

# Université de Poitiers

## Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2013	Thèse n°
<b>THESE</b> POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE (décret du 16 janvier 2004)	

	présentée et soutenue publiquement le 04 Juillet 2013 à Poitiers par <b>Monsieur Pierre-Jacques Chaboussant</b>	
--	---	--

<u>Titre</u>
Intoxication Aigüe avec troubles du comportement et hallucinations chez une enfant de 12 ans après consommation d'infusions de feuilles de Boldo.

### COMPOSITION DU JURY

**Président** : Madame le Professeur Marie-Christine Perault-Pochat

**Membres** : Monsieur le Professeur Régis Hankard  
Monsieur le Professeur Michel Morichau-Beauchant

**Directeur de thèse** : Monsieur le Docteur Denis Graber



## LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

### Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

1. AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
2. ALLAL Joseph, thérapeutique
3. BATAILLE Benoît, neurochirurgie
4. BENSADOUN René-Jean, oncologie - radiothérapie
5. BRIDOUX Frank, néphrologie
6. BURUCOA Christophe, bactériologie - virologie
7. CARRETIER Michel, chirurgie générale
8. CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
9. CHRISTIAENS Luc, cardiologie
10. CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
11. DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
12. DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
13. DEBIAIS Françoise, rhumatologie
14. DORE Bertrand, urologie
15. DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
16. EUGENE Michel, physiologie
17. FAURE Jean-Pierre, anatomie
18. FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
19. FROMONT-HANKARD Gaëlle, anatomie et cytologie pathologiques
20. GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique
21. GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
22. GILBERT Brigitte, génétique
23. GOMBERT Jean-Marc, immunologie
24. GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
25. GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion
26. GUILLET Gérard, dermatologie
27. GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
28. HADJADJ Samy, endocrinologie et maladies métaboliques
29. HANKARD Régis, pédiatrie
30. HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
31. HERPIN Daniel, cardiologie
32. HOUETO Jean-Luc, neurologie
33. INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
34. IRANI Jacques, urologie
35. JABER Mohamed, cytologie et histologie
36. KARAYAN-TAPON Lucie, oncologie
37. KEMOUN Gilles, médecine physique et réadaptation (détachement)
38. KITZIS Alain, biologie cellulaire
39. KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino- Laryngologie
40. KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
41. LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
42. LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
43. LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
44. MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique (surnombre)
45. MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (surnombre)
46. MARECHAUD Richard, médecine interne
47. MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire
48. MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
49. MEURICE Jean-Claude, pneumologie
50. MIMOZ Olivier, anesthésiologie - réanimation
51. MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
52. NEAU Jean-Philippe, neurologie
53. ORIOT Denis, pédiatrie
54. PACCALIN Marc, gériatrie
55. PAQUEREAU Joël, physiologie
56. PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique
57. PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
58. PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
59. POURRAT Olivier, médecine interne
60. PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
61. RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire
62. RICHER Jean-Pierre, anatomie
63. ROBERT René, réanimation
64. ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
65. ROBLOT Pascal, médecine interne
66. RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
67. SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes
68. SILVAIN Christine, hépato-gastro-entérologie
69. SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
70. TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
71. TOUCHARD Guy, néphrologie
72. TOURANI Jean-Marc, oncologie
73. WAGER Michel, neurochirurgie

**Maitres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers**

1. ARIES Jacques, anesthésiologie - réanimation
2. BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie - virologie
3. BEN-BRIK Eric, médecine du travail
4. BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
5. CASTEL Olivier, bactériologie - virologie - hygiène
6. CATEAU Estelle, parasitologie et mycologie
7. CREMNITER Julie, bactériologie - virologie
8. DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie - réanimation
9. DIAZ Véronique, physiologie
10. FAVREAU Frédéric, biochimie et biologie moléculaire
11. FRASCA Denis, anesthésiologie - réanimation
12. GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
13. HURET Jean-Loup, génétique
14. JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
15. LAFAY Claire, pharmacologie clinique
16. LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
17. MIGEOT Virginie, santé publique
18. ROY Lydia, hématologie
19. SAPANET Michel, médecine légale
20. THILLE Arnaud, réanimation
21. TOUGERON David, hépato-gastro-entérologie

**Professeur des universités de médecine générale**

GOMES DA CUNHA José

**Professeur associé des disciplines médicales**

SCEPI Michel, thérapeutique et médecine d'urgence

**Maitres de Conférences associés de Médecine générale**

BINDER Philippe  
BIRAULT François  
FRECHE Bernard  
GIRARDEAU Stéphane  
GRANDCOLIN Stéphanie  
PARTHENAY Pascal  
VALETTE Thierry

**Professeur certifié d'Anglais**

DEBAIL Didier

**Maitre de conférences des disciplines pharmaceutiques enseignant en médecine**

MAGNET Sophie, bactériologie - virologie

**Professeurs émérites**

1. BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales
2. DABAN Alain, oncologie radiothérapie
3. FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie - virologie
4. GIL Roger, neurologie
5. LAPIERRE Françoise, neurochirurgie

**Professeurs et Maitres de Conférences honoraires**

1. ALCALAY Michel, rhumatologie
2. BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
3. BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
4. BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex émérite)
5. BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
6. BEGON François, biophysique, Médecine nucléaire
7. BOINOT Catherine, hématologie - transfusion
8. BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex émérite)
9. BURIN Pierre, histologie
10. CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
11. CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
12. CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
13. CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
14. DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
15. DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
16. FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex émérite)
17. GOMBERT Jacques, biochimie
18. GRIGNON Bernadette, bactériologie
19. JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
20. KAMINA Pierre, anatomie (ex émérite)
21. LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
22. MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
23. MARILLAUD Albert, physiologie
24. MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
25. PATTE Dominique, médecine interne
26. PATTE Françoise, pneumologie
27. POINTREAU Philippe, biochimie
28. REISS Daniel, biochimie
29. RIDEAU Yves, anatomie
30. SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
31. TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
32. TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex émérite)
33. VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

## **REMERCIEMENTS**

**A Madame le Professeur Perault-Pochat**, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury et de valoriser ce travail par votre présence. Soyez assurée de mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Hankard**, pour avoir accepté d'être membre du jury. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance.

**A Monsieur le Professeur Morichau-Beuchant**, pour avoir accepté de juger ce travail. Soyez assuré de ma profonde gratitude.

**A Monsieur le Docteur Graber**, pour m'avoir guidé et aidé dans ce travail avec une si grande patience.

**A Madame le Professeur Graber**, pour sa gentillesse et pour avoir mis son équipe à ma disposition lors de l'élaboration de ce travail.

**A Mademoiselle le Docteur Gagez**, pour ton investissement, ta patience et tes explications au tableau.

**A l'ensemble des Médecins du service de Pédiatrie du CH de La Rochelle**, pour m'avoir appris à dédramatiser les soins pédiatriques.

**A Madame le Docteur Cassan-Faux**, pour avoir aiguisé mon sens clinique. Une belle rencontre personnelle et professionnelle.

**A mes grand-parents**, pour m'avoir élevé et fait de moi l'homme que je suis.

**A mes oncles et tantes**, pour leur présence.

**A Pauline**, merci de partager ma vie avec bienveillance.

**A Martine et Jean-Pierre**, pour votre gentillesse.

**A mes Amis**, puissent nos chemins continuer de se croiser.

# SOMMAIRE

<b>1. INTRODUCTION</b>	<b>9</b>
<b>2. DESCRIPTION CLINIQUE</b>	<b>11</b>
2.1 Histoire de la maladie	11
2.2 Antécédents	11
2.3 Examen Clinique	11
2.4 Examens Complémentaires	12
2.5 Hospitalisation	13
2.6 Diagnostic	17
<b>3. BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>18</b>
3.1 Découverte	18
3.2 Alcaloïdes Aporphinoïdes	18
3.3 Propriétés Cliniques de la Boldine	19
3.4 Autres Composés de la feuille de Boldo	20
<b>4. MATERIEL ET METHODE</b>	<b>21</b>
4.1 Protocole utilisé en chromatographie HPLC (High Pression Chromatography Liquid)	21
4.2 Protocole utilisé en UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) couplée à la Spectrométrie de Masse	22
<b>5. RESULTATS</b>	<b>23</b>
5.1 Résultats obtenus en HPLC	23
5.2 Résultats obtenus en UPLC couplée à la Spectrométrie de Masse	27
<b>6. DISCUSSION</b>	<b>33</b>
6.1 ELEMENTS POUVANT REMETTRE EN QUESTION UN LIEN DE CAUSE A EFFET ENTRE BOLDO ET EFFETS NEURO-PSYCHIATRIQUES	33
6.1.1 Résultats obtenus en laboratoire	33
6.1.2 La Clinique	33
6.1.3 Les Examens Complémentaires	34
6.1.4 La «Boldoflorine»	34

6.2 ARGUMENTS EN FAVEUR D'UN LIEN DE CAUSE A EFFET ENTRE CONSOMMATION DE BOLDO ET EFFETS NEURO-PSYCHIATRIQUES	35
6.2.1 Présence de plusieurs molécules à noyau aporphine et noraporphine	35
6.2.2 Cas non publiés	37
6.2.3 Particularité de la Patiente	37
6.2.4 Cinétique de dégression des symptômes	38
<b>7. CONCLUSION</b>	<b>39</b>
<b>8. BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>40</b>
<b>9. ANNEXES</b>	<b>42</b>
<b>10. RESUME</b>	<b>44</b>

# 1. INTRODUCTION

Les doutes qui pèsent actuellement sur l'industrie pharmaceutique ainsi qu'une forme de «retour à la terre» autour de l'agriculture biologique, amènent de plus en plus de patients occidentaux à se tourner vers les médecines douces.

La phytothérapie fait partie de ces médecines douces.

Utilisée depuis que l'homme pratique «la cueillette», elle présente un aspect rassurant pour le patient, aspect conforté par la possibilité d'automédication, la phytothérapie étant, en France, vendue en officine sans prescription médicale.

Historiquement, la phytothérapie existe depuis que l'homme existe et pouvoir se soigner avec les plantes que l'on trouve devant sa porte a toujours fait fantasmer les hommes.

D'un point de vue plus médical, des traces d'utilisation des plantes médicinales existent dans des textes chinois datant d'environ 5000 ans avant Jésus-Christ.

Le Premier recueil de phytothérapie date quant à lui de 1500 avant Jésus-Christ (Papyrus Médical d'Ebers) et proposait un inventaire de douze plantes médicinales.

Mille ans plus tard Hippocrate fut le premier à mentionner des observations cliniques avec plus de deux cents plantes médicinales. En 100 avant Jésus-Christ, Dioscoride écrivait un recueil concernant plus de cinq cents espèces de plantes connu sous le nom de «materia medica», premier ouvrage de pharmacopée à être imprimé en 1478 à Venise et considéré comme une référence jusqu'au 18ème siècle.

Enfin les 17ème, 18ème et 19ème siècles furent la période d'élaboration des fondements de la classification botanique et pharmacologique actuelle permettant de considérer la phytothérapie comme une science médicale à part entière.[1]

La Phytothérapie qui fait donc pleinement parti de l'allopathie ne doit pas être confondue avec l'homéopathie qui utilise des teintures-mères obtenues par macération de plantes fraîches et l'aromathérapie utilisant les huiles essentielles de plantes aromatiques.

Pour autant comme le disent Max Wichtl et Robert Anton dans «Plantes Thérapeutiques», l'utilisation de la phytothérapie est actuellement de deux types:

-Utilisation de plantes à constituants actifs définis, utilisées par l'industrie pharmaceutique comme source de substances naturelles pures.

-Utilisation traditionnelle de plantes médicinales pour des indications dites «mineures».

Ce sont des plantes qui ont fait à priori la preuve de leur innocuité de part la longue tradition d'utilisation.

Mais cet usage dit «traditionnel» de la plante nous mène à une problématique liée à la concentration du principe actif selon la partie de la plante utilisée ou à son mode de consommation.

Problématique à laquelle se surajoute encore les problèmes d'automédication avec risques d'effets secondaires en rapport avec une variabilité interindividuelle de sensibilité.

A chaque principe actif contenu dans une plante correspond un mode d'extraction. En phytothérapie cinq modes d'extraction sont répertoriés: macération, percolation, digestion, décoction et infusion.

La Dixième édition de la «Pharmacopée Française» datant de 2010, définit les cinq modes d'extraction comme suit[2]:

-Macération: consiste à maintenir en contact la drogue avec de l'eau potable à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 4 heures.

-Percolation: consiste à faire passer le solvant ordinairement froid à travers la drogue divisée dans un percolateur.

