



HAL
open science

Le cannabis thérapeutique, application à la maladie de Parkinson et essai de mise en forme galénique

Jérémie Demontoux

► **To cite this version:**

Jérémie Demontoux. Le cannabis thérapeutique, application à la maladie de Parkinson et essai de mise en forme galénique. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01267037

HAL Id: dumas-01267037

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01267037v1>

Submitted on 3 Feb 2016

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

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

UNIVERSITE DE BORDEAUX
COLLEGE SCIENCES DE LA SANTE
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

Thèse n°24

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 12 janvier 2016

Par

Jérémie DEMONTOUX

Né le 22 octobre 1987 à Sainte-Clotilde

**LE CANNABIS THERAPEUTIQUE APPLICATION A LA MALADIE DE
PARKINSON ET ESSAI DE MISE EN FORME GALENIQUE**

Directeur de thèse

Madame Catherine CHEZE

Jury

Madame Catherine CHEZE	Maître de conférences	Président
Monsieur Michel GUYOT	Maître de conférences	Assesseur
Monsieur Jean-Pierre Vacher	Docteur en pharmacie	Assesseur

Remerciements

A Madame **Catherine Chèze**,

D'avoir accepté d'encadrer mon travail et de me faire l'honneur d'être ma présidente de jury. Je vous remercie d'être présente aujourd'hui et vous adresse mes plus sincères remerciements.

A Monsieur **Michel Guyot**

De me faire l'honneur de juger ma thèse et de vous être rendu disponible.

A Monsieur **Vacher Jean-Pierre**

Pour votre participation en tant que jury et pour m'avoir accueilli au sein de votre pharmacie durant tout mon cursus universitaire. Merci de m'avoir accordé votre confiance et pour toutes les connaissances que vous m'avez apporté.

A **mes parents**

Qui m'ont toujours soutenu dans mes études et mes projets.

A **Ambre, Angeline, Elodie, Henri et Marion**

Pour votre collaboration et votre aide précieuse.

Liste des abréviations

2-AG: 2-arachidonyl glycérol
2-AG éther: 2-arachidonylglycérol éther
AADC: Amino-acid décarboxylase
AC : Adénylate cyclase
ACEA : Arachidonyl-2'-chloroéthylamide
ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire
AEA: Anandamide
AFSSAPS : Agence française de sécurité sanitaire et des produits de santé
AjA : Acide ajulémiqne
AMM : Autorisation de mise sur le marché
AMPc: Adénosine mono phosphate cyclique
ARNm : Acide ribonucléique messenger
ATU : Autorisation temporaire d'utilisation
CBC: Cannabichromène
CBD: Cannabidiol
CBDV: Cannabidivarine
CBG: Cannabigerol
CBN: Cannabinol
CEPS : Comité économique des produits de santé
COMT: catéchol-O-méthyltransférase
DAG: Diacylglycérol
DARPP-32: Dopamine and cAMP-regulated phosphoprotein
DDC: dopa-décarboxylase
EMA: European Medicines Agency
ERK: Extracellular signal-related protein kinase
FAAH: Fatty acid amine hydrolase
FDA: Food and Drug Administration
FSH: Hormone folliculostimulante
GLP-1: Glucagon-like peptide 1
IgE: Immunoglobuline de type E
IL-8: Interleukine-8
IP3: Inositol tri-phosphate
JNK: Jun kinase
LH: Hormone lutéinisante
LPI: lysophosphatidylinositol
MAGL: Monoacylglycerol lipase
MAO-B: Monoamine oxydase de type B
MAP: Mitogen activated protein

MCP: Monocyte chemoattractant protein
MOG : Myelin oligodendrocyte glycoprotein
NADA: N-arachidonyl dopamine
NA dopamine: N-arachidonyl dopamine
NAEs: N-acyl-ethanolamines
NAd: Noradrénaline
NA tyrosine: N-arachidonyl tyrosine
NFAT: the nuclear factor of activated T cells
NFkB: Nuclear factor kB
NGF: Nerve growth factor
Nhe: Na⁺/H⁺ exchanger
NRS: Numeral Rating Scale
OAE : O-arachidonyl éthanolamine
PA : Acide phosphatidique
PCR : Polymerase chain reaction
PE : Phosphatidyléthanolamine
PI: Phosphoinositides
PI-PLC : phospholipase C sélective pour les phosphoinositides
PI3K: Phosphoinositide 3-kinase
PKA: Protéine kinase A
PLA2 : Phospholipase A2
PLC : Phospholipase C
PLD: phospholipase D
PPAR : Récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes
PRGC : Peptide relié au gène de la calcitonine
PTZ : Pentylènetétrazole
RCPG : Récepteur couplé aux protéines G
SIDA : Syndrome d'immunodéficience active
SNC : Système nerveux central
Syk: Spleen tyrosine kinase
TH: Tyrosine hydroxylase
THC: Tetrahydrocannabinol
THCV: Tétrahydrocannabivarine
TMZ: Temozolomide
TNF: Tumor necrosis factor
TNF α : Tumor necrosis factor α
TRPV: Transient receptor potential vanilloid

Table des matières

REMERCIEMENTS.....	2
LISTE DES ABREVIATIONS.....	3
INTRODUCTION.....	8
PARTIE UNE : CANNABINOIDES ET SYSTEME CANNABINOIDE.....	10
I) LES CANNABINOÏDES	10
A) LES ENDOCANNABINOÏDES.....	10
1) <i>L'anandamide</i>	10
2) <i>Le 2-arachidonylglycérol (2-AG)</i>	13
3) <i>Les voies de dégradation de l'anandamide et du 2-arachidonylglycérol[6]</i>	16
4) <i>Le 2-arachidonylglycérol éther</i>	20
5) <i>Le N-arachidonyl dopamine ou NADA.....</i>	21
6) <i>La virodhamine</i>	24
7) <i>Le lysophosphatidylinositol.....</i>	25
B) LES CANNABINOÏDES NATURELS	26
1) <i>Le delta-9-tétrahydrocannabinol.....</i>	26
2) <i>Le delta-8-tétrahydrocannabinol.....</i>	27
3) <i>Le cannabinol.....</i>	27
4) <i>Le cannabidiol.....</i>	28
5) <i>Le cannabigérol.....</i>	28
6) <i>Le cannabichromène.....</i>	29
7) <i>La tétrahydrocannabivarine</i>	30
C) LES CANNABINOÏDES DE SYNTHÈSE.....	31
1) <i>Les cannabinoïdes de synthèse utilisés dans la recherche.....</i>	32
2) <i>Les cannabinoïdes de synthèse utilisés à des fins médicales</i>	33
II) LES RECEPTEURS AUX CANNABINOÏDES	41
A) LE RECEPTEUR CB ₁	41
1) <i>Structure et découverte.....</i>	41
2) <i>Localisation [100].....</i>	41
B) LE RECEPTEUR CB ₂	42
1) <i>Structure et découverte.....</i>	42
2) <i>Localisation.....</i>	43
C) LA MISE EN EVIDENCE D'UNE COLOCALISATION ENTRE LES RECEPTEURS OPIOÏDES ET LES RECEPTEURS AUX CANNABINOÏDES.....	44
D) COUPLAGE ET SIGNALISATION DES RECEPTEURS CB ₁ ET CB ₂ [101], [105].....	45
1) <i>Les principales voies de signalisation (figure 27).....</i>	45
2) <i>La sélectivité de réponse des récepteurs aux cannabinoïdes</i>	47
E) LE RECEPTEUR TRPV1	48
F) LES NOUVEAUX RECEPTEURS AUX CANNABINOÏDES	49
1) <i>Les effets observés au niveau vasculaire [107].....</i>	49
2) <i>Les effets observés au niveau du SNC [107]</i>	50
3) <i>Les effets observés au niveau des cellules immunitaires [107].....</i>	50
4) <i>Le récepteur GPR55.....</i>	50
5) <i>Le récepteur GPR119.....</i>	53

PARTIE DEUX : LES UTILISATION THERAPEUTIQUES POSSIBLES DES CANNABINOIDES.....	56
I) TRAITEMENT DU CANCER	566
A) LE CANCER COLORECTAL	56
B) LE CANCER DE LA PROSTATE	56
C) LE CANCER DU SEIN.....	57
D) LE GLIOME.....	57
II) ANTI DOULEUR	58
III) ANTI-EPILEPTIQUE	59
A) DEFINITION	59
B) LES TRAITEMENTS DISPONIBLES A L'HEURE ACTUELLE	60
C) L'APPORT DES CANNABINOÏDES DANS LE TRAITEMENT DE L'EPILEPSIE	60
1) <i>L'Epidiolex</i> ®	60
2) <i>La cannabidivarine</i>	62
IV) TRAITEMENT DU GLAUCOME	62
A) PHYSIOPATHOLOGIE.....	62
B) CANNABIS ET GLAUCOME [130]	63
V) ANTI-INFLAMMATOIRE	64
A) GENERALITES SUR LA REACTION INFLAMMATOIRE [132].....	64
1) <i>Définition et causes de l'inflammation</i>	64
2) <i>Les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire</i>	64
3) <i>Les médiateurs chimiques de l'inflammation</i>	64
B) L'INTERET DES DERIVES DU CANNABIS DANS L'INFLAMMATION	66
1) <i>Les effets apoptotiques des cannabinoïdes sur les cellules du système immunitaire</i>	66
2) <i>L'action des cannabinoïdes sur les cytokines</i>	68
3) <i>Les cannabinoïdes et la sclérose en plaque</i>	69
4) <i>L'action bénéfique des cannabinoïde dans la polyarthrite rhumatoïde</i>	72
VI) LES AUTRES APPLICATIONS THERAPEUTIQUES POSSIBLES	73
PARTIE TROIS : LES CANNABINOIDES DANS LA MALADIE DE PARKINSON.....	74
I) PHYSIOPATHOLOGIE	74
II) CARACTERISTIQUES CLINIQUES	75
III) DIAGNOSTIC DE LA MALADIE.....	75
A) DIAGNOSTIC CLINIQUE.....	76
B) EXAMENS COMPLEMENTAIRES.....	76
IV) EPIDEMIOLOGIE	77
V) LES TRAITEMENTS ACTUELS	77
A) LA DOPATHERAPIE	77
B) LES AGONISTES DOPAMINERGIQUES.....	79
C) LES ANTICHOLINERGIQUES.....	79
D) LES COMPLICATIONS DE LA DOPATHERAPIE[171].....	80
VI) L'INTERET DES CANNABINOÏDES DANS LA MALADIE DE PARKINSON	81
VII) ESSAI DE DEVELOPPEMENT D'UNE FORME PHARMACEUTIQUE.....	83

A)	CARACTERISTIQUES DE LA SUBSTANCE ACTIVE : LA THCV	84
1)	<i>Caractéristiques physico-chimiques de la THCV</i> [186]	84
2)	<i>Pharmacocinétique de la THCV</i>	84
B)	APPROVISIONNEMENT EN THCV	86
C)	CHOIX DE LA FORME GALENIQUE	87
D)	EXPERIMENTATIONS	89
1)	<i>Expérimentation 1</i>	89
2)	<i>Expérimentation 2 : sans amidon maïs</i>	98
E)	CONTROLES PHARMACEUTIQUES[202].....	101
1)	<i>Dosage du principe actif</i> [205].....	101
2)	<i>Contrôles sur la poudre</i>	101
3)	<i>Contrôles sur les gélules</i>	104
4)	<i>Méthode de nettoyage</i>	107
F)	CONTRE-INDICATIONS	108
G)	EFFETS INDESIRABLES	108
H)	INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES[200]	109
I)	DISCUSSION	110
PARTIE QUATRE : TOXICITE DES DERIVES DU CANNABIS.....		111
I)	QUELQUES DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES ET REGLEMENTAIRES [211], [212]	111
A)	ETAT DE LA LEGISLATION SUR LE CANNABIS EN EUROPE.....	111
B)	LA DISPONIBILITE DU CANNABIS EN FRANCE	113
C)	LA CONSOMMATION DE CANNABIS EN FRANCE	114
D)	ZOOM SUR LA CONSOMMATION DES MINEURS	115
E)	LA CONSOMMATION DE CANNABIS CHEZ LES ADULTES	116
II)	LES EFFETS A COURT TERME D'UNE CONSOMMATION DE CANNABIS [211], [212]	118
III)	LES EFFETS A LONG TERME [211], [212].....	120
F)	LES COMPLICATIONS SOMATIQUES	120
G)	LES TROUBLES COGNITIFS ET COMPLICATIONS PSYCHIATRIQUES	122
5)	<i>Influence sur la mémoire</i>	122
6)	<i>Influence du cannabis sur la motivation</i>	123
7)	<i>Cannabis et schizophrénie</i>	123
H)	LES RISQUES AU VOLANT [217]	123
I)	TOLERANCE ET DEPENDANCE AU CANNABIS	124
CONCLUSION.....		127
REFERENCES.....		128

Introduction

Le cannabis (*Cannabis* L.) est un genre botanique qui rassemble des plantes annuelles de la famille des *Cannabaceae*. Le chanvre ou *Cannabis Sativa* L. est une plante originaire d'Asie, connue depuis 6000 ans en Chine. Elle fut ensuite introduite en Grèce vers le 1^{er} siècle avant J.-C. Plus tard, au XVI^e siècle, ses propriétés exaltantes rapportées d' Orient furent connues[1]. Dans de nombreux pays comme les Etats Unis d' Amérique ou l'Europe de l'Ouest, le cannabis a longtemps été utilisé dans un but thérapeutique. L'histoire de l'usage thérapeutique du cannabis est difficile à retracer, notamment parce que les législations régulant sa production, sa distribution, sa possession et sa consommation sont relativement récentes, et la distinction entre usage médical et usage récréatif l'est encore plus.

Cependant, en raison de ses propriétés psychotropes, le cannabis est retiré de la Pharmacopée nord-américaine en 1942. De plus, suite à l'adoption de la convention de l'ONU sur les substances psychoactives en 1971, cette plante sera interdite dans de nombreux pays européens[2].

De nos jours, dans les pays où il est autorisé, le cannabis médical est employé dans une très grande variété de maladies et de pathologies, incluant nausées et vomissements, anorexie et cachexie, spasmes, troubles du mouvement, douleurs, glaucome, diarrhées, épilepsie, asthme, dépendance et état de manque, symptômes psychiatriques, maladies auto-immunes, maladies inflammatoires et insomnies[3]. Le cannabis existe sous plusieurs formes médicales, dont la disponibilité dépend de la législation du pays où il est autorisé. Il peut aussi être prescrit à l'état naturel afin d'être consommé fumé, ou par inhalation de vapeurs. Jusqu'à présent, les médicaments à base de dérivés de cannabis ont toujours été indiqués pour des malades en phase terminale[3]. De plus, ils ne sont jamais prescrits en 1^{ère} intention.

Au cours de ma cinquième année, j'ai eu la chance de réaliser un projet de développement sur les cannabinoïdes. J'ai alors découvert les nombreuses avancées qui ont été faites dans le domaine du cannabis thérapeutique ces dernières années ainsi que les multiples possibilités thérapeutiques de ces molécules.

Avec cette thèse, j'ai voulu approfondir le sujet en me posant les questions suivantes : le cannabis, cette plante longtemps diabolisée et délaissée à son statut de stupéfiant, ne mériterait-elle pas que l'on s'intéresse de manière plus approfondie à ses vertues thérapeutiques? Aux vues des découvertes de ces dernières années, cette plante pourrait-elle devenir un médicament d'avenir ?

Nous verrons dans une première partie un aperçu des cannabinoïdes existants ainsi que le système cannabinoïde et son implication dans les réponses physiologiques.

Puis, nous verrons les applications thérapeutiques possibles pour ces molécules.

Ensuite, nous nous intéresserons de manière plus approfondie à la maladie de Parkinson et essayerons de développer une forme médicamenteuse pour cette maladie.

Enfin, nous verrons dans la dernière partie les effets toxiques des dérivés du cannabis.

Partie 1 : Cannabinoïdes et système cannabinoïde

I) Les cannabinoïdes

A ce jour, plus de 500 composés ont été isolés et identifiés dans le cannabis. Plusieurs classes sont représentées, parmi lesquelles se retrouvent des oses, des lipides, des phénols, ou encore des terpènes.

Environ une centaine de ces composés ont été jusqu'à aujourd'hui uniquement identifiés dans le cannabis et appartiennent à une famille de composés appelée à l'origine les cannabinoïdes. Ces derniers étaient alors caractérisés comme des composés constitués de 21 atomes de carbone, phénoliques et non azotés, classés parmi les terpénophénols. Actuellement trois classes de cannabinoïdes se distinguent : les endocannabinoïdes ou cannabinoïdes endogènes, les cannabinoïdes naturels ou phytocannabinoïdes et les cannabinoïdes synthétiques.

A) Les endocannabinoïdes

Ce sont des substances de nature lipidique produites par les humains ou les animaux, capables de se fixer sur les récepteurs aux cannabinoïdes. C'est suite à la découverte de ces récepteurs qu'a été émise l'hypothèse de l'existence de molécules endogènes pouvant aussi fixer les récepteurs des cannabinoïdes issus de la plante tels que le Δ -9THC.

A l'heure actuelle, les chercheurs pensent qu'il existe environ une dizaine d'endocannabinoïdes. Cependant, les recherches ont essentiellement porté sur l'anandamide et le 2-AG.

1) L'anandamide

a) Structure et découverte

L'isolement et la description de la structure de l'anandamide, ou N-arachidonyléthanolamide (AEA) date de 1992 (Figure 1). Son nom provient de la contraction entre le mot sanskrit « ananda » qui signifie béatitude absolue et amide qui est la fonction chimique de la molécule[4].

L'AEA appartient à la famille des N-acyl-éthanolamines (NAEs). Ce sont des amides gras ayant une éthanolamine comme composant aminé et sur lequel est fixé un groupement acyle.

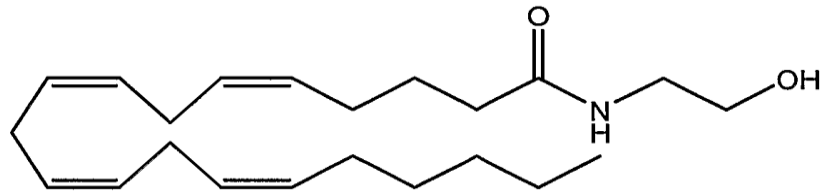


Figure 1 : Structure chimique de l'anandamide [5]

b) Biosynthèse

Contrairement aux autres médiateurs, l'AEA n'est pas stockée, mais synthétisée et libérée suite à un stimulus physiologique (hausse du calcium intracellulaire ou activation de récepteurs métabotropiques) ou pathologique. C'est un processus calcium dépendant impliquant un remodelage des phospholipides et consistant en l'hydrolyse enzymatique de la N-acyl-phosphatidyléthanolamine (NAPE) correspondante. L'enzyme catalysant cette réaction est une phospholipase D (PLD) sélective des NAPEs, appelée NAPE-PLD et qui présente des propriétés catalytiques différentes des autres PLD.

Bien que plusieurs éléments de preuve indiquent que cette voie est celle qui est principalement responsable de la biosynthèse de l'AEA dans les cellules saines, une voie de biosynthèse des NAEs indépendante de la NAPE-PLD a été récemment signalée. Selon cette voie, la N-acyl-PE est tout d'abord hydrolysée en N-acyl-lyso-PE et en acides gras libres par une phospholipase sécrétoire A2 du groupe IB. L'anandamide est alors libérée à partir du N-acyl-lyso-PE par une enzyme de type lyso-PLD (Figure 2).

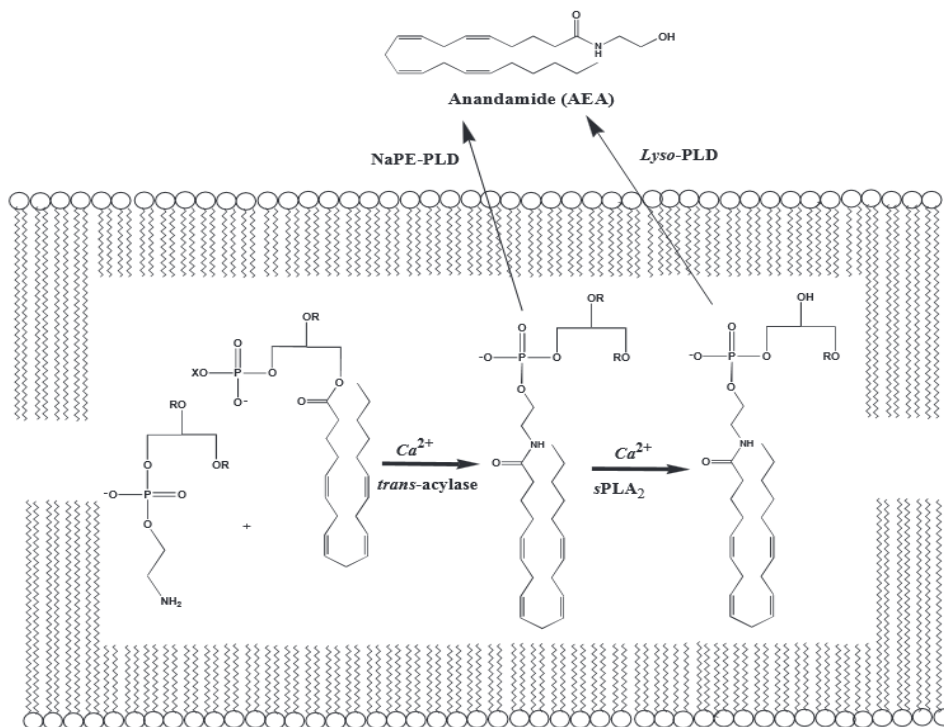


Figure 2 : Les voies de biosynthèse principales de l'anandamide [6]

Des études ont mis en évidence le fait que la NAPE-PLD et la trans-acylase ne semblent pas être sélectives pour une portion particulière d'acide gras. Les propriétés catalytiques de la NAPE-PLD ont été particulièrement étudiées à partir de préparations partiellement purifiées. Cette enzyme est dépendante de la concentration calcique et doit être stimulée par les polyamines. Elle est définitivement différente des PLD connues jusqu' à présent, puisque, par exemple, la NAPE-PLD ne peut pas catalyser la réaction de trans-phosphorylation typique des PLDs. La NAPE-PLD ne reconnaît pas la phosphatidylcoline et la phosphatidyléthanolamine comme substrats, et elle est largement distribuée dans les organes murins, avec des concentrations plus élevées dans le cerveau, les reins et les testicules. Enfin, la séquence d'acides aminés pour la NAPE-PLD ne montre pas d'homologie avec celles des autres PLDs, tels que les PLD1 et PLD2 ou la PLD spécifique du glycosylphosphatidylinositol. [6]

c) Propriétés physiologiques et profil pharmacologique de l'anandamide

En fonction du tissu, l'anandamide peut être agoniste partiel ou total des récepteurs CB₁. Elle est aussi agoniste du récepteur CB₂, mais avec une très faible affinité [7]. L'anandamide se lie aux mêmes récepteurs que le THC présent dans le cannabis et présente des propriétés proches de ce cannabinoïde naturel. Chez la souris, l'anandamide et le Δ -9THC entraînent des effets similaires : antinociception, hypomobilité, hypothermie et catalepsie. Mais la durée d'action de l'endocannabinoïde est moins longue et ses effets moins puissants[5].

Des expérimentations menées chez des rats entraînés ont montré que l'anandamide perturbe la mémoire de travail. L'administration de 0 à 2 mg/kg d'anandamide entraîne des troubles de la mémoire de travail, mais pas de la mémoire de référence. L'intensité de ces troubles est dose dépendante. De plus, les effets sont très similaires à ceux obtenus après une administration de 0 à 4 mg/kg de THC.

L'anandamide joue également un rôle dans le comportement alimentaire et dans les processus de plaisir et récompense. Des micro-injections d'anandamide dans le noyau accumbens médian chez des rats ont permis d'étudier les modifications de leur comportement vis à vis des goûts sucré et amer. L'anandamide a doublé le nombre de réactions positives suite à une prise orale de sucre, sans modifier les réactions négatives de dégoût à la quinine qui est amère[8]. L'anandamide, via le noyau médian accumbens va donc amplifier la réaction positive suite à une récompense naturelle.

L'anandamide joue également un rôle dans la reproduction et les processus hormonaux qui lui sont associés. Il a été montré que les composés proches du Δ -9THC, l'anandamide par exemple, régulent l'implantation de l'embryon au stade blastocyste dans l'utérus par stimulation des récepteurs aux cannabinoïdes situés sur la surface embryonnaire.[9]

Afin de mieux comprendre comment l'anandamide influence la fertilité chez l'Homme, une étude longitudinale a été menée chez des femmes volontaires saines ménopausées et non ménopausées. La concentration plasmatique en AEA et les concentrations sériques en FSH, LH, œstradiol et progestérone à cinq différents stades du cycle menstruel et de la post-ménopause ont été mesurées. Il a été observé que le pic d'AEA se produit pendant l'ovulation et est en corrélation avec les niveaux d'œstradiol et de gonadotrophines, suggérant que ces hormones seraient impliquées dans la régulation du niveau d'AEA.[10]

L'anandamide peut également se lier au récepteur TRPV1, qui sera décrit ultérieurement. C'est un agoniste de ce récepteur. Cependant, son affinité pour ce dernier est de l'ordre du micromolaire et inférieure à celle pour les récepteurs CB1. L'interaction entre le récepteur TRPV1 et l'anandamide pourrait être à l'origine des effets antalgiques de cet endocannabinoïde.

Enfin, au niveau périphérique, l'anandamide peut également induire de nombreux effets comme une bradycardie, une hypotension, une diminution de la pression sanguine oculaire et une inhibition des muscles lisses des tractus gastrointestinal et urinaire.[11]

2) Le 2-arachidonylglycérol (2-AG)

a) Structure et découverte

Cet endocannabinoïde est un ester formé à partir de l'acide arachidonique et du glycérol (Figure 3).

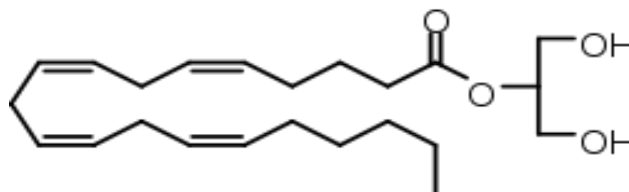


Figure 3 : Structure chimique du 2-arachidonylglycérol [12]

Cette molécule était déjà connue auparavant. C'est en 1995 que le 2-AG est devenu officiellement le deuxième endocannabinoïde, date à laquelle un groupe de chercheurs a rapporté son affinité pour les récepteurs aux cannabinoïdes. Au cours de la même année, le 2-AG a pu être isolé à partir d'intestins de chiens et ses propriétés pharmacologiques *in vivo* ont pu être caractérisées.[13]

Dans les cellules et les tissus non stimulés, les niveaux de 2-AG sont supérieurs à ceux de l'anandamide. Cependant, ils sont probablement surestimés car suite à la décapitation d'un rat, une grande quantité de 2-AG est formée. Cela suggère que seule une partie du 2-AG trouvée dans les tissus est utilisée pour activer les récepteurs aux cannabinoïdes.[14]

b) Biosynthèse[6]

Comme l'AEA, le 2-AG n'est pas stocké, mais synthétisé et libéré suite à un stimulus physiologique ou pathologique. Plusieurs stimuli peuvent entraîner la formation de 2-AG dans les cellules saines. Notamment les lipopolysaccharides, l'endothéline, le facteur d'activation des plaquettes, l'ionomycine, le carbachol, ou encore la thrombine.

Dans la plupart des cas, le 2-AG est produit par l'hydrolyse de diacylglycérols (DAG) contenant un arachidonate en position 2. Cette réaction est catalysée par une DAG lipase sélective pour la position *sn-1*. Ces DAGs peuvent être produits de deux façons différentes :

- à partir de l'hydrolyse de phosphoinositides (PI), cette réaction étant catalysée par une phospholipase C sélective pour les PI (PI-PLC). Cela se produit dans les macrophages, les plaquettes ou les neurones corticaux.
- à partir de l'hydrolyse d'acide phosphatidique (PA). Cette réaction est catalysée par une PA phosphohydrolase et a été mise en évidence dans des cellules de neuroblastomes de type N18TG2, ainsi que dans des cellules microgliales de rats appartenant à la lignée RTMGL1 (Figure 4).

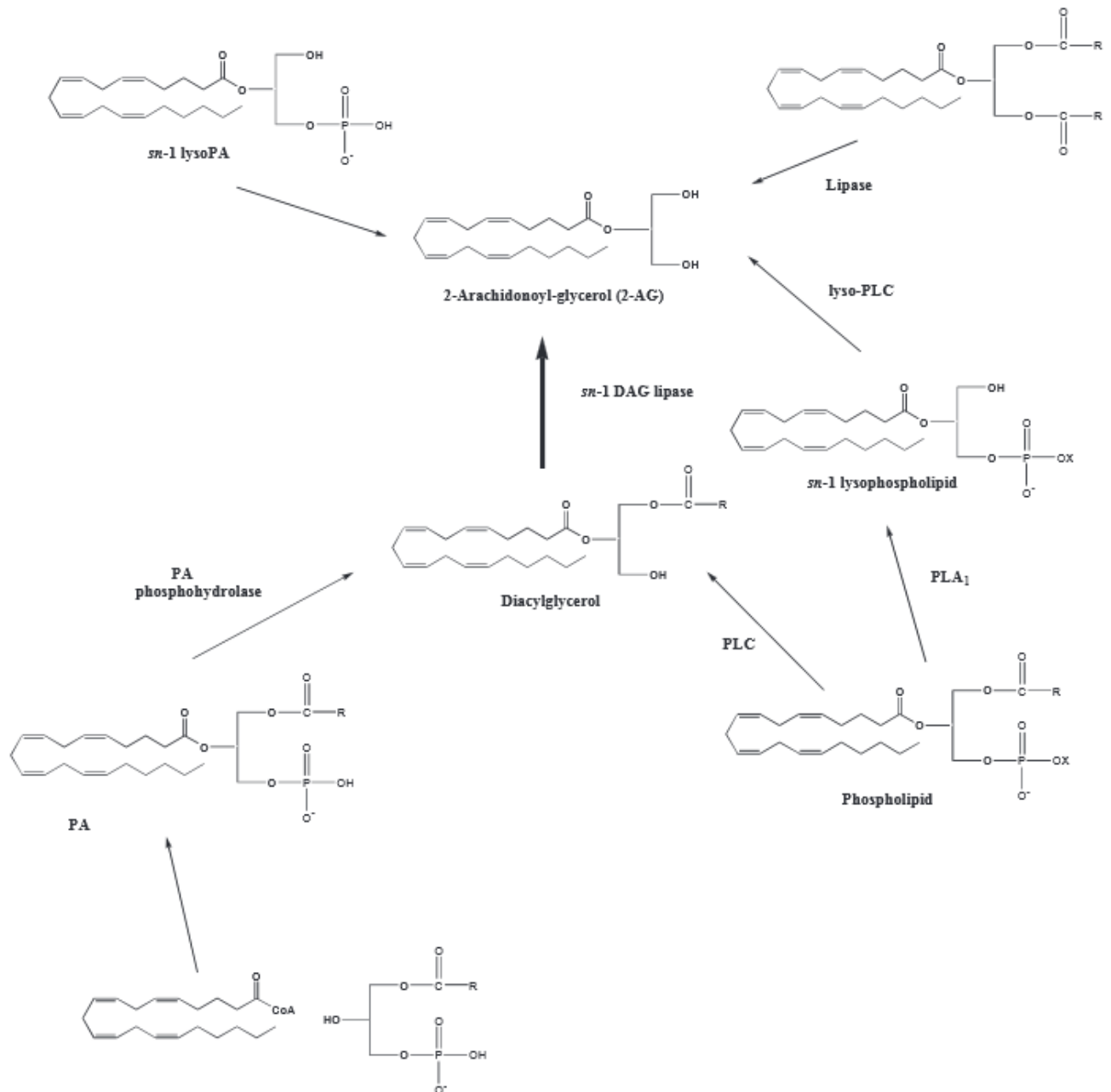


Figure 4 : Les voies de biosynthèse du 2-arachidonoylglycérol [6]

Concernant l'étape de conversion des DAGs en 2-AG, deux isoenzymes de *sn*1-DAG lipase ont été clonés, caractérisés et identifiés comme les enzymes catalysant la formation de 2-AG dans les cellules saines. Ce sont la DAGL α et la DAGL β . En se basant sur leur séquence en acides aminés, il a été possible de montrer que ces deux enzymes contiennent un motif lipase-3 et ser-lipase et également d'envisager la présence de quatre domaines transmembranaires, la séquence amino-terminale se situant du côté cytosolique.

c) Propriétés physiologiques et profil pharmacologique du 2-arachidonyleglycérol

Le 2-AG est agoniste pour les récepteurs CB₁ et CB₂, avec une affinité presque équivalente.

Tout comme l'anandamide, le 2-AG possède de nombreuses propriétés physiologiques. Il peut tout d'abord agir en tant que régulateur de l'appétit.

Ensuite, il a une influence dans le système immunitaire. En effet, il exerce un effet dans le contrôle de l'activation du système immunitaire et est rapidement produit suite à un stimulus pro-inflammatoire venant des cellules immunitaires.[15]

Le 2-AG a également un rôle dans le contrôle de la douleur.

Enfin, cet endocannabinoïde exerce une action sur les cellules cancéreuses. L'augmentation de ses taux endogènes par blocage de son catabolisme va inhiber l'invasion des cellules cancéreuses de type prostatiques hormono-indépendantes (PC-3 et DU-145).[16]

3) Les voies de dégradation de l'anandamide et du 2-arachidonyleglycérol[6]

Les endocannabinoïdes étant des médiateurs endogènes des réponses physiologiques et pathologiques, des mécanismes entraînant leur défixation de leurs cibles moléculaires et leur dégradation sont nécessaires (Figure 5).

a) Régulation par transport membranaire.

Les endocannabinoïdes étant lipophiles, ils diffusent à travers la membrane cellulaire. Dans plusieurs types cellulaires, l'AEA semble être pris en charge par un mécanisme de transport facilité appelé le transporteur membranaire de l'anandamide (AMT). En fait, l'accumulation d'anandamide dans la cellule est saturable, dépendante de la température et sensible à des inhibiteurs de synthèse, ce qui est le cas en présence d'un mécanisme médié par une protéine. L'AMT n'a pas encore été isolé ou cloné, mais plusieurs expérimentations mettent en évidence la possibilité qu'il puisse aussi réguler l'accumulation de 2-AG ainsi que du N-arachidonyl dopamine (NADA), de la virodhamine et de la noladine éther, qui sont trois autres endocannabinoïdes.

Selon certains auteurs, l'AMT n'existerait pas. L'AEA serait hydrolysée par une enzyme, la Fatty acide amine hydrolase (FAAH), afin de réduire sa concentration intracellulaire. Cette hydrolyse enzymatique peut être couplée à une association transitoire de l'endocannabinoïde avec la membrane plasmique.

D'un autre côté, plusieurs données sont en accord avec un transport facilité indépendant de la FAAH :

- Des lignées cellulaires n'exprimant pas la FAAH sont capables de prendre en charge rapidement l'AEA[17]
- L'accumulation saturable d'AEA peut toujours être observée dans des synaptosomes préparés à partir de souris n'exprimant pas la FAAH[18]
- Des composés synthétiques inhibent de manière sélective l'accumulation cellulaire d'AEA sans affecter l'activité de la FAAH[19]
- Des inhibiteurs sélectifs de l'AMT bloquent l'activité de l'AEA au niveau de sites d'actions cytosoliques des récepteurs vanilloïdes TRPV1 alors qu'ils augmentent ses effets extracellulaires médiés par le récepteur CB₁[20]
- L'AMT facilite l'accumulation de noladine éther et de NADA, qui sont résistants à l'hydrolyse par la FAAH[21]
- L'accumulation d'AEA est médiée par une combinaison de mécanismes dépendants et indépendants de la FAAH[22]
- Un traitement aigu ou chronique à l'éthanol inhibe l'accumulation d'AEA mais pas l'activité de la FAAH[23]
- La libération d'AEA par les cellules est bloquée par un inhibiteur sélectif de l'AMT (le VDM11), sans affecter la biosynthèse *de novo* de l'AEA.[18]

b) Hydrolyse enzymatique

1. La Fatty acid amine hydrolase

La FAAH évoquée précédemment a été identifiée comme une enzyme responsable principalement de l'hydrolyse de l'AEA en acide arachidonique et éthanolamine. Dans certains cas, elle hydrolyse le 2-AG en acide arachidonique et glycérol. Elle catalyse aussi l'hydrolyse de longues chaînes primaires d'amides gras ainsi que d'esters de glycérol.

La FAAH a été purifiée et clonée à partir de foie de rat et ses propriétés structurales et catalytiques ont été totalement explorées. La FAAH est une protéine membranaire composée de 597 acides aminés. Elle a été clonée à partir d'une grande variété d'espèces, avec un haut degré de conservation entre la souris et l'Homme. L'enzyme contient une « petite séquence signature amidase » enrichie en résidus sérine et glycine.

Des études [24] de mutagenèse dirigée ont permis d'identifier les acides aminés impliqués dans le site catalytique de l'enzyme. Grâce à ces études, les loci contenant les gènes de la FAAH humains et murins ont pu être identifiés.

La région promotrice de la FAAH a également été étudiée. Elle est la cible de la progestérone et de la leptine qui la régulent positivement ainsi que des œstrogènes et des glucocorticoïdes qui la régulent négativement.

La FAAH est exprimée principalement au niveau des membranes microsomiales et a une activité optimale à pH alcalin. Des études de type relation structure-activité portant sur l'interaction de longues chaînes de dérivés d'acides gras avec la FAAH ont montré que la chaîne alkyle et la tête polaire de l'anandamide sont toutes les deux importantes pour son interaction avec le site actif de l'enzyme.

2. *La monoacylglycerol lipase*

Bien que la FAAH puisse catalyser l'hydrolyse du 2-AG, les niveaux de ce dernier ne sont pas augmentés dans des souris n'exprimant pas la FAAH, alors que ceux de l'AEA le sont. Cela suggère que des enzymes différentes de la FAAH sont impliquées dans l'inactivation du 2-AG. [17], [25]

Ce sont des Monoacylglycerol lipases (MAGL), des hydrolases présentes au niveau de la membrane et du cytosol de fractions subcellulaires. Les MAGLs peuvent reconnaître des monoacylglycerols insaturés différents du 2-AG entrant en compétition avec son hydrolyse enzymatique. En 2001 et 2002, une MAGL inactive sur l'AEA et ayant une forte homologie avec d'autres MAGLs humaines et murines ont été clonées chez l'homme, ainsi que le rat. Dans le cerveau du rat, cette MAGL est fortement présente dans les régions où les récepteurs CB₁ sont exprimés.

Des études immunohistochimiques dans l'hippocampe ont mis en évidence une localisation pré-synaptique de la MAGL ainsi qu'une localisation post-synaptique des DAG lipases responsables de la production du 2-AG. Cela met en évidence le rôle potentiel du 2-AG en tant que messager rétrograde.

Une autre étude [26] a montré que dans le cerveau, la FAAH se situe au niveau post-synaptique alors que la MAGL se trouve au niveau pré-synaptique. Cela montre une localisation complémentaire des enzymes et suggère que l'AEA et le 2-AG ont des rôles différents dans le SNC.

c) Les autres mécanismes d'inactivation[6]

Les produits d'hydrolyse de l'AEA et du 2-AG, l'éthanolamine, l'acide arachidonique et le glycérol, sont recyclés en phospholipides membranaires afin d'être réutilisés en partie dans les voies de biosynthèse des deux endocannabinoïdes. Le 2-AG, contrairement à l'AEA, peut être ré-estérifié en phospholipides membranaires après son hydrolyse enzymatique. Cette ré-estérification met en jeu des phosphorylations ou des acylations des groupements hydroxyle du 2-AG.[17]

Etant donné qu'il existe des fragments d'arachidonate, il a été envisagé que les endocannabinoïdes puissent être sensibles aux mécanismes d'oxydation catalysés par les lipoxygénases, les cyclooxygénases et les cytochromes P 450 oxydases.[27] Concernant la lipoxygénase, l'AEA et le 2-AG peuvent être dégradés par les 12-, 15-, mais pas les 5-lipoxygénases. Les dérivés en 12-hydroxy de l'AEA peuvent toujours se lier aux récepteurs

aux cannabinoïdes alors que les dérivés en 15-hydroxy ne le peuvent pas, mais inhibent la FAAH[28]. Il est possible que des dérivés hydroxylés d'AEA non identifiés agissent via les récepteurs TRPV1, tout comme l'AEA.[29]

Les dérivés en 15-hydroxy du 2-AG peuvent être formés dans les cellules eucaryotes et seraient des agonistes pour le récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes (PPAR) α , mais pas le γ . [30]

L'anandamide peut être transformé en son prostamide correspondant. Le 2-AG peut lui être transformé en son prostaglandine glycérol ester correspondant. Ce processus est le fruit de l'action d'une cyclooxygénase de type 2 suivie l'action de plusieurs prostaglandine synthases. Ces deux composés ont été étudiés, ils n'ont pas de cibles spécifiques concernant les récepteurs aux cannabinoïdes ou aux prostaglandines.[31] Les prostamides peuvent stimuler la contraction de l'iris chez le chat, par un mécanisme qui n'est pas dû à une transformation en prostaglandines, ni à l'activation des récepteurs aux prostaglandines, ni à une augmentation endogène d'AEA, ou encore à l'activation des récepteurs vanilloïdes TRPV1. Cela suggère une interaction avec de nouveaux récepteurs, exprimés dans l'iris du chat.[32]

Concernant le métabolisme des endocannabinoïdes médié par le cytochrome P 450, peu de résultats ont été rapportés. Les études effectuées ont permis de découvrir une production de dérivés oxygénés d'AEA via l'activation des cytochromes P450 hépatiques murins.[33], [34]

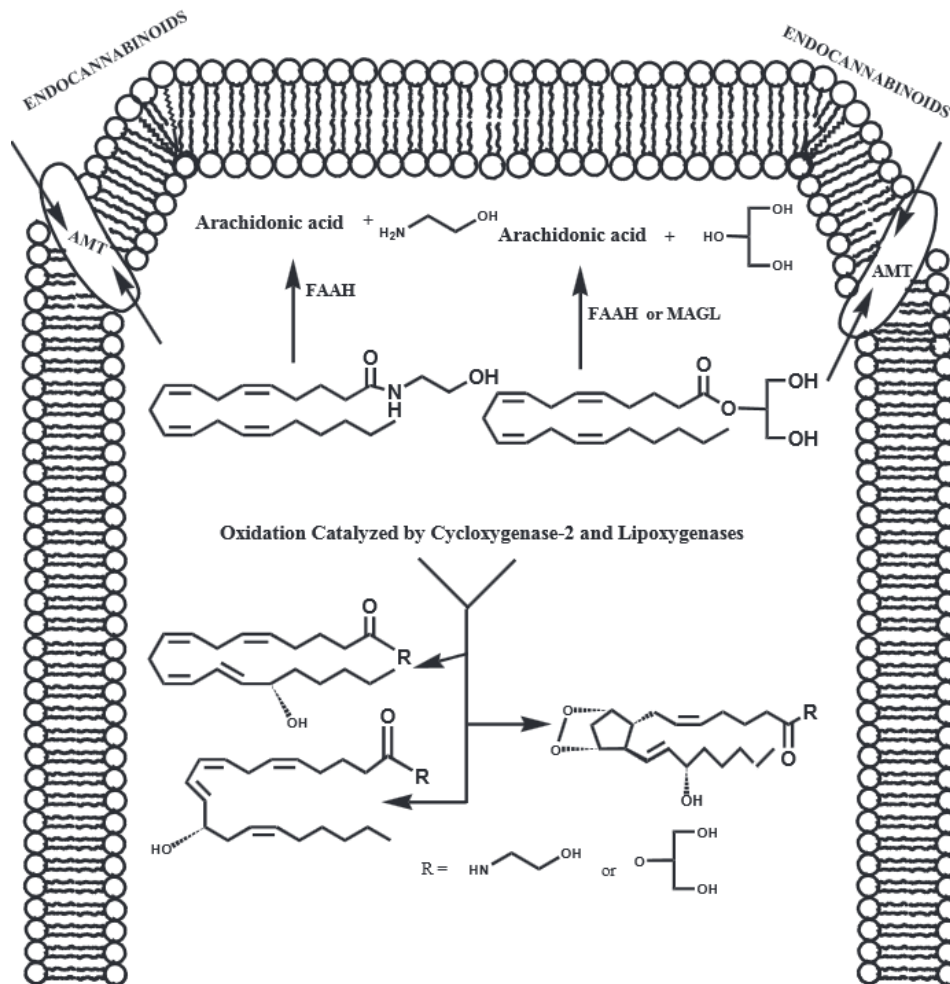


Figure 5 : Les principales voies de dégradation de l'anandamide et du 2-AG [6]

4) Le 2-arachidonylglycérol éther

a) Structure et découverte

Le 2-arachidonylglycérol éther (2-AG éther) est aussi connu sous le nom de noladine éther. Il a été isolé en 2001 à partir de cerveaux de porcs et constitue le troisième endocannabinoïde identifié (Figure 6).[35]

Sa structure a pu être établie grâce à la spectroscopie de masse et à la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire. Une noladine éther de synthèse avait déjà été préparée précédemment au cours de travaux portant sur le 2-AG afin d'avoir un composé plus stable très voisin du 2AG car ce dernier est sensible à l'hydrolyse enzymatique. La structure de ce composé de synthèse a été comparée au 2-AG éther découvert chez le porc. Toutes les données récoltées (par spectroscopie de masse couplée à une chromatographie en phase gazeuse et spectroscopie par résonance magnétique nucléaire) pour ces deux composés ont été identiques.[35]

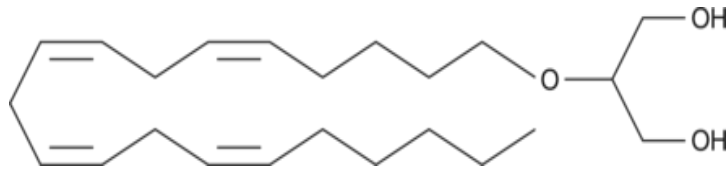


Figure 6 : Structure du 2-arachidonylglycérol éther [36]

b) Propriétés physiologiques et profil pharmacologique du 2-arachidonylglycérol éther

C'est un agoniste des récepteurs CB₁ et CB₂, mais sa liaison aux récepteurs CB₂ est faible.

