

Axel MORELLE (1,2), Joséphine CARUANO (1), Marion FELEDZIAK (1,2), Catherine MICHAUX (3), Eric A. PERPETE (3), Giulio G. MUCCIOLI (2), Jacqueline MARCHAND-BRYNAERT (1), Raphaël ROBIETTE (1)*

(1) Institute of Condensed Matter and Nanosciences, UCLouvain, Place Louis Pasteur, 1 L4.01.02, 1348 Louvain-La-Neuve

(2) Louvain Drug Research Institute, UCLouvain, Avenue Mounier, 72, B1.72.01, 1200 Woluwé-Saint-Lambert

(3) Unité de Chimie Physique des Biomolécules, Laboratoire de Chimie Physique des Biomolécules, UNamur, Rue de Bruxelles, 61, 5000 Namur

* raphael.robiette@uclouvain.be, 010/ 47.91.76

Des β -lactames pour agir sur le système endocannabinoïde

Résumé

L'anandamide (2) est un médiateur lipidique impliqué dans l'activation des récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2. Etant donné que l'activation de ces récepteurs a de multiples effets thérapeutiques (analgésiques, anti-inflammatoires, stimulation du sommeil, régulation de l'appétit,...), une action prolongée de l'anandamide est souvent recherchée. Le meilleur moyen pour cela consiste en l'inhibition de la principale enzyme responsable de son hydrolyse, la FAAH.

Notre laboratoire a découvert que certains β -lactames ont une activité inhibitrice sur la FAAH, un lead (6h) avec un IC_{50} de 4,2 nM ayant été obtenu. Des études pharmacologiques ont permis de montrer que ces inhibiteurs agissent de manière réversible. Il a également été montré par HPLC-MS que la FAAH n'ouvre pas le cycle du β -lactame, ce qui suggère l'absence de liaison covalente entre l'enzyme et son inhibiteur. Enfin, des études SAR et de docking nous ont permis d'obtenir des informations concernant les interactions entre le β -lactame et l'enzyme.

Mots-clefs

Anandamide, β -lactame, Fatty Acid Amide hydrolase, inhibition réversible, Système endocannabinoïde

β -lactams to act on the endocannabinoid system

Abstract

Anandamide (2) is a lipid mediator involved in the activation of the cannabinoid receptors CB1 and CB2. Since the activation of these receptors results in a myriad of therapeutic effects (analgesic, anti-inflammatory, Stimulation of sleep, regulation of appetite,...), a prolonged action of anandamide is often desirable. The best way to achieve this goal consists in the inhibition of the main endocannabinoid-degrading enzyme, Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH).

Our laboratory discovered that some β -lactams have an inhibition activity on FAAH. A very promising lead (6h) with an IC_{50} of 4.2 nM was obtained during these studies. Pharmacological studies enabled us to show that these β -lactams are reversible inhibitors. We have demonstrated by HPLC-MS that FAAH doesn't cleave the β -lactam cycle, suggesting the absence of covalent bonding between the β -lactam and the enzyme. Finally, SAR and docking studies provided insights into the structure and the nature of the interactions involved in the inhibitor-enzyme complex.

Keywords

Anandamide, β -lactam, Endocannabinoid system, Fatty Acid Amide Hydrolase, Reversible inhibition

1. Introduction

1.1. Le Δ^9 -tétrahydrocannabinol

Le Δ^9 -tétrahydrocannabinol, ou Δ^9 THC, est un dérivé benzopyrane qui fut isolé de la plante de cannabis et caractérisé pour la première fois en 1964 par Y. Gaoni et R. Mechoulam (Figure 1) [1]. Le Δ^9 THC est l'une des substances les plus actives contenues dans la plante de cannabis et responsable, parmi d'autres, de l'utilisation de celle-ci comme plante médicinale. Certains récits reportant son emploi remontent à 3000 ans av. J.-C. [2]. En effet, divers effets thérapeutiques sont attribués au Δ^9 THC tels que des propriétés antalgiques, anti-inflammatoires, stimulantes d'appétit ou encore régulatrices de sommeil [3].

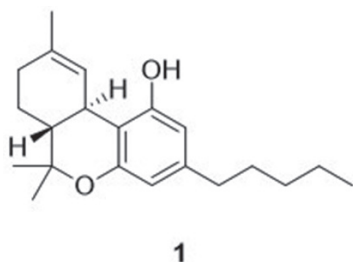


Figure 1. Δ^9 -Tétrahydrocannabinol (Δ^9 THC)

Bien que le Δ^9 THC possède des vertus thérapeutiques avérées, son utilisation à des fins thérapeutiques reste difficile et controversée à cause de ses effets psychotropes. Son utilisation cause sur l'individu un changement d'humeur (euphorie), une altération des perceptions auditives et visuelles, des hallucinations, des troubles de dépersonnalisation ainsi que des pertes de la notion du temps [4]. Le Δ^9 THC reste néanmoins dans la palette des substances administrées lors de traitement de certaines pathologies, souvent à défaut d'alternatives.