-Digestion: consiste à maintenir en contact la drogue avec de l'eau potable à une température inférieure à celle de l'ébullition, mais supérieure à la température ambiante pendant une durée de 1 à 5 heures.

-Décoction: consiste à maintenir la drogue avec de l'eau potable à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes.

-Infusion: consiste à verser sur la drogue de l'eau potable bouillante et à la laisser refroidir.

Cette dernière méthode est la plus utilisée car elle est facile de réalisation et convient aux drogues fragiles et riches en huiles essentielles: ce sont les tisanes.

## **2. DESCRIPTION CLINIQUE**

### **2.1.HISTOIRE DE LA MALADIE :**

Le 31/08/2011, 23h30, consultation aux urgences de l'enfant Paq. C. née le 14/08/1999 (12 ans) collégienne, amenée par ses parents pour troubles du comportement.

Cette enfant, actuellement chez sa grand-mère depuis 3 jours, présente depuis 23h00 des accès de paniques avec agitation motrice puis prostration. Il n'est pas retrouvé de notion de traumatisme crânien, ni de prise de toxique.

### **2.2.ANTECEDENTS :**

Ses seuls antécédents personnels sont des douleurs abdominales d'allure fonctionnelles suivies en pédiatrie et étiquetées colopathie fonctionnelle.

### **2.3.EXAMEN CLINIQUE :**

L'examen clinique à l'entrée retrouve une enfant en bon état général pesant 44 kilos pour 1m50, apyrétique (36,3°C).

L'examen cutané retrouve une pâleur diffuse, pas d'hématomes, pas de plaie, les conjonctives sont colorées.

L'examen cardiovasculaire retrouve une tachycardie à 89 battements par minute, une tension artérielle à 117/73, le temps de recoloration cutanée est inférieur à 3 secondes, l'auscultation est régulière sans souffle.

Sur le plan pulmonaire, pas de dyspnée, saturation en oxygène en air ambiant à 100%, l'auscultation est sans anomalie.

L'examen abdominal est sans anomalie hormis un léger empatement de la gouttière colique gauche.

L'examen neurologique retrouve une enfant avec un score de Glasgow 14 (E:4,V:4,M:6), sans déficit sensitivo-moteur. Les réflexes ostéo-tendineux sont vifs symétriques, les réflexes cutanés plantaires sont indifférents, l'examen des paires crâniennes est sans particularité.

Pas de syndrome méningé, de syndrome cérébelleux ni cochléo-vestibulaire.

Sur le plan neuro-psychiatrique: enfant très anxieuse, enveloppée dans un matelas de chaise longue, regardant le sol, les fenêtres, les murs avec perplexité et qui évite le regard des adultes présents dans la pièce. Par moment, elle présente agitation psycho-motrice, se recouvrant de son matelas dans de grands gestes brusques ou sautant de la table d'examen pour se réfugier par terre dans le coin de la salle de soins. Le discours est impénétrable la plupart du temps même si certaines réponses sont adaptées. Elle décrit par ailleurs des hallucinations visuelles à type de zoopsies (araignées géantes, serpents). Le tout entrant dans un tableau de syndrome confusionnel atypique avec quelques éléments persécutifs.

#### **2.4.EXAMENS COMPLEMENTAIRES :**

La biologie réalisée à l'arrivée aux Urgences Pédiatriques retrouve: NFS, bilan ionique, bilan hépatique normaux. CRP négative, VS normale.

La toxicologie sanguine retrouve: éthanol<0,20g/l, barbituriques, tricycliques et benzodiazépines négatifs.

L'Electroencéphalogramme (EEG) réalisé en cours d'hospitalisation alors que l'enfant n'avait pas dormi en raison de son état neuro-psychiatrique, est considéré comme normal, l'analyse est la suivante:

«Tracé caractérisé par une activité de fond alpha à 8-9 hertz, de bonne réactivité visuelle. Nombreuses fluctuations de vigilance venant ralentir de façon globale fréquemment l'examen.

De temps à autre l'on peut émettre un doute sur une discrète prédominance gauche des anomalies au niveau fronto-temporal.

L'hyperpnée fait apparaître en fin d'épreuve quelques bouffées à caractère un peu paroxystique, peut-être un peu trop marqué pour un simple phénomène d'entraînement.

La SLI est correctement tolérée».

## **2.5.HOSPITALISATION :**

Devant ce tableau atypique une hospitalisation est décidée.

Le 01/09/2011 vers 10h00, un nouvel examen clinique est réalisé.

L'enfant semble moins agitée mais regarde toujours les murs avec perplexité, quelques éléments lorsqu'elle se déplace donne l'impression d'un «évitement d'obstacles invisibles».

L'interrogatoire de l'enfant permet de retrouver une objectivité vis-à-vis des hallucinations mais uniquement à postériori.

Un nouvel examen neurologique est réalisé dans l'après-midi du 01/09/2011 qui constate un espacement des hallucinations visuelles décrit comme tel par l'enfant qui réalise deux dessins afin de nous expliquer ses hallucinations.

Une évaluation psychologique est réalisée dans la soirée qui se révèle normale.

Devant la normalité de ces examens, un interrogatoire des parents est de nouveau réalisé.

Ils nous signalent la prise d'infusion de sachets (2 à priori) de boldo Médiflor®, le soir depuis 3 jours dans un but antalgique. La patiente ayant présenté des douleurs abdominales vraisemblablement en rapport avec sa colopathie.

Ne sachant quoi lui donner, la grand-mère de la patiente a demandé conseil à son pharmacien qui lui aurait conseillé la phytothérapie car «sans danger». Les infusions de feuilles de Boldo étant utilisées pour leurs propriétés digestives.

Une rapide recherche bibliographique nous permet de retrouver une non indication chez l'enfant en raison de l'absence de donnée à cet âge de la vie. Par ailleurs de rares effets secondaires à type d'hallucination et dépression sont mentionnés.

La notion de contre-indication chez l'enfant n'est nullement mentionnée sur la boîte (image 1).



Image 1: paquet d'infusion de Boldo Médiflor®, ne mentionnant pas la contre-indication chez l'enfant.

Le 02/09/2011, l'examen de l'enfant est strictement normal avec disparition complète des troubles anxieux et hallucinatoires.

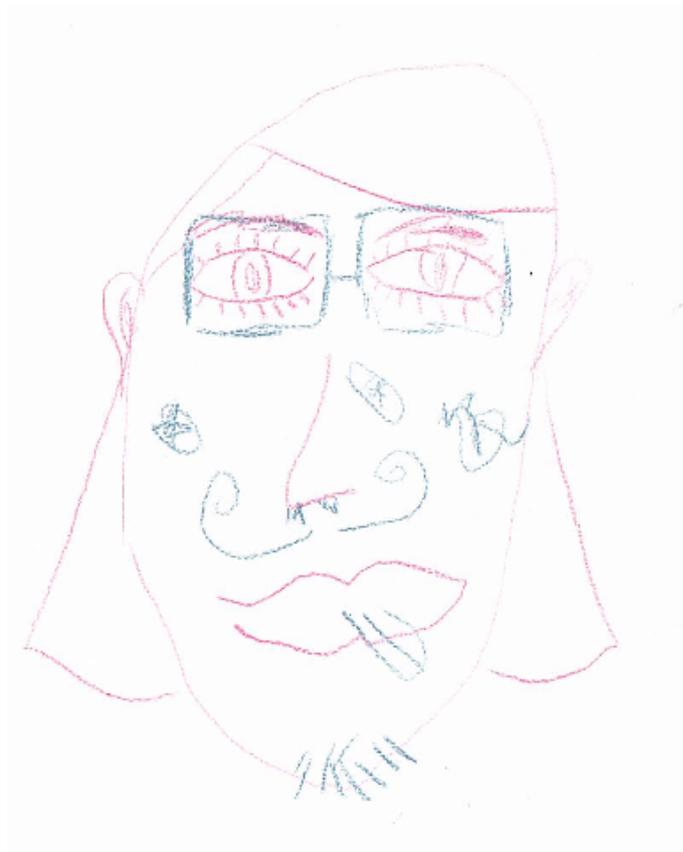
La patiente réalise plusieurs dessins afin de nous expliquer ce qu'elle a vu.

Le premier dessin représentant les hallucinations apparues chez sa grand-mère et motivant la consultation aux urgences (dessin 1), un autre les hallucinations apparues lors de son examen en box d'urgences et représentant un masque porté par l'infirmière (en rose le visage réel de l'infirmière, en vert les éléments en surimpression) (dessin 2), un

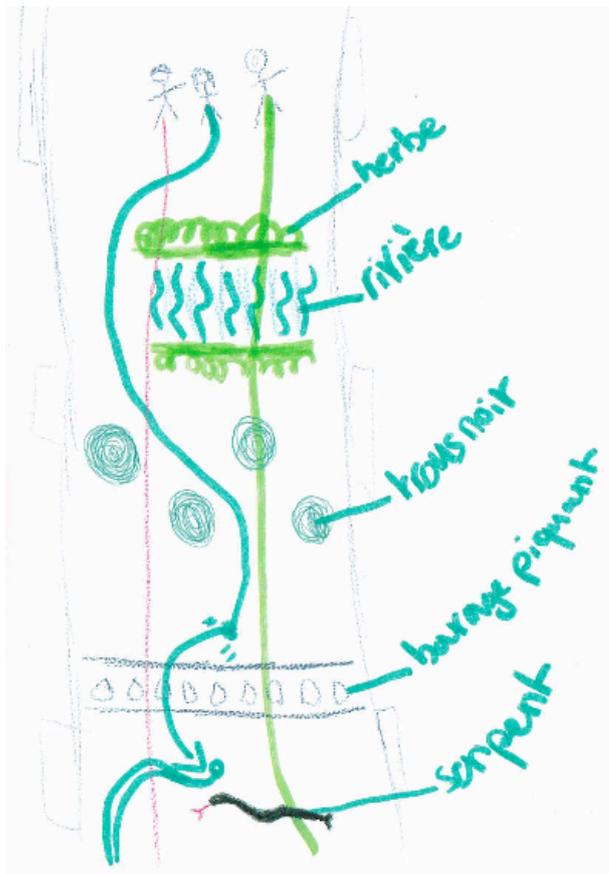
dernier représentant celles survenues le lendemain au moment d'un nouvel examen clinique (dessin 3).



dessin 1: Hallucinations apparues chez sa grand-mère.



dessin 2: Visage de l'infirmière des Urgences Pédiatriques.



dessin 3: Obstacles dans le couloir menant de la salle de jeux à sa chambre.

## **2.6.DIAGNOSTIC :**

Devant la disparition des symptômes, il est décidé de laisser sortir l'enfant.

Le diagnostic proposé est syndrome confusionnel et hallucinatoire sur probable intoxication à la boldo.

Un signalement auprès de la pharmacovigilance est effectué qui retiendra ce diagnostic comme « plausible » en faveur de la responsabilité de la tisane de Boldo du fait notamment de la régression après arrêt du traitement (annexe 1).

### 3. BIBLIOGRAPHIE

#### 3.1 Découverte :

La Boldine principal alcaloïde du Boldo a été mis en évidence en 1872 par Bourgoin et Verne [3].

#### 3.2 Alcaloïdes Aporphinoïdes :

En 1999, J. Bruneton [4] décrit le sous groupe des aporphinoïdes. Il précise qu'à l'heure actuelle seuls deux représentants de ce sous-groupe d'alcaloïdes sont inclus dans des spécialités pharmaceutiques (image 2):

La boldine extraite des feuilles de boldo et l'apomorphine qui n'existe pas à l'état naturel et résulte du traitement à chaud et en milieu acide de la morphine.

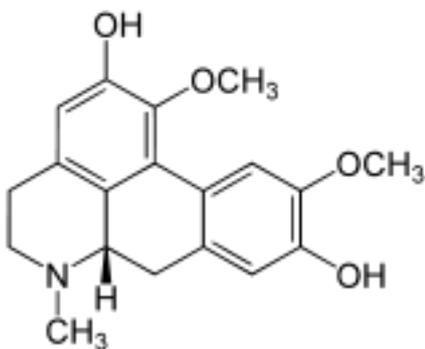
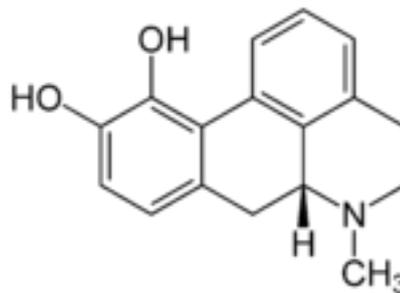


Image 2: Boldine



Apomorphine

L'apomorphine utilisée pour traitée les phases paroxystiques de blocage chez les parkinsoniens traités par Lévodopa est connue pour son action agoniste dopaminergique D2 au niveau nigro-strié. De cette action résulte ses effets secondaires à type d'hallucinations et états psychotiques.