Afin d'étudier les effets de la noladine éther sur le comportement, les tests utilisés couramment pour évaluer les cannabinoïdes ont été mis en place sur des souris. Ces tests sont le test de l'anneau qui évalue la catalepsie, le test en champ ouvert qui évalue l'activité motrice, le test de la plaque chaude qui évalue la nociception, une mesure de la température rectale, une mesure du temps de défécation dans un champ ouvert et enfin une évaluation de la motilité intestinale. Tous ces tests ont été réalisés quatre fois consécutivement, 10 minutes après une injection intra-péritonéale soit d'un véhicule seul, soit du même véhicule contenant en plus une quantité de 20mg/kg de 2-AG éther synthétique. Les résultats ont montré que le 2-AG éther entraîne une sédation, une hypothermie, a un effet antinociceptif et diminue la motilité intestinale.[35]

D'autres expérimentations ont été faites afin de comparer l'effet du 2-AG éther à ceux du 2-AG et de l'AEA sur la pression intraoculaire. Une administration topique du 2-AG éther chez le lapin, a provoqué une diminution de la pression oculaire. Cependant, le 2-AG agit selon une cinétique biphasique, ce qui n'est pas le cas du 2-AG éther. De plus, un antagoniste du récepteur CB₁ a bloqué les effets du 2-AG éther, mais pas ceux du 2-AG, suggérant que le 2-AG éther agisse via les récepteurs CB₁. Il a été également observé que le 2-AG et l'AEA sont dégradés plus rapidement que le 2-AG éther, cela peut être dû à sa structure chimique plus stable.[37]

Comme l'oléoyléthanolamide, l'anandamide ou la virodhamine, le 2-AG éther est capable de se lier au site de fixation du ligand du PPAR α et d'augmenter l'activité transcriptionnelle médiée par ce récepteur. Certaines propriétés neuroprotectrices de ces molécules pourraient être médiées par l'activation de ce récepteur nucléaire.[38]

5) Le N-arachidonyl dopamine ou NADA

a) Généralités

Le N-arachidonyl dopamine (NADA) a été découvert en 2002 (Figure 7). Il s'agit en fait d'un composé endogène apparenté à la capsaïcine, qui se localise dans les aires cérébrales ayant

une haute densité en récepteurs TRPV1 (le striatum, l'hippocampe, le cervelet et les ganglions de la racine dorsale)[21]. Il se retrouve abondamment dans le striatum, qui est la région du cerveau contenant le plus de dopamine.

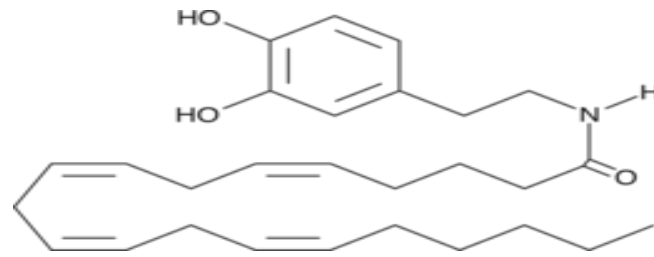


Figure 7 : Structure du N-arachidonyl dopamine [39]

Deux voies de biosynthèse pourraient être à l'origine de cet endocannabinoïde. Une première voie implique la conjugaison de la dopamine avec l'acide arachidonique. Une seconde voie implique la N-arachidonyl tyrosine qui serait métabolisée en N-Arachidonyl dopamine via une tyrosine hydroxylase, puis en NADA par une Aminoacide décarboxylase (Figure 8) .[40]

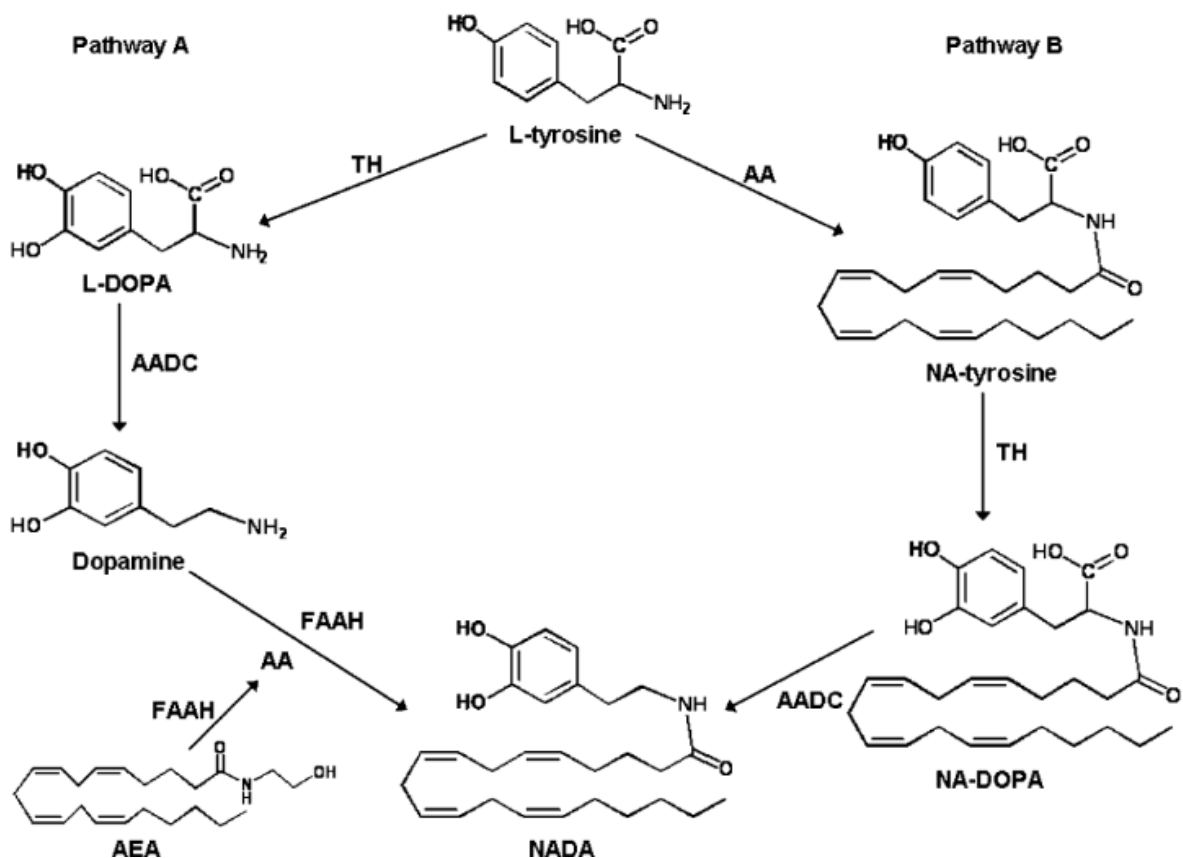


Figure 8 : Les voies de biosynthèse possibles du N-arachidonyl dopamine [40]

b) Propriétés physiologiques et profil pharmacologique du N-arachidonyl dopamine

Le NADA est un agoniste pour les récepteurs CB₁ et les récepteurs TRPV1 de l'ordre du nanomolaire[21]. Vue son action pour le récepteur TRPV1, le NADA peut être aussi considéré comme un endovanilloïde.

In vitro, le NADA a montré plusieurs propriétés :

- Dans les ganglions de la racine dorsale, le NADA augmente la concentration calcique intracellulaire via l'activation des récepteurs CB₁ et dépolarise la membrane via les récepteurs TRPV1 [41]
- Dans des tranches de corne dorsale de moelle épinière, le NADA augmente la libération de substance P et du PRGC (ce sont deux médiateurs de la douleur) [21]
- Dans des tranches d'hippocampe de rat, le NADA augmente la plasticité synaptique médiée par les récepteurs TRPV1, via une augmentation des transmissions GABAergiques[21]
- Dans des petits vaisseaux mésentériques, le NADA peut également initier des effets vasodilatateurs via l'activation des récepteurs CB₁ et TRPV1 [42]
- enfin, dans les neurones dopaminergiques de tranches de substance noire de rats, le NADA a entraîné une réduction des transmissions GABAergiques et glutamatergiques médiées via le récepteur CB₁ ainsi qu'une augmentation des transmissions glutamatergiques médiées via le récepteur TRPV1. [43]

En plus de ces effets *in vitro*, le NADA exerce des effets opposés sur la modulation de la douleur via l'activation des récepteurs CB₁ ou TRPV1. En effet, une administration intrapéritonéale de NADA chez la souris (10 mg/kg) entraîne une analgésie médiée par les récepteurs CB₁ alors qu'une injection intradermale dans la patte arrière du rat induit une hypersensibilité à la douleur médiée par les récepteurs TRPV1. [44]

Parallèlement, Huang et Walker ont identifié certains mécanismes neuronaux de l'hyperalgésie chez des rats anesthésiés[45]. Ils ont trouvé que suite à une injection dans les champs récepteurs des neurones nociceptifs de la corde dorsale au niveau des pattes arrières homolatérales, le NADA augmente à la fois l'activité spontanée et l'activité induite par la chaleur dans les neurones nociceptifs de la moelle épinière. Cette hypersensibilité induite par le NADA est dose dépendante ($EC_{50}=1,55\mu\text{g}/50\mu\text{L}=68,2\mu\text{M}$) et dépendante des récepteurs TRPV1, mais indépendante des récepteurs CB₁. Cependant, d'autres chercheurs ont trouvé que le NADA inhibe à la fois les réponses induites par des stimuli mécaniques non douloureux via les récepteurs CB₁ dans les neurones de la corde dorsale et les réponses induites par des stimuli douloureux via les récepteurs TRPV1 dans les neurones de la corde dorsale, suite à une injection intradermale dans les champs réceptifs des neurones. [41]

Ces découvertes suggèrent que le NADA exerce des effets complexes sur les neurones sensitifs, probablement dûs à l'expression différentielle des récepteurs CB₁ et TRPV1 au

niveau des fibres afférentes primaires et/ou à des mécanismes moléculaires en fonction des différents stimuli. [41]

En tant qu'endocannabinoïde et endovanilloïde, le NADA pourrait également jouer un rôle dans l'inflammation via l'activation des récepteurs CB₁ et TRPV1.

6) La virodhamine

a) Généralités

Découvert en 2002, cet endocannabinoïde est aussi connu sous le nom de O-arachidonyle éthanolamine ou OAE (Figure 9). Au niveau de sa structure moléculaire, cet endocannabinoïde se présente sous la forme d'un acide arachidonique relié à une éthanolamine par une liaison ester.

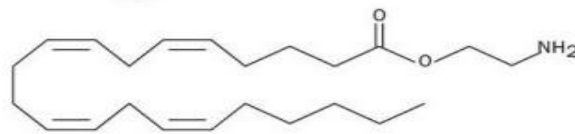


Figure 9 : Structure de la virodhamine [46]

Dans le cerveau du rat et l'hippocampe humain, la concentration en virodhamine est identique à celle de l'anandamide. Dans les tissus périphériques exprimant le récepteur CB₂, les concentrations sont 2 à 9 fois supérieures à celle en anandamide. [47]

b) Propriétés physiologiques et profil pharmacologique de la virodhamine

L'OAE est antagoniste pour les récepteurs CB₁, agoniste des récepteurs CB₂ et également agoniste des récepteurs GPR55, un troisième récepteur découvert assez récemment.

Concernant ses effets, l'OAE induit une hypothermie chez la souris. [47]

De plus, dans des cellules humaines d'épithélium bronchique (de type 16HBE14o⁺), l'OAE a entraîné une activation de l'adénylate cyclase via les récepteurs CB₁ et une inhibition de cette enzyme via les récepteurs CB₂. Cependant, la voie de signalisation dominante est celle médiée par les récepteurs CB₂ et son activation a diminué l'accumulation d'AMPc et la libération d'interleukine-8 induite par le TNF α . Ces observations peuvent signifier que les cannabinoïdes exerceraient une action anti-inflammatoire dans les voies aériennes via la modulation de la libération des cytokines. [48]

Afin d'essayer de comprendre le rôle du système endocannabinoïde dans l'inflammation, des chercheurs ont examiné les effets de la virodhamine et de l'AEA sur la signalisation médiée par le récepteur GPR55. Ils ont en fait évalué les changements de distribution de la β -arrestine2 et l'internalisation du récepteur GPR55 suite à une activation par le

lysophosphatidylinositol, le cannabinoïde synthétique SR141716A ou rimonabant et des nouveaux agonistes sélectifs synthétiques pour le récepteur GPR55.

Les résultats ont montré que l'AEA et la virodhamine modulent le recrutement de la β -arrestine2 médié par un agoniste. Ces deux endocannabinoïdes agissent comme agonistes partiels en augmentant l'effet agoniste à faibles concentrations et en l'inhibant à hautes concentrations. De plus, l'AEA et la virodhamine atténuent tous deux de façon significative l'internalisation du récepteur GPR55 induite par un agoniste. Ces effets sont attribués à l'expression du récepteur GPR55, mais pas de CB₁ et CB₂ car dans les cellules étudiées, une expression négligeable de CB₁ et CB₂ a été observée. [49]

7) Le lysophosphatidylinositol

Le lysophosphatidylinositol ou LPI (Figure 10) était déjà connu comme produit de dégradation du phosphatidylinositol, ce-dernier étant hydrolysé par une PLA2.

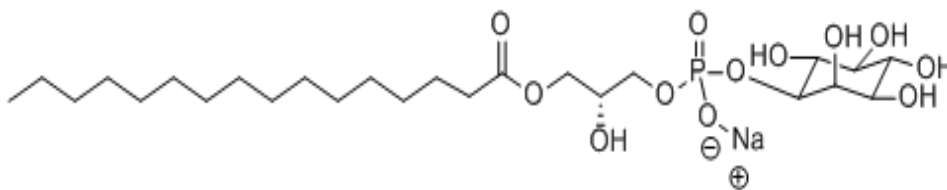


Figure 10 : Structure du lysophosphatidylinositol [50]

Les fonctions cellulaires induites par le LPI sont connues depuis plus de vingt ans. Il peut par exemple affecter la croissance, la motilité et la différenciation cellulaire dans plusieurs types cellulaires. Cependant, il a été découvert récemment que le récepteur GPR55 est le récepteur spécifique du LPI dans différents types cellulaires. Le LPI est un agoniste pour ce récepteur. Suite à la liaison du LPI, le récepteur GPR55 déclenche plusieurs cascades de signalisation ayant un effet sur la prolifération, la migration, la survie cellulaire et la tumorigenèse, la concentration en LPI étant élevée dans les tissus cancéreux. L'interaction LPI/GPR55 joue également un rôle important dans différents contextes physiologiques et pathologiques. [51]

Le LPI est également impliqué dans la sensibilisation des neurones sensitifs périphériques, qui était manifestement une sensibilité exagérée à une pression douloureuse et non douloureuse. Des analyses histopathologiques ont indiqué la non implication de pathologies de la myéline et l'absence de recrutement de cellules immunitaires par le LPI. L'utilisation d'outils pharmacologiques et génétiques chez la souris ont montré que le récepteur GPR55 véhicule seulement partiellement les actions induites par le LPI dans le contexte de la sensibilisation à la douleur *in vivo*. [52]

B) Les cannabinoïdes naturels

Les cannabinoïdes naturels ou phytocannabinoïdes sont les cannabinoïdes retrouvés dans la résine du cannabis. Cette résine est sécrétée par les trichomes qui sont des excroissances épidermiques recouvrant toute la plante et concentrées au niveau des bourgeons en floraison. La résine a un rôle protecteur contre les insectes et les parasites et permet d'éviter les pertes d'eau [53]. Comparés aux autres composés contenus dans la plante, les phytocannabinoïdes sont retrouvés en quantité relativement basse. De plus, la plante nécessite des conditions particulières de température et de luminosité afin de produire ces molécules.

A ce jour, une centaine de cannabinoïdes naturels a pu être identifiée. Parmi toutes ces molécules, un nombre peu important ont été étudiés jusqu'à présent. De plus, Le but de cette partie n'étant pas de faire un inventaire de tous les phytocannabinoïdes existants, nous nous intéresserons uniquement à ceux qui ont révélé des propriétés notables.

1) Le delta-9-tétrahydrocannabinol

Il a été découvert et isolé en 1964 (Figure 11) [54]. Le Δ -9 THC est systématiquement associé au cannabis. Etant le phytocannabinoïde qui a été le plus étudié, ses propriétés sont aujourd'hui très bien connues.

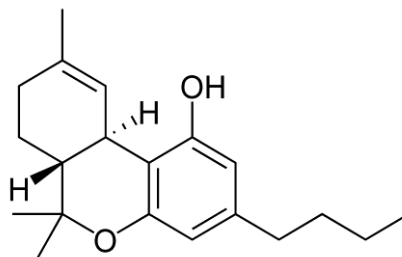


Figure 11 : Structure du Δ -9-THC [55]

Concernant ses propriétés physico-chimiques : [56]

- Il est sous la forme d'une huile résineuse jaune claire
- Son poids moléculaire est de 314, 46Da
- Il a un pKa de 10.6
- Il est peu soluble dans l'eau (0,02054 mg/L), soluble dans l'alcool, l'acétone, le glycérol et les substances huileuses
- La température d'ébullition du Δ -9-THC est de $390,4 \pm 42^\circ\text{C}$ à 760 mmHg et son point de fusion de $160,26^\circ\text{C}$
- Sa densité est de $1,0 \pm 0,1 \text{ g/cm}^3$.

Il est le principal responsable des effets psychoactifs du cannabis et agit comme agoniste des récepteurs CB₁ ainsi que des récepteurs CB₂.

2) Le delta-8-tétrahydrocannabinol

Il s'agit d'un isomère du Δ -9-THC retrouvé en quantité beaucoup moins importante dans la plante (Figure 12). De ce fait, il arrive souvent qu'aucune distinction ne soit faite entre le Δ -8-THC et le Δ -9-THC, ainsi leurs effets sont très souvent confondus.

Le Δ -8-THC est agoniste CB₁ et CB₂ comme son isomère, mais aura des effets psychoactifs moins importants.

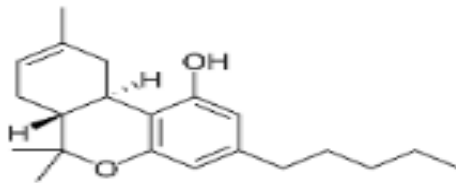


Figure 12 : Structure du Δ -8-THC [57]

3) Le cannabinoïde

C'est un phytocannabinoïde présent en très faible quantité dans la plante fraîche, produit suite à l'oxydation du THC lors d'une exposition à la lumière et à l'air (Figure 13).

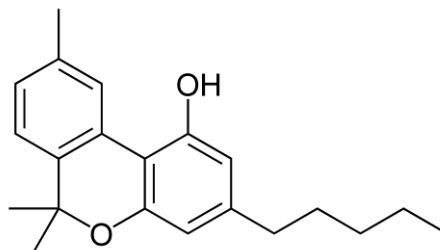


Figure 13 : Structure du cannabinoïde [55]

Le cannabinoïde est agoniste partiel des récepteurs CB₁ et CB₂ avec une affinité plus importante pour le récepteur CB₂. Il possède des propriétés sédatives et psychoactives, mais il est environ dix fois moins psychoactif que le Δ -9-THC.

4)Le cannabidiol

Le cannabidiol ou CBD est le premier cannabinoïde isolé en 1940 à partir de *Cannabis sativa* (Figure 14). C'est le principal phytocannabinoïde non psychotrope. En effet, il peut constituer jusqu'à 40% des extraits de la plante *Cannabis sativa* L..[58]

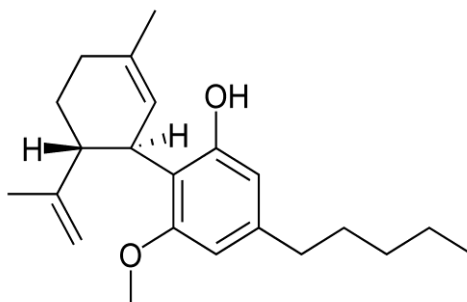


Figure 14 : Structure du cannabidiol [59]

Le CBD est un agoniste très faible des récepteurs CB₁ et CB₂ et agoniste inverse du récepteur CB₂. Il est également antagoniste du récepteur GPR55[60], agoniste des récepteurs 5HT1a humains [61] ce qui semble être à l'origine de ses propriétés anxiolytiques et antidépressives, et est également modulateur allostérique des récepteurs opioïdes mu et delta [62].

Du fait de son profil pharmacologique particulier, le CBD permet lorsqu'il est en association avec le Δ -9-THC de diminuer les effets négatifs de ce dernier, notamment les effets psychotropes. Cette association est utilisée dans un médicament, le Sativex[®], que nous aborderons ultérieurement plus en détails. Etant donné que le CBD est également une molécule présentant peu de dangers, Il constitue une molécule à haut potentiel thérapeutique pour un large éventail de désordres qu'ils soient psychiatriques ou non-psychiatriques.

5)Le cannabigérol

Le cannabigérol ou CBG est un phytocannabinoïde non psychoactif (Figure 15). Il est considéré comme un précurseur du THC, du CBD et du cannabichromène ou CBC car il est rapidement converti en ces molécules dans la plante. Cela pourrait expliquer pourquoi il se retrouve à faible concentration dans la plupart des variétés de cannabis. [63]

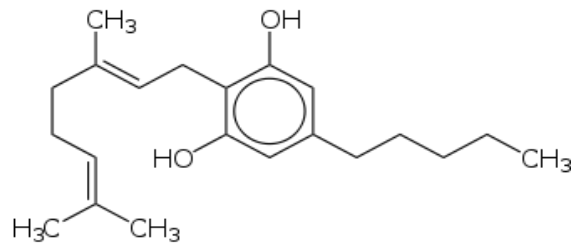


Figure 15 : Structure du cannabigerol [64]

Concernant ses propriétés pharmacologiques, Le CBG est un agoniste des récepteurs canaux à potentiel transitoire TRPV1 et TRPA1 et un antagoniste du récepteur TRPM8. Il est également agoniste des récepteurs α_2 -adrénergiques et antagoniste des récepteurs CB₁ et des récepteurs histaminiques 5-HT_{1A}. [65]

Le CBG n'a pas encore été étudié de manière approfondie, mais il a montré des propriétés intéressantes pour un traitement potentiel du glaucome [66], ainsi que des propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes [67].

6) Le cannabichromène

Le cannabichromène ou CBC est un phytocannabinoïde non psychoactif (Figure 16). Avec le Δ -9-THC, le CBD et le CBN, Il fait partie des cannabinoïdes présents en plus grande quantité dans la plante.

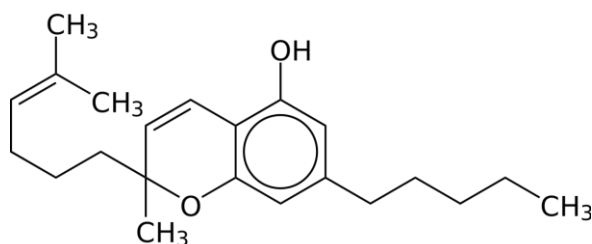


Figure 16 : Structure du cannabichromène [68]

Concernant ses effets, une étude de 2011 [69] a mis en évidence que le CBC, ainsi que le CBD, stimulent les voies descendantes de l'antinociception et entraînent un phénomène d'antalgie en interagissant avec plusieurs protéines impliquées dans le contrôle nociceptif.

En 2012, des chercheurs ont montré que *in vivo* le CBC inhibe l'hypermotilité intestinale induite par une inflammation et que ce mécanisme est indépendant des récepteurs aux cannabinoïdes et TRPA1. [70]

Une dernière étude de 2013 [71] a montré que le CBC augmente la viabilité des cellules souches neurales progénitrices murines durant la différenciation *In vitro*.

7) La tétrahydrocannabivarine

La tétrahydrocannabivarine ou THCV est l'analogue en propyl du THC (Figure 17). Dans certaines variétés de cannabis asiatique, elle se trouve en quantité importante, pouvant aller parfois jusqu'à plus de 50% des cannabinoïdes totaux [36].

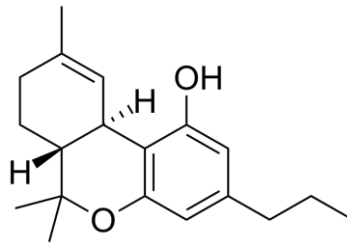


Figure 17 : Structure de la tétrahydrocannabivarine [72]

La THCV est antagoniste des récepteurs CB₁, agoniste partielle des récepteurs CB₂ et possède des propriétés antioxydantes.

Cette molécule sera vue plus en détails dans la partie trois lors de notre essai de mise en forme galénique.

Tableau 1 : Les principaux phytocannabinoïdes

Nom	Activité sur récepteurs	Propriétés pharmacologiques
Δ -9-tétrahydrocannabinol	agoniste des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Psychoactif
Δ -8-tétrahydrocannabinol	agoniste des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Psychoactif
Cannabinol	agoniste partiel des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Sédatif, psychoactif
Cannabidiol	Agoniste très faible des récepteurs CB ₁ et CB ₂ et agoniste inverse du récepteur CB ₂ , antagoniste du récepteur GPR55, agoniste des récepteurs 5HT _{1a} humains, modulateur allostérique des récepteurs opioïdes mu et delta	Haut potentiel thérapeutique pour un large éventail de désordres psychiatriques ou non-psychiatriques.
Cannabigérol	Agoniste des récepteurs TRPV1 et TRPA1, agoniste du récepteur TRPM8, agoniste des récepteurs α_2 -adrénergiques, antagoniste des récepteurs CB ₁ et des récepteurs histaminiques 5-HT _{1A}	anti-inflammatoire et anti-oxydant
Cannabichromène	Activateur du récepteur TRPA1	stimule les voies descendantes de l'antinociception, inhibe l'hypermotilité intestinale
Tétrahydrocannabivarine	Antagoniste CB ₁ , agoniste CB ₂	Diminution de l'inflammation cérébrale, diminution de la perte cellulaire nigrostriale

C) Les cannabinoïdes de synthèse

Initialement, ces cannabinoïdes étaient produits en s'inspirant des phytocannabinoïdes. Aujourd'hui certains cannabinoïdes de synthèse ont une structure inspirée des endocannabinoïdes. Il faut distinguer parmi cette famille, les cannabinoïdes utilisés essentiellement dans la recherche et les cannabinoïdes ayant été synthétisés dans le but de faire des médicaments. Dans cette partie, nous nous intéresseront plus particulièrement aux cannabinoïdes de synthèse utilisés à des fins médicales.

1) Les cannabinoïdes de synthèse utilisés dans la recherche

a) Le WIN 55,212-2

Ce cannabinoïde est un dérivé aminoalkylindole (Figure 18). Ses effets sont similaires au Δ -9 THC, malgré sa structure très différente.[73]

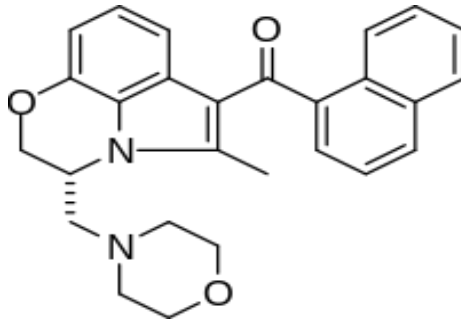


Figure 18 : Structure du WIN 55,212-2 [74]

C'est un agoniste de haute affinité des récepteurs CB₁ et CB₂ (K_i =62,3 et 3,3 nM respectivement) [75]

Comme le Δ -9 THC, il a un rôle notamment dans l'analgésie, mais aussi dans le processus de prévention de l'inflammation.

b) Le JWH-018

Cet analogue du Δ -9 THC a été synthétisé par Huffman, un chimiste de l'université de l'université de Clemson. C'est un dérivé aminoalkylindole tel que le WIN 55,212-2 (Figure 19).

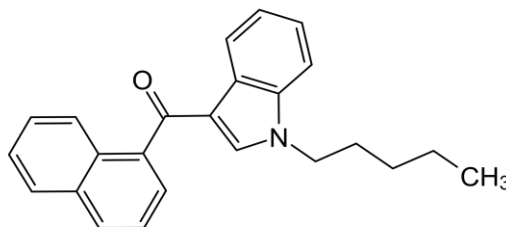


Figure 19 : Structure du JWH-018 [76]

Comme le WIN 55,212-2, le JWH-018 a des effets similaires au Δ -9 THC. C'est un agoniste des récepteurs CB₁ et CB₂ (K_i =9 et 2,94 nM respectivement) [77]

c) Le HU-210

Il a été synthétisé pour la première fois en 1988 (Figure 20). Il s'agit de l'analogue 1,1-diméthylheptyl du 11-hydroxy - Δ 8- tetrahydrocannabinol. Le HU-210 est 100 à 800 fois plus puissant que le Δ -9 THC et a une durée d'action prolongée.[78]

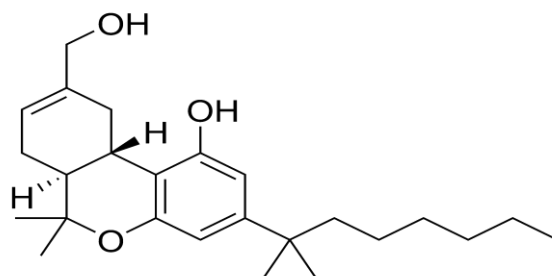


Figure 20 : Structure du HU-210 [79]

Il agit en tant qu'agoniste des récepteurs CB₁ et CB₂.

Ce « groupe » de cannabinoïdes de synthèse contient en fait un nombre très important de molécules. Ces dernières sont synthétisées dans la plupart des cas afin de pouvoir étudier les propriétés des phytocannabinoïdes et des endocannabinoïdes. Nous nous limiterons dans cette thèse à ces trois molécules et allons aborder maintenant le deuxième type de cannabinoïdes de synthèse, ceux utilisés dans un but thérapeutique.

2) Les cannabinoïdes de synthèse utilisés à des fins médicales

a) Le Diméthylheptylpyrane ou DMHP

Il a été découvert en 1949 par des chercheurs essayant de trouver la structure du Δ -9 THC (Figure 21). [80].

C'est un analogue du THC qui se distingue de ce dernier au niveau de la position d'une double liaison ainsi que par le remplacement d'une chaîne 3-pentyl par une chaîne 3-(1,2-diméthylheptyl)[81]. C'est un agoniste des récepteurs CB₁ qui a des effets similaires au Δ -9 THC, mais plus puissants.

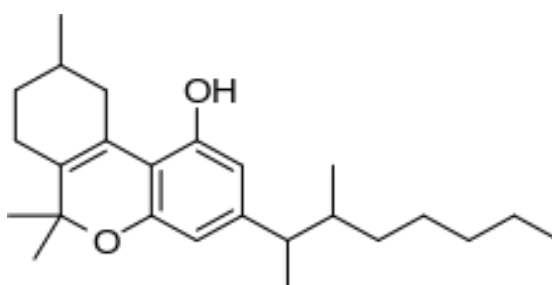


Figure 21 : Structure du DMHP [82]

Ce cannabinoïde est un peu particulier car il n'a pas été utilisé à des fins médicales. En effet, l'armée américaine a envisagé son utilisation comme agent non létal incapacitant. Au cours d'un essai mené sur des volontaires, il a été observé que suite à l'administration du DMHP les sujets ont été « contrôlés » pendant une période de deux à trois jours. Cependant, le

DMHP a également entraîné une importante hypotension chez les sujets, ce qui a entraîné un abandon de ce programme militaire. [83]

b) Le CP 55940

Il a été synthétisé en 1974 par Pfizer, mais n'a jamais été mis sur le marché du fait de ses effets hautement psychoactifs (Figure 22). Il est utilisé actuellement uniquement dans la recherche.

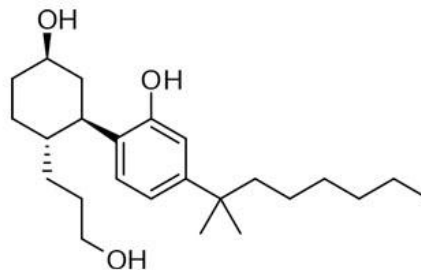


Figure 22 : Structure du CP 55940 [84]

C'est un agoniste des récepteurs CB₁, CB₂ et GPR55. Il mime les effets du Δ -9 THC, mais est 40 fois plus puissant que lui à la fois dans les tests comportementaux et de liaison aux récepteurs.

c) Le Dronabinol [85]

Le dronabinol est en fait du Δ -9 THC synthétique. Il est commercialisé sous le nom de Marinol® au Canada et aux Etats-Unis. Ce sont des capsules molles dosées à 2.5, 5 et 10 mg de Dronabinol sous forme huileuse. Ce dernier est indiqué chez les patients atteints de nausées et de vomissements dûs au cancer et n'ayant pas répondu aux autres thérapeutiques. Il est parfois utilisé chez les patients cancéreux ou atteints du VIH afin de stimuler leur appétit. Il est possible de l'obtenir en France après avoir fait une demande d'ATU, afin de traiter des douleurs résistantes aux thérapeutiques existantes.

Concernant son indication en tant qu'anti-nauséeux et anti-émétique, la posologie de 5 mg à prendre 1 à 3 heures avant la chimiothérapie et ensuite toutes les 2 à 4 heures après la chimiothérapie, pour un total de 4 à 6 doses par jour. La posologie étant propre à chaque patient, une période d'adaptation est nécessaire afin de trouver la dose optimale. L'augmentation éventuelle de la dose se fait par paliers, de 2,5 en 2,5 mg, jusqu'à un maximum de 15 mg par prise.

Afin de stimuler l'appétit des patients, la dose initiale est de 5 mg par jour répartis de la façon suivante : une capsule de 2,5 mg une heure avant le déjeuner et une autre capsule de 2,5 mg une heure avant le dîner.

Plusieurs études ont été menées sur le dronabinol. Une première portait sur 454 sujets qui ont reçu la molécule afin de vérifier son efficacité dans la réduction des nausées et vomissements chimio-induits. Les patients ont reçu entre 2,5 et 40 mg de dronabinol par jour répartis en 4 prises journalières. Suite à 750 prises de dronabinol, les résultats ont été les suivants :

- 36% des patients ont répondu complètement au traitement,
- 32% y ont répondu partiellement (une certaine amélioration)
- 32% y ont mal répondu (peu ou pas d'amélioration)

Au cours de cet essai il a été observé l'apparition d'effets indésirables, notamment psychoactifs, à partir d'une dose orale de 0,4 mg/kg (soit 28 mg/70 kg) de dronabinol.

Au cours d'une autre étude, 139 sujets vivants avec le VIH et qui avaient perdu au moins 2,3 kg ont reçu au hasard pendant 6 semaines soit 2,5 mg de dronabinol (une heure avant le déjeuner ainsi qu'une heure avant le diner), soit un placebo. 88 participants ont terminé l'étude, 69% de ceux qui avaient reçu le dronabinol et 57% de ceux qui avaient reçu le placebo. À la fin de l'essai, ceux qui avaient reçu le dronabinol ont présenté des améliorations significatives de l'appétit et de l'humeur, avec une diminution des nausées et une stabilisation de leur poids.

d) Le lévonantradol

C'est un analogue du dronabinol développé dans les années 80 par le laboratoire Pfizer. C'est un agoniste des récepteurs CB₁ et CB₂, 30 fois plus puissant que le Δ-9 THC (Figure 23). [86]

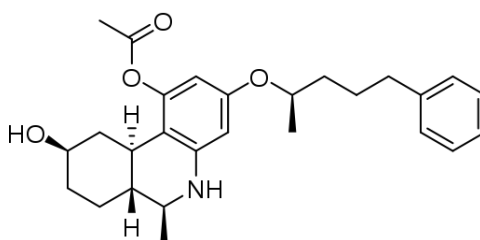


Figure 23 : Structure du lévonantradol [87]

Comme le dronabinol, ce cannabinoïde était indiqué à l'origine chez les patients atteints de nausées et de vomissements dus au cancer et n'ayant pas répondu aux autres thérapeutiques. Son efficacité a ainsi été testée au cours d'essais cliniques.

Une première étude a impliqué 12 patients cancéreux sous chimiothérapie souffrant de nausées et vomissements non soulagés par des anti-nauséeux et anti-émétiques classiques. Ces patients ont reçu 1 mg de levonantradol en intra musculaire deux heures avant la chimiothérapie et deux heures et six heures après la chimiothérapie. 11 des 12 patients,

lorsqu'ils ont reçu le levonantradol ont eu moins de nausées et de vomissements. De plus, 8 patients sur 12 ont considéré le traitement par levonantradol plus efficace. [88]

Au cours d'une autre étude, il a été testé à la fois l'activité anti-émétique ainsi que la toxicité intramusculaire de cette molécule. Chez des patients sous chimiothérapie ne répondant pas aux thérapies anti-émétiques conventionnelles. Ainsi, des doses initiales de 0,5 mg ont été administrées. Elles ont été augmentées par paliers de 0,5 mg lorsque le patient ne répondait pas, sans observation de toxicité. Chez les 28 patients impliqués, 25 (89%) ont présenté une réponse anti-émétique complète ou partielle à des doses allant de 0,5 à 1,5 mg de levonantradol. Ces réponses ont été les mêmes quelque soit l'âge ou la taille du patient. Chez les 31 patients ayant participé au test de toxicité, 6 ont été victimes d'effets toxiques. [89]

Malgré ces résultats encourageants, le lévonantradol n'est pas utilisé à des fins médicales car il présente aussi des effets indésirables trop importants. Au cours des essais cliniques, il a été observé chez les patients des somnolences, une sécheresse buccale, des vertiges, une sédation ainsi que de nombreux autres effets psychoactifs. De plus, le dronabinol et le nabilone sont plus efficaces que cette molécule dans la plupart des cas. Il est donc utilisé uniquement pour la recherche.

e) Le Nabilone® [90]

Le nabilone est sorti sur le marché au milieu des années 80 aux USA mais ne fut commercialisée que peu de temps (Figure 24). L'entreprise *Valeant Pharmaceuticals International*, qui siège en Californie, a racheté le brevet en 2004 et a commercialisé le nabilone sous le nom de *Cesamet*®. Ce médicament a été distribué au Canada, en Australie, au Royaume Uni et en Irlande, puis dans d'autres pays [91]. C'est un analogue du Δ -9 THC. Sa formule brute est $C_{24}H_{36}O_3$ et son poids moléculaire de 372,55Da.

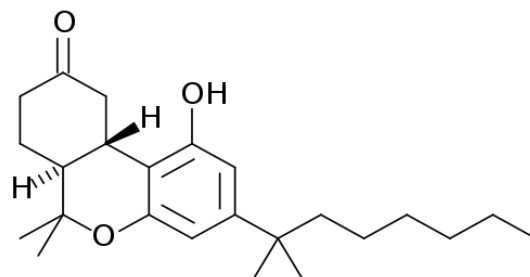


Figure 24 : Structure du nabilone [92]

Ce médicament se présente sous la forme de gélules dosées à un milligramme, contenues dans un pot d'une capacité de 20 gélules. Il est indiqué chez les patients souffrant de nausées et vomissements chimio-induits et chez lesquels toutes les thérapies conventionnelles n'ont pas été efficaces. Comme le dronabinol, le nabilone est indiqué en dernière intention. Cela est dû au fait que ces molécules peuvent entraîner des effets

psychoactifs qui ne sont pas retrouvés lors d'un traitement avec les autres classes thérapeutiques. Ces effets indésirables sont dûs au fait que ce sont des cannabinoïdes. Leur utilisation doit donc être faite après une évaluation rigoureuse du rapport bénéfice/risque et dans le cadre d'un suivi scrupuleux par les professionnels de santé.

