II – Utilisations non thérapeutiques du boldo

On mange ses amandes en dessert et ses feuilles en condiments, on utilise l'écorce en tannerie et le bois pour faire du charbon.

II.1 Alimentaire

L'amande de ses fruits est mangée en dessert, ses feuilles sont utilisées comme condiment. [80]

Les propriétés antioxydantes sont utilisées pour la conservation de certains aliments comme les huiles de poisson. [55]

II.2 Industrie du cuir et textile

L'écorce de l'arbre fournit un colorant utilisé dans la tannerie. [105]

II.3 Parfumerie et Cosmétique

L'huile essentielle est employée dans l'industrie du parfum. [105]

Récemment, des brevets ont été déposés pour l'utilisation d'extrait de boldo dans des produits dermo-cosmétiques pour le traitement préventif ou curatif des symptômes du vieillissement du tissu par voie locale ou externe (application sur la peau, ongle et/ou cheveux). [62]

Les propriétés α-adrénergiques antagonistes et perturbantes du flux calcique de la boldine ont intéressé une équipe pour la fabrication de dermo-cosmétiques dépigmentants. Les publications les plus récentes montrent que la mélanogenèse *in vivo* au sein de la peau humaine est sous le contrôle de plusieurs facteurs, parmi lesquels le calcium, les catécholamines issues des kératinocytes, et que les récepteurs α-adrénergiques du mélanocyte semblent tous jouer des rôles pivots. Cette équipe a donc synthétisé des dérivés de boldine dont la diacétyl-boldine qui s'est révélée la plus active sur la mélanogenèse. [61]

Les propriétés antibactériennes du boldo sont utilisées dans des gels nettoyants pour les peaux à imperfections : l'extrait de boldo stimule la production des β-défensines, système antibactérien de la peau. [106]

II.4 Insecticide et herbicide

L'huile essentielle de boldo présente des propriétés insecticides sur le charançon du maïs (*Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855) [5] et sur la mouche domestique (*Musca domestica* L., 1758). [110] Elle est aussi active sur l'amarante hybride (*Amaranthus hybridus* L., 1753) et le pourpier (*Portulaca oleracea* L., 1753), plantes considérées comme des mauvaises herbes. [57]

THÈSE SOUTENUE PAR : Maria RAKOTONANAHARY épouse MALDONADO

TITRE : *Peumus boldus* M. De la botanique à la thérapeutique : État des connaissances en 2012.

CONCLUSION

Le boldo, *Peumus boldus* Molina, appartient à la famille des Monimiacées; cet arbuste, originaire du Chili, pousse spontanément dans les régions centrales de ce pays qui bénéficient d'un climat de type méditerranéen. Des fouilles archéologiques ont permis de découvrir que les usages culinaires et médicinaux des feuilles par les peuples indigènes remonteraient à plus de 12.500 ans. Il a été introduit en Europe seulement vers 1870, et c'est en France qu'est isolé pour la première fois, à partir d'un échantillon de feuilles importé du Chili, l'alcaloïde tenu en partie responsable des propriétés cholérétiques et cholagogues du boldo : la boldine.

Au sein des officines, le boldo est essentiellement connu pour ses actions sur les troubles hépato-biliaires ; pourtant, il se révèle comme ayant des effets thérapeutiques dans des domaines éloignés de la sphère gastro-intestinale.

Ce mémoire permet de faire un état des connaissances sur le boldo. Après avoir vu la botanique de *Peumus boldus* puis sa pharmacognosie, les deux dernières parties de ce mémoire rapportent les propriétés pharmacologiques du boldo et ses utilisations actuelles et potentielles en thérapeutique. La boldine est le composant actif le plus étudié du boldo ; cependant, on retrouve d'autres alcaloïdes ainsi qu'une huile essentielle et des polyphénols. La boldine s'avère comme un antioxydant puissant ; de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* soulignent ses effets anti-inflammatoires, antipyrétiques, antidiabétiques, antiathéromateux, antiagrégants plaquettaires découlant de son action antioxydante. L'huile essentielle de boldo présente des propriétés antimicrobiennes intéressantes mais son utilisation n'est pas recommandée compte tenu de la présence d'ascaridole toxique.

Les polyphénols du boldo n'ont été que très peu étudiés ; pourtant, ceux-ci seraient davantage responsables des propriétés antioxydantes du boldo par rapport à la boldine et agiraient en synergie avec cette dernière pour l'effet cholérétique.

Le boldo promet donc de nouvelles perspectives sur les traitements des pathologies liées au stress oxydant.

En attendant les résultats des prochaines études pharmacologiques et cliniques, la feuille de boldo est utilisée selon l'Agence du médicament comme cholérétique, cholagogue et pour

faciliter les fonctions d'élimination urinaire et digestive et selon la Commission E allemande pour soulager les spasmes gastro-intestinaux légers et la dyspepsie.

La drogue est retrouvée sous forme de poudre, feuille pour tisane, extraits aqueux et hydro-alcooliques. L'utilisation d'extrait éthanolique n'est pas recommandé car il contient une concentration potentiellement plus importante en ascaridole.

Avant toute utilisation du boldo, il faudra s'assurer qu'aucune contre-indication n'est présente : obstruction des voies biliaires, maladies hépatiques sévères. L'utilisation chez les enfants, adolescents et chez la femme enceinte et allaitante n'est pas recommandée.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Grenoble, le 11/06/2012

LE DOYEN

UNIVERSITÉ JOSEPH FOURIER U.F.R. DE PHARMACIE GRENOBLE 1

Professeur Christophe RIBUOT

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Docteur Serge KRIVOBOK

BIBLIOGRAPHIE

1. Akiyama H., Oono T., Huh W. K., Yamasaki O., Ogawa S., Katsuyama M., Ichikawa H. & Iwatsuki K. (2002) Actions of farnesol and xylitol against *Staphylococcus aureus*. *Chemotherapy* **48**, 122-8.

2. Almeida E. R., Melo A. M., Xavier H. (2000) Toxicological evaluation of the hydro-alcohol extract of the dry leaves of *Peumus boldus* and boldine in rats. *Phytother. Res.* **14**, 99-102.

3. Backhouse N., Delporte C., Givernau M., Cassels B. K., Valenzuela A. & Speisky H. (1994) Anti-inflammatory and antipyretic effects of boldine. *Agents Actions* **42**, 114-7.

4. Bannach R., Valenzuela A., Cassels B.K., Nunez-Vergara L.J. & Speisky H. (1996) Cytoprotective and antioxidant effects of boldine on tert-butyl hydroperoxide-induced damage to isolated hepatocytes. *Cell Biol. Toxicol*. **12**, 89-100.

5. Betancur J., Gonzalo Silva A. & Concepcion Rodriguez M. (2010) Insecticidal activity of Peumus boldus Molina essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean Journal of Agricultural Research* **70**, 399-407.

6. Bittner M., Aguilera M. A, Hernández V, Arbert C., Becerra J. & Casanueva M.E. (2009) Fungistatic activity of essential oils extracted from *Peumus boldus* Mol., *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde and *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. (*Chilean monimiaceae*). *Chilean Journal of Agricultural Research* **69**, 30-7.

7. Cassels B. K., Asencio M., Conget P., Speisky H., Videla L. A. & Lissi E. A. (1995) Structure-antioxidative activity relationships in benzylisoquinoline alkaloids. *Pharmacol. Res*. **31**, 103-7.

8. Castaing D. & Veilhan L. A. (2006) Anatomie du foie et des voies biliaires *in EMC Techniques chirurgicales - Appareil digestif.* Ed. Elsevier Masson, Paris, 40-760, 1540 pp.