En ce qui concerne la Boldo, Bruneton précise que les propriétés attribuées à la Boldine n'ont fait l'objet d'aucun essai clinique publié.

### **3.3 Propriétés Cliniques de la Boldine :**

Le premier ouvrage mentionnant les effets de la boldine est le Codex Vegetabilis parut en 1957 [5].

Steinmetz mentionnait des effets diurétiques, sédatifs, tonifiants, narcotiques, vermifuges et hépato-stimulants [5]. Les infusions de feuilles de Boldo sont d'ailleurs utilisées en France pour ces propriétés hépato-stimulantes lors de difficultés à digérer.

Pour ce qui est des effets neurologiques, en 2002 Duke fait une revue de la littérature et décrit des effets analgésiques, hypnotiques, narcotiques, sédatifs et stimulants [6].

Cependant aucun des éléments de bibliographie qu'il mentionne ne correspond à une étude de cas précise mais plutôt à des notions de pharmacognosie, c'est-à-dire à l'utilisation de la feuille de Boldo par certaines ethnies de manière traditionnelle.

Seul l'ouvrage de Gruenwald [7] datant de 2007 et cité par Duke, mentionne un cas qualifié «d'ancien» sans référence bibliographique précise, dans lequel avait été décrit des hallucinations visuelles et sonores chez un patient ayant consommé oralement de la Boldo depuis plusieurs mois.

En 2003, Wichtl et Anton mentionnent dans leur livre que les effets faiblement hypnotiques de la Boldine ont été prouvés par Schindler en 1957, malheureusement je n'ai pu me procurer cette étude [1].

En 1988 G. Zetler évalue les effets neuroleptiques, anticonvulsivants et antinociceptifs des alcaloïdes aporphinoïdes que sont la bulbocapnine, la corytuberine, la glaucine et la boldine chez la souris [8]. Il précise que les effets agonistes dopaminergiques de l'apomorphine (aporphinoïde de synthèse) ainsi que ses effets comportementaux de type neuroleptiques et stéréotypiques sont connus et prouvés depuis 1960 sans que des études aient été conduites sur les aporphinoïdes naturels dont la boldine. Il justifie son travail par le fait que de nombreuses études dans les années 1970 ont évoqué la possibilité d'une synthèse de ces composés dans le cerveau de mammifères dans différentes circonstances: alcoolisme, psychoses, traitement par L-dopa dans la maladie de Parkinson.

Le but de cette étude chez la souris vise à comparer les alcaloïdes aporphinoïdes entre eux et les alcaloïdes aporphinoïdes versus halopéridol (Haldol®), en étudiant différents effets (sédatif, anticonvulsivant, induction d'un ptôsis, d'une catalepsie, d'une hypothermie, potentialisation de l'effet barbiturique du thiopental).

Cette étude compare également les effets antinociceptifs des alcaloïdes aporphinoïdes à ceux de la morphine.

Les résultats montrent que la boldine injectée en sous-cutané (SC) est significativement aussi efficace que l'halopéridol (antagoniste dopaminergique) pour induire un ptôsis, une catalepsie et potentialiser l'effet barbiturique du thiopental. Zetler en conclue une affinité de la boldine pour les récepteurs D2-dopaminergique.

La boldine fait également preuve d'un effet anticonvulsivant sur les convulsions induites par les Harmanes ( inhibiteur de la Monoamine Oxydase) et la Picrotoxine (inhibiteur des canaux ioniques gamma-aminobutyriques -GABA-).

Enfin l'effet antinociceptif de la boldine été prouvé sans pour autant atteindre l'efficacité de la morphine.

En 1999, Asencio étudie chez le rat et la souris, les effets de la boldine et de la glaucine administrée par voie Intra-Péritonéale (IP) sur le système dopaminergique [9]. Il conclue que la boldine se fixe sur les récepteurs dopaminergiques D1 et D2 du striatum. Cependant alors que la boldine semble avoir une affinité 10 fois plus élevée que la glaucine in vitro pour les récepteurs à la dopamine, elle inhibe plus faiblement que la glaucine in vivo les récepteurs du striatum et augmente moins que la glaucine le nombre de métabolites de la dopamine.

Asencio émet donc 3 hypothèses pour expliquer ces résultats:

- la boldine du fait de sa structure traverse mal la barrière hémato-méningée
- la boldine est largement métabolisée avant d'avoir atteint le cerveau
- la boldine n'agit pas sur certains sous-types de récepteurs dopaminergiques

### **3.4 Autres Composés de la feuille de Boldo :**

La feuille de Boldo en plus de ses 17 alcaloïdes contient des huiles essentielles de type terpéniques représentant de 1 à 3% du poids de la feuille sèche. Ces huiles essentielles sont constituées pour au moins 30% de composés de type terpéniques que sont l'ascaridole et l'eucalyptol [10].

Or il a été démontré depuis longtemps que les terpènes ont une activité neurotoxique chez l'enfant avec des manifestations de type confusion, irritabilité, hallucination et convulsions. Ces propriétés seraient en partie dues à la liposolubilité de ces produits [11][12][13].

Cependant l'ascaridole et l'eucalyptol ne sont sensés être extraits de la feuille sèche que par distillation à la vapeur d'eau voir par extraction et non par infusion comme la Boldine et ses dérivés aporphinoïdes [10].

## 4. MATERIEL ET METHODE

Envisager la possibilité d'une intoxication à la boldine, impose de prouver que les sachets consommés en contiennent.

### 4.1 Protocole utilisé en chromatographie HPLC (High Pression Chromatography Liquid) :

Un dosage de Boldine dans les sachets commercialisés par Médiflor® a été réalisé dans le laboratoire CNRS UMR 7266 «Littoral ENvironnement et Société (LIENSs)» de l'Université de La Rochelle dirigé par le Professeur Pierre Richard. Les appareils utilisés dépendent de l'équipe AMES «Approches Moléculaires Environnement Santé» dirigé par le Professeur Marianne Graber.

La technique utilisée est inspirée de la publication de T.J Betts dans *Journal of Chromatography* [14].

La Chaîne chromatographique HPLC (High Pression Chromatography Liquid) utilisée était de marque WATERS®, composée d'une pompe 600 Controller, d'un détecteur 2996 Photodiode Array, d'un injecteur automatique 2707 AutoSampler, piloté par un logiciel Empower®. La colonne utilisée est une C6-phényl 5  $\mu$ m (Betts a utilisé une C18 mais cette dernière n'était pas disponible lors de mes tests).

La chromatographie en phase liquide est une méthode d'analyse physico-chimique qui permet de séparer les constituants d'un mélange et d'apporter un premier élément d'identification selon leur temps de rétention.

Les sachets testés sont comme décrits précédemment, sachets de feuilles de Boldo Médiflor® conditionnés en sachet de 1,8 g. La Boldine (sous forme cristallisée liée à une molécule de chloroforme) utilisée comme réactif pour l'étalonnage a été obtenue auprès du laboratoire Sigma-Aldrich (standard).

La solution de Boldine pure utilisée a été obtenue de la manière suivante:

12 mg de Boldine Standard ont été dilués dans 1,2 mL d'acétonitrile ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ), et vortéxé.

1,2 mL d'eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) contenant 1‰ d'acide acétique ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ) ont été ajoutés à la solution précédente afin d'obtenir une solution transparente d'une concentration de 5mg/mL, sans précipité démontrant que le boldine est soluble dans ces conditions.

On réserve (paraffine sur le dessus, aluminium autour du récipient).

L'infusion de feuilles de Boldo est obtenue de la manière suivante:

Infusion d'un sachet de 1,8 g de feuilles de Boldo pendant 15 minutes dans 50 mL d'une eau stérile portée à ébullition.

On réserve (paraffine sur le dessus, aluminium autour du récipient).

#### **4.2 Protocole utilisé en UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) couplée à la Spectrométrie de Masse :**

L'acquisition par le laboratoire de l'Université de La Rochelle d'un nouveau matériel plus performant début 2013 a permis de contrôler la présence de Boldine et de rechercher d'autres composés de type terpéniques dont l'Ascaridole et l'Eucalyptol et ce sans posséder la molécule pure.

Des dosages par spectrométrie de masse ont donc été effectués, du 08 au 12 avril 2013 sur un appareil XEVO G2-S Q Tof de chez Waters®, couplé à une chromatographie liquide de type UPLC ACQUITY-H de chez Waters®.

La spectrométrie de masse est une technique physique permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse sur charge ( $m/z$ ) et de caractériser leur structure chimique par fragmentation. La séparation de molécules chargées en fonction de leur  $m/z$  est réalisée ici par la mesure de leur temps d'atteinte du détecteur ou «Temps de Vol» (TOF).

Pour l'infusion, on a donc procédé comme précédemment, en utilisant un sachet de 1,8 grammes de Boldo médiflor® mis à infuser (avec agitateur) pendant 15 minutes dans 100 mL d'eau déminéralisée portée initialement à 100°C puis laissée à température ambiante. La solution obtenue a été centrifugée à 10000 tours/minute pendant 10 minutes à température ambiante.

Le surnageant a été filtré à 0,2 $\mu$ m, on obtient un filtrat désigné «Filtrat n°1».

Le culot a été jeté.

Le filtrat n'a pas subi d'autre traitement avant injection dans le spectromètre.

## 5. RESULTATS

### 5.1 RESULTATS OBTENUS EN HPLC :

Un premier profil chromatographique est effectué avec 50  $\mu\text{L}$  de la solution standard de Boldine diluée au 1/10ème. On constate l'apparition d'un pic unique à 15,534 minutes pour les longueurs d'ondes de 282 et 302,2 nm, correspondant à 25 $\mu\text{g}$  de Boldine.

On effectue un deuxième profil chromatographique avec 50  $\mu\text{L}$  d'infusion de feuilles de Boldine obtenue comme décrit précédemment. On constate l'apparition d'un pic prédominant à 14,163 minutes pour les longueurs d'onde de 282 et 302,2 nm. (Figure 1 et 2)

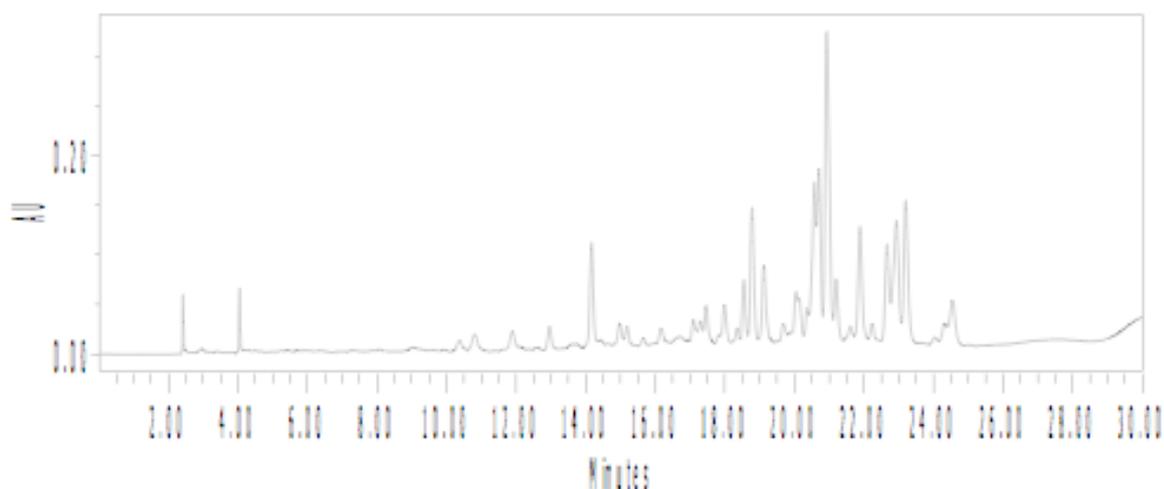


Figure 1: Profil chromatographique de l'infusion de feuilles de Boldo à 302nm.