Concernant la posologie du nabilone, la dose usuelle est de 1 à 2 mg deux fois par jour. Le jour de la chimiothérapie, la dose initiale devrait être donnée une à trois heures avant le début la thérapie anticancéreuse. La prise d'une dose de 1 à 2 mg la nuit avant la chimiothérapie peut également s'avérer efficace. Pour minimiser les effets indésirables il est recommandé de commencer à la dose initiale la plus faible possible et d'augmenter les doses par pallier si nécessaire. La dose maximale recommandée est de 6 mg divisée en 3 prises tout le long de la journée. Le nabilone peut être administré 2 ou 3 fois par jour pendant la durée totale de chaque cycle de chimiothérapie et, si besoin, pendant 48 heures après la dernière dose de chaque cycle de chimiothérapie.

f) Le Rimonabant

Aussi connu sous le nom de SR141716, le Rimonabant est caractérisé par une structure chimique très différente des cannabinoïdes (Figure 25). Sa formule brute est $C_{22}H_{21}Cl_3N_4O$ et son poids moléculaire de 463.8 Da. [93]

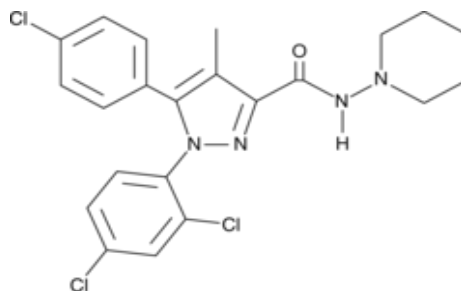


Figure 25 : Structure du rimonabant [94]

Il a été autorisé en Europe en juin 2006 dans le cadre d'une procédure centralisée, et commercialisé en France en mars 2007 à l'initiative du laboratoire Sanofi-Aventis (Sanofi depuis 2011) sous le nom commercial Acomplia®. [95]

C'est le premier antagoniste sélectif des récepteurs CB_1 . Il est indiqué pour le traitement des patients obèses ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$), ou en surpoids ($IMC > 27 \text{ kg/m}^2$) avec facteurs de risque associés, tels que diabète de type 2 ou dyslipidémie, en association au régime et à l'activité physique. Lors de sa mise sur le marché, ce médicament a fait l'objet d'une très grosse campagne marketing et a été annoncé comme « le traitement révolutionnaire anti-obésité ».

En 2004, des résultats d'essais cliniques impliquant l'Acomplia® sont révélés. Pour les 3 000 sujets obèses participants, une perte de poids de plus de 5% s'est maintenue chez 62,5% des patients traités par le Rimonabant, contre 33% dans le groupe recevant un placebo. A noter

également que 33% des sujets ont perdu plus de 10% de leur poids, contre 16% sous placebo. Une diminution de 8 cm en moyenne du tour de taille est aussi observée chez les sujets sous Rimonabant, contre 3,8 cm dans le groupe placebo. De plus, après deux ans de traitement, les HDL ont augmenté de 24,5% (contre 14% sous placebo), tandis que les triglycérides ont baissé de 10% (1,6% sous placebo).

Chez un tiers des sujets concernés, la sensibilité à l'insuline et le syndrome métabolique se sont améliorés. Selon les chercheurs, cet effet favorable sur les métabolismes lipidiques et glucidiques est dû à la perte de poids, mais également à une action propre à la molécule testée.

Du côté de la tolérance, les résultats sont très bons. Malgré une légère augmentation des nausées et des signes anxieux et de dépression, la différence n'est pas significative entre le Rimonabant et le placebo. Il en est de même des interruptions pour effets secondaires. Cette molécule confirme donc ses possibilités thérapeutiques dans une situation de plus en plus fréquente : l'obésité abdominale et ses complications. [95]

Cependant, dans son numéro de juin 2006, la revue Prescrire analyse les résultats des essais cliniques réalisés avec le rimonabant. Selon les essais cliniques, le rimonabant induit une perte modeste de poids, de l'ordre de 4 à 5 kg en un an. De plus, à l'arrêt du traitement, le bénéfice sur le poids disparaît en 9 mois environ.

Dans cette même revue il est indiqué que les effets indésirables actuellement connus du rimonabant sont surtout psychiques (anxiété, dépression), neurologiques (sensation vertigineuse) et digestifs (nausées et diarrhées), mais que de nombreuses questions restent posées quant aux effets indésirables à long terme. De plus, même si beaucoup de patients sont gênés par un excès de poids qui favorise notamment diverses complications cardiovasculaires et rhumatologiques, pour le traitement de l'obésité, mieux vaut en rester au régime hypocalorique et à l'exercice physique modéré mais régulier. Selon la revue, il paraît prudent de s'abstenir d'utiliser le rimonabant, tant que l'on ne dispose pas de preuve d'une efficacité clinique sur la morbidité et la mortalité, ni de données suffisantes sur ses effets indésirables. [95]

Suite à sa mise sur le marché, l'EMA actualise en mai 2007 son plan de gestion des risques de l'Acomplia®. Cette spécialité est désormais contre-indiquée chez les patients dépressifs et ne doit pas être utilisée en cas d'antécédents de dépression. En juin 2008, une nouvelle analyse des données de pharmacovigilance les plus récentes montre que les troubles dépressifs peuvent aussi survenir chez des patients sans autre facteur de risque que l'obésité. Les troubles dépressifs, lorsqu'ils surviennent, sont observés dans plus de 50 % des cas au cours du premier mois et dans plus de 80% des cas au cours des 3 premiers mois de traitement. En conséquence, il est maintenant recommandé que tous les patients sous Acomplia® soient étroitement surveillés par leur médecin et tout particulièrement dans les trois premiers mois de traitement. Les professionnels de santé seront informés par une lettre aux prescripteurs de ces nouvelles mises en garde et recommandations de surveillance. [95]

Dans un communiqué en Août 2008, l'AFFSAPS signale que des troubles dépressifs peuvent survenir au cours d'un traitement par Acomplia®, tout particulièrement lors de son

initiation. Ainsi, il est recommandé que les patients soient attentivement surveillés en début de traitement, à la recherche de symptômes évocateurs de troubles psychiatriques, en particulier de dépression. [95]

Enfin, en octobre 2008, l'Acomplia® voit son AMM suspendue à cause de son rapport bénéfice/risque défavorable. En effet, il a été rapporté des troubles dépressifs et suicidaires chez des patients qui pour la moitié d'entre eux n'avaient jamais eu de pathologie psychique.

g) Le Sativex®

Le laboratoire britannique GW Pharmaceuticals a récemment mis sur le marché le Sativex®. Ce médicament se présente sous la forme d'un spray destiné à la voie orale. Il contient du Δ -9-THC associé à du CBD dissous dans une solution alcoolique. Les cannabinoïdes contenus dans le spray sont extraits de plantes génétiquement modifiées cultivées par le laboratoire lui-même. Cela est caractéristique car jusqu'à présent les médicaments à base de dérivés de cannabis contenaient des molécules issues de la synthèse chimique. [96]

Ce médicament a pour indication le traitement des douleurs spastiques dues à la sclérose en plaque chez l'adulte, lorsque les autres thérapeutiques ont échoué et si le patient montre une efficacité clinique significative suite à une période d'essai initiale[97]. Concernant la posologie, elle est propre à chaque patient et nécessite une période de titration de deux semaines afin de trouver la posologie la mieux adaptée au patient. Au cours des essais cliniques, il a été déterminé qu'une dose supérieure à douze pulvérisations par jour n'est pas recommandée. Etant donnée la nature psychoactive du Δ -9-THC, les patients traités peuvent présenter certains effets indésirables comme des nausées, des vertiges, ainsi que des phases de confusion, anxieuses, d'hallucinations et des idées paranoïaques. Ces symptômes sont transitoires et généralement bien tolérés par les patients.

D'autres perspectives thérapeutiques sont possibles pour le Sativex®. En effet, des essais cliniques de phase trois sont en cours aux Etats-Unis et en Europe concernant le traitement des douleurs liées au cancer. De plus, des essais cliniques de phase 2 sont en cours en Europe en vue du traitement des douleurs neuropathiques[98].

Cependant, ce médicament n'est pas commercialisé en France et sa commercialisation future reste incertaine. Suite à l'obtention de son AMM en France en janvier 2014, sa commercialisation était prévue pour le premier semestre 2015. Mais les négociations entre le CEPS et le directeur du groupe Almirall qui distribue le médicament en France ont échoué. En effet, le CEPS ayant demandé une réduction du prix trop importante par rapport au prix moyen européen, le laboratoire n'a pas voulu commercialiser son médicament en France.

Tableau 2 : Les principaux cannabinoïdes de synthèse

Nom	Activité sur récepteurs	Propriétés pharmacologiques
WIN 55,212-2	Agoniste de haute affinité des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Similaires au Δ-9 THC, utilisé pour la recherche
JWH-018	Agoniste des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Similaires au Δ-9 THC, utilisé pour la recherche
HU-210	Agoniste des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Similaires au Δ-9 THC, utilisé pour la recherche
Diméthylheptylpyrane	Agoniste des récepteurs CB ₁	Similaires au Δ-9 THC. utilisé comme agent non légal incapacitant
CP 55940	Agoniste des récepteurs CB ₁ , CB ₂ et GPR55	Similaires au Δ-9 THC, utilisé dans la recherche
Dronabinol	Agoniste des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Anti-nauséux, anti-émétique, stimule l'appétit
Nabilone	Agoniste des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Anti-nauséux, anti-émétique, stimule l'appétit
Levonantradol	Agoniste des récepteurs CB ₁ et CB ₂	Anti-nauséux, anti-émétique, utilisé uniquement pour la recherche à cause de ses effets indésirables
Rimonabant	antagoniste sélectif des récepteurs CB ₁	Traitement des patients obèses, ou en surpoids, utilisé uniquement pour la recherche à cause de ses effets indésirables
Sativex®	Association de Δ-9-THC et CBD	Traitement des douleurs spastiques dues à la sclérose en plaque chez l'adulte

Nous avons vu jusqu'à présent les différents types de cannabinoïdes et leurs particularités. Nous allons maintenant nous intéresser aux structures sur lesquelles ils se fixent et aux voies de signalisation induites par cette interaction.

II) Les récepteurs aux cannabinoïdes

A) Le récepteur CB₁

1) Structure et découverte

Il a été découvert en 1990. Ce récepteur appartient à la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G et possède leur structure caractéristique. Il est constitué de sept domaines transmembranaires connectés par trois boucles intracellulaires et trois boucles extracellulaires. Il possède également une extrémité N-terminale extracellulaire et une extrémité C-terminale intracellulaire.

Le récepteur CB₁ est codé par le gène CNR1 localisé sur le chromosome humain numéro 6[99]. Aujourd'hui la structure moléculaire des récepteurs CB₁ humains (472 aminoacides), de rat (473 aminoacides, identiques à 97,3% avec le récepteur humain), de souris (473 aminoacides, identiques à 99,5% avec le récepteur du rat), du chat, du triton et du tétrodon sont connues. Des études de mutagenèse dirigée et la construction de récepteurs chimériques ont montré que les parties transmembranaires 4 et 5 ainsi que la petite boucle extracellulaire située entre ces deux segments étaient particulièrement importantes pour la liaison de l'antagoniste SR141716A. En revanche les résidus Lys192 dans la partie transmembranaire 3, Tyr275 dans la partie transmembranaire 5 et Val350; Ile354 dans la partie transmembranaire 6 sont capitaux pour l'interaction avec les agonistes. [100].

Deux variants d'épissage ont été identifiés pour ce récepteur. Le CB_{1A} qui a une séquence amino-terminale altérée et le CB_{1B} qui a une délétion intérieure de 33 aminoacides au niveau de l'extrémité N-terminale. Les ARNm de chacun des variants sont exprimés à des niveaux beaucoup plus faibles que ceux du récepteur CB₁, mais bien que les récepteurs synthétisés à partir de leurs ADNc présentent un profil pharmacologique unique, il n'a pas encore été rapporté des preuves de leur expression naturelle.[101]

2) Localisation [100]

Les données d'hybridation in situ et d'autoradiographie ainsi que plus récemment les données immunohistochimiques ont permis de mieux cerner la localisation tissulaire et cellulaire des récepteurs CB₁ et ainsi d'appréhender leur rôle physiologique. Le récepteur CB₁ a d'abord été localisé grâce à des travaux d'autoradiographie. Des coupes de cerveau de rat,

de souris ou d'autres espèces animales ont été incubées avec un radioligand spécifique tel que le [3H] WIN55212-2 ou le [3H] CP55940 et les zones marquées analysées. Un fort signal a été obtenu dans diverses zones cérébrales. L'ensemble du cortex est fortement marqué, mais des quantités encore plus importantes de marquage sont visualisées dans les aires sous corticales et notamment les ganglions de la base: noyau caudé, substance noire réticulée, noyau interpedonculaire. L'hippocampe est très fortement marqué ainsi que le cervelet. Les ganglions de la base et le cervelet sont des noyaux ayant un rôle d'intégration et de contrôle de la motricité, une fonction justement fortement affectée par les dérivés du cannabis. De même, les troubles de mémoire observés chez les fumeurs de cannabis pourraient être expliqués par la liaison des substances actives au niveau de l'hippocampe. La répartition qualitative des récepteurs dans le cerveau humain est globalement la même. De même, l'étude de la répartition des ARNm codant pour le récepteur CB₁ et l'étude de localisations protéiques précises en immunohistochimie ont fourni des données concordantes et ont permis d'étayer et de compléter les informations sur la localisation des récepteurs CB₁. Il est particulièrement remarquable de constater que les récepteurs du cannabis sont extrêmement abondants dans le cerveau, leur quantité étant comparable aux récepteurs des benzodiazépines, de la dopamine ou du glutamate; des systèmes de neurotransmission majeurs. Certaines zones du cerveau comme le tronc cérébral, centre du contrôle des fonctions cardio-vasculaire et respiratoire, sont très pauvres en récepteurs CB₁ et c'est ainsi qu'est expliquée la faible toxicité aiguë des dérivés du cannabis.

D'une manière générale, les récepteurs CB₁ sont présents sur tous les types de neurones. Bien qu'il semble exister une forte colocalisation entre les neurones GABAergiques (impliqués dans la transmission synaptique dite «inhibitrice») et les récepteurs CB₁, ces derniers sont également exprimés par des neurones glutamatergiques (transmission synaptique «excitatrice»), peptidergiques (système des peptides opioïdes endogènes), cholinergiques et catécholaminergiques. [102]

Les récepteurs CB₁ sont également présents dans les tissus périphériques. En effet, le cœur et les vaisseaux, les poumons, le tube digestif, certaines cellules immunitaires ainsi que les ovaires et les testicules expriment des récepteurs CB₁. Dans beaucoup de ces tissus périphériques, les récepteurs CB₂ sont plus abondants. Toutefois, les effets des dérivés du cannabis sur le système cardio-vasculaire et reproductif sont probablement largement expliqués par une interaction de ces produits avec les récepteurs de type CB₁.

B) Le récepteur CB₂

1) Structure et découverte

Ce récepteur a été cloné en 1993 par un groupe de recherche de Cambridge à la recherche d'un second récepteur aux cannabinoïdes qui pourrait expliquer les propriétés

pharmacologiques du Δ -9 THC. Le récepteur a été identifié à partir d'ADNc sur la base de leur similarité de séquence en acides aminés avec le récepteur aux cannabinoïdes de type 1 [103]. Comme le récepteur CB₁, c'est un RCPG. Cependant, ces deux récepteurs ont un faible pourcentage de séquences en commun, 68% au niveau des séquences transmembranaires qui contiendraient les sites de liaison pour les cannabinoïdes et 44% au niveau de la séquence totale[101]. Le récepteur CB₂ est codé par le gène CNR2 et est composé de 360 aminoacides. Sa séquence est donc plus courte que celle du récepteur CB₁.

Malgré ces différences, le Δ -9 THC et la plupart des ligands synthétiques ont une affinité similaire pour les deux récepteurs. Il existe tout de même des ligands de synthèse relativement récents qui ont la capacité de discriminer les deux récepteurs. Le développement de ces antagonistes CB₁ et CB₂ très sélectifs a permis d'apporter des outils extrêmement importants pour explorer les fonctions physiologiques des endocannabinoïdes [101].

2) Localisation

Ce récepteur est exprimé principalement des les cellules du système immunitaire et du système hématopoïétique. Il se retrouve dans le cerveau en quantité beaucoup moins importante que le récepteur CB₁ et principalement au niveau de la microglie mais pas des neurones. Le récepteur CB₂ est aussi localisé dans les cellules non parenchymateuses du foie cirrhotique, au niveau du pancréas endocrine et dans l'os. [101]

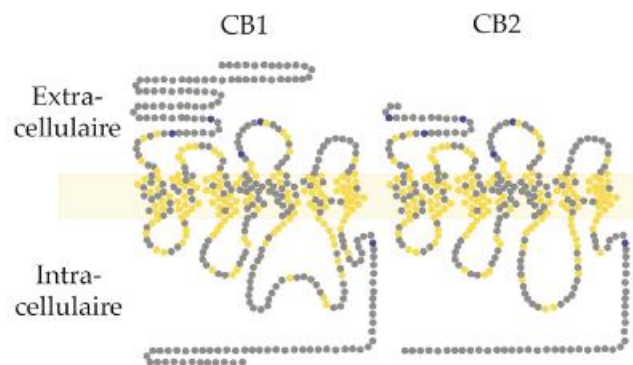


Figure 26 : Structure des récepteurs CB1 et CB2 [104]

C) La mise en évidence d'une colocalisation entre les récepteurs opioïdes et les récepteurs aux cannabinoïdes

De nombreuses études anatomiques montrent non seulement une distribution similaire des récepteurs CB₁ et opioïdes mu dans différentes structures du SNC comme la corne dorsale de la moelle épinière ou les noyaux gris centraux, mais également une colocalisation sur les mêmes neurones dans certains cas.

A l'instar des récepteurs aux cannabinoïdes, les récepteurs opioïdes (mu, delta et kappa) sont des RCPG couplés principalement aux protéines G_{i/o} et interagissent sur les mêmes effecteurs intracellulaires. Ainsi, au niveau biochimique des données *in vitro* et *ex vivo* semblent indiquer une interrelation entre les systèmes cannabinoïde et opioïde. Dans la lignée N18TG2 qui exprime naturellement les récepteurs delta et CB₁, les opioïdes et les cannabinoïdes sont capables d'inhiber la production d'AMPc via une protéine G sensible à la toxine pertussique mais il semble que ces récepteurs ne partagent pas le même pool de protéines G. Dans des systèmes d'expression hétérologue où les récepteurs sont surexprimés, la situation est différente, puisque dans ce cas on observe un partage du même pool de protéines G entre les deux types de récepteurs. Lors d'une stimulation prolongée par un agoniste cannabinoïde, une désensibilisation hétérologue entre les récepteurs delta et CB₁ est constatée alors que cette désensibilisation devient homologue lors d'une stimulation par un agoniste opioïde.

Une équipe de chercheurs a pu montrer l'existence d'un autre type d'interaction entre les systèmes cannabinoïde et opioïde consistant en une interaction directe (probablement une dimérisation) entre les récepteurs CB₁ et les trois types de récepteurs opioïdes, ayant un rôle dans la signalisation mise en jeu dans la neuritogenèse.

Ex vivo, de nombreuses études se sont intéressées à ce qui se passait au niveau du système opioïde (variation du nombre de récepteurs et de leur couplage aux protéines G) chez des animaux traités par un agoniste cannabinoïde et vice versa. Bien que les résultats de ces travaux présentent une importante variabilité, dépendante de l'espèce et de la structure cérébrale étudiée, ils confirment l'existence d'une étroite relation entre ces deux systèmes de neurotransmission.

D) Couplage et signalisation des récepteurs CB₁ et CB₂ [101], [105]

1) Les principales voies de signalisation (figure 27)

Les récepteurs CB₁ et CB₂ sont couplés principalement à des protéines G de type G_{i/o} et leur signalisation est particulièrement complexe. Bien que le couplage de l'adénylate cyclase via une protéine G_{i/o} entraîne habituellement une inhibition de l'activité cyclase via la libération d'isoformes G_α, les cannabinoïdes peuvent aussi stimuler les isoformes 2, 4 ou 7 de l'adénylate cyclase via la libération des sous-unités βγ. L'activation de l'adénylate cyclase se produit également quand le récepteur CB₁ et le récepteur D2 à la dopamine sont activés simultanément, cela est probablement dû à une hétérodimérisation de ces deux types de récepteurs.

Il a été montré que l'agoniste WIN 55,212-2, mais pas les autres cannabinoïdes, peut augmenter le calcium intracellulaire dans des neurones hippocampiques en culture et dans les cellules rénales humaines embryonnaires 293 via un couplage aux protéines G_{q/11}. La dimérisation du récepteur faciliterait ce couplage, ce qui expliquerait la mobilisation du calcium intracellulaire médiée par le récepteur CB₁ dans les cellules gliales de neuroblastomes NG108-15. Les cannabinoïdes peuvent aussi moduler les canaux calciques sensibles au voltage de type L, N et P/Q. En effet, l'activation du récepteur CB₁ entraîne une inhibition de ces canaux. Ces effets sont relativement lents (quelques minutes), réversibles, médiés par une protéine G de type G_{i/o} et indépendants de l'inhibition de l'adénylate cyclase. Ces canaux calciques sont localisés préférentiellement au niveau présynaptique (tout comme les récepteurs CB₁) et sont impliqués dans le contrôle de la libération des neurotransmetteurs.

Les cannabinoïdes entraînent une stimulation des canaux potassiques. Cet effet est médié par une protéine G de type G_{i/o} et est dépendant de l'état déphosphorylation du récepteur CB₁ par la protéine kinase C, au niveau de la sérine 317 de la troisième boucle intracellulaire. Cet effet est indépendant de l'inhibition de l'adénylate cyclase provoquée par l'activation du récepteur CB₁. De plus, l'activation des récepteurs CB₁ module, d'une manière dose-dépendante, la sensibilité au voltage des canaux potassiques à inactivation rapide de type A. Le phénomène de sensibilité au voltage se développe pour des valeurs de potentiel de membrane plus positives que le potentiel de repos. Cet effet passe par une protéine G de type G_{i/o} et est dépendant de l'inhibition de l'adénylate cyclase et de la subséquente inhibition de la protéine kinase A. Les effets sur la transmission synaptique entraînent une mise sous silence de la synapse : l'inhibition des canaux calciques au niveau présynaptique entraîne une diminution importante de la libération de neurotransmetteurs, et les effets sur les courants potassiques tendent à réduire la durée du potentiel d'action.

Les cannabinoïdes peuvent aussi activer les 3 familles de MAP kinases. Les MAP kinases jouent un rôle clef dans les processus de différenciation morphologique et de survie

neuronale. Plusieurs membres de la famille des MAP kinases sont abondamment présents dans le cerveau et sont activés lors d'événements physiologiques ou pathologiques (ischémie, épilepsie). Les cannabinoïdes sont capables d'activer la voie des MAP kinases telles que ERK1/2, impliquée dans la régulation de l'expression de gènes et de la synthèse protéique. Cet effet est dose-dépendant et indépendant de l'inhibition de la production d'AMPc. Le couplage des récepteurs aux cannabinoïdes à cette voie de signalisation «mitogénique» des MAP kinases pourrait être une étape dans l'expression de gènes précoces (tel Krox-24). Les effets des cannabinoïdes sur ces voies de signalisation pourraient être obtenus via l'activation d'une protéine G ou via des voies indépendantes de protéines G à l'aide d'autres protéines adaptatrices.

Une autre voie de signalisation indépendante des protéines G activée par les cannabinoïdes implique la GRK-3 et la β -arrestine-2, qui sont nécessaires pour la désensibilisation, mais pas pour l'internalisation, des récepteurs CB₁ et le développement de la tolérance.

D'autres voies de signalisation activatrices sont également concernées par la liaison des cannabinoïdes à leurs récepteurs :

- Jun (c-Jun N-terminal) kinase et p38-kinase, impliquées dans la régulation de l'expression de gènes et dans les processus de mort cellulaire par apoptose
- Akt (ou protéine kinase B), impliquée essentiellement dans la survie cellulaire, mais aussi dans la régulation du métabolisme du glucose
- NFkB impliquée dans l'inflammation.

Les cannabinoïdes peuvent aussi réguler l'activité de phosphatases, comme par exemple la régulation de la calcineurine (protéine phosphatase de type 2b) ou l'activation de la MAP kinase phosphatase 1, qui joue un rôle important dans l'action anti-inflammatoire de l'anandamide.

Par ailleurs, les récepteurs CB₁ et CB₂ activent l'échangeur Na⁺/H⁺ (type1), pouvant ainsi jouer un rôle dans la protection des cellules nerveuses vis-à-vis des variations du pH intracellulaire.

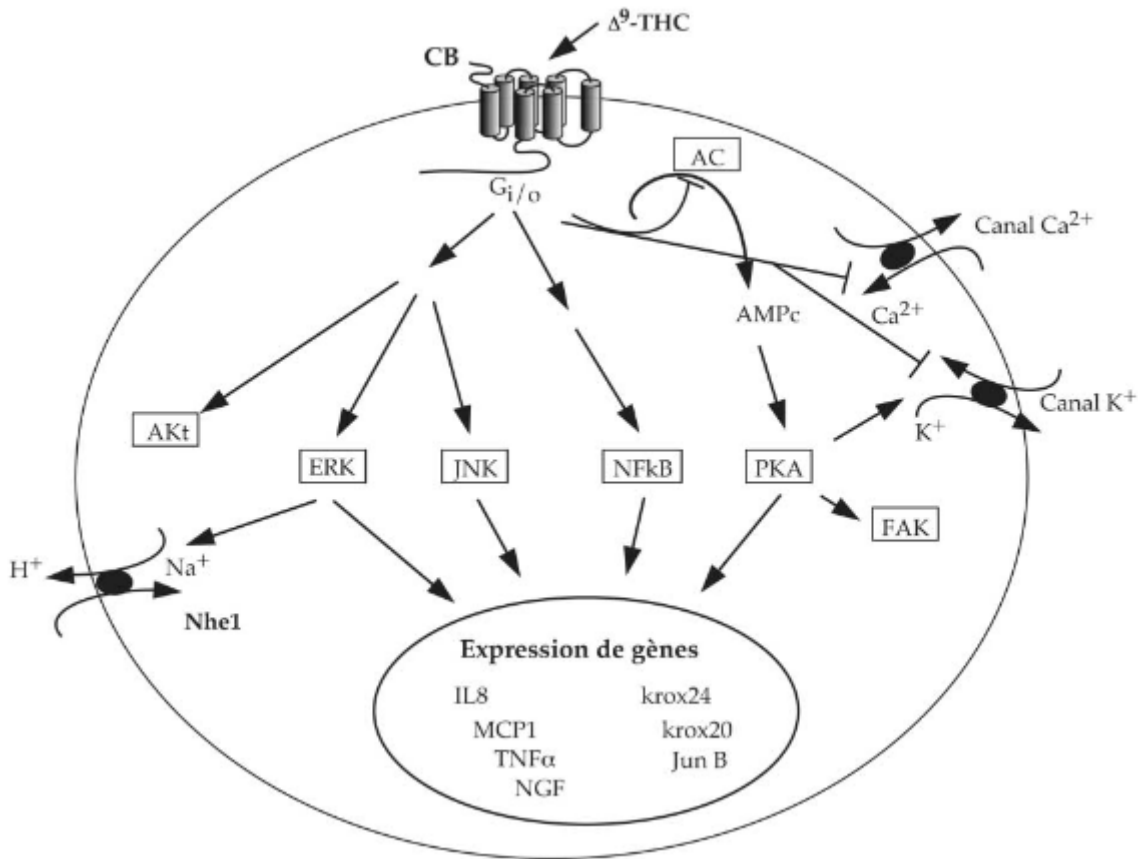


Figure 27 : Les principales voies de signalisation médiées par les récepteurs CB1 et CB2 [105]

2) La sélectivité de réponse des récepteurs aux cannabinoïdes

Des agonistes aux récepteurs cannabinoïdes de structures différentes ont la capacité unique d'activer différentes cascades de signalisation, ce qui en retour influence l'efficacité de l'agoniste. En utilisant une technique de reconstitution *in situ* de récepteur aux protéines G, il a été trouvé que les récepteurs CB₁ se couplent et activent efficacement les protéines G_i et G_o, alors que les récepteurs CB₂ activent uniquement les protéines G_o. De plus, l'efficacité a été différente si les récepteurs CB₁ étaient couplés à une protéine G_i ou G_o, ce qui montre une signalisation sélective en fonction de l'agoniste.

Il a été démontré que le WIN 55,212-2 activait différentes sous-unités G_{iα} avec des différences de puissance notables. Des recherches plus récentes ont également montré une activation des sous-unités G_{iα} sélective en fonction des différents agonistes cannabinoïdes utilisés. Une application pratique possible de ces découvertes est que des profils thérapeutiques uniques pourraient être obtenus via l'utilisation de différents agonistes pour le même récepteur. Ces profils pourraient différer d'une cible tissulaire à l'autre, en fonction du type de protéine G exprimé.

Cette sélectivité dans l'activation des protéines G peut être expliquée en partie par l'existence de sites de liaisons distincts pour différentes classes de ligands, localisés sur les récepteurs CB₁. Cela a été mis en évidence par des études de mutagenèse dirigée sur des sites spécifiques et des études de modélisation moléculaire. Ces études ont indiqué qu'une mutation dans le troisième domaine transmembranaire causait une perte importante d'affinité et d'efficacité pour l'anandamide et les cannabinoïdes non classiques, sans modifier l'affinité du récepteur pour le WIN 55, 212-2. En contraste, des mutations sur des sites différents au niveau de la troisième, de la cinquième et de la sixième hélice transmembranaire ont affecté la liaison du WIN 55, 212-2 et du SR141716, mais pas de l'anandamide.

Une autre caractéristique importante de cette signalisation dans le cerveau est l'absence de corrélation entre la densité des récepteurs CB₁ dans une région cérébrale donnée et l'efficacité du couplage du récepteur. Cela a pu être déterminé grâce à des études de liaison impliquant des GTPγS, ce qui pourrait expliquer pourquoi des réponses fonctionnellement importantes peuvent être déclenchées dans des régions du cerveau caractérisées par une expression des récepteurs CB₁ très disparate comme le tronc cérébral ou l'hypothalamus.

Il a enfin été montré qu'une réduction de la densité des récepteurs CB₁ dans des souris hétérozygotes pour ce récepteur était compensée par une augmentation de l'efficacité du couplage aux protéines G pour certains agonistes, mais pas pour tous. Bien que les mécanismes sous-jacents de cette compensation ne soient pas clairs, des différences dans le degré de multimérisation du récepteur ou des changements dans l'amplification du signal sont des possibilités.

E) Le récepteur TRPV1

Ce récepteur doit son nom (transient receptor potential vanilloid 1) au fait qu'il est activé par des molécules de la famille des vanilloïdes. Cependant, suite à la découverte des endocannabinoïdes et notamment de l'anandamide, on s'est aperçu que cette-dernière est un agoniste du récepteur TRPV1, ce qui permet également de le classer parmi les récepteurs aux cannabinoïdes.

Le récepteur TRPV1 est un canal cationique non sélectif composé de six domaines transmembranaires. Le canal cationique se forme entre les domaines 5 et 6, où des glycosylations sur l'Asn 604 ont lieu.[106]

Ce récepteur peut être activé par divers stimuli endogènes et exogènes de nature physique ou chimique parmi lesquels on peut citer : des températures supérieures à 43°C, un pH acide, la capsaïcine retrouvée dans le piment, le gingérol ou encore l'anandamide. Une fois activé, le récepteur TRPV1 entraîne un influx cationique dans la cellule, plus particulièrement

un influx calcique. L'activation de ces récepteurs au niveau des neurones périphériques entraîne une sensation de brûlure. Une activation anormale de ces sites contribuerait à l'apparition des douleurs neuropathiques associées à la sclérose en plaque, la chimiothérapie et la réponse inflammatoire dans les tissus endommagés. Ce récepteur est également retrouvé dans le SNC et semble lié au maintien de la température corporelle ainsi qu'à la mémoire. Enfin, ce récepteur peut être retrouvé sur des cellules non neuronales où il initie la cascade de signalisation qui aboutit à la perception de la douleur dans le cas des maladies inflammatoires.[106]

F) Les nouveaux récepteurs aux cannabinoïdes

L'hypothèse de l'existence de ces récepteurs a été établie suite la découverte des endocannabinoïdes. De plus, Il existe plusieurs cas pour lesquels les récepteurs aux cannabinoïdes classiques (CB₁ et CB₂) n'expliquent pas les effets pharmacologiques observés, ce qui a conforté l'existence de récepteurs autres que les récepteurs « classiques ».

1) Les effets observés au niveau vasculaire [107]

Le site le plus étudié constitue les artères mésentériques. A ce niveau, l'anandamide et ses analogues, mais pas les cannabinoïdes synthétiques agonistes entraînent une vasodilatation. Cet effet est aboli par une dénudation de l'endothélium et sensible au blocage par le SR141716A mais pas par l'AM251 (qui est une molécule de structure chimique similaire), et cela uniquement a des concentrations supérieures à celles nécessaires pour inhiber le récepteur CB₁. Un analogue structural du CBD, l'abn-cbd ou abnormal cannabidiol est un agoniste sélectif au niveau de ce site endothélial et induit une vasodilatation, mais a une activité négligeable sur les récepteurs CB₁ et CB₂. Le CBD lui-même et l'O-1918 (un analogue du CBD) sont des antagonistes sélectifs qui bloquent la vasodilatation induite par l'anandamide ou l'abn-cbd mais avec une affinité ou une activité négligeable pour les récepteurs CB₁ ou CB₂.

Un profil de ligand similaire a été détecté dans les cellules endothéliales des veines ombilicales humaines. Dans ces-dernières, l'abn-cbd active la p42/44 MAP kinase et potentialise les canaux potassiques BK_{Ca} voltages dépendants. Ce site sensible à l'abn-cbd pourrait être en relation avec un autre site dans le cœur, qui véhicule la réponse hypotensive aux endotoxines bactériennes systémiques. On pense que cette réponse est le résultat de la libération d'anandamide par des macrophages activés. De plus, elle est comparable dans des souris sauvages, CB₁^{-/-} ou CB₁^{-/-}/CB₂^{-/-}.

2) Les effets observés au niveau du SNC [107]

L'anandamide et le WIN55212-2, mais pas le HU210 ou le Δ -9THC, peuvent stimuler la liaison du [35S]-GTP γ S dans des tranches de cerveau et dans des préparations membranaires de souris CB₁^{-/-}. Au cours d'autres expérimentations, il a été observé que le WIN55, 212-2 et le CP55940 inhibaient les courants post-synaptiques excitatoires glutamatergiques dans les cellules pyramidales hippocampiques CA1 de souris CB₁^{-/-}. Ces deux sites potentiels non CB₁/CB₂ dans le SNC ont un point commun avec le site vasculaire endothélial : ils sont sensibles au blocage par la toxine pertussique ou des fortes concentrations de SR141716A, mais pas d'AM251. Toutefois ces sites apparaissent pharmacologiquement distincts car le WIN55212-2 et/ou le CP55940 sont efficaces au niveau du SNC, mais pas au niveau du site endothélial. A l'inverse, l'abn-cbd n'a pas d'effet sur les courants glutamatergiques mais ont activé le site endothélial.

3) Les effets observés au niveau des cellules immunitaires [107]

Comme c'est le cas au niveau du SNC et du système cardiovasculaire, une grande partie des effets des cannabinoïdes sur le système immunitaire sont induits par une liaison sur les récepteurs CB₁ et/ou CB₂ et plus particulièrement les CB₂ présents abondamment à ce niveau. Cependant, l'utilisation de souris CB₁^{-/-} et CB₂^{-/-} supporte l'existence de cibles réceptorielles supplémentaires. En effet, des lymphocytes T au repos montrent de fortes élévations du calcium intracellulaire en réponse au Δ -9THC, au CBN et au HU-210 mais pas au CP 55940. Cet effet est identique dans des splénocytes isolés à partir de souris sauvages CB₁^{-/-} ou CB₁^{-/-}/CB₂^{-/-}. Des effets non dûs aux récepteurs CB₁ et CB₂ ont aussi été observés à partir de lymphocytes T activés, où le 2-AG supprime la production d'interleukine-2, bien que cela semble être médié par le PPAR γ . Enfin, au niveau des polynucléaires neutrophiles, de hautes concentrations en CP55940 mais pas d'anandamide ou de méthananamide (l'analogue non hydrolysable de l'anandamide) ont réduit la production d'ion superoxyde à partir de cellules stimulées chimiquement.

4) Le récepteur GPR55

a) Structure

Ce récepteur est décrit comme un récepteur aux cannabinoïdes orphelin de type RCPG rhodopsine like. Cependant, il partage une faible homologie de séquence avec les récepteurs CB₁ (13.5%) et CB₂ (14.4%). Chez l'homme, le gène codant pour ce récepteur est localisé sur le chromosome 2 au niveau de la région q37. Le récepteur GPR55 est constitué d'une séquence de 319 aminoacides et exprimé dans nombreux tissus chez les mammifères. [108]

b) Distribution tissulaire [109]

Les données viennent principalement d'études ayant utilisé des analyses issues de Northern blot ou de la PCR afin de détecter les ARNm du récepteur. De hauts niveaux en ARNm humains ont été observés dans les régions cérébrales impliquées dans le contrôle de la mémoire, l'apprentissage et les fonctions motrices telles que le striatum dorsal, le noyau caudé et le putamen et dans divers tissus périphériques y compris l'iléon, les testicules, la rate, les amygdales, les seins et le tissu adipeux épiploïque, ainsi que certaines lignées de cellules endothéliales. Chez le rat et la souris, des homologues du récepteur ont été détectés dans d'autres régions cérébrales (le cortex frontal, l'hippocampe, le noyau thalamique, le tronc cérébral et des régions du mésencéphale) et dans des tissus périphériques (le jéjunum, l'iléon, le colon, les surrénales et la rate).

c) Pharmacologie du récepteur GPR55 [109]

Une caractéristique de ce récepteur est la surprenante variabilité retrouvée à travers les différentes études. Mais elles s'accordent sur le fait que certains ligands cannabinoïdes interagissent avec le récepteur avec une haute affinité et que les affinités relatives de ces différents ligands sont distinctes des affinités relatives qui ont été établies pour les récepteurs CB₁ ou CB₂.

Par exemple, le HU320 (un agoniste synthétique des récepteurs CB₁ et CB₂) et le JWH015 (un agoniste sélectif du récepteur CB₂) sont tous les deux des agonistes puissants du récepteur GPR55, alors que le WIN55212-2, un autre agoniste synthétique, est un peu plus puissant sur les récepteurs CB₁ que les CB₂ mais inactif sur le récepteur GPR55. Certains cannabinoïdes atypiques qui ne sont pas reconnus par les récepteurs CB₁ ou CB₂ tels que l'abn-cbd et l'O-1602 sont des agonistes puissants du récepteur GPR55, alors que le CBD et son analogue l'O-1918 sont antagonistes.

Cependant, ni l'anandamide ni le 2-AG, les deux endocannabinoïdes principaux, n'ont d'effets conséquents sur le récepteur GPR55. Cela a pu être montré en utilisant un marquage avec du GTPγS et en dosant l'activation de la protéine RhoA dans des cellules rénales embryonnaires humaines (HEK293) transfectées avec l'ADNc du récepteur GPR55 humain. Bien que l'anandamide a été rapportée comme agoniste potentiel (EC₅₀ = 18 nM), elle a été moins puissante et efficace ou n'a montré aucune activité agoniste dans l'augmentation calcique intracellulaire ou de la phosphorylation de la protéine ERK. Le 2-AG a lui été actif dans l'augmentation du marquage de la GTPγS dans une étude mais a été inactif dans l'augmentation de la libération calcique ou de la phosphorylation de la protéine ERK dans plusieurs études. Par contre, le récepteur GPR55 répond fortement aux antagonistes CB₁ tels que le rimonabant et l'AM251 ainsi qu'au LPI qui semble être son ligand endogène.

Toutes ces découvertes soutiennent l'idée que le récepteur GPR55 n'est pas un récepteur aux cannabinoïdes ou aux endocannabinoïdes, cela étant soutenu par l'absence d'homologie significative avec les récepteurs CB₁ et CB₂.

d) Signalisation du récepteur GPR55 [109]

Ce récepteur est couplé à une protéine G_{α13} et active les petites GTPases RhoA, cdc42 et rac1. Il a été observé que le LPI peut aussi activer la protéine G_{α13} et RhoA, ce qui a entraîné une libération oscillatoire de calcium intracellulaire ainsi qu'une activation plus tardive des facteurs de transcription de la famille du NFAT qui régulent l'expression de gènes. Le récepteur GPR55 peut également s'associer à des protéines G_{α12} et G_{αq}. Dans le cas de l'activation de la protéine G_{αq} suite à la fixation d'un agoniste, il se produit une augmentation du calcium intracellulaire à partir des récepteurs à l'IP₃, ce qui requiert une activation par la PLC. Si c'est la protéine G_{α12} qui est activée, il se produit une activation de RhoA suivie d'une polymérisation de filaments d'actine. Bien que l'activation de la protéine G_{αq} et l'augmentation de la concentration calcique intracellulaire sont généralement associées à une vasoconstriction, dans l'endothélium il se passe l'opposé. En effet, l'augmentation de la concentration calcique intracellulaire stimule l'activité de canaux potassiques activés par le calcium, ce qui entraîne une hyperpolarisation et une vasorelaxation.

