

Endokannabinoidsüsteemi roll ebakindlusega toimetulekul

Dr. Jozsef Haller, PhD, DSc, Academia Europea liige

University of Public Service, Budapest, Ungari

ABSTRAKT

Ebakindel aeg, mida praegu iseloomustavad COVID-19 pandeemia, sõjad, energia-, kiibi- ja võimalik, et ka toidukriis, suurendab inimeste stressikoormust ja sillutab teed ärevuse ja meeleoluhäirete tekkele. Selliste keskkonnaprobleemidega toimetulekut kontrollib suurel määral endokannabinoidsüsteem. Pole üllatav, et kogu maailmas töötatakse välja ravimeid, mis seda närvisignaalarada mõjutavad. Sellised ravimite arenemise programmid on suunatud täiemahulistele psüühikahäiretele, mis tähendab, et nende häirete alamklassi variandid - nt need, mis ei vasta diagnoosimise kriteeriumidele - jäävad nende reguleerimisalast välja. Ometi on alampiirilised ärevus ja depressioon üsna sagedased ja nendega kaasnevad märkimisväärsed psühholoogilised kannatused (Bosman et al., 2019; Volz et al., 2022). Ametliku diagnoosi puudumise tõttu jäävad allpool künnist oleva seisundiga inimesed meditsiiniliselt ravimata ja peavad silmitsi seisma oma heaolu olulise halvenemise ja elukvaliteedi vähenemisega. Siinkohal kirjeldame patenteeritud *Echinacea Angustifolia (EPI07TM)* ekstrakti, mille toimeained on suunatud endokannabinoidsüsteemile ja mis võib olla tõhus kaitse ühiskondliku ebakindluse negatiivsete elumõjude vastu.

Märksõnad: ebakindlus, ärevus, endokannabinoidsüsteem, *Echinacea Angustifolia (EPI07TM)*, heaolu

Neurobioloogiline taust

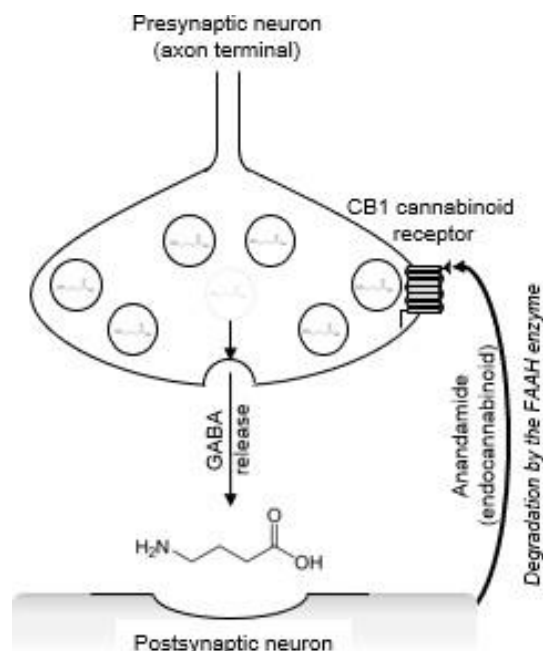
Endokannabinoidide süsteem on seni viimane avastatud ja kirjeldatud neurotransmitterite süsteem. Marihuaana toimeaine Δ^9 -tetraahüdrokannabinool, mis praktiliselt viis kogu süsteemi avastamiseni, sünteesiti esmakordselt 1965. aastal (Mechoulam ja Gaoni, 1965). Selle ühendi retseptorid avastati 23 aastat hiljem (Devane et al., 1988) ja veel neli aastat kulus nende retseptorite endogeensete ligandite, st endokannabinoidide identifitseerimiseks (Devane et al., 1992). Lõpuks tunnistati endokannabinoidide rolli närvisüsteemi toimimises alles 21. sajandil (Wilson ja Nichol, 2001). Need varajased avastused ja hilisemad leiud muutsid meie arusaama närvisüsteemi toimimisest revolutsiooniliselt ning avasid uusi võimalusi ravimite avastamiseks ja arendamiseks.