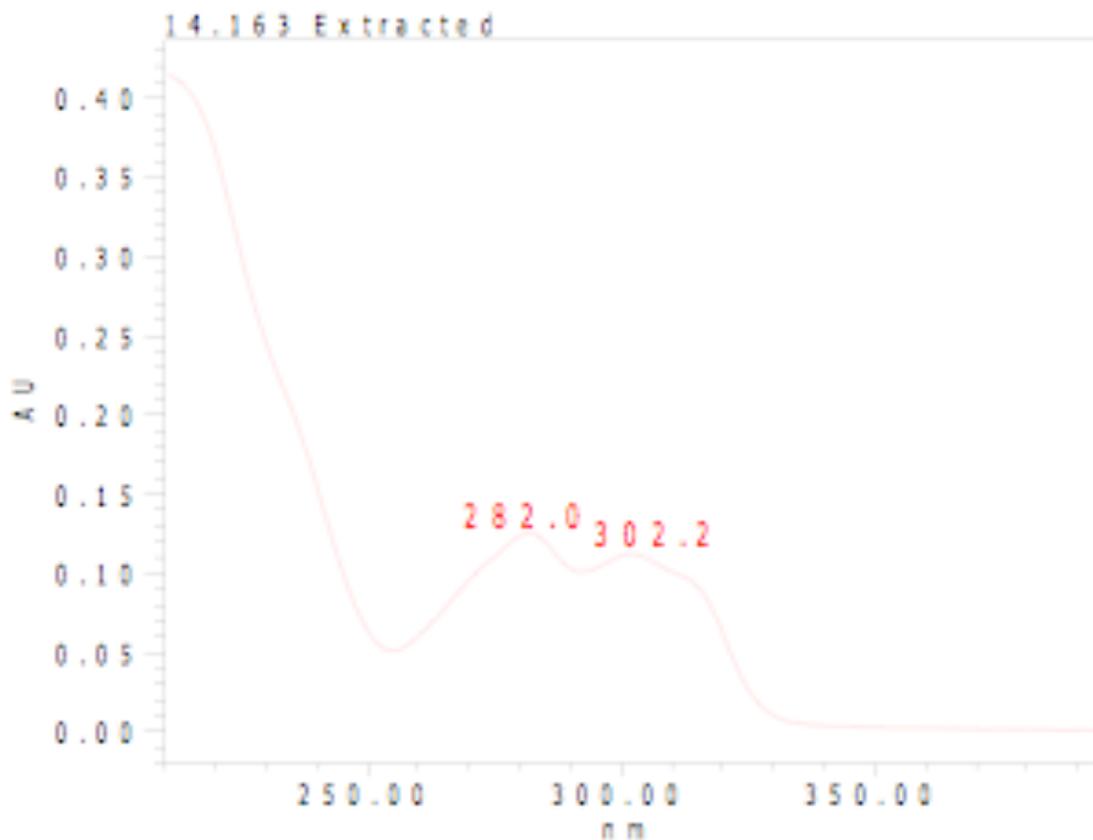


Figure 2: Spectre UV du pic obtenu à 14,163 minutes

La vitesse de migration du pic de Boldine varie de 0,971 minute entre la Boldine pure fournie par Sigma® et la Boldine obtenue par l'infusion de feuille de Boldo Médiflor®, cela s'explique par l'interaction de la Boldine avec les autres composés obtenus par infusion. TJ Betts dans son article décrit le même effet [10].

La présence d'un spectre UV à 282-303nm pour la Boldine pure et l'extrait de Boldo (Figure 2) permet donc de déduire la présence de Boldine dans l'extrait de Boldo.

Cette conclusion a été confirmée par l'utilisation de la spectrométrie de masse.

Une séparation chromatographique a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment. Le spectromètre de masse Agilent 6120 a permis de corréler la présence d'une molécule possédant la même masse/charge (m/z) que la Boldine.

On analyse tout d'abord 5µL d'extrait de Boldine pure, on obtient un spectre de masse avec un pic unique de 328,1 m/z (Figure 3).

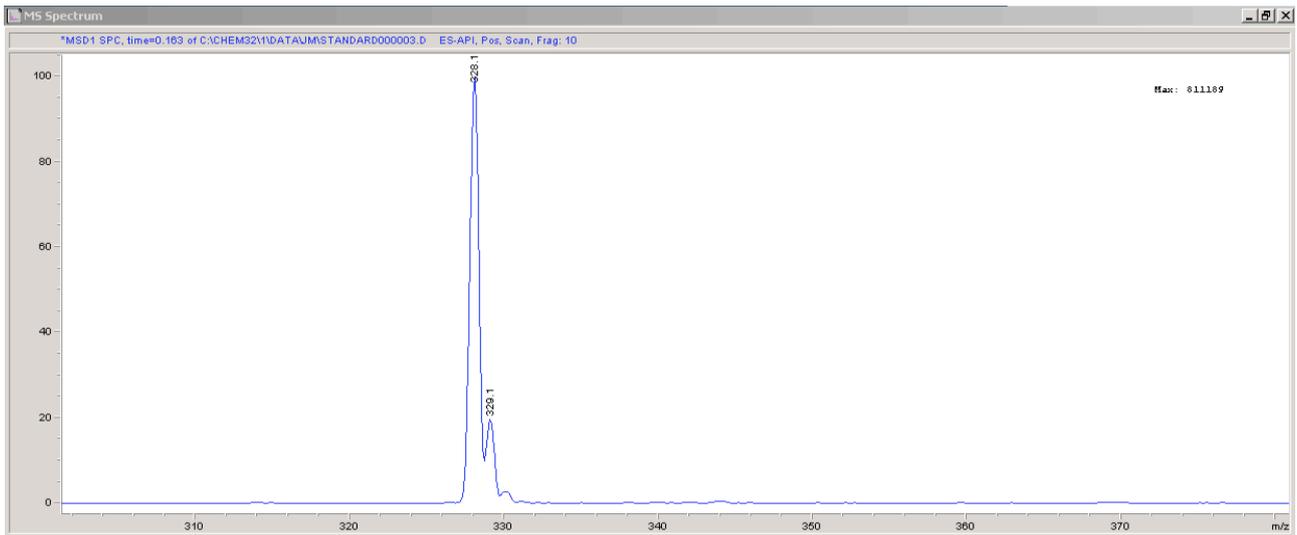


Figure 3: Spectre de masse de la Boldine pure.

On analyse ensuite 5 $\mu$ L d'extrait de 2 sachets de feuilles de Boldo. Le spectre de masse de l'échantillon montre bien une masse de 328,1 m/z correspondant à la molécule de boldine pour un temps de rétention de 19,6 minutes (Figure 4). Ceci est un deuxième argument prouvant la présence de Boldine dans les sachets.

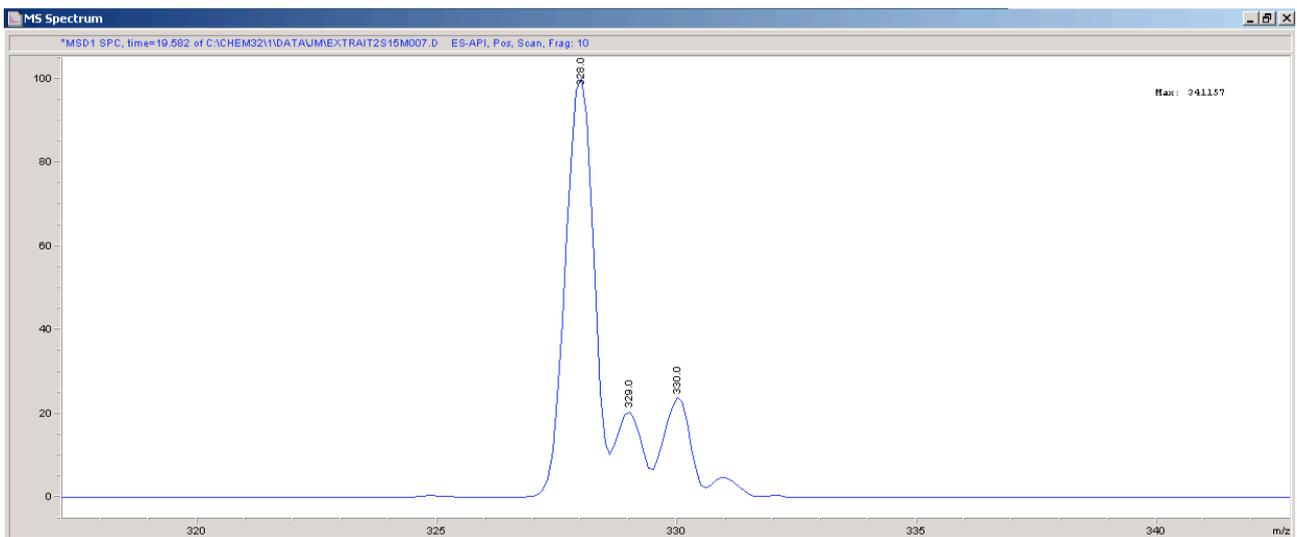


Figure 4: spectre de masse de l'extrait de Boldo.

Détermination de la concentration de Boldine dans l'extrait de Boldo.

La gamme d'étalonnage du standard de la Boldine a été réalisée en injectant différents volumes de la solution de Boldine à 5mg/mL diluée au 1/30e.

La loi de Beer-Lambert permet de calculer la concentration de la Boldine en fonction de l'aire du pic mesurée (Figure 5).

Produit et quantité injectée	Aire du Pic ( $\mu\text{V}/\text{sec}$ )	Hauteur ( $\mu\text{V}$ )
Réactif pur dilué au 1/30: 5 $\mu\text{l}$	2042539	292997
Réactif pur dilué au 1/30: 10 $\mu\text{l}$	4341801	597952
Réactif pur dilué au 1/30: 15 $\mu\text{l}$	6678412	893053
Réactif pur dilué au 1/30: 20 $\mu\text{l}$	10616602	751723
Réactif pur dilué au 1/30: 25 $\mu\text{l}$	11233453	1361777
Réactif pur dilué au 1/30: 30 $\mu\text{l}$	13565327	1607256
Extrait 1 sachet infusé 12 heures: 30 $\mu\text{l}$	pas de pic précis	
Extrait 1 sachet infusé 15 minutes: 30 $\mu\text{l}$	827870	108979
Extrait 2 sachets infusés 15 minutes: 30 $\mu\text{l}$	2022656	280934

Figure 5: Aire du pic en fonction de la quantité de Boldine injectée

De ces résultats peut être déduit une fonction linéaire prenant pour abscisse la quantité de Boldine en microgrammes ( $\mu\text{g}$ ) et pour ordonnée l'aire du pic en  $\mu\text{V}/\text{sec}$  (Figure 6).

Quantité ( $\mu\text{gr}$ )	Aire du pic ( $\mu\text{V}/\text{sec}$ )
0	0
0,83	2042539
1,67	4341801
2,5	6678412
3,33	10616602
4,17	11233453
5	13565327

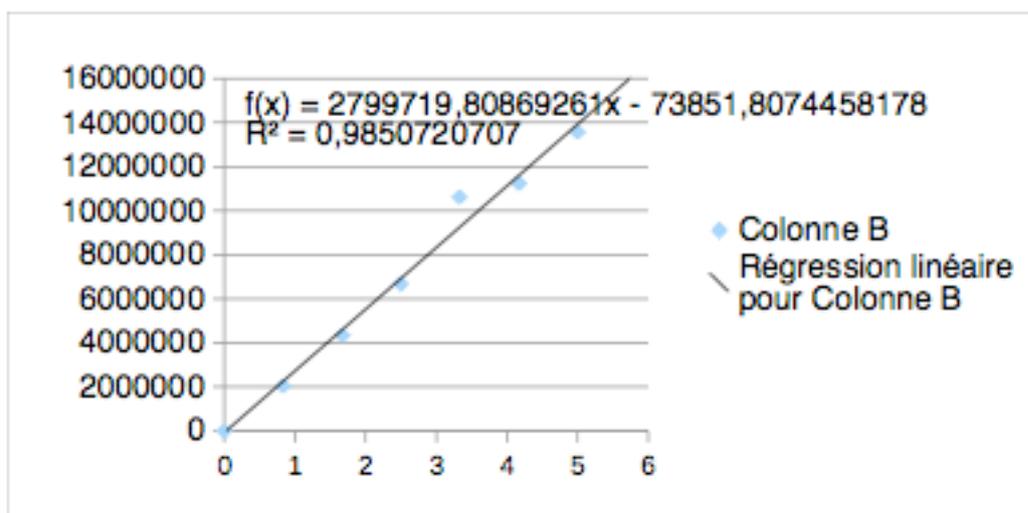


Figure 6 : fonction mettant en relation quantité de produit et aire du pic.

La fonction permettant de mettre en relation la quantité de Boldine avec l'aire de son pic est  $f(x)=2799719,81x - 73851,81$ .

Nous avons déterminé l'aire du pic de Boldine dans l'extrait de Boldo: 2022656  $\mu\text{V}/\text{sec}$ .