Un autre aspect intrigant de la signalisation du récepteur GPR55 a été signalé dans une étude qui a mis en lumière le rôle des intégrines dans la régulation de la signalisation médiée par l'anandamide via les récepteurs CB₁ et GPR55 dans les cellules endothéliales. Les cellules endothéliales humaines de la lignée EA.hy926 expriment ces deux types de récepteurs, cibles de l'anandamide. Dans cette étude, il a été montré que l'activation préférentielle d'un des deux récepteurs dépend de l'activité des intégrines, des récepteurs de surface pour les molécules d'adhésion avec un rôle clé dans les communications entre les milieux intra et extracellulaires. En présence de calcium extracellulaire, qui inhibe le regroupement des intégrines, l'anandamide active préférentiellement une protéine G_{i/o} couplée au récepteur CB₁, avec une activation en aval de la Syk qui active ensuite le NFκB et inhibe la PI3K. En l'absence de calcium extracellulaire, ce qui entraîne un regroupement des intégrines, l'anandamide et l'O-1602 entraînent une augmentation calcique intracellulaire à partir des récepteurs à l'IP₃ via l'activation de la PI3K et de la PLCγ. La présence de telles voies alternatives pourrait expliquer la capacité de certains ligands à reconnaître à la fois les deux récepteurs et à entraîner des réponses fonctionnelles opposées. Par exemple dans les cellules endothéliales de veines ombilicales humaines, l'anandamide via l'activation des récepteurs CB₁ inhibe la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, alors que l'activation du récepteur GPR55 par l'abn-cbd entraîne une augmentation de la migration cellulaire et de l'angiogenèse.

e) Les fonctions physiologiques du récepteur GPR55

L'implication de ce récepteur dans certains processus physiologiques a pu être mise en évidence. En plus de jouer un rôle dans les processus de vasodilatation dans plusieurs lits vasculaires, il est distribué dans les cellules β pancréatiques et est un fort activateur de la sécrétion d'insuline *in vivo*, ce qui entraîne une baisse de la glycémie. Le développement de molécules agonistes de ce récepteur pourrait donc aboutir à un traitement potentiel pour le diabète de type 2[108]. Il joue également un rôle prépondérant dans la douleur neuropathique et inflammatoire, le cancer et la physiologie osseuse. Au niveau du SNC, il joue un rôle dans la coordination motrice, mais ne régule ni son développement, ni la motricité globale ou les comportements acquis. [110]

5)Le récepteur GPR119

a) Généralités

L'identification de ce récepteur en tant que récepteur aux cannabinoïdes vient du fait qu'il est activé par l'oléoyléthanolamide ou OEA (un analogue de l'anandamide). [107]

b) Distribution tissulaire [109]

Les ARNm humains et murins sont retrouvés principalement au niveau du pancréas et des tissus intestinaux. Les rongeurs expriment aussi ce récepteur dans certaines régions cérébrales. Des données autoradiographiques et immunohistochimiques indiquent que le récepteur GPR119 est largement confiné dans un sous-ensemble de cellules dans les îlots de Langerhans pancréatiques où ils colocalisent avec l'insuline, mais une autre étude indique une localisation prédominante dans les cellules libérant le polypeptide pancréatique. Dans le tractus gastrointestinal, de l'immunoréactivité à été observée parmi les villosités de l'intestin grêle où il colocalise avec le GLP-1 dans des cellules proglucagon positives. En accord avec ces données, ce récepteur a aussi été retrouvé dans les cellules β pancréatiques de la lignée NIT-1, MIN6, RIN5, HIT-T15, dans les insulinomes de la lignée MIN6c4, dans les cellules de type « L-cell » comme les FRIC, les mGLUTag, les hNCI-H716 et dans des cultures primaires de L-cell murines.

c) Signalisation [109]

Les cellules exprimant le récepteur GPR119 à niveaux élevés montrent une augmentation constitutive en AMP, ce qui implique un couplage à la protéine G_s . Les agonistes présumés de ce récepteur sont capable d'augmenter l'AMPc, de stimuler l'adénylate cyclase et d'augmenter l'activité de la PKA dans des cellules exprimant des récepteurs GPR119 naïfs ou recombinés. Il y-a également des preuves de l'implication de canaux potassiques sensibles à l'ATP et de canaux calciques voltage dépendants dans les réponses médiées par le récepteur GPR119.

d) Données pharmacologiques [109]

Du fait de sa proximité phylogénétique avec les récepteurs aux cannabinoïdes, les substances apparentées aux endocannabinoïdes ont été initialement suspectées d'être des ligands potentiels du récepteur. Ainsi, suite à une expérimentation sur des levures, des chercheurs ont observé que parmi les cannabinoïdes ceux de type amides gras ont induit une fluorescence dans les cellules transfectées avec le gène GPR119 humain ou murin ; l'OEA étant la plus active, suivie du palmitoyléthanolamide, et de l'anandamide qui a montré un très faible effet. L'anandamide peut aussi stimuler la production d'AMPC dans les cellules HEK293 transfectées de manière stable avec le gène humain GPR55, ainsi que dans des lignées cellulaires exprimant un récepteur GPR119 natif alors que les cellules n'exprimant pas ce récepteur n'ont pas répondu à l'OEA. De plus, de faibles concentrations (de l'ordre du micromolaire) en lysophospholipides, particulièrement ceux de type lysophosphatidylcholine ont activé le gène GPR119 humain transfecté dans des cellules hépatiques de rat.

En utilisant du screening à haut débit, deux analogues de l'oxadizone ont pu être identifiés en tant qu'analogues synthétiques du récepteur GPR119. Un de ces composés (l'AR231453) est particulièrement remarquable du fait de son affinité de l'ordre du nanomolaire pour le récepteur.

e) Les fonctions physiologiques du récepteur GPR119 [109]

L'expression de ce récepteur dans les ilots pancréatiques β et les cellules enterocrines intestinales de type L ont attiré l'attention sur son rôle possible dans le contrôle du glucose et dans l'obésité. La première preuve de cela vient du fait qu'un agoniste de type lysophosphatidylcholine améliore le contrôle glycémique en augmentant la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose dans des pancréas de rats perfusés. De plus, un effet similaire de ce lysophosphatidylcholine dans des cellules β pancréatiques murines a été diminué par des siARN spécifiques du récepteur GPR119. L'effet insulino-tropique du récepteur GPR119 a été documenté *in vitro* par la suite en utilisant l'OEA et l'AR231453. Ce dernier a aussi été efficace dans un modèle *in vivo* où il a augmenté la tolérance au glucose en agissant directement sur les cellules β pancréatiques pour renforcer la libération d'insuline, de manière glucose dépendante. Cet effet a eu lieu chez des souris maigres ou diabétiques, mais a été entièrement perdu dans des souris déficientes en récepteur GPR119.

Enfin, il a été observé que l'AR231453 est moins efficace quand du glucose est délivré par voie intrapéritonéale. Cela a attiré l'attention sur l'influence possible des incrétines intestinales sur ses effets. En effet, l'AR231453 augmente la libération de la GLP-1 (qui est une des hormones de la satiété) *in vitro*, et administré *in vivo* chez des souris, cette molécule augmente la sécrétion de GLP-1 après une administration de glucose ainsi que la tolérance au glucose. Cet effet a été hautement amplifié quand l'AR231453 a été administré en combinaison avec la sitagliptine, un inhibiteur de l'enzyme inactivatrice de la GLP-1. L'OEA a aussi augmenté la sécrétion *in vitro* de GLP-1 et chez des rats hyperglycémiques uniquement après une administration intraluminale et cet effet pouvait être augmenté par

des inhibiteurs de son enzyme de dégradation. Ces données suggèrent que des agonistes oraux du récepteur GPR119 et/ou des modulateurs du métabolisme de l'OEA pourraient être utilisés pour améliorer l'homéostasie du glucose.

Au fil de cette première partie, nous avons pu voir la complexité et la grande diversité des cannabinoïdes, de leurs récepteurs et de la signalisation qui en découle. Cependant, à l'heure actuelle, beaucoup reste encore à découvrir et nombreuses sont les inconnues concernant cette famille de molécules. Nous allons maintenant nous intéresser dans la partie suivante, aux applications thérapeutiques possibles des dérivés du cannabis.

Partie 2 : Les utilisations thérapeutiques possibles des cannabinoïdes

I) Traitement du cancer

De nombreuses études ont mis en évidence l'effet bénéfique des cannabinoïdes sur le cancer. [111][112]. Ils vont :

- Réduire la viabilité cellulaire en ciblant les protéines du cytosquelette
- Inhiber la néoformation des vaisseaux sanguins
- Induire la mort cellulaire
- Inhiber la synthèse d'ADN
- Cibler la migration et l'adhésion cellulaire.

L'exploitation de ces nombreux effets positifs sur les cellules cancéreuses pourrait dans l'avenir aboutir à des traitements pour plusieurs types de cancers que nous allons voir plus en détails.

A) Le cancer colorectal

Ce cancer représente en France 15% de l'ensemble des cancers. 33 000 nouveaux cas sont détectés chaque année, parmi lesquels surviennent 15 000 décès[113].

Des chercheurs ont mis en évidence en 2013[114] l'effet inhibiteur du CBD sur la prolifération des cellules malignes dans le cas du cancer colorectal. La réduction de la prolifération a été observée uniquement dans les cellules malignes et pas dans les cellules saines. Ils ont également observé une diminution de la carcinogénèse pour les cellules ayant reçu du CBD. Ces deux effets sont dus à l'activation des récepteurs CB₁ et CB₂.

B) Le cancer de la prostate

Il s'agit du cancer le plus fréquemment retrouvé chez l'homme. De plus, il représente 9.8% des décès masculins par tumeur[115].

Une étude de 2008[116] a montré que les cannabinoïdes et les voies de signalisation dans lesquelles ils sont impliqués ont un rôle important dans la régulation de ce cancer. Dans les cellules cancéreuses, le 2-AG est présent et hydrolysé en grande quantité. Il a été également

démontré que si le gène de la FAAH est surexprimé, il en résulte une augmentation de la protéine FAAH, de l'hydrolyse de 2-AG, ainsi que de l'invasion et de la migration cellulaire. Au contraire, l'utilisation de petits ARN interférents (siRNA) bloquant le gène de la FAAH, va diminuer la synthèse de la protéine. Cela entraînera une baisse de l'hydrolyse de 2-AG ainsi que de la migration cellulaire. De plus l'utilisation d'un inhibiteur de la FAAH diminue l'invasion cellulaire.

Cela suggère que la FAAH serait impliquée dans la prolifération des cellules cancéreuses prostatiques de par son effet sur l'hydrolyse du 2-AG, ainsi que l'invasion des cellules cancéreuses prostatiques.

Cette voie constitue une piste très sérieuse afin d'élaborer un nouveau traitement. Cependant, les enzymes responsables de l'hydrolyse du 2-AG et leur rôle dans le cancer de la prostate n'ont pas encore été précisément déterminés.

C) Le cancer du sein

C'est le cancer le plus fréquemment retrouvé chez la femme. Il se développe dans les trois quarts des cas chez la femme de plus de cinquante ans et constitue la principale cause de mortalité chez les sujets entre 35 et 65 ans[117].

Des chercheurs ont mis en évidence le rôle de la protéine Id-1 dans la régulation de la progression du cancer du sein[118]. Cette protéine est présente en quantité importante dans les cellules tumorales mammaires malignes. De plus, les cellules présentant Id-1 sont incapables de se différencier et acquièrent la capacité de proliférer et envahir la matrice extracellulaire.

Dans une autre étude, il a été découvert que le CBD inhibe de manière concentration dépendante l'expression des ARNm et de la protéine Id-1 chez la souris et l'homme, rendant ainsi les cellules tumorales mammaires malignes significativement moins invasives[119]. Ces effets semblent être en relation avec l'inhibition du gène Id-1 au niveau de sa région promotrice.

D) Le gliome

Il s'agit d'une tumeur du tissu glial. Le gliome peut être bénin (épendynome, oligodendrogliome et astrocytome qui peut lui dégénérer en tumeur maligne) ou malin (glioblastomes)[120].

Des essais pré-cliniques ont été réalisés sur le gliome multiforme[121]. Il s'agit de la forme la plus fréquente et la plus agressive de gliome. Elle est en plus très résistante aux molécules qui sont utilisées pour traiter ce cancer, le Temozolomide (TMZ) étant le traitement de référence. Durant cet essai, une association de TMZ et de THC a été utilisée sur des xénogreffes. Cela a entraîné une augmentation de l'autophagie. De plus, une inhibition de ce procédé par des moyens pharmacologiques ou génétiques a empêché la mort cellulaire par association de TMZ et de THC. Cela souligne le fait que l'association de ces deux molécules joue un rôle crucial dans l'activation de l'autophagie. Cette forte action antitumorale a été observée dans les xénogreffes sensibles et résistantes au TMZ.

Suite à cela, une autre expérimentation a été réalisée. Il a été administré de doses sous-maximales de THC et de CBD et il a été observé une importante réduction de la croissance des xénogreffes de gliome. De plus, une association de ces deux molécules à doses sous-maximales, ainsi que de TMZ a produit un fort effet antitumoral dans les tumeurs sensibles et résistantes au TMZ.

Ces résultats ont été exploités; des essais cliniques de phase 1b/2a pour le traitement du gliome multiforme sont en cours.

II) Anti douleur

De nombreux malades fument du cannabis afin de réduire leurs douleurs et témoignent d'un effet bénéfique[3]. Ce succès a été rencontré chez des patients atteints de cancer, mais aussi chez certains malades atteints d'autres pathologies parmi lesquelles l'arthrose, la fibromyalgie, des hernies ou encore le SIDA.

Il y a de nombreuses évidences dans la littérature démontrant que les opioïdes et les cannabinoïdes induisent des réponses pharmacologiques similaires, incluant des effets analgésiques. Par ailleurs, depuis de nombreuses années, des études ont montré que les cannabinoïdes pouvaient augmenter les propriétés antinociceptives des opioïdes. Il s'agit le plus souvent d'un effet synergique. En effet, des doses quasi inactives de THC sont capables de déplacer vers la gauche les courbes doses-réponse de la morphine (déplacement de 4 à 12 fois, en fonction des tests analgésiques, des voies d'administration et des espèces animales utilisées). Il a été montré que l'administration de cannabinoïdes influence l'expression et la libération de peptides opioïdes endogènes dans différentes structures du SNC, impliquées dans les effets pharmacologiques induits par ces composés. Ainsi, l'injection intrathécale de THC et d'autres agonistes cannabinoïdes exogènes augmente les niveaux extracellulaires de dynorphine endogène au niveau de la moelle épinière. Une étude récente a montré que l'injection systémique de THC entraîne une augmentation des niveaux

extracellulaires d'enképhalines dans le noyau accumbens. De plus, l'administration aiguë ou répétée de THC semble augmenter l'expression des gènes de la proenképhaline, la prodynorphine ainsi que celui de la pro-opiomélanocortine dans certaines régions du SNC. Des neuroadaptations au niveau de l'expression génique de la proenképhaline et de la prodynorphine semblent avoir lieu au niveau du striatum de souris knock-out pour le récepteur CB₁. [2]

Enfin, des essais cliniques de phase 3 impliquant le Sativex® ont montré une différence significative de résultat concernant l'antalgie entre un placebo et ce médicament [122]. Cet essai impliquait des patients atteints de cancers en phase finale et chez qui il a été estimé une durée de vie maximale de trois ans. De plus, ils souffraient d'une douleur évaluée à plus de quatre sur l'échelle NRS, malgré un traitement avec des antalgiques de palier trois à forte dose.

III) Anti-épileptique

A) Définition

L'épilepsie est un désordre neurologique caractérisé par une hyperexcitabilité neuronale qui aboutit à une synchronisation d'un réseau de neurones. La perturbation du fonctionnement cérébral se traduit par des crises épileptiques définies comme des problèmes neurologiques transitoires s'accompagnant de signes moteurs et sensoriels. Ces crises sont dues à un déséquilibre complexe qui touche les mécanismes d'inhibition du GABA et les mécanismes d'excitation du NMDA.

Les différents types de crises sont :

- La crise partielle ou focale : elle débute dans un seul hémisphère et y reste confinée
- La crise généralisée : elle débute à partir d'un quelconque réseau neuronal bilatéral et s'y développe rapidement. Ici la crise touche les deux hémisphères.
- La crise inclassable : consiste en une modification de l'activité électrique
- L'état de mal épileptique : c'est un stade très avancé et très sévère de la maladie où on a une répétition des crises.

L'étiologie de l'épilepsie peut être idiopathique (70% des cas), mécanique (5% des cas) ou métabolique.

B) Les traitements disponibles à l'heure actuelle

Les traitements disponibles sont les traitements médicamenteux, l'électrothérapie pour les épilepsies résistantes et enfin la chirurgie en dernier recours.

Concernant les traitements médicamenteux, les antiépileptiques majeurs sont les suivants :

- L'acide valproïque
- La lamotrigine
- La carbamazépine
- L'oxcarbazépine
- Le lévétiracetam.

En plus de ces antiépileptiques majeurs, des antiépileptiques d'appoint avec par exemple la prégabaline, la gabapentine, le clobazam, ... sont utilisés.

La stratégie thérapeutique consiste en une monothérapie avec un médicament majeur. En cas d'échec, un autre médicament majeur est prescrit. En cas de nouvel échec, un antiépileptique majeur est associé avec un médicament d'appoint.

C) L'apport des cannabinoïdes dans le traitement de l'épilepsie

1) L'Epidiolex®

a) Description et propriétés pharmacologique de l' Epidiolex®

C'est un médicament expérimental se présentant sous la forme de CBD liquide pur extrait de plants de cannabis. En novembre 2013, la FDA lui a attribué le statut de médicament orphelin pour le traitement du syndrome de Dravet et de Lennox-Gastaut, des formes d'épilepsies infantiles graves.[123]

Le CBD a déjà montré des propriétés pharmacologiques potentiellement intéressantes dans le traitement de l'épilepsie :

- Inhibition de cellules de la microglie [124]
- Propriétés anti inflammatoires dans les modèles animaux testés [125]
- Inhibition du captage de l'adénosine et agonisme indirect du récepteur A2a, ce-dernier ayant des propriétés neuroprotectrices et anti-inflammatoires [126]
- Activité anticonvulsivante dans tous les modèles de laboratoire testés [127]
- Perturbation des effets négatifs du THC tels que l'euphorie et l'effet psychotrope [128]

En partant de ces données, des études pré-cliniques ont été menées sur le CBD. Ces études ont duré plusieurs années et ont mis en évidence une activité significative antiépileptique et anticonvulsivante pour ce cannabinoïde et cela pour plusieurs modèles *in vitro* et *in vivo*. [129]

Ces études ont également mis en évidence la capacité du CBD à réduire les crises dans des modèles graves de la maladie avec une diminution significative des effets indésirables moteurs par rapport aux médicaments conventionnels. [127]

Au cours d'autres recherches, le CBD utilisé a été screené en utilisant un réseau à multi électrodes placé dans des tranches cérébrales d'hippocampe en cours de décharge électrique. Cette dernière a été provoquée par l'absence d'ions Mg^{2+} dans le milieu ou par le blocage des canaux K^+ par la 4-aminopyridine. Dans les modèles utilisés, 100 μM de CBD ont entraîné une diminution de l'amplitude épileptiforme et de la durée des potentiels de champ locaux, ainsi qu'une augmentation de la fréquence dans des régions spécifiques. [129]

Suite à cela, les actions anti convulsivantes de 1, 10 et 100 mg/kg de CBD ont été examinées *in vivo* dans trois différents modèles de rongeurs :

- Dans des modèles où une crise aigue généralisée a été induite par le PTZ, 100 mg/kg de CBD ont significativement réduit le taux de mortalité et l'incidence des crises tonico-cloniques. [129]
- Dans des modèles où les crises ont été induites par la pilocarpine au niveau du lobe temporal, toutes les doses de CBD ont réduit de manière significative le pourcentage d'animaux victimes des crises d'épilepsie les plus sévères et de crises tonico-cloniques. De plus, dans ces modèles animaux, des doses de 10 et 100 mg/kg de CBD ont diminué significativement la proportion d'animaux mourant à cause des crises. [127]

b) Les essais cliniques impliquant l' Epidiolex®

En octobre 2014, un essai clinique de phase 2/3 pour le syndrome de Dravet a été entrepris. Un essai en double aveugle a été réalisé chez des enfants qui ne répondent pas bien aux traitements anti-épileptiques classiques et ont été testés en deux phases. Au cours de cet essai il a été testé l'innocuité, la tolérance, la pharmacocinétique et l'efficacité de l'Epidiolex® après administration de doses simples et multiples. La phase A de l'essai qui incluait 34 patients a pris fin en février 2014. Après analyse des données, la phase B de l'essai a démarré en mars 2015. Cette dernière a duré 3 mois et portait sur un échantillon de malades qui est passé de 80 initialement prévus à 100, étant donnée la facilité de recrutement des participants.

En avril 2015, un autre essai clinique de phase 3 sur le syndrome de Dravet et incluant 150 patients a commencé. Au cours de ces recherches, il sera mesuré l'efficacité de l'Epidiolex®

par rapport à un placebo dans le cadre de la survenue de crises convulsives au cours d'un mois. Des premiers résultats sont attendus pour le début de l'année 2016.

Concernant le syndrome de Lennox-Gastaut, deux essais de phase 3 impliquant l'Epidiolex® ont commencé. Les chercheurs espèrent recruter 100 patients pour le premier essai et 150 pour le second. Les premiers résultats sont également attendus pour le début de l'année 2016 pour ces deux essais.

En plus de tous ces essais, la FDA a accordé 20 accès étendus à des médecins chercheurs indépendants aux Etats-Unis. Cela a permis de traiter environ 450 enfants et jeunes adultes souffrant d'épilepsie réfractaire. Des résultats de ces essais ont été publiés par l'American Academy of Neurology le 22 avril 2015 ont montré une très bonne tolérance des patients vis-à-vis de l'epidiolex, une efficacité du traitement et un très faible taux d'effets indésirables. Des résultats complémentaires sont attendus pour la fin de l'année 2015.

2)La cannabidivarine

Ce cannabinoïde est un homologue du CBD, possédant une chaîne latérale raccourcie par deux ponts méthylène.

La Cannabidivarine a montré des propriétés anti épileptiques pour un large éventail de modèles pré-cliniques épileptiques *in vivo* et *in vitro*. En effet, cette molécule a fortement supprimé la survenue des crises dans six modèles expérimentaux utilisés couramment dans les essais sur l'épilepsie.

En 2012, les résultats d'un essai de phase 1 portant sur 66 patients ont été rapportés. La CBDV prévient les crises avec moins d'effets indésirables qu'un grand nombre de médicaments anti épileptiques classiques. En outre, l'association de cannabinoïde aux médicaments utilisés actuellement dans le traitement de l'épilepsie, montre une amélioration de l'efficacité. Enfin, les résultats ont montré que la CBDV a été bien tolérée même à fortes doses et ce sans apparition d'effet indésirable grave ou d'abandon de patients dû à des effets indésirables.

En mai 2015, un essai de phase 2 a démarré. Les premiers résultats sont attendus pour le milieu de l'année 2016.

IV) Traitement du Glaucome

A)Physiopathologie

Le glaucome est une maladie oculaire qui touche surtout les personnes de plus de 45 ans. C'est une maladie dégénérative qui touche le nerf optique, causant des dommages

irréversibles à la vue et entraînant une possible cécité si elle n'est pas soignée. Les cellules ganglionnaires rétiniennes du nerf optique sont progressivement détruites, pour des raisons qui ne sont pas encore totalement claires : génétique, régime alimentaire et environnement jouent un rôle actuellement indéterminé dans le développement de la maladie. [130]

On distingue principalement le glaucome aigu (ou glaucome par fermeture de l'angle) qui est relativement rare et le glaucome chronique (ou glaucome à angle ouvert), forme la plus fréquente. De nombreux traitements médicaux existent, sous forme de collyres essentiellement. En cas d'échecs de ceux-ci, il faut avoir recours au laser ou à la chirurgie. [131]

B) Cannabis et glaucome [130]

En 1971, Hepler et coll. rapportaient, dans une lettre adressée au respecté journal « JAMA Ophthalmology », que fumer du cannabis réduisait la pression intra oculaire (PIO) de 25 à 30 % ; toutefois, les opinions demeurent divisées au sein de la communauté médicale, bon nombre de ses représentants mettant en doute la prétendue efficacité accrue du cannabis par rapport aux traitements actuellement disponibles.

Ensuite, plusieurs études des effets du THC et d'autres cannabinoïdes sur la PIO ont été entreprises. En 1979, une étude a démontré que le THC provoquait des baisses plus importantes et durables de la PIO chez les personnes atteintes de glaucome et souffrant d'hypertension que chez les patients normo tendus. Une étude de 1981 a déterminé que le THC appliqué topiquement en diverses concentrations s'est révélé réduire la PIO sur des sujets animaux, ces résultats n'ont cependant pas pu être reproduits chez l'homme. Une étude de 1984 sur des lapins, testant 32 cannabinoïdes différents, a conclu que certains dérivés de THC Δ^9 - et Δ^8 - étaient plus actifs pour réduire la PIO que leurs cannabinoïdes parents.

Une étude de 2002 sur les effets de capsules de THC administrées par voie orale comparées au cannabis fumé a démontré une réduction générale de la PIO avec les deux méthodes d'ingestion, mais la taille réduite de l'échantillon, avec seulement 9 personnes, n'a pas permis d'obtenir des résultats plus fiables. Une étude de 2009 sur le Δ^9 -THC et le cannabigerol chez les chats a démontré que les 2 cannabinoïdes réduisaient remarquablement la PIO, mais ces résultats doivent encore être reproduits chez l'homme.

Toutes ces études montrent qu'il existe, de façon claire, un lien absolu entre le système endocannabinoïde et le développement du glaucome. Cependant, il est nécessaire d'entreprendre des recherches plus précises pour savoir comment cette réduction de la PIO est provoquée.

V) Anti-inflammatoire

A) Généralités sur la réaction inflammatoire [132]

1) Définition et causes de l'inflammation

L'inflammation est la réponse des tissus vivants vascularisés à une agression. Cette-dernière peut être physique (comme le chaud, le froid, les radiations ionisantes), chimique (occasionnée par des composés acides ou basiques, des toxines bactériennes). Elle peut être la conséquence d'une infection (en rapport avec la présence dans l'organisme d'organismes vivants pathogènes tels que bactéries, virus, parasites ou champignons). Elle peut être provoquée par une réaction immunitaire secondaire à la réintroduction dans l'organisme d'un antigène tel qu'un antibiotique. Elle est enfin souvent la conséquence d'une nécrose tissulaire, elle-même secondaire à de nombreuses causes, par exemple une occlusion artérielle.

2) Les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire va mobiliser plusieurs types cellulaires :

- Les lymphocytes : cellules de l'immunité spécifique, humorale et cellulaire, ils sont de type B (CD20), T (CD3) ou ni B ni T (NK pour natural killer). Parmi les lymphocytes T, certains sont dits auxiliaires = « helper » (CD4), d'autres, cytotoxiques (CD8). Les lymphocytes sont la mémoire de l'immunité acquise et servent à son expression : les plasmocytes, par exemple, étape finale de la maturation de la lignée B, sécrètent les anticorps. Les lymphocytes T sécrètent des cytokines. Les lymphocytes NK peuvent avoir une action cytotoxique.
- Les mastocytes et les polynucléaires basophiles qui comportent des granulations contenant des médiateurs chimiques de l'inflammation, en particulier l'histamine et l'héparine.
- Les cellules phagocytaires ou phagocytes comprenant les polynucléaires neutrophiles et les cellules du système monocyte-macrophage (incluant les histiocytes résidents, c'est à dire les macrophages des tissus comme les cellules alvéolaires du poumon ou les cellules de Küpffer du foie). Dans le cerveau, la phagocytose est assurée les cellules microgliales.

3) Les médiateurs chimiques de l'inflammation

Le déclenchement et la poursuite de l'inflammation, sa diffusion à partir du foyer initial font appel à des facteurs qui sont synthétisés localement ou qui sont à l'état de précurseur inactif dans la circulation.

Parmi les facteurs locaux, il y a :

- Les amines vasoactives (Histamine-Sérotonine) : elles sont stockées dans les mastocytes, les polynucléaires basophiles et les plaquettes. Libérées dans l'espace extracellulaire, elles produisent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire (congestion active et œdème inflammatoire).
- Les prostaglandines et leucotriènes : ce sont des acides gras comportant 20 atomes de carbones (= eicosanoïdes), synthétisés dans les membranes à partir de l'acide arachidonique. Produits localement, ils ont des effets marqués locaux (vasodilatation, douleur, attraction des polynucléaires) et généraux tels que la fièvre
- Les cytokines : ce sont des peptides ou des protéines produites par de nombreuses cellules, parmi lesquelles les lymphocytes (principalement T) et les monocytes-macrophages. Elles peuvent être considérées comme des hormones produites par des cellules isolées plutôt que par des glandes. Comme les hormones, elles agissent, par l'intermédiaire de récepteurs membranaires, sur la cellule qui les produit (effet autocrine), sur des cellules proches (effet paracrine), et sur des cellules situées à distance (effet endocrine). Certaines cytokines sont pro-inflammatoires (interleukine 1 ou IL1, IL6 et TNF-alpha); d'autres au contraire sont anti-inflammatoires (IL4, IL10, et IL13). Les cytokines ont de nombreux effets. Parmi ceux-ci nous en retiendront 3 principaux :
 - Médiation de l'immunité naturelle
 - Régulation de l'activation, de la croissance et de la différenciation des lymphocytes
 - Stimulation de l'hématopoïèse
- Les Molécules d'adhérence : les cellules du foyer inflammatoire sont concentrées à l'endroit précis de l'organisme où l'agression a eu lieu. Ce ciblage est le résultat d'interactions complexes de molécules d'adhérence et de leurs ligands cellulaires, qui, par exemple, augmentent ou diminuent l'adhérence au tissu interstitiel. Les vaisseaux du foyer expriment des molécules d'adhérence pour retenir les cellules sanguines qui portent le ligand correspondant.

En plus des facteurs locaux il y a des facteurs circulants (plasmatiques). Ils ne sont actifs qu'à la suite d'une cascade de réactions qui permet d'en réguler la production :

- Les kinines qui proviennent du kininogène activé par la kallikréine, elle-même issue du clivage de la prékallikréine circulante. Le facteur XII (Hageman) activé est l'une des molécules qui clive la prékallikréine. Les kinines sont de puissants vasodilatateurs. Elles augmentent la perméabilité vasculaire. La bradykinine est un médiateur de la douleur.
- Le système du complément qui regroupe un ensemble de protéines sériques (les facteurs du complément) dont l'activation s'effectue par des réactions de protéolyses en cascade. Les facteurs sont numérotés (C1, C3, C5 ...). Une lettre minuscule est éventuellement associée pour décrire le fragment (C3a, C3b) Les fragments libérés ont des effets spécifiques, pour la plupart en rapport avec l'inflammation. Le système

est activé par la réaction antigène-anticorps (c'est la « voie classique »), ou par divers composés provenant en particulier de microorganismes comme les bactéries (c'est la « voie alterne »).

- Le système de la coagulation qui permet d'aboutir au caillot (qui peut être obtenu à partir du plasma *in vivo*, *in vitro*, ou après la mort). Le résultat de la coagulation, lorsqu'elle se produit *in vivo*, dans une cavité vasculaire ou cardiaque, porte le nom de thrombus. Au cours de la coagulation, une cascade de protéolyses aboutit à la production de fibrine à partir du fibrinogène. La fibrine est un composé important de l'exsudat inflammatoire; elle limite le foyer inflammatoire et constitue une matrice sur laquelle les cellules inflammatoires peuvent se déplacer. La coagulation est en équilibre avec la fibrinolyse : la plasmine dégrade la fibrine en produisant des fragments, appelés produits de dégradation de la fibrine (ou PDF), abondants lors de la coagulation intra vasculaire disséminée, au cours de laquelle une coagulation se produit de façon incontrôlée dans les capillaires de l'organisme, par exemple sous l'action de toxines bactériennes. C'est l'activation du facteur XII par des fragments tissulaires altérés qui constitue le mode de déclenchement habituel de la coagulation au cours de l'inflammation.

B) L'intérêt des dérivés du cannabis dans l'inflammation

1) Les effets apoptotiques des cannabinoïdes sur les cellules du système immunitaire

Un des mécanismes majeurs de l'immunosuppression par les cannabinoïdes est l'induction de la mort cellulaire par apoptose dans les cellules de la lignée immunitaire. Dans les conditions normales, l'apoptose permet un maintien de l'homéostasie et implique des changements morphologiques et moléculaires. Il existe deux voies différentes :

- une voie extrinsèque initiée par la jonction de messagers avec les récepteurs de mort cellulaire (par exemple CD95) situés à la surface de la cellule. L'activation de ces récepteurs entraîne l'activation des caspases majeures 3, 8 et 10 et la mort cellulaire.
- La voie intrinsèque initiée par la mitochondrie, la caspase 9, ainsi que le cytochrome et la caspase 3, ces-derniers ayant le plus grand impact dans l'induction de la mort cellulaire. [133]

a) Les effets du Δ^9 -THC sur l'apoptose

Les effets apoptotiques du Δ^9 -THC sur les cellules du système immunitaire ont été étudiés en 1998. Il a été démontré qu'*in vitro*, le THC induit l'apoptose dans les cellules T et les macrophages murins. Ce processus serait médié par l'activation des caspases et de la protéine Bcl-2. Il n'a pas été possible de démontrer cet effet apoptotique sur les

lymphocytes *in vivo*, les chercheurs ayant supposé que cela pouvait être dû à un nettoyage rapide des cellules mortes par phagocytose. Ensuite, ils ont exposé des souris à 10 mg/kg de THC. Après plusieurs temps d'attente différents (4, 6, 24 et 72 heures) ils ont prélevé des lymphocytes à partir du thymus et de la rate des animaux. Ces cellules ont été incubées *ex vivo* pendant 12 à 24 heures. Des niveaux significatifs d'apoptose induite dans les lymphocytes T, B et les macrophages ont été détectés. [134]

Plusieurs autres études ont également rapporté une apoptose induite par le THC chez les cellules présentatrices de l'antigène. Dans des cellules dendritiques dérivées de la moelle osseuse, le THC induit l'apoptose via liaison aux récepteurs CB₁ et CB₂ et l'activation des caspases 2, 8 et 9. [135]

b) L'influence des autres cannabinoïdes sur l'apoptose

Le CBD, l'AEA et l'acide ajulémiq, ainsi que le JWH-015 ont également un effet inducteur de l'apoptose dans les lymphocytes T murins et humains.

En effet, l'acide ajulémiq peut induire l'apoptose dans les lymphocytes T humains via la voie intrinsèque à des concentrations de 1, 3 et 10 µM. De plus, l'utilisation *in vitro* du JWH-015 (un agoniste CB₂) entraîne la mort cellulaire via la voie intrinsèque et extrinsèque. Il a aussi été démontré que quand le JWH-015 est administré *in vivo*, la réponse antigénique spécifique à l'entérotoxine Staphylococcique A est inhibée de manière significative [136].

Le CBD peut lui induire l'apoptose chez les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ à des concentrations de 4 à 8 µM en augmentant la production des dérivés réactifs de l'oxygène et l'activité des caspases 3 et 8. [137]

c) L'effet protecteur des cannabinoïdes dans le SNC

Il est important de noter que contrairement à ce qui se passe pour les cellules du système immunitaire, les cannabinoïdes peuvent protéger les cellules non différenciées du SNC de l'apoptose, ce qui joue un rôle protecteur dans des conditions auto-immunes comme la sclérose en plaque. En fait, les cannabinoïdes protègent de l'apoptose des oligodendrocytes via les récepteurs CB₁ et CB₂ et la voie de l'IP3. En effet, *In vivo* et *in vitro*, une exposition à l'arachidonyl-2-éthylamine et au WIN55,212-12 protège les cellules alors qu'un prétraitement avec un antagoniste du récepteur CB₁ et CB₂ bloque l'action de ces cannabinoïdes. [138]

Dans une étude, une comparaison d'agrégats cellulaires de cerveaux de souris a été faite. Certains venaient de souris sauvages et d'autres de souris knockout pour le récepteur CB₁. Un traitement à l'IFN-γ a entraîné une baisse de l'expression du neurofilament H dans les cultures knockout mais pas les sauvages. De plus, l'activation de la caspase 3 était plus forte dans les cultures knockout, ce qui indique un rôle protecteur du récepteur CB₁ dans les cellules neuronales. [139]

2) L'action des cannabinoïdes sur les cytokines

Un des possibles mécanismes du contrôle immunitaire des cannabinoïdes durant l'inflammation est la dérégulation de la production des cytokines par les cellules immunitaires et la perturbation des réponses immunitaires [140]. De plus, les cannabinoïdes pourraient affecter les réponses immunitaires et les résistances de l'hôte en perturbant l'équilibre entre les cytokines produites par les lymphocytes T-helper Th1 et Th2.

a) L'influence du Δ^9 -THC

In vitro, des études ont été menées pour comparer l'effet du THC et du CBD sur la production des cytokines par les lymphocytes T, B CD8+, NK et les éosinophiles humains. Il a été montré à la fois des effets pro- et anti-inflammatoires pour le THC avec des effets variant en fonction des concentrations[141]. Cela suppose donc que les différentes lignées cellulaires ont des réponses différentes aux cannabinoïdes. En général, les niveaux de TNF- α , GM-CSF et IFN- γ ont diminué avec le traitement au THC. Il est intéressant de noter que suite à un traitement au THC, les niveaux en interleukine 10 (anti-inflammatoire) ont diminué alors que ceux de l'interleukine 8 (pro inflammatoire) ont augmenté.

Au niveau moléculaire, il a aussi été montré que le THC inhibe l'expression des ARNm de l'interleukine 1 α , 1 β , 6 et du TNF- α dans des cultures de cellules microgliales de rats. Toutefois, ces effets étaient indépendants des récepteurs aux cannabinoïdes.[142]

b) L'action de l'acide ajulémiqque sur les cytokines

Il a été montré que l'AjA prévient des lésions articulaires dans des modèles animaux d'arthrite. De plus, au cours d'une inflammation chronique, la suppression de l'interleukine 6 peut diminuer les lésions tissulaires.

Une étude a montré que l'ajout *in vitro* d'AjA à des macrophages dérivés de monocytes humains réduit la sécrétion d'interleukine 6 à partir de cellules activées, ce qui suggère que ce cannabinoïde pourrait avoir un intérêt dans le traitement de l'inflammation des articulations chez les patients atteints de lupus érythémateux, polyarthrite rhumatoïde ou d'ostéoarthrite[143].

c) L'influence des endocannabinoïdes sur les cytokines

Les endocannabinoïdes peuvent affecter la biologie des cytokines de plusieurs systèmes cellulaires. L'AEA peut augmenter la prolifération induite par les cytokines. En effet, des cellules de moelle osseuse de souris mises en culture dans un milieu contenant de l'AEA et de l'interleukine-3 produisent plus de cellules hématopoïétiques qu' en présence d'interleukine 3 seule.[144]

Ensuite, il a été observé dans des leucocytes une suppression significative de l'interleukine-2 par le 2-AG et le 2-AG éther via l'activation du PPAR- γ [145]. De plus, dans des macrophages

indifférenciés et des macrophage-like différenciés de type HL-60, le 2-AG a induit une accélération de la production de l'interleukine-8 CB₂ dépendante. Ajouté à cela, suite à une démyélinisation due au virus de Theiler, une inactivation des endocannabinoïdes via l'utilisation d'inhibiteurs de leur transport a entraîné une diminution d'interleukine-1 β , 12 et des cytokines pro-inflammatoires.[146]

Enfin, une étude a mis en évidence que l'interleukine-12 et l'IFN- γ réduisent l'activité de la FAAH et son expression au niveau protéique alors que l'interleukine-4 et 10 stimulent son activité. [147]

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des effets des cannabinoïdes sur les cytokines [148]

Cannabinoïde	Récepteur	Cellule/tissu/sérum	Effet
THC	ND	Macrophages du type RAW264.7	Diminution du TNF- α
THC	ND	Macrophages péritonéaux	Augmentation de l'IL-1 α et de l'IL-1 β
THC	ND	Cellules humaines	Diminution du TNF- α , GM-CSF, l'IFN- γ et de l'IL-10 Augmentation de l'IL-8
THC	Dépendant de CB1 et CB2	Cellules microgliales de rat	Diminution du TNF- α , de l'IL-1 α , IL-1 β et l'IL-6
<i>In vivo</i> WIN55, 212-2 et HU-210	Dépendant de CB1	Sérum	Diminution du TNF- α et de l'IL-12 Augmentation de l'IL-10
Acide ajulémiq	ND	Monocytes humains dérivés de macrophages	Diminution de l'IL-6 et l'IL-1 β
HU-308	Dépendant de CB2	Homogénats sériques et hépatiques	Diminution du TNF- α , du MIP-1 α et du MIP-2
CP55, 940 WIN55, 212-2	Dépendant de CB1 et CB2	Synoviocytes	IL-6 and IL-8
2-AG	Dépendant de CB2	Cellules leucémiques promyélocytaires	Augmentation de l'IL-8, du CXCL8 et du CCL2

3)Les cannabinoïdes et la sclérose en plaque

a) Physiopathologie

La sclérose en plaque est une maladie auto-immune médiée par des lymphocytes T auto réactifs, des macrophages, des cellules de la microglie et des astrocytes. L'action de ces cellules entraîne une démyélinisation des fibres nerveuses et des axones dans le SNC humain, ce qui entraîne des spasmes musculaires, des tremblements, une ataxie, des faiblesses et une paralysie, ainsi qu'une perte de contrôle de la vessie. Cette maladie entraîne également une destruction de la barrière hémato-encéphalique par les

lymphocytes T auto réactifs. L'infiltration de ces cellules dans la moelle épinière et le SNC et leur activation ultérieure entraîne une élimination de la gaine de myéline autour des nerfs et des axones. Ces lymphocytes T sont en général CD4⁺ ou IL-2R⁺ et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN- γ et le TNF- α . [149], [150]

b) Les preuves cliniques de l'efficacité des cannabinoïdes dans la sclérose en plaque

En 1994, un essai impliquant 112 patients anglais et américains atteints de sclérose en plaque (57 hommes et 55 femmes) a été mené. Les résultats ont montré que l'utilisation du cannabis donne des résultats positifs sur les symptômes comme la spasticité, les douleurs, les tremblements et la dépression chez plus de 90% des patients. De plus, dans 8 études cliniques différentes des patients atteints de sclérose en plaque ont aussi rapporté les bénéfices du THC (administré par ingestion, inhalation, injection ou suppositoires), du cannabis (ingéré ou fumé) et du Nabilone® pris par voie orale. Ces patients ont pu bénéficier d'effets bénéfiques par rapport aux douleurs spastiques, aux tremblements et à l'ataxie. L'utilisation de cannabinoïdes entraîne également une amélioration significative des résultats suite à des tests d'écriture ou de contrôle de la vessie. [151], [152]

Les effets bénéfiques observés sont en fait dus aux propriétés neuroprotectrices et immunosuppressives des cannabinoïdes.

c) Le rôle protecteur des cannabinoïdes synthétiques dans la sclérose en plaque

Une des mécanismes de l'immunosuppression médiée par les cannabinoïdes réside en l'induction de l'apoptose.