1.2. Les récepteurs cannabinoïdes

L'étude du mécanisme d'action du Δ^9 THC a permis de mettre en évidence un système appelé système endocannabinoïde dans lequel le Δ^9 THC est un agoniste exogène. Le système endocannabinoïde est formé de deux récepteurs couplés à une protéine G : les récepteurs CB1 et CB2. Bien qu'ils soient tous les deux associés au système endocannabinoïde et possèdent beaucoup de ligands endogènes en commun, ces deux récepteurs ne possèdent que 48% de similitude structurale [5]. Ces récepteurs ne se retrouvent pas aux mêmes endroits dans le corps ou, en tous cas, pas dans des proportions identiques. Les récepteurs CB1 sont fortement exprimés au niveau du système nerveux central (SNC) et sont impliqués notamment dans la modulation et la transmission de la douleur. Les récepteurs CB2 se retrouvent, quant à eux, majoritairement dans les tissus périphériques, en particulier dans la rate et les cellules du système immunitaire. Ils sont impliqués dans la réponse immunitaire et la régulation de l'inflammation [5].

Etant donné les multiples effets bénéfiques produits par l'activation des récepteurs CB1 et/ou CB2, la conception et la synthèse de nouveaux ligands de ces deux récepteurs ont fait l'objet de nombreuses recherches en chimie médicinale [6]. Cependant, dans la majorité des cas, des effets psychoactifs (dus à l'activation de CB1 dans le système nerveux central) ont été observés pour les agonistes CB1 développés.

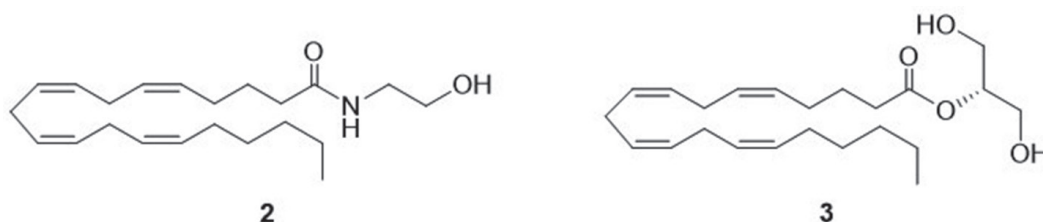


Figure 2. N-arachidonylethanolamine (Anandamide) et 2-Arachidonoylglycérol

1.3. Les ligands endogènes

Les récepteurs CB1 et CB2 possèdent également plusieurs ligands endogènes. Les deux endocannabinoïdes principaux possèdent un motif acide arachidonique. Il s'agit de la *N*-arachidonoyléthanolamine **2** (anandamide) et du 2-arachidonoylglycérol **3** (Figure 2).

La concentration efficace médiane (EC_{50}) de l'anandamide et du 2-arachidonoylglycérol est plus faible pour CB1 que pour CB2 (Tableau 1) [2, 7]. Cela signifie donc que ces deux ligands ont plus d'affinité pour les récepteurs CB1. Dans le cas du Δ^9 THC, c'est le contraire, son EC_{50} vis-à-vis de CB2 est plus faible que celle pour CB1. Le Δ^9 THC a néanmoins plus d'affinité pour les récepteurs cannabinoïdes que les ligands endogènes.

Il est important de noter que l'interaction des ligands endogènes avec CB1 et CB2 donne lieu aux activités d'intérêt thérapeutique mentionnées ci-dessus, sans toutefois conduire aux effets psychotropes comme le Δ^9 THC [8]. En effet, même si le Δ^9 THC et l'anandamide sont tous les deux des agonistes des récepteurs CB1, le Δ^9 THC possède une plus grande affinité pour ce récepteur, ce qui est à l'origine de la différence en termes de psychoactivité. L'utilisation de ces agonistes endogènes à des fins thérapeutiques est cependant limitée par leur métabolisme (voir ci-dessous).

1.4. Voies de régulation

Les agonistes des récepteurs CB1 et CB2 sont produits de manière activité-dépendante à partir de précurseurs phospholipidiques présents dans la cellule et leur dégradation est contrôlée par une série de lipases qui catalysent leur hydrolyse. Par exemple, le 2-arachidonoylglycérol est hydrolysé par la *monoacylglycérol lipase* (MAGL) pour donner de l'acide arachidonique et du glycérol. L'anandamide est quant à elle dégradée par la *Fatty Acid Amide Hydrolase* (FAAH) pour former de l'acide arachidonique ainsi que de l'éthanolamine (Figure 3) [9].

Une stratégie alternative pour agir sur l'activation des récepteurs CB1 et CB2 est donc la conception d'inhibiteurs de ces enzymes dégradant les endocannabinoïdes. C'est dans ce cadre que, depuis une vingtaine d'année, le développement d'inhibiteurs de la FAAH est une des pistes les plus étudiées pour agir sur le système endocannabinoïde. En effet, une inhibition de la FAAH devrait permettre de freiner la dégradation, et donc d'augmenter la concentration de l'anandamide dans le corps, ce qui permettrait une activation des récepteurs CB1 et CB2. L'intérêt thérapeutique de l'inhibition de la FAAH a déjà été démontré par des tests *in vitro* et *in vivo* (pour traiter l'inflammation, la douleur, des maladies du SNC, des troubles du sommeil... [10]).