Grâce à la fonction, on calcule la quantité présente dans les 30  $\mu\text{L}$ : 0,6961  $\mu\text{g}$ .

On peut en déduire ainsi la concentration qui est de 0,0232  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ .

Dans l'extrait de Boldo (50 mL), 1,16 mg de Boldine sont présentes pour deux sachets infusés (3,6 g de feuilles de Boldo séchées).

La patiente consommait 2 sachets par soir soit 1,16 mg de Boldine par jour pendant 3 jours consécutifs.

## **5.2 RESULTATS OBTENUS EN UPLC COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE**

-Etude du filtrat et du standard de la Boldine en infusion directe:

La méthode n'utilise pas de présélection de molécule.

La méthode d'acquisition est de type «MS simple» toutes les deux minutes en Polarité Positive sur une gamme de masse de 100 à 1000 Dalton (Da).

Application d'une correction toutes les secondes grâce au «LockSpray»(la Leucine Enkephaline d'un poids de 556,2771 Da).

On obtient le résultat suivant (Figure 7):

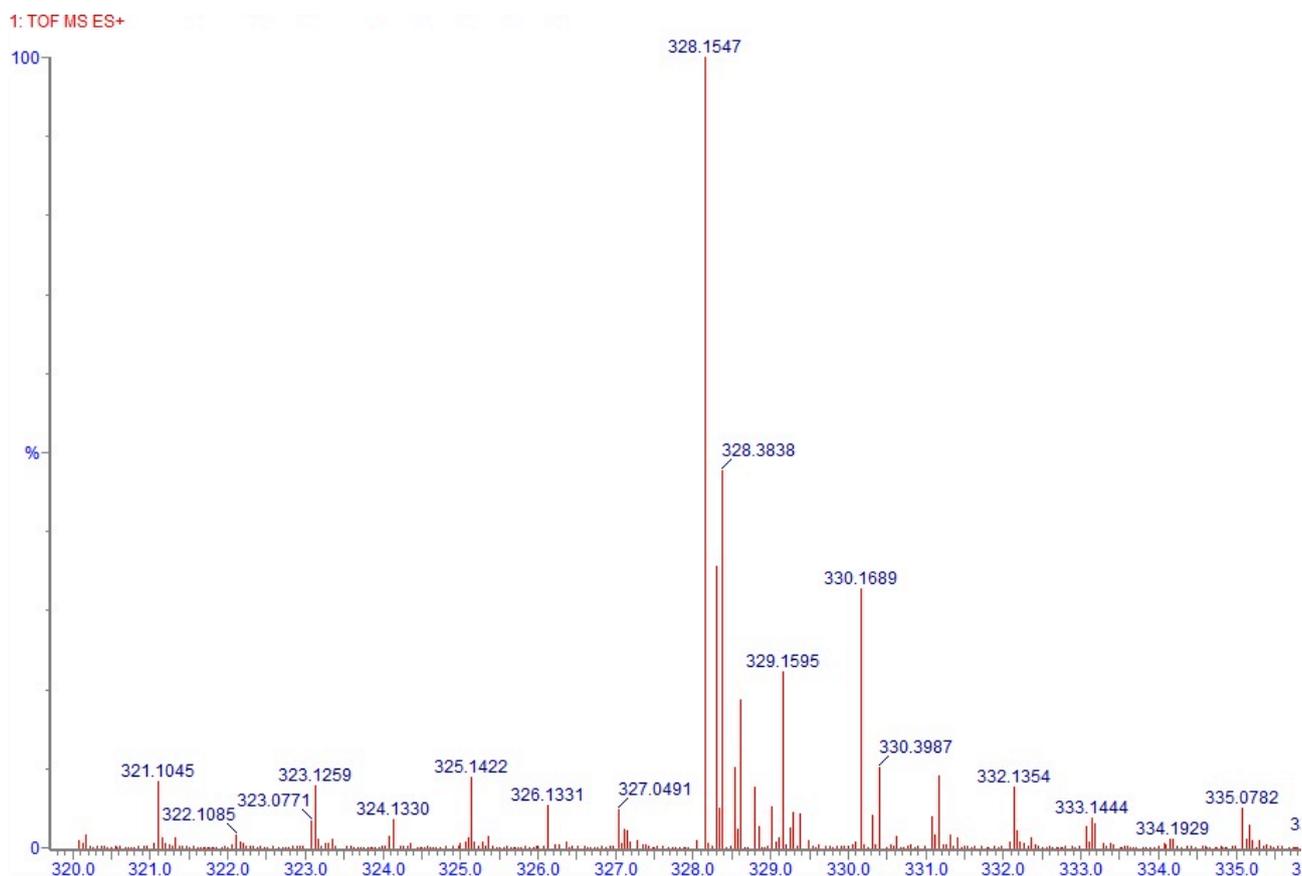


Figure 7: Spectre MS en mode positif du filtrat N°1 centré sur la Boldine (intensité du pic  $5,26 \cdot 10^7$ )

La première proposition de composition Élémentaire proposée par la machine en prenant en compte l'ion parent pour le pic obtenu à la masse de 328,1549 Da +/- 0,9 mDa (masse correspondant à la Boldine + H<sup>+</sup>) est C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>4</sub> (Figure 8) soit la formule de la molécule de Boldine + H<sup>+</sup> avec un pourcentage de confiance de 15,28%.

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	Na	K
328.1547	328.1549	-0.2	-0.6	9.5	C19 H22 N O4	1234.4	1.879	15.28	19	22	1	4		
	328.1562	-1.5	-4.6	14.5	C20 H18 N5	1234.5	1.955	14.15	20	18	5			
	328.1525	2.2	6.7	6.5	C17 H23 N O4 Na	1234.6	2.044	12.95	17	23	1	4	1	
	328.1538	0.9	2.7	11.5	C18 H19 N5 Na	1234.6	2.068	12.64	18	19	5		1	
	328.1522	2.5	7.6	10.5	C15 H18 N7 O2	1235.0	2.454	8.59	15	18	7	2		
	328.1498	4.9	14.9	7.5	C13 H19 N7 O2 Na	1235.2	2.660	7.00	13	19	7	2	1	
	328.1594	-4.7	-14.3	6.5	C9 H18 N11 O3	1235.6	3.116	4.43	9	18	11	3		

Figure 8: Proposition de formule brute pour la masse (m+H) de 328,1549 Da +/- 0,9 mDa.

La proposition du spectromètre pour le pic (figure 9) de 314,1399 Da +/- 0,9 mDa (masse correspondant à la Norboldine + H<sup>+</sup>) est C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub> (Figure 10) soit la formule de la molécule de Norboldine + H<sup>+</sup> avec un pourcentage de confiance de 45,74%.

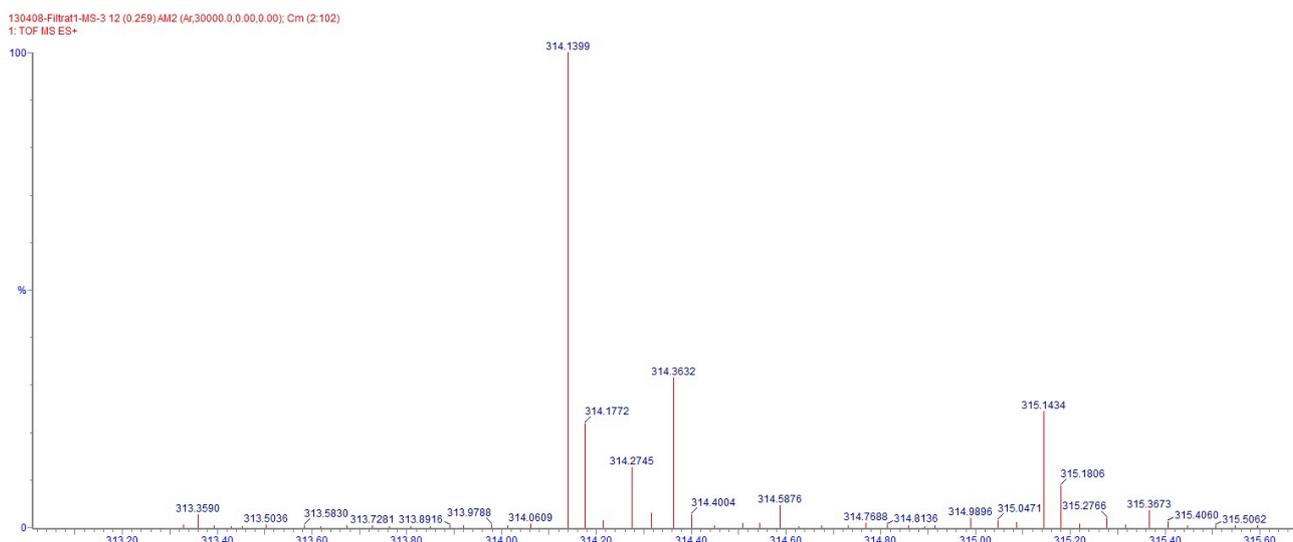


Figure 9: Spectre MS en mode positif du filtrat N°1 centré sur la Norboldine (intensité du pic à  $1,59 \cdot 10^7$ ).

Elements Used:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	Na	K
314.1399	314.1392	0.7	2.2	9.5	C18 H20 N O4	1009.0	0.782	45.74	18	20	1	4		
	314.1406	-0.7	-2.2	14.5	C19 H16 N5	1009.8	1.651	19.18	19	16	5			
	314.1382	1.7	5.4	11.5	C17 H17 N5 Na	1010.2	2.028	13.16	17	17	5		1	
	314.1368	3.1	9.9	6.5	C16 H21 N O4 Na	1010.2	2.048	12.91	16	21	1	4	1	
	314.1365	3.4	10.8	10.5	C14 H16 N7 O2	1011.6	3.444	3.19	14	16	7	2		
	314.1383	1.6	5.1	6.5	C14 H21 N5 O K	1011.9	3.697	2.48	14	21	5	1		1
	314.1438	-3.9	-12.4	6.5	C8 H16 N11 O3	1012.8	4.651	0.95	8	16	11	3		

Figure 10: Proposition de formule brute pour la masse de 314,1399 Da +/- 0,9 mDa.

On refait une acquisition selon le mode «MS simple» de deux minutes en Polarité Négative sur la même gamme de masse. La correction est appliquée toutes les secondes avec le «LockSpray» (Leucine Enkephaline à 554,2615 Da).

Visuellement il n'apparaît pas de pic à 326,3743 Da, ce qui nous permet de conclure que la Boldine ne se ionise pas en mode négatif dans les conditions étudiées.

On refait les acquisitions en polarité positive et négative encore deux fois pour voir si elles sont répétables, ce qui est le cas.

Il n'est pas noté de pic en mode positif et négatif autour de 168,23284 Da, masse correspondant à l'Ascaridole, ni à 154,2493 Da, masse de l'Eucalyptol écartant fortement la probabilité d'extraction de ces terpènes par infusion.

-Etude du filtrat et du standard de la Boldine en UPLC-MS:

On recrée un Standard de la Boldine en diluant de la Boldine pure de chez Aldrich dans de l'éthanol permettant d'obtenir une solution à la concentration de 133 pg/ $\mu$ L de Boldine dénommée Standard de la Boldine.

On effectue un premier profil chromatographique sur le matériel décrit précédemment couplé à une Colonne C<sub>18</sub> avec des particules de 1,7  $\mu$ m de taille 2,1x50 mm, avec 5  $\mu$ L de Standard de la Boldine permettant d'obtenir un temps de rétention de la Boldine qui dans ces conditions (en positif) est de 1,67 min, corrélé à la masse donnée par le spectromètre de masse soit 328,1544 Da +/- 0,9 mDa (M+H<sup>+</sup>) (Figure 11).