Endokannabinoidid toimivad retrograadse sõnumitoojana, mida sünteesib postsünaptiline neuron ja inhibeerivad neurotransmitterite vabanemist presünaptilises neuronis (joonis 1). Sellisena toimivad endokannabinoidid kui nn molekulaarsed pidurid, mis peatavad teabe edastamise sünapsi kaudu, kui seda nõuab aju nõuetekohane toimimine. See mehhanism muutus ravimite arendamise seisukohalt atraktiivseks, kui avastati, et CB1 kannabinoidiretseptorid on spetsiifiliselt ekspresseeruvad

ajupiirkondades, mis on seotud emotsioonide ja käitumise kontrollimisega (Freund et al., 2003). Varajased uuringud, milles kasutati geneetiliselt muundatud hiiri, näitasid, et kannabinooid CB1 retseptor mängib rolli nii ärevuse kui ka depressiooni puhul (Haller et al., 2002; Martin et al., 2002). Hilisemad uuringud näitasid siiski, et endokannabinooidsüsteemi osalemine käitumiskontrollis on keerulisem, kui varem arvati (Haller et al., 2007; Naderi et al. 2008; Naidu et al. 2007). Erilist huvi pakuvad tulemused, mis on saadud rasvhappeamiidhüdrolaasi (FAAH) inhibiitoriga URB597, mis aeglustades endokannabinooidide lagunemist, suurendab nende loomuliku toimet, mitte ei toimi mittespetsiifiliselt nagu retseptori agonistid (Piomelli et al., 2006). See farmakoloogiline vahend näitas, et endokannabinooidide neurotransmissioon mõjutab keskkonnast tulenevatele stiimulitele käitumuslikult reageerimise viise (Haller et al., 2009, 2013). Eelkõige suurendas endokannabinooidide signaalimise tõhustamine emotsionaalseid ja käitumuslikke vastuseid aversiivsetele stiimulitele ning soodustas üleminekut aktiivsele toimetulekule väljakutsetega.

Need leiud viitasid sellele, et endokannabinooidide signaaliülekanne suurendamine võib olla kasulik aversiivsetes tingimustes, kui see võib leevendada stressi poolt esilekutsutud ärevuse- ja depressioonilaadseid reaktsioone.

Joonis 1. Endokannabinooidide toimetehhanismid



Joonis 2. Endokannabinooidide toimetehhanismid.

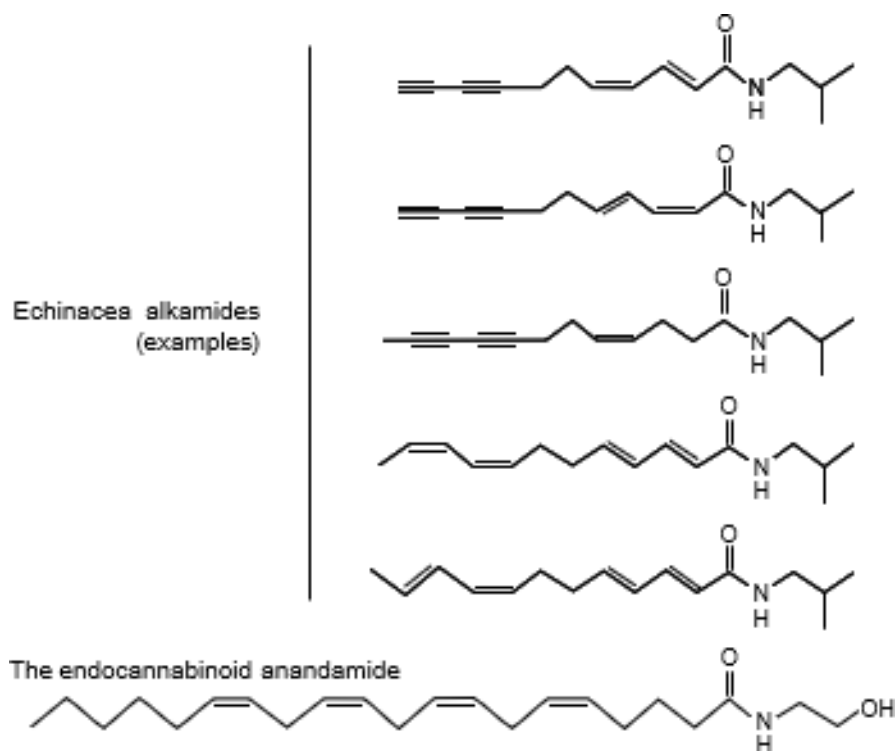
Presünaptiliselt neuronilt signaali saamisel vabastab postsünaptiline neuron endokannabinoide, mis pärssivad presünaptilist neuronit. FAAH-ensüüm lõpetab selle retrogradse signaalimise, kataboliseerides anandamiidi. Me esitlesime siin GABA närviterminali, kuid sama mehhanism on aktiivne ka teistes närviterminalides.