Agoniste	EC_{50} (CB1) [nM]	EC_{50} (CB2) [nM]
Anandamide ^[7]	89	371
2-arachidonoylglycérol ^[7]	470	1400
Δ^9 -tétrahydrocannabinol ^[2]	37	20

Tableau 1 : EC_{50} de l'anandamide, du 2-arachidonoylglycérol et du Δ^9 -tétrahydrocannabinol (CB1 et CB2)

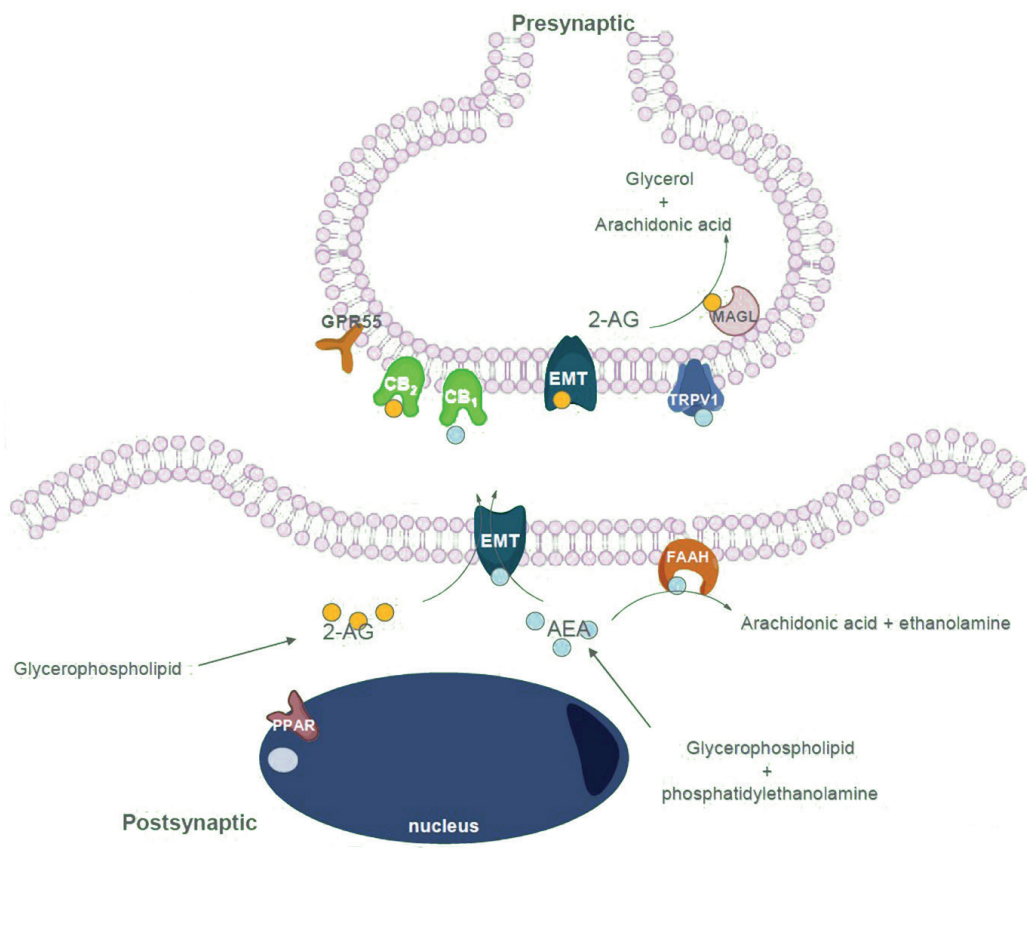


Figure 3. Vue simplifiée du système endocannabinoïde. Le schéma reprend les deux endocannabinoïdes majeurs, L'anandamide (AEA) et le 2-arachidonoylglycérol (2-AG) ainsi que leur voie de dégradation majoritaire [9]. Endocannabinoid Membrane Transporter (EMT) G Protein-coupled Receptor 55 (GPR55), Transient Receptor Potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1), Peroxisome-Proliferator Activated Receptor (PPAR)

1.5. Inhibiteurs de la FAAH

La FAAH est une amidase à sérine possédant une triade catalytique inhabituelle Ser-Ser-Lys, avec l'hydrolyse du substrat impliquant l'attaque nucléophile du résidu Ser241 sur la fonction amide conduisant à un complexe acyl-enzyme instable. A ce jour, plusieurs petites molécules possédant une grande diversité de fonctions électrophiles ont été développées en tant qu'inhibiteurs de la FAAH (des carbamates, des urées, des acides boroniques, des 2-méthylindoles, des oxadiazolones, des imidazoles, des pyrimidines,...) [9].