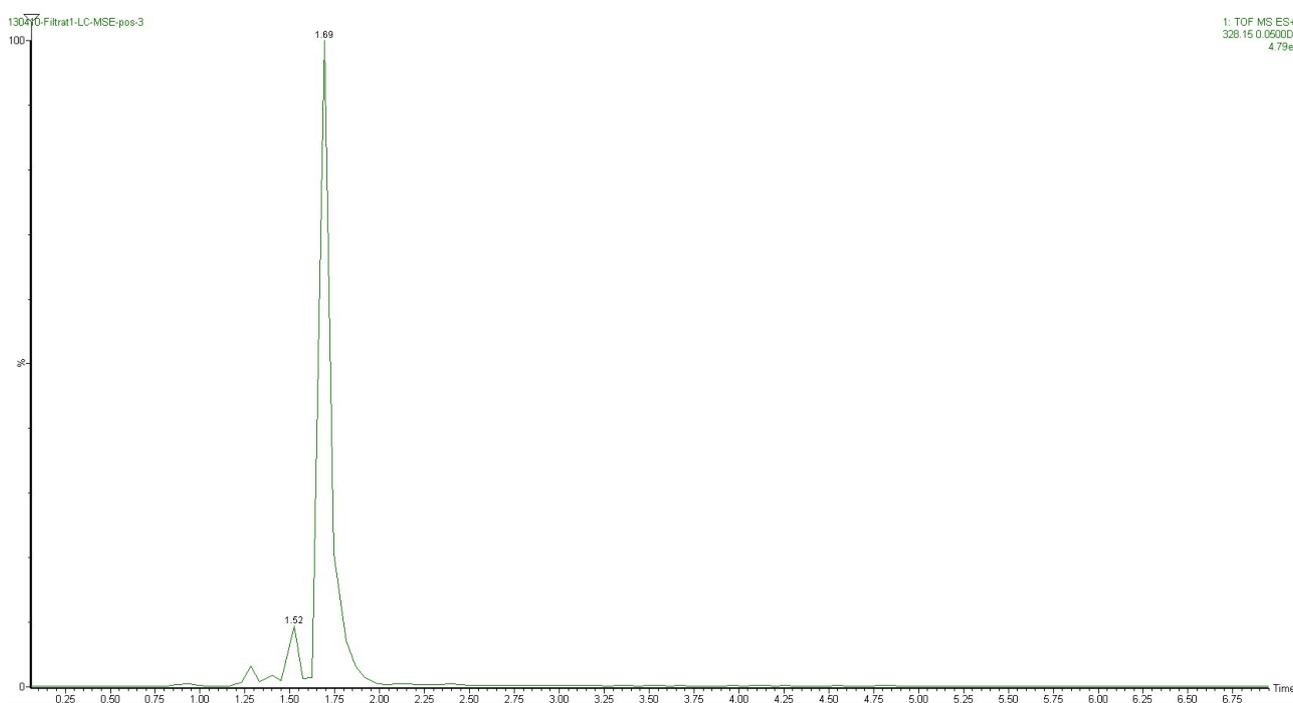


Figure 11: Profil chromatographique du standard de Boldine à la masse de la Boldine.

On effectue ensuite un profil chromatographique avec 5  $\mu$ L du filtrat N°1 obtenu par infusion de Boldo dans 100mL d'eau. Le profil chromatographique obtenu retrouve plusieurs pics dont un à 1,67 min pour lequel le spectromètre de masse annonce 328,1544 Da +/- 0,9 mDa (Figure 12).

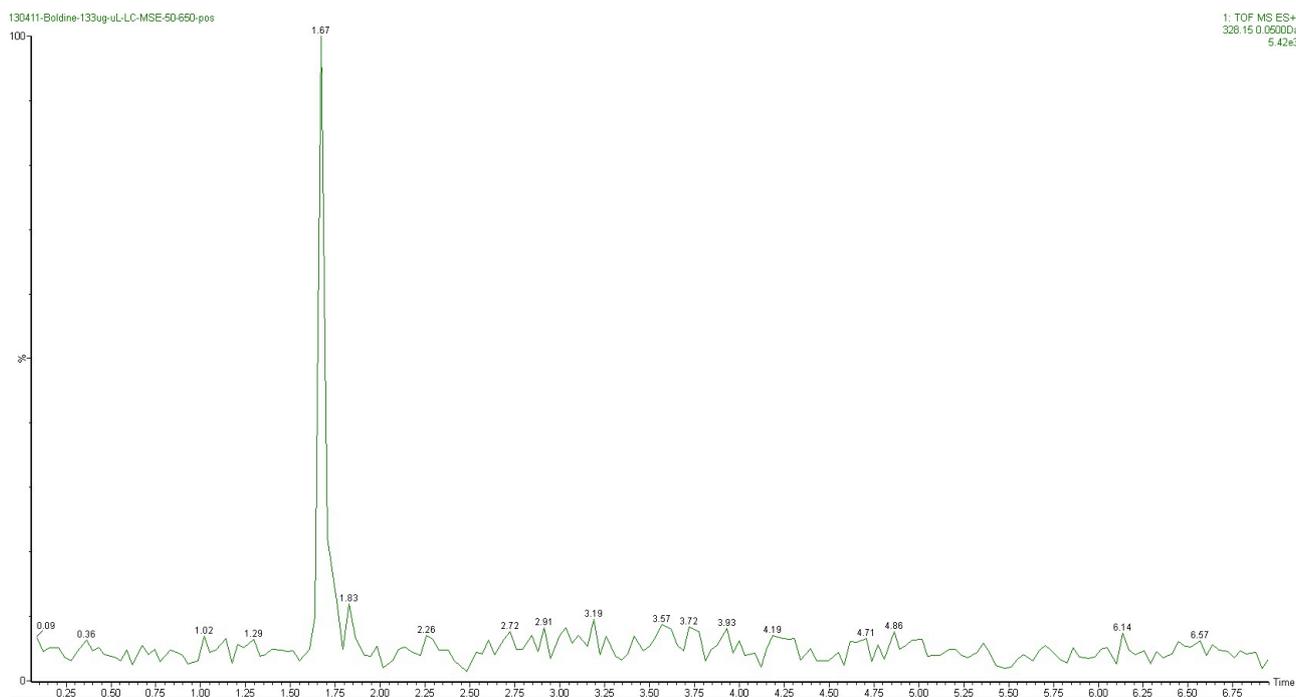


Figure 12: Profil chromatographique du filtrat N°1 à la masse de la Boldine.

Le pic obtenu peut donc être considéré comme de la Boldine.

Ne retrouvant pas en spectrométrie de masse de pics correspondants à l'ascaridole et à l'eucalyptol dans le filtrat N°1, on décide de procéder de la façon suivante:

-Concentrer l'infusion de Boldo en mettant 3 sachets de Boldo à infuser dans 100 mL d'eau pure porter à 100°C (dénommée solution 3S).

Il a donc été procédé comme avec le filtrat N°1 en injectant 5µL de solution 3S dans le chromatographe afin de séparer les molécules. Il a ensuite été procédé à une analyse en spectrométrie de masse afin de rechercher la masse de l'ascaridole (168,1128 m/z) et de l'eucalyptol (154,1493 m/z) sur l'un des pics. Aucun des pics mis en évidence n'est significatif pour ces masses (Figure 13) . Nous en déduisons qu'il n'y a pas d'extraction de l'ascaridole et de l'eucalyptol par infusion en milieu aqueux dans les conditions testées.

Ce qui semble logique, ces terpènes étant plutôt extrait en milieu alcoolique.

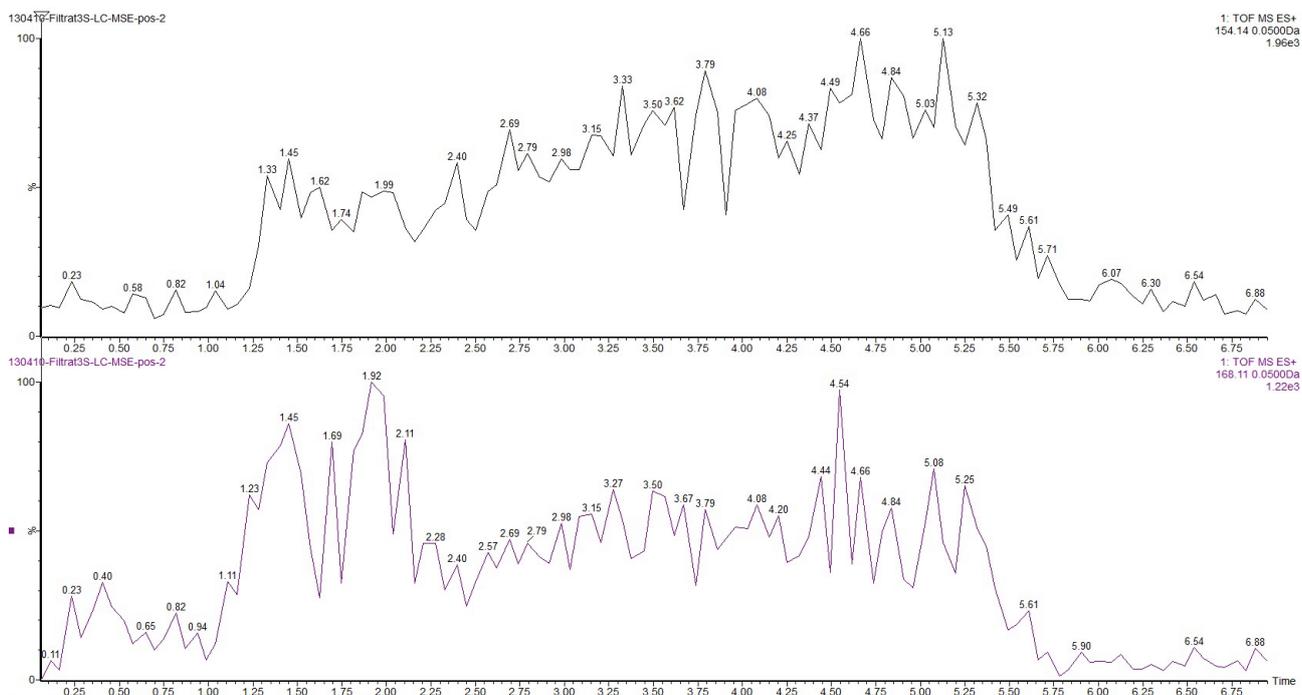


Figure 13: Correspondance de pic en fonction de la masse de l'eucalyptol (spectre du haut) et de l'ascaridole (spectre du bas).

-Procéder à une extraction alcoolique à froid par infusion d'un sachet dans 100 mL l'éthanol pur pendant 15 minutes (dénommé Solution OH) afin d'affirmer ou infirmer la présence de ces terpènes dans les feuilles de Boldo. Les terpènes ayant une plus forte solubilité dans l'alcool que dans l'eau.

On injecte 5 $\mu$ L de Solution OH dans le chromatographe puis on procède à la même recherche de masse que précédemment.

Les conclusions pour la solution OH sont identiques à la solution 3S (Figure 13). Ce qui démontre que soit l'on n'a pas réussi à extraire ces terpènes dans les conditions précisées ci-dessus, soit les concentrations sont trop faibles pour que le spectromètre de masse les détecte, soit qu'il n'y a pas d'eucalyptol et d'ascaridole dans les feuilles de Boldo utilisées par Médiflor®.

Toutefois, on notera que l'extraction alcoolique a permis d'obtenir de la boldine.

## **6. DISCUSSION**

### **6.1 ELEMENTS POUVANT REMETTRE EN QUESTION UN LIEN DE CAUSE A EFFET ENTRE BOLDO ET EFFETS NEURO-PSYCHIATRIQUES :**

#### **6.1.1 Résultats obtenus en laboratoire :**

Les résultats obtenus en laboratoire montrent la présence de 1,16 mg de Boldine pour deux sachets de feuilles de Boldo Médiflor infusés. Ce qui correspond chez cette patiente à une dose journalière de 26  $\mu\text{g}/\text{kg}$  administrée per os. Or les effets neuroleptiques obtenus par Zetler chez la souris [8], le sont par administration SC pour des doses allant de 1,5 mg/kg pour obtenir la catalepsie à 23 mg/kg pour potentialiser l'effet du Thiopental. Aucune publication n'a été retrouvée avec une administration orale de Boldine. Le passage hépatique suivant l'administration orale de Boldine laisse penser que pour obtenir des effets neuroleptiques, des doses beaucoup plus importantes de Boldine devraient être administrées du fait d'un possible métabolisme hépatique.

Les tests effectués en spectrométrie de masse n'ont pas permis de mettre en évidence d'extraction d'Ascaridole par infusion de sachets de Boldo pendant 15 minutes. Cependant la patiente avait semble-t-il consommé les tisanes après infusion des sachets de Boldo sur une durée plus importante. Nos tests de 15 minutes pourraient être insuffisants car ne reproduiraient peut-être pas les conditions exactes d'infusion avant consommation et ne permettraient donc pas d'exclure formellement une très faible extraction d'ascaridole. En sachant toutefois que l'extraction optimale d'huile essentielle telle que l'Ascaridole se fait par percolation et non infusion.

