

## **Etat de l'art et intérêt des dosages plasmatiques des substances endocannabinoïdes et endocannabinoïdes-like**

### ***State-of-the-art and interest of endocannabinoid and endocannabinoid-like substances plasma determinations***

Alexandr Gish<sup>1\*</sup>, Jean-François Wiart<sup>1</sup>, Elodie Turpin<sup>1</sup>, Delphine Allorge<sup>1,3</sup>, Jean-michel Gaulier<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>CHU Lille, Unité Fonctionnelle de Toxicologie, F-59000 Lille, France

<sup>2</sup>Univ. Lille, ULR 4483 – IMPECS – IMPact de l'Environnement Chimique sur la Santé humaine, F-59000 Lille, France

*\*Auteur correspondant*

Alexandr GISH

Laboratory of Toxicology

Bd du Professeur Jules Leclercq

CS 70 001

59037 LILLE Cedex

France

Email: alexandr.gish@chu-lille.fr

Fax : +33 320444960

## Résumé

Dans le domaine médical, le système endocannabinoïde (SEC) est un sujet qui est d'actualité pour des raisons scientifiques et médiatiques (cannabis, cannabidiol, ...). De nombreuses études affirment la complexité majeure de ce système, et dans le même temps, son implication large dans certaines pathologies humaines notamment neurodégénératives, psychiatriques et inflammatoires. Toutefois, la connaissance précise de ses rôles en situation physiologique ou pathologique demeure imparfaite. Ce manuscrit a pour objet de réaliser une synthèse bibliographique positionnant l'intérêt du dosage des ligands endogènes de l'endocannabinoïdome dans ce contexte, et de présenter les méthodes analytiques existantes. Au bilan, le panorama actuel des connaissances du système endocannabinoïde justifie l'intérêt potentiel de méthodes de dosages plasmatiques des substances endocannabinoïdes et endocannabinoïdes-like (tels que AEA, 2-AG, PEA et OEA), autant dans les futures études fondamentales que dans les projets de recherche (et applications potentielles) cliniques (diagnostic et suivi).

**Mot clés :** système endocannabinoïde, **pathologie humaine, méthodes de dosages**

## **Abstract**

In the medical field, the endocannabinoid system represents a topical subject for several scientific and media reasons (cannabis, cannabidiol, etc). Many studies affirm the major complexity of this system and its involvement in human pathologies including neurodegenerative, psychiatric, and inflammatory diseases. However, accurate data about its roles in physiological and pathological processes remain imperfect. This manuscript aims (i) to propose a summarized view of the endocannabinoid system and (ii) to present the current state of knowledge of endocannabinoid and endocannabinoid-like assays (AEA, 2-AG, PEA et OEA). Overall, the great deal of interest from scientific world in the endocannabinoid system supports the place of endocannabinoid assay as a future tool of importance in fundamental and clinical trials (and potential clinical applications).

**Keywords:** Endocannabinoid system, human pathology, assays

## Introduction

La plante *Cannabis sativa*, mieux connu sous les noms de marijuana ou cannabis, a été longtemps utilisée en médecine humaine. Les plus anciens documents connus qui rapportent cet usage (en Chine environ il y a 5000 ans) concernent le traitement de la douleur [1]. Le siècle dernier a été celui de la découverte de la substance active principale, le  $\Delta$ -9-tetrahydrocannabinol ( $\Delta$ -9-THC), parmi 70 autres phytocannabinoïdes [2,3]. Les recherches sur les effets du cannabis sur l'organisme ont permis de découvrir les récepteurs cannabinoïdes (CB1, CB2) et des substances endogènes agonistes de ces récepteurs (endocannabinoïdes) qui constituent un système de régulation dit « système des endocannabinoïdes » (SEC). L'exposition au  $\Delta$ -9-THC est généralement accompagnée de modifications de la fonctionnalité de ce système endocannabinoïde [4]. Le SEC, ou endocannabinoïdome, est un système endogène complexe puisqu'il est composé par les récepteurs cannabinoïdes [CB1 et CB2, CB3 (GPR55), GRP119, TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1), PPAR  $\alpha$  et  $\gamma$ ], les ligands de ces récepteurs (ECs) c'est à dire les molécules endocannabinoïdes et les molécules endocannabinoïdes-like, et les enzymes nécessaires à leur synthèse et leur dégradation [5–7]. Depuis l'identification des récepteurs aux cannabinoïdes et de leurs ligands, de nombreuses études ont été menées pour comprendre les fonctions du SEC. Elles ont notamment permis de montrer l'implication du SEC dans les régulations de la balance énergétique au niveau central et périphérique, de la réponse au stress ou encore de la plasticité cérébrale.

L'objectif de ce manuscrit est de réaliser une synthèse bibliographique positionnant l'intérêt du dosage des ligands endogènes du SEC dans ce contexte, et de présenter les méthodes analytiques existantes.

## A - Généralités sur le système endocannabinoïde

### 1 - Principaux endocannabinoides et endocannabinoïdes-like

L'identification et le clonage du récepteur CB1 ont permis la découverte du premier agoniste endogène de ce récepteur, l'arachidonoyléthanolamide (anandamide ou AEA), identifié dans le cerveau porcin en 1992 [8]. Cette molécule possède une activité d'agoniste partiel sur les récepteurs CB1 et CB2 [8]. Ces observations ont conduit à la découverte du 2-arachidonoylglycérol (2-AG), une autre substance importante dans le système endocannabinoïde [9,10]. Le 2-AG a démontré une activité d'agoniste complet sur les

récepteurs cannabinoïdes. Ces deux endocannabinoïdes sont **actuellement** les plus étudiés, mais il y a environ 13 autres molécules décrites qui ont des propriétés activatrices ou inhibitrices sur les récepteurs cannabinoïdes [11]. Les structures de ces 2 molécules sont représentées dans la figure 1.

Les autres molécules qu'il est nécessaire d'aborder sont des médiateurs endocannabinoïdes-like. Ces médiateurs **comportent** la classe des *N*-acyle-amides à longues chaînes qui inclue les *N*-acyle-aurines, *N*-acyle-sérotonines, *N*-acyle-dopamines, les amides primaires des acides gras et les *N*-acyle acides aminés. Chacun de ces médiateurs possède une action sur sa propre cible ainsi que sa propre voie métabolique. Ces voies métaboliques et ces récepteurs sont souvent partagés avec les molécules endocannabinoïdes, ce qui justifie le nom porté par ce complexe de signalisation : endocannabinoïdome [12]. Dans la suite de ce manuscrit, nous allons plus particulièrement nous intéresser aux deux molécules endocannabinoïdes-likes suivantes : *N*-oléoyléthanolamine (OEA) et *N*-palmitoyléthanolamide (PEA) (figure 2). Ce choix est justifié par le nombre croissant de publications (surtout pour le PEA), en particulier dans le domaine de la recherche clinique. L'OEA a été découverte en 1963 dans l'intestin grêle et dans le tissu adipocytaire de cobayes albinos [13]. La production d'OEA s'effectue à la demande dans les entérocytes, et elle est stimulée par l'alimentation [14]. Cette substance n'a pas d'activité directe sur les récepteurs cannabinoïdes. En fait, l'OEA a une action agoniste sur les récepteurs PPAR- $\alpha$  permettant l'activation de TRPV1 et une action agoniste sur les récepteurs GPR55 et GPR119 [15]. Le *N*-palmitoyléthanolamide a été isolé pour la première fois en 1958 dans le soja, le jaune d'œuf et la farine d'arachide [16]. Les propriétés biologiques principales de cette molécule, comme l'effet anti-inflammatoire et analgésique, sont secondaires à l'activation des récepteurs PPAR- $\alpha$ , CB2, TRPV1 et GPR55 et à l'inhibition de **l'hydrolase des amides d'acides gras** (FAAH) et **la cyclooxygénase 2** (COX-2). Les recherches actuelles sont en particulier dirigées vers les propriétés antalgiques du PEA, avec l'obtention de nouveaux traitements bien toléré comme cible [17].

## 2. Métabolisme des endocannabinoïdes

L'AEA comme l'OEA et le PEA sont des molécules appartenant à la classe des *N*-acyléthanolamines (NAE). L'AEA est produit à la demande à partir de *N*-acylphosphatidyléthanolamine (NAPE) par NAPE-spécifique phospholipase D [2]. La dégradation se fait par une oxydation et/ou une hydrolyse au niveau intracellulaire. L'AEA est dégradée par la *fatty acid amide hydrolase* (FAAH) vers l'éthanolamine et l'acide arachidonique [18].

Le 2-AG est produit à partir du diacylglycérol par la DAG lipase (DAGL) alpha ou beta [18]. Après production dans l'espace intracellulaire, l'AEA et le 2-AG diffusent passivement à travers la membrane cellulaire grâce à leurs propriétés hydrophobes. Le 2-AG est majoritairement hydrolysé par la monoacylglycérol lipase (MAGL) vers l'acide arachidonique et le glycérol [19].

L'OEA et le PEA sont principalement produits à la demande, comme AEA, à partir de la NAPE par la NAPE-spécifique phospholipase D sur la surface des membranes phospholipidiques [20,21]. L'OEA est métabolisé en éthanolamine et acide oléique par la FAAH ou *acylethanolamine-hydrolysing acid amidase* (NAAA) [22,23]. Le métabolisme du PEA en acide palmitique et éthanolamine s'effectue par la FAAH et la NAAA [22,24].

### 3. Récepteurs du système endocannabinoïde

Le récepteur CB1 (cannabinoid receptor 1) est un récepteur couplé avec une protéine Gi (inhibition de la voie de signalisation de l'adénylate cyclase) avec signalisation de l'AMP cyclique et activation de la voie de MAP (mitogen-activated protein) kinase. Le gène codant pour le récepteur CB1 (CNR1) se situe sur le chromosome 6q14-15 [25]. Ce gène code pour une protéine comportant 472 acides aminés. Le CB1 possède des propriétés de modulation des canaux ioniques, inhibant N- et P/R-type des canaux calciques, et stimulant les récepteurs potassiques [26]. L'activation du CB1 est à l'origine de propriétés anxiolytiques, analgésiques, neuroprotectrices et antiémétique [27,28].

Le récepteur CB2 (cannabinoid receptor 2) est codé par le gène CNR2 situé en 1p34-p35 et codant pour une protéine comportant 360 acides aminés. Ce récepteur ne présente que 44% d'homologie de séquence en nucléotides avec CB1 [29]. Chez l'homme, il a été identifié 2 isoformes de CB2R [30]. La distribution du récepteur CB2 est principalement associée au système immunitaire [31]. Le CB2 régule la libération des cytokines et la migration des cellules immunitaires [32].

Le récepteur GPR55 (CB3) est composé de 319 acides aminés avec le gène qui se situe sur chromosome 2q37 [33]. Celui-ci possède 14 à 15% d'homologie de séquence avec le CB1 et le CB2 [34]. Le récepteur GPR55 ne présente pas de site de liaison classique aux cannabinoïdes [35], mais l'anandamide et le virodhamine ont une activité d'agoniste partiel sur ce récepteur [36]. Le ligand naturel du récepteur GPR55 est le L- $\alpha$ -lysophosphatidylinositol (LPI) [34]. Il a été démontré l'implication du récepteur GPR55 dans l'inflammation, les douleurs

neuropathiques, certains désordres métaboliques, le développement osseux et les pathologies cancéreuses [37].

Le récepteur GRP119 est composé de 335 acides aminés avec le gène codant **qui se situe** sur le chromosome Xp26.1 [38]. Ce récepteur est très répandu dans le pancréas et il est capable d'agir comme récepteur à l'insuline et en réponse à la stimulation par les différents métabolites des lipides exogènes mais aussi endogènes [39]. L'OEA et **le** 2-monoacylglycérol possèdent une activité agoniste sur ce récepteur [40]. Les recherches récentes sur les agonistes et antagonistes exogènes du récepteur GRP119 ont démontré l'utilisation potentielle de ce récepteur comme cible dans le traitement du diabète et de l'obésité [41].

La sous-famille des récepteurs TRPV (transient receptor potential vanilloid) est composée de 6 récepteurs et elle est organisée en 4 groupes : TRPV1/TRPV2, TRPV3, TRPV4, et TRPV5/TRPV6 [42]. TRPV1, TRPV2, TRPV3 et TRPV4 sont modérément perméables pour les ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et les récepteurs TRPV5 et TRPV6 sont très sélectifs pour les ions calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) [43]. Le récepteur TRPV1, aussi connu comme le récepteur à la capsaïcine, **a été** le premier récepteur découvert et cloné de la sous famille des récepteurs TRPV1 [44]. TRPV1, composé de 828 acides aminés, est **codé** par un gène se situant sur le chromosome X. Ce récepteur possède une structure quaternaire avec 6 domaines transmembranaires [45]. L'activation de TRPV1 permet un influx extracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$ . Cette activation est impliquée dans plusieurs mécanismes physiologiques comme **la** libération des neurotransmetteurs, **l'**excitabilité membranaire et **la** contraction musculaire [46]. La similarité structurale entre la capsaïcine et l'AEA a permis de déterminer l'activité activatrice de l'AEA sur ce récepteur [47].