Echinacea Angustifolia (EP107TM) alkamiidid

Lisaks kanepile, mis on hästi tuntud oma kannabinooidide sisalduse poolest, on mitmeid teisi taimi, mis sünteesivad endokannabinooidide süsteemis aktiivseid ühendeid. Mõned sellised liigid kuuluvad

perekonda *Echinacea Angustifolia* (EP107TM), mis sisaldavad ühendite perekonda, mida nimetatakse alkamiidideks (Bauer ja Remiger, 1989). Alkamiidide struktuur on märkimisväärselt sarnane endokannabinoidi anandamiidi omaga (Joonis 2).

Joonis 2. *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) alkamiidide ja endokannabinoidi anandamiidi struktuuriline sarnasus



Joonis 2. Struktuuriline sarnasus *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) alkamiidide ja endokannabinoidi anandamiidi vahel. *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) liigid sisaldavad umbes 20 erinevat alkamiidi. Need kas seonduvad CB1-kanabinoidireseptoriga või inhibeerivad FAAH ensüümi, tugevdades sellega kanabinoidide signalisatsiooni.

Pole üllatav, et enamik alkamiide seonduvad nii CB1- kui ka CB2-kanabinoidireseptoritega ning lisaks sellele inhibeerib nende ainete alarühm ensüümi FAAH (Woelkart et al., 2005). Mõju CB2-kanabinoidireseptorile selgitab *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) preparaatide immunostimuleerivat toimet, kuna CB2 retseptorid asuvad perifeerselt ja kontrollivad immuunsüsteemi. *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) alkamiidide CB1-ga seotud mõju jäi tundmatuks, kuni selle taime preparaate testiti ärevuse laboratoorses mudelites (Tabel 1).

Lühidalt, *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) vähendas oluliselt ärevust kõigis laboratoorses mudelites, kus seda testiti. Efektiivsed annused olid võrreldavad väljakujunenud anksiolüütikumide annustega. Kõrvaltoimeid ei täheldatud ja ekstrakt ei põhjustanud märgatavat ebamugavust kuni 3000 mg/kg.

Neid tulemusi täheldati patenteeritud ekstraktiga, mis sisaldas alkamiide konkreetses vahekorras. Me leidsime selles ekstraktis 12 alkaamiidi umbes 20-st, mis on kõnealuses liigis üldiselt olemas. Mõned neist olid väheses, teised aga suures kontsentratsioonis. Ekstrakti alkamiidide koostis (nn sõrmejalg) oli 15 aasta jooksul stabiilne; üksikute alkamiidide varieeruvus oli umbes $\pm 15\%$ (avaldamata tulemused). Kokku testisime 12 kaubanduslikku ekstrakti nende oletatava anksiolüütilise toime suhtes. Peale meie patenteeritud ekstrakti vähendas ärevust ainult üks neist. Nimelt oli selle ekstrakti alkamiidide sõrmejalg väga sarnane meie omaga, kuigi see ei olnud aja jooksul sarnaselt stabiilne.

Nagu eespool näidatud, seovad *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) ekstraktid CB1-kannabinoidireseptorit ja üks nende alarühm inhibeerib endokannabinoidide lagundamise eest vastutavat FAAH-ensüümi (Woelkart et al., 2005). Meie preparaadis on FAAH-i inhibeerivaid alkamiide. Et saada uusi teadmisi meie ekstrakti molekulaarse toime kohta, uurisime selle puhastatud alkamiide [35S]GTPcS-ga seondumise katsetega, mis tehti roti ajumembraanipreparaatidel. Tuleb märkida, et Woelkart jt (2005) uurisid ainult retseptorite seondumist, ilma et oleks uuritud selle seondumise mõju. Mõned puhastatud alkamiidid olid pöördagonistid, samas kui teistel oli osaline agonistlik toime. Oletame, et ekstrakti ainulaadne mõju ärevusele on tingitud selle mõju keerukusest endokannabinoidide funktsioonile.

Tabel 1. *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) angustifolia juurteekstrakti mõju ärevusele: prekliiniliste tulemuste kokkuvõte

Prekliiniline test	Echinacea Angustifolia (EP107TM) angustifolia kaitsealune ekstrakt		
	<i>Testitud annused</i>	<i>Anksiolüütilise annuse vahemik</i>	<i>Katsespetsiifilised kõrvaltoimed*</i>
Tõstetud plus-maze (EPM)	1-8 mg/kg	4-8 mg/kg	puudub
Sotsiaalne suhtlemine (SI)	2-4 mg/kg	3-4 mg/kg	puudub
Sotsiaalne vältimine (SA)	2-4 mg/kg	3-4 mg/kg	puudub
Konditsioneeritud hirm (CF)	2-8 mg/kg	3-4 mg/kg	-

* Kõrvaltoimetele viitavad käitumisviisid on suletud käte sisenemine EPM-is; puhkamine ja uurimine SI-is; liikumise pärssimine SA-is. CF-testi puhul ei ole kehtestatud katsespetsiifilist kõrvalmõju mõõtmist. Tabel on koostatud Haller et al. 2010 ja 2013 põhjal.