#### **6.1.2 La Clinique :**

La sémiologie psychiatrique peut également laisser un doute quant à la survenue d'un épisode de Bouffée Délirante Aigüe (BDA). Pour cette observation clinique, qualifiée de «syndrome confusionnel atypique avec quelques éléments persécutifs», nombre de symptômes correspondent à une BDA. L'apparition brutale des symptômes, les hallucinations psycho-sensorielles riches, la conviction délirante totale au moment de l'apparition des hallucinations, l'humeur labile sont compatibles avec une BDA. Cependant

l'absence d'automatisme mental (pensée imposée ou volée), de dépersonnalisation, de thèmes multiples, la disparition des symptômes en moins d'une semaine sans traitement neuroleptiques écartent très probablement ce diagnostic.

D'autres troubles psychiatriques auraient pu être évoqués mais l'absence de récurrence à un an rend cet aspect diagnostique improbable.

### **6.1.3 Les Examens Complémentaires :**

Lors de l'hospitalisation de la patiente, seuls les toxiques tels que l'éthanol, les tricycliques, les barbituriques et les anxiolytiques ont été recherchés. Il n'a été fait aucun dosage des toxiques de type cannabis, cocaïne et héroïne. Toutefois, 3 arguments peuvent être avancés contre l'hypothèse de la responsabilité de tels toxiques dans le cas de cette patiente :

-premièrement la patiente ne présentait qu'un signe d'imprégnation cannabinoïde: la tachycardie. Il n'y avait pas de mydriase, pas d'hypertension artérielle, pas d'hyperhémie conjonctivale, pas d'hyperphagie, pas de sécheresse buccale. Ceci rend peu probable cliniquement l'intoxication cannabique.

-deuxièmement la tranche d'âge de la patiente rendant statistiquement peu probable ce type de consommation

-troisièmement le fait que les symptômes soient apparus en fin de journée alors que l'enfant était restée en permanence avec sa grand-mère.

Par ailleurs, une fois la suspicion d'intoxication à la Boldo établie, soit à 48 heures du début d'apparition des symptômes et alors que ces derniers avaient quasiment disparus, aucun dosage de boldine ou d'ascaridole dans le sang ou les urines n'a été effectué. Mais ces toxiques ne sont pas dosables en routine et malheureusement aucun prélèvement de sang et/ou d'urines n'a été conservé.

### **6.1.4 La «Boldoflorine» :**

La pauvreté des cas rapportés d'intoxication au Boldo peut aussi faire discuter le lien de cause à effet entre consommation de Boldo et symptômes neuropsychiatriques chez notre patiente. Le Boldo qui est consommé en France depuis maintenant 80 ans au travers initialement de la Boldoflorine®, n'a pas donné lieu au signalement d'effets secondaires d'ordre neurologique ni d'ailleurs d'aucun autre effet indésirable. Cependant les sachets

de Boldoflorine® sont une association de Boldo, Séné, Bourdaine et Romarin avec seulement 105mg de feuille de Boldo soit 15 fois moins que dans les sachets consommés par la patiente.

Par ailleurs, l'utilisation de la phytothérapie sous forme d'infusion, n'est pas une pratique majeure en France. Au sein même des patients ayant consommé de la Boldo, le nombre d'enfants est probablement faible, la consommation de tisane en pédiatrie étant peu répandue.

## **6.2 ARGUMENTS EN FAVEUR D'UN LIEN DE CAUSE A EFFET ENTRE CONSOMMATION DE BOLDO ET EFFETS NEURO-PSYCHIATRIQUES :**

### **6.2.1 Présence de plusieurs molécules à noyau aporphine et noraporphine :**

On sait que la feuille de Boldo contient 17 alcaloïdes dont 5 de type aporphine, Boldine comprise, et 3 molécules de type noraporphine dont la Norboldine [15]. La Boldine et la Norboldine diffèrent seulement par la substitution du groupement méthyl par un atome d'hydrogène au niveau de l'azote (image 3).

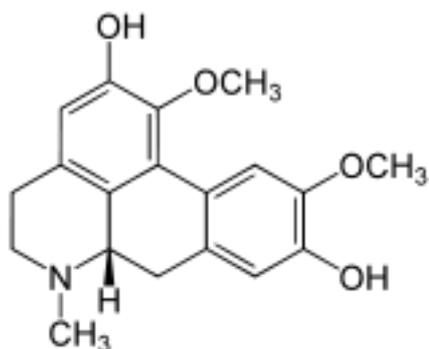
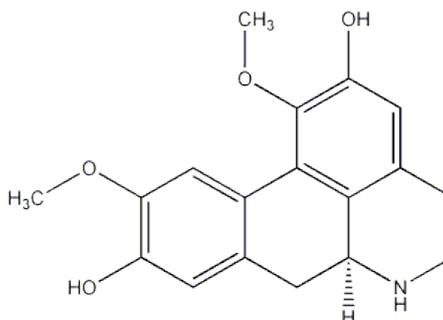


Image 3: Boldine



Norboldine

Toutes ces molécules possèdent donc le même type de noyau aporphine (image 4) qui semble responsable, pour la Boldine notamment, de la forte affinité de celle-ci in vitro pour les récepteurs D1 et D2 dopaminergiques du striatum.

D'après Asencio chez la souris et après injection intra-péritonéale de Boldine, cette dernière à concentration sanguine suffisante est un antagoniste des récepteurs dopaminergiques centraux avec effets neuroleptiques. Et serait agoniste dopaminergique partiel à faible concentration sanguine. Ceci pouvant peut-être expliquer les symptômes neuro-psychiatriques constatés chez notre patiente.

Par ailleurs, d'après Zetler, chez la souris après injection SC de Boldine, on observe des effets centraux (neuroleptiques, anti-convulsivants, analgésiques). La Boldine se comportant comme un agoniste ou antagoniste partiel de la morphine en fonction des concentrations sanguines.

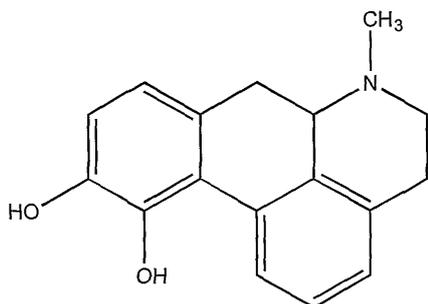


Image 4: Noyau Aporphine

En laboratoire, nous avons mis en évidence par spectrométrie de masse dans les infusions de Boldo la présence de Boldine et de Norboldine, l'intensité du pic de la Norboldine représentant un tiers du pic de la Boldine. Or l'intensité du pic étant corrélée à la concentration de la molécule, nous pouvons en déduire que la concentration en principe actif aporphinique est au moins d'un tiers supérieure à la concentration de Boldine calculée. A cela viennent s'ajouter les six autres molécules aporphines et noraporphines non quantifiées (isoboldine, isocorydine, N-oxyisocorydine, N-méthyllaurotétanine, norisocorydine, laurotétanine). Il est donc avéré que si l'on ne prend en compte que la Boldine, on sous-estime la concentration en principe actif alcaloïde obtenu par infusion de la feuille de Boldo.

Par ailleurs, parmi les alcaloïdes présents dans les infusions de boldo, certaines molécules, qui prisent individuellement n'ont pas d'activité neurologique évidente, pourraient potentialiser l'effet d'autres molécules, et notamment celle de la Boldine.

Enfin, Asencio dans son article sur l'affinité de la Boldine pour les récepteurs dopaminergiques évoque une possible inaction de cette dernière sur certains sous-groupe de récepteurs [9]. Les multiples molécules à noyau aporphine présentes dans l'infusion de feuille de Boldo pourraient palier à cette inaction.

En plus des 17 alcaloïdes présents dans la feuilles de Boldo, on retrouve aussi 15 huiles essentielles de type terpénique (Ascaridole et Eucalyptol étant majoritaires), un hétéroside mal défini: la Boldoglucine auxquels viennent s'ajouter des tanins, des acides organiques et des matières minérales.

Hors, les dérivés terpéniques ont aussi des effets neurotoxiques prouvés.

Ce ne serait donc peut-être pas l'action isolée de la Boldine qui devrait être incriminée pour expliquer les effets secondaires observés chez notre patiente après consommation de tisanes de Boldo.

### **6.2.2 Cas non publiés :**

Les indiens Mapuches, communauté aborigène du centre du Chili, utilisent dans leur rites chamaniques des encens à base de Cannelle et de Boldo qui sont inhalés par le «Machi» (chaman Mapuche). L'essentiel de la culture étant basé sur la communication avec les esprits de la nature, la richesse des hallucinations visuelles est primordiale dans la sélection du produit utilisé de façon rituel. Rätsch pense que cet effet est lié à la structure aporphine de la Boldine. Pour cette hypothèse, il fait le parallèle entre la fleur du Lotus Blanc (*Nymphaea Ampla*) ingérée par les civilisations précolombiennes dans leur rites chamaniques puis par les Hippies installés au Chiapas dans les années 1960 . Il explique que le principe actif, présent dans cette plante est une molécule à noyau aporphine proche de la Boldine et attribue donc les effets de ces encens Mapuches à la Boldo [16].

Le Physicians' Desk Reference® (PDR®) sorte de Vidal® américain ainsi que Duke mentionnent aussi dans leur fiches respectives sur la Boldo, un cas d'hallucinations visuelles et auditives ainsi que d'aphasie motrice partielle suite à la consommation orale de Boldo pendant plusieurs mois. Ce cas est décrit dans «de la vieille littérature scientifique» mais la source précise n'est pas mentionnée [6][7].

### **6.2.3 Particularité de la Patiente :**

Bien que l'utilisation d'infusion de feuille de Boldo soit sans doute rare chez l'enfant, l'EMA dans son rapport de 2009 déconseille cette utilisation chez l'enfant du fait d'un manque de publications sur le sujet [17]. En effet la physiologie de l'enfant n'est pas comparable à celle de l'adulte et les données concernant la consommation de Boldo chez l'adulte ne peuvent être transposées telles quelles chez l'enfant. La patiente était âgée de

12 ans, mesurait 1m50 pour 44 kg (Indice de Masse Corporelle (IMC) à 19,6 kg/m<sup>2</sup> soit le 80ème percentile). Elle présentait un stade de puberté Tanner 1 soit au tout début de sa puberté.

Les hypothèses émises par Asencio pour expliquer le peu de cas d'effets neurologiques rapportés dans la littérature concernant des personnes ayant consommées des infusions de Boldo sont:

- le faible passage de la barrière hémato-méningée
- le fort métabolisme avant d'atteindre le cerveau
- l'inaction de la Boldine sur certains sous-groupes de récepteurs.

Toutefois, dans l'observation que nous rapportons, la symptomatologie neuropsychiatrique pourrait s'expliquer par une hypersensibilité individuelle particulière des récepteurs dopaminergiques de notre patiente à la Boldine.

#### **6.2.4 Cinétique de dégression des symptômes :**

Dans notre observation clinique, la chronologie (horaires d'apparition et de disparition des symptômes) est également un argument en faveur de l'imputabilité des hallucinations à la consommation de tisane de Boldo. Les hallucinations ont commencé 4 heures après la dernière prise de tisane et ce en dehors de toute autre prise médicamenteuse pour céder après 48 heures d'hospitalisation sans aucun traitement. La Pharmacovigilance du CHU de Poitiers auprès de laquelle un signalement avait été effectué a d'ailleurs retenu le cas comme probable principalement pour cette raison (annexe 1). Ce cas a ainsi donné lieu à un poster et une communication orale lors du 7ème congrès de Physiologie, Pharmacologie et Thérapeutique qui s'est tenu à Dijon du 4 au 6 Avril 2012 (annexe 2).

## 7. Conclusion

Bien que peu de publications incriminent la feuille de Boldo pour ses effets neurologiques indésirables chez les consommateurs, son implication dans ce cas pédiatrique apparaît très probable.

La forte affinité de la Boldine pour les récepteurs dopaminergiques D1 et D2 du striatum in vitro chez la souris, les effets neuroleptiques, anticonvulsivants et antinociceptifs de la boldine rapportés in vivo chez la souris, permettent d'incriminer cet alcaloïde majeur de la feuille de Boldo pour expliquer la symptomatologie neuro-psychiatrique constatée dans notre observation.

En laboratoire, l'analyse après infusion des sachets de feuille de Boldo a permis de mettre en évidence de la Boldine en quantité non négligeable mais également d'autres molécules à noyau aporphine telle la Norboldine dont on sait également son affinité pour les récepteurs dopaminergiques.

La mise en évidence d'autres pics non identifiés en UPLC et spectrométrie de masse, montre que l'infusion de feuille de Boldo permet l'extraction de nombreuses molécules dont certaines sont peut-être neurotoxiques.

La spécificité physiologique de notre patiente, âgée de 12 ans est également à prendre en compte, l'administration de cette plante étant déconseillée chez l'enfant.

Enfin la possibilité d'une sensibilité individuelle particulière à la Boldine pourrait expliquer le tableau clinique présenté par la patiente.