Les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyssomes (PPAR) appartiennent à la grande famille des récepteurs nucléaires d'hormones qui est composée des récepteurs PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\beta/\delta$  et PPAR- $\gamma$ . Les récepteurs PPAR impliqués dans le système endocannabinoïde sont PPAR- $\alpha$  et PPAR- $\beta$ , qui sont codés par les gènes NR1C1 (chromosome 22) et NUC1/NR1C2 (chromosome 6), respectivement [48]. Ces récepteurs sont impliqués dans la régulation de la transcription protéique, du métabolisme lipidique et de la thermogénèse [48]. L'AEA en se fixant sur les récepteurs PPAR affecte de façon significative la transcription [49].

## 4. Distribution et rôles des récepteurs endocannabinoïdes

### 4.1. Système nerveux central (SNC) et périphérique (SNP)

La microscopie électronique et la microscopie de haute résolution ont permis de faire des progrès majeurs dans la définition de la structure de répartition des récepteurs cannabinoïdes au niveau de système nerveux central et de ses implications dans la régulation de l'homéostasie. La localisation majoritaire du récepteur CB1 au niveau du SNC se situe au niveau présynaptique des neurones excitateurs et inhibiteurs [50]. L'autre point important est la présence de la DAGL (enzyme impliquée dans la biosynthèse de 2-AG) au niveau de la membrane post-synaptique et de la MAGL (enzyme responsable de la dégradation de 2-AG) au niveau des terminaisons axonales. Cette découverte a permis de mettre en évidence un système d'inhibition antérograde de la biosynthèse des endocannabinoïdes, particulièrement pour le 2-AG [51] et de définir l'application des endocannabinoïdes dans les processus d'excitation et d'inhibition de la neurotransmission, de la potentialisation et de la dépolarisation neuronale [52]. De récentes études ont souligné le rôle important du SEC dans la plasticité cérébrale au court et au long terme. Tout d'abord, le SEC, et plus particulièrement les CB1, sont impliqués dans la neurogénèse et dans la régulation du *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF). Ce facteur de croissance facilite la survie et le fonctionnement des neurones [53]. En effet, des souris CB1<sup>-/-</sup> montrent des niveaux de BDNF dans l'hippocampe significativement plus bas que celui de souris sauvages en condition de repos et en réponse à un stress [54]. De plus, une activation chronique des CB1 peut induire une augmentation du contenu en BDNF dans certaines zones du cerveau [55]. De plus, les cellules progénitrices neurales expriment abondamment le CB1R capable de favoriser *in vitro* la différenciation et la maturation neuronale des cellules astrocytaires par une inhibition de voie signalisation impliquant *Extracellular signal-regulated kinases 1/2* (ERK1/2) [56]. En conséquence de cela, il a été montré que qu'une concentration importante d'AEA dans le SNC est corrélée avec une augmentation de l'activité des CB1R dans l'hippocampe, permettant une neurogénèse hippocampique [57,58].

Une forte expression du CB1R est observée dans le bulbe olfactif, l'hippocampe, les noyaux gris centraux et le cervelet. Une expression modérée de CB1R est observée dans le cortex cérébral, le septum, l'amygdale et l'hypothalamus. Une faible expression est observée au niveau de la corne ventrale de la moelle épinière [59]. Au niveau du système nerveux périphérique, le CB1R est exprimé au niveau des terminaisons nerveuses sympathiques [60]. Le CB1R est



observé dans le ganglion du nerf trijumeau, les ganglions dorsaux et les terminaisons des nerfs cutanés (régulation de la nociception à partir des nerfs afférents) [61].

De nombreuses études sont en faveur d'un rôle majeur des CB2R dans la régulation immunitaire du SNC avec une expression de ce récepteur sur les cellules microgliales. Comme le récepteur CB1, le récepteur CB2 est impliqué dans la neurogénèse et la formation de la barrière hématoencéphalique [62,63].

L'implication des autres récepteurs de l'endocannabinoïdome au niveau du SNC a également été étudiée. Il a été démontré l'implication de TRPV1 dans la plasticité synaptique à court et long terme, avec une implication au niveau de la mémoire, de l'humeur, de la peur, de l'alimentation et du développement visuel et de la locomotion [64]. L'activation des récepteurs PPAR- $\alpha$  et PPAR- $\gamma$  (présents sur les astrocytes, les cellules microgliales et les neurones) produit une activité anti-inflammatoire et neuroprotectrice [65].

L'AEA, par potentialisation des effets de la sérotonine sur les récepteurs 5-HT<sub>1a</sub> à 89% et inhibition des récepteurs 5HT<sub>2a</sub> à 36%, aurait une action pharmacologique dans le traitement des migraines aiguës et chroniques [66].

L'autre molécule qui joue un rôle important dans la neuroprotection et la promotion de la consolidation de mémoire est l'OEA via le PPAR- $\alpha$  [67].

Après une première démonstration des propriétés anxiolytiques des phytocannabinoïdes en 1981 par Fabre et McLendon [68], de nombreuses études ont été menées pour étudier l'impact du système endocannabinoïde dans les maladies psychiatriques. Néanmoins, les connaissances de son mécanisme exact dans le processus pathologique demeurent mal connues [69]. Une diminution du taux d'AEA a été observée chez des patients souffrant de maladies psychiatriques liées au stress, incluant une dépression majeure et un syndrome post-traumatique [70]. Chez des souris avec une déplétion génétique en DAGL et une réduction de la signalisation, une augmentation de l'anxiété a été observée [71]. Une augmentation du taux d'AEA et de PEA a été observée chez des patients souffrant de schizophrénie dans les cellules du liquide cébrospinal [72]. Ce résultat est corrélé avec la concentration sanguine d'AEA qui est significativement augmentée ( $2,71 \pm 0,17 \mu\text{g/L}$  contre  $0,9 \pm 0,1 \mu\text{g/L}$  dans la groupe témoin,  $p\text{-value } 4,5 * 10^{-8}$ ) dans la schizophrénie aiguë avec une normalisation pendant la rémission ( $1,35 \pm 0,25 \mu\text{g/L}$  contre  $0,9 \pm 0,1 \mu\text{g/L}$  dans la groupe témoin,  $p\text{-value } 0,16$ ) [73]. Néanmoins, une autre étude ne présente pas les mêmes résultats d'augmentation du taux d'AEA ( $1,1 \pm 0,2 \mu\text{g/L}$  contre  $1,1 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$  dans la groupe témoin), et cette même étude ne démontre également pas d'augmentation de l'OEA ( $1,6 \pm 0,7 \mu\text{g/L}$  contre  $1,3 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$  dans la groupe témoin) [74].

L'autre aspect important à aborder dans le domaine de la psychiatrie est l'exposition aux substances exogènes psychoactives et les troubles d'addictifs. Etant donné que la production des endocannabinoïdes se fait à la demande, et est associée à une tonalité de signalisation modeste, l'hypothèse émise est que l'exposition aux xénobiotiques psychoactifs peut être associée à une augmentation de la production des molécules endocannabinoïdes [73]. Les données de la littérature montrent une augmentation d'AEA et de 2-AG dans les cultures cellulaires neuronales hippocampiques exposées à 2 g/L d'alcool [75]. Ces données ont été confirmées par une autre publication avec des cellules neuronales de noyau *accumbens* [76]. Cette stimulation du SEC par l'éthanol semble dépendre de la zone du cerveau et agir en tant qu'inhibiteur lors d'une exposition aiguë à l'éthanol [77]. De la même manière qu'avec l'alcool, les injections répétées de nicotine chez des rats sont associées à une augmentation du taux d'AEA dans la zone limbique et dans le tissu du *striatum*, mais avec une diminution des taux d'AEA et de 2-AG dans le tissu cortical [78]. L'exposition des rats aux opiacés montre une augmentation d'AEA et une diminution 2-AG dans le *striatum*, la zone limbique et l'hippocampe [77]. Enfin, l'exposition de rats à la cocaïne provoque une diminution de la concentration de 2-AG au niveau du cortex frontal et du tissu hippocampique [79–81].

Chez l'homme une diminution du taux plasmatique d'AEA et d'OEA a été observée dans le cas le cas de troubles addictifs (cannabis, alcool, cocaïne) par l'équipe de Desfosses : concentration moyenne d'AEA de 0,7 +/- 0,2 µg/L (à comparer avec le groupe témoin 1,1 +/- 0,4 µg/L ; *p-value* à 0,001) et celle d'OEA de 1,0 +/- 0,5 µg/L (à comparer avec le groupe témoin 1,6 +/- 0,7 µg/L) [74].

De nombreuses études ont été réalisées pour comprendre les variations de système endocannabinoïdes provoquées par les pathologies neurodégénératives. Dans la maladie de Parkinson, il est observé, d'une part une augmentation des concentrations circulantes d'AEA chez des patients non traités, et d'autre part une diminution de ces mêmes concentrations chez des patients recevant un traitement à base de précurseurs de la dopamine et d'agonistes dopaminergiques. Dans une population de patients atteints de Parkinson, l'AEA est situé dans un intervalle de 2,09 à 5,91 µg/L, ce qui paraît plus élevé comparé aux valeurs observées dans la population saine (0,70 à 3,13 µg/L) dans le liquide cébrospinal [82]. L'hypothèse émise est que cette augmentation est indirectement liée aux symptômes de la pathologie [12]. Néanmoins avec les études menées dans un modèle murin de maladie de Parkinson (traité par 6-OH-dopamine), l'utilisation des inhibiteurs de MAGL et de FAAH a démontré un effet bénéfique via la stimulation du récepteur CB2 avec un effet neuroprotecteur des inhibiteurs de MAGL [83] et via la stimulation du CB1 et/ou CB2 sur la motricité par les inhibiteurs de FAAH [84].

Un autre effet bénéfique de l'inhibition de la FAAH, notamment sur la neuro-inflammation et la neurotoxicité, a été mis en évidence par une augmentation du PEA, un endocannabinoïde-like, qui exerce son action par une activation de PPAR $\alpha$ . L'autre agoniste direct du PPAR $\alpha$ , l'OEA, possède des effets antidyskinésiques par l'activation du TRPV1 [85,86]. Des études cliniques dans la maladie de Parkinson ont été menées avec l'utilisation de CBD, de THC, de nabilone (analogue synthétique du THC) et de PEA, et elles montrent des effets bénéfiques sur la pathologie [12].

Dans la pathologie d'Alzheimer (MA), les modifications du système endocannabinoïde sont directement liées à la progression de la maladie. Dans une étude *post-mortem* de patients atteints d'Alzheimer, la concentration en anandamide est diminuée dans le cortex frontal et temporal, en corrélation inverse avec l'accumulation de peptide bêta-amyloïde [87]. Cette observation est corrélée avec une augmentation de l'expression et de l'activité de FAAH dans les astrocytes et les cellules microgliales [88]. La stimulation des CB2R diminue l'effet pro inflammatoire des cytokines libérées à partir des microglies dans la maladie d'Alzheimer [89].

L'autre observation intéressante est une augmentation par le 2-AG de la signalisation au niveau hippocampique avec une augmentation de l'expression de la DAGL [90]. Ce changement est corrélé à une augmentation plasmatique de 2-AG (Groupe patient atteints de MA : 5,3  $\mu\text{g/L}$  avec un écart-type  $\pm$  4,8  $\mu\text{g/L}$  ; groupe contrôle : 3,1  $\mu\text{g/L}$  avec un écart-type 2,5  $\mu\text{g/L}$  ; *p-value* 0,02) [91]. Les conséquences de l'élévation du 2-AG au niveau cérébral ont été également évaluées dans un modèle murin atteint de la MA (FAD-mice) en présence d'inhibiteur de MAGL. Ces modifications sont en lien avec des propriétés anti-inflammatoires et une diminution de la neurodégénérescence [92]. De la même manière que dans la maladie d'Alzheimer, dans la maladie de Parkinson, l'inhibition de la FAAH provoque une augmentation de PEA qui possède des propriétés anti-inflammatoires via l'activation de PPAR $\alpha$  [93].

Dans la maladie de Huntington (MH), une pathologie héréditaire, associée à la destruction des neurones dopaminergiques dans le *globus pallidus* et conduisant à une déficience locomotrice et mentale, les concentrations lymphocytaires en AEA chez un patient atteint de MH sont 6 fois supérieures à celles dans une population lymphocytaire d'un groupe sain (38,2  $\pm$  12,5  $\mu\text{g/g}$  de protéine contre 6,3  $\pm$  1,4  $\mu\text{g/g}$  de protéine, *p-value* : 0,0006). Cette modification peut être expliquée par une diminution de l'activité de la FAAH dans cette pathologie [94].