En 2006, Sanchez et Coll. ont démontré que le WIN55,212-2 bloque une forme expérimentale d'encéphalomyélite auto-immune en induisant l'apoptose dans les cellules encéphalitogènes via une activation partielle des récepteurs CB₂. [153]

Une autre étude a montré qu'*ex vivo*, le WIN55,212-2 inhibe la réponse des lymphocytes T au peptide MOG et entraîne une baisse des niveaux d'interleukine-2, IFN- γ et TNF- α produits par les lymphocytes T activés par le MOG. Cette voie suppressive est médiée via le récepteur CB₁. De plus, d'autres cannabinoïdes synthétiques comme le JWH-015 et l'ACEA diminuent le nombre de lymphocytes CD4⁺ infiltrés dans la moelle épinière chez une souris infectée par le virus de Theiler [154]. Enfin, dans une dernière étude, Mestre et son équipe ont montré que cette décroissance du nombre de CD4⁺ infiltrés est due à une diminution de l'expression de molécules d'adhésion intercellulaires et vasculaires (les ICAM-1 et V-CAM-1) par les cellules endothéliales.

d) L'action des cannabinoïdes sur les cellules de la microglie

Les cellules de la microglie sont les macrophages du SNC. Dans la sclérose en plaque, ils véhiculent les lésions tissulaires via deux voies principales : la présentation de l'antigène et la sécrétion de cytokines. Dans les stades initiaux de l'inflammation, après activation, les cellules de la microglie présentent des antigènes aux lymphocytes T spécifiques de la myéline, ce qui résulte en l'activation et la prolifération de cellules de la lignée Th1.

Une étude a montré que le WIN55,212-2, l'ACEA ou le JWH-015 inhibent l'activation des cellules de la microglie. Cela a été confirmé par la comparaison de la morphologie des cellules réactives et non réactives ainsi que par immunohistochimie. [154]

e) L'effet immunosuppresseur des cannabinoïdes sur les astrocytes

Dans le SNC, les astrocytes jouent un rôle important dans la croissance cellulaire, la signalisation neuronale et le métabolisme du glucose. Pendant la progression de la maladie, les astrocytes sont activés pour sécréter des cytokines, des chimiokines et de l'acide nitrique qui contribuent à la réponse inflammatoire globale. Comme les astrocytes expriment à la fois les récepteurs CB₁ et CB₂, plusieurs études ont été menées sur ces cellules.

Une expérimentation a montré que l'AEA stimule les astrocytes et déclenche la production d'interleukine-6 par une voie médiée par le récepteur CB₁[155]. Le rôle précis de l'interleukine-6 dans le SNC n'est cependant pas totalement clair. Il a néanmoins été rapporté que la sécrétion de cette interleukine potentialise la production du facteur de croissance neuronal. De plus, l'interleukine-6 inhibe la production du TNF- α faisant suite à une stimulation des cellules gliales par l'IFN- γ et l'interleukine-1 β .

Dans une autre étude, Molina-Holgadi et son équipe ont montré que l'AEA et le CP-5540 inhibent la production d'acide nitrique par les astrocytes et cela par une voie dépendante du récepteur CB₁. [138]

Enfin, en 2005, il est prouvé que les astrocytes fœtaux humains expriment à la fois les récepteurs CB₁ et CB₂. La stimulation de ces cellules avec de l'interleukine-1 β et leur traitement avec du WIN55, 212-2, entraîne une décroissance des produits de l'inflammation comme l'acide nitrique, le TNF- α , le CXCL10, le CCL2 et le CCL5.

f) L'action des cannabinoïdes aux stades tardifs de la maladie

A ce stade de la maladie, les cellules de la microglie sécrètent de l'interleukine-12, 13, 23, de l'acide nitrique et du glutamate tous contribuant à la destruction de la gaine de myéline.

En 2009, il est montré que l'AEA inhibe l'expression des interleukine-12 et 23 dans les cellules de la microglie humaines et murines activées par l'INF- γ et le LPS. Cette inhibition de la production des cytokines a lieu via l'activation du récepteur CB₂ et mise en jeu des voies de signalisation ERK1/2 et JNK. [156]

En outre, une autre étude a montré que le récepteur CB₂ est impliqué dans le trafic des progéniteurs myéloïdes, qui sont nécessaires à la reconstitution et l'activation au cours de la sclérose en plaque. Ils ont démontré que des souris CB₂^{-/-} ont une exacerbation des symptômes de la maladie et que des pro-géniteurs CD34⁺ infiltrent grandement la moelle épinière de ces animaux. Afin d'expliquer ce mécanisme, les chercheurs ont montré que dans la moelle osseuse, une mise en contact du récepteur CB₂ avec le HU-308 (un agoniste de ce récepteur) augmente l'expression des chimiokines et de leur récepteur (CCL2, CCL3, CCL5, CCR1 et CCR2), ces molécules étant importantes dans le trafic des cellules progénitrices à l'intérieur des tissus neuro-enflammés. [157]

4) L'action bénéfique des cannabinoïde dans la polyarthrite rhumatoïde

a) Physiopathologie

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie inflammatoire chronique affectant environ 1% de la population humaine et se manifestant par la destruction des articulations, des déformations au niveau des doigts et une perte de mobilité associée à une raideur articulaire, des douleurs, et un gonflement. Les cellules immunitaires majoritairement impliquées sont les macrophages, les lymphocytes T, les synoviocytes et les cellules dendritiques. Les cytokines les plus mises en jeu sont le TNF- α et l'interleukine-1. [158], [159]

b) Cannabis et polyarthrite rhumatoïde

Les propriétés anti-inflammatoires des cannabinoïdes ont été étudiées sur des modèles animaux de polyarthrite rhumatoïde ainsi que des cellules humaines de patients atteints de la maladie. Il est intéressant de noter que la majorité des études se sont intéressées à des cannabinoïdes non psychoactifs.

Le CBD a montré des effets protecteurs dans des modèles murins d'arthrite. Dans une étude, les auteurs ont démontré qu'une dose orale (5 mg/kg) ou intrapéritonéale (25 mg/kg) de CBD inhibe la progression de la maladie. De plus, les souris traitées au CBD présentent des niveaux de sécrétion d'IFN- γ par les cellules de ganglions lymphatique et une production de TNF- α par les cellules synoviales de genou diminuée. [160]

L'AjA présente des propriétés inhibitrices via la production d'interleukine-1 β dans des monocytes humains de patients atteints de la maladie. Des monocytes sanguins périphériques et des monocytes du fluide synovial provenant de patients sains et malades isolées ont été prétraitées avec 0-30 μ M d'AjA et stimulées ensuite avec le LPS. Les résultats ont montré que l'AjA a entraîné une production d'interleukine-1 β inférieure dans les deux types de monocytes, sans affecter la production de TNF- α . [161]

L'AjA exerce également son effet immuno-modulateur en induisant l'apoptose dans des cellules ostéoclaste-like. En effet, le traitement de ces cellules avec 15 et 30 μM d'AjA entraîne l'induction des caspases 3 et 8 dans les cellules, ce qui provoque l'apoptose des ostéoclastes et la protection de l'ostéoclastogénèse. [162]

VI) Les autres applications thérapeutiques possibles

Pour ces pathologies, il existe des médicaments commercialisés. Cependant, ces points ayant été déjà abordés dans la première partie, nous ne ferons que les citer brièvement ici. Parmi les autres applications thérapeutiques dignes d'intérêt, sont utilisés :

- Le Dronabinol® et le Nabilone® comme antiémétique chez les patients cancéreux résistants aux thérapeutiques classiques.
- La prise de poids et la stimulation de l'appétit chez les patients cancéreux par le Dronabinol®.
- Le traitement des douleurs dues à la spasticité sévère par le Sativex®.

Tout au long de cette deuxième partie, nous avons vu que les cannabinoïdes ont un potentiel thérapeutique pour un très large éventail de pathologies, avec pour certaines des médicaments déjà commercialisés alors que pour d'autres, les recherches sont encore à l'état embryonnaire. Dans la troisième partie, nous nous intéresserons de manière plus approfondie à la maladie de Parkinson et au potentiel thérapeutique des dérivés du cannabis dans cette pathologie.

Partie 3 : Les cannabinoïdes dans la maladie de Parkinson

I) Physiopathologie

La maladie de Parkinson est une maladie neurologique chronique dégénérative affectant le système nerveux central. Celle-ci débute habituellement entre 45 et 70 ans, mais il existe également des formes génétiques rares (5%) qui se manifestent plus tôt, avant l'âge de 40 ans[163]. Elle est responsable de troubles essentiellement moteurs et d'évolution progressive.

La maladie de Parkinson est liée à la perte progressive des neurones dopaminergiques de la substantia nigra pars compacta, qui est une structure mésencéphalique impliquée dans la régulation de l'activité des noyaux gris centraux.

La fonction des neurones dopaminergiques est de fabriquer et libérer la dopamine. Ce neurotransmetteur va notamment être indispensable au contrôle des mouvements du corps, en particulier les mouvements automatiques.

Le manque de dopamine perturbe l'équilibre naturel des neuromédiateurs servant à transmettre des stimuli par les connexions nerveuses (par exemple, outre la dopamine, l'acétylcholine ou le glutamate). En conséquence, une coordination « fluide » des mouvements n'est plus possible.

Les récepteurs dopaminergiques sont les récepteurs D1-like couplé à la protéine G_s et les récepteurs D2-like couplé à la protéine G_i [164].

Cette perte neuronale s'accompagne de la présence d'inclusions neuronales intracytoplasmiques éosinophiles et habituellement sphériques : les corps de Lewy.

Ils sont principalement constitués de filaments neuronaux dits « intermédiaires », éléments normaux du cytosquelette et d'une protéine anormalement agrégée en filaments insolubles, l' α -synucléine (protéine pré-synaptique qui aurait un rôle dans l'apprentissage)[165].

II) Caractéristiques cliniques

La maladie de Parkinson est caractérisée par l'association de trois symptômes (triade motrice) qui définissent le syndrome parkinsonien[166]:

- Tremblement de repos
- Rigidité
- Akinésie (lenteur d'initiation des mouvements avec une tendance à l'immobilité).

Ces signes sont le plus souvent associés, mais certains d'entre eux peuvent être absents, en particulier au début de l'évolution de la maladie. De plus, le tremblement de repos n'est pas constant.

La maladie présente plusieurs stades d'évolution[167] :

- Stade I : premiers signes unilatéraux, ne gênant pas la vie quotidienne.
- Stade II : signes encore unilatéraux, entraînant une gêne.
- Stade III : signes bilatéraux, posture modifiée, pas de handicap grave, autonomie complète.
- Stade IV : handicap plus sévère, marche encore possible, autonomie limitée.
- Stade V : marche impossible (fauteuil roulant, alitement), perte complète d'autonomie.

Des symptômes non moteurs sont également fréquents (troubles de l'humeur : dépression, constipation, troubles du sommeil paradoxal, perte de l'odorat, déclin cognitif, troubles neurovégétatifs : hypersudation et hyper sialorrhée, douleur paroxystique)[168]. Certains d'entre eux peuvent apparaître au cours de l'évolution de la maladie, tandis que d'autres, peuvent être présents dès le début, ou même exister des années avant l'apparition des signes moteurs.

III) Diagnostic de la maladie

La maladie de Parkinson débute 5 à 10 ans avant l'apparition des premiers symptômes cliniques, lorsqu'environ la moitié des neurones dopaminergiques a disparu.

Le diagnostic peut être facile du fait de la présence minimale de deux des trois symptômes suivants[163] :

- la lenteur du mouvement (bradykinésie)
- un tremblement au repos de la main et/ou du pied unilatéral
- la raideur (hypertonie)

Mais il peut être plus difficile par l'existence de signes non moteurs cités précédemment.

La réponse au traitement par précurseurs de dopamine confirmera le diagnostic.

A) Diagnostic clinique

Le diagnostic de maladie de Parkinson repose essentiellement sur un recueil précis de l'histoire de la maladie et l'examen clinique neurologique. Les principaux critères sur lesquels repose le diagnostic sont les suivants[166] :

- Syndrome parkinsonien ;
- Aggravation progressive ;
- En l'absence d'une autre cause (pas de prise de neuroleptiques, ni de signe en faveur d'une atteinte plus étendue du système nerveux, ni de tremblements essentiels) ;
- Amélioration significative et prolongée par le traitement antiparkinsonien à une dose suffisante.

B) Examens complémentaires

Le diagnostic de maladie de Parkinson est habituellement clinique mais des examens complémentaires peuvent être utilisés au cas par cas :

- Le scanner cérébral et l'imagerie par résonance magnétique sont normaux mais permettent d'éliminer d'autres maladies pouvant avoir des signes proches.
- Une scintigraphie cérébrale permettrait de montrer l'atteinte du striatum.
- Bilan de cuivre (afin d'exclure la maladie de Wilson).

Ces examens sont le plus souvent utilisés pour éliminer d'autres causes de syndrome parkinsonien, mais aucun examen complémentaire ne permet d'établir le diagnostic avec certitude en dehors de l'examen anatomopathologique du cerveau. En effet, celui-ci permettrait de mettre en évidence une atrophie de certaines zones du cerveau, mais aussi la présence des corps de Lewy caractéristiques.

IV) Epidémiologie

La maladie de Parkinson touche environ 6,3 millions de personnes dans le monde et pas moins de 150 000 personnes en France.

Son incidence continue d'augmenter en raison du vieillissement de la population. Elle constitue donc un enjeu de santé publique mondial. Avec d'autres maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer, on s'attend à ce qu'elle dépasse le cancer se plaçant au deuxième rang de la mortalité vers l'année 2040[169].

En France, son incidence (personnes/année) est comprise entre 10 et 20 pour 100 000.

La prévalence de la maladie est généralement comprise entre 100 et 200 pour 100 000 habitants[170].

Il est donc nécessaire de développer de nouveaux médicaments aidant à lutter contre cette maladie et ses complications.

Mais pour d'autres raisons également :

- C'est la maladie neuro-dégénérative la plus fréquente après la maladie d'Alzheimer
- La première cause de syndrome parkinsonien
- La deuxième cause de handicap moteur chez le sujet âgé après les accidents vasculaires cérébraux.

V) Les traitements actuels

Aujourd'hui, le traitement de la maladie de Parkinson est avant tout médical et symptomatique. Il vise à améliorer les symptômes de la maladie mais ne permet pas de ralentir son évolution. Des médicaments appartenant à différentes classes thérapeutiques peuvent être utilisés, souvent en association[166].

A) La dopathérapie

C'est un traitement substitutif, permettant de palier le déclin en dopamine de la maladie. Il met en œuvre la L-dopa, un précurseur de la dopamine qui passe la barrière hémato-encéphalique. Utiliser la dopamine directement serait néfaste car elle provoquerait des effets indésirables en périphérie.

La L-Dopa est un agoniste aux récepteurs D1 et D2 pré- et post-synaptiques. Cette molécule n'est jamais utilisée seule car elle serait dégradée par la dopa-décarboxylase (DDC) et la catéchol-O-méthyltransférase (COMT). Ainsi, des adjuvants inhibiteurs de la DDC sont ajoutés : le bensérazide et la carbidopa. Ces-derniers agissent au niveau périphérique car ils ne traversent pas la BHE. Ils vont réduire les effets indésirables en périphérie et augmentent l'efficacité du traitement.

- L'association L-dopa + carbidopa donne le Sinemet®.
- L'association L-dopa + bensérazide donne le Modopar®.

Si le traitement n'est pas assez efficace, on rajoute de l'entacapone et la tolcapone qui inhibent les COMT périphériques. Ces molécules renforcent l'efficacité du traitement car la L-Dopa ne sera plus dégradée en périphérie par ces COMT.

Il est possible d'associer un dernier type de molécule à la L-Dopa. Ce sont les inhibiteurs de la MAO-B (l'isoforme B de cette enzyme est majoritaire dans les neurones à dopamine) : la sélégiline et la rasagiline. Ces molécules vont inhiber les enzymes de dégradation de la dopamine au niveau central. Elles sont utilisées en début de traitement pour retarder la mise en place de la Dopathérapie.

La L-Dopa est le traitement de référence car c'est le plus efficace. En revanche, son efficacité ne reste totale que 5 à 10 ans. Apparaissent ensuite des effets indésirables extrêmement gênants, comme les dyskinésies. De plus, avec ce traitement, il existe des fluctuations dites phases ON et phases OFF. Celles-ci apparaissent à partir de la troisième année de traitement environ. Durant la phase ON, il est observé une hyperkinésie tandis qu'en phase OFF il existe une akinésie. Ces fluctuations obligent une prise répétée de Lévodopa ou une association avec des inhibiteurs de sa dégradation[171].

Tableau 4 : les principaux médicaments utilisés dans la dopathérapie

Classes thérapeutiques (DCI)	Noms commerciaux	Dosages	Posologies
<u>Dopathérapie</u>			
L-dopa + bensérazide	MODOPAR®	Gélules à 62.5/12.5 125/5 et 250/50 mg	Posologie progressive Posologie optimale : 6 x 125 mg ou 3 x 250 mg/j
	MODOPAR® dispersible	Cp. Séc. Disp. À 125/25 mg	
	MODOPAR LP®	Gél LP 125/25 mg	Si fluctuations d'activité
L-dopa + carbidopa	SINEMET®	Cp. A 100/10 et 250/25 mg	Optimale 8 x 250 mg/j
	SINEMET LP®	100/0mg 200/25 mg	Si fluctuations d'activité
L-dopa + carbidopa + entacapone	STAVELO®	Cp50/12.5/100/25-150/37.5 (mg)	

B) Les agonistes dopaminergiques

Ceux agissant sur les récepteurs D2 post-synaptique sont utilisés en première intention et en monothérapie chez le sujet jeune (et ils sont associés à la L-DOPA si il y a intolérance ou une réponse insuffisante). En effet, avec les agonistes D1-like, une forte tolérance est observée, ce qui nécessite une augmentation des doses pour obtenir le même effet.

Il existe un consensus pour utiliser ce type de traitement en priorité chez les patients les plus jeunes (avant 60 ans) afin de retarder la mise sous Lévodopa et la survenue des complications motrices.

Agissant sur les récepteurs D1 et D2, il y a l'apomorphine (Apokion®) qui est un agoniste dopaminergique avec une courte demi-vie d'élimination et qui est généralement injectée par voie sous-cutanée, en particulier chez des patients présentant des formes évoluées avec des complications motrices[166].

Il existe également l'amantadine (Mantadix®) qui bloque les récepteurs NMDA au glutamate. Ce médicament est intéressant quand il existe des dyskinésies.

C) Les anticholinergiques

Ils agissent en inhibant l'action cholinergique au niveau du striatum. Ils peuvent être utilisés en particulier dans les formes avec un tremblement important, mais leur usage est limité en raison d'effets secondaires importants et gênants, en particulier cognitifs. De plus, ils ne sont pas efficaces sur l'akinésie[166] et faiblement actifs sur l'hypertonie.

Ils peuvent être utilisés au tout début de la maladie pour retarder le recours à d'autres thérapies. Ils peuvent aussi être utilisés pour traiter les syndromes extrapyramidaux induits par les neuroleptiques.

Il existe trois molécules dans cette famille : la tropatépine (Lepticur®), la trihexyphénydyle (Parkinane®) et le bipéridène (Akinéton®)

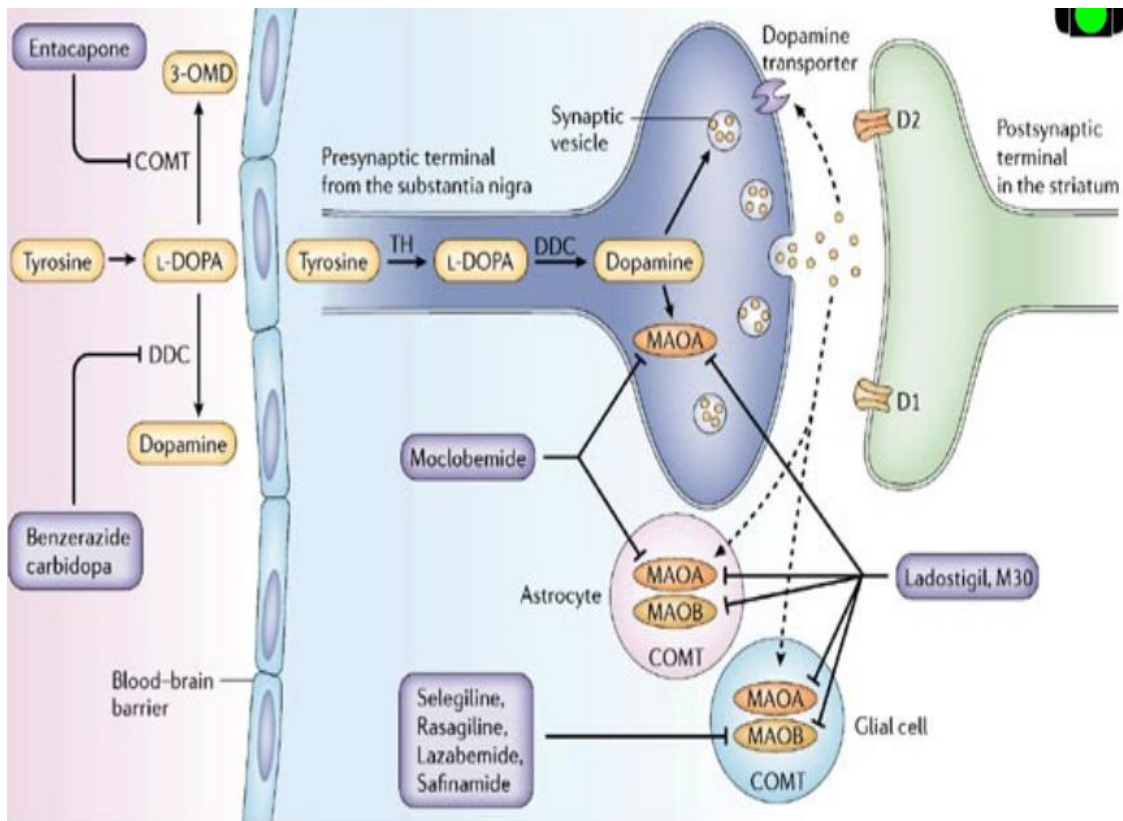


Figure 28 : Stratégies thérapeutiques utilisées dans la Maladie de Parkinson [164]

D) Les complications de la Dopathérapie [171]

- Akinésie. Elle est précédée par une bradykinésie (mouvements lents) ainsi qu'une hypokinésie (réduction de l'amplitude des mouvements). L'akinésie apparaît notamment dans les phases OFF du traitement par la Lévodopa.

Il faudra alors fractionner les doses ou associer un agoniste dopaminergique ou si les fluctuations sont sévères, on procède à une injection d'apomorphine.

- Dyskinésies (troubles du mouvement)

Apparaissent dans les phases ON. Si elles apparaissent en milieu de doses thérapeutiques (en termes de concentration), il faudra diminuer, voire fractionner la dose. En revanche si elles apparaissent en fin de dose, il faudra l'ajuster.

- Dystonie (tonus musculaire augmenté provoquant une posture anormale). Cet effet indésirable apparaît durant la période OFF, il faudra donc ajuster la dose vespérale (nocturne) ou avancer la prise de la dose maximale de la journée.
- Freezing (trouble de la marche : piétinement et chute).

Nous venons de voir que la maladie de Parkinson, de part son incidence et sa prévalence constitue un enjeu de santé publique.

Les traitements actuels sont symptomatiques et connaissent une baisse d'efficacité avec le temps. Ils ne permettent donc pas de traiter la maladie. Intéressons nous maintenant aux cannabinoïdes et à leur apport potentiel dans cette maladie.

VI) L'intérêt des cannabinoïdes dans la maladie de Parkinson

Dans la maladie de Parkinson, le système endocannabinoïde est suractivé :

L'Anandamide provoque un mécanisme de compensation dans le striatum. Ce mécanisme a pour but de normaliser l'épuisement chronique en dopamine observé dans la maladie de Parkinson[172].

Il est donc pertinent de s'intéresser aux cannabinoïdes dans le traitement de cette maladie.

Des études [173]–[175] menées sur le sujet malade ont démontré que les cannabinoïdes ont des effets bénéfiques dans la maladie de Parkinson. Ce sont ceux ayant les propriétés suivantes :

- antagoniste CB1
- agoniste CB2
- antioxydant.

La THCV regroupe toutes ces propriétés[165], [175], [176] : antagoniste CB1 (à doses inférieures à 3 mg/kg), agonistes CB2 et antioxydant.

La THVC se retrouve dans certaines variétés de cannabis, naturellement présentes en Asie centrale et en Afrique du Sud. Les rayons UV des montagnes d'altitude, favoriseraient la formation de la THCV par la plante. Parmi les hybrides, par exemple une forte proportion est présente dans la variété Jack The Ripper, ainsi que dans la Moby Dick[177], [178].

C'est l'homologue (propyl) du THC, mais son activité psychoactive ne représente en fait que 20 à 25% de son homologue[177]–[179]. Cette caractéristique est extrêmement intéressante dans le cadre d'un traitement par THCV.

Certaines études[173]–[175] montrent que la THCV a un profil pharmacologique prometteur pour retarder la progression de la maladie et atténuer les symptômes parkinsoniens. Le profil pharmacologique de la THCV

Tableau5 présente le profil pharmacologique de la THCV

Tableau 5 : Profil pharmacologique de la THCV

EFFETS PHARMACOLOGIQUES	CONSEQUENCES	EXPLOITATIONS THERAPEUTIQUES
Antagonisme CB1	Augmentation du taux de glutamate dans le striatum → diminution de l'inhibition motrice[180]	-Réduire les bradykinésies[180] -Retarder les dyskinésies dues au traitement par L-dopa
Agoniste CB2	Diminution de la perte cellulaire nigrostriale, notamment les neurones positifs à la tyrosine kinase[181]	-Retarder la neurodégénérescence et donc l'évolution de la maladie -Traiter les douleurs neuropathiques et paroxystiques[182]–[184]
	Diminution de l'inflammation cérébrale[181]	
Anti-oxydant	Diminution de la perte dopaminergique de la substance Nigra[181], [185]	-Améliorer le pool en dopamine → traitement de tous les symptômes dopamino-induits
	Diminution de l'activation microgliale[181], [185]	

Développer un médicament à base de THCV dans la maladie de Parkinson serait donc extrêmement judicieux : elle soulage les symptômes et retarde la neurodégénérescence.

Le traitement des symptômes moteurs et non moteurs (douleurs notamment), améliorerait considérablement la qualité de vie des patients. De plus, ils sont, par conséquence directe de la multitude de symptômes, polymédiqués.

Le traitement par THCV permettrait donc d'abaisser la prise médicamenteuse totale. (Amélioration de l'observance et encore une fois, de la qualité de vie).

Il n'est malheureusement pas possible de prescrire cette molécule de choix en traitement de fond. En effet, les cannabinoïdes ne sont à l'heure actuelle jamais prescrits en 1^{ère} intention.

Il est donc plus stratégique de l'indiquer dans le traitement des dyskinésies dues à la Lévodopa.

Il est important de rappeler que celle-ci n'est prescrite qu'à partir de 70 ans (voire 60 selon le cas) à cause de ces dyskinésies très handicapantes.

En dehors des dyskinésies, les autres effets indésirables de la L-dopa sont minimes par rapport à ceux induits par des agonistes dopaminergiques (Tableau 6).

Tableau 6 : Comparaison des effets indésirables liés à la dopa-thérapie et ceux liés à un traitement par des agonistes dopaminergiques.

EFFETS INDESIRABLES	MECANISME	AGONISTE DOPAMINERGIQUES	DOPA-THERAPIE
Nausées, vomissements	Stimulation area postrema	+++	+
Hallucinations, délires	Stimulation voie mésolimbique	+++	+
Comportement hédonique	Stimulation voie mésolimbique	+++	+
Hypotensions	Stimulation D2-like des neurones Σ post-ganglionnaires → ↓ libération NorAdrénaline → vasodilatation	+++	+
Somnolence		+	+
Dyskinésies			+++

Notre médicament, que nous nommerons Parkinstop, et pour lequel nous allons tenter de faire une mise en forme galénique dans la partie suivante, permettra donc d'élargir la population cible de la dopa-thérapie en abaissant l'âge de 1^{ère} prescription de L-dopa.

VII) Essai de développement d'une forme pharmaceutique

Nous ferons cette mise en forme galénique en imaginant être une équipe de développeurs devant réaliser cette forme pharmaceutique pour un laboratoire donné. Nous allons ainsi tout au long du processus de développement essayer de répondre aux différentes problématiques auxquelles les développeurs doivent faire face afin de réaliser des lots pilotes pour l'industrie pharmaceutique.

A) Caractéristiques de la substance active : la THCv

1) Caractéristiques physico-chimiques de la THCv[186]

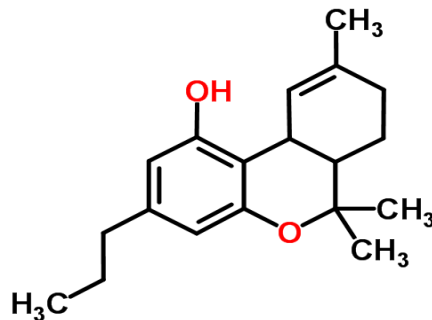


Figure 29 : Structure chimique de la Tétrahydrocannabivarine REF

- **Nom commun** : Tétrahydrocannabivarine (C₁₉H₂₆O₂)
- **Nom IUPAC** : (6a*S*,10a*S*)-6,6,9-triméthyl-3-propyl-6a,7,8,10a-tétrahydro-6*H*-benzo[*c*]chromen-1-ol
- **Masse molaire** : 286.4085 ± 0.0176 g/mol (C 79,68% H9, 15% et O 11,17%)
- **Densité** : 1,035
- **Point de fusion** : 144,91°C
- **Solubilité dans l'eau à 25°C** : 0,1254 mg/L
- **Profil pharmacologique** : Antagoniste CB1, Agoniste CB2. Molécule antioxydante.

2) Pharmacocinétique de la THCv

Les données énoncées ci-après correspondent à celles du THC (C₂₁H₃₀O₂). Nous manquons de données sur la THCv mais compte-tenu de sa structure chimique similaire au THC (homologue C3), nous pouvons considérer que ces données pourront s'appliquer à la Tétrahydrocannabivarine. Cela sera à vérifier lors des essais précliniques et cliniques.

a) Absorption

En nous basant sur le Δ⁹-THC synthétique utilisé dans le Dronabinol, commercialisé sous le nom de Marinol[®], nous savons que seulement 10 à 20 % de la dose administrée entre dans la circulation systémique, indiquant un premier passage hépatique intensif[187].

L'administration d'une dose unique de :

- 2,5 mg de Dronabinol chez des volontaires sains est associée à une concentration plasmatique moyenne maximale (C_{max}) de Δ⁹-THC de 0,7 ng/mL (marge de 0,3 à 1 ng/mL) et à un temps moyen de 2 h (marge de 30 min à 4 h) pour atteindre le pic de concentration plasmatique de Δ⁹-THC[187].

- 5 mg de Dronabinol donne une C_{max} de Δ^9 -THC de 1,8 ng/mL (marge de 0,4 à 3,3 ng/mL)
- 10 mg produit une C_{max} de Δ^9 -THC de 6,2 ng/mL (marge de 3,5 à 9 ng/mL)[187]. Le temps moyen d'apparition du pic de concentration plasmatique de Δ^9 -THC se situe entre 30 minutes et 3h.

L'administration deux fois par jour du Dronabinol :

- Des doses individuelles de 2,5 mg chez des volontaires sains produisent une valeur de C_{max} en Δ^9 -THC de 1,3 ng/mL (marge de 0,7 à 1,9 ng/mL),
- Des doses individuelles de 5 mg chez des volontaires sains produisent une valeur de C_{max} en Δ^9 -THC de 2,9 ng/mL (marge de 1,2 à 4,7 ng/mL),
- Des doses individuelles de 10 mg chez des volontaires sains produisent une valeur de C_{max} en Δ^9 -THC de 7,9 ng/mL (marge de 3,3 à 12,4 ng/mL).

Ici, le temps pour atteindre le pic de la concentration plasmatique de Δ^9 -THC est compris entre 30 minutes et 4 heures après administration par voie orale.

Le dosage continu pendant sept jours avec des doses de 20 mg de Dronabinol (doses quotidiennes totales de 40 à 120 mg de Dronabinol) produit des concentrations plasmatiques moyennes de Δ^9 -THC d'environ 20 ng/mL.

b) Distribution

La distribution du Δ^9 -THC est fonction du temps et commence immédiatement après l'absorption. Il est essentiellement absorbé par les tissus adipeux et les organes richement vascularisés tels que le cerveau, le cœur, les poumons et le foie[188].

Le THC a un volume apparent de distribution d'environ 10 L/kg. Ceci est dû à sa forte liposolubilité[189]. La liaison du Δ^9 -THC et de ses métabolites aux protéines plasmatiques est d'environ 97 %[190]. Le Δ^9 -THC est principalement lié aux lipoprotéines de faible densité (jusqu'à 10 % dans les globules rouges)[191], alors que le métabolite, 11-hydroxy-THC, est fortement lié à l'albumine, 1 % seulement se trouvant dans la fraction libre[192].

Les concentrations de Δ^9 -THC les plus élevées se trouvent dans le cœur et les tissus adipeux. Les niveaux atteignent 10 et 1 000 fois celui du plasma, respectivement[193].

En dépit du haut degré de perfusion du cerveau, la barrière hémato-encéphalique limite l'accès et l'accumulation de Δ^9 -THC dans cet organe[194]. Le délai qui existe entre le pic de concentration plasmatique et les effets psychoactifs du THC peut être attribué au temps nécessaire qu'il faut au Δ^9 -THC pour traverser cette barrière[195].

Le Δ^9 -THC s'accumule aussi dans les tissus adipeux où il y est retenu. Sa libération depuis ce site de stockage dans le sang est lente[196]. On ignore si le Δ^9 -THC persiste dans le cerveau à long terme.

c) Métabolisme

Après l'ingestion de doses par voie orale de Δ^9 -THC, le THC et son métabolite actif, le 11-hydroxy- Δ^9 -THC, sont présents à des concentrations à peu près égales dans le plasma[197]. Le 11-hydroxy-THC sera ensuite métabolisé au niveau du foie en 11-nor-9-carboxy-THC ou THC-COOH, non psychoactif[198]. Les concentrations de THC et de son métabolite atteignent leur sommet à environ 2 à 4 heures après la prise orale et diminuent pendant plusieurs jours. La clairance corporelle complète du Δ^9 -THC et de son métabolite hydroxylé sont en moyenne de 0,2 L/kg par heure, mais varie en raison de la complexité de la distribution des cannabinoïdes[187].

d) Excrétion

Suite à l'administration d'une dose par voie orale, le THC et ses métabolites sont excrétés par les fèces et par l'urine. L'excrétion biliaire est la principale voie d'élimination. Environ la moitié d'une dose par voie orale de THC radiomarké est récupérée dans les fèces dans les 72 heures après l'administration, par opposition à une quantité de 10 à 15 % de THC récupérée dans l'urine[199].

La diminution du Δ^9 -THC dans le plasma est multiphasique. Il est probablement juste de dire que la demi-vie moyenne est de quatre jours mais elle pourrait être beaucoup plus longue[188].

B) Approvisionnement en THCV

Afin de nous procurer la THCV, nous nous sommes orientés vers le laboratoire GW Pharmaceuticals. Ce dernier est mentionné dans plusieurs publications en tant que fournisseur de la THCV qui a été utilisée pour les expérimentations des chercheurs. Nous sommes donc entrés en contact avec ce laboratoire afin d'avoir des informations sur les caractéristiques de la THCV. Cependant, nous n'avons eu aucun retour de leur part suite à notre appel téléphonique.

Selon la biographie, ce sont dans les huiles qu'il y a la quantité de THC la plus importante à partir de la plante. Leur teneur en substance active varie de 60 à 80%[1].

De plus, le laboratoire GW Pharmaceuticals produit déjà des cannabinoïdes à visée médicale. En effet, ce laboratoire est l'exploitant du Sativex® que nous avons vu précédemment et est le numéro un mondial dans le domaine du cannabis thérapeutique. Nous nous sommes donc basés sur ces données, en nous disant que GW Pharmaceuticals pourrait nous fournir une huile de THCV de 60 à 80% afin de pouvoir faire notre formulation.

Une autre possibilité serait de créer des plants de cannabis génétiquement modifiés afin de les exploiter pour produire notre principe actif nous-mêmes ou de synthétiser notre

molécule chimiquement. La première éventualité reste la plus sûre et nous permettrait également de pouvoir disposer d'une quantité de principe actif suffisante pour produire le médicament à l'échelle industrielle par la suite. En effet, nous ne savons pas quelle quantité de THCV GW Pharmaceuticals fournissait aux chercheurs et si ce laboratoire pourrait produire suffisamment de substance active pour passer à l'échelle industrielle. Cette éventualité serait à discuter de manière plus approfondie avec notre chef de projet puisque la création de plants génétiquement modifiés est un processus long et nécessitant un investissement financier non négligeable. Ce choix serait toutefois à privilégier si notre laboratoire souhaite s'intéresser sur le long terme au domaine du cannabis thérapeutique.

C) Choix de la forme galénique

Le choix de la forme à galénique s'est effectué en fonction de plusieurs critères : suivant les caractéristiques de la substance active (la forme sous laquelle elle est fournie et ses propriétés physico-chimiques décrites précédemment), le traitement choisi, tout cela en nous appuyant sur les études scientifiques disponibles. Concernant le critère du traitement, la prise médicamenteuse est quotidienne. Mais, étant donnée la $\frac{1}{2}$ vie élevée de notre principe actif, il n'est pas nécessaire que notre forme galénique soit une forme à libération prolongée. Ensuite, avant de trouver sa dose médicamenteuse optimale, le patient doit au préalable passer par une phase d'adaptation qui dure environ deux semaines. Il nous faut donc une forme médicamenteuse permettant d'avoir différentes concentrations en principe actif (dans notre cas nous choisissons 5, 10 et 20 mg). Nous voulons également une forme galénique dont la complexité reste peu élevée afin de pouvoir facilement la réaliser. Enfin, nous ferons notre choix en tenant compte également du budget, car nous ne voulons pas que notre forme galénique soit trop onéreuse.

Sur la base de ces différents critères, nous avons tout d'abord étudié plusieurs formes galéniques susceptibles d'être utilisées afin de n'en retenir qu'une pour la mise en forme de notre substance active.

Ainsi dans un premier temps, nous avons envisagé la voie intraveineuse comme voie d'administration. C'est en effet une voie prometteuse, mais les données cliniques indisponibles chez l'humain ainsi que l'impossibilité de manipuler à l'université nous ont fait abandonner ce choix. Nous avons rencontré les mêmes problèmes en envisageant une forme implantable et biodégradable, qui présente des avantages indéniables d'un point de vue de l'observance.

C'est pour cela que nous nous sommes dirigés vers un médicament sous forme de patch transcutané. En effet, les avantages de cette forme sont les suivants :

- Elle permet une absorption régulière à vitesse constante et reproductible
- Elle évite les fluctuations des concentrations sanguines de la substance active

- Elle permet l'administration de faibles doses grâce à l'absence de premier passage hépatique et tend à réduire le risque d'apparition d'effets indésirables
- Elle est facile à appliquer, la posologie est adaptable grâce à différents dosages de patch.

Cependant, elle peut entraîner des réactions cutanées et des allergies au niveau du site d'application ainsi qu'une sensation de gêne de part l'application permanente du patch sur la peau. De plus, l'inconvénient majeur est qu'aucune donnée n'est disponible sur le pourcentage d'absorption de la THCV à travers la peau.

C'est pour cela que nous nous sommes orientés dans un second temps vers une forme administrée par voie orale, voie pour laquelle les données pharmacocinétiques sont plus nombreuses.

Nous nous sommes intéressés aux médicaments déjà commercialisés contenant des cannabinoïdes et dont l'administration s'effectue par voie orale. Notre attention s'est particulièrement portée sur les capsules molles commercialisées sous le nom de Marinol®. Cette forme galénique nous permettrait de conserver la substance active sous forme liquide et solubilisée dans une phase huileuse.

La formulation de la capsule molle de Marinol®[200] est la suivante (Tableau 7) :

Tableau7: Formulation qualitative de la capsule molle de Marinol®

PHASE INTERNE	Principe actif : Dronabinol
	Véhicule : huile de sésame
	Co-solvant : propylène glycol

ENVELOPPE EXTERNE	Gélifiant : gélatine
	Plastifiant : glycérine
	Shellac glaze
	dioxyde de titane
	oxyde de fer noir
	alcool

Cependant, il nous a été impossible de formuler des capsules molles étant donné que la technologie n'est pas disponible au laboratoire de l'université (LTPIB).

C'est pourquoi nous avons envisagé la fabrication de gélules contenant un mélange semi-solide en nous inspirant de la formulation du Marinol®. Le protocole établi pour le mélange semi-solide reprend la composition de la phase interne des capsules molles à

laquelle est ajouté le Gélucire® comme épaississant (plusieurs viscosités seraient à tester). Le remplissage des gélules serait manuel via une seringue et le corps et la coiffe des gélules seraient scellés à l'aide d'une solution hydro-alcoolique et d'un coton-tige.

Cette fabrication n'est cependant pas représentative d'un procédé de fabrication industriel. Elle nécessiterait aussi des gélules spéciales car notre principe actif est huileux, ce qui entraînerait un risque de perforation de nos gélules et poserait un problème au niveau de la stabilité du mélange et de la conservation. Nous avons donc envisagé de fabriquer également des gélules contenant un mélange de poudres. Pour cela, la substance active sous forme huileuse sera préalablement adsorbée sur un support solide.

La composition qualitative établie est donnée dans le tableau 8 :

Tableau 8 : Composition qualitative des gélules contenant un mélange de poudres

COMPOSANTS DES GELULES CONTENANT UN MELANGE DE POUDRES	Principe actif : THCV (5 mg par gélule)
	Adsorbant : phosphate dicalcique
	Diluant : amidon de maïs
	Lubrifiant : stéarate de magnésium

D)Expérimentations

Nous avons choisi de commencer par la fabrication de gélules contenant un mélange de poudres.

1)Expérimentation 1

Le but de cette manipulation est de fabriquer des gélules à 5mg en THCV à partir de la formulation quantitative expliquée dans le tableau précédentTablea.

Pour diverses raisons, notamment réglementaires et budgétaires, il nous a été impossible de nous procurer l'huile de THCV. Nous avons choisi, pour nos expériences, de remplacer cette substance par de l'huile de sésame qui est utilisée comme véhicule dans la formulation du Marinol®.

La formulation pour cette première expérimentation est rappelée dans le tableau 9 :

Tableau 9 : Formulation pour une gélule de taille 2 (0,37mL)

SUBSTANCE	ROLE	QUANTITE (MG)
Tétrahydrocannabivarine	Substance active	5 (à partir d'une huile à 80% en THCv)
Phosphate dicalcique	Support solide pour l'huile de THCv	À déterminer
Stéarate de magnésium	Lubrifiant	A déterminer (1 à 2% de la quantité totale en volume)
Amidon de maïs	Diluant	A déterminer (Qsp)

a) Matériels et méthodes

Les produits utilisés lors de nos manipulations sont regroupés dans le tableau Tableau 10 : 10 :

Tableau 10 : Tableau récapitulatif des produits utilisés lors de l'expérimentation 1

SUBSTANCE	NOM COMMERCIAL	N°LOT	DLC	FOURNISSEUR
Amidon de maïs		10110064/A	01/12/14	Cooper
Stéarate de magnésium		11020084/A	01/04/15	Cooper
Phosphate dicalcique	Dicalcium phosphate dihydraté	91026		IMCD
Silice colloïdale	Ca-bo-sil	1053		
Huile de sésame		34-57	13/08/2015	EMB 49293A pour Auchan

Le matériel utilisé lors de nos manipulations est le suivant :

- Epruvette graduée en plastique de 500ml
- Spatules
- Pipette automatique
- Bêchers
- Mortier + pilon
- Appareil de tassement : stamp volumeter STAV 2003
- Mélangeur turbula
- Balances :
 - o Sartorius - précision : $310 \pm 0,005g$
 - o Sartorius – précision : $3100 \pm 0,02g$
 - o And GH-120 – précision : $120 \pm 0,0002g$

b) Protocole expérimental

1. Détermination du pourcentage d'adsorption de l'huile de sésame sur le phosphate dicalcique

La détermination du pourcentage d'huile de sésame pouvant être adsorbée sur le support solide (phosphate dicalcique) est la première étape de l'expérimentation 1.