9. Cederbaum A.I., Kukiełka E. & Speisky H. (1992) Inhibition of rat liver microsomal lipid peroxidation by boldine. *Biochem. Pharmacol*. **44**, 1765-72.

10. Chuliá S., Moreau J., Naline E., Noguera M.A., Ivorra M. D., D'Ocón M. P. & Advenier C. (1996) The effect of S-(+)-boldine on the alpha 1-adrenoceptor of the guinea-pig aorta. *Br J Pharmacol*. **119**, 1305-12.

11. Delaveau P. (1988) Boldo *in Les Actualités Pharmaceutiques* n°250, p. 25-26.

12. Delourme J. (1949) Action intestinale de la boldine *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **229**, 953-5.

13. Delso Jimeno J. (1956) Choleretics and cholagogues : pharmacological study of boldo leaf. *Anales Inst. Farmacol. Espan*. **5**, 395-441.

14. Eltze M., Grebe T., Michel M. C., Czyborra P. & Ullrich B. (2002) Affinity profile at alpha(1)- and alpha(2)-adrenoceptor subtypes and *in vitro* cardiovascular actions of (+)-boldine. *Eur. J. Pharmacol*. **443**, 151-68.

15. Faleiro M. L., Miguel M.G., Ladeiro F., Venâncio F., Tavares R., Brito J.C., Figueiredo A.C., Barroso J.G. & Pedro L.G. (2003) Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. *Lett. Appl. Microbiol*. **36**, 35-40.

16. Goetz P. (2005) Phytothérapie des hépatopathies. *Phytothérapie* **3**, 260-4.

17. Goetz P. (2011) Insuffisance biliaire (non lithiasique). *Phytothérapie* **9**, 172-5.

18. Gotteland M., Espinoza J., Cassels B. & Speisky H. (1995) [Effect of a dry boldo extract on oro-cecal intestinal transit in healthy volunteers]. *Rev. Med. Chil*. **123**, 955-60.

19. Hidalgo M.E., Gonzalez I., Toro F., Fernandez E., Speisky H. & Jimenez I. (1998) Boldine as a sunscreen, its photoprotector capacity against UVB radiation. *Cosmetics Toiletries* **113**, 59-66.

20. Hu J., Speisky H. & Cotgreave I. A. (1995) The inhibitory effects of boldine, glaucine, and probucol on TPA-induced down regulation of gap junction function. Relationships to intracellular peroxides, protein kinase C translocation, and connexin 43 phosphorylation. *Biochem. Pharmacol*. **50**, 1635-43.

21. Ivorra M.D., Martinez F., Serrano A. & D'Ocon P. (1993) Different mechanism of relaxation induced by aporphine alkaloids in rat uterus. *J. Pharm. Pharmacol.* **45**, 439-43.

22. Izzo A. A. (2012) Interactions between Herbs and Conventional Drugs : Overview of the Clinical Data. *Medical principles and practice*: *International journal of the Kuwait University Health Science Centre*.

23. Jang Y. Y., Song J. H., Shin Y. K., Han E. S. & Lee C. S. (2000) Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacol. Res*. **42**, 361-71.

24. Jiménez I., Garrido A., Bannach R., Gotteland M. & Speisky H. (2000) Protective effects of boldine against free radical-induced erythrocyte lysis. *Phytother. Res*. **14**, 339-43.

25. Jiménez I., Lissi E. A. & Speisky H. (2000) Free-radical-induced inactivation of lysozyme and carbonyl residue generation in protein are not necessarily associated. *Arch. Biochem. Biophys*. **381**, 247-52.

26. Johnson M. A. & Croteau R. (1984) Biosynthesis of ascaridole: iodide peroxidase-catalyzed synthesis of a monoterpene endoperoxide in soluble extracts of *Chenopodium ambrosioides* fruit. *Arch. Biochem. Biophys*.; **235**:254-66.

27. Kreitmar H. (1952) [Pharmacological effects of the alkaloid of *Peumus boldus* Molina]. *Pharmazie* **7**, 507-11.

28. Kringstein P. & Cederbaum A. I. (1995) Boldine prevents human liver microsomal lipid peroxidation and inactivation of cytochrome P4502E1. *Free Radic. Biol. Med.* **18**, 559-63.

29. Laborde J. Y. (1884) Étude expérimentale sur l'action physiologique d'un glucoside du Boldo. *Compt. Rend. Acad. Sci*. **98**, 1053.

30. Lambert J. P. & Cormier J. (2001) Potential interaction between warfarin and boldo-fenugreek. *Pharmacotherapy* **21**, 509-12.

31. Lambert J. P. (2001) Des interactions médicamenteuses «naturelles». *Le Médecin du Québec* 36, 57-63.

32. Lanhers M.C., Joyeux M., Soulimani R., Fleurentin J., Sayag M., Mortier F., Younos C. & Pelt J.M. (1991) Hepatoprotective and anti-inflammatory effects of a traditional medicinal plant of Chile, *Peumus boldus*. *Planta Med*. **57**, 110-5.

33. Lau Y. S., Machha A., Achike F. I., Murugan D. & Mustafa M. R. (2012) The aporphine alkaloid boldine improves endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *Exp. Biol. Med.* **237**, 93-8.

34. Levy-Appert-Collin M. & Levy J. (1997) Sur quelques préparations galéniques de feuilles de Boldo. *J. Pharm. Belg*. **32**, 13-22.

35. Loghin F., Chagraoui A., Asencio M., Comoy E., Speisky H., Cassels B.K. & Protais P. (2003) Effects of some antioxidative aporphine derivatives on striatal dopaminergic transmission and on MPTP-induced striatal dopamine depletion in B6CBA mice. *Eur. J. Pharm. Sci.* **18**, 133-40.

36. Magistretti M. (1980) Remarks on the pharmacological examination of plant extracts. *Fitoterapia* **51**, 67-79.

37. Martínez L. A., Ríos J. L., Payá M. & Alcaraz M. J. (1992) Inhibition of nonenzymic lipid peroxidation by benzylisoquinoline alkaloids. *Free Radic. Biol. Med*. **12**, 287-92.

38. Menghini A., Savino A., Lollini M. & Caprio A. (1987) Antimicrobial activity on direct contact of certain essential oils. *Planta Medica* **21**, 36-42.

39. Milián L., Estellés R., Abarca B., Ballesteros R., Sanz M. J. & Blázquez M. A. (2004) Reactive oxygen species (ROS) generation inhibited by aporphine and phenanthrene alkaloids semi-synthesized from natural boldine. *Chem. Pharm. Bull.* **52**, 696-9.

40. Monzón S., Lezaun A., Sáenz D., Marquinez Z., Bernedo N., Uriel O., Colás C. & Duce F. (2004) Anaphylaxis to boldo infusion, a herbal remedy. *Allergy* **59**, 1019-20.

41. Morello A., Lipchenca I., Cassels B.K., Speisky H., Aldunate J. & Repetto Y. (1994) Trypanocidal effect of boldine and related alkaloids upon several strains of *Trypanosoma cruzi*. *Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol*. **107**, 367-71.

42. Moreno P. R., Vargas V. M., Andrade H. H., Henriques A. T. & Henriques J. A. (1991) Genotoxicity of the boldine aporphine alkaloid in prokaryotic and eukaryotic organisms. *Mutat. Res*. **260**, 145-52.

43. O'Brien P., Carrasco-Pozo C. & Speisky H. (2006) Boldine and its antioxidant or health-promoting properties. *Chem. Biol. Interact*. **159**, 1-17.