C'est dans ce cadre que s'inscrivent nos travaux sur l'inhibition de la FAAH par des dérivés β -lactamiques. Ils ont pour but de synthétiser de nouvelles molécules et de réaliser leur évaluation pharmacologique. Les résultats pharmacologiques obtenus permettent de guider

la suite des synthèses d'une part et alimentent une étude de *docking* d'autre part.

2. Résultat et discussion

2.1. Synthèse et étude relation structure-activité

Notre laboratoire s'intéresse particulièrement aux β -lactames comme inhibiteurs de la FAAH. Cette étude a commencé en 2009 au sein du laboratoire du Professeur J. Marchand-Brynaert lorsqu'il a été découvert que certains dérivés β -lactamiques possédaient une capacité inhibitrice vis-à-vis de la FAAH (Figure 4) [11]. Ces molécules possèdent en effet une concentration inhibitrice médiane (IC_{50}) de l'ordre du micromolaire, le *hit 5* possédant un IC_{50} de 4,5 μ M.

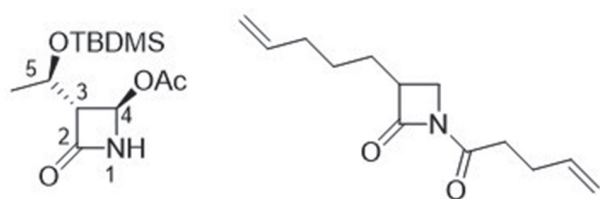
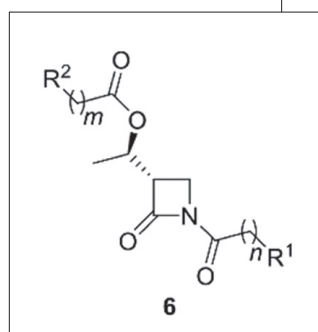


Figure 4. Acétoxyazétidinone et hit (3-(pent-4-en-1-yl)-1-(pent-4-enoyl)azetidin-2-one)

A la suite de cela, une série de 30 dérivés ont été synthétisés à partir de l'acétoxyazétidinone (4). Une évaluation de leur IC_{50} a été réalisée et les résultats des meilleurs composés ont permis d'alimenter une étude de *docking* (voir point 2.5). Les tests pharmacologiques ont été réalisés sur de la FAAH humaine produite dans *E. Coli* et ont utilisé de l'anandamide radiomarquée. L'enzyme, le substrat et l'inhibiteur ont été incubés à 37°C pendant 10 minutes. Ensuite l'anandamide résiduelle a été séparée de ses produits et la radioactivité mesurée par comptage par scintillation liquide.

L'analyse des résultats permet de conclure que l'inhibition de l'activité enzymatique est la meilleure lorsque les positions C5-O et N1 sont acylées par des acides possédant une chaîne lipophile (Tableau 2). En plus de cela, il peut être noté que l'absence de l'acétate au profit d'un H en position 4 permet également une meilleure inhibition. Cette étude a permis de dégager un composé *lead* (6h) possédant un IC_{50} d'environ 5 nM, soit 900 fois inférieur à celui du *hit* initialement découvert (5). Il est également intéressant de remarquer que ce composé *lead* (6h) montre une bonne sélectivité pour la FAAH par rapport à la MAGL puisque l'inhibition respective varie d'un facteur 800. Ces inhibiteurs ont donc la capacité, à faible concentration, d'inhiber presque exclusivement la FAAH.

Parmi les inhibiteurs de la FAAH les plus connus, le *lead* présente une capacité inhibitrice médiane assez semblable aux acides boroniques (7) [12], carbamates (8), urées (9, 10, 11) ou encore aux pyrimidines (12) (Figure 5) [13].



Composé	<i>n</i>	R ¹	<i>m</i>	R ²	IC ₅₀ hFAAH (μM)	% inhibition (MAGL) ^a	IC ₅₀ hMAGL (μM)
6a	2	Ph	2	Ph	0,157	100 (0)	
6b	2	Ph	3	Ph	0,049	100 (0)	
6c	2	Ph	4	Ph	0,091	100 (0)	
6d	3	Ph	2	Ph	0,057	54	
6e	3	Ph	3	Ph	0,030	100 (0)	
6f	3	Ph	4	Ph	0,045	59	
6g	4	Ph	3	Ph	0,449	39	
6h	2	Alk ^b	3	Ph	0,005	89	4,06
6i	2	Alk ^b	2	Alk ^b	0,098	99	23,3
6j	2	Alk ^b	3	Alk ^b	0,032	8	4,72
6k	3	Alk ^b	3	Ph	0,010	85	8,51

^a Pourcentage d'inhibition à 10⁻⁴M et entre parenthèses pourcentage d'inhibition à 10⁻⁵M
^b Alk = -CH=CH₂

Tableau 2 : Capacité inhibitrice des dérivés d'azétidinone pour les FAAH et MAGL humanisées