Dans la sclérose en plaque, une pathologie inflammatoire chronique du système nerveux central caractérisée par une réponse auto-immune envers la myéline, certaines études démontrent une activité bénéfique de l'activation des récepteurs CB1 et CB2 [12]. Jean-Gilles L. *et al.* se sont

intéressés à l'impact de cette pathologie sur les concentrations plasmatiques des endocannabinoïdes et endocannabinoïdes-like. Ces auteurs ont démontré une augmentation significative de l'AEA dans les trois groupes de patients (« rémittente – progressive », « progressive secondaire » et « progressive primaire »), du PEA dans les groupes « rémittente – progressive » et « progressive secondaire » et de l'OEA dans le groupe « progressive secondaire » [95]. Ces données d'augmentation des ligands de l'endocannabinoïdome suggèrent une réponse adaptative de l'organisme envers la pathologie [12].

Les perturbations des concentrations des endocannabinoïdes ont été démontrées dans de nombreuses autres pathologies neurologiques telles que la sclérose latérale amyotrophique, les lésions cérébrales traumatiques, les accidents vasculaires cérébraux, les crises épileptiques et l'épilepsie [12]. Dans la majorité de ces pathologies, les études des variations des ligands du système endocannabinoïde ont été étudiées dans des modèles murins [12].

#### 4.2. Système gastro-intestinal

L'endocannabinoïdome joue un rôle au niveau de tube digestif dans la modulation de la mobilité gastro-intestinale, la sécrétion de l'acide gastrique, les hormones, les neurotransmetteurs, la perméabilité de l'épithélium intestinal, et dans l'expression des microbiotes. À partir de l'hypothalamus, il permet une régulation de l'appétit et de la balance énergétique. L'action des ECS est largement médiée par l'action sur CB1R [27]. Il y a une régulation par l'AEA, le 2AG et l'OEA, de la prise alimentaire et de la sensibilité pour les lipides [96]. L'OEA régule en particulier l'absorption des acides gras par une activation de deux voies homéostatiques vagues des nerfs afférents [97] et l'activation de CB2R normalise la motilité gastrique. Les ECs sont importants dans le système anti-inflammatoire permettant la réduction de la toxicité gastrique et de l'inflammation intestinale en conduisant à un blocage du développement des colites [98]. L'AEA joue un rôle dans la physiopathologie du syndrome du côlon irritable, dans lequel il a été démontré une augmentation du nombre des récepteurs TRPV1 au niveau du colon. Une hypothèse d'application du cannabidiol (CBD) dans la prise en charge des colites repose sur une augmentation du niveau d'AEA par le CBD, ce qui permettrait une désensibilisation de TRPV1 avec une diminution des symptômes. [99,100].

#### 4.3. Système hépatique

La production des endocannabinoïdes, notamment de l'AEA et du 2-AG, au niveau hépatique est assurée par les hépatocytes et les cellules endothéliales [101]. Des études récentes ont démontré des liens entre le système endocannabinoïde, le métabolisme hépatique, la stéatose

hépatique et la cirrhose [101]. Dans ces études, il a été mis en évidence une augmentation de la concentration plasmatique d'AEA et de 2-AG chez des patients avec une stéatose hépatique non alcoolique, quel que soit leur IMC. Ce processus semble être associée à plusieurs fonctions hépatiques [102]. Au stade de cirrhose, l'AEA périphérique reste augmenté avec une augmentation de l'OEA et du PEA. Le taux de 2-AG reste lui inchangé [103].

L'élévation des endocannabinoïdes et endocannabinoïdes-like s'effectue en réponse à l'évènement pathologique. Il a été démontré que l'AEA possède une activité anti-fibrogénique avec une inhibition de la prolifération des cellules conjonctives [104]. Et parallèlement, les propriétés anti-inflammatoires de PEA sont associées à l'activation du récepteur PPAR $\alpha$  avec une inhibition de la réponse immunitaire [47].

#### 4.4. Système immunitaire

L'endocannabinoïdome joue un rôle dans la signalisation des cellules immunitaires, en particulier dans la réponse immunitaire adaptative [105]. Le 2-AG en activant le récepteur CB2, inhibe la réponse immunitaire et la migration des cellules immunitaires [106]. L'AEA inhibe la production des cytokines pro-inflammatoires, et provoque une diminution des niveaux d'IL6 et IL8. En activant le récepteur de CB2, l'AEA diminue une libération d'IL-2, de TNF alpha et d'INF gamma, par les lymphocytes T activés périphériques [107].

#### 4.5. Système musculaire

Dans le tissu musculaire, l'activation des récepteurs cannabinoïdes provoque une diminution de la sensibilité à l'insuline [108] et l'entrée du glucose dans la cellule [109]. La stimulation des CB1R dans le tissu adipeux induit la lipogenèse [110]. De nombreuses recherches s'intéressent actuellement à l'association entre l'endocannabinoïdome et l'exercice physique. Celles-ci ont mis en évidence l'augmentation des concentrations d'AEA suite à un exercice physique [111]. Koltyn *et al.* ont complété ces résultats et ont constaté une élévation d'autres endocannabinoïdes et endocannabinoïdes-like tels que le PEA, l'OEA [108], le docsahexaenoylethanolamide (DEA) et le 2-oleoylglycerol (2-OG) [112]. Ainsi, la stimulation du système endocannabinoïde aurait un effet néfaste lors des adaptations induites par l'exercice physique.

La figure 3 présente une synthèse des principales fonctions du système endocannabinoïde dans l'organisme et les variations de concentrations des endocannabinoïdes et des

endocannabinoïdes-like observées dans les pathologies neurologiques, psychiatriques et hépatiques.

## **B – Méthodes de dosage plasmatique des substances endocannabinoïdes et endocannabinoïdes-like**

### **1. Généralités concernant plasmatique des ECS (AEA, 2-AG, OEA et PEA)**

La mise au point d'une méthode de dosage plasmatique de molécules telles que les endocannabinoïdes est particulièrement complexe en raison des propriétés de ces substances :

- des concentrations sanguines physiologiques très faibles nécessitant une sensibilité de détection performante. Les concentrations sanguines usuelles compilées à partir de 15 études différentes vont de 0,2 à 5,0 µg/L pour AEA, de 1,2 à 53 µg/L pour OEA, de 1,4 à 125 µg/L pour PEA et de 0,6 à 15 µg/L pour 2-AG [113].
- une faible stabilité de ces molécules à la température ambiante, et surtout une isomérisation spontanée du 2-AG vers le 1-AG provoquée et influencée par les différents solvants organiques utilisés dans les méthodes d'extraction en phase liquide, la présence de sérum albumine dans l'échantillon, des hautes valeurs de pH et la température élevée dans la préparation pré analytique des échantillons [114,115].
- La séparation des isomères de l'OEA (VEA, EEA, tVEA, PeEA, t-PeEA) [116,117].
- La séparation de l'isomère de l'AEA, l'O-AEA qui est une autre molécule endocannabinoïdes [118].

L'ensemble de ces difficultés implique la nécessité d'une étape de purification pré-analytique poussée permettant d'améliorer la sensibilité et de minimiser l'effet de matrice [119].

Le Tableau 1 présente l'ensemble des méthodes répertoriées dans la littérature sur la période de 2010 à 2020. Précédemment, une telle revue de la littérature a été réalisée par l'équipe de Zoerner *et al.* avec une synthèse bibliographique de 1998 à 2010 [120] et par l'équipe de Marchioni *et al.* de l'année 2010 à 2017 [82].

### **2. Techniques chromatographiques**

A l'heure actuelle, les méthodes les plus courantes de dosage des endocannabinoïdes sont basées sur la technique de chromatographie liquide avec détection par spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM). Mais différentes approches techniques (certaines plutôt historiques et

aujourd'hui obsolètes) ont été utilisés dans les dosages des principaux endocannabinoïdes étudiés : 2-AG et AEA. Les techniques retrouvées dans la littérature sont donc [120] :

1. La chromatographie gazeuse couplée avec détection par spectrométrie de masse (CG-SM et CG-SM/SM)
2. La chromatographie liquide avec détection UV par barrette de diodes (CL-UV/BD)
3. La chromatographie liquide avec détection par fluorimétrie (CL-Fluo)
4. La chromatographie liquide avec détection par spectrométrie de masse (CL-SM et CL-SM/SM)

### **2.1. Chromatographie gazeuse avec détection par spectrométrie de masse (CG-SM et CG-SM/SM)**

L'utilisation des techniques de chromatographie gazeuse implique une étape préalable de dérivation permettant l'obtention d'une sensibilité et d'une spécificité suffisantes pour le dosage des endocannabinoïdes [120]. L'étape de dérivation permet en effet d'augmenter la stabilité et la volatilité de ces substances. Néanmoins, Maccarrone *et al.* rapportent la possibilité d'utilisation de la chromatographie gazeuse sans dérivation pour le dosage d'ECs dans les cellules tumorales humaines et les cultures de cellules humaines. Cette application est probablement possible en raison des fortes concentrations de ces endocannabinoïdes dans ces matrices [121].

### **2.2. Chromatographie liquide avec détection UV par barrette de diodes (CL-UV/BD) et par fluorescence (CL-Fluo)**

Compte tenu des propriétés structurales des ECs et de l'absence de structure chromophore et fluorophore, la dérivation chimique est également nécessaire pour leur détection en UV ou par fluorescence. Les deux méthodes décrites dans la littérature permettent (1) le dosage de l'AEA après une dérivation avec le chlorure de dansyl absorbant en UV [122], et (2) le dosage de l'AEA et du 2-AG en fluorescence après la dérivation avec du 4-(N – chloroformylmethyl – N – methyl ) amino – 7 - N,N – diméthylaminosulphonyl - 2,1,3 benzoxadiazol [123].

### **2.3. Chromatographie liquide avec détection par spectrométrie de masse (CL-SM, CL-SM/SM)**

La chromatographie liquide (en phase inverse) couplée à la spectrométrie de masse est devenue la technique de référence pour le dosage des endocannabinoïdes en raison de ses grandes sensibilités et spécificités, adaptées aux faibles concentrations de ces molécules et à leurs propriétés physicochimiques. A l'heure actuelle, de nombreuses méthodes chromatographiques en CL-SM/SM sont développées pour les dosages des ECs dans différentes matrices : urine,



foie, lait, liquide cébrospinal, cellules cultivées *in vitro*, sang total, plasma, sérum, cheveux et tissu cérébral.

### 3. Prétraitement des échantillons et étape d'extraction

Différentes méthodes de prétraitement des échantillons sont rapportées dans la littérature [82] :

1. Des méthodes « conventionnelles » :
  - a. La simple précipitation protéique
  - b. L'extraction liquide-liquide (LLE)
  - c. L'extraction en phase solide (SPE)
2. De « nouvelles » méthodes d'extraction :
  - a. L'utilisation d'une deuxième colonne de purification (column-switching LC-MS/MS)
  - b. La micro-SPE
  - c. La microextraction par liquide magnétique (MLME)

#### 3.1. Précipitation protéique

La méthode de précipitation protéique avec les solvants organiques (notamment l'acétonitrile) des échantillons biologiques. La précipitation protéique est donc une approche non sélective. L'application de cette méthode de traitement pré-analytique dans le domaine de dosage des endocannabinoïdes sont rapportées dans certaines publications [124–126].

#### 3.2. Extraction liquide-liquide (LLE)

La méthode d'extraction liquide-liquide avec les solvants organiques non miscibles à l'eau pour le dosage des endocannabinoïdes est basée sur les propriétés lipophiles de ces molécules. Les différents solvants utilisés sont principalement le chloroforme, le toluène, le mélange de chloroforme et de méthanol et l'acétate d'éthyle/hexane [120]. L'évaluation de la LLE doit, ici, intégrer la possibilité d'utiliser différents solvants, une évaluation de l'effet de matrice, le pourcentage d'isomérisation du 2-AG vers le 1-AG et la stabilité de 2-AG dans les échantillons plasmatiques. L'effet de matrice a été évalué avec les mesures des concentrations de phospholipides extraits après LLE par des dosages en CL-SM/SM en ionisation négative, selon une liste de phospholipides proposée par Xia *et al.* [127]. La littérature montre que les pourcentages d'extraction avec le toluène, l'éthyle acétate/isohexane 1:1, l'éthyle acétate, et l'éthyle acétate heptane 1:9 sont de l'ordre de 70 à 80% pour le 2-AG et de 60 à 70 % pour l'AEA [120]. La LLE avec le toluène et la solution d'acétate d'éthyl/l'isohexane démontre les meilleurs résultats sur l'effet de matrice (avec 2% pour le toluène et 5% pour l'acétate



d'éthyle/isoheptane 1:1) et, pour le toluène, un plus faible pourcentage d'isomérisation du 2-AG vers le 1-AG [114].