44. Opdyke D. (1982) Boldo leaf oil. *Food and Chemical Toxicology* **20**, 637-852.

45. Rancan F., Rosan S., Boehm K., Fernández E., Hidalgo M.E., Quihot W. Rubio C., Boehm F., Piazena H. & Oltmanns U. (2002) Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol*. **68**, 133-9.

46. Reiniger I. W., Ribeiro da Silva C., Felzenszwalb I., de Mattos J.C., de Oliveira J. F., da Silva Dantas F. J., Bezerra R.J., Caldeira-de-Araújo A. & Bernardo-Filho M. (1999) Boldine action against the stannous chloride effect. *J. Ethnopharmacol*. **68**, 345-8.

47. Santanam N., Penumetcha M., Speisky H. & Parthasarathy S. (2004) A novel alkaloid antioxidant, Boldine and synthetic antioxidant, reduced form of RU486, inhibit the oxidation of LDL in-vitro and atherosclerosis in vivo in LDLR(-/-) mice. *Atherosclerosis* **173**, 203-10.

48. Schmeda-Hirschmann G., Rodriguez J. A., Theoduloz C., Astudillo S. L., Feresin G. E. & Tapia A. (2003) Free-radical scavengers and antioxidants from *Peumus boldus* Mol. (« Boldo »). *Free Radic. Res*. **37**, 447-52.

49. Soković M., Tzakou O., Pitarokili D. & Couladis M. (2002) Antifungal activities of selected aromatic plants growing wild in Greece. *Nahrung*. **46**, 317-20.

50. Speisky H. & Cassels B. K. (1994) Boldo and boldine: an emerging case of natural drug development. *Pharmacol. Res*. **29**, 1-12.

51. Speisky H., Cassels B. K., Lissi E. A. & Videla L. A. (1991) Antioxidant properties of the alkaloid boldine in systems undergoing lipid peroxidation and enzyme inactivation. *Biochem. Pharmacol*. **41**, 1575-81.

52. Speisky H., Squella J. A. & Núñez-Vergara L. J. (1991) Activity of boldine on rat ileum. *Planta Med*. **57**: 519-22.

53. Tavares D. C. & Takahashi C. S. (1994) Evaluation of the genotoxic potential of the alkaloid boldine in mammalian cell systems *in vitro* and *in vivo*. *Mutat. Res.* **321**, 139-45.

54. Ubeda A., Montesinos C., Payá M. & Alcaraz M. J. (1993) Iron-reducing and free-radical-scavenging properties of apomorphine and some related benzylisoquinolines. *Free Radic. Biol. Med*. **15**, 159-67.

55. Valenzuela A., Nieto S., Cassels B. & Speisky H. (1991) Inhibitory effect of boldine on fish oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc*. **68**, 935-7.

56. Van Hulle C., Braeckman P. & Van Severen R. (1983) Influence of the preparation technique on the boldine content of boldo dry extract. *J. Pharm. Belg*. **38**, 97-100.

57. Verdeguer M., García-Rellán D., Boira H., Pérez E., Gandolfo S. & Blázquez M. A. (2011) Herbicidal activity of *Peumus boldus* and *Drimys winterii* essential oils from Chile. *Molecules*. **16**, 403-11.

58. Vogel H., González B. & Razmilic I. (2011) Boldo (*Peumus boldus*) cultivated under different light conditions, soil humidity and plantation density. *Industrial Crops and Products* **34**, 1310-2.

59. Youn Y. C., Kwon O. S., Han E. S., Song J. H., Shin Y. K. & Lee C. S. (2002) Protective effect of boldine on dopamine-induced membrane permeability transition in brain

mitochondria and viability loss in PC12 cells. *Biochem. Pharmacol*.**63**, 495-505.

60. Zanocco A. L., Lemp E. & Günther G. (1997) A kinetic study of the reaction between boldine and singlet oxygen [$O_2(^1\omega_g)$]. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **2**, 1299-302.

61. Besse R. (2005) *Dermo-cosmetic compositions for depigmenting and use of it*. Brevet français.Laboratoires SVR® . EP1566168(A1). Office européen des brevets.

62. Pauly G. (2000) [*Utilisation d'un extrait dd boldo dans un produit cosmétique ou dermatologique et produit comportant un tel extrait*]. Brevet allemand. FR2784027(A1) . Office européen des brevets.

63. ANSM. (2012) THESAURUS DES INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES. Mise à jour Mars 2012.

64. Catala M, André J-M, Katsanis G, Poirier J. (2007) Cours PCEM2- DCEM1.Histologie : organes, systèmes et appareils. Université Pierre et Marie Curie.

65. Lobstein A.L. (2010) Cours Master Science du Médicament : Les alcaloïdes. Faculté de Pharmacie Strasbourg.

66. Vercauteren J. (2011) Cours DCEP1.Pharmacognosie Générale. Université Montpellier I.

67. Barnes J., Anderson L.A. & Phillipson J. D. (2007) Herbal Medicines, 3ème edition. Ed. Pharmaceutical Press, Londres, 710 pp.

68. Blumenthal M., Goldberg A. & Brinckmann J. (2000) Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs, 1ère edition. Newton: Integrative Medicine Communications, 519 pp.

69. Blumenthal M., Council. (1998) The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Austin: American Botanical Council, 685 pp.

70. Bruneton J. (2009) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème edition. Ed.

Lavoisier Tec & Doc., Paris, 1.270 pp.

71. Direction européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé (2011) Pharmacopée européenne 7ème Édition. Ed. Conseil de l'Europe, Strasbourg :.

72. Dorvault F. & Hazebroucq G. (1994) L'officine. Ed. Vigot, Paris, 2.089 pp.

73. Drake R.L., Vogl A. & Mitchell A. (2010) Gray's anatomie pour les étudiants. 2ème édition. Ed. Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, 1.132 pp.

74. Escop (2003) Escop Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. Ed. Escop, Stuttgart, 568 pp.

75. Fleurentin J., Pelt J. M. & Hayon J. C. (2007) Les plantes qui nous soignent : traditions et thérapeutique. Éd. Ouest-France, Rennes, 192 pp.

76. Fournier P. (1948) Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. Tome I: abricot à coloquinte. Ed. Lechevalier Paris, 448 pp.

77. Ministère de la santé publique et de la population, Commission permanente de la pharmacopée (France), Ordre national des pharmaciens (France) (1965). Pharmacopée française : codex français. 8ème édition. Paris, 1.898 pp.

78. Guénard H. (2001) Physiologie humaine. 3 ème édition. Ed. Pradel, Paris, 606 pp.

79. Hess W. (1992) Maladies des voies biliaires et du pancréas. Ed. Piccin, Padoue, 688 pp.

80. Khan I. A. & Abourashed E. A. (2010) Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients: Used in Food, Drugs and Cosmetics. Ed. John Wiley and Sons, New-York, 810 pp.

81. King J., Wickes Felter H. & Uri Llyod J. (1898) King's American dispensatory. 18ème édition. 3 ème révision. Ed. Ohio Valley Co., Cincinnati. Version numérisée disponible sur : http://www.henriettesherbal.com/eclectic/kings/index.html (consulté en mai 2012)

82. Marshall W.J. & Bangert S. K. (2005) Biochimie médicale : Physiopathologie et diagnostic. Ed. Elsevier, Paris, 385 pp.

83. ANSM. (2010) Pharmacopée Française 2010. 10ème édition. 3 Classeurs avec CD ROM. ANSM, Paris.

84. Moore K.L. & Dalley A.F. (2007) Anatomie médicale : Aspects fondamentaux et applications cliniques. 2ème édition. Ed. De Boeck, Paris, 1.210 pp.