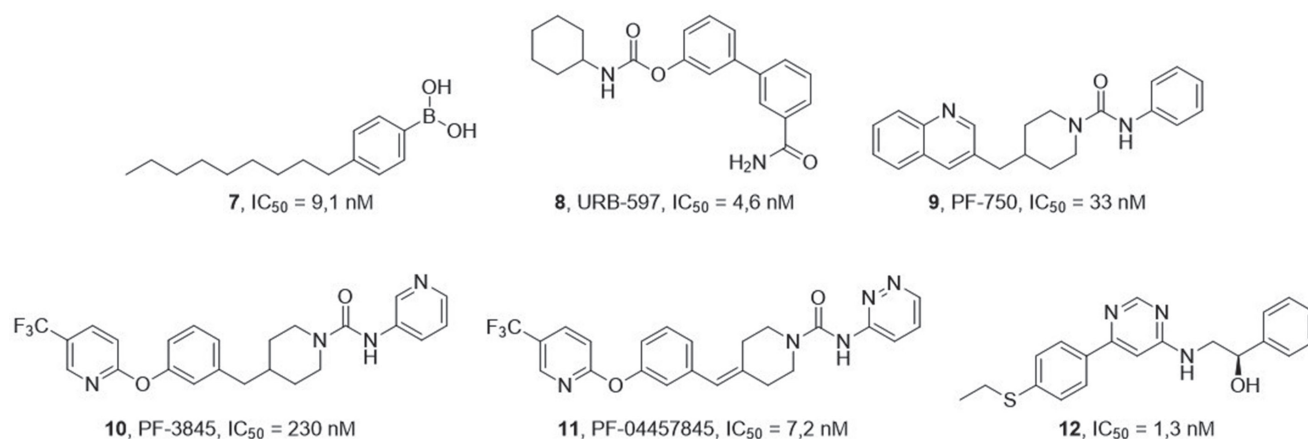
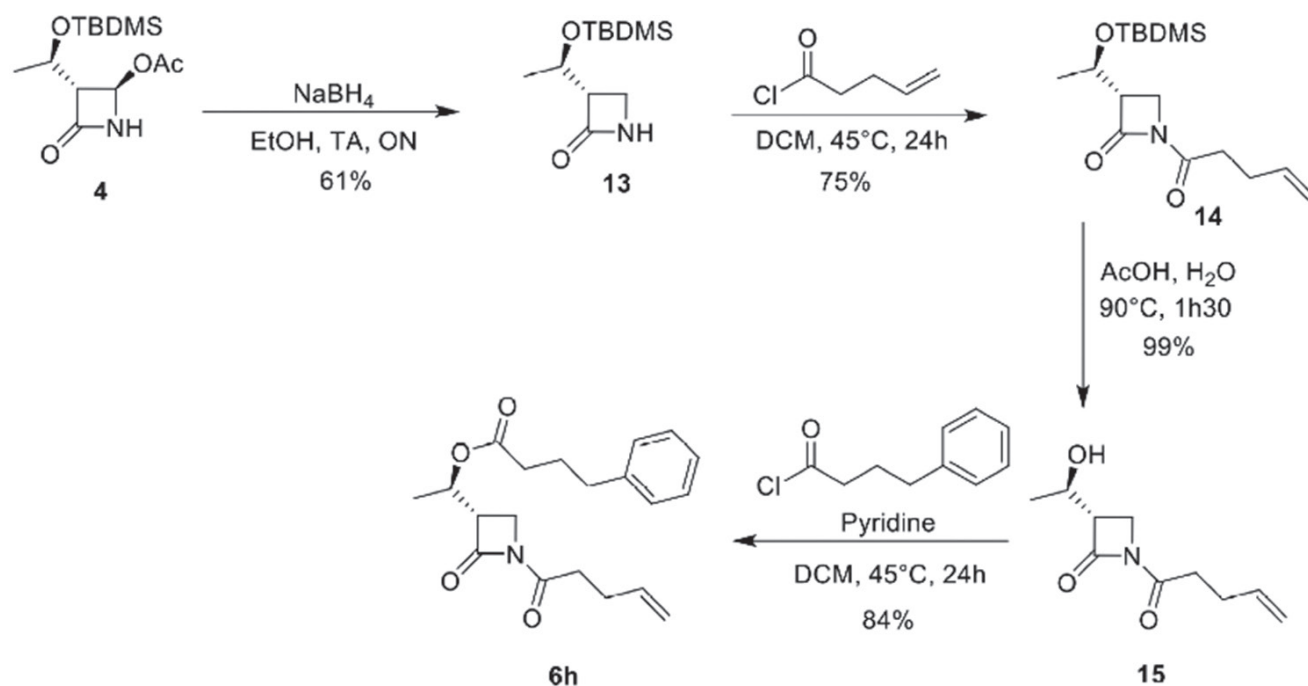


Figure 5. Exemples d'inhibiteurs de la FAAH

Notre composé *lead* (**6h**) est préparé en 4 étapes à partir de l'acétazyétidinone **4**, commercialement disponible (Schéma 1). La synthèse débute par l'élimination du groupement acétate pour donner le β -lactame **13**. Une *N*-acylation est alors réalisée avec du chlorure de pent-4-énoyle pour conduire au dérivé **14**. Finalement, une déprotection de la fonction

alcool suivie d'une estérification permettent d'accéder au composé **6h** avec un rendement global de 38%.