La phytothérapie, notamment en automédication et chez l'enfant, doit être utilisée avec prudence. Il semble nécessaire de ne pas recommander l'administration orale d'infusions de feuilles de Boldo chez l'enfant du fait d'effets secondaires neuro-psychiatriques possibles.

## 8. Bibliographie

1. Wichtl M, Anton R. Plantes thérapeutiques. 2ème éd. Tec & Doc Lavoisier; 2003.
2. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Pharmacopée française Xème édition; 2010.
3. Bourgoin E, Verne C. Sur l'existence d'un alcali organique dans le boldo, J Pharm Chim 1872; 16: 191-193
4. Bruneton J. Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier; 2009.
5. Steinmetz EF. Codex Vegetabilis. E.F. Steinmetz; 1957.
6. Duke JA. Handbook of Medicinal Herbs, Second Edition. 2<sup>e</sup> éd. CRC Press; 2002.
7. Healthcare T. PDR for Herbal Medicines, 4th Edition. Fourth Edition. Thomson Reuters; 2007.
8. Zetler G. Neuroleptic-like, anticonvulsant and antinociceptive effects of aporphine alkaloids: bulbocapnine, corytuberine, boldine and glaucine. Arch Int Pharmacodyn Ther. 1988 déc;296:255–81.
9. Asencio M, Delaquerrière B, Cassels BK, Speisky H, Comoy E, Protais P. Biochemical and behavioral effects of boldine and glaucine on dopamine systems. Pharmacol. Biochem. Behav. 1999 janv;62(1):7–13.
10. SOBECKI L. LE BOLDO (PEUMUS BOLDUS) EN THERAPEUTIQUE [TH. D.]. [France]; 1992.

11. Bavoux F, Bodiou C, Castot A, Checouri A, Cote B, Dupeyron JP, et al. [Camphor in pediatrics. Its therapeutic value and risks]. *Therapie*. 1985 févr;40(1):25–30.
12. Gerson M. Camphre et dérivés terpéniques en pédiatrie. *La Revue Prescrire* 1985; 5: 17-20.
13. Bismuth, Baud, Conso. *Toxicologie clinique*, 5e édition. 5e éd. Médecine Sciences Publications; 1998.
14. Betts TJ. Chromatographic evaluation of boldine and associated alkaloids in Boldo. *Journal of Chromatography A*. 1990;511:373–8.
15. PETITJEAN J. MISE A JOUR SUR LES PROPRIETES RECEMMENTS DECOUVERTES DU BOLDO, PEUMUS BOLDUS MOLINA (MONIMIACEES) [TH. D.]. [France]; 1998.
16. Ratsch C. *The Encyclopedia of Psychoactive Plants: Ethnopharmacology and Its Applications*. Park Street Press,U.S.; 2004.
17. European Medicines Agency, Committee on herbal medicinal products, *Assessment on Peumus Boldus Molina, Folium*, 2009.

# 9. ANNEXES

## Annexe 1.



Hôpital  
de la Milétrie

POLE DE BIOLOGIE MEDICALE

SERVICE DE PHARMACOLOGIE CLINIQUE  
CENTRE REGIONAL DE PHARMACOVIGILANCE  
ET DE RENSEIGNEMENT SUR LES MEDICAMENTS

Pr PERAULT-POCHAT Marie-Christine  
*Chef de service*  
Médecin, Pharmacien biologiste  
☎ : LD 05.49.44.44.53.  
e-mail : [m.c.perault-pochat@chu-poitiers.fr](mailto:m.c.perault-pochat@chu-poitiers.fr)

Dr LAFAY-CHEBASSIER Claire  
Pharmacien, MCU-PH

Pr FAUCONNEAU Bernard  
Pharmacien, Praticien attaché

Dr INGRAND Isabelle  
Ingénieur en biométrie

### Centre Régional de Pharmacovigilance

Dr FAVRELIERE Sylvie  
Pharmacien, PH  
☎ : LD 05.49.44.39.38  
e-mail : [s.favreliere@chu-poitiers.fr](mailto:s.favreliere@chu-poitiers.fr)

Dr PLAZANET Caroline  
Médecin, Praticien attaché

Dr CHAVANT François  
Pharmacien, AHU

### Cellule d'Hémovigilance

Dr BENZ-LEMOINE Elisabeth  
Médecin, PH  
e-mail : [e.benz-lemoine@chu-poitiers.fr](mailto:e.benz-lemoine@chu-poitiers.fr)

### Centre d'Evaluation et d'Information sur la pharmacodépendance - Addictovigilance

Dr DURANTON-RION Sophie  
Pharmacien, Praticien attaché

Dr PAIN-BARC Stéphanie  
Pharmacien, Praticien attaché

### Cadre

BRUNEAU Jacqueline  
e-mail : [j.bruneau@chu-poitiers.fr](mailto:j.bruneau@chu-poitiers.fr)

### Secrétariat

MAGNOU Anita  
☎ : 05.49.44.44.44  
Poste 45529  
FAX : 05.49.44.38.45  
e-mail : [pharmaco.clin@chu-poitiers.fr](mailto:pharmaco.clin@chu-poitiers.fr)

Docteur GRABER  
Service de Pédiatrie  
C.H. Saint-Louis  
Rue du Docteur Schweitzer  
17000 LA ROCHELLE

Réf: FC / PO20110678

Poitiers, le 11 octobre 2011

Monsieur,

Nous avons pris en compte le cas d'hallucinations visuelles survenues chez votre patiente **PAQ. C.** né le 14/08/1999, après prise de sachets de **Boldo MEDIFLOR<sup>®</sup>**.

Aucune de nos bases de données bibliographiques ne mentionne ce type d'effet avec ce produit.

Ce cas a été enregistré dans notre banque nationale de pharmacovigilance et transmis à l'AFSSAPS. La chronologie d'apparition de l'événement est apparue **plausible** en faveur du produit du fait notamment de la régression après arrêt du traitement.

Vous remerciant pour votre collaboration et restant à votre disposition pour tout renseignement médicamenteux, nous vous prions d'agréer, Monsieur, l'expression de nos sincères salutations.

  
François CHAVANT

Copie : Dr Fonteneau Amandine, Service Pharmacie, CH La Rochelle

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE POITIERS

René LE BLAYE Nord - Entrée 6 - 2, Rue de la Milétrie - B.P. 577 - 86021 POITIERS CEDEX

Pour toute correspondance, il est indispensable de préciser sur l'enveloppe, l'adresse codée du destinataire : 08.01.0787.00.



## Hallucinations suite à la prise d'une tisane de boldo : à propos d'un cas

A Rucheton<sup>1</sup>, PJ Chaboussant<sup>2</sup>, D Graber<sup>2</sup>, F Chavant<sup>1</sup>, C Lafay-Chebassier<sup>1</sup>, V Berhaut<sup>1</sup>, MC Pérault<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup> Service de Pharmacologie clinique et Vigilances – CHU de Poitiers.  
<sup>2</sup> Service de Pédiatrie – CH La Rochelle.



### INTRODUCTION



*Peumus boldus* est un grand arbuste, qui pousse principalement au Chili et au Pérou, mais est aussi cultivé en Europe. Les parties médicinales sont les feuilles, *Boldo folium*. Le Boldo est traditionnellement utilisé sous forme d'infusion en cas de digestion difficile, de troubles hépatobiliaires mineurs et de constipation. Nous rapportons ici le cas d'une enfant qui a développé des hallucinations après l'ingestion de tisane à base de Boldo.



### CAS CLINIQUE

- **Patiente** : Fillette de 12 ans
- **Antécédents** : Ø
- **Traitement habituel** : Ø
- **Histoire de la maladie**
  - Patiente souffrant de troubles digestifs → Prise de tisane de Boldo, pendant 3 soirs de suite
  - Après 2 jours de traitement : hallucinations visuelles (zoopsies) + anxiété + agitation ; 4h après la dernière consommation de tisane
  - ➔ Hospitalisation dans le service de pédiatrie
- **Evolution**
  - Arrêt du traitement pendant l'hospitalisation → Régression spontanée des troubles neurologiques → Hypothèse évoquée de la responsabilité du Boldo dans ces effets
  - Sortie de la patiente 2 jours plus tard ; pas de réapparition des hallucinations
- **Examens complémentaires**

Autres médicaments consommés	Recherche de toxiques	Paires crâniennes	EEG
Ø	Cannabis, cocaïne, amphétamines : Ø	Examen sans particularité	Normal

### DISCUSSION

#### ➤ Imputabilité intrinsèque

Chronologique	Sémiologique
C2	S1

#### ➤ Bibliographie

- Rapport de l'EMA du 14 Janvier 2009 : Utilisation de Boldo non recommandée chez les moins de 18 ans (Ø de donnée suffisante)
- Notion d'hallucinations seulement évoquée en cas de surdosage : vieux ouvrages de phytothérapie (Handbook of medicinal herbs)

#### ➤ Discussion

- Effet potentiellement dû au fait que les sachets infusaient pendant plusieurs heures : évocation d'un surdosage → accumulation de principe actif
- Présence dans le Boldo d'une huile essentielle potentiellement toxique : l'Ascaridole
  - Un sachet de tisane = 450mg de Boldo = 2 à 4% d'huiles essentielles dont 16 à 38% d'Ascaridole → 1,44 à 6,84mg d'Ascaridole.
  - Ascaridole très volatil et hydrophobe → quantité présente dans la tisane certainement très faible
  - Parallèlement, sachets laissés à infuser pendant plusieurs heures → présence potentielle d'Ascaridole dans la boisson

### CONCLUSION

Bien qu'inhabituel, les cliniciens devraient garder à l'esprit la survenue possible de troubles neurologiques dus aux tisanes au Boldo et à la phytothérapie en général.

### REFERENCES

Handbook of Medicinal herbs, James A. Duke.

## 10. RESUME

**Introduction :** La phytothérapie est de plus en plus utilisée en France. D'une part à cause de la méfiance grandissante vis-à-vis de l'industrie pharmaceutique, d'autre part grâce à la possibilité d'automédication, la phytothérapie étant actuellement délivrée sans ordonnance en France.

En phytothérapie, il existe plusieurs mode d'extraction des principes actifs, l'infusion étant la plus répandue.

**Description Clinique :** Nous avons reçu dans l'unité des Urgences Pédiatriques de l'hôpital de La Rochelle, une jeune fille de 12 ans présentant des troubles du comportement avec hallucinations riches apparues brutalement. Cette jeune fille avait pris depuis 3 jours des infusions de feuilles de Boldo pour des douleurs abdominales d'allures fonctionnelles. Les examens complémentaires réalisés lors de l'hospitalisation, n'ont pas permis de retrouver de causes évidentes. Le diagnostic d'intoxication aigüe après consommation d'infusions de feuilles de Boldo a été retenu notamment sur l'interrogatoire.

**Bibliographie:** Notre recherche bibliographique a montré que la feuille de Boldo est riche en alcaloïdes aporphinoïdes dont la Boldine est le représentant majoritaire. La Boldine étant extraite de la feuille de Boldo par infusion. Il a été démontré chez le rat et la souris que la Boldine présente une forte affinité pour les récepteurs D1 et D2 dopaminergiques du striatum. De cette affinité résultent en grande partie ses effets neurologiques. Par ailleurs la feuille de Boldo contient d'autres composés possiblement neuro-toxiques dont l'Ascaridole. Ce dernier n'étant normalement pas extrait par infusion.

**Matériel & Méthode :** Une recherche de ces alcaloïdes aporphinoïdes ainsi que de l'Ascaridol par UPLC couplée à de la spectrométrie de masse a été réalisée en laboratoire.

**Résultats :** Cette recherche a permis de montrer que le composé extrait en majorité par infusion est la Boldine. Il a été estimé que la jeune patiente avait consommée 1,16mg de Boldine par jour pendant 3 jours. On retrouve également de la Norboldine. D'autres composés sont également présents mais n'ont pas pu être identifiés du fait de leur faible concentration. L'ascaridole n'a pas été retrouvée.

**Conclusion :** Ce travail rend très probable l'intoxication aigüe après consommation d'infusions de feuilles de Boldo chez cette enfant de 12 ans. La Boldine étant probablement la principale cause de cette intoxication.

Il semble donc nécessaire de contre-indiquer l'administration d'infusions de feuilles de Boldo orale chez l'enfant.

**Mots clés :** Enfant, intoxication, infusion, boldo, boldine, récepteurs dopaminergiques.

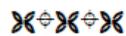


UNIVERSITÉ DE POITIERS

Faculté de Médecine et de  
Pharmacie



## SERMENT



En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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