85. Murillo A. (1889) Plantes médicinales du Chili ; Exposition universelle de Paris, 1889. Section chilienne. [A. Roger, Y. F. Chernoviz] (Lagny), 234 pp.

86. Nguyen S., Bourouina R. & Allin-Pfister A. C. (2008) Manuel d'anatomie et de physiologie. 4 ème édition. Ed. Lamarre, Paris 350 pp.

87. Paris M. & Hurabielle M. (1986) Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. Tome 2, Monographies (2ème partie) : plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale. Ed. Masson, Paris, 173 pp.

88. Poletti A. (1988) Fleurs et plantes médicinales. Ed. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel, 222 pp.

89. Rombi M. (1992) 100 plantes médicinales: Composition, mode d'action et intérêt thérapeutique. 2ème édition. Ed. Romart, Nice, 298 pp.

90. Simirgiotis M. J. & Schmeda-Hirschmann G. (2010) Direct identification of phenolic constituents in Boldo Folium (*Peumus boldus* Mol.) infusions by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* **1217**, 443-9.

91. Soussan M. (2006) Hépato-Gastro-Entérologie. 2ème édition. Ed. Vernazobres-Grego,Paris, 142 pp.

92. Tisserand R. & Balacs T. (1995) Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals. Ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 279 pp.

93. Tortora G.J. & Derrickson B. (2007) Principes d'anatomie et de physiologie. 4ème édition. Ed. De Boeck, Bruxelles, 1.246 pp.

94. Verne C. (1874) Étude sur le boldo. Ed. Baillière J.-B. et fils, Paris, 52 pp.

95. Wichtl M. & Lassechere Bernard M. (2003) Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed. Tec et Doc/Médicales internationales, Paris, 692 pp.

96. Zeitoun P. & Lacaine F. (2003) Abord clinique en gastro-entérologie. Ed. Springer, Paris, 203 pp.

97. Vidal 2012 : le dictionnaire. 88ème édition. Ed. Vidal, Issy-les-Moulineaux, 3.000 pp.

SITES INTERNET

98. Koehler's Medicinal-Plants. Koehler's Medicinal Plants - English species names. Disponible sur: http://pharm1.pharmazie.uni-greifswald.de/allgemei/koehler/koeh-eng.htm (consulté en mai 2012)

99. Plantes botanique. Disponible sur: http://www.plantes-botanique.org/ (consulté en mai 2012)

100. Database Entry for Boldo - *Peumus boldus*,
Disponible sur: http://rainforest-database.com/plants/boldo.htm (consulté en mai 2012)

101. Boldo. Disponible sur: http://boldo.stormpages.com/index.html (consulté en mai 2012)

102. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, Ministerio de Agricultura de Chile - Servicio de información de la agricultura chilena. Disponible sur: http://www.odepa.gob.cl/util/Web.action;jsessionid=5E93DFED14FDEB573E9D4A2E9B9327DB (consulté en mai 2012)

103. Troubles hépatiques et biliaires. Disponible sur: http://mm.msd-france.com/manuel_merck/04hep.html (consulté en mai 2012)

104. Corpus Médical de la Faculté de Médecine de Grenoble. Hépato-gastro-entérologie - La lithiase biliaire (258). Disponible sur: http://www-sante.ujf-grenoble.fr/sante/corpus/ (consulté en mai 2012)

105. Vogel A. : Encyclopédie des plantes > *Peumus boldus* (Boldo). Disponible sur: http://www.avogel.fr/encyclopedie-plantes/peumus_boldus.php (consulté en mai 2012)

106. ROGÉ CAVAILLÈS® gamme Sebactiv. Disponible sur: http://www.vidalpro.net/ (consulté en mai 2012)

107. Le jardin botanique de la Villa Thuret d'Antibes - *Peumus boldus*. Disponible sur: http://www.sophia.inra.fr/jardin_thuret/visite_virtuelle/parcours_mediterranee/le_chili/peumus_boldus (consulté en mai 2012)

108. Description and images of *Peumus boldus* (Boldo), a native Chilean plant, provided by the supplier of native exotic Chilean seeds, Chileflora.com. Disponible sur: http://www.chileflora.com/Florachilena/FloraEnglish/HighResPages/EH0045.htm (consulté en mai 2012)

109. PlantFiles: Boldo, *Boldus*. Dave's Garden. Disponible sur: http://davesgarden.com/guides/pf/ (consulté en mai 2012)

110. Insecticidal properties of *Peumus boldus* Mol. Essential oil on the house fly, *Musca domestica* L (Javier F. Echeverría Morgado) - Academia.edu. Disponible sur: http://uchile.academia.edu/JavierEcheverr%C3%ADaMorgado/Papers/1396377/Insecticidal_properties_of_Peumus_boldus_Mol._Essential_oil_on_the_house_fly_Musca_domestica_L (consulté en mai 2012)

111. Quotipharm Actualités - Une proposition de loi du Sénat Le retour controversé du diplôme d'herboriste. Disponible sur: http://www.quotipharm.com (consulté en mai 2012)

112. UNESCO Secteur de la culture - Patrimoine immatériel - Convention 2003.
Disponible sur: http://www.unesco.org/culture/ich/fr/RL/00437 (consulté en mai 2012)

113. Histoire des plantes par H. Baillon. : Baillon, H.
Disponible sur: http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k54367462 (consulté en mai 2012)

114. Plantes médicinales du Chili / Adolphe Murillo.
Disponible sur : http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k6128173q (consulté en mai 2012)

115. *Peumus boldus* - Arboles ChileBosque.
Disponible sur: http://www.chilebosque.cl/tree/pbold.html (consulté en mai 2012)

116. EMEA. COMMUNITY HERBAL MONOGRAPH ON PEUMUS BOLDUS MOLINA, FOLIUM. EMEA/HMPC/591648/2007.
Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/ (consulté en mai 2012).

THÈSES

117. Besombes C. (2008) Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées. Thèse Doct. Univ. La Rochelle, 285 pp.

118. Lhuillier A. (2007) Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse Doct. Univ. Toulouse, 200 pp.

119. Petitjean J. (1998) Mise à jour sur les propriétés récemment découverte du boldo, *Peumus boldus* Molina. Thèse Doct. Univ. Lyon, 74 pp.

GLOSSAIRE[83] [99]

Actinomorphe : Se dit d'une fleur dont les pièces des verticilles successifs sont disposées symétriquement par rapport à l'axe de la fleur.

Anthère : Partie de l'organe reproducteur mâle contenant les grains de pollen.

Capité : Se dit d'un organe dont l'extrémité est globuleuse, à l'image d'une tête d'épingle.

Carpelle : Organe femelle principal de la fleur. Une même fleur peut comporter un carpelle unique ou une multitude de carpelles. Ceux-ci peuvent être soudés ou libres. Chaque carpelle ou groupe de carpelles se compose d'un ovaire, dans lequel se développe la graine, d'un stigmate, qui reçoit le pollen, et généralement d'un style, prolongement vertical de l'ovaire, qui surélève le stigmate. L'ensemble des carpelles d'une fleur est plus communément nommé pistil.

Dioïque : Se dit d'une espèce unisexuée dont les fleurs mâles et femelles sont portées par des pieds différents.

Étamine : Organe mâle de la fleur, composé d'un filet dont une extrémité est fixée sur le réceptacle ou sur la corolle et l'autre extrémité supporte les anthères.

Glanduleux : se dit d'un organe muni de glandes, donne une texture râpeuse.

Laticifère : élément uni- ou pluricellulaire sécrétant un latex.

Mésophylle : Ensemble des tissus compris entre les épidermes, supérieur et inférieur, d'une feuille, d'un sépale ou d'un pétale. Selon leur disposition, le mésophylle est dit homogène ou hétérogène.