Une des variantes de l'extraction liquide-liquide est une extraction liquide-liquide avec l'utilisation de mélange des sels (*Salting-out assisted liquid-liquid extraction* : SALLE) (magnésium sulfate, acétate d'ammonium, sulfate de zinc et chlorure de calcium) avec les solvants organiques miscibles dans l'eau (acétonitrile, acétone, acétate d'éthyle et isopropanol). L'utilisation de ces sels permet et/ou améliore la séparation des phases [128]. Selon les données disponibles, ce type d'extraction permet de gagner en rapidité, est moins nocif pour l'environnement et présente un coût de revient plus faible qu'avec les autres méthodes d'extraction par LLE [82].

### **3.4. L'extraction en phase solide (SPE)**

A l'heure actuelle, la SPE a démontré une grande sélectivité par rapport à la précipitation protéique ou la LLE. Les SPE avec phase stationnaire inverse sont de plus en plus utilisées à l'heure actuelle. Le principe de la SPE est l'adsorption sur la phase stationnaire (présent dans une cartouche) des molécules à extraire, suivi d'une élution de ces composés d'intérêt. L'utilisation de phase stationnaire de type C18 permet la séparation des endocannabinoïdes et des molécules interférentes, et donc, de diminuer le bruit de fond ainsi que l'effet de suppression des ions au niveau du spectromètre de masse [129].

### **3.5. Nouvelles méthodes d'extraction**

Les nouvelles techniques de détection développées ont permis de minimiser les étapes de préparation des échantillons biologiques ainsi que le temps nécessaire à l'extraction [130].

#### **3.5.1. Utilisation d'une seconde colonne de purification (« column switching » LC-MS/MS)**

La méthode de « column switching » en CL-SM/SM pour le dosage des endocannabinoïdes a été décrite par Ji D. *et al.* avec la mise en place d'une méthode du dosage du NADA et de l'OLDA dans le cerveau de rats [131]. Une autre méthode sur la base de « column-switching » en micro-flow pour le dosage d'AEA, de 2-AG, de 1-AG, de PEA et de LEA a été développée par Kirkwood *et al.* dans le plasma des ours noirs (avec utilisation de la LLE et de 2 colonnes en « column-switching ») [132].

#### **3.5.2. Micro-SPE**

Les méthodes utilisant la  $\mu$ -SPE consistent en utilisation d'embouts de pipettes avec une phase stationnaire inverse C18 à l'intérieur des embouts. Cette méthode, décrite par M. Sergi *et al.*, est couplée avec une précipitation protéique préalable pour le dosage de l'AEA et du 2-AG. Les molécules d'intérêt sont retenues sur la phase stationnaire de l'embout de pipette, puis sont

éluées avec une solution de méthanol contenant 10 mM d'acide formique [126]. Les méthodes à la base de la  $\mu$ -SPE permettent de minimiser le temps de préparation des échantillons par rapport aux méthodes utilisant la SPE conventionnelle [82].

### 3.5.3. Micro-extraction par liquide magnétique (MLME)

Une innovation des dernières années en technique d'extraction est la micro-extraction par liquide magnétique (MLME) qui utilise des liquides magnétiques à base de nanoparticules de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . L'utilisation de ces nanoparticules diluées dans le toluène permet une adsorption physique des molécules de toluène, et offre alors la possibilité d'effectuer une extraction liquide – liquide. Après la désorption des molécules du mélange magnétique de toluène, une étape de dérivation avec du 4-DMABC est proposée pour augmenter la sensibilité. Selon les auteurs, cette méthode permet une extraction rapide, des résultats de quantification fiables, une prévention de l'isomérisation du 2-AG vers le 1-AG et une amélioration considérable de la sensibilité avec des limites de quantification de 2,7 ng/L pour l'AEA et 20 ng/L pour le 2-AG [133].

## Conclusion

Dans le domaine médical, le système endocannabinoïde (SEC) est donc sujet qui est d'actualité pour des raisons scientifiques et médiatiques (cannabis, cannabidiol, ...). Toutefois, la connaissance précise de ses rôles en situation physiologique ou pathologique demeure imparfaite. Au-delà d'implications multiples du SEC, cette imperfection de compréhension repose surtout sur la difficulté analytique de son exploration. Les méthodes de dosages des endocannabinoïdes (et endocannabinoïdes-like) sont rares, souvent chronophages et non appliquées en routine biologique. Mais elles s'inscrivent dans la perspective du progrès des connaissances et de la compréhension système endocannabinoïde. Par ailleurs, il est possible qu'à terme, un endocannabinoïde trouve une place médicale en tant que biomarqueur (diagnostic et/ou suivi dans certaines pathologies), voire, en tant que principe actif de médicaments utilisables dans des indications bien spécifiques.

### Déclaration d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt en lien avec cet article.

## Références

- [1] Mechoulam R. *Cannabinoids As Therapeutic Agents*. CRC Press; 2019.
- [2] Pacher P, Bátkai S, Kunos G. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* 2006;58:389–462. <https://doi.org/10.1124/pr.58.3.2>.
- [3] Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish | *Journal of the American Chemical Society* n.d. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja01062a046> (accessed May 19, 2021).
- [4] Whitlow CT, Freedland CS, Porrino LJ. Functional consequences of the repeated administration of Delta9-tetrahydrocannabinol in the rat. *Drug Alcohol Depend* 2003;71:169–77. [https://doi.org/10.1016/s0376-8716\(03\)00135-2](https://doi.org/10.1016/s0376-8716(03)00135-2).
- [5] Di Marzo V, De Petrocellis L. Endocannabinoids as regulators of transient receptor potential (TRP) channels: A further opportunity to develop new endocannabinoid-based therapeutic drugs. *Curr Med Chem* 2010;17:1430–49. <https://doi.org/10.2174/092986710790980078>.
- [6] Pistis M, Melis M. From surface to nuclear receptors: the endocannabinoid family extends its assets. *Curr Med Chem* 2010;17:1450–67. <https://doi.org/10.2174/092986710790980014>.
- [7] Maccarrone M, Dainese E, Oddi S. Intracellular trafficking of anandamide: new concepts for signaling. *Trends Biochem Sci* 2010;35:601–8. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.05.008>.
- [8] Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992;258:1946–9. <https://doi.org/10.1126/science.1470919>.
- [9] Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;215:89–97. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2437>.
- [10] Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995;50:83–90. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00109-d](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00109-d).
- [11] Pertwee RG. Endocannabinoids and Their Pharmacological Actions. *Handb Exp Pharmacol* 2015;231:1–37. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-20825-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-20825-1_1).

- [12] Cristino L, Bisogno T, Di Marzo V. Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2020;16:9–29. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0284-z>.
- [13] Bachur NR, Udenfriend S. Microsomal synthesis of fatty acid amides. *J Biol Chem* 1966;241:1308–13.
- [14] Astarita G, Rourke BC, Andersen JB, Fu J, Kim JH, Bennett AF, et al. Postprandial increase of oleoylethanolamide mobilization in small intestine of the Burmese python (*Python molurus*). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290:R1407-1412. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00664.2005>.
- [15] Borrelli F, Izzo AA. Role of acylethanolamides in the gastrointestinal tract with special reference to food intake and energy balance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009;23:33–49. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.10.003>.
- [16] Ganley OH, Graessle OE, Robinson HJ. Anti-inflammatory activity on compounds obtained from egg yolk, peanut oil, and soybean lecithin. *J Lab Clin Med* 1958;51:709–14.
- [17] Rankin L, Fowler CJ. The Basal Pharmacology of Palmitoylethanolamide. *Int J Mol Sci* 2020;21. <https://doi.org/10.3390/ijms21217942>.
- [18] Murataeva N, Straiker A, Mackie K. Parsing the players: 2-arachidonoylglycerol synthesis and degradation in the CNS. *Br J Pharmacol* 2014;171:1379–91. <https://doi.org/10.1111/bph.12411>.
- [19] Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimotodani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev* 2009;89:309–80. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2008>.
- [20] Hansen HH, Hansen SH, Schousboe A, Hansen HS. Determination of the phospholipid precursor of anandamide and other N-acylethanolamine phospholipids before and after sodium azide-induced toxicity in cultured neocortical neurons. *J Neurochem* 2000;75:861–71. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0750861.x>.
- [21] Okamoto Y, Morishita J, Tsuboi K, Tonai T, Ueda N. Molecular characterization of a phospholipase D generating anandamide and its congeners. *J Biol Chem* 2004;279:5298–305. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306642200>.
- [22] Ueda N, Yamanaka K, Yamamoto S. Purification and characterization of an acid amidase selective for N-palmitoylethanolamine, a putative endogenous anti-inflammatory substance. *J Biol Chem* 2001;276:35552–7. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106261200>.

- [23] Tsuboi K, Sun Y-X, Okamoto Y, Araki N, Tonai T, Ueda N. Molecular characterization of N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase, a novel member of the choloylglycine hydrolase family with structural and functional similarity to acid ceramidase. *J Biol Chem* 2005;280:11082–92. <https://doi.org/10.1074/jbc.M413473200>.
- [24] Cravatt BF, Giang DK, Mayfield SP, Boger DL, Lerner RA, Gilula NB. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature* 1996;384:83–7. <https://doi.org/10.1038/384083a0>.
- [25] Lutz B. Molecular biology of cannabinoid receptors. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002;66:123–42. <https://doi.org/10.1054/plef.2001.0342>.
- [26] Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth S, Hermansson N-O, Leonova J, et al. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* 2007;152:1092–101. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707460>.
- [27] Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, Di Marzo V, Mechoulam R. Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends Pharmacol Sci* 2009;30:515–27. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.07.006>.
- [28] Micale V, Di Marzo V, Sulcova A, Wotjak CT, Drago F. Endocannabinoid system and mood disorders: priming a target for new therapies. *Pharmacol Ther* 2013;138:18–37. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.12.002>.
- [29] Zhang H-Y, Bi G-H, Li X, Li J, Qu H, Zhang S-J, et al. Species differences in cannabinoid receptor 2 and receptor responses to cocaine self-administration in mice and rats. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 2015;40:1037–51. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.297>.
- [30] Liu Q-R, Pan C-H, Hishimoto A, Li C-Y, Xi Z-X, Llorente-Berzal A, et al. Species differences in cannabinoid receptor 2 (CNR2 gene): identification of novel human and rodent CB2 isoforms, differential tissue expression and regulation by cannabinoid receptor ligands. *Genes Brain Behav* 2009;8:519–30. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2009.00498.x>.
- [31] Klein TW, Newton CA, Friedman H. Cannabinoids and the immune system. *Pain Res Manag* 2001;6:95–101. <https://doi.org/10.1155/2001/326867>.
- [32] Yang P, Wang L, Xie X-Q. Latest advances in novel cannabinoid CB(2) ligands for drug abuse and their therapeutic potential. *Future Med Chem* 2012;4:187–204. <https://doi.org/10.4155/fmc.11.179>.
- [33] Sawzdargo M, Nguyen T, Lee DK, Lynch KR, Cheng R, Heng HH, et al. Identification and cloning of three novel human G protein-coupled receptor genes GPR52, PsiGPR53

- and GPR55: GPR55 is extensively expressed in human brain. *Brain Res Mol Brain Res* 1999;64:193–8. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(98\)00277-0](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(98)00277-0).
- [34] Oka S, Nakajima K, Yamashita A, Kishimoto S, Sugiura T. Identification of GPR55 as a lysophosphatidylinositol receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;362:928–34. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.08.078>.
- [35] Petitet F, Donlan M, Michel A. GPR55 as a new cannabinoid receptor: still a long way to prove it. *Chem Biol Drug Des* 2006;67:252–3. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2006.00370.x>.
- [36] Sharir H, Console-Bram L, Mundy C, Popoff SN, Kapur A, Abood ME. The endocannabinoids anandamide and virodhamine modulate the activity of the candidate cannabinoid receptor GPR55. *J Neuroimmune Pharmacol Off J Soc NeuroImmune Pharmacol* 2012;7:856–65. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9351-6>.
- [37] Lingerfelt MA, Zhao P, Sharir HP, Hurst DP, Reggio PH, Abood ME. Identification of Crucial Amino Acid Residues Involved in Agonist Signaling at the GPR55 Receptor. *Biochemistry* 2017;56:473–86. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b01013>.
- [38] Fredriksson R, Höglund PJ, Gloriam DEI, Lagerström MC, Schiöth HB. Seven evolutionarily conserved human rhodopsin G protein-coupled receptors lacking close relatives. *FEBS Lett* 2003;554:381–8. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(03\)01196-7](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(03)01196-7).
- [39] Chu Z-L, Carroll C, Alfonso J, Gutierrez V, He H, Lucman A, et al. A role for intestinal endocrine cell-expressed g protein-coupled receptor 119 in glycemic control by enhancing glucagon-like Peptide-1 and glucose-dependent insulintropic Peptide release. *Endocrinology* 2008;149:2038–47. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0966>.
- [40] Hansen HS, Rosenkilde MM, Holst JJ, Schwartz TW. GPR119 as a fat sensor. *Trends Pharmacol Sci* 2012;33:374–81. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.03.014>.
- [41] Chen J, Sang Z, Li L, He L, Ma L. Discovery of 5-methyl-2-(4-((4-(methylsulfonyl)benzyl)oxy)phenyl)-4-(piperazin-1-yl)pyrimidine derivatives as novel GRP119 agonists for the treatment of diabetes and obesity. *Mol Divers* 2017;21:637–54. <https://doi.org/10.1007/s11030-017-9755-6>.
- [42] Du Q, Liao Q, Chen C, Yang X, Xie R, Xu J. The Role of Transient Receptor Potential Vanilloid 1 in Common Diseases of the Digestive Tract and the Cardiovascular and Respiratory System. *Front Physiol* 2019;10:1064. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01064>.
- [43] Nilius B, Owsianik G. The transient receptor potential family of ion channels. *Genome Biol* 2011;12:218. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-3-218>.