Les pourcentages à tester et les masses de phosphate dicalcique et d'huile de sésame à introduire sont détaillés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Masses et volumes respectifs en phosphate dicalcique et huile de sésame pour la détermination du taux d'adsorption d'huile sur le phosphate dicalcique

Manipulations	1	2	3	4	5
% Phosphate dicalcique	50	70	80	90	95
Masse correspondante en phosphate dicalcique (g)	2,5	3,5	4	9	19
% Huile de sésame	50	30	20	10	5
Volume correspondant en huile de sésame (mL)	2,75	1,65	0,91	1,10	1,08
Masse totale (g)	5	5	5	10	20

➤ PROTOCOLE :

Le calcul des masses d'huile de sésame à introduire est basé sur la masse volumique de celle-ci qui d'après la littérature est de 0,91g/L[201].




Par ailleurs, les masses totales pour chacune des manipulations sont choisies de manière à avoir une masse suffisante pour observer le phénomène d'adsorption et en utilisant un minimum de produit. Pour les manipulations 4 et 5, la masse totale est plus importante afin de s'adapter à la précision de la pipette automatique (prélèvement entre 1 et 5 mL).

Le mélange s'effectue délicatement à l'aide d'un pilon et d'un mortier

➤ **RESULTATS**

Les résultats de ces manipulations sont les suivants (Tableau 12) :

Tableau 12 : Résultats des manipulations pour la détermination du taux d'adsorption optimale d'huile sur le phosphate dicalcique

Manipulations	1	2	3	4	5
% phosphate dicalcique	50	70	80	90	95
Résultats et observations	Surplus d'huile de sésame : 2 phases distinctes	Surplus d'huile de sésame : 2 phases distinctes	Adsorption incomplète : film huileux sur les parois	Adsorption moyenne	Adsorption optimale
Photos					

➤ **CONCLUSION DE LA MANIPULATION**

L'adsorption optimale correspond à une adsorption complète de l'huile sur le support solide, où le solide, où le mélange reste sec. D'après les résultats présentés dans le

Tableautableau précédent, le mélange idéal est celui **contenant 5 % d'huile de sésame et 95 % de phosphate dicalcique**.

2. Détermination de la formulation (quantitative) pour une gélule

➤ **DETERMINATION DE LA MASSE VOLUMIQUE DU MELANGE HUILE DE SESAME + PHOSPHATE DICALCIQUE POUR UN MELANGE A 95 % EN PHOSPHATE DICALCIQUE**

Afin de déterminer la masse volumique, une quantité du mélange est pesée précisément dans une éprouvette graduée et son volume est relevé après tassement, via un appareil de tassement (500 coups). Le tableau 13 présente les grandeurs nécessaires au calcul de la masse volumique du mélange.

Tableau 13 : Détermination de la masse volumique du mélange

MELANGE A 95%	Après tassement
Masse (g)	4,242
Volume (mL)	475
Masse volumique (g/mL)	$= \frac{\text{masse}}{\text{volume}} = \frac{4,242}{475} = 0,89$

➤ DETERMINATION DE LA MASSE VOLUMIQUE DE L'AMIDON DE MAÏS

De la même manière que précédemment, le tableau Erreur ! Source du renvoi introuvable. 14 présente les grandeurs nécessaires au calcul de la masse volumique du mélange.

Tableau 14 : Détermination de la masse volumique de l'amidon de maïs

AMIDON DE MAÏS	Après tassement
MASSE (G)	3,04
Volume (mL)	5,5
Masse volumique (g/mL)	$= \frac{\text{masse}}{\text{volume}} = \frac{3,04}{5,5} = 0,552$

➤ MASSE VOLUMIQUE DU STEARATE DE MAGNESIUM = 1,02 g/mL[201]

➤ DETERMINATION DE LA QUANTITE THEORIQUE D'HUILE DE THCV A INCORPORER DANS LE MELANGE POUR UNE GELULE

Le calcul se fait d'après les données suivantes :

- Pureté de l'huile de THCV : 80%
- Mélange à 5% en phase huileuse et 95% en phosphate dicalcique
- Dose de 5 mg de THCV par gélule

Calcul de la proportion de THCV dans le mélange final $5\% \times 80\% = 4\%$

Calcul de la quantité de mélange à incorporer par la gélule avec une dose de 5mg de principe actif :

100 mg de mélange → 4 mg de THCV

$$x \rightarrow 5 \text{ mgTHCV/gélule}$$

$$\text{Avec } x = \frac{5 \times 100}{4} = 125 \text{ mg}$$

La quantité de mélange à introduire par gélule est 125 mg ce qui correspond à un volume de **0,1404mL** (voir calcul ci-contre) :

$$\begin{aligned} \text{volume du mélange par gélule} &= \frac{\text{masse à introduire par gélule}}{\text{masse volumique du mélange}} = \frac{0,125}{0,89} \\ &= \mathbf{0,1404mL} \end{aligned}$$

➤ **DETERMINATION DE LA QUANTITE DE STEARATE DE MAGNESIUM POUR UNE GELULE**

Le stéarate de magnésium est utilisé ici comme lubrifiant. La quantité à ajouter est de 1 à 2% du volume total. Le volume total correspond au volume de la gélule utilisé, soit pour une gélule de taille 2 : 0,37mL.

Calcul du volume de stéarate de Mg par gélule :

$$\text{du volume d'une gélule} = 0,37 \times 2\% = \mathbf{0,0074mL}$$

Calcul de la masse de stéarate de Mg correspondante:

$$\begin{aligned} \text{masse de stéarate de Mg à introduire} \\ &= \text{volume de stéarate de Mg} \times \text{stéarate de Mg} \\ 0,0074 \times 1,02 &= \mathbf{7,25mg} \end{aligned}$$

➤ **DETERMINATION DE LA QUANTITE D'AMIDON DE MAÏS POUR UNE GELULE**

La quantité en amidon de maïs correspond à la quantité suffisante pour (qsp) compléter la gélule à un volume de 0,37mL.

Calcul de la quantité d'amidon de maïs QSP pour une gélule n°2 :

$$\begin{aligned} \text{Volume d'amidon de maïs} &= \\ \text{volume total de la gélule} &- (\text{volume de stéarate de Mg} + \\ \text{volume du mélange phase huileuse/DCP}) & \end{aligned}$$

$$0,37 - (0,0074 + 0,1404) = \mathbf{0,222mL}$$

Soit une masse de :

$$\begin{aligned} \text{Masse d'amidon de maïs} &= \text{de l'amidon de maïs} \times \text{Volume d'amidon de maïs} \\ 1,02 \times 0,222 &= \mathbf{226,6mg} \end{aligned}$$

3. Masses de chaque excipients pour la fabrication de 300 gélules

Le nombre de gélules a été choisi de manière à avoir une quantité de poudre significative pour assurer un bon mélange (supérieur à 100 g), en remplissant deux plaques

de gélules soit 300 gélules (géluleuse manuelle) et en tenant compte également des pertes de matières durant le process (qui correspondent en général à 10% soit 330 gélules). Le tableau 15 récapitule la masse des excipients pour une gélule et pour 330 gélules.

Tableau 15 : masse en excipients pour une et pour 330 gélules

PRODUITS	QUANTITE POUR 1 GELULE (mg)	QUANTITE POUR 330 GELULES (g)
Phosphate dicalcique + huile	125	41,25
- Phosphate dicalcique	118,75	39,02
- Huile de sésame	6,25	2,06
Stéarate de magnésium	7,25	2,39
Amidon de maïs	226,6	74,78

4. Mélange des excipients

Chacune des quantités décrites dans le tableau 15 sont pesées et incorporées successivement dans un flacon. Le mélange est ensuite placé au mélangeur Turbula pendant 10 minutes.

5. Remplissage des gélules

Les gélules ont été remplies avec une géluleuse manuelle.

c) Résultats : Tests[202]

1. Aptitude au tassement

Le test du tassement permet d'observer si le mélange a une densité suffisante pour assurer un bon écoulement par gravité de la poudre, indispensable au remplissage des gélules. Pendant le tassement, sous l'action des vibrations, les particules de poudre sont séparées les unes des autres pendant un temps très court et, dès lors, peuvent se déplacer et s'arranger en donnant une densité apparente plus élevée[203].

Pour cela un volume de poudre de 130 mL est placé dans une éprouvette graduée de 500 mL et 500 tassements sont appliqués à cette éprouvette. Le volume après tassement relevé est de 114mL.

Calcul du rapport des densités apparentes : $\frac{\text{Volume avant tassement}}{\text{Volume après tassement}} = 1,14$

Pour évaluer les bonnes propriétés d'écoulement d'une poudre, le rapport des densités apparentes doit être proche de 1. Si c'est le cas, cela signifie que la poudre est suffisamment dense pour assurer l'écoulement par gravité.

Dans le cas de l'expérimentation 1, ce rapport est de 1,14 soit relativement proche de 1, le test du tassement est donc validé.

2. Test d'écoulement

L'aptitude à l'écoulement d'une poudre aura un impact considérable sur l'homogénéité et la variabilité qualitative et quantitative du contenu des gélules lors du remplissage[203]. Pour vérifier cette aptitude une certaine quantité de poudre est placée dans un entonnoir en verre normalisé Pharmacopée Européenne, le but est d'observer si 100 g de poudre s'écoule en 10 secondes. Voici le résultat du test (Figure 30).



Figure 30 : Test d'aptitude à l'écoulement pour la formulation de l'expérimentation 1

Le mélange de poudres reste bloqué au niveau supérieur de l'entonnoir et ne s'écoule pas.

Afin de pallier à cela, nous avons décidé de refaire une formulation en ajoutant 1% de silice colloïdale (lubrifiant) pour améliorer l'écoulement. Seule la quantité en amidon de maïs (qsp) sera modifiée.

Calcul du volume de silice colloïdale par gélule :

$$1\% \text{ du volume d'une gélule} = 0,37 \times 1\% = 0,0037 \text{ mL}$$

Calcul de la masse de silice colloïdale correspondante :

$$\begin{aligned} & \text{de silice colloïdale à introduire} \\ & = \text{volume de silice colloïdale} \times \text{silice colloïdale} \\ & = 0,0037 \times 1,75 = 6,465 \text{ mg} \end{aligned}$$

➤ **DETERMINATION DE LA QUANTITE D'AMIDON DE MAÏS AVEC AJOUT DE 1% DE SILICE COLLOÏDALE**

Calcul de la quantité d'amidon de maïs QSP gélule n°2 :

d'amidon de maïs =
volume total de la gélule – (volume de stéarate de Mg +
volume du mélange phase huileuse/DCP + volume de silice colloïdale)

$$0,37 - (0,0074 + 0,1404 + 0,0037) = 0,219\text{mL}$$

Soit une masse de :

Masse d'amidon de maïs = de l'amidon de maïs × Volume d'amidon de maïs

$$1,02 \times 0,222 = 222,9\text{mg}$$

Le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**6 récapitule la masse des excipients après ajout de silice colloïdale pour une gélule et pour 330 gélules.

Tableau 16 : Masse des excipients pour 330 gélules après ajout de silice colloïdale

PRODUITS	QUANTITE POUR 1 GELULE (mg)	QUANTITE POUR 330 GELULES (g)
Phosphate dicalcique + huile	125	41,25
- Phosphate dicalcique	118,75	39,02
- Huile de sésame	6,25	2,06
Stéarate de magnésium	7,25	2,39
Silice colloïdale	6,47	2,14
Amidon de maïs	226,6	74,78

L'ajout de lubrifiant n'a entraîné aucune modification sur l'écoulement, la poudre reste bloquée au niveau supérieur de l'entonnoir.

d) Conclusion de l'expérimentation 1

Cette expérimentation est un échec, en effet le test d'écoulement a révélé que le mélange de poudres obtenu ne s'écoulait pas malgré l'ajout de lubrifiant. Ceci est un problème conséquent car le remplissage par gravité (utilisé dans notre cas) n'est tout simplement pas faisable si la poudre ne s'écoule pas. Le problème vient certainement de l'amidon de maïs qui est trop hygroscopique et ne possède pas de bonnes propriétés

d'écoulement (cet excipient est plutôt à utiliser dans la compression en tant que désintégrant ou encore comme liant).

2)Expérimentation 2 : sans amidon maïs

a) Matériels et méthodes

Tableau 17 : Tableau récapitulatif des produits utilisés lors de l'expérimentation 2

Substance	Nom commercial	N°Lot	DLC	Fournisseur
Talc		6980		Coopération pharmaceutique française
Phosphate dicalcique	Dicalcium phosphate dihydraté	91026		IMCD
Huile de sésame		34-57	13/08/2015	EMB 49293A pour Auchan

1. Protocole expérimental

Afin de pallier au problème rencontré avec l'amidon de maïs utilisé comme diluant dans l'expérimentation 1, celui-ci a été remplacé par du phosphate dicalcique. Dans cette formulation le phosphate dicalcique jouera à la fois le rôle de support solide pour l'adsorption de l'huile ainsi que de diluant permettant de compléter la gélule.

De manière à optimiser la formulation, le stéarate de magnésium a été remplacé par du talc qui possède de meilleures aptitudes à l'écoulement. De plus, la dissolution d'une poudre contenant du phosphate dicalcique comme diluant sera nettement supérieure avec du talc qu'avec du stéarate de magnésium[204].

2. Détermination de la formulation (Quantitative) pour une gélule

➤ DETERMINATION DE LA QUANTITE THEORIQUE D'HUILE DE THCV A INCORPORER DANS LE MELANGE POUR UNE GELULE

La quantité pour ce mélange est calculé de la même manière que pour l'expérimentation 1 soit pour une gélule : **125mg** de mélange ce qui correspond à un volume de **0,1404mL**.

➤ DETERMINATION DE LA QUANTITE DE TALC

La quantité de lubrifiant dans un mélange est de 1 à 2% soit :

Calcul du volume de Talc par gélule :

$$2\% \text{ du volume d'une gélule} = 0,37 \times 2\% = 0,0074\text{mL}$$

Calcul de la masse de Talc correspondante :

$$\begin{aligned} \text{de Talc à introduire} &= \text{volume de Talc} \times \text{Talc} \\ &= 0,0074 \times 2,7 = \mathbf{19,98mg} \end{aligned}$$

➤ **DETERMINATION DE LA QUANTITE DE PHOSPHATE DICALCIQUE**

La quantité en phosphate dicalcique (diluant) correspond à la quantité suffisante pour compléter la gélule à un volume de 0,37ml.

Calcul de la quantité de phosphate dicalcique QSP pour une gélule n°2 :

$$\begin{aligned} \text{de phosphate dicalcique} &= \\ &\text{Volume total de la gélule} - (\text{Volume de talc} + \text{Volume du mélange phase huileuse / DCP}) \end{aligned}$$

$$0,37 - (0,0074 + 0,1404) = \mathbf{0,222mL}$$

Soit une masse de :

$$\begin{aligned} \text{Masse de phosphate dicalcique} &= \text{Volume de phosphate dicalcique} \times \text{du phosphate dicalcique} \\ 0,222 \times 2,328 &= \mathbf{516,8mg} \end{aligned}$$

3. Masses de chaque excipients pour la fabrication de 300 gélules

Le nombre de gélules est le même que pour l'expérimentation 1 pour les mêmes raisons. Le tableau 18 récapitule la masse des excipients pour une gélule et pour 330 gélules.

Tableau 18 : Masses des excipients pour une gélule et 330 gélules

PRODUITS	QUANTITE POUR 1 GELULE (mg)	QUANTITE POUR 330 GELULES (g)
Phosphate dicalcique + huile	125	41,25
- Phosphate dicalcique	118,75	39,19
- Huile de sésame	6,25	2,06
Talc	19,98	6,59
Phosphate dicalcique	516,8	170,55

4. Mélange des excipients

Chacune des quantités décrites sont pesées et incorporées successivement dans un flacon. Le mélange est ensuite placé au mélangeur Turbula pendant 10 minutes

5. Remplissage des gélules

Les gélules sont remplies avec une géluleuse manuelle.

b) Résultats : tests[202]

1. Aptitude au tassement

Un volume de poudre de 130mL est placé dans une éprouvette graduée de 500mL et 500 tassements sont appliqués à cette éprouvette. Le volume après tassement relevé est de 114mL.

Calcul du rapport des densités apparentes : = 1,08

Dans le cas de l'expérimentation 2, ce rapport est de 1,08 soit relativement proche de 1, le test du tassement est donc validé.

2. Test écoulement

Le mélange de poudres placé dans l'entonnoir s'écoule parfaitement, la totalité est retrouvée dans le récipient récepteur en 10 secondes.



Figure 31 : Test d'aptitude à l'écoulement pour la formulation deux

c) Conclusion

La formulation réalisée lors de l'expérimentation 2 a montré des résultats concluants notamment au cours du test d'écoulement. Bien que ce test ne soit pas le seul, il n'en reste pas moins l'un des plus importants à l'échelle du développement galénique et nous permet de conclure que cette formulation répond aux attentes pharmacotechniques. Cependant, les volumes produits et les équipements utilisés à l'échelle industrielle seront différents et bien que cette formulation présage une faisabilité industrielle, seules des étapes de transposition permettront de valider la formulation.

Par ailleurs, il sera nécessaire d'approfondir les tests sur cette formulation notamment sur la stabilité, la comptabilité entre les différents excipients et l'huile de THCV, ainsi que l'interaction gélule/poudre (bien que les gélules actuellement commercialisées soient en HPMC, substance inerte).

Du fait que cette expérimentation se soit déroulée avec succès, la fabrication des gélules contenant un mélange semi-solide n'a pas été expérimentée.

E) Contrôles pharmaceutiques[202]

1) Dosage du principe actif[205]

Afin de doser notre substance active, nous utilisons la chromatographie en phase gazeuse, couplée à une détection par spectromètre de masse. Cette méthode de référence pour le dosage des cannabinoïdes utilise des étalons internes deutérés. Elle permet une identification formelle avec une excellente sensibilité puisque la limite de détection est de 0,4 ng/mL pour le Δ^9 -THC et de 0,2 ng/mL pour le Δ^9 -THC-COOH, un métabolite du Δ^9 -THC.

Cette méthode adaptée pour le dosage des cannabinoïdes et plus particulièrement pour celui du Δ^9 -THC semble être appropriée pour le dosage de la THCV étant donnée leur structure chimique similaire.

2) Contrôles sur la poudre

a) Forme et distribution granulométrique

La forme et la distribution granulométrique des excipients doivent être sensiblement les mêmes que celles du principe actif pour que leur mélange ait des bonnes propriétés pharmacotechniques (homogénéité, écoulement).

Il existe plusieurs techniques d'analyse granulométrique qui dépendent de la taille de l'échantillon de poudre à analyser. Par exemple, la méthode de calibration par tamis vibrant est adaptée pour une taille « supérieure à » alors qu'une observation par microscopie optique est plutôt utilisée pour des tailles « comprises entre » 0,2 et 200 μm .

La forme particulière, également observable par microscopie optique est aussi à prendre en considération pour avoir de bonnes propriétés pharmacotechniques pour notre mélange.

➤ ANALYSE GRANULOMETRIQUE

Le but de ce contrôle est d'avoir une distribution granulométrique des excipients proche de celle du principe actif pour éviter les problèmes de ségrégation et d'homogénéité lors de l'opération de mélange.

Le remplissage des gélules ne posera pas de problèmes avec des excipients dont la granulométrie est proche de celle du principe actif. Si ce n'est pas le cas, des problèmes d'homogénéité apparaîtront. Solution : granulation sauf si le principe actif est sensible à l'humidité et aux températures de séchage.

Différentes techniques existent, selon la taille des particules moyennes, elles sont présentées dans le tableau Tableau 19 :

Tableau 19 : Les techniques d'analyse granulométrique

	TECHNIQUES	TAILLE DES PARTICULES	DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE
METHODES DIRECTES	Tamisage	> 50 µm	Répartition d'une masse connue de poudre à travers une colonne à tamis de taille de mailles décroissante et soumis à des vibrations Chaque fraction est ensuite pesée pour déterminer la fraction granulométrique
	Microscopie	Microscopie optique : 0,2 à 200 µm	Observation de l'individualité des particules mesurées et de leur forme Si les particules ne sont pas trop cohésives entre elles, l'observation se fait directement à sec (sinon désagglomération en phase liquide)
Microscopie électronique à balayage : > 0,001 µm			
METHODES INDIRECTES	Compteur électrique de particules	0,1 à 1000 µm	Mesure du nombre et du volume des particules par Compteur Coulter : après avoir mis l'échantillon en suspension dans une solution d'électrolytes, l'appareil mesure la variation de résistance des particules placées dans un champ électrique
	Diffraction laser	Voie sèche : 0,2 à 2000 µm	Distribution granulométrique déduite de l'interaction (absorption, diffusion, transmission, diffraction) entre les particules de l'échantillon et un rayonnement laser incident Application de la théorie de Mie pour obtenir la taille des particules exprimée en taille de sphère équivalente
		Voie humide : 0,02 à 2000 µm	
Sédimentation	Gravitation : 100µm	Centrifugation : 5 à 10µm	Mesure de la vitesse de chute des particules de l'échantillon dans un liquide de densité faible, sous l'influence d'un champ gravitationnel ou centrifuge, permettant de déterminer le rayons de celles-ci par application de la loi de Stockes

Tableau 20 : Propriétés des poudres selon leur taille granulométrique

TAILLE DES PARTICULES	PROPRIETES	SOLUTION
< 20 µm	Très mauvaises propriétés pharmaceutiques : écoulement, homogénéité de remplissage, adhésion, friction	Granulation
2 à 50 µm	Adhésion aux parois métalliques Si >20% : problèmes d'écoulement et d'homogénéité	Ajout d'agent lubrifiant : stéarate de Mg, stéaryfulmarate de Na Ajout de régulateurs d'écoulement : talc, silice colloïdale
100 à 150 µm	Taille optimale pour le remplissage des gélules (bonne homogénéité et bon écoulement)	
> 150 µm	Excellentes propriétés d'écoulement Problème d'homogénéité	

➤ **FORME PARTICULAIRE:**

La forme des particules est une caractéristique majeure à prendre en considération pour le mélange et le remplissage de poudres dans les gélules. Des principes actifs sous formes d'aiguille, de bâtonnet et des particules qui auront des tailles inférieures à 20 µm poseront des problèmes d'homogénéité et de remplissage. Il est alors important de prendre également en compte le choix de la forme des excipients.

b) Aptitude à l'écoulement

L'aptitude de la poudre à s'écouler de façon satisfaisante correspond à une certaine maniabilité de celle-ci pour garantir un écoulement régulier dans les trémies et les gélules, sans démixtion ni ségrégation.

Les 4 techniques décrites par la Pharmacopée Européenne peuvent être utilisées consécutivement et sont les suivantes :

- Mesures angulaires,
- Ecoulement à travers un orifice (utilisation d'un entonnoir normalisé),
- Evolution de la masse volumique apparente,
- Résistance au cisaillement.

c) Aptitude au tassement

La mesure de la densité apparente d'une poudre après tassement dans des conditions standardisées permet de vérifier si les particules auront tendance à se distribuer de façon favorable lors du remplissage des gélules.

Une des techniques utilisée est la détermination du rapport des densités apparentes avant et après tassement. Il est possible également de procéder à la mesure de la cohésivité des poudres et de la traction d'une couche de poudre.

3) Contrôles sur les gélules

Afin de réaliser ces essais, nous nous référons aux données de la Pharmacopée européenne.

a) Contrôles en cours de production

1. Essai de l'uniformité de masse

Il est important de contrôler l'uniformité de masse au cours de la production et de se référer à une carte de contrôle pour accepter ou rejeter le lot et pour effectuer des réglages ou non sur la machine.

D'après la Pharmacopée européenne, la masse moyenne est calculée sur la pesée individuelle de 20 gélules prélevées au hasard. L'écart-type entre moyenne théorique et moyenne expérimentale ne doit pas dépasser un certain pourcentage. Par exemple, pour une masse théorique supérieure à 300 mg :

$$| \text{masse théorique} - \text{masse expérimentale} | < 7,5\% \text{ de la masse théorique}$$

Par ailleurs, la masse expérimentale de maximum 2 gélules peut dépasser ce pourcentage, mais sans dépasser le double de celui-ci.

2. Aspect de la gélule

La couleur du corps et de la coiffe des gélules doit être conforme au dossier d'AMM. Il faut également contrôler l'intégrité des gélules (pas de déformations) et leur propreté (elles ne doivent pas être recouvertes de poudre).

b) Contrôles sur le produit fini

1. Essai de l'uniformité de masse

Ce test consiste à peser individuellement 20 gélules prises au hasard et à déterminer leur masse moyenne.

Le mode opératoire est le suivant : peser la gélule pleine, puis sans perdre de fragments de l'enveloppe, vider le contenu et peser l'enveloppe. La masse du contenu est calculée par différence.

L'essai est conforme à la Pharmacopée si :

- le contenu a une masse inférieure à 300 mg : la masse de contenu ne s'écarte pas plus de 10% de la masse moyenne. Sauf que deux contenus peuvent s'écarter de cette limite mais au plus deux ne peuvent dépasser le double de cette limite.
- Le contenu à une masse supérieure à 300 mg : la variation passera à 7,5% au lieu de 10%. Notre contenu ayant une masse théorique de 661,78 mg, nous utiliserons ces références).

Tableau 21 : Critères d'acceptation pour l'uniformité de masse des gélules selon la Pharmacopée européenne

FORME PHARMACEUTIQUE	MASSE MOYENNE	ÉCARTS LIMITES EN % DE LA MASSE MOYENNE
Capsules, granulés non enrobés et poudres (en unités de prise)	< 300 mg	± 10
	≥ 300 mg	± 7,5

2. Uniformité de teneur

D'après la Pharmacopée européenne, ce test est appliqué uniquement pour des gélules contenant moins de 2 mg de principe actif ou dont la teneur est inférieure à 2% du mélange. Notre principe actif est à 5 mg donc supérieur à 2 mg.

L'expérience consiste à prélever au hasard 10 gélules et de les doser individuellement à l'aide d'une méthode analytique appropriée.

La moyenne expérimentale des teneurs doit être comprise entre 85 et 115% de la teneur théorique et au maximum une gélule doit avoir sa teneur comprise entre 75 et 125% de la teneur théorique.

L'essai n'est pas satisfait si la teneur de plus de 3 gélules est en dehors de l'intervalle [85%-115%] ou si une gélule dépasse l'intervalle [75%-125%] de la teneur théorique.

Dans le cas où la teneur individuelle de 2 ou 3 gélules est en dehors de l'intervalle [85%-115%] et comprise dans l'intervalle [75%-125%], il faut alors effectuer un prélèvement supplémentaire au hasard de 20 gélules. L'essai est satisfait si les teneurs individuelles d'au maximum de 3 gélules sur les 30 se situent en dehors de l'intervalle [85%-115%] et sont comprises dans l'intervalle [75%-125%] de la teneur théorique.

3. Aspect

Ce contrôle est le même que celui décrit dans les contrôles en cours de fabrication.

4. Essai de désagrégation ou de délitement

➤ PRINCIPE

Ce test consiste à déterminer l'aptitude des gélules à se désagréger dans un temps prescrit et dans un milieu de composition donnée. D'après la Pharmacopée, le temps de désagrégation pour une gélule doit s'effectuer dans de l'eau à 37°C et ce temps doit être inférieur à 30 minutes.

Nous utilisons des gélules de taille 2 qui ont une longueur de 18 mm. Selon la Pharmacopée, cela correspond à des gélules de taille normale. Nous réalisons un essai de type A.

➤ APPAREILLAGE ET MODE OPERATOIRE :

L'appareil possède un récipient qui contient de l'eau à 37°C et un autre récipient qui est constitué de 6 tubes en verre à la base duquel il y a des tamis qui permettent aux comprimés ou gélules de rester dans le tube. Pour éviter que les gélules ou comprimés ne flottent, on met des disques. Le tout est mis au bain-marie et soumis des mouvements verticaux de va et vient (se référer au chapitre 2.9.1 de la Pharmacopée européenne pour un descriptif complet de ce test).

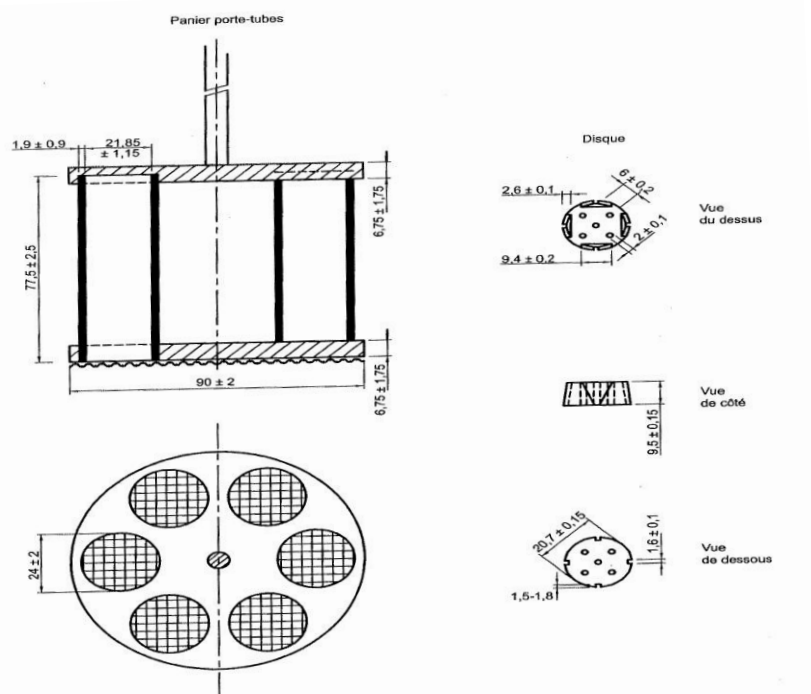


Figure 32 : Appareil de désagrégation de type A

5. Essai de dissolution

➤ PRINCIPE :

Ce test consiste à évaluer la vitesse à laquelle une substance active incorporée dans une forme galénique se dissout dans un milieu déterminé et dans des conditions telles que la quantité dissoute ne modifie pas la dissolution de la quantité à dissoudre.

Pour des bonnes conditions, le volume du milieu de dissolution doit être égal à 3 à 10 fois celui du milieu de saturation. La forme à tester est introduite dans le milieu de dissolution soumis à l'agitation. Cette agitation est de 50 à 75 tours/min pour la palette et 100 tours/min pour le panier; elle doit également permettre l'homogénéisation du milieu sans qu'il y ait abrasion de la forme.

Des prélèvements effectués à intervalles de temps déterminés servent à faire des dosages, qui peuvent aussi se faire en continu. Les résultats des dosages permettent de déterminer la conformité des valeurs caractéristiques.

➤ APPAREILLAGE

Il est constitué :

- D'un réservoir à fond hémisphérique.
- D'un agitateur qui se termine par un panier ou une palette
- Le récipient est recouvert et placé dans un bain-marie à 37°C.

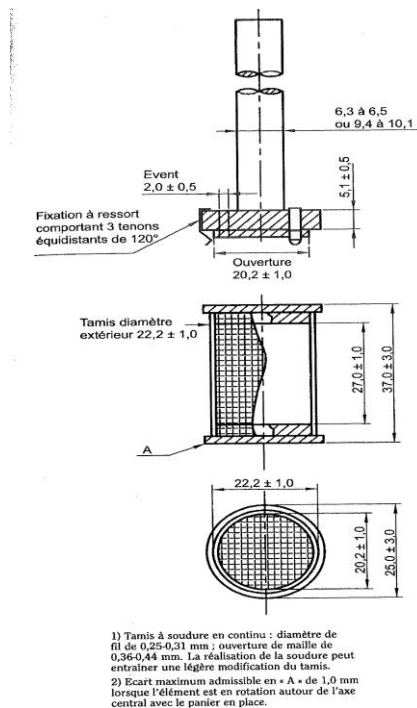
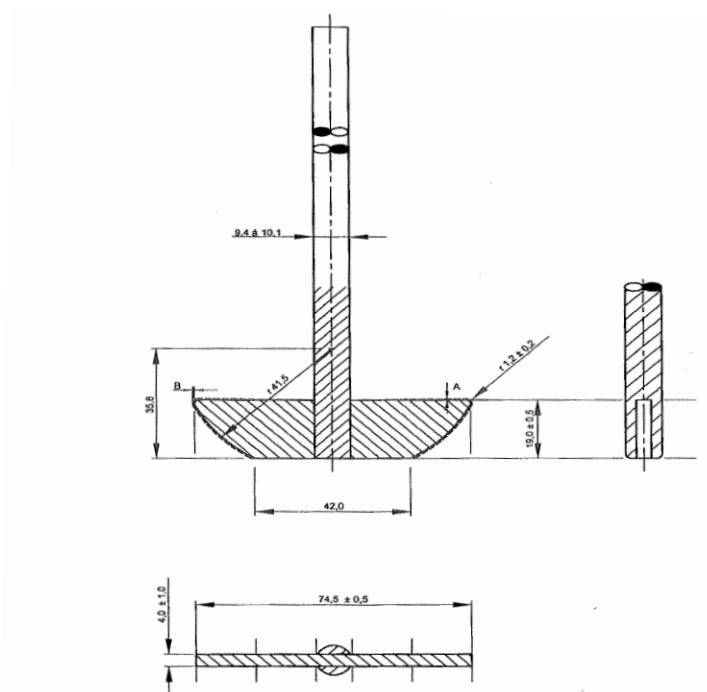


Figure 33: Appareil de dissolution à panier



Les dimensions A et B ne varient pas de plus de 0,5 mm lorsque la palette tourne sur son axe central. Sauf indication contraire, les tolérances sont de $\pm 1,0$ mm.

Figure 34 : Appareil de dissolution à palette

Pour une forme à libération conventionnelle telle que nos gélules, au moins 75% de la substance active doit être dissoute au bout de 45 min.

4) Méthode de nettoyage

Une méthode de nettoyage entre deux lots de production devra être envisagée, cela évitera les contaminations croisées et garantira la qualité du produit final. C'est une étape à ne pas négliger car elle devra être validée par l'assurance qualité et sera contrôlée régulièrement. Les produits utilisés doivent :

- Permettre d'éliminer tout résidu de poudre (aussi bien en termes de principe actif que d'excipients)

- Ne pas coller aux parois des machines (à l'aide d'un écouvillon, la présence de poudre et de produit de nettoyage sera vérifiée, elle doit être nulle une fois le nettoyage terminé par un rinçage à l'eau distillée)

- Être, de préférence et dans la limite du possible par rapport aux produits à nettoyer, respectueux de l'environnement.

F) Contre-indications

- Parkinstop est contre-indiqué en cas d'allergie connue à l'un des composés.

- Etant donné l'indication de notre médicament, aucune étude ne sera faite chez les enfants et les femmes enceintes. Ces populations seront donc exclues du champ thérapeutique.

- Patients anorexiques ou maigres (IMC < 18,5)[206]

- Insuffisants rénaux et hépatiques sévères.

G) Effets indésirables

- De part son profil antagoniste CB₁, une diminution de l'appétit se fera sentir chez les patients.

- Au cours de nos essais, il faudra surveiller attentivement l'apparition de troubles dépressifs suicidaires. L'Acomplia®, médicament contenant un antagoniste sélectif CB₁ a vu son AMM retirée pour ces raisons[207]–[209].

- Courants (en référence à l'Acomplia®)[206], [210] : dépression, vertiges, nausées, troubles du sommeil et des rêves, troubles sensoriels, musculaires et cutanés.

H) Interactions médicamenteuses[200]

De nombreux rapports ont été faits concernant les interactions médicamenteuses impliquant les cannabinoïdes. Ces interactions sont présentées ci-dessous (Tableau 22) :

Tableau 22 : Interactions médicamenteuses impliquant les cannabinoïdes

MEDICAMENT PRIS EN ASSOCIATION	EFFETS CLINIQUES
Amphétamines, cocaïne, autres agents sympathomimétiques	Hypertension exacerbée, tachycardie, possible cardiotoxicité
Atropine, scopolamine, antihistaminiques, autres agents anticholinergiques	Tachycardie augmentée ou très augmentée, somnolence
Amitriptyline, amoxapine, désipramine, autres antidépresseurs tricycliques	Tachycardie augmentée, hypertension, somnolence
Barbituriques, benzodiazépines, éthanol, lithium, opioïdes, buspirone, antihistaminiques, myorelaxants, autres dépresseurs du SNC	Somnolence accentuée et dépression du SNC
Disulfirame	Réaction hypomaniaque réversible rapportée chez un homme de 28 ans qui fumait de la marijuana
Fluoxétine	Femme de 21 ans souffrant de dépression et de boulimie recevant 20 mg par jour de fluoxétine pendant 4 mois devenue hypomaniaque après avoir fumé de la marijuana. Disparition des symptômes après 4 jours
Antipyrine, barbituriques	Baisse de la clairance de ces molécules, probablement via l'inhibition compétitive du métabolisme
Théophylline	Augmentation du métabolisme de la théophylline rapportée en association avec une consommation de marijuana

I) Discussion

Même si la forme galénique choisie semble totalement adaptée à notre médicament, un autre choix aurait été possible. En effet, nous aurions pu envisager la formulation de comprimés sécables. Cette forme galénique répond également à tous les critères que nous avons établis au préalable. De plus, dans le but de faire une transposition à l'échelle industrielle c'est une forme moins onéreuse et plus facile à manipuler que des gélules. Cependant, cela aurait nécessité l'établissement d'une nouvelle formule galénique, malgré le fait que nos gélules soient viables.

Concernant le principe actif utilisé, il aurait été possible d'utiliser une association de cannabinoïdes (avec du CBD par exemple) au lieu de la THCV seule. Beaucoup d'études ont montré qu'une association de molécules entraîne une meilleure efficacité thérapeutique. De plus, le CBD permet d'atténuer les effets psychoactifs des cannabinoïdes. Nous avons fait le choix d'utiliser de la THCV seule et à dose faible car une étude clinique portant sur la maladie de Parkinson et mettant en jeu une association de THCV et de CBD n'a montré aucun effet positif sur les patients. Cette inefficacité thérapeutique pourrait être due aux effets du CBD ou à une dose de THCV trop faible. Comme nous ne voulions pas augmenter les doses de THCV, nous avons fait le choix de ne pas ajouter de CBD dans nos gélules. Une modification au niveau de notre principe actif pourrait donc être possible en fonction des résultats des essais cliniques.

Partie 4 : toxicité des dérivés du cannabis

I) Quelques données épidémiologiques et réglementaires [211], [212]

A) Etat de la législation sur le cannabis en Europe

Dans tous les pays de l'Union Européenne, selon les conventions internationales, la détention et le trafic de cannabis sont interdits et illégaux. Mais des variations importantes d'un pays à l'autre sont observées. Si l'usage de stupéfiants n'est explicitement autorisé dans aucun pays européen, il n'est pas pour autant interdit par la loi dans tous les pays de l'UE.

De plus, certains pays distinguent le cannabis des autres stupéfiants dans leur régime d'incrimination, tandis que d'autres ne font aucune différence. Cependant, aucun pays de l'UE n'a légalisé le cannabis en tant que produit (en légalisant sa production et sa distribution) et aucun ne le pourrait en l'état des conventions internationales.

Concernant l'usage du cannabis, il constitue :

- une infraction pénale dans 5 pays (France, Grèce, Suède, Finlande, Chypre) : c'est-à-dire que l'utilisateur risque une amende ou une peine d'emprisonnement.
- une infraction administrative dans 7 pays (Portugal, Espagne dans les lieux publics, Luxembourg, Bulgarie, Estonie, Lettonie, Lituanie) : c'est-à-dire que l'utilisateur risque un avertissement, une amende, un retrait de permis ou de passeport.
- n'est pas interdit par la loi dans 15 pays mais la détention de cannabis en petite quantité pour usage personnel constitue une infraction pénale ou administrative : Belgique, Danemark, Pays-Bas, Italie, Allemagne, Autriche, Royaume-Uni, Irlande, Malte, Hongrie, République tchèque, Pologne, Slovaquie, Slovénie et Roumanie (cas particulier où l'usage est prohibé mais aucune peine n'est prévue pour le sanctionner). On peut y ajouter l'Espagne, pour l'usage dans les lieux privés. Ainsi, au Royaume Uni, par exemple, la détention constitue une infraction pénale mais pas l'usage.

Dans 9 pays, la détention de cannabis pour usage personnel n'est pas systématiquement sanctionnée. Ce qui revient à une « dépenalisation de fait ». De plus, la notion de « petite quantité » autorisée pour un usage personnel est très variable. Par exemple, les seuils tolérés pour la détention de résine dans le cadre d'un usage personnel sont de :

- 3 grammes en Belgique
- 5 grammes au Portugal
- De 6 à 15 grammes en Allemagne
- 25 grammes en Espagne

Les différentes législations sont résumées ci-dessous (Figure 35).