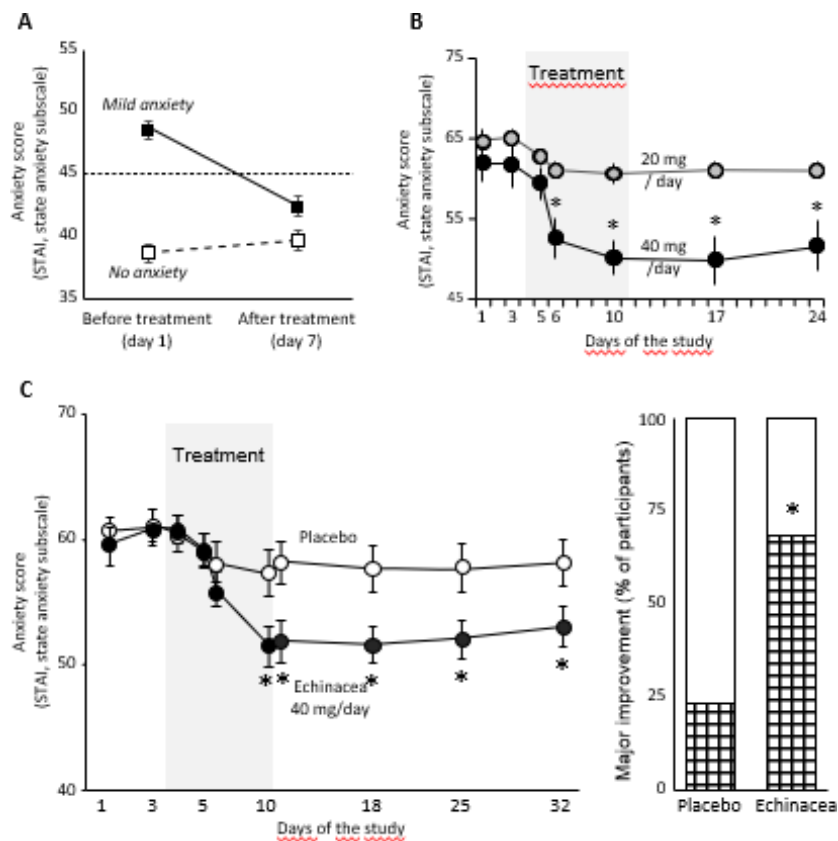
Echinacea Angustifolia (EP107TM) inimestel

Meie patenteeritud ekstrakti mõju ärevusele uuriti 5 uuringus, millest 4 olid avaldatud. Avaldamata uuringus manustati ekstrakti osalejatele, keda ei valitud välja ärevuse tõttu (Joonis 3A). Uuringu viis läbi üks ettevõtte, kes kavandas ühendi turuleviimist. Osalejatel, kellel enne ravi puudus ärevus, oli ärevuse tase pärast ühte nädalat muutumatu. Nende osalejate puhul, kellel olid Spielberg State-Trait Anxiety Inventory (STAI; Spielberg et al., 1970) järgi ärevusprobleemid, pöördusid ärevuse skoorid

aga tagasi normaalsele tasemele (Joonis 3A). STAI-d kasutati teises uuringus, mille eesmärk oli kehtestada soovitatav annus. Leidsime, et 20 mg/päevas (üks kord päevas) ei vähendanud, samas kui 40 mg/päevas (kaks korda päevas) vähendas ärevust (Haller et al., 2013). Osalejatel ei diagnoositud ärevushäiret, kuid neil oli selgelt ärevusprobleem, nagu näitasid nende STAI skoorid (Joonis 3B).

Kolmas uuring oli topeltpimeuuring ja platseebo-kontrollitud ning näitas, et patenteeritud Echinacea Angustifolia (EP107TM) ekstrakt vähendas ärevust üle platseebo järgse taseme (Haller et al., 2019) (joonis 3C). Selle uuringu osalejatel ei olnud ametlikku diagnoosi, kuid nad olid valitud nende suurenenud seisundilise