- [44] Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997;389:816–24. <https://doi.org/10.1038/39807>.
- [45] Moiseenkova-Bell VY, Stanciu LA, Serysheva II, Tobe BJ, Wensel TG. Structure of TRPV1 channel revealed by electron cryomicroscopy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:7451–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711835105>.
- [46] Jordt SE, Ehrlich BE. TRP channels in disease. *Subcell Biochem* 2007;45:253–71. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6191-2\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6191-2_9).
- [47] Ross RA. Anandamide and vanilloid TRPV1 receptors. *Br J Pharmacol* 2003;140:790–801. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705467>.
- [48] Wójtowicz S, Strosznajder AK, Jeżyna M, Strosznajder JB. The Novel Role of PPAR Alpha in the Brain: Promising Target in Therapy of Alzheimer’s Disease and Other Neurodegenerative Disorders. *Neurochem Res* 2020;45:972–88. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-02993-5>.
- [49] Bouaboula M, Hilairat S, Marchand J, Fajas L, Le Fur G, Casellas P. Anandamide induced PPARgamma transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Eur J Pharmacol* 2005;517:174–81. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.05.032>.
- [50] Hu SS-J, Mackie K. Distribution of the Endocannabinoid System in the Central Nervous System. *Handb Exp Pharmacol* 2015;231:59–93. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-20825-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-20825-1_3).
- [51] Wilson RI, Nicoll RA. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* 2001;410:588–92. <https://doi.org/10.1038/35069076>.
- [52] Araque A, Castillo PE, Manzoni OJ, Tonini R. Synaptic functions of endocannabinoid signaling in health and disease. *Neuropharmacology* 2017;124:13–24. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.017>.
- [53] Vicario-Abejón C, Owens D, McKay R, Segal M. Role of neurotrophins in central synapse formation and stabilization. *Nat Rev Neurosci* 2002;3:965–74. <https://doi.org/10.1038/nrn988>.
- [54] Aso E, Ozaita A, Valdizán EM, Ledent C, Pazos A, Maldonado R, et al. BDNF impairment in the hippocampus is related to enhanced despair behavior in CB1 knockout mice. *J Neurochem* 2008;105:565–72. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05149.x>.

- [55] Butovsky E, Juknat A, Goncharov I, Elbaz J, Eilam R, Zangen A, et al. In vivo up-regulation of brain-derived neurotrophic factor in specific brain areas by chronic exposure to Delta-tetrahydrocannabinol. *J Neurochem* 2005;93:802–11. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03074.x>.
- [56] Compagnucci C, Di Siena S, Bustamante MB, Di Giacomo D, Di Tommaso M, Maccarrone M, et al. Type-1 (CB1) cannabinoid receptor promotes neuronal differentiation and maturation of neural stem cells. *PloS One* 2013;8:e54271. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054271>.
- [57] Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van Cleemput J, Ji S-P, Bai G, et al. Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest* 2005;115:3104–16. <https://doi.org/10.1172/JCI25509>.
- [58] Hill MN, Titterness AK, Morrish AC, Carrier EJ, Lee TT-Y, Gil-Mohapel J, et al. Endogenous cannabinoid signaling is required for voluntary exercise-induced enhancement of progenitor cell proliferation in the hippocampus. *Hippocampus* 2010;20:513–23. <https://doi.org/10.1002/hipo.20647>.
- [59] Mackie K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb Exp Pharmacol* 2005:299–325. [https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2\\_10](https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_10).
- [60] Tam J, Trembovler V, Di Marzo V, Petrosino S, Leo G, Alexandrovich A, et al. The cannabinoid CB1 receptor regulates bone formation by modulating adrenergic signaling. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol* 2008;22:285–94. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7957com>.
- [61] Clapper JR, Moreno-Sanz G, Russo R, Guijarro A, Vacondio F, Duranti A, et al. Anandamide suppresses pain initiation through a peripheral endocannabinoid mechanism. *Nat Neurosci* 2010;13:1265–70. <https://doi.org/10.1038/nn.2632>.
- [62] Palazuelos J, Ortega Z, Díaz-Alonso J, Guzmán M, Galve-Roperh I. CB2 cannabinoid receptors promote neural progenitor cell proliferation via mTORC1 signaling. *J Biol Chem* 2012;287:1198–209. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.291294>.
- [63] Chung YC, Shin W-H, Baek JY, Cho EJ, Baik HH, Kim SR, et al. CB2 receptor activation prevents glial-derived neurotoxic mediator production, BBB leakage and peripheral immune cell infiltration and rescues dopamine neurons in the MPTP model of Parkinson's disease. *Exp Mol Med* 2016;48:e205. <https://doi.org/10.1038/emm.2015.100>.



- [64] Edwards JG. TRPV1 in the central nervous system: synaptic plasticity, function, and pharmacological implications. *Prog Drug Res Fortschritte Arzneimittelforschung Progres Rech Pharm* 2014;68:77–104. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-0828-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-0828-6_3).
- [65] Villapol S. Roles of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma on Brain and Peripheral Inflammation. *Cell Mol Neurobiol* 2018;38:121–32. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0554-5>.
- [66] Boger DL, Patterson JE, Jin Q. Structural requirements for 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>1A</sub> serotonin receptor potentiation by the biologically active lipid oleamide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:4102–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.8.4102>.
- [67] Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V, Cuomo V, Astarita G, Fu J, et al. Fat-induced satiety factor oleoylethanolamide enhances memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:8027–31. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903038106>.
- [68] Fabre LF, McLendon D. The efficacy and safety of nabilone (a synthetic cannabinoid) in the treatment of anxiety. *J Clin Pharmacol* 1981;21:377S-382S. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1981.tb02617.x>.
- [69] Navarrete F, García-Gutiérrez MS, Jurado-Barba R, Rubio G, Gasparyan A, Austrich-Olivares A, et al. Endocannabinoid System Components as Potential Biomarkers in Psychiatry. *Front Psychiatry* 2020;11:315. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00315>.
- [70] Neumeister A, Normandin MD, Pietrzak RH, Piomelli D, Zheng MQ, Gujarro-Anton A, et al. Elevated brain cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor availability in post-traumatic stress disorder: a positron emission tomography study. *Mol Psychiatry* 2013;18:1034–40. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.61>.
- [71] Jenniches I, Ternes S, Albayram O, Otte DM, Bach K, Bindila L, et al. Anxiety, Stress, and Fear Response in Mice With Reduced Endocannabinoid Levels. *Biol Psychiatry* 2016;79:858–68. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.03.033>.
- [72] Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport* 1999;10:1665–9. <https://doi.org/10.1097/00001756-199906030-00008>.
- [73] De Marchi N, De Petrocellis L, Orlando P, Daniele F, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. *Lipids Health Dis* 2003;2:5. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-2-5>.
- [74] Desfossés J, Stip E, Bentaleb LA, Lipp O, Chiasson J-P, Furtos A, et al. Plasma Endocannabinoid Alterations in Individuals with Substance Use Disorder are Dependent

- on the “Mirror Effect” of Schizophrenia. *Front Psychiatry* 2012;3:85. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00085>.
- [75] Basavarajappa BS, Ninan I, Arancio O. Acute ethanol suppresses glutamatergic neurotransmission through endocannabinoids in hippocampal neurons. *J Neurochem* 2008;107:1001–13. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05685.x>.
- [76] Perra S, Pillolla G, Melis M, Muntoni AL, Gessa GL, Pistis M. Involvement of the endogenous cannabinoid system in the effects of alcohol in the mesolimbic reward circuit: electrophysiological evidence in vivo. *Psychopharmacology (Berl)* 2005;183:368–77. <https://doi.org/10.1007/s00213-005-0195-0>.
- [77] Basavarajappa BS. Endocannabinoid System and Alcohol Abuse Disorders. *Adv Exp Med Biol* 2019;1162:89–127. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-21737-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-030-21737-2_6).
- [78] González S, Cascio MG, Fernández-Ruiz J, Fezza F, Di Marzo V, Ramos JA. Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res* 2002;954:73–81. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)03344-9](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)03344-9).
- [79] Bystrowska B, Smaga I, Frankowska M, Filip M. Changes in endocannabinoid and N-acylethanolamine levels in rat brain structures following cocaine self-administration and extinction training. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2014;50:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.12.002>.
- [80] Rivera P, Miguéns M, Coria SM, Rubio L, Higuera-Matas A, Bermúdez-Silva FJ, et al. Cocaine self-administration differentially modulates the expression of endogenous cannabinoid system-related proteins in the hippocampus of Lewis vs. Fischer 344 rats. *Int J Neuropsychopharmacol* 2013;16:1277–93. <https://doi.org/10.1017/S1461145712001186>.
- [81] Palomino A, Pavón F-J, Blanco-Calvo E, Serrano A, Arrabal S, Rivera P, et al. Effects of acute versus repeated cocaine exposure on the expression of endocannabinoid signaling-related proteins in the mouse cerebellum. *Front Integr Neurosci* 2014;8:22. <https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00022>.
- [82] Marchioni C, de Souza ID, Acquaro VR, de Souza Crippa JA, Tumas V, Queiroz MEC. Recent advances in LC-MS/MS methods to determine endocannabinoids in biological samples: Application in neurodegenerative diseases. *Anal Chim Acta* 2018;1044:12–28. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.016>.
- [83] Fernández-Suárez D, Celorrio M, Riezu-Boj JI, Ugarte A, Pacheco R, González H, et al. Monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 is neuroprotective and alters glial cell

- phenotype in the chronic MPTP mouse model. *Neurobiol Aging* 2014;35:2603–16. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.05.021>.
- [84] Celorrio M, Fernández-Suárez D, Rojo-Bustamante E, Echeverry-Alzate V, Ramírez MJ, Hillard CJ, et al. Fatty acid amide hydrolase inhibition for the symptomatic relief of Parkinson's disease. *Brain Behav Immun* 2016;57:94–105. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.06.010>.
- [85] González-Aparicio R, Moratalla R. Oleoylethanolamide reduces L-DOPA-induced dyskinesia via TRPV1 receptor in a mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2014;62:416–25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.10.008>.
- [86] Esposito E, Impellizzeri D, Mazzon E, Paterniti I, Cuzzocrea S. Neuroprotective activities of palmitoylethanolamide in an animal model of Parkinson's disease. *PloS One* 2012;7:e41880. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041880>.
- [87] Jung K-M, Astarita G, Yasar S, Vasilevko V, Cribbs DH, Head E, et al. An amyloid  $\beta$ 42-dependent deficit in anandamide mobilization is associated with cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2012;33:1522–32. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.03.012>.
- [88] Benito C, Núñez E, Tolón RM, Carrier EJ, Rábano A, Hillard CJ, et al. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2003;23:11136–41.
- [89] Cassano T, Calcagnini S, Pace L, De Marco F, Romano A, Gaetani S. Cannabinoid Receptor 2 Signaling in Neurodegenerative Disorders: From Pathogenesis to a Promising Therapeutic Target. *Front Neurosci* 2017;11:30. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00030>.
- [90] Mulder J, Zilberter M, Pasquaré SJ, Alpár A, Schulte G, Ferreira SG, et al. Molecular reorganization of endocannabinoid signalling in Alzheimer's disease. *Brain J Neurol* 2011;134:1041–60. <https://doi.org/10.1093/brain/awr046>.
- [91] Altamura C, Ventriglia M, Martini MG, Montesano D, Errante Y, Piscitelli F, et al. Elevation of Plasma 2-Arachidonoylglycerol Levels in Alzheimer's Disease Patients as a Potential Protective Mechanism against Neurodegenerative Decline. *J Alzheimers Dis JAD* 2015;46:497–506. <https://doi.org/10.3233/JAD-142349>.
- [92] Chen R, Zhang J, Wu Y, Wang D, Feng G, Tang Y-P, et al. Monoacylglycerol lipase is a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Cell Rep* 2012;2:1329–39. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.09.030>.