Mucroné : Se dit d'un organe se terminant par une petite pointe, le mucron ou la mucronule.

Pédicelle : Tige d'une fleur individuelle dans une inflorescence

Pelté : En forme de bouclier plus ou moins elliptique.

Périanthe : Ensemble des pièces florales non sexuées d'une fleur. Il s'agit généralement de son enveloppe florale, constituée des sépales (calice) et des pétales (corolle).

Poil tecteur : poil dépourvu de cellule(s) sécrétrice(s)

Pubescent : Caractère d'un organe qui possède des poils, qui est duveteux

Racème : synonyme de grappe, inflorescence inde´finie dont les fleurs, alternes et pédondulées, sont disposées le long de l'axe terminé par un bourgeon.

Sclérophylle : adapté à la sécheresse

Sessile : Qualifie tout organe (feuille, fleur) dépourvu de pétiole ou de pédoncule.

Tépale : Nom donné aux pétales et aux sépales lorsqu'ils sont identiques.

Verticille : Ensemble d'organes de même nature disposés en cercle, au même niveau, sur un même axe.

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I : Monographie de la feuille de *Peumus boldus* M. (Pharmacopée Européenne 7ème édition)

ANNEXE II : Monographie de l'extrait sec de la feuille de *Peumus boldus* M. (Pharmacopée Européenne 7ème édition)

ANNEXE III : Monographie de la boldine (Pharmacopée Française Xème édition)

ANNEXE IV: Monographie du Boldo Pour Préparation Homéopatique (Pharmacopée Française Xème édition)

ANNEXE I : Monographie de la feuille de *Peumus boldus* M. (Pharmacopée Européenne 7ème édition)

BOLDO (FEUILLE DE)

Boldi folium

DÉFINITION

Feuille entière ou fragmentée séchée de *Peumus boldus* Molina.

Teneur : au minimum 0,1 pour cent d'alcaloïdes totaux, exprimés en boldine ($C_{19}H_{21}NO_4$; M_r 327,4) (drogue anhydre).

CARACTÈRES

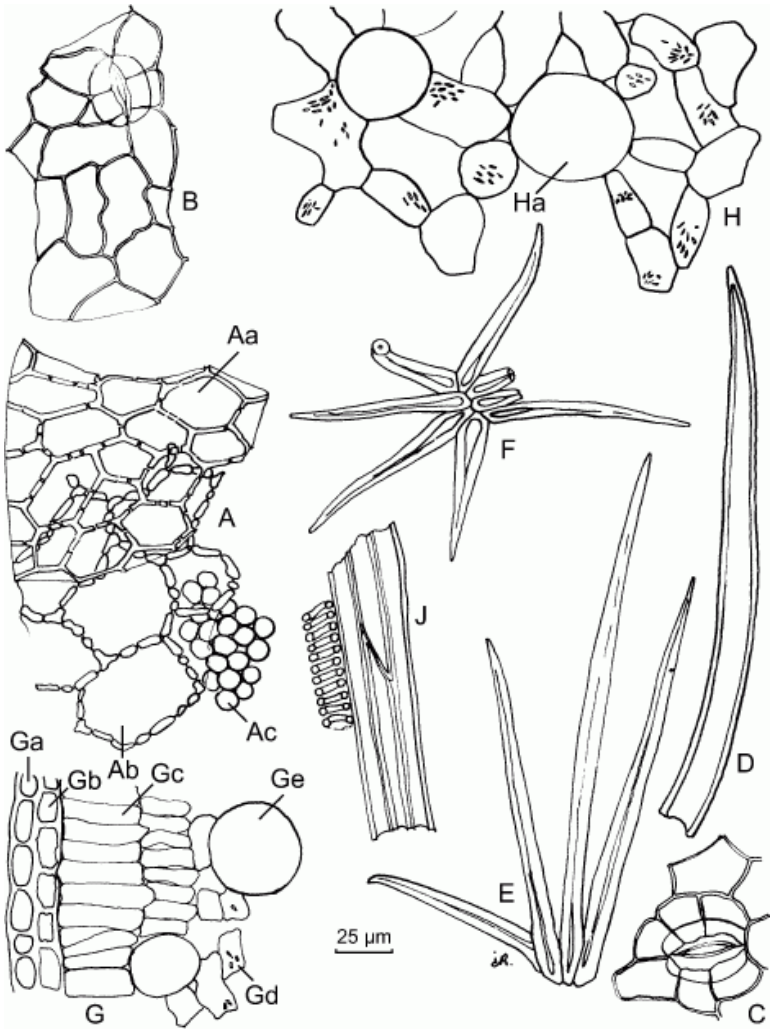
Odeur caractéristique, surtout lorsque la feuille de boldo est froissée.

IDENTIFICATION

A. La feuille, ovale ou elliptique, a généralement une longueur de 5 cm ; elle possède un court pétiole, un apex obtus ou légèrement émarginé ou mucroné et une base symétrique et arrondie, un bord entier légèrement ondulé, épaissi et plus ou moins révoluté. Le limbe gris-vert est épais, coriace et cassant. La face supérieure est rugueuse et présente de nombreuses petites protubérances ainsi qu'une nervation déprimée. La face inférieure, finement pubescente, présente des protubérances moins marquées et une nervation pennée à nervures saillantes.

B. Réduisez la feuille de boldo en poudre (355) (*2.9.12*). La poudre est gris-vert. Examinez au microscope en utilisant de la *solution d'hydrate de chloral R*. La poudre présente des fragments de l'épiderme de la face supérieure et de l'hypoderme sous-jacent, à parois cellulaires droites ou légèrement sinueuses, épaissies en chapelet ; des fragments de l'épiderme de la face inférieure comportant de nombreux stomates entourés de 4-7 cellules annexes ; des poils tecteurs unicellulaires simples, bifurqués ou en bouquets à parois plus ou moins épaisses et lignifiées ; des fragments du limbe présentant 2 assises palissadiques ; des débris de parenchyme lacuneux renfermant de nombreuses cellules à huile essentielle arrondies de grande taille ; des fragments de parenchyme contenant de fins cristaux en

aiguilles, des fibres à paroi épaisse et des cellules parenchymateuses lignifiées et ponctuées associées à du tissu vasculaire provenant des nervures.



A. Fragment de limbe, vu de face, montrant l'épiderme supérieur (Aa), l'hypoderme à cellules à paroi épaissie en chapelet (Ab) et le parenchyme palissadique (Ac)	G. Fragment de limbe, vu en section transversale, montrant l'épiderme supérieur (Ga), l'hypoderme (Gb), le parenchyme palissadique (Gc) et le parenchyme lacuneux (Gd) contenant des cellules à huile essentielle (Ge)
B et C. Epiderme inférieur comportant des stomates entourés de 4-7 cellules annexes	H. Parenchyme lacuneux à cellules contenant de fins cristaux et à cellules à huile essentielle (Ha)
D. Poil tecteur unicellulaire, simple	J. Vaisseaux de bois accompagnés de fibres
E et F. Poil tecteur unicellulaire, en bouquet	

Figure 1396.-1. – *Dessin pour l'identification de la feuille de boldo (voir Identification B)*

C. Chromatographie sur couche mince (*2.2.27*).

Solution à examiner. Mélangez 1,5 g de feuille de boldo pulvérisée (355) (*2.9.12*) et 5 mL de *méthanol R* et traitez aux ultrasons pendant 10 min. Filtrez le surnageant sur une colonne de

cellulose pour chromatographie R1 de 3 cm × 0,5 cm. Utilisez le premier millilitre de l'éluat comme solution à examiner.