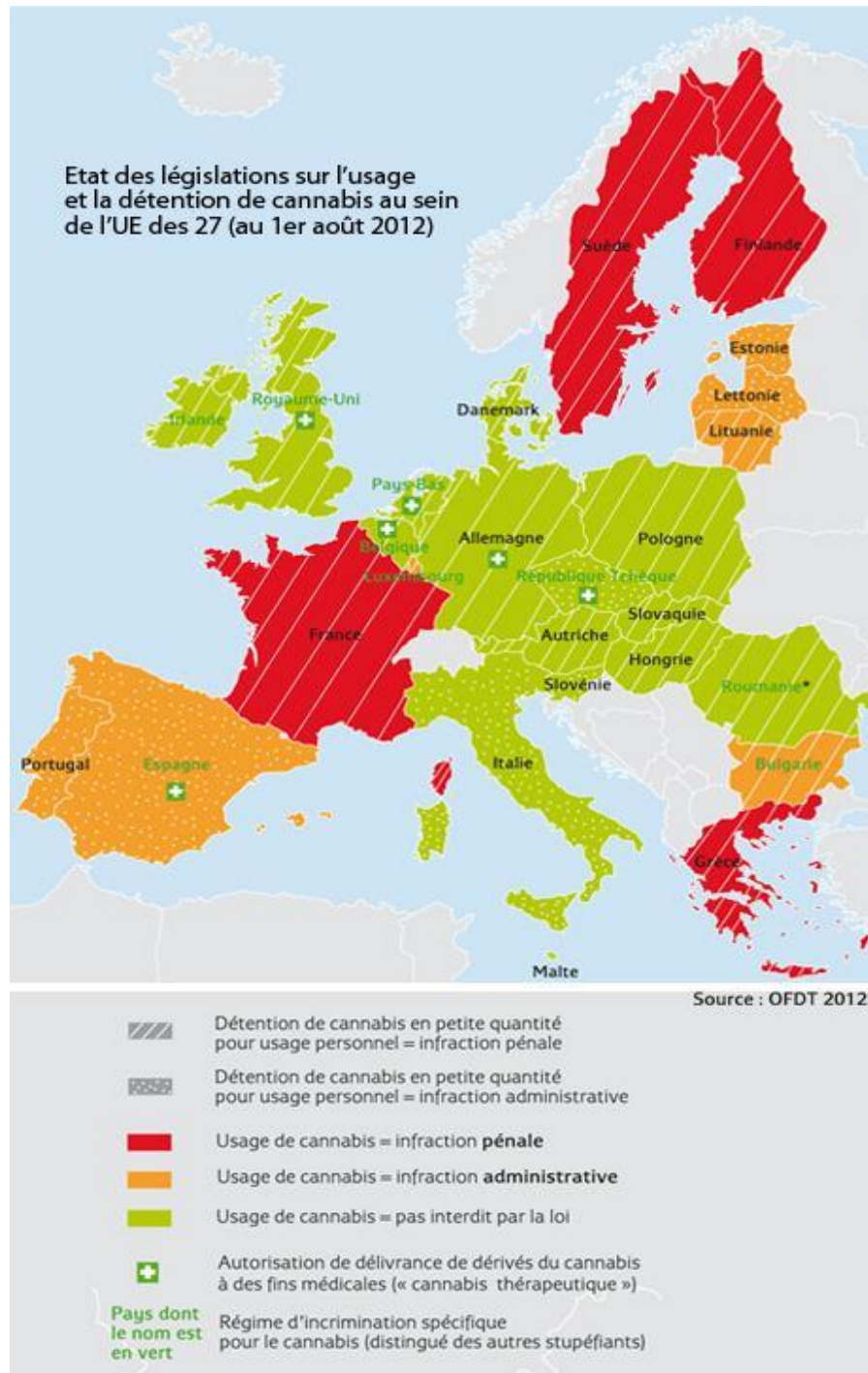


Figure 35 : La position des pays européens concernant la consommation du cannabis au 1^{er} août 2012 [213]

La France est un des pays les plus répressifs en termes de sanctions sur la détention et l'usage de cannabis, mais c'est aussi un des pays d'Europe où la consommation est la plus importante. A l'inverse dans certains pays un peu moins sévères comme le Portugal, la consommation est beaucoup moins importante. Il n'y a donc pas de lien direct entre les sanctions et la consommation (un renforcement des sanctions n'entraîne pas forcément une baisse de la consommation !)

La législation française sur les stupéfiants (loi du 31 décembre 1970) concerne « le cannabis, la plante et sa résine, les préparations qui en contiennent ou sont obtenues à partir du cannabis, de sa plante ou de sa résine » et, depuis 2009, le « spice ». Le risque encouru est une amende pouvant aller jusqu'à 3750€ et un an d'emprisonnement. Depuis 2007, les usagers de cannabis interpellés pour la première fois sont obligés de suivre un « stage de prévention contre le cannabis » à leur frais. La France étant un des pays les plus consommateurs en Europe, la prohibition actuelle est assez inefficace...

B) La disponibilité du cannabis en France

Le cannabis, qu'il se présente sous la forme d'herbe ou de résine, est un produit très disponible en France, quels que soient les aléas qui peuvent survenir sur certains marchés locaux. Au cours des décennies précédentes, cette substance a eu tendance à se banaliser et son usage concerne désormais les milieux sociaux les plus divers. Une hausse de la disponibilité de l'herbe, due notamment au développement de l'autoculture est observée. Par ailleurs, des associations officieuses à but non lucratif de cultivateurs-consommateurs, surnommées cannabis social clubs, sont de plus en plus visibles. Il s'agit pour ces groupes d'usagers de mutualiser leurs moyens afin de produire leur propre consommation tout en cherchant à peser dans le débat sur le statut du produit. Enfin, certains milieux criminels s'intéresseraient à la production intensive de cannabis, avec le développement du phénomène des cannabis factories, sur le modèle des Pays-Bas et de la Belgique.

Concernant les prix pratiqués, en 2013 le prix médian de l'herbe de cannabis s'établit d'après l'OCRTIS à environ 8,5 € pour une fourchette comprise entre 7 € et 10 € le gramme. Ce prix est en hausse par rapport aux années précédentes (6,5 € en 2009, 7 € en 2010, 7,5 € en 2011 et 8 € en 2012). Cette augmentation du prix de l'herbe s'expliquerait par le fait qu'une fraction croissante des consommateurs privilégie des produits qu'ils perçoivent comme étant de « bonne qualité ». Le prix médian de la résine de cannabis est stable. En 2013, il s'élève à 6 € le gramme.

Face à ces évolutions du marché, et notamment l'appétence des usagers pour l'herbe jugée de meilleure qualité, les trafiquants de résine de cannabis tendent à s'adapter en proposant des résines plus dosées. L'augmentation des teneurs moyennes en THC observée depuis les

années 2000 se confirme en 2013. Le taux de THC des résines s'accroît encore, passant de 16 % en 2012 à 17,4 % en 2013 ; il a doublé en 10 ans. Cela est dû essentiellement à l'augmentation de la circulation de résines fortement dosées (> 15 %) et à la baisse concomitante de la circulation des résines faiblement dosées (< 2 %). Le taux maximum de THC relevé dans la résine est de 40 % en 2013 d'après l'INPS.

La teneur en THC dans l'herbe de cannabis est elle aussi en augmentation et passe de 10 % en moyenne en 2012 à 13 % en 2013. L'explication de cette tendance tient également dans l'augmentation des herbes fortement dosées (> 15 %).

C) La consommation de cannabis en France

En 2005, parmi les fumeurs de cannabis au cours de l'année, à 17 ans, les garçons sont plus nombreux que les filles à déclarer « généralement » l'acheter (49,9 % contre 33,3 %) ou le cultiver (12,4 % contre 4,5 %). Ces dernières sont en revanche plus nombreuses à se le faire offrir (77,2 % contre 60,4 %). Ces réponses ne sont pas exclusives : un consommateur peut en effet alterner entre ces modes d'approvisionnement, suivant les opportunités. Néanmoins, les parts d'autoculture et d'achat croissent avec la fréquence d'usage, tandis que celle du don diminue.

En population adulte, en 2010, le nombre de personnes ayant consommé du cannabis dans l'année et déclarant se l'être procuré uniquement par le biais de l'autoculture on estime à 80 000. Les données de 2005, pas directement comparables avec celles de 2010, estimaient à 200 000 le nombre de personnes se procurant occasionnellement du cannabis par le biais de la cannabiculture.



Figure 36 : Estimation du nombre de consommateurs de cannabis en France métropolitaine parmi les 11-75 ans en 2014 [214]

Parmi les 49 millions de personnes incluses dans l'enquête de l'OFDT, 17 millions ont déjà consommé du cannabis au moins une fois dans leur vie, 4,6 millions en ont consommé dans l'année et 1,4 millions consomment du cannabis au moins 10 fois dans le mois. 700 000 personnes déclarent en consommer quotidiennement.

D) Zoom sur la consommation des mineurs

Parmi les jeunes collégiens, Le cannabis est la première substance illicite consommée. Son expérimentation progresse rapidement entre 11 et 15 ans. En 2010, l'expérimentation du cannabis concerne un collégien sur dix. De marginale en classe de sixième (1,5 %), l'initiation au cannabis concerne pratiquement un adolescent sur quatre en troisième.

En 2014, 47,8 % des jeunes de 17 ans déclarent avoir fumé du cannabis au cours de leur vie (41,5 % en 2011). Plus d'un sur quatre (25,5 % - 21,9 % des filles et 29,1 % des garçons) déclare avoir consommé du cannabis au cours du dernier mois, ces consommations ayant principalement lieu le week-end. Un examen plus précis chez les 17 ans fait apparaître une augmentation du niveau d'expérimentation chez les garçons et les filles entre 2011 et 2014. Cette recrudescence du cannabis est consécutive à une décennie de baisse de la consommation observée à partir de 2003. Les niveaux d'expérimentation (47,8%) de

consommation mensuelle (25,5%) et de consommation régulière (9,2%) se rapprochent des pics de 2003 respectivement : 50,3%, 30,7% et 10,6%.

E) La consommation de cannabis chez les adultes

Dans la population adulte, le cannabis est de loin la substance illicite la plus consommée en France. Parmi les 18-64 ans, 42 % l'ont déjà expérimenté (50 % parmi les hommes et 33 % parmi les femmes) et 11 % déclarent en avoir consommé au cours de l'année 2014 (15 % parmi les hommes, 7 % parmi les femmes) (Figure 37). La proportion d'utilisateurs au cours du mois atteint 6 %, ces usages étant principalement le fait des plus jeunes générations : 17 % des 18-25 ans ont fumé du cannabis au cours du dernier mois, 8 % en sont usagers réguliers et 4 % quotidiens. Après avoir presque doublé au cours des années 1990, les usages de cannabis au cours de l'année ou au cours du mois se sont stabilisés depuis 2000. Depuis 2011, les indicateurs de consommation de cannabis repartent à la hausse (Figure 38).

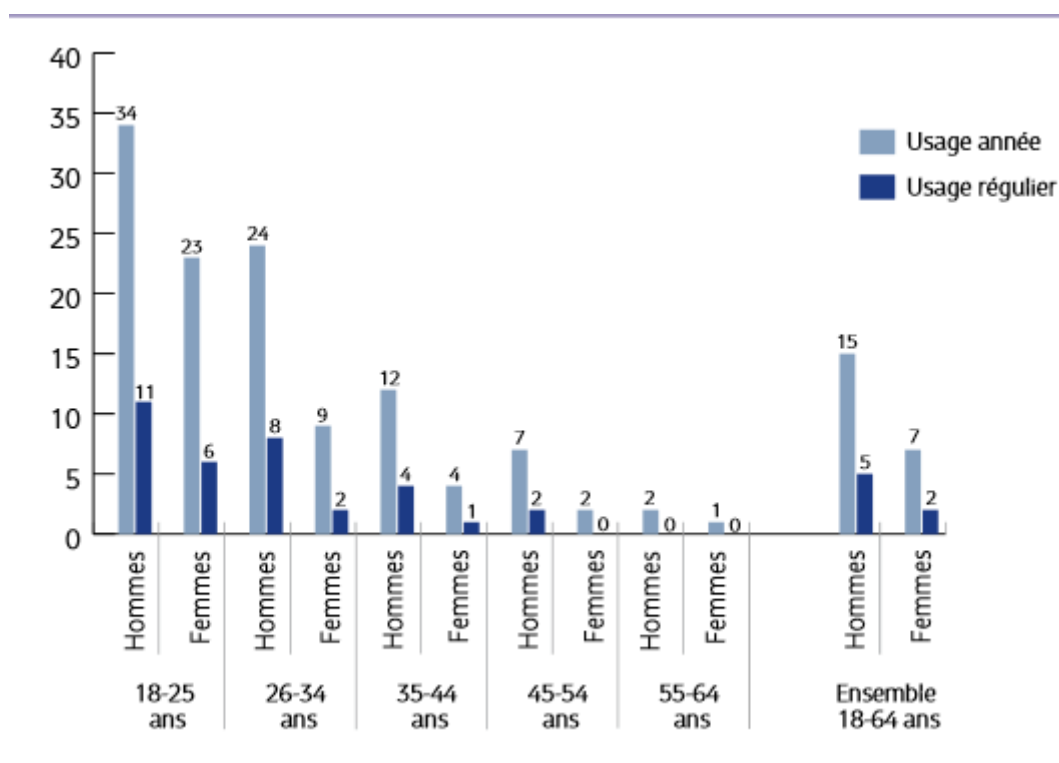


Figure 37 : Proportion de consommateurs de cannabis au cours de l'année et réguliers, suivant le sexe et l'âge en 2014 (en %) [215]

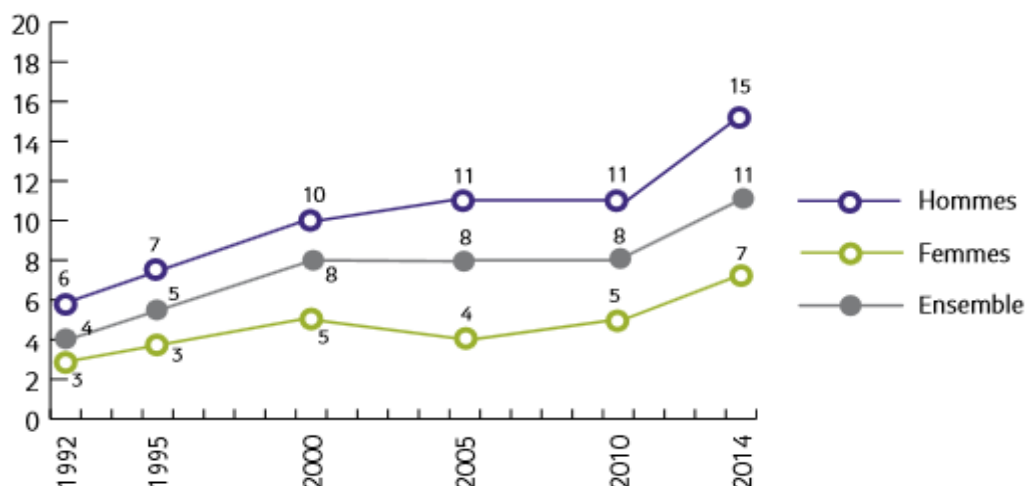


Figure 38 : Évolution entre 1992 et 2014 de la proportion des consommateurs de cannabis au cours de l'année, parmi les 18-64 ans, par sexe (en %) [215]

La proportion d'individus ayant expérimenté le cannabis s'avère maximale entre 26 et 34 ans pour les deux sexes, manifestant avant tout un phénomène générationnel. La consommation actuelle de cannabis concerne surtout les plus jeunes (28 % pour les 18-25 ans, 34 % des hommes et 23 % des femmes). Elle diminue ensuite avec l'âge pour n'atteindre plus que 2 % des 55-64 ans. Respectivement 11 % et 6 % des hommes et des femmes de 18-25 ans sont des usagers réguliers de cannabis.

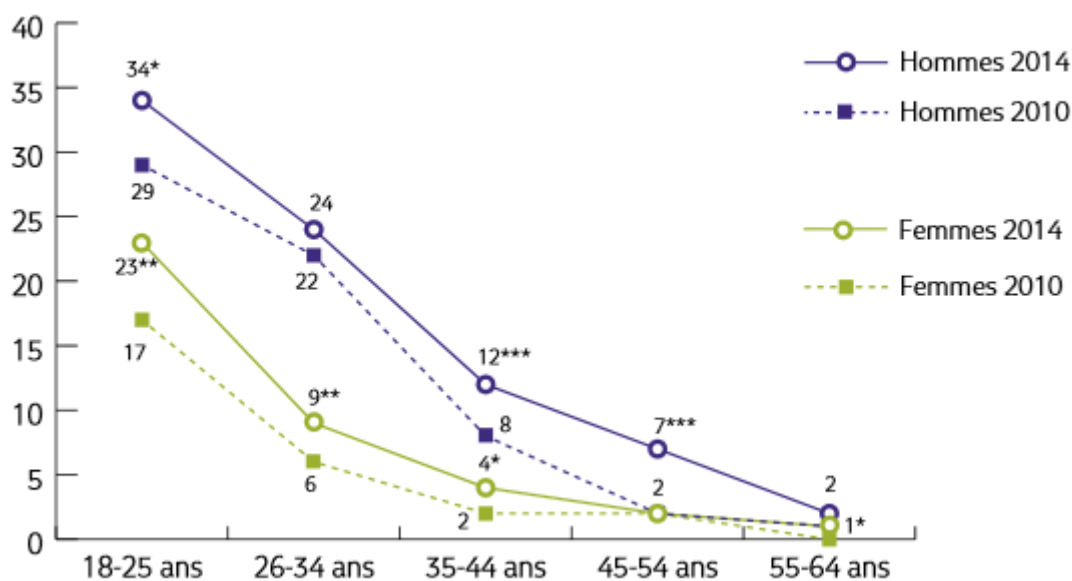


Figure 39 : Usage de cannabis dans l'année entre 2010 et 2014 selon l'âge et le sexe (en %). [215]

Sur l'ensemble des 18-64 ans, l'expérimentation de cannabis est passée de 33 % à 42 % entre 2010 et 2014, prolongeant la tendance observée depuis les années 1990, mais de

manière plus marquée. Cette hausse est principalement portée par un effet de stock, mais l'usage actuel (année) a également augmenté de façon notable, passant de 8 % à 11 %, tout comme les usages réguliers (de 2,2 % à 3,1 %), ceci étant observé pour toutes les tranches d'âge (Figure 39).

Cette hausse s'inscrit dans un contexte de net accroissement de l'offre de cannabis en France, et notamment de l'autoculture et de la production locale d'herbe, avec plus de 140 000 pieds de cannabis saisis en 2013, contre 55 000 en 2010. En parallèle, le marché de la résine demeure très dynamique avec un niveau de saisies important.

II) Les effets à court terme d'une consommation de cannabis [211], [212]

Lorsqu'ils vont fumer « un joint », les consommateurs vont rechercher un état de détente, de bien-être et une modification des perceptions. Cependant, les effets recherchés ne sont pas toujours obtenus et vont dépendre de plusieurs facteurs. En effet, en fonction de l'individu, du produit utilisé (forme et quantité) et du contexte d'utilisation, il existe une grande variabilité.

Les effets apparaissent très rapidement si le cannabis est utilisé par inhalation (quelques minutes), avec un effet maximal en 30 minutes et une durée d'action de 2 à 4 heures. Par ingestion, le début d'action est plus lent, les effets mettront une à deux heures à être perçus.

Une étude menée en 2009 sur 880 étudiants d'une moyenne d'âge de 20 ans portait sur les effets ressentis suite aux premières prises de cannabis :

- 71 % se sont sentis plus détendus
- 53% ont ressenti un effet euphorique
- 35% des troubles de la coordination
- 26% des effets psychotiques comprenant des hallucinations visuelles, auditives et des sentiments de persécutions et de méfiance.
- 25% des difficultés à s'exprimer
- 24% ont eu des troubles de la mémoire
- 16% ont eu des effets planants
- 12% ont ressenti un anxiété/tristesse

Une consommation peut aussi entraîner une intoxication aigüe appelée aussi « ivresse cannabique » ou « bad trip ». Elle s'accompagne d'effets centraux et périphériques.

Effets centraux :

- Euphasie : Sensation de bien-être et de satisfaction
- Détente, relaxation
- Loquacité
- Gaieté allant jusqu'à l'hilarité
- Insouciance
- Sociabilité
- Augmentation de la confiance en soi
- Altération de la perception du temps, de l'espace et de l'image de soi
- Accentuation des perceptions sensorielles
- Troubles mnésiques, de l'attention et de la concentration
- Réduction de la capacité à accomplir des tâches complexes
- Troubles de l'équilibre et de la coordination des mouvements (conduite automobile affectée)
- Augmentation de l'appétit (surtout pour les aliments sucrés)

Ces effets sont variables d'une personne à l'autre. En effet, si certaines ressentent rapidement une euphorie, certaines vont tomber dans un état de sédation voire de léthargie. Des troubles thymiques tels que l'anxiété peuvent survenir. Dans la majorité des cas cependant on retrouve une sensation d'apaisement, d'euphorie et de bien être. Dans quelques cas, des attaques de panique peuvent avoir lieu. Dans de rares cas, le cannabis peut entraîner une décompensation psychotique aiguë, de survenue brutale, caractérisée par l'apparition d'épisodes délirants associés à des hallucinations visuelles et des troubles du comportement. C'est la pharmacopsychose ou de psychose cannabique aiguë. Le trouble est résolutif en 8 jours (jusqu'à 3 mois pour certains). Cependant, le risque est la récurrence ou l'évolution vers un trouble psychotique chronique.

Effets périphériques :

- Tachycardie
- Bronchodilatation
- Hyperhémie conjonctivale = yeux rouges, injectés de sang
- Sécheresse buccale

La toxicité aiguë du cannabis est très faible. La dose létale estimée est de 20 000 à 40 000 fois le niveau d'une dose normale, ce qui serait équivalent à une administration de 681 kilogrammes de cannabis en 15 minutes. C'est pour cela que le cannabis est souvent qualifié de « drogue douce » à l'inverse des drogues « dures » comme l'héroïne ou la cocaïne pour lesquelles le risque de surdosage est mortel. Avec le cannabis, il n'y a pas de conséquences somatiques engageant le pronostic vital et les cas de décès sont extrêmement rares.

III) Les effets à long terme [211], [212]

En général, les premières bouffées de cannabis sont prises dans un contexte festif et souvent en groupe. La plupart des jeunes se cantonnent à ce type d'usage. Cependant, pour certains le cannabis va devenir nécessaire car par ses effets relaxant et hypnotiques il permet de rendre plus supportables certains problèmes (familiaux, scolaires). C'est à ce moment là que l'individu entre dans une consommation problématique de cannabis car elle est quotidienne. Certains effets de cette consommation chronique sont loin d'être anodins voir même nocifs. En effet, les consommateurs s'exposent à de nombreux risques pour la santé :

- Cancers
- Pathologies su système respiratoire et cardiovasculaire
- Certaines maladies mentales.

F) Les complications somatiques

Après le tabac, le cannabis est la substance la plus fumée dans le monde. Tout comme les cigarettes faites avec du tabac, les joints contiennent un grand nombre de composés toxiques. Un joint contiendrait quatre à six fois plus de produits toxiques qu'une cigarette. Le cannabis fumé induit donc des altérations des voies aériennes, tout comme le tabac, avec lequel il est d'ailleurs souvent associé. Le tableau clinique est le même que chez les fumeurs de tabac : enrrouement persistant, toux, essoufflement, expectorations, BPCO ; les risques respiratoires étant amplifiés dans certaines conditions d'inhalation (pipe à eau, « douilles »).

Les complications cardiovasculaires sont plutôt liées au THC. Des études montrent que ce dernier a un effet vasoconstricteur et oxydatif (à l'origine de lésions endothéliales des vaisseaux). Il entraîne également une baisse du débit cardiaque et a un effet arythmogène. Apparaissent également de l'hypotension orthostatique et un lien possible avec les artérites des sujets jeunes (le cannabis serait au moins un facteur favorisant).

Les complications oro-digestives ne sont pas à sous-estimer. L'usage régulier de cannabis peut entraîner une hypertrophie gingivale, une uvulite (inflammation de la luette) et une stomatite nicotinique. La consommation quotidienne de cannabis peut aussi provoquer le syndrome d'hyperémèse cannabique, c'est-à-dire l'apparition d'épisodes de vomissements, nausées et douleurs abdominales.

Au niveau cutanéomuqueux la principale complication est l'apparition fréquente et répétée de conjonctivite. Il semblerait également que le cannabis soit impliqué dans les réactions allergiques comme l'asthme, l'urticaire, le prurit généralisé.

La consommation chronique de cannabis a aussi un impact métabolique. Une étude a montré le lien avec le développement d'adiposité viscérale et d'une résistance à l'insuline.

Au niveau gynéco-obstétrical, il existe de nombreuses complications. Chez la femme, l'usage chronique de cannabis entraîne :

- Perturbation des cycles menstruels
- Anomalies de l'ovogénèse
- Anomalies d'implantation et de développement de l'embryon
- Grossesse : risque de retard de croissance fœtale et troubles neurocognitifs dans l'enfance.

Chez l'homme, il est observé :

- Réduction du nombre et de la motilité des spermatozoïdes
- Troubles sexuels : diminution de la libido, troubles de l'érection, troubles de l'éjaculation.

Pour ce qui est des cancers, il faut savoir que les cannabinoïdes ne sont pas des substances cancérigènes. Le problème vient de la fumée issue de la combustion du cannabis, souvent associé au tabac, qui contient de nombreux composés toxiques type benzène, goudrons, nitrosamines..., qui sont des cancérigènes connus. L'inspiration de la fumée avec le cannabis est plus profonde qu'avec le tabac. Associé à l'effet bronchodilatateur du THC, la rétention des goudrons dans les poumons est favorisée. Fumer régulièrement des joints, tout comme fumer régulièrement des cigarettes, provoque donc des cancers des voies respiratoires et naso-pharyngée. De plus, L'association du tabac et du cannabis entraîne des cancers du poumon plus précoces que le tabac seul.

En conclusion, les risques immédiats, sur le plan somatique, de la consommation de cannabis ne sont pas flagrants. En revanche, la consommation chronique est à l'origine de nombreux problèmes de santé. Il est difficile de faire prendre conscience de ces risques aux jeunes, les dangers étant plutôt sur le long terme, ils ne s'en préoccupent pas.

Tableau 23 : Tableau récapitulatif des complications somatiques liées à une consommation chronique de cannabis [216]

Complications cardiovasculaires	Infarctus du myocarde Arythmie cardiaque Hypotension orthostatique Artériopathies
Complications respiratoires	Fonctions bronchiques Asthme BPCO Pharynx, cordes vocales
Complications oro-digestives	Hypertrophie gingivales Uvulite et stomatite Hyperémèse cannabique
Complications métaboliques	Adiposité viscérale Résistance à l'insuline
Complications cutané-muqueuses	Conjonctivites Réactions allergiques
Complications oncologiques	Naso-pharynx Poumon
Complications gynéco-obstétricales	Fonctions sexuelles Grossesse Croissance fœtale

G) Les troubles cognitifs et complications psychiatriques

5) Influence sur la mémoire

Une consommation régulière de cannabis, même sur une courte période, entrainerait des perturbations de la mémoire immédiate. Ces troubles peuvent persister même après des semaines d'abstinence. En effet, des études ont montré qu'il existe une altération des capacités mnésiques à distance de l'usage de cannabis.

Plusieurs facteurs sont mis en jeu : La précocité de la consommation (surtout avant 15 ans), la durée de consommation, l'âge à l'arrêt et la durée de l'abstinence. Cependant, il n'est pas exclu que les effets cognitifs à long terme chez le consommateur régulier de cannabis soient transitoires. Cela dépendrait de différents facteurs de vulnérabilité.

6) Influence du cannabis sur la motivation

Chez le consommateur régulier, une baisse de la motivation ou « syndrome amotivationnel » se définissant comme un désinvestissement existentiel est observé. La personne exprimant ce syndrome aura une diminution globale des activités, une asthénie psychique et physique, une indifférence, un manque d'intérêt pour les activités professionnelles ou scolaires. De plus, la personne se replie sur elle-même avec un risque de marginalisation et de déscolarisation. La vie familiale et sociale est très réduite.

L'apparition de ce syndrome peut être due au recentrage des préoccupations du consommateur sur l'obtention et la consommation du produit, ce qui peut aussi accentuer l'isolement social.

7) Cannabis et schizophrénie

Le cannabis est susceptible, chez les sujets prédisposés, de révéler ou d'aggraver les manifestations de cette maladie mentale grave. Il est estimé que 8 à 10% de la population est « vulnérable », soit environ 6 millions de personnes ayant un risque théorique de devenir schizophrène.

La schizophrénie est une maladie multifactorielle. Le cannabis ne peut donc être incriminé en tant que seul responsable. Le risque de schizophrénie semble plus important si la consommation de cannabis a débuté dans l'adolescence et quand cette consommation est massive. De plus, chez le consommateur, le risque relatif de développer une schizophrénie serait multiplié par quatre.

Il s'agit d'un facteur causal (ni nécessaire, ni suffisant). Il ne faut pas confondre avec la bouffée délirante aigue (ou psychose cannabique), avec hallucinations et idées délirantes, dont le pronostic est meilleur. Mais le diagnostic différentiel lors d'épisodes inauguraux est difficile.

H) Les risques au volant [217]

L'enquête « Stupéfiants et accidents mortels de la circulation routière » coordonnée par l'OFDT et publiée en décembre 2005 a démontré que conduire après avoir fumé du cannabis représente un danger mortel. Ainsi, 230 personnes, dont la moitié à moins de 25 ans, meurent chaque année sur les routes à cause du cannabis. Cette étude montre aussi que sur plus de 10 000 accidents mortels, 7% des conducteurs avaient consommés du cannabis et 21% avaient un taux d'alcoolémie supérieur au taux autorisé. L'association alcool + cannabis

est fréquente : 40% des conducteurs détectés positifs au cannabis étaient aussi alcoolisés. Selon les estimations, le risque d'accident mortel de la route est multiplié par 1,5 sous l'emprise de cannabis, 8,5 sous l'emprise de l'alcool et par 15 quand les deux sont associés!

Au volant, le cannabis engendre des comportements dangereux dus à de mauvais réflexes, des difficultés à contrôler sa trajectoire, ainsi qu'une mauvaise coordination des mouvements et un rallongement du temps de réaction. Ces effets durent de 2 à 10 h après la consommation. Le cannabis modifie également les perceptions : les distances et la profondeur de champ sont faussées. Le conducteur sous emprise de cannabis fonctionne au ralenti. Il prend alors plus de temps à analyser une situation et à prendre une décision, cela implique donc une diminution des réflexes, un freinage tardif, une perte de vigilance et d'attention. Il est dès lors en difficulté pour maîtriser son véhicule et contrôler sa trajectoire.

Le risque d'accident est particulièrement important chez les jeunes de moins de 25 ans. En effet, dans cette population, la consommation en soirée et en week-end est importante. Pendant ces périodes nocturnes, trois accidents mortels sur quatre sont provoqués par des jeunes et deux sur quatre sous l'emprise de l'alcool et du cannabis.

Au niveau réglementaire, la loi de février 2003 punit de deux ans d'emprisonnement et de 4500 € d'amende les personnes ayant conduit sous l'emprise de substances classées comme stupéfiants. S'il y a association avec de l'alcool (0,5 g/L) la peine peut aller jusqu'à 3 ans d'emprisonnement et 9000 € d'amende.

Les policiers ou les gendarmes ont le droit de réaliser un test de dépistage d'usage de cannabis. Ce test est systématiquement réalisé en cas d'accident mortel (de même que pour l'alcool). Le premier test est salivaire ou urinaire, et en cas de test positif le résultat est confirmé par un test sanguin. Les tests sanguins sont très fiables mais ne permettent de détecter le THC que dans les 6 à 24 h après la consommation. Le test urinaire permet de détecter des consommations plus anciennes : 3 à 5 jours pour un fumeur occasionnel, 30 à 70 jours pour un consommateur régulier. Les forces de l'ordre utilisent sur le terrain depuis 2008 des tests salivaires. Cependant ces tests ne sont pas encore fiables à 100%. Ils sont censés pouvoir détecter du THC jusqu'à 3 jours après la consommation.

I) Tolérance et dépendance au cannabis

La tolérance se définit comme la nécessité d'augmenter la dose d'un médicament pour obtenir un effet quantitativement aussi important qu'avec une dose initiale définie. En d'autres termes il faut augmenter de plus en plus les doses pour essayer d'avoir toujours le même effet. Deux hypothèses expliquent ce mécanisme :

- L'organisme développe des mécanismes de détoxification permettant d'éliminer plus rapidement la substance, ce qui entraîne une augmentation de la fréquence de consommation.
- Les récepteurs à la drogue deviennent moins sensibles ce qui oblige le consommateur à augmenter les doses pour les stimuler suffisamment.

Pour ce qui est de la consommation de cannabis, le développement d'une tolérance a longtemps été discuté. Aujourd'hui il est admis qu'elle existe bien, mais qu'elle est faible.

La dépendance à une drogue se définit par l'apparition d'un syndrome de sevrage (= de manque) à l'arrêt de la consommation de la drogue. Il faut distinguer :

- la dépendance physique qui se traduit par l'apparition de troubles somatiques (ex : crampes musculaires, tremblements, bouffées de chaleur, sueurs, troubles gastro-intestinaux...).
- la dépendance psychique qui se traduit par l'apparition de troubles type anxiété, angoisse, irritabilité, insomnie.

Les critères de la dépendance sont variables selon la classification utilisée. Selon le DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders), une personne dépendante à une substance présente trois ou plus des critères suivants :

1. Tolérance manifestée par le besoin d'accroître les doses consommées pour obtenir une intoxication ou un effet désiré ou par une diminution des effets à dose consommée constante,
2. Symptômes de sevrage à la suite d'une période d'abstinence, évités ou améliorés par une nouvelle prise de la substance,
3. Prise de la substance en plus grande quantité ou pendant plus longtemps que prévu,
4. Désir persistant ou efforts infructueux pour diminuer ou contrôler la consommation,
5. Beaucoup de temps passé à utiliser ou à se procurer la substance,
6. Abandon ou réduction de ses activités sociales, professionnelles ou de loisir à cause de l'usage de la substance,
7. Utilisation de la substance malgré la connaissance des risques pour la santé.

La dépendance au cannabis a longtemps été discutée. A l'heure actuelle elle est bel et bien reconnue et concerne 5 à 10% des consommateurs selon les études. La dépendance au cannabis se définit par :

- l'apparition d'une tolérance
- l'apparition de signes de sevrage à l'arrêt de la consommation
- l'impossibilité de s'abstenir de consommer
- l'apparition de dommages importants (physiques, psychiques, sur la vie sociale, professionnelle et familiale)

Les signes de sevrage au cannabis sont une irritabilité, des nausées, des troubles du sommeil, des sueurs et une perte d'appétit. Leur fréquence d'apparition serait liée à la durée d'exposition.

Du fait que les phénomènes de tolérance et de dépendance liés au cannabis soient faibles, il est considéré comme une « drogue douce », contrairement à l'héroïne qui entraîne une très forte dépendance. Cependant, cela ne fait pas du cannabis une drogue inoffensive. En effet, comme nous avons pu le voir précédemment, ses effets néfastes sur la santé sont nombreux !

Conclusion

Les cannabinoïdes constituent un groupe riche et complexe de molécules. Même si beaucoup d'inconnues persistent encore, les récentes découvertes permettent petit à petit de percer les secrets de cette famille de composés. En effet, il est prouvé maintenant que outre les récepteurs CB₁ et CB₂ classiques, il existe par exemple le récepteur GPR55 ou le GPR119 possédant leurs ligands spécifiques et déclenchant des voies de signalisation particulières. De plus, grâce aux avancées scientifiques, on connaît de mieux en mieux le système cannabinoïde et les rôles des récepteurs CB₁ et CB₂ sont de mieux en mieux connus.

Ainsi, le cannabis a pu révéler des propriétés thérapeutiques intéressantes dans plusieurs pathologies pour lesquelles l'arsenal thérapeutique reste restreint tels que les nausées et vomissements chimio-induits ou la prise de poids chez les patients cancéreux ou atteints du VIH. Au cours des dernières années, les recherches ont permis également de découvrir le rôle des dérivés du cannabis dans le traitement des douleurs spastiques dues à la sclérose en plaque, dans certaines formes rares d'épilepsie infantile, ou encore dans la maladie de Parkinson. Cependant, ces molécules présentent deux problèmes majeurs. Tout d'abord, ce sont les effets indésirables de type psychoactifs difficilement dissociables des effets thérapeutiques. Le second problème est le coût élevé du développement de médicaments à base de dérivés du cannabis.

En France, il est indéniable que nous avons un retard conséquent en matière de cannabis thérapeutique par rapport au reste du monde. Même si le décret du 13 juin 2013 rend possible la délivrance d'une AMM à des médicaments contenant du cannabis ou ses dérivés, le Sativex® qui aurait dû être commercialisé en France au premier semestre 2015 ne l'est toujours pas car les négociations concernant son prix ont échoué.

Me concernant, je pense qu'il faut absolument distinguer l'usage thérapeutique de l'usage récréatif du cannabis. Le pharmacien d'officine, doit ici jouer pleinement son rôle de professionnel de santé et mettre en garde sur les différents dangers d'une consommation de cannabis. Cela est d'autant plus important que le cannabis de part ses phénomènes de tolérance et dépendance faibles est considéré comme une drogue douce. De plus, il est extrêmement banalisé dans notre société et très consommé chez les jeunes. Cependant, il est possible d'utiliser une drogue à fin thérapeutique sans dépénaliser son usage récréatif. C'est déjà le cas pour la morphine qui est prescrite comme analgésique. Ainsi, si le cannabis peut un jour traiter des formes rares d'épilepsie infantile, certains cancers ou encore la maladie de Parkinson, pourquoi se priverait-on de cette opportunité ?

Références

- [1] R. Anton, D. Frohne, H. J. Pfänder, et M. Bernard, *Plantes à risques un ouvrage destiné aux pharmaciens, aux médecins, toxicologues et biologistes*. Paris; Cachan: Éd. Tec & doc : Lavoisier ; Éd. médicales internationales, 2009.
- [2] E. Streel, *Cannabis: approches thérapeutiques contemporaines*. Bruxelles: De Boeck, 2008.
- [3] F. Grotenhermen, *Cannabis en médecine un guide pratique des applications médicales du cannabis et du THC*. Sélestat: Ed. Indica, 2009.
- [4] Devane, W. A., et al, « Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor », p. 18;258(5090):1946-9, 18-déc-1992.
- [5] Académie des sciences (France), *Aspects moléculaires, cellulaires et physiologiques des effets du cannabis*. Paris: Lavoisier Tec & doc, 1997.
- [6] « Tiziana Bisogno, Alessia Ligresti, Vincenzo Di Marzo, The endocannabinoid signalling system Biochemical aspects, Pharmacology, Biochemistry and Behavior 81 (2055) 224-238 ».
- [7] Waldemar Gonsiorek et al, « Endocannabinoid 2-Arachidonoyl Glycerol Is a Full Agonist through Human Type 2 Cannabinoid Receptor: Antagonism by Anandamide », *Mol. Pharmacol.*, vol. 57, n° 5, p. 1045-1050, mai 2000.
- [8] Stephen V Mahler, Kyle Smith, Kent C Berridge, « Endocannabinoid Hedonic Hotspot for Sensory Pleasure: Anandamide in Nucleus Accumbens Shell Enhances Liking of a Sweet Reward », *Neuropsychopharmacology*, p. 2267-2278, 2007.
- [9] Daniele Piomelli, « THC: moderation during implantation », *Nature Medicine*, vol. 10, p. 19-20, 2004.
- [10] Mona R, Anthony H Taylor, Justin C KONJE, « The relationship between plasma levels of the endocannabinoid, anandamide, sex steroids, and gonadotrophins during the menstrual cycle », *Fertility and Sterility*, p. 1989-1996, avr-2010.
- [11] L. De Petrocellis, D. Melck, A. Palmisano, T. Bisogno, C. Laezza, M. Bifulco, et V. Di Marzo, « The endogenous cannabinoid anandamide inhibits human breast cancer cell proliferation », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 95, n° 14, p. 8375-8380, 1998.
- [12] « 2-Arachidonoylglycerol - Wikipedia, the free encyclopedia ». [En ligne]. Disponible sur: <https://en.wikipedia.org/wiki/2-Arachidonoylglycerol>. [Consulté le: 27-nov-2015].

- [13] Mechoulam et al, « Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors », *Biochem Pharmacol*, p. 83-90, 29-juin-2015.
- [14] T. Sugiura, N. Yoshinaga, et K. Waku, « Rapid generation of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand, in rat brain after decapitation », *Neurosci. Lett.*, vol. 297, n° 3, p. 175–178, 2001.
- [15] Evgueni V Berdyshev, Patricia C Schmid, Randy J Krebsbach, Harald H O Schmid, « Activation of PAF receptors results in enhanced synthesis of 2-arachidonoylglycerol (2-AG) in immune cells », *The FASEB Journal*, p. 2171-2178, oct-2001.
- [16] Nithipatikom K et al, « 2-arachidonoylglycerol: a novel inhibitor of androgen-independent prostate cancer cell invasion. », *Cancer Res*, p. 8826-30, déc-2004.
- [17] V. Di Marzo, T. Bisogno, L. De Petrocellis, D. Melck, P. Orlando, J. A. Wagner, et G. Kunos, « Biosynthesis and inactivation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in circulating and tumoral macrophages », *Eur. J. Biochem.*, vol. 264, n° 1, p. 258–267, 1999.
- [18] A. Ligresti, E. Morera, M. Van Der Stelt, K. Monory, B. Lutz, G. Ortar, et V. Di Marzo, « Further evidence for the existence of a specific process for the membrane transport of anandamide », *Biochem J*, vol. 380, p. 265–272, 2004.
- [19] M. L. López-Rodríguez, A. Viso, S. Ortega-Gutiérrez, C. J. Fowler, G. Tiger, E. de Lago, J. Fernández-Ruiz, et J. A. Ramos, « Design, synthesis, and biological evaluation of new inhibitors of the endocannabinoid uptake: comparison with effects on fatty acid amidohydrolase », *J. Med. Chem.*, vol. 46, n° 8, p. 1512–1522, 2003.
- [20] De Petrocellis L, Bisogno T, Maccarrone M, Davis JB, « The activity of anandamide at vanilloid VR1 receptors requires facilitated transport across the cell membrane and is limited by intracellular metabolism. », *J Biol Chem.*, p. 12856-63, 20-avr-276apr. J.-C.
- [21] S. M. Huang, T. Bisogno, M. Trevisani, A. Al-Hayani, L. De Petrocellis, F. Fezza, M. Tognetto, T. J. Petros, J. F. Krey, C. J. Chu, et others, « An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 99, n° 12, p. 8400–8405, 2002.
- [22] Ortega-Gutiérrez S, Hawkins EG, Viso A, López-Rodríguez ML, Cravatt BF, « Comparison of anandamide transport in FAAH wild-type and knockout neurons: evidence for contributions by both FAAH and the CB1 receptor to anandamide uptake », *Biochemistry*, p. 8184-90, 29-juin-2004.
- [23] B. S. Basavarajappa, M. Saito, T. B. Cooper, et B. L. Hungund, « Chronic ethanol inhibits the anandamide transport and increases extracellular anandamide levels in cerebellar granule neurons », *Eur. J. Pharmacol.*, p. 73–83, 2003.