- [93] D'Agostino G, Russo R, Avagliano C, Cristiano C, Meli R, Calignano A. Palmitoylethanolamide protects against the amyloid- $\beta$ 25-35-induced learning and memory impairment in mice, an experimental model of Alzheimer disease. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol* 2012;37:1784–92. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.25>.
- [94] Battista N, Bari M, Tarditi A, Mariotti C, Bachoud-Lévi A-C, Zuccato C, et al. Severe deficiency of the fatty acid amide hydrolase (FAAH) activity segregates with the Huntington's disease mutation in peripheral lymphocytes. *Neurobiol Dis* 2007;27:108–16. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.04.012>.
- [95] Jean-Gilles L, Feng S, Tench CR, Chapman V, Kendall DA, Barrett DA, et al. Plasma endocannabinoid levels in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2009;287:212–5. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.07.021>.
- [96] Piomelli D. A fatty gut feeling. *Trends Endocrinol Metab TEM* 2013;24:332–41. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.03.001>.
- [97] Schwartz GJ, Fu J, Astarita G, Li X, Gaetani S, Campolongo P, et al. The lipid messenger OEA links dietary fat intake to satiety. *Cell Metab* 2008;8:281–8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.08.005>.
- [98] Fichna J, Bawa M, Thakur GA, Tichkule R, Makriyannis A, McCafferty D-M, et al. Cannabinoids alleviate experimentally induced intestinal inflammation by acting at central and peripheral receptors. *PloS One* 2014;9:e109115. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109115>.
- [99] Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L, Tchilibon S, Ponde DE, Brandi I, et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br J Pharmacol* 2001;134:845–52. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704327>.
- [100] Leweke FM, Piomelli D, Pahlisch F, Muhl D, Gerth CW, Hoyer C, et al. Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Transl Psychiatry* 2012;2:e94. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.15>.
- [101] Teixeira-Clerc F, Julien B, Grenard P, Tran Van Nhieu J, Deveau V, Li L, et al. CB1 cannabinoid receptor antagonism: a new strategy for the treatment of liver fibrosis. *Nat Med* 2006;12:671–6. <https://doi.org/10.1038/nm1421>.
- [102] Zelber-Sagi S, Azar S, Nemirovski A, Webb M, Halpern Z, Shibolet O, et al. Serum levels of endocannabinoids are independently associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Obes Silver Spring Md* 2017;25:94–101. <https://doi.org/10.1002/oby.21687>.

- [103] Caraceni P, Viola A, Piscitelli F, Giannone F, Berzigotti A, Cescon M, et al. Circulating and hepatic endocannabinoids and endocannabinoid-related molecules in patients with cirrhosis. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver* 2010;30:816–25. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2009.02137.x>.
- [104] Siegmund SV, Uchinami H, Osawa Y, Brenner DA, Schwabe RF. Anandamide induces necrosis in primary hepatic stellate cells. *Hepatology* 2005;41:1085–95. <https://doi.org/10.1002/hep.20667>.
- [105] Tanasescu R, Constantinescu CS. Cannabinoids and the immune system: an overview. *Immunobiology* 2010;215:588–97. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2009.12.005>.
- [106] Haskó J, Fazakas C, Molnár J, Nyúl-Tóth Á, Herman H, Hermenean A, et al. CB2 receptor activation inhibits melanoma cell transmigration through the blood-brain barrier. *Int J Mol Sci* 2014;15:8063–74. <https://doi.org/10.3390/ijms15058063>.
- [107] Cencioni MT, Chiurchiù V, Catanzaro G, Borsellino G, Bernardi G, Battistini L, et al. Anandamide suppresses proliferation and cytokine release from primary human T-lymphocytes mainly via CB2 receptors. *PloS One* 2010;5:e8688. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008688>.
- [108] Lindborg KA, Teachey MK, Jacob S, Henriksen EJ. Effects of in vitro antagonism of endocannabinoid-1 receptors on the glucose transport system in normal and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Diabetes Obes Metab* 2010;12:722–30. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2010.01227.x>.
- [109] Esposito I, Proto MC, Gazzerò P, Laezza C, Miele C, Alberobello AT, et al. The cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant stimulates 2-deoxyglucose uptake in skeletal muscle cells by regulating the expression of phosphatidylinositol-3-kinase. *Mol Pharmacol* 2008;74:1678–86. <https://doi.org/10.1124/mol.108.049205>.
- [110] Vettor R, Pagano C. The role of the endocannabinoid system in lipogenesis and fatty acid metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009;23:51–63. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.10.002>.
- [111] Sparling PB, Giuffrida A, Piomelli D, Roskopf L, Dietrich A. Exercise activates the endocannabinoid system. *Neuroreport* 2003;14:2209–11. <https://doi.org/10.1097/00001756-200312020-00015>.
- [112] Koltyn KF, Brellenthin AG, Cook DB, Sehgal N, Hillard C. Mechanisms of exercise-induced hypoalgesia. *J Pain* 2014;15:1294–304. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2014.09.006>.

- [113] Angelini R, Argueta DA, Piomelli D, DiPatrizio NV. Identification of a Widespread Palmitoylethanolamide Contamination in Standard Laboratory Glassware. *Cannabis Cannabinoid Res* 2017;2:123–32. <https://doi.org/10.1089/can.2017.0019>.
- [114] Zoerner AA, Batkai S, Suchy M-T, Gutzki F-M, Engeli S, Jordan J, et al. Simultaneous UPLC-MS/MS quantification of the endocannabinoids 2-arachidonoyl glycerol (2AG), 1-arachidonoyl glycerol (1AG), and anandamide in human plasma: minimization of matrix-effects, 2AG/1AG isomerization and degradation by toluene solvent extraction. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2012;883–884:161–71. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.06.025>.
- [115] Rouzer CA, Ghebreselasie K, Marnett LJ. Chemical stability of 2-arachidonylglycerol under biological conditions. *Chem Phys Lipids* 2002;119:69–82. [https://doi.org/10.1016/s0009-3084\(02\)00068-3](https://doi.org/10.1016/s0009-3084(02)00068-3).
- [116] Röhrig W, Waibel R, Perlwitz C, Pischetsrieder M, Hoch T. Identification of the oleic acid ethanolamide (OEA) isomer cis-vaccenic acid ethanolamide (VEA) as a highly abundant 18:1 fatty acid ethanolamide in blood plasma from rats and humans. *Anal Bioanal Chem* 2016;408:6141–51. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9720-8>.
- [117] Röhrig W, Achenbach S, Deutsch B, Pischetsrieder M. Quantification of 24 circulating endocannabinoids, endocannabinoid-related compounds, and their phospholipid precursors in human plasma by UHPLC-MS/MS. *J Lipid Res* 2019;60:1475–88. <https://doi.org/10.1194/jlr.D094680>.
- [118] Porter AC, Sauer J-M, Knierman MD, Becker GW, Berna MJ, Bao J, et al. Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;301:1020–4. <https://doi.org/10.1124/jpet.301.3.1020>.
- [119] Trufelli H, Palma P, Famiglini G, Cappiello A. An overview of matrix effects in liquid chromatography-mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 2011;30:491–509. <https://doi.org/10.1002/mas.20298>.
- [120] Zoerner AA, Gutzki F-M, Batkai S, May M, Rakers C, Engeli S, et al. Quantification of endocannabinoids in biological systems by chromatography and mass spectrometry: a comprehensive review from an analytical and biological perspective. *Biochim Biophys Acta* 2011;1811:706–23. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2011.08.004>.
- [121] Maccarrone M, Attinà M, Cartoni A, Bari M, Finazzi-Agrò A. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of endogenous cannabinoids in healthy and tumoral human

- brain and human cells in culture. *J Neurochem* 2001;76:594–601. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00092.x>.
- [122] Yagen B, Burstein S. Novel and sensitive method for the detection of anandamide by the use of its dansyl derivative. *J Chromatogr B Biomed Sci App* 2000;740:93–9. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(00\)00029-3](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(00)00029-3).
- [123] Wang Y, Liu Y, Ito Y, Hashiguchi T, Kitajima I, Yamakuchi M, et al. Simultaneous measurement of anandamide and 2-arachidonoylglycerol by polymyxin B-selective adsorption and subsequent high-performance liquid chromatography analysis: increase in endogenous cannabinoids in the sera of patients with endotoxic shock. *Anal Biochem* 2001;294:73–82. <https://doi.org/10.1006/abio.2001.5015>.
- [124] Balvers MGJ, Wortelboer HM, Witkamp RF, Verhoeckx KCM. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of free and esterified fatty acid N-acyl ethanolamines in plasma and blood cells. *Anal Biochem* 2013;434:275–83. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.11.008>.
- [125] Kantae V, Ogino S, Noga M, Harms AC, van Dongen RM, Onderwater GLJ, et al. Quantitative profiling of endocannabinoids and related N-acyl ethanolamines in human CSF using nano LC-MS/MS. *J Lipid Res* 2017;58:615–24. <https://doi.org/10.1194/jlr.D070433>.
- [126] Sergi M, Battista N, Montesano C, Curini R, Maccarrone M, Compagnone D. Determination of the two major endocannabinoids in human plasma by  $\mu$ -SPE followed by HPLC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem* 2013;405:785–93. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6273-3>.
- [127] Xia Y-Q, Jemal M. Phospholipids in liquid chromatography/mass spectrometry bioanalysis: comparison of three tandem mass spectrometric techniques for monitoring plasma phospholipids, the effect of mobile phase composition on phospholipids elution and the association of phospholipids with matrix effects. *Rapid Commun Mass Spectrom RCM* 2009;23:2125–38. <https://doi.org/10.1002/rcm.4121>.
- [128] Tang YQ, Weng N. Salting-out assisted liquid-liquid extraction for bioanalysis. *Bioanalysis* 2013;5:1583–98. <https://doi.org/10.4155/bio.13.117>.
- [129] Gaitán AV, Wood JT, Zhang F, Makriyannis A, Lammi-Keefe CJ. Endocannabinoid Metabolome Characterization of Transitional and Mature Human Milk. *Nutrients* 2018;10. <https://doi.org/10.3390/nu10091294>.
- [130] Mazzola PG, Lopes AM, Hasmann FA, Jozala AF, Penna TC, Magalhaes PO, et al. Liquid–liquid extraction of biomolecules: an overview and update of the main

- techniques. *J Chem Technol Biotechnol* 2008;83:143–57. <https://doi.org/10.1002/jctb.1794>.
- [131] Ji D, Jang C-G, Lee S. A sensitive and accurate quantitative method to determine N-arachidonoyldopamine and N-oleoyldopamine in the mouse striatum using column-switching LC-MS-MS: use of a surrogate matrix to quantify endogenous compounds. *Anal Bioanal Chem* 2014;406:4491–9. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7816-6>.
- [132] Kirkwood JS, Broeckling CD, Donahue S, Prenni JE. A novel microflow LC-MS method for the quantitation of endocannabinoids in serum. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2016;1033–1034:271–7. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.08.035>.
- [133] Ding J, Luo X-T, Yao Y-R, Xiao H-M, Guo M-Q. Investigation of changes in endocannabinoids and N-acylethanolamides in biofluids, and their correlations with female infertility. *J Chromatogr A* 2017;1509:16–25. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.06.029>.
- [134] Marczylo TH, Lam PMW, Amoako AA, Konje JC. Anandamide levels in human female reproductive tissues: solid-phase extraction and measurement by ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Biochem* 2010;400:155–62. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.12.025>.
- [135] Lam PMW, Marczylo TH, El-Talatini M, Finney M, Nallendran V, Taylor AH, et al. Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the measurement of anandamide in human plasma. *Anal Biochem* 2008;380:195–201. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.05.033>.
- [136] Lam PMW, Marczylo TH, Konje JC. Simultaneous measurement of three N-acylethanolamides in human bio-matrices using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2010;398:2089–97. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4103-z>.
- [137] Lehtonen M, Storvik M, Malinen H, Hyytiä P, Lakso M, Auriola S, et al. Determination of endocannabinoids in nematodes and human brain tissue by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011;879:677–94. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.02.004>.
- [138] Muguruza C, Lehtonen M, Aaltonen N, Morentin B, Meana JJ, Callado LF. Quantification of endocannabinoids in postmortem brain of schizophrenic subjects. *Schizophr Res* 2013;148:145–50. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2013.06.013>.