Solution témoin. Dissolvez 2 mg de *boldine R* et 10 mg de *bromhydrate de scopolamine R* dans 5 mL de *méthanol R*.

Plaque : *plaque au gel de silice pour CCM R* (5-40 µm) [ou *plaque au gel de silice pour CCM R* (2-10 µm)].

Phase mobile : *diéthylamine R*, *méthanol R*, *toluène R* (10:10:80 *V/V/V*).

Dépôt : 40 µL [ou 6 µL] de solution à examiner et 20 µL[ou 2 µL] de solution témoin, en bandes de 15 mm [ou 8 mm].

Développement : sur un parcours de 15 cm [ou 6 cm].

Séchage : à l'air.

Détection : pulvérisez de la *solution d'iodobismuthate de potassium R2*, laissez séchez à l'air pendant 5 min et pulvérisez de la *solution de nitrite de sodium R*. Examinez à la lumière du jour après 30 min.

Résultats : voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner.

Haut de la plaque	
_____	_____
	Une bande brun-jaune
Scopolamine : une bande brun pâle	
	Une bande jaune
	Une bande brune
	Une bande brune
_____	_____
Boldine : une bande brune	Une bande brune (boldine)
	Plusieurs bandes
Solution témoin	**Solution à examiner**

ESSAI

Huile essentielle (*2.8.12*) : au maximum 40 mL/kg (drogue anhydre).

Utilisez 10,0 g de feuille de boldo récemment fragmentée, un ballon de 1000 mL et 300 mL d'*eau R* comme liquide d'entraînement. Distillez à un débit de 2-3 mL/min pendant 3 h.

Eléments étrangers (*2.8.2*) : au maximum 4 pour cent de rameaux et au maximum 2 pour cent d'autres éléments étrangers.

Eau (*2.2.13*) : au maximum 100 mL/kg, déterminé par entraînement sur 20,0 g de feuille de boldo pulvérisée (355) (*2.9.12*).

Cendres totales (*2.4.16*) : au maximum 13,0 pour cent.

DOSAGE

Alcaloïdes. Chromatographie liquide (*2.2.29*).

Solution à examiner. A 1,000 g de feuille de boldo pulvérisée (355) (*2.9.12*), ajoutez 50 mL d'*acide chlorhydrique dilué R*. Agitez dans un bain-marie à 80 °C pendant 30 min. Filtrez, reprenez le résidu par 50 mL d'*acide chlorhydrique dilué R*, puis agitez dans un bain-marie à 80 °C pendant 30 min. Filtrez, renouvelez une fois l'opération sur le résidu obtenu. Filtrez. Réunissez les filtrats refroidis et agitez-les avec 100 mL d'un mélange à volumes égaux d'*acétate d'éthyle R* et d'*hexane R*. Eliminez la phase organique. Ajustez la phase aqueuse à pH 9,5 avec de l'*ammoniaque diluée R1*. Agitez successivement avec 100 mL, 50 mL et 50 mL de *chlorure de méthylène R*, puis réunissez les phases inférieures et évaporez à siccité sous pression réduite. Dissolvez le résidu dans la phase mobile et complétez à 10,0 mL avec la phase mobile.

Solution témoin. Dissolvez 12 mg de boldine SCR dans la phase mobile et complétez à 100,0 mL avec la phase mobile. Prélevez 1,0 mL de cette solution et complétez à 10,0 mL avec la phase mobile.

Colonne :

— *dimensions* : *l* = 0,25 m, Ø = 4,6 mm,

— *phase stationnaire* : *gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R* (5 µm).

Solution A. Mélangez 0,2 mL de *diéthylamine R* et 99,8 mL d'*acétonitrile R*.

Solution B. Mélangez 0,2 mL de *diéthylamine R* et 99,8 mL d'*eau R* puis ajustez à pH 3 avec de l'*acide formique anhydre R*.

Phase mobile : solution A, solution B (16:84 *V/V*).

Débit : 1,5 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 304 nm.

Injection : 20 µL.

Rétention relative par rapport à la boldine (temps de rétention = environ 6 min) : isoboldine = environ 0,9 ; *N*-oxyde d'isocorydine = environ 1,8 ; laurotétanine = environ 2,2 ; isocorydine = environ 2,8 ; *N*-méthyllaurotétanine = environ 3,2. Des pics supplémentaires peuvent être présents.

Conformité du système : solution à examiner :

— *résolution* : au minimum 1 entre les pics dus à l'isoboldine et à la boldine.

Calculez la teneur pour cent en alcaloïdes totaux exprimés en boldine à l'aide de l'expression suivante

$$\frac{(\sum A_1) \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 100}$$

m_1	=	masse de la prise d'essai, en grammes,
m_2	=	masse de boldine SCR dans la solution témoin, en grammes,
ΣA_1	=	somme des surfaces des pics dus aux 6 alcaloïdes identifiés dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
A_2	=	surface du pic dû à la boldine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,
p	=	teneur pour cent en boldine dans la boldine SCR.

ANNEXE II : Monographie de l'extrait sec de la feuille de *Peumus boldus* M. (Pharmacopée Européenne 7ème édition)

BOLDO (FEUILLE DE), EXTRAIT SEC DE

Boldi folii extractum siccum

DÉFINITION

Extrait produit à partir de *Feuille de Boldo (1396)*.

Teneur :

— *pour les extraits aqueux* : au minimum 0,5 pour cent d'alcaloïdes totaux, exprimés en boldine ($C_{19}H_{21}NO_4$; M_r 327,4) (extrait desséché) ;

— *pour les extraits hydroalcooliques* : au minimum 1,0 pour cent d'alcaloïdes totaux, exprimés en boldine ($C_{19}H_{21}NO_4$; M_r 327,4) (extrait desséché).

PRODUCTION

L'extrait est obtenu à partir de la drogue végétale, par une méthode appropriée, en utilisant de l'eau chaude au minimum à 65 °C ou un solvant hydroalcoolique équivalent en concentration à l'éthanol à 45-75 pour cent *V/V*.

CARACTÈRES

Aspect : poudre hygroscopique, brune ou brun-vert.

IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (*2.2.27*).

Solution à examiner. A 0,5 g d'extrait à examiner, ajoutez 1 mL d'*acide chlorhydrique R* et 20 mL d'*eau R*. Traitez aux ultrasons pendant 10 min. Transvasez le liquide dans une ampoule à décantation et alcalinisez avec 2 mL d'*ammoniaque diluée R1*. Agitez avec 2 fois 20 mL de *chlorure de méthylène R*. Réunissez les phases organiques et évaporez-les à siccité. Dissolvez le résidu dans 1 mL de *méthanol R*.

Solution témoin. Dissolvez 2 mg de *boldine R* et 10 mg de *bromhydrate de scopolamine R* dans 5 mL de *méthanol R*.

Plaque : *plaque au gel de silice pour CCM R* (5-40 µm) [ou *plaque au gel de silice pour CCM R* (2-10 µm)].

Phase mobile : *diéthylamine R*, *méthanol R*, *toluène R* (10:10:80 *V/V/V*).

Dépôt : 20 µL [ou 3 µL], en bandes de 15 mm [ou 8 mm].

Développement : sur un parcours de 15 cm [ou 6 cm].

Séchage : à l'air.

Détection : pulvérisez de la *solution d'iodobismuthate de potassium R2*, laissez sécher à l'air pendant 5 min et pulvérisez de la *solution de nitrite de sodium R*. Examinez à la lumière du jour après 30 min.