Une fois ce composé *lead* identifié, des études pharmacologiques ont été entreprises.

Schéma 1. Voie de synthèse de **6h**

2.2. Importance des fonctions carbonyles

Une étude de la relation structure-activité (SAR) a été réalisée afin de déterminer le pharmacophore. Le *lead* (**6h**) possédant plusieurs fonctions carbonyle, nous avons tenté de déterminer l'importance de ceux-ci dans l'activité de nos composés. Concrètement, nous avons synthétisé et mesuré l' IC_{50} d'analogues du *lead* (**6h**) où une ou plusieurs fonctions carbonyle ont été supprimées (Figure 6, Tableau 3) [14].

Composé	IC_{50}
6h (<i>lead</i>)	5,2 nM
16	82,8 μ M
17	8 nM
18	88,6 μ M
19	2,9 μ M
20	> 1000 μ M

Tableau 3 : Valeurs d' IC_{50} pour les dérivés 16-20

L'analyse du tableau 3 permet de conclure tout d'abord que le **6h** reste toujours la molécule la plus active. De plus, il peut être observé que le composé **17** possède une activité similaire, indiquant que le carbonyle de la fonction ester n'a pas d'influence sur l'inhibition. Par contre, lorsque l'un des deux autres carbonyles est absent, l' IC_{50} augmente

drastiquement. Ceci suggère que ces deux derniers sont impliqués dans l'interaction entre le β -lactame et la FAAH. Néanmoins, lorsque les molécules **18** et **19** sont comparées, il peut être constaté que l'inhibition est plus importante lorsque le carbonyle se trouve sur le cycle.

2.3. Réversibilité

Plusieurs modes d'action peuvent être envisagés pour ces composés β -lactames. Tout d'abord, l'inhibiteur peut former avec la FAAH un lien acyl-enzyme stable, tel que lors de l'inhibition des *penicillin binding proteins* (PBPs) par des β -lactames, ce qui conduirait à une inhibition irréversible. Plusieurs autres scénarios peuvent, au contraire, conduire à une inhibition réversible. En effet, le β -lactame peut former un lien acyl-enzyme qui s'hydrolyserait ensuite pour retrouver l'enzyme intact et fonctionnel. Le carbonyle du β -lactame peut également réagir avec la FAAH pour former un intermédiaire tétraédrique mais ne pas ouvrir le cycle β -lactamique, permettant donc un retour en arrière et la reformation du β -lactame et de l'enzyme. Finalement, l'inhibiteur peut ne former aucun lien covalent avec la FAAH et interagir avec le site catalytique *via* des interactions non-covalentes. Ces modes d'action conduiraient également à une inhibition réversible [14].

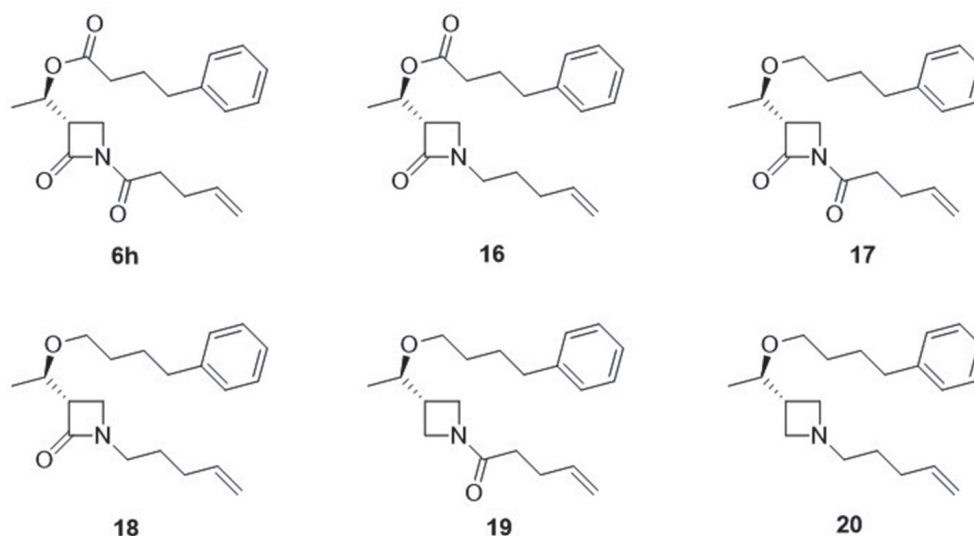


Figure 6. Dérivés du lead

Afin d'étudier la réversibilité de l'inhibition, nous avons entrepris des mesures de récupération de l'activité de la FAAH après une dilution large et rapide de la solution inhibiteur-enzyme [15]. Cette opération de dilution permet de baisser rapidement la concentration de l'inhibiteur. Si l'inhibition est réversible, l'activité de l'enzyme sera presque totalement récupérée alors que dans le cas contraire, l'activité de la FAAH restera faible. Cette expérience menée avec **6h** montre que l'activité de l'enzyme est récupérée quelques minutes après la dilution, ce qui suggère donc une inhibition de la FAAH réversible [14]. Afin de différencier les trois mécanismes conduisant à une inhibition réversible, nous avons alors réalisé une étude HPLC-MS.