- [139] Thieme U, Schelling G, Hauer D, Greif R, Dame T, Laubender RP, et al. Quantification of anandamide and 2-arachidonoylglycerol plasma levels to examine potential influences of tetrahydrocannabinol application on the endocannabinoid system in humans. *Drug Test Anal* 2014;6:17–23. <https://doi.org/10.1002/dta.1561>.
- [140] Gouveia-Figueira S, Nording ML. Development and validation of a sensitive UPLC-ESI-MS/MS method for the simultaneous quantification of 15 endocannabinoids and related compounds in milk and other biofluids. *Anal Chem* 2014;86:1186–95. <https://doi.org/10.1021/ac403352e>.
- [141] Ottria R, Ravelli A, Gigli F, Ciuffreda P. Simultaneous ultra-high performance liquid chromatography-electrospray ionization-quadrupole-time of flight mass spectrometry quantification of endogenous anandamide and related N-acylethanolamides in bio-matrices. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014;958:83–9. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.03.019>.
- [142] Bilgin M, Bindila L, Graessler J, Shevchenko A. Quantitative profiling of endocannabinoids in lipoproteins by LC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem* 2015;407:5125–31. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8559-8>.
- [143] Ivanov I, Borchert P, Hinz B. A simple method for simultaneous determination of N-arachidonylethanolamine, N-oleoylethanolamine, N-palmitoylethanolamine and 2-arachidonoylglycerol in human cells. *Anal Bioanal Chem* 2015;407:1781–7. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8384-5>.
- [144] Gouveia-Figueira S, Nording ML. Validation of a tandem mass spectrometry method using combined extraction of 37 oxylipins and 14 endocannabinoid-related compounds including prostamides from biological matrices. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2015;121:110–21. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2015.06.003>.
- [145] Gouveia-Figueira S, Goldin K, Hashemian SA, Lindberg A, Persson M, Nording ML, et al. Plasma levels of the endocannabinoid anandamide, related N-acylethanolamines and linoleic acid-derived oxylipins in patients with migraine. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2017;120:15–24. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2017.04.005>.
- [146] Mutemberezi V, Masquelier J, Guillemot-Legris O, Muccioli GG. Development and validation of an HPLC-MS method for the simultaneous quantification of key oxysterols, endocannabinoids, and ceramides: variations in metabolic syndrome. *Anal Bioanal Chem* 2016;408:733–45. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9150-z>.
- [147] Xiong X, Zhang L, Cheng L, Mao W. High-throughput salting-out assisted liquid-liquid extraction with acetonitrile for the determination of anandamide in plasma of

- hemodialysis patients with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr BMC* 2015;29:1317–24. <https://doi.org/10.1002/bmc.3425>.
- [148] Garst C, Fulmer M, Thewke D, Brown S. Optimized extraction of 2-arachidonyl glycerol and anandamide from aortic tissue and plasma for quantification by LC-MS/MS. *Eur J Lipid Sci Technol EJLST* 2016;118:814–20. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500115>.
- [149] Mwanza C, Chen Z, Zhang Q, Chen S, Wang W, Deng H. Simultaneous HPLC-APCI-MS/MS quantification of endogenous cannabinoids and glucocorticoids in hair. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2016;1028:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.06.002>.
- [150] Marchioni C, de Souza ID, Grecco CF, Crippa JA, Tumas V, Queiroz MEC. A column switching ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method to determine anandamide and 2-arachidonoylglycerol in plasma samples. *Anal Bioanal Chem* 2017;409:3587–96. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0300-3>.
- [151] Luque-Córdoba D, Calderón-Santiago M, Luque de Castro MD, Priego-Capote F. Study of sample preparation for determination of endocannabinoids and analogous compounds in human serum by LC-MS/MS in MRM mode. *Talanta* 2018;185:602–10. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.04.033>.
- [152] Gurke R, Thomas D, Schreiber Y, Schäfer SMG, Fleck SC, Geisslinger G, et al. Determination of endocannabinoids and endocannabinoid-like substances in human K3EDTA plasma - LC-MS/MS method validation and pre-analytical characteristics. *Talanta* 2019;204:386–94. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.06.004>.
- [153] Ney LJ, Felmingham KL, Bruno R, Matthews A, Nichols DS. Simultaneous quantification of endocannabinoids, oleoylethanolamide and steroid hormones in human plasma and saliva. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2020;1152:122252. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122252>.
- [154] Gao W, Walther A, Wekenborg M, Penz M, Kirschbaum C. Determination of endocannabinoids and N-acylethanolamines in human hair with LC-MS/MS and their relation to symptoms of depression, burnout, and anxiety. *Talanta* 2020;217:121006. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121006>.
- [155] Chu L, Li N, Deng J, Wu Y, Yang H, Wang W, et al. LC-APCI+-MS/MS method for the analysis of ten hormones and two endocannabinoids in plasma and hair from the mice with different gut microbiota. *J Pharm Biomed Anal* 2020;185:113223. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113223>.

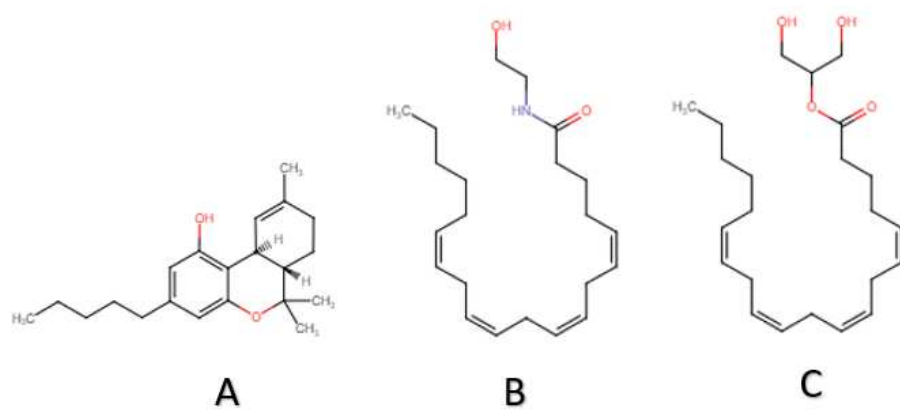
## Légendes des figures et tableaux

**Figure 1 :** Structures chimiques du THC (A) et des endocannabinoïdes AEA (B) et 2-AG (C).

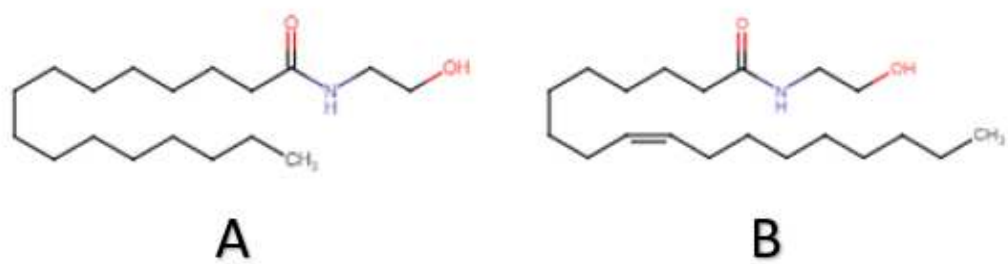
**Figure 2:** Structures chimiques de l'OEA (A) et du PEA (B).

**Figure 3 :** Synthèse des principales fonctions du système endocannabinoïde dans l'organisme et les variations de concentrations des endocannabinoïdes et des endocannabinoïdes-like observées dans les pathologies neurologiques, psychiatriques et hépatiques. [AEA : arachidonoyléthanolamide ; 2-AG : 2-arachidonoylglycerol ; OEA: N-oléoyléthanolamine ; PEA :N-palmitoyléthanolamide ; SNC : système nerveux central ; SNP : système nerveux périphérique ; LCS : liquide cébrospinal]

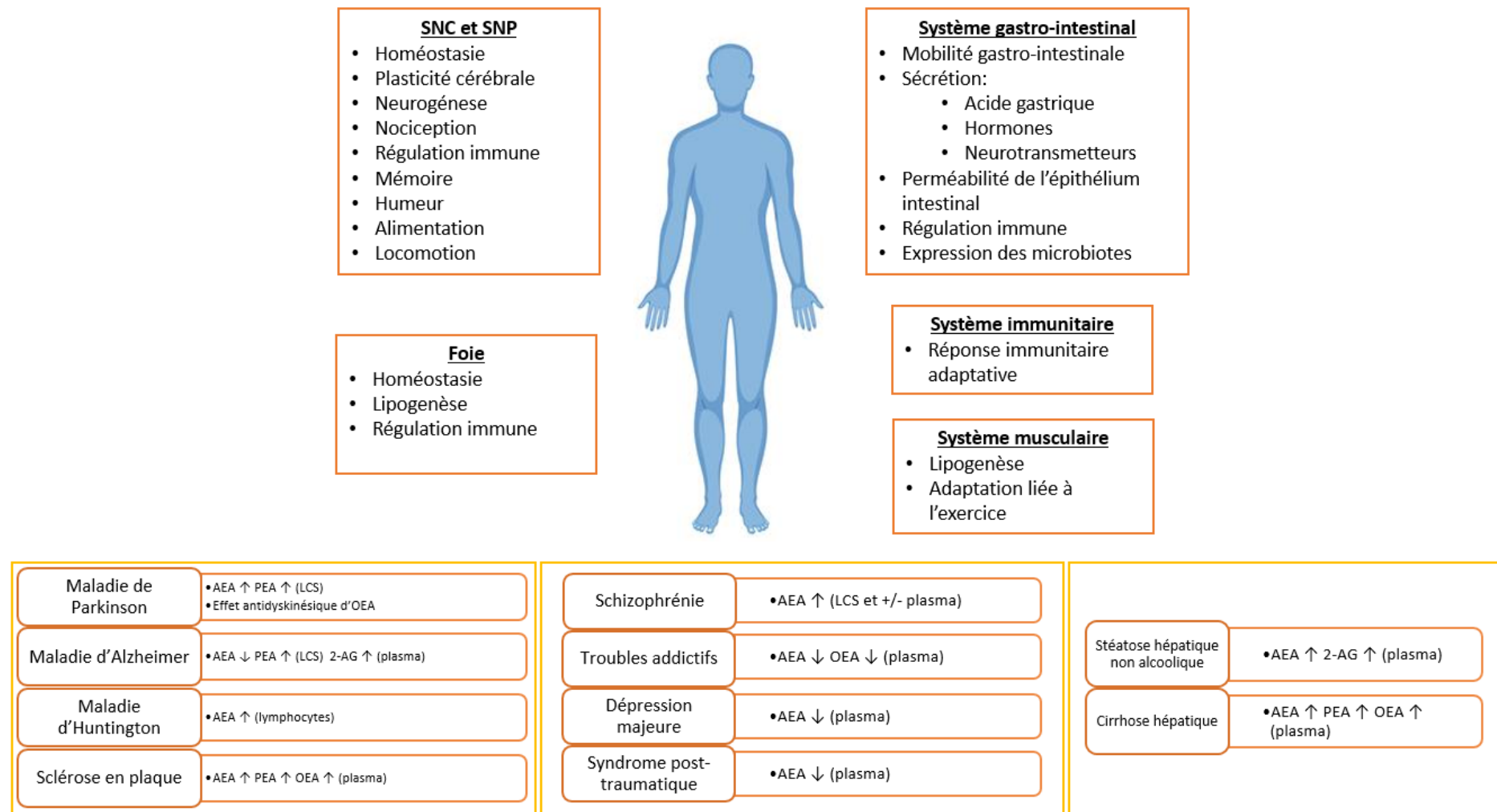
**Tableau 1 :** Méthodes chromatographiques de dosage des endocannabinoïdes publiées depuis l'année 2010 [Ext. : type d'extraction ; R. : Références ; SPE : l'extraction en phase solide ; LLE : l'extraction liquide-liquide ; SLE : l'extraction solide- liquide ;  $\mu$ -SPE : micro l'extraction en phase solide ; « Column switching » : l'utilisation d'une seconde colonne de purification ; MLME : microextraction par liquide magnétique ; AEA : arachidonoyléthanolamide ; O-AEA : virodhamine ou O-arachidonoyléthanolamine ; 2-AG : 2-arachidonoylglycerol ; 1-AG : 1-arachidonoylglycerol ; OEA: N-oléoyléthanolamine ; PEA :N-palmitoyléthanolamide ; SEA : stéaroyléthanolamide ; 2-AGE : 2-arachidonyl glycerol ether ; NADA : N-arachidonoyl dopamine ; LEA : dihomog- $\gamma$ -linolenoyl éthanolamide ; DHEA : docosahexaenoyl éthanolamide ; LNEA : N-a-linolenoyléthanolamide ; DEA : docosatetraenoyl éthanolamide ; NAGly : N-arachidonoylglycine ; EPEA : N-eicosapentaenoyléthanolamide ; POEA : palmitoléoyléthanolamide ; 2-LG : 2-linoléoylglycerol ; OLDA : N-oléoyldopamine ; NASer : N-arachidonoylserine ; AA : acide arachidonique ; PGE2 : prostaglandine E2 ; THB B2 : tétrahydroberberine B2 ; STERDA : N-stéaroyldopamine ; DGLEA : N-dihomog- $\gamma$ -linolenoyléthanolamide ; DHA : acide docosahexaénoïque ; PG : palmitoyl glycerol ; OG : oléoyl glycerol ; DHG : docosahexaenoyl glycerol ; EPG : eicosapentaenoyl glycerol ; EG : eicosenoyl glycerol ; 11-DHC : 11- déhydrocortisone ; DHT : dihydrotestostérone ; LC : chromatographie liquide ; HPLC : chromatographie liquide de haute performance ; UPLC : chromatographie liquide de ultra-performante ; MS : spectrométrie de masse].