Résultats : voir ci-après la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes de plus faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
_____	_____
	Une bande brun-jaune
	Une bande jaune-orange
Scopolamine : une bande brun pâle	
	Une bande orange
	Une bande orange
_____	_____
Boldine : une bande brune	Une bande brune (boldine)
	Plusieurs bandes oranges
Solution témoin	**Solution à examiner**

DOSAGE

Chromatographie liquide (*2.2.29*).

Solution à examiner. A 1,000 g d'extrait à examiner, ajoutez 50 mL d'*acide chlorhydrique dilué R*, puis traitez aux ultrasons pendant 10 min. Transvasez dans une ampoule à décantation et lavez avec 10 mL d'un mélange à volumes égaux d'*acétate d'éthyle R* et d'*hexane R*. Ajustez le pH de la phase aqueuse à 9,5 avec de l'*ammoniaque diluée R1*. Après refroidissement, agitez successivement avec 100 mL, 50 mL et à nouveau 50 mL de *chlorure de méthylène R*, en évitant la formation d'émulsion. Réunissez les phases inférieures et évaporez-les à siccité sous pression réduite. Dissolvez le résidu dans la phase mobile. Introduisez la solution dans un ballon jaugé, rincez et complétez à 10,0 mL avec la phase mobile.

Solution témoin. Dissolvez 12,0 mg de boldine SCR dans la phase mobile et complétez à 100,0 mL avec la phase mobile.

Colonne :

— *dimensions* : *l* = 0,25 m, Ø = 4,6 mm,

— *phase stationnaire* : *gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R* (5 µm).

Solution A. Mélangez 0,2 mL de *diéthylamine R* et 99,8 mL d'*acétonitrile R*.

Solution B. Mélangez 0,2 mL de *diéthylamine R* et 99,8 mL d'*eau R* puis ajustez à pH 3 avec de l'*acide formique anhydre R*.

Phase mobile : solution A, solution B (16:84 *V/V*).

Débit : 1,5 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 304 nm.

Injection : 20 µL.

Rétention relative par rapport à la boldine (temps de rétention = environ 6 min) : isoboldine = environ 0,9 ; *N*-oxyde d'isocorydine = environ 1,8 ; laurotétanine = environ 2,2 ; isocorydine = environ 2,8 ; *N*-méthyllaurotétanine = environ 3,2. Des pics supplémentaires peuvent être présents.

Conformité du système : solution à examiner :

— *résolution* : au minimum 1,0 entre les pics dus à l'isoboldine et à la boldine.

Calculez la teneur pour cent en alcaloïdes totaux, exprimés en boldine, à l'aide de l'expression suivante :

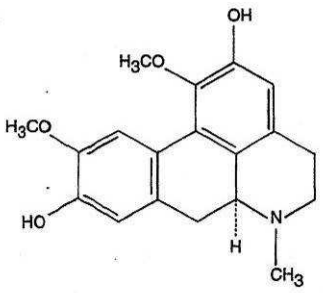
$$\frac{(\sum A_1) \times m_2 \times p}{A_2 \times m_1 \times 10}$$

ΣA_1	=	somme des surfaces des pics dus aux 6 alcaloïdes identifiés dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,
A_2	=	surface du pic dû à la boldine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,
m_1	=	masse d'extrait à examiner, utilisée pour préparer la solution à examiner, en grammes,
m_2	=	masse de boldine SCR utilisée pour préparer la solution témoin, en grammes,
p	=	teneur pour cent en boldine de la boldine SCR.

ANNEXE III : Monographie de la boldine (Pharmacopée Française Xème édition)

BOLDINE

Boldinum



$C_{19}H_{21}NO_4$ M_r 327,4

La boldine contient au minimum 98,5 pour cent et au maximum l'équivalent de 100,5 pour cent de (*S*)-1,10-diméthoxy-6-méthyl-5,6,6a,7-tétrahydro-4*H*-dibenzo[*de,g*]quinoléine-2,9-diol calculé par rapport à la substance desséchée.

CARACTÈRES

Poudre cristalline de couleur blanc crème à jaunâtre, très peu soluble dans l'eau, soluble dans le chlorure de méthylène et dans l'alcool. La boldine se dissout dans de l'hydroxyde de sodium 1N.

IDENTIFICATION

L'identification C peut être omise quand les identifications A, B, D et E sont effectuées. Les identifications A, B et E peuvent être omises quand les identifications C et D sont effectuées.

A. La boldine satisfait à l'essai du pouvoir rotatoire spécifique.

B. Dissolvez 50 mg de boldine dans de l'alcool R et complétez à 100,0 ml avec le même solvant. Prélevez 2,0 ml et complétez à 100,0 ml avec le même solvant. Examinée de 220 nm à 320 nm (V.6.19), la solution

Janvier 1995.

présente 2 maximums d'absorption à 283 nm et 303 nm. Les absorbances spécifiques à ces maximums sont respectivement de 430 à 445 et de 420 à 435, calculées par rapport à la substance desséchée.

C. Examinez la boldine par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (V.6.18). Les maximums d'absorption du spectre obtenu avec la substance à examiner correspondent en position et en intensité relative à ceux du spectre obtenu avec la boldine SCR fr. Examinez les substances sous forme de pastilles.

D. Examinez les chromatogrammes obtenus dans l'essai « Substances apparentées ». La tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution à examiner est semblable quant à sa position, sa coloration et ses dimensions à la tache principale du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a).

E. Le point de fusion (V.6.11.1) est de 158 °C à 164 °C.

ESSAI

Substances apparentées. Opérez par chromatographie sur couche mince (V.6.20.2) en utilisant une plaque recouverte de gel de silice GF_{254} R.

Solution à examiner. Dissolvez 50 mg de substance à examiner dans 5,0 ml d'alcool R.

Solution témoin (a). Dissolvez 50 mg de boldine SCR fr dans 5,0 ml d'alcool R.

Solution témoin (b). Prélevez 1 ml de solution à examiner et complétez à 100 ml avec de l'alcool R.

Déposez séparément sur la plaque 10 µl de chaque solution. Développez sur un parcours de 10 cm avec du méthanol R. Laissez sécher la plaque et examinez en lumière ultraviolette à 254 nm. S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que la tache du chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b) (1 pour cent).

Pouvoir rotatoire spécifique (V.6.6). Dissolvez 0,50 g de boldine dans de l'alcool R et complétez à 50,0 ml avec le même solvant. Le pouvoir rotatoire spécifique est de + 121° à + 127°, calculé par rapport à la substance desséchée.

Métaux lourds (V.3.2.8). 1,0 g de boldine satisfait à l'essai limite D des métaux lourds (20 ppm). Préparez le témoin avec 2 ml de solution à 10 ppm de plomb (Pb) R.

Perte à la dessiccation (V.6.22). Déterminée à l'étuve à 100-105 °C sur 0,500 g de boldine, la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 1 pour cent.

Cendres sulfuriques (V.3.2.14). Déterminé sur 1,0 g de boldine, le taux des cendres sulfuriques n'est pas supérieur à 0,1 pour cent.

DOSAGE

Dissolvez 0,200 g de boldine dans 50 ml d'acide acétique glacial R. Titrez par l'acide perchlorique 0,1N. Déterminez le point d'équivalence par potentiométrie (V.6.14). Effectuez un titrage à blanc.

1 ml d'acide perchlorique 0,1N correspond à 32,74 mg de $C_{19}H_{21}NO_4$.

CONSERVATION

A l'abri de la lumière.

Janvier 1995.

ANNEXE IV: Monographie du Boldo Pour Préparation Homéopatique (Pharmacopée Française Xème édition)

BOLDO POUR PRÉPARATIONS HOMÉOPATHIQUES

Boldo ad praeparationes homoeopathicas
Autre titre latin utilisé en homéopathie : **Peumus boldus**

La drogue Boldo satisfait aux exigences de la monographie *Boldo (feuille de) (1396)*.