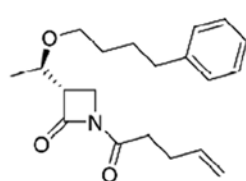
2.4. Etude HPLC-MS

Dans le but d'étudier plus en détails le mécanisme d'action des β -lactames sur la FAAH et en particulier de déterminer si le cycle β -lactamique est ouvert par l'enzyme, une étude HPLC-MS a été entreprise sur une solution après un test d'inhibition. En effet, la spectrométrie de masse permet facilement de mettre en évidence une ouverture de cycle. Une première expérience a été réalisée sur un mélange composé d'anandamide, d'un homogénat de foie (tissus présentant une expression de la FAAH) ainsi qu'un inhibiteur β -lactamique (**17**). Les résultats montrent que le cycle β -lactamique a bel et bien été ouvert. Cela signifie que l'ouverture du cycle peut être liée à la FAAH ou aux autres hydrolases présentes dans l'homogénat. L'expérience a été répétée en ajoutant dans le milieu URB-597 (**8**), un inhibiteur de référence non réversible et non sélectif (Figure 7). Nous avons montré qu'en présence d'URB597 le cycle β -lactame n'a pas été ouvert. Finalement, une dernière expérience

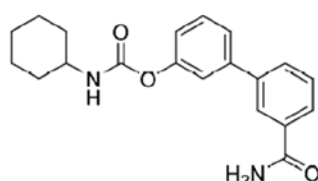
consistant à remplacer URB-597 par PF-750, un inhibiteur irréversible hautement sélectif de la FAAH (**9**) a été réalisée. Dans ce cas, le β -lactame a été observé majoritairement sous forme ouverte, ce qui indique que ce sont les autres hydrolases qui clivent le cycle β -lactamique. Ces expériences, combinées à celles de réversibilité, permettent de conclure que les β -lactames sont dégradés par les hydrolases mais pas par la FAAH. Cela suggère donc que le mode d'action de ces inhibiteurs sur la FAAH n'est pas basé sur l'ouverture du noyau β -lactamique, contrairement au mécanisme impliqué dans l'inhibition des *penicillin binding proteins* (PBPs) par les β -lactames. Ce résultat est intéressant car il est en bonne adéquation avec le mode d'action réversible suggéré par les tests de dilution rapide (voir point 2.3).

2.5. Etude de docking

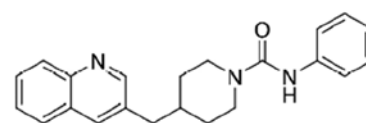
Afin de mieux comprendre le mécanisme d'inhibition de la FAAH par les β -lactames **6** et les interactions de ceux-ci avec la cavité enzymatique, nous avons entrepris une étude de modélisation moléculaire (*docking*). La structure 3D de la FAAH humaine n'ayant pas encore pu être déterminée par analyse de diffraction des rayons X, nous avons travaillé sur base de la structure publiée pour la FAAH du rat humanisée [16]. Nos études nous ont tout d'abord révélé l'importance de la présence d'une ou deux molécules d'eau proches de la triade catalytique dans le complexe inhibiteur/enzyme [15]. Les modèles ainsi développés ont conduit à l'identification de nouveaux modes de liaison des inhibiteurs. En particulier, il a été montré que le groupement phényle du *lead* se plaçait dans une poche composée de trois résidus phenylalanine (Phe338, Phe381, Phe192), appelée «phenyl



17, IC₅₀ = 8 nM



8, URB-597, IC₅₀ = 4,6 nM



9, PF-750, IC₅₀ = 33 nM

Figure 7. Composés testés par analyse HPLC/MS

pocket» (Figure 8). Le groupement méthyle a également été montré pour se loger dans une poche hydrophobe de la cavité enzymatique. En ce qui concerne les fonctions carbonyles de l'imide, leur conjugaison avec la paire libre de l'azote (qui est plan) les force à être dans le même plan mais deux conformations sont néanmoins possibles, les deux groupes peuvent être en *syn* ou en *anti*, cette dernière conformation étant intrinsèquement plus stable. Cependant, nos études indiquent que la conformation *syn* est favorisée dans la poche catalytique car elle permet une stabilisation par ponts hydrogènes entre les deux carbonyles et les résidus sérine et thréonine de la triade catalytique [16].