- [24] Patricelli MP, Cravatt BF, « Clarifying the catalytic roles of conserved residues in the amidase signature family », *J Biol Chem*, p. 19177-84, 2000.
- [25] Goparaju et al, « Enzymes of porcine brain hydrolyzing 2-arachidonoylglycerol, an endogenous ligand of cannabinoid receptors », *Biochem Pharmacol*, p. 417-23, 1999.
- [26] Gulyas et al, « Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala », *Eur J Neurosci*, p. 441-58, 2004.
- [27] K. R. Kozak et L. J. Marnett, « Oxidative metabolism of endocannabinoids », *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, vol. 66, n° 2, p. 211-220, 2002.
- [28] van der Stelt M, van Kuik JA, Bari M, van Zadelhoff G, Leeflang BR, Veldink GA, Finazzi-Agrò A, Vliegenthart JF, Maccarrone M, « Oxygenated metabolites of anandamide and 2-arachidonoylglycerol: conformational analysis and interaction with cannabinoid receptors, membrane transporter, and fatty acid amide hydrolase », *J Med Chem*, p. 3709-20, 15-août-2002.
- [29] S. J. Craib, H. C. Ellington, R. G. Pertwee, et R. A. Ross, « A possible role of lipoxygenase in the activation of vanilloid receptors by anandamide in the guinea-pig bronchus », *Br. J. Pharmacol.*, vol. 134, n° 1, p. 30-37, 2001.
- [30] Kozak KR et al, « 15-Lipoxygenase metabolism of 2-arachidonoylglycerol. Generation of a peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist », *J Biol Chem*, p. 23278-86, 28-juin-2002.
- [31] R. A. Ross, S. J. Craib, L. A. Stevenson, R. G. Pertwee, A. Henderson, J. Toole, et H. C. Ellington, « Pharmacological characterization of the anandamide cyclooxygenase metabolite: prostaglandin E2 ethanolamide », *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 301, n° 3, p. 900-907, 2002.
- [32] Matias I et al, « Prostaglandin ethanolamides (prostamides): in vitro pharmacology and metabolism », *J Pharmacol Exp Ther*, p. 745-57, mai-2004.
- [33] L. M. Bornheim, K. Y. Kim, B. L. Chen, et M. A. Correia, « The effect of cannabidiol on mouse hepatic microsomal cytochrome P450-dependent anandamide metabolism », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 197, n° 2, p. 740-746, 1993.
- [34] L. M. Bornheim, K. Y. Kim, B. Chen, et M. A. Correia, « Microsomal cytochrome P450-mediated liver and brain anandamide metabolism », *Biochem. Pharmacol.*, vol. 50, n° 5, p. 677-686, 1995.
- [35] Lumir Hanus, « 2-Arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor », *PNAS*, p. 3662-3665.

- [36] Karl W Hilig, Paull G Mahlberg, « A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in Cannabis (Cannabaceae) », *Botany*, p. 101, oct-2014.
- [37] Laine K et al, « Comparison of the enzymatic stability and intraocular pressure effects of 2-arachidonylglycerol and noladin ether, a novel putative endocannabinoid », *Invest Ophthalmol Vis Sci*, p. 3216-22, oct-2002.
- [38] Y Sun, S P H Alexander, A J Bennett, « Cannabinoid activation of PPAR α ; a novel neuroprotective mechanism », *British Journal of Pharmacology*, p. 734-743, nov-2077.
- [39] « N-Arachidonoyl Dopamine • NADA (CAS 199875-69-9) (Inchi key MVVPIAAVGAWJNQ-DOFZRALJSA-N) | Cayman Chemical | Supplier ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/90057>. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [40] « Sherry Shu-Jung HU, Heather B Bradshaw, The biosynthesis of N-arachidonoyl dopamine (NADA), a putative endocannabinoid and endovanilloid, via conjugation of arachidonic acid with dopamine; Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids; 2009; 81; 291-301 ». .
- [41] Sagar DR et al, « TRPV1 and CB(1) receptor-mediated effects of the endovanilloid/endocannabinoid N-arachidonoyl-dopamine on primary afferent fibre and spinal cord neuronal responses in the rat », *Eur J Neurosci*, p. 175-84, Juil-2004.
- [42] S.E. O'Sullivan, D.A. Kendall, M.D. Rand, « Vascular effects of delta 9-tetrahydrocannabinol (THC), anandamide and N -arachidonoyldopamine (NADA) in the rat isolated aorta », n^o 507, p. 211–221, 2005.
- [43] S. Marinelli, V. Di Marzo, F. Florenzano, F. Fezza, M.T. Viscomi, M. van der Stelt, et G. Bernardi, M. Molinari, M. Maccarrone, N.B. Mercuri, « N-Arachidonoyl-dopamine tunes synaptic transmission onto dopaminergic neurons by activating both cannabinoid and vanilloid receptors », n^o 32, p. 298-308, 2007.
- [44] « N-acyl-dopamines: novel synthetic CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo », *Biochem. J*, p. 817-24, nov-2000.
- [45] S.M. Huang, J.M. Walke, « Enhancement of spontaneous and heat-evoked activity in spinal nociceptive neurons by the endovanilloid/endocannabinoid N-arachidonoyldopamine (NADA) », vol. 95, p. 1207-1212, 2006.
- [46] « File:Endocannabinoid Structure - O-Arachidonoyl ethanolamine (Virodhamine or OAE) Type.jpg - Wikimedia Commons ». [En ligne]. Disponible sur: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Endocannabinoid_Structure_-_O-Arachidonoyl_ethanolamine_\(Virodhamine_or_OAE\)_Type.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Endocannabinoid_Structure_-_O-Arachidonoyl_ethanolamine_(Virodhamine_or_OAE)_Type.jpg). [Consulté le: 27-nov-2015].

- [47] Porter AC et al, « Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor », *J Pharmacol Exp Ther*, p. 1020-4, juin-2002.
- [48] E Gkoumassi B G J Dekkers, S A Nelemans, « Virodhamine and CP55,940 modulate cAMP production and IL-8 release in human bronchial epithelial cells », *British Journal of Pharmacology*, p. 1041-1048, août-2007.
- [49] Sharir H et al, « The endocannabinoids anandamide and virodhamine modulate the activity of the candidate cannabinoid receptor GPR55 », *J Neuroimmune Pharmacol*, p. 856-65, déc-2012.
- [50] « File:Lysophosphatidylinositol.svg - Wikimedia Commons ». [En ligne]. Disponible sur: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lysophosphatidylinositol.svg>. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [51] Piñeiro R, Falasca M, « Lysophosphatidylinositol signalling: new wine from an old bottle », *Biochim Biophys Acta*, p. 694-705, avr-2012.
- [52] Gangadharan V, Selvaraj D, Kurejova M, Njoo C, Gritsch S, Škoricová D, Horstmann H, Offermanns S, Brown AJ, Kuner T, Tappe-Theodor A, Kuner R, « A novel biological role for the phospholipid lysophosphatidylinositol in nociceptive sensitization via activation of diverse G-protein signalling pathways in sensory nerves in vivo », *Pain*, p. 2801-12, déc-2013.
- [53] « Phytocannabinoids | countyourculture ». [En ligne]. Disponible sur: <http://countyourculture.com/2010/10/26/phytocannabinoids/>. [Consulté le: 22-sept-2014].
- [54] Y. Gaoni , R. Mechoulam, « Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish », *Journal of the American Chemical Society*, p. 1646-1647, 1964.
- [55] « Science des cannabinoïdes 101 : le cannabinoïde ». [En ligne]. Disponible sur: <http://sensiseeds.com/fr/blog/science-des-cannabinoïdes-101-le-cannabinoïde/>. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [56] « TOXNET ». [En ligne]. Disponible sur: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~zX2I27:1>. [Consulté le: 18-oct-2014].
- [57] « DELTA-8-THC | 5957-75-5 ». [En ligne]. Disponible sur: http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB9481257.htm. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [58] Alline Cristina Campos et al, « Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders », *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, p. 3364-3378, 05-déc-2012.
- [59] « User:Hbarton3/Cannabidiol Effects on Epilepsy - Wikipedia, the free encyclopedia ». [En ligne]. Disponible sur:

https://en.wikipedia.org/wiki/User:Hbarton3/Cannabidiol_Effects_on_Epilepsy. [Consulté le: 27-nov-2015].

[60] E Ryberg et al, « The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor », *Br J Pharmacol*, p. 1092-1101, déc-2007.

[61] Ethan B. Russo, Andrea Burnett, Brian Hall, Keith K. Parker, « Agonistic Properties of Cannabidiol at 5-HT_{1a} Receptors - Springer », *Neurochemical Research*, vol. 30, p. 1037-1043, août-2005.

[62] Markus Kathmann, Karsten Flau, Agnes Redmer, Christian Tränkle, Eberhard Schlicker, « Cannabidiol is an allosteric modulator at mu- and delta-opioid receptors », *Archives of Pharmacology*, 18-févr-2006.

[63] « Is Cannabigerol (CBG) The Ultimate Cannabinoid? - TruthOnPot.com ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.truthonpot.com/2013/08/10/is-cannabigerol-cbg-the-ultimate-cannabinoid/>. [Consulté le: 27-oct-2014].

[64] « File:Cannabigerol.svg - Wikimedia Commons ». [En ligne]. Disponible sur: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cannabigerol.svg>. [Consulté le: 27-nov-2015].

[65] « Cannabigerol (CAS 25654-31-3) | Cayman Chemical | Supplier ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/15293/promo/emolecules>. [Consulté le: 29-oct-2014].

[66] « A Comparison of the Ocular and Central Effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and Cannabigerol », *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, p. 259-269, 18-mars-2009.

[67] Borrelli F, Fasolino I, Romano B, Capasso R, Maiello F, Coppola D, Orlando P, Battista G, Pagano E, Di Marzo V, Izzo AA, « Beneficial effect of the non-psychoactive plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease », *Biochem Pharmacol*, p. 1306-16, mai-2013.

[68] « File:Cannabichromene.svg - Wikimedia Commons ». [En ligne]. Disponible sur: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cannabichromene.svg>. [Consulté le: 27-nov-2015].

[69] Sabatino Maione et al, « Non-psychoactive cannabinoids modulate the descending pathway of antinociception in anaesthetized rats through several mechanisms of action - Maione - 2011 - British Journal of Pharmacology - Wiley Online Library », *British Journal of Pharmacology*, p. 584-596, 12-janv-2011.

- [70] Angelo A Izzo et al, « Inhibitory effect of cannabichromene, a major non-psychotropic cannabinoid extracted from *Cannabis sativa*, on inflammation-induced hypermotility in mice », *Br J Pharmacol*, p. 1444-1460, juin-2012.
- [71] Noriko Shinjyo, Vincenzo Di Marzo, « The effect of cannabichromene on adult neural stem/progenitor cells », *Neurochemistry International*, p. 432-437, nov-2013.
- [72] « Tetrahydrocannabivarin - Wikipedia, the free encyclopedia ». [En ligne]. Disponible sur: <https://en.wikipedia.org/wiki/Tetrahydrocannabivarin>. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [73] Compton DR, et al, « Aminoalkylindole Analogs: Cannabimimetic Activity of a Class of Compounds Structurally Distinct from Δ^9 -Tetrahydrocannabinol », *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, p. 1118-1126, 1992.
- [74] « File:WIN 55,212-2-2D-skeletal.svg - Wikimedia Commons ». [En ligne]. Disponible sur: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:WIN_55,212-2-2D-skeletal.svg. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [75] « WIN-55,212-2 - BML-CR105 - Enzo Life Sciences ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.enzolifesciences.com/BML-CR105/win-55-212-2/>. [Consulté le: 22-déc-2014].
- [76] « JWH-018 – Wikipedia ». [En ligne]. Disponible sur: <https://de.wikipedia.org/wiki/JWH-018>. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [77] « JWH 018 (CAS 209414-07-3) | Cayman Chemical | Supplier ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/10900/promo/emolecules>. [Consulté le: 22-déc-2014].
- [78] Devane, W. A., et al, « A novel probe for the cannabinoid receptor », vol. 35, p. 2065–2069, 1992.
- [79] « File:HU-210 chemical structure.png - Wikimedia Commons ». [En ligne]. Disponible sur: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:HU-210_chemical_structure.png. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [80] R. Adams, M. Harfenist, et S. Loewe, « New Analogs of Tetrahydrocannabinol. XIX », *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 71, n° 5, p. 1624-1628, mai 1949.
- [81] R. K. Razdan, « The Total Synthesis of Cannabinoids », in *Total Synthesis of Natural Products*, vol. 4, J. ApSimon, Éd. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 1981, p. 185-262.
- [82] « Supplier of Dimethylheptylpyran from Vapi,Gujarat,India,ID: 4001813648 ». [En ligne]. Disponible sur: <http://trade.indiamart.com/details.mp?offer=4001813648>. [Consulté le: 27-nov-2015].

- [83] « Everything you need to know about Dimethylheptylpyran | Marijuana Recipes, Pictures and News! » [En ligne]. Disponible sur: <http://marijuana.cc/2013/04/19/everything-you-need-to-know-about-dimethylheptylpyran/>. [Consulté le: 30-déc-2014].
- [84] « CP 55,940 - Wikipedia, the free encyclopedia ». [En ligne]. Disponible sur: https://en.wikipedia.org/wiki/CP_55,940. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [85] « DailyMed - DRONABINOL- dronabinol capsule ». [En ligne]. Disponible sur: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=a0409d82-a61e-4b9e-8717-ced299ccedb2>. [Consulté le: 30-déc-2014].
- [86] Little PJ, et al, « Pharmacology and stereoselectivity of structurally novel cannabinoids in mice », *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, p. 1046–1051, 1988.
- [87] « A Cannabinoid Pharmacopoeia: Levonantradol (Nantrodolum) ». [En ligne]. Disponible sur: <http://cannabinoidpharmacopoeia.blogspot.fr/2011/02/levonantradol-nantrodolum.html>. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [88] Heim ME, Romer W, Queisser W, « Clinical experience with levonantradol hydrochloride in the prevention of cancer chemotherapy-induced nausea and vomiting », *J Clin Pharmacol*, p. 86S-89S, sept-1981.
- [89] Cronin CM, Sallan SE, Gelber R, Lucas VS, Laszlo J, « Antiemetic effect of intramuscular levonantradol in patients receiving anticancer chemotherapy », *J Clin Pharmacol*, p. 43S-50S, sept-1981.
- [90] « Cesamet (Nabilone Capsules) Drug Information: Description, User Reviews, Drug Side Effects, Interactions - Prescribing Information at RxList ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.rxlist.com/cesamet-drug.htm>. [Consulté le: 02-janv-2015].
- [91] « Cannabis et médicaments: CESAMET®, MARINOL®, SATIVEX® « Blog du Growshop Alchimia ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.alchimiaweb.com/blogfr/cannabis-medicaments-cesamet-marinol-sativex/>. [Consulté le: 02-janv-2015].
- [92] « Nabilone - Wikipedia, the free encyclopedia ». [En ligne]. Disponible sur: <https://en.wikipedia.org/wiki/Nabilone>. [Consulté le: 27-nov-2015].
- [93] « Rimonabant (CAS 168273-06-1) | Cayman Chemical | Supplier ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/9000484>. [Consulté le: 05-janv-2015].
- [94] « Rimonabant Tablets (Generic Acomplia) - Uses, Dosage and Side effects | Medical Cheat Sheets ». [En ligne]. Disponible sur:

<http://medicalcheatsheets.blogspot.fr/2011/03/rimonabant-tablets-generic-acomplia.html>.
[Consulté le: 27-nov-2015].

[95] « Rimonabant ». [En ligne]. Disponible sur:
<http://www.esculape.com/medicament/rimonabant.html>. [Consulté le: 05-janv-2015].

[96] « Sativex Oromucosal Spray - Summary of Product Characteristics (SPC) - (eMC) ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/23262>. [Consulté le: 25-août-2014].

[97] « GWPharma - Sativex ». [En ligne]. Disponible sur:
<http://www.gwpharm.com/Sativex.aspx>. [Consulté le: 20-févr-2014].

[98] « GWPharma - Sativex R&D ». [En ligne]. Disponible sur:
<http://www.gwpharm.com/Sativex%20RD.aspx>. [Consulté le: 22-févr-2014].

[99] M R Elphick and M Egertová, « The neurobiology and evolution of cannabinoid signalling. », *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*, p. 381-408, 29-mars-2001.

[100] « Revue Douleur et Analgesie Editions Médecine et Hygiène », *Douleur Analg.*, n° 4, 2011.

[101] Pál Pacher, Sándor Bátkai, and George Kunos, « The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy », *Pharmacological Reviews*, p. 389-462, sept-2006.

[102] « <http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/171/?sequence=20> ». .

[103] « Type de récepteur cannabinoïde 2, structure, mécanisme, expression, fonction, ligands, affinités de liaison ». [En ligne]. Disponible sur:
<http://monindependancefinanciere.com/lenciclopedie/seccion-t/type-de-recepteur-cannabinoide-2.php>. [Consulté le: 15-janv-2015].

[104] « Le cannabis : stimulateur de l'appétit !: Localisation des CB1 dans le cerveau ». [En ligne]. Disponible sur: <http://lecannabisdonnefaim.blogspot.fr/p/les-recepteurs-aux-endocannabino.html>. [Consulté le: 27-nov-2015].

[105] « Système endocannabinoïde et cannabinoïdes exogènes ». .

[106] « TRPV1: Pain, Peppers, and Prostaglandins | Article Library | | Cayman Chemical | Supplier ». [En ligne]. Disponible sur:
<https://www.caymanchem.com/app/template/Article.vm/article/2116>. [Consulté le: 22-janv-2015].

[107] A J Brown, « Novel cannabinoid receptors », *Br J Pharmacol*, p. 567-575, nov-2007.

- [108] A M McKillop, B M Moran, Y H A Abdel-Wahab, and P R Flatt, « Evaluation of the insulin releasing and antihyperglycaemic activities of GPR55 lipid agonists using clonal beta-cells, isolated pancreatic islets and mice », *Br J Pharmacol*, p. 978-990, nov-2013.
- [109] Grzegorz Godlewski,* László Offertáler, Jens A. Wagner, « Receptors for acylethanolamides—GPR55 and GPR119 », *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, p. 105-111, sept-2009.
- [110] Chia-Shan Wu et al, « GPR55, a G-Protein Coupled Receptor for Lysophosphatidylinositol, Plays a Role in Motor Coordination », *PLoS One*, 2013.
- [111] Bifulco, Laezza, Gazerro, et Pentimalli, « Endocannabinoids as emerging suppressors of angiogenesis and tumor invasion (Review) », *Oncol. Rep.*, vol. 17, n° 4, p. 813-816, avr. 2007.
- [112] M. Guzmán, C. Sánchez, et I. Galve-Roperh, « Control of the cell survival/death decision by cannabinoids », *J. Mol. Med.*, vol. 78, n° 11, p. 613-625, janv. 2001.
- [113] « Cancer du côlon - Symptômes, traitement et espérance de vie », *Sante-Medecine*. [En ligne]. Disponible sur: <http://sante-medecine.commentcamarche.net/contents/127-cancer-du-colon-symptomes-traitement-et-esperance-de-vie>. [Consulté le: 26-août-2014].
- [114] Romano B, Borrelli F, Pagano E, Cascio MG, Pertwee RG, Izzo AA, « Inhibition of colon carcinogenesis by a standardized Cannabis sativa extract with high content of cannabidiol », déc. 2013.
- [115] « Rapport d'orientation - Cancer de la prostate - 2012 04 03 16 39 9 898 ». .
- [116] M. P. Endsley, R. Thill, I. Choudhry, C. L. Williams, A. Kajdacsy-Balla, W. B. Campbell, et K. Nithipatikom, « EXPRESSION AND FUNCTION OF FATTY ACID AMIDE HYDROLASE IN PROSTATE CANCER », *Int. J. Cancer J. Int. Cancer*, vol. 123, n° 6, p. 1318-1326, sept. 2008.
- [117] « Cancer du sein - Symptômes et traitement », *Sante-Medecine*. [En ligne]. Disponible sur: <http://sante-medecine.commentcamarche.net/contents/132-cancer-du-sein-symptomes-et-traitement>. [Consulté le: 26-août-2014].
- [118] S. Fong, Y. Itahana, T. Sumida, J. Singh, J.-P. Coppe, Y. Liu, P. C. Richards, J. L. Bennington, N. M. Lee, R. J. Debs, et P.-Y. Desprez, « Id-1 as a molecular target in therapy for breast cancer cell invasion and metastasis », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 100, n° 23, p. 13543-13548, nov. 2003.
- [119] S. D. McAllister, R. T. Christian, M. P. Horowitz, A. Garcia, et P.-Y. Desprez, « Cannabidiol as a novel inhibitor of Id-1 gene expression in aggressive breast cancer cells », *Mol. Cancer Ther.*, vol. 6, n° 11, p. 2921-2927, janv. 2007.

- [120] « Gliome - Définition ». [En ligne]. Disponible sur: <http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/13389-gliome-definition>. [Consulté le: 27-août-2014].
- [121] Torres S et al, « A combined preclinical therapy of cannabinoids and temozolomide against glioma », *Mol Cancer Ther*, p. 90-103, janv-2011.
- [122] « GWPharma - Oncology ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.gwpharm.com/oncology.aspx#pc>. [Consulté le: 25-août-2014].
- [123] « GWPharma - Rationale and Preclinical ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.gwpharm.com/Rationale%20and%20Preclinical.aspx>. [Consulté le: 03-sept-2015].
- [124] Lisa Walter et al, « Nonpsychotropic Cannabinoid Receptors Regulate Microglial Cell Migration », *The Journal of Neuroscience*, p. 1398-1405, 15-févr-2003.
- [125] Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, Di Marzo V, Mechoulam R, « Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb », *Trends Pharmacol Sci*, p. 512-27, oct-2009.
- [126] Carrier EJ, Auchampach JA, Hillard CJ, « Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: a mechanism of cannabinoid immunosuppression. - PubMed - NCBI », *Proc Natl Acad Sci U S A*, p. 7895-9000, 16-mai-2006.
- [127] Jones NA et al, « Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures », *Seizure*, p. 344-52, juin-2012.
- [128] Karniol IG, Shirakawa I, Kasinski N, Pfeferman A, Carlini EA, « Cannabidiol interferences with the effects of delta 9 - tetrahydrocannabinol in man », *Eur J Pharmacol*, p. 172-7, sept-1974.
- [129] Nicholas A. Jones, Andrew J. Hill, Imogen Smith, Sarah A. Bevan, Claire M. Williams, Benjamin J. Whalley, and Gary J. Stephens, « Cannabidiol Displays Antiepileptiform and Antiseizure Properties In Vitro and In Vivo », *J Pharmacol Exp Ther*, p. 569-577, févr-2010.
- [130] « Cannabis et glaucome - Sensi Seeds ». [En ligne]. Disponible sur: <http://sensiseeds.com/fr/blog/cannabis-et-glaucome/>. [Consulté le: 03-août-2015].
- [131] « Qu'est ce que le glaucome ? | Le glaucome ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.leglaucome.fr/sinformer/quest-ce-que-le-glaucome/>. [Consulté le: 03-août-2015].
- [132] « FMPMC-PS - Anatomie pathologique - Niveau PCEM2 ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/anapath/Cours/POLY.Chp.3.html>. [Consulté le: 05-oct-2015].

- [133] « The biochemistry of apoptosis », *Nature*, p. 770-6, 12-oct-2000.
- [134] Zhu W, Friedman H, Klein TW, « Delta9-tetrahydrocannabinol induces apoptosis in macrophages and lymphocytes: involvement of Bcl-2 and caspase-1 », *1998 Aug*, p. 1103-9, août-1998.
- [135] Do Y, McKallip RJ, Nagarkatti M, Nagarkatti PS, « Activation through cannabinoid receptors 1 and 2 on dendritic cells triggers NF-kappaB-dependent apoptosis: novel role for endogenous and exogenous cannabinoids in immunoregulation », *J Immunol*, p. 2373-82, 15-août-2004.
- [136] Do Y, McKallip RJ, Nagarkatti M, Nagarkatti PS, « Activation through cannabinoid receptors 1 and 2 on dendritic cells triggers NF-kappaB-dependent apoptosis: novel role for endogenous and exogenous cannabinoids in immunoregulation », *J Immunol*.
- [137] Lee CY, Wey SP, Liao MH, Hsu WL, Wu HY, Jan TR, « A comparative study on cannabidiol-induced apoptosis in murine thymocytes and EL-4 thymoma cells », *Int Immunopharmacol*, p. 732-40, mai-2008.
- [138] Molina-Holgado F, Molina-Holgado E, Guaza C, Rothwell NJ, « Role of CB1 and CB2 receptors in the inhibitory effects of cannabinoids on lipopolysaccharide-induced nitric oxide release in astrocyte cultures », *J Neurosci Res*, p. 829-36, mars-2002.
- [139] Croxford JL, Pryce G, Jackson SJ, Ledent C, Giovannoni G, Pertwee RG, Yamamura T, Baker D., « Cannabinoid-mediated neuroprotection, not immunosuppression, may be more relevant to multiple sclerosis », *J Neuroimmunol*, p. 120-9, janv-2008.
- [140] Klein TW, Newton CA, Nakachi N, Friedman H, « Delta 9-tetrahydrocannabinol treatment suppresses immunity and early IFN-gamma, IL-12, and IL-12 receptor beta 2 responses to Legionella pneumophila infection », *J Immunol*, p. 6461-6, juin-2015.
- [141] Srivastava MD, Srivastava BI, Brouhard B, « Delta9 tetrahydrocannabinol and cannabidiol alter cytokine production by human immune cells. - PubMed - NCBI », *Immunopharmacology*, p. 179-85, nov-1998.
- [142] Puffenbarger RA, Boothe AC, Cabral GA, « Cannabinoids inhibit LPS-inducible cytokine mRNA expression in rat microglial cells », *Glia*, p. 58-69, 01-janv-2000.
- [143] Parker J, Atez F, Rossetti RG, Skulas A, Patel R, Zurier RB, « Suppression of human macrophage interleukin-6 by a nonpsychoactive cannabinoid acid », *Rheumatol Int*, p. 631-5, mai-2008.
- [144] Valk P et al, « Anandamide, a natural ligand for the peripheral cannabinoid receptor is a novel synergistic growth factor for hematopoietic cells », *Blood*, p. 1448-57, 15-août-1997.

- [145] Rockwell CE, Snider NT, Thompson JT, Vanden Heuvel JP, Kaminski NE, « Interleukin-2 suppression by 2-arachidonyl glycerol is mediated through peroxisome proliferator-activated receptor gamma independently of cannabinoid receptors 1 and 2 », *Mol Pharmacol*, p. 101-11, juill-2006.
- [146] Mestre L, Correa F, Arévalo-Martín A, Molina-Holgado E, Valenti M, Ortar G, Di Marzo V, Guaza C, « Pharmacological modulation of the endocannabinoid system in a viral model of multiple sclerosis », *J Neurochem*, p. 1327-39, mars-2005.
- [147] Maccarrone M, Valensise H, Bari M, Lazzarin N, Romanini C, Finazzi-Agrò A, « Progesterone up-regulates anandamide hydrolase in human lymphocytes: role of cytokines and implications for fertility », *J Immunol*, p. 7183-9, 15-juin-2001.
- [148] Prakash Nagarkatti et al, « Cannabinoids as novel anti-inflammatory drugs », *Future Med Chem*, p. 1333-1349, oct-2009.
- [149] Ghosh S, Preet A, Groopman JE, Ganju RK, « Cannabinoid receptor CB2 modulates the CXCL12/CXCR4-mediated chemotaxis of T lymphocytes », *Mol Immunol*, p. 2169-79, juill-2006.
- [150] Iglesias A, Bauer J, Litzenburger T, Schubart A, Linington C, « T- and B-cell responses to myelin oligodendrocyte glycoprotein in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis », *Glia*, nov-2001.
- [151] « Cannabinoids and multiple sclerosis », *Pharmacol Ther*, p. 165-74, août-2002.
- [152] Arévalo-Martín A, García-Ovejero D, Gómez O, Rubio-Araiz A, Navarro-Galve B, Guaza C, Molina-Holgado E, Molina-Holgado F, « CB2 cannabinoid receptors as an emerging target for demyelinating diseases: from neuroimmune interactions to cell replacement strategies », *Br J Pharmacol*, p. 216-25, janv-2008.
- [153] Sánchez AJ, González-Pérez P, Galve-Roperh I, García-Merino A, « R-(+)-[2,3-Dihydro-5-methyl-3-(4-morpholinylmethyl)-pyrrolo-[1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-6-yl]-1-naphtalenylmethanone (WIN-2) ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis and induces encephalitogenic T cell apoptosis: partial involvement of the CB(2) receptor », *Biochem Pharmacol*, p. 1697-706, 15-déc-2006.
- [154] « Therapeutic action of cannabinoids in a murine model of multiple sclerosis », *J Neurosci*, p. 2511-6, 01-avr-2003.
- [155] Sheng WS, Hu S, Min X, Cabral GA, Lokensgard JR, Peterson PK, « Synthetic cannabinoid WIN55,212-2 inhibits generation of inflammatory mediators by IL-1beta-stimulated human astrocytes », *Glia*, p. 211-9, janv-2005.

- [156] « A role for CB2 receptors in anandamide signalling pathways involved in the regulation of IL-12 and IL-23 in microglial cells », *Biochem Pharmacol*, p. 86-100, janv-2009.
- [157] Palazuelos J, Davoust N, Julien B, Hatterer E, Aguado T, Mechoulam R, Benito C, Romero J, Silva A, Guzmán M, Nataf S, Galve-Roperh I, « The CB(2) cannabinoid receptor controls myeloid progenitor trafficking: involvement in the pathogenesis of an animal model of multiple sclerosis », *J Biol Chem.*, p. 13320-9, mai-2008.
- [158] Arthur G. Pratt et al, « Current concepts in the pathogenesis of early rheumatoid arthritis », *Best Pract Res Clin Rheumatol*, p. 37-48, févr-2009.
- [159] Hürlimann D, Enseleit F, Ruschitzka F, « [Rheumatoid arthritis, inflammation, and atherosclerosis]. », *Herz*, p. 760-8, déc-2004.
- [160] A. M. Malfait et al, « The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis », *Proc Natl Acad Sci U S A*, p. 9561–9566, 15-août-2000.
- [161] Zurier RB, Rossetti RG, Burstein SH, Bidinger B, « Suppression of human monocyte interleukin-1beta production by ajulemic acid, a nonpsychoactive cannabinoid », *Biochem Pharmacol*, p. 649-55, févr-2003.
- [162] George KL, Saltman LH, Stein GS, Lian JB, Zurier RB, « Ajulemic acid, a nonpsychoactive cannabinoid acid, suppresses osteoclastogenesis in mononuclear precursor cells and induces apoptosis in mature osteoclast-like cells », *J Cell Physiol*, p. 714-20, mars-2008.
- [163] « Association France Parkinson, information sur la maladie de parkinson, soutien moral ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.franceparkinson.fr/>. [Consulté le: 03-mars-2014].
- [164] Antoine Flavien Eger, Christophe Gaudet Blavignac, Arthur Hammer, *La maladie de Parkinson*. Université de Genève, 2009.
- [165] S. Bátkai, P. Mukhopadhyay, B. Horváth, M. Rajesh, R. Y. Gao, A. Mahadevan, M. Amere, N. Battista, A. H. Lichtman, L. A. Gauson, et others, « Δ^8 -Tetrahydrocannabivarin prevents hepatic ischaemia/reperfusion injury by decreasing oxidative stress and inflammatory responses through cannabinoid CB2 receptors », *Br. J. Pharmacol.*, vol. 165, n° 8, p. 2450–2461, 2012.
- [166] « InVS ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.invs.sante.fr/>. [Consulté le: 10-mars-2014].

- [167] « Maladie de Parkinson ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.inserm.fr/thematiques/neurosciences-sciences-cognitives-neurologie-psychiatrie/dossiers-d-information/maladie-de-parkinson>. [Consulté le: 04-avr-2014].
- [168] K. Chaudhuri, D. G. Healy, et A. H. Schapira, « Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management », *Lancet Neurol.*, vol. 5, n° 3, p. 235–245, 2006.
- [169] Dr. Philippe Boulu, *Parkinson: chiffres clés et prevalence Atlas neurologique - OMS 2004*. 2012.
- [170] S. von Campenhausen, B. Bornschein, R. Wick, K. Bötzel, C. Sampaio, W. Poewe, W. Oertel, U. Siebert, K. Berger, et R. Dodel, « Prevalence and incidence of Parkinson's disease in Europe », *Eur. Neuropsychopharmacol.*, vol. 15, n° 4, p. 473–490, 2005.
- [171] Mme Anne Taupignon : UFR Pharmacie- Institut des maladies neurodégénératives, « Cours de 2ème année de pharmacie, Anatomie-Physiologie ». 2011-2010.
- [172] A. Pisani, F. Fezza, S. Galati, N. Battista, S. Napolitano, A. Finazzi-Agrò, G. Bernardi, L. Brusa, M. Pierantozzi, P. Stanzione, et others, « High endogenous cannabinoid levels in the cerebrospinal fluid of untreated Parkinson's disease patients », *Ann. Neurol.*, vol. 57, n° 5, p. 777–779, 2005.
- [173] C. García, C. Palomo-Garo, M. García-Arencibia, J. Ramos, R. Pertwee, et J. Fernández-Ruiz, « Symptom-relieving and neuroprotective effects of the phytocannabinoid Δ^9 -THCV in animal models of Parkinson's disease », *Br. J. Pharmacol.*, vol. 163, n° 7, p. 1495-1506, août 2011.
- [174] I. Dennis, B. J. Whalley, et G. J. Stephens, « Effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol on [35S] GTP γ S binding in mouse brain cerebellum and piriform cortex membranes », *Br. J. Pharmacol.*, vol. 154, n° 6, p. 1349–1358, 2008.
- [175] Y.-L. Ma, S. E. Weston, B. J. Whalley, et G. J. Stephens, « The phytocannabinoid Δ^9 -tetrahydrocannabinol modulates inhibitory neurotransmission in the cerebellum », *Br. J. Pharmacol.*, vol. 154, n° 1, p. 204–215, 2008.
- [176] R. G. Pertwee, « The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol », *Br. J. Pharmacol.*, vol. 153, n° 2, p. 199-215, janv. 2008.
- [177] M. Starks, *Marijuana chemistry: genetics, processing & potency*, 2nd ed. Berkeley, CA: Ronin Pub, 1990.
- [178] M. A. ElSohly, Éd., *Marijuana and the cannabinoids*. Totowa, N.J: Humana Press, 2007.

- [179] A. A. Izzo, F. Borrelli, R. Capasso, V. Di Marzo, et R. Mechoulam, « Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb », *Trends Pharmacol. Sci.*, vol. 30, n° 10, p. 515–527, 2009.
- [180] I. Lastres-Becker et J. Fernandez-Ruiz, « An overview of Parkinson's disease and the cannabinoid system and possible benefits of cannabinoid-based treatments », *Curr. Med. Chem.*, vol. 13, n° 30, p. 3705–3718, 2006.
- [181] J. Fernández-Ruiz, « The endocannabinoid system as a target for the treatment of motor dysfunction », *Br. J. Pharmacol.*, vol. 156, n° 7, p. 1029–1040, 2009.
- [182] I. D. Meng, B. H. Manning, W. J. Martin, et H. L. Fields, « An analgesia circuit activated by cannabinoids », *Nature*, vol. 395, n° 6700, p. 381–383, 1998.
- [183] J. M. Walker, S. M. Huang, N. M. Strangman, K. Tsou, et M. C. Sañudo-Peña, « Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 96, n° 21, p. 12198–12203, 1999.
- [184] J. D. Richardson, S. Kilo, et K. M. Hargreaves, « Cannabinoids reduce hyperalgesia and inflammation via interaction with peripheral CB₁ receptors », *Pain*, vol. 75, n° 1, p. 111–119, 1998.
- [185] J. Ševčík et K. Mašek, « Potential role of cannabinoids in Parkinson's disease », *Drugs Aging*, vol. 16, n° 6, p. 391–395, 2000.
- [186] « ChemSpider | Search and share chemistry ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.chemspider.com/>. [Consulté le: 01-juill-2014].
- [187] « LABORATOIRES ABBOTT Ltée. Monographie de produit pour Marinol ». 2010.
- [188] M. A. Huestis, « Human cannabinoid pharmacokinetics », *Chem. Biodivers.*, vol. 4, n° 8, p. 1770–1804, 2007.
- [189] D. J. Harvey, « Absorption, distribution, and biotransformation of the cannabinoids », in *Marihuana and medicine*, Springer, 1999, p. 91–103.
- [190] GARRETT, E. R., et C. A. HUNT, « Pharmacokinetics of delta9-tetrahydrocannabinol in dogs », 1977, vol. 66, p. 395-407.
- [191] Binding of delta-1-tetrahydrocannabinol to human plasma proteins, « Binding of delta-1-tetrahydrocannabinol to human plasma proteins », *Biochem Pharmacol*, p. 2579-84, sept-1970.
- [192] Widman M, Nilsson IM, Agurell S, Borg H, Granstrand B., « Plasma protein binding of 7-hydroxy-1-tetrahydrocannabinol: an active 1-tetrahydrocannabinol metabolite », *J Pharm Pharmacol*, p. 453-7, juin-1973.

- [193] Truitt EB Jr, « Biological disposition of tetrahydrocannabinols », *Pharmacol Rev*, p. 273-8, déc-1971.
- [194] Acta Pharmacol Toxicol (Copenh), « Penetration of delta-9-tetrahydrocannabinol and 11-OH-delta-9-tetrahydrocannabinol through the blood-brain barrier », *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, p. 33-8, 1977Jul.
- [195] « Pharmacokinetics and metabolism of delta 1-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids with emphasis on man », *Pharmacol Rev*, p. 21-43, mars-1986.
- [196] G. G. Nahas, « The pharmacokinetics of THC in fat and brain: resulting functional responses to marijuana smoking », *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.*, vol. 16, n° 3, p. 247–255, 2001.
- [197] M. E. Wall et M. PEREZ-REYES, « The Metabolism of Δ 9-Tetrahydrocannabinol and Related Cannabinoids in Man », *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 21, n° S1, p. 178S–189S, 1981.
- [198] L. Lemberger, R. Martz, B. Rodda, R. Forney, et H. Rowe, « Comparative Pharmacology of Δ 9-Tetrahydrocannabinol and its Metabolite, 11-OH- Δ 9-Tetrahydrocannabinol », *J. Clin. Invest.*, vol. 52, n° 10, p. 2411, 1973.
- [199] M. E. Wall, B. M. Sadler, D. Brine, H. Taylor, et M. Perez-Reyes, « Metabolism, disposition, and kinetics of delta-9-tetrahydrocannabinol in men and women », *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 34, n° 3, p. 352–363, 1983.
- [200] « DRONABINOL CAPSULE [AKORN, INC.] ». [En ligne]. Disponible sur: <http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=a0409d82-a61e-4b9e-8717-ced299ccedb2>. [Consulté le: 20-mars-2014].
- [201] ROWE C R., SHESKEY J P., QUINN E M, *Handook of pharmaceutical excipients, sixth edition, London-Chicago*. 2009.
- [202] *Pharmacopée Européenne*, 6ème édition. France: Conseil de l'Europe, 2007.
- [203] Wehrlé Pascal, *Pharmacie Galénique : formulation et technologie pharmaceutique. 2ème édition*, 2ème édition. Paris: Maloine, 2012.
- [204] « J. Foster and J. Doll Particle Size Effect on Talc Lubricant Activity ». .
- [205] « Pharmacocinétique et méthodes de dosage du THC ». .
- [206] J.-P. Després, A. Golay, et L. Sjöström, « Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia », *N. Engl. J. Med.*, vol. 353, n° 20, p. 2121–2134, 2005.
- [207] « ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé ». [En ligne]. Disponible sur: <http://ansm.sante.fr/>. [Consulté le: 29-mars-2014].

- [208] Rédaction prescrire, « Rimonabant : trop de dépressions et de suicides », *Prescrire*, vol. T28, n° 302, p. 909, déc. 2008.
- [209] Rédaction Prescrire, « Rimonabant : suspension d'AMM annoncée, enfin ! », vol. T28, n° 302, p. 897, déc. 2008.
- [210] R. Christensen, P. K. Kristensen, E. M. Bartels, H. Bliddal, et A. Astrup, « Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials », *The Lancet*, vol. 370, n° 9600, p. 1706–1713, 2007.
- [211] M. Caron, « Le cannabis : de la drogue au médicament », 2014.
- [212] O. Algalarrondo, « De la consommation au sevrage (cannabis, cocaïne, amphétamines, héroïne), en milieu libre ou en milieu carcéral : prises en charge et rôle du pharmacien d'officine », 2014.
- [213] « Un projet de loi de légalisation du cannabis en France! - Blog du Growshop Alchimia ». [En ligne]. Disponible sur: <https://www.alchimiaweb.com/blogfr/projet-loi-legalisation-cannabis-france/>. [Consulté le: 27-oct-2015].
- [214] « Cannabis - Synthèse des connaissances - OFDT ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.ofdt.fr/produits-et-addictions/de-z/cannabis/>. [Consulté le: 24-oct-2015].
- [215] « François Beck, Jean-Baptiste Rochard, Romain Guignard, Olivier Le Nézet, Stanislas Spilka; Les niveaux d'usage des drogues en France en 2014 ». .
- [216] Coscas S, « La revue du praticien : Dossier cannabis », p. 14 19 à 1440, déc 2013.
- [217] « Sur la route, le cannabis est une drogue mortelle Campagne d'information et de sensibilisation des jeunes / Publications presse / Espace presse - Sécurité routière | Tous responsables ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.securite-routiere.gouv.fr/medias/espace-presse/publications-presse/sur-la-route-le-cannabis-est-une-drogue-mortelle-campagne-d-information-et-de-sensibilisation-des-jeunes>. [Consulté le: 22-oct-2015].

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



DEMONToux Jérémie – Le cannabis thérapeutique, application à la maladie de Parkinson et essai de mise en forme galénique

TH. D. Pharmacie : Bordeaux/ 2016 ; n°24

Résumé : Le chanvre ou *Cannabis Sativa* L. est une plante originaire d'Asie, connue depuis 6000 ans en Chine. Longtemps utilisé dans un but thérapeutique, il a été à partir du XX^e siècle retiré et interdit dans de nombreux pays en raison de ses propriétés psychotropes. A l'heure actuelle, les études portant sur les dérivés du cannabis et le système cannabinoïde se multiplient. Elles permettent jour après jour de révéler beaucoup d'inconnues concernant cette famille de molécules, mais aussi de déceler le potentiel thérapeutique de certains dérivés dans de nombreuses pathologies, dont certaines pour lesquelles l'arsenal thérapeutique actuel est limité. Par exemple la tétrahydrocannabivarine, un phytocannabinoïde, a montré des propriétés intéressantes concernant la maladie de Parkinson. Dans cette thèse, nous exploiterons ces propriétés dans le cadre d'un essai de mise en forme galénique. Cependant, malgré le regain d'intérêt actuel pour le cannabis thérapeutique, il ne faut pas oublier que cette plante est aussi une drogue et qu'un usage récréatif entraîne des effets néfastes pour la santé.

Title: Therapeutic cannabis, application to Parkinson's disease and formulation trial

Mots clés : Cannabinoïdes, Usage thérapeutique, Cannabis, Tétrahydrocannabivarine, Formulation, Maladie de Parkinson

Laboratoire de Pharmacognosie

UFR des Sciences Pharmaceutiques

Université de Bordeaux

146, Rue Léo Saignat

33 076 Bordeaux Cedex