SOUCHE

DÉFINITION

Teinture mère de boldo préparée à la teneur en éthanol de 55 pour cent *V/V*, à partir de la feuille séchée de *Peumus boldus* Molina.

Teneur ajustée : au minimum 0,008 pour cent et au maximum 0,020 pour cent *m/m* d'alcaloïdes totaux, exprimés en boldine ($C_{19}H_{21}NO_4$; M_r 327,4).

PRODUCTION

Méthode 4c (*2371*). Drogue coupée en fragments de plus de 1 cm. Durée de macération : 3 à 5 semaines.

CARACTÈRES

Liquide brun sombre.

Odeur caractéristique.

IDENTIFICATION

Chromatographie sur couche mince (*2.2.27*).

Solution à examiner. A 5 ml de teinture mère, ajoutez 1 ml d'*acide chlorhydrique dilué R* et 20 ml d'*eau R*, puis chauffez à reflux pendant 10 min. Refroidissez et filtrez. Ajoutez au filtrat 2 ml d'*ammoniaque diluée R1* et extrayez avec 2 fois 20 ml de *chlorure de méthylène R*. Réunissez les phases organiques et évaporez-les à siccité sous pression réduite. Dissolvez le résidu dans 1 ml de *méthanol R*.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

2009.

Solution témoin. Dissolvez 2 mg de *boldine R* et 10 mg de *bromhydrate de scopolamine R* dans 5 ml de *méthanol R.*

Plaque : plaque au gel de silice pour CCM R.

Phase mobile : diéthylamine R, méthanol R, toluène R (10 :10 :80 *V/V/V).*

Dépôt : 20 µl, en bandes.

Développement : sur un parcours de 12 cm.

Séchage : à l'air pendant au minimum 30 min.

Détection : pulvérisez de la *solution d'iodobismuthate de potassium R2.* Laissez sécher la plaque à l'air pendant 5 min et pulvérisez ensuite de la *solution de nitrite de sodium R.* Examinez à la lumière du jour.

Résultats : voir ci-dessous la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, d'autres bandes brunes de faible intensité peuvent être présentes dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner.

Haut de la plaque	
------	------
Scopolamine (bromhydrate de) : une bande brune	Une bande brun-jaune Une bande brun-jaune Une bande brune Une bande brune
------	------
Boldine : une bande brune	Une bande brune (boldine)
Solution témoin	**Solution à examiner**

ESSAI

Teneur en éthanol (*2.9.10*) : 50 pour cent *V/V* à 60 pour cent *V/V.*

Résidu sec (*2.8.16*) : au minimum 2,0 pour cent *m/m.*

DOSAGE

Chromatographie liquide (*2.2.29*).

Solution à examiner. Evaporez 20,00 g de teinture mère jusqu'à obtenir un résidu de 10 ml environ. Alcalinisez par de l'*ammoniaque diluée R1*, puis agitez avec des fractions successives de 20 ml de *chlorure de méthylène R*

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

jusqu'à extraction complète des alcaloïdes. Réunissez les phases organiques puis évaporez-les à siccité sous pression réduite. Dissolvez le résidu dans la phase mobile et complétez à 20,0 ml avec le même solvant.

Solution témoin. Dans une fiole jaugée de 100,0 ml, dissolvez 12 mg de *boldine SCR* dans 100,0 ml de phase mobile. Prélevez 2,0 ml de solution et complétez à 20,0 ml avec la phase mobile.

Colonne :

— *dimensions :* $l = 0{,}25$ m, Ø = 4 mm,

— *phase stationnaire : gel de silice octadécylsilylé pour chromatographie R* (5 µm).

Phase mobile : mélangez 16 volumes de solution A et 84 volumes de solution B.

— *Solution A.* Mélangez 99,8 ml d'*acétonitrile R* et 0,2 ml de *diéthylamine R*,

— *Solution B.* Mélangez 99,8 ml d'*eau R* et 0,2 ml de *diéthylamine R* et ajustez à pH 3 avec de l'*acide formique anhydre R*.

Débit : 1,0 ml/min.

Détection : spectrophotomètre à 304 nm.

Injection : 20 µl.

Lorsque les chromatogrammes sont enregistrés dans les conditions prescrites, les rétentions relatives calculées par rapport à la boldine sont de 0,9 environ pour l'isoboldine, de 1,8 environ pour l'isocorydine *N*-oxyde, de 2,2 environ pour la laurotétanine, de 2,8 environ pour l'isocorydine, de 3,2 environ pour la *N*-méthyllaurotétanine. Des pics supplémentaires peuvent être présents.

Calculez la teneur pour cent *m/m* en alcaloïdes totaux, exprimés en boldine, à l'aide de l'expression :

$$\frac{\sum A_1 \times m_2 \times 0{,}02 \times p}{A_2 \times m_1}$$

$\sum A_1$ = somme des surfaces des pics dus aux 6 alcaloïdes identifiés dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner,

A_2 = surface du pic dû à la boldine dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin,

m_1 = masse de la prise d'essai de teinture mère dans la solution à examiner, en grammes,

---

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

2009.

m_2 = masse de la prise d'essai de boldine dans la solution témoin, en grammes,

p = teneur pour cent en boldine dans la *boldine SCR*.

Les prescriptions générales et les monographies générales de la Pharmacopée européenne ainsi que le préambule de la Pharmacopée française s'appliquent.

Faculté de Pharmacie de Grenoble

Serment des Apothicaires

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les moeurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobe et méprisé de mes confrères si j'y manque.

RAKOTONANAHARY épouse MALDONADO Maria
Peumus boldus M. De la botanique à la thérapeutique : État des connaissances en 2012

RÉSUMÉ

Peumus boldus Molina ou boldo est un arbuste de la famille de Monimiacées poussant spontanément dans les régions centrales du Chili, bénéficiant d'un climat de type méditerranéen. Inscrit sur la liste A des plantes médicinales de la Pharmacopée Française Xème édition, sa feuille et son extrait sec font également l'objet de monographies dans la Pharmacopée Européenne 7ème édition. Ses feuilles renferment de nombreux alcaloïdes dont la boldine ainsi que des polyphénols et une huile essentielle, tous responsables des propriétés thérapeutiques attribuées au boldo.
Essentiellement connu au sein de nos officines pour ses actions sur les troubles hépato-biliaires, le boldo se révèle comme ayant des effets thérapeutiques dans des domaines éloignés de la sphère gastro-intestinale.
La découverte majeure est l'utilisation potentielle du boldo dans les pathologies liées au stress oxydant ; de nombreuses études font mention de ses propriétés antioxydantes ; toutefois, des études complémentaires sont nécessaires pour permettre un éventuel usage thérapeutique.
Ce mémoire fait un état des lieux des connaissances actuelles du boldo sur les plans botanique, pharmacognosique et pharmacologique. Dans un but officinal, sont recensés avec précision les utilisations thérapeutiques (en allopathie, homéopathie et phytothérapie) ainsi que le nom des spécialités contenant le boldo.

MOT-CLÉS
Peumus boldus, boldo, boldine, phytothérapie, botanique, pharmacognosie, hépato-biliaire, antioxydant.

COMPOSITION DU JURY
Dr Serge KRIVOBOK, Docteur en Pharmacie et Maître de Conférences en Botanique et Mycologie
Dr Frédérique DEVESNE, Docteur en Pharmacie
Dr Stéphane ROSSI, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE : Jeudi 28 Juin 2012