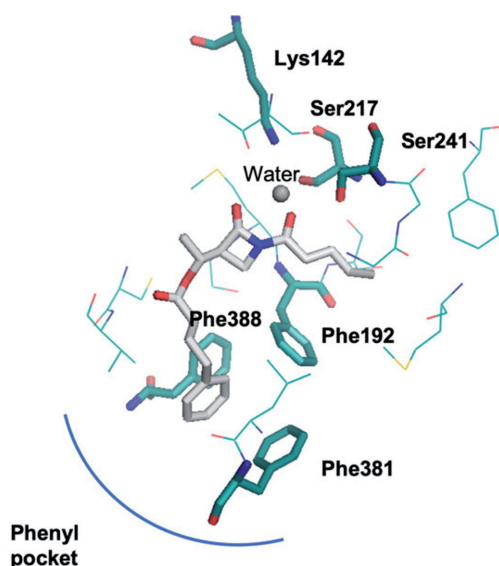


Figure 8. Étude de docking réalisée sur le composé lead. Les hydrogènes ne sont pas représentés pour plus de clarté. Les acides aminés sont représentés en turquoise et le composé lead en blanc.

3. Conclusions et perspectives

Nos études d'inhibition de la FAAH par des composés β -lactamiques nous ont permis de dégager un composé *lead* (**6h**). Celui-ci possède un IC_{50} de l'ordre de 5 nM. Ce composé peut être obtenu à partir de l'acétate de (2R,3R)-3-((R)-1-((tert-butyldiméthylsilyl)oxy)éthyl)-4-oxoazétidin-2-yle avec un rendement global de 38 %. Une étude pharmacologique de ce *lead* a permis de montrer qu'il s'agissait d'un inhibiteur réversible de la FAAH. Il a également été démontré que les deux fonctions carbonyle de l'imide sont impliquées dans les interactions inhibiteur-enzyme. Une étude HPLC-MS a

également permis de conclure que le cycle n'est pas hydrolysé lors de l'inhibition, ce qui suggère que l'inhibiteur interagit avec l'enzyme *via* des interactions non-covalentes. Les études de *docking* nous indiquent que l'interaction enzyme-inhibiteur nécessite une conformation *syn* entre les deux carbonyles de la fonction imide pour permettre la formation de ponts hydrogène entre ces derniers et des résidus sérine et thréonine présents dans la poche catalytique de l'enzyme. Elles suggèrent également que le groupement méthyle au pied de la fonction ester est important pour l'interaction avec l'enzyme.

Dans de futurs travaux, il serait utile de synthétiser des bicycles afin d'empêcher la rotation autour de la liaison N-CO et ainsi obtenir les deux carbonyles de la fonction imide bloqués en *syn* l'un par rapport à l'autre. Il serait également intéressant de préparer le diastéréoisomère (*S,S*) du *lead* afin d'étudier l'importance de la stéréochimie du centre asymétrique portant le groupement méthyle.

Références

- [1] Y. Gaoni, R. Mechoulam, *Journal of the American Chemical Society* **1964**, 86, 1646-1647.
- [2] D. M. Lambert, C. J. Fowler, *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, 48, 5059-5087.
- [3] E. Russo, G. W. Guy, *Medical Hypotheses* **2006**, 66, 234-246.
- [4] H. Isbell, C. W. Gorodetzky, D. Jasinski, U. Claussen, F. v. Spulak, F. Korte, *Psychopharmacologia* **1967**, 11, 184-188.
- [5] A. C. Howlett, *Pharmacological Reviews* **2002**, 54, 161-202.
- [6] S. M. Stout, N. M. Cimino, *Drug Metab Rev* **2014**, 46, 86-95.
- [7] *Pharmacology of Neurotransmitter Release*, **2008**.
- [8] Dans le cas du 2-AG, une forte augmentation de sa concentration conduit cependant à des effets « psychotropes-like ».
- [9] M. Feledziak, Université catholique de Louvain **2012**.
- [10] G. Labar, C. Michaux, *Chemistry & Biodiversity* **2007**, 4, 1882-1902.
- [11] M. Feledziak, C. Michaux, A. Urbach, G. Labar, G. G. Muccioli, D. M. Lambert, J. Marchand-Brynaert, *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 52, 7054-7068.
- [12] A. Minkkila, S. M. Saario, H. Kasanen, J. Leppanen, A. Poso, T. Nevalainen, *J Med Chem* **2008**, 51, 7057-7060.
- [13] R. K. P. Tripathi, *Eur J Med Chem* **2019**, 188, 111953.
- [14] M. Feledziak, G. G. Muccioli, D. M. Lambert, J. Marchand-Brynaert, *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 54, 6812-6823.
- [15] M. Feledziak, C. Michaux, D. M. Lambert, J. Marchand-Brynaert, *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, 60, 101-111.
- [16] J. Caruano, M. Feledziak, G. Labar, C. Michaux, E. A. Perpète, G. G. Muccioli, R. Robiette, J. Marchand-Brynaert, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2014**, 29, 654-662.