**Figure 1**



**Figure 2**



**Figure 3**

**Tableau 1**

Molécules recherchées et dosées	Matrices	Extraction	Colonne et phases mobiles	Méthode	Réf.
AEA	Tissus de l'appareil reproducteur féminin, Plasma	SPE	Phase stationnaire BEH C18 A. Eau + 2 mM d'acétate d'ammonium + 0,1% d'acide formique B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique	UPLC-MS/MS (Quattro Premier mass spectrometer, Waters)	[134,135]
AEA, OEA, PEA et SEA	Plasma, sérum, plasma du cordon ombilicale, urine, salive, liquide amniotique, lait, liquide péritonéal	SPE	Phase stationnaire BEH C18 A. Eau + 2 mM d'acétate d'ammonium + 5% d'acétonitrile + 0,1% d'acide formique B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique	UPLC-MS/MS (Quattro Premier mass spectrometer, Waters)	[136]
AEA, 2-AG, O-AEA, 2-AGE, NADA, LEA, DHEA, PEA et OEA	Cellules cérébrales humaines et de rat	SLE	Phase stationnaire Zorbax Eclipse XDB-C18 • Chromatographie isocratique avec de 33% d'eau, 67% d'acétonitrile et acide formique 0,1%	UPLC-MS/MS (Agilent 6410 Triple quadripole MS)	[137]
2-AG et AEA	Plasma	LLE	Phase stationnaire BEH C18 A. Eau + 2 mM d'acétate d'ammonium + 5% d'acétonitrile + 0,1% d'acide formique B. Méthanol + 2 moles d'acétate d'ammonium	UPLC-MS/MS (XEVO TQ MS, Waters)	[114]
AEA, PEA, LEA, OEA, DHEA, LNEA	Plasma et le foie du rat de blé	SPE et LLE	Phase stationnaire Kinetex XB C18 A. Eau + 0,1% d'acide formique B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique	UPLC-MS/MS (Quattro micro API mass spectrometer, Milford)	[111]
AEA, 2-AG, DHEA, LEA, OEA, PEA et SEA	Plasma	Précipitation protéique + SPE	Phase stationnaire BEH C8 A. Eau 40% + méthanol 40% + acétonitrile 20% + d'acide formique 0,1% B. Méthanol 70% + acétonitrile 30% + d'acide formique 0,1%	UPLC-MS/MS (XEVO TQ-S, Waters)	[124]
2-AG et AEA	Plasma	Précipitation protéique et $\mu$ -SPE	Phase stationnaire Kinetex XB C18 A. Eau B. Méthanol + 2,5 mM d'acide formique	HPLC-MS/MS (API 2000, PE Sciex)	[126]

2-AG, AEA, LEA DHEA, PEA et OEA	Cerveau	SLE	Phase stationnaire Zorbax Eclipse XDB-C18 <ul style="list-style-type: none"> <li>Chromatographie isocratique avec de 33% d'eau, 67% d'acétonitrile et acide formique 0,1%</li> </ul>	UPLC-MS/MS (Agilent 6410 Triple quadripole MS)	[137,138]
2-AG et AEA	Plasma	LLE	Phase stationnaire Zorbax C18 <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Eau avec 5mM de formiate d'ammonium</li> <li>B. Méthanol</li> </ul>	UPLC-MS/MS (API 4000 triple quadripole, PE Sciex)	[139]
AEA, 2-AG, O-AEA, 2-AGE, NADA, PEA, OEA, DEA, NAGly, EPEA, DHEA, POEA, LEA, SEA, 2LG.	Lait, Plasma, Cellules de culture, tissus	SPE	Phase stationnaire BEH C18 <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Eau avec 5mM de formiate d'ammonium</li> <li>B. Méthanol</li> </ul>	UPLC-MS/MS (Micromass Quattro Ultima)	[140]
AEA, PEA, OEA, LEA, LNEA, EPEA	Plasma, urine, culture cellulaire	SPE	Phase stationnaire HSST3 C18 <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Eau + 0,1% d'acide formique</li> <li>B. Acétonitrile 95% + eau 5% + 0,1% d'acide formique</li> </ul>	UPLC-qTOF-MS (AB Sciex 5600 tripleTOF)	[141]
NADA et OLDA	Cerveau de souris	SPE et « Column switching »	Colonne 1 : Phase stationnaire Poroshell 120 EC-C18 : <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Eau + 5mM de formiate d'ammonium + 0,1% d'acide formique</li> <li>B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique</li> </ul> (avec une élution isocratique) Colonne 2 : Phase stationnaire Poroshell 120 EC-C18 : <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Eau + 5mM de formiate d'ammonium + 0,1% d'acide formique</li> <li>B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique</li> </ul> (avec une élution en gradient)	« Column switching » UPLC-MS/MS (Agilent 6460 triple-quadrupole MS-MS)	[131]
1-AG, 2-AG et AEA, NAE, NAGly, NASer	Plasma	LLE	Phase stationnaire Zorbax C18 <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Eau + acide formique 0,1%</li> <li>B. Acétonitrile 90% + Isopropanol 10% + acide formique 0,1%</li> </ul>	LC-MS/MS (triple-quadrupole mass spectrometer TSQ Vantage, Thermo Fischer Scientific)	[142]
AEA, 2-AG, PEA et OEA	Culture cellulaire	LLE	Phase stationnaire Multospher 120 C18 <ul style="list-style-type: none"> <li>A. Eau + acide formique 0,2%</li> <li>B. Acétonitrile 60% + Isopropanol 40% + acide formique 0,2%</li> </ul>	HPLC-MS/MS (Micromass Quattro Micro API mass spectrometer, Waters)	[143]

AEA, LEA, 2-AG, DHEA, OEA, PEA, progesterone, SEA, testosterone, cortisol, AA, PGE2, THB B2	Plasma	Précipitation protéique + SPE	Phase stationnaire Reprosil-PUR C18 A. Eau + 2mM acétate d'ammonium + acide formique 0,1% B. Méthanol + 2mM acétate d'ammonium	HPLC-MS/MS (API 4000 Qtrap mass spectrometer, Sciex)	[125]
Oxylipides et endocannabinoides (AEA, 2-AG, PEA, OEA, DEA, NAGly, EPEA, DHEA, POEA, LEA, SEA)	Plasma, Tissus d'abats, Cultures cellulaire, Lait	SPE	Phase stationnaire BEH C18 A. Eau + acide acétique 0,1% B. Acétonitrile 90% + isopropanol 10%	UPLC-MS/MS (API 6490 triple quadripole, PE Sciex)	[144,145]
2-AG, AEA, OEA, PEA	Tissu hépatique et les adiposites	SPE	Phase stationnaire Kinetex LC C18 A. 75% méthanol + 24,9% de l'eau + 0,1% d'acide acétique B. Méthanol + 0,1% d'acide acétique	UPLC-MS/MS (LTQ-Orbitrap, ThermoFisher Scientific)	[146]
AEA, <i>O</i> -AEA	Plasma	«Salting-out assisted liquid-liquid extraction» (SALLE)	Phase stationnaire Poroshell 120 SB-C18 • 65% Eau + 35% acétonitrile + 0,1% acide formique (élution isocratique)	UPLC-MS/MS (API-5500 Qtrap, Applied Biosystems)	[147]
AEA et 2-AG	Plasma et tissu aortique	LLE, SPE et SLE	Phase stationnaire Kinetex C18 A. Eau + 0,2% d'acide acétique B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique	UPLC-MS (Shimadzu IT-TOF)	[148]
AEA, 2-AG, 1-AG, LEA et PEA	Plasma des ours noir de Virginie (Etats Unis)	LLE et « Column switching »	Colonne 1 : Phase stationnaire Atlantis-dC18 : A. Eau + 0,1% d'acide formique B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique Colonne 2 : Phase stationnaire BEH C18 : A. Eau + 0,1% d'acide formique B. Acétonitrile + 0,1% d'acide formique	HPLC-MS/MS (XEVO TQ-S, Waters)	[132]
AEA, 2-AG et les glucocorticoïdes	Cheveux	SPE	Phase stationnaire Dikma ODS C18 • 10% Eau + 90% Méthanol + 2mM d'acétate d'ammonium + 0,1% acide formique (Elution isocratique)	HPLC-MS/MS (Qtrap 3200, Applied Biosystem)	[149]



AEA et 2-AG	Plasma	« Column switching »	Colonne 1 : Phase stationnaire RP-8 ADS <ul style="list-style-type: none"> <li>L'eau (Elution isocratique)</li> </ul> Colonne 2 : Phase stationnaire Kinetex C18 <ul style="list-style-type: none"> <li>30% Eau + 70% acétonitrile + 0,5% acide formique (Elution isocratique)</li> </ul>	HPLC-MS/MS (XEVO TQ-D, Waters)	[150]
AEA, PEA, OEA, 2-AG	Sérum et fluide folliculaire	MLME avec une dérivation chimique	Phase stationnaire BEH C18 A. Eau + 0,1% d'acide formique B. Acétonitrile	UPLC-MS/MS (Shimadzu 8040 triple quadripole)	[133]
AEA, DEA, DHEA, NADA, DGLEA, 2AG, 2-AGE, LEA, O-AEA, SEA, OEA, PEA	Cellules souches foetales	LLE	Phase stationnaire Agilent Polaris-HR-Chip 3 C18 : A. Eau + 10 mM d'acide formique B. Acétonitrile	UPLC-MS/MS (Agilent 6460 triple quadripole MS)	[125]
SEA, DHEA, STEARDA, DEA, 2-AG, 2-AGE, AEA, NAGly, OEA, PEA, O-AEA	Serum	SPE	Phase stationnaire Poroshell 120 EC-18: A. Eau + 0,1% d'acide formique B. Acétonitrile	UPLC-MS/MS (Agilent 6410 triple quadrupole)	[151]
Dosage de 24 endocannabinoïdes, endocannabinoïde-like et leurs précurseurs phospholipidiques	Plasma	LLE	Phase stationnaire Kinetex Core Shell C18 A. 65% Eau + 35% 2-propanol + 0,05% d'acide acétique B. Acétonitrile + 0,05% d'acide formique	UPLC-MS/MS (API Qtrap, AB Sciex)	[117]
AA, DHA, EPA, AEA, PEA, OEA, DHEA, EPEA, EEA, 2-AG, PG, 2-OG, DHG, EPG, EG	Lait	SPE	Phase stationnaire Agilent Zorbax SB-CN C18 A. Eau + 10mM d'acétate d'ammonium B. Méthanol	UPLC-MS/MS (TSQ Quantum Ultra triple quadrupole, Thermo Electron)	[129]
AEA, PEA, 2-AG, OEA	Plasma	LLE	Phase stationnaire BEH C18 A. Eau + 0,0025% d'acide formique B. Acétonitrile + 0,0025% d'acide formique	UPLC-MS/MS (Qtrap 6500+, Sciex)	[152]
AEA, 2AG, OEA, cortisol, progestérone	Plasma, salive	LLE (plasma) et précipitation protéique (salive)	Phase stationnaire BEH C18 A. Eau + 2mM d'acétate d'ammonium (pH 4,5) B. Acétonitrile	UPLC – MS/MS (XEVO TQ, Waters)	[153]

AEA, 2-AG, 1-AG, PEA, OEA et SEA	Cheveux	SLE avec l'extraction en ligne	Phase stationnaire de SPE online (Chromolith®Speed ROD RP-18 <sup>e</sup> ) Phase stationnaire de colonne (Shim-pack XR-ODS LC column) A. Méthanol B. Eau + 2 mM d'acétate d'ammonium	UPLC-MS/MS (Qtrap 6500, AB Sciex)	[154]
AEA, 1-AG, aldosterone, 11-DHC, estradiol, androstenedione, DHT, cortisol, testosterone, progesterone	Plasma et les poils des souris	SPE (plasma) et SLE (poils)	Phase stationnaire : Platisil ODS C18 : • Méthanol 90% + eau 10% + 2mM d'acétate d'ammonium (pH 4,5)	UPLC – MS/MS (Qtrap 3200, Sciex)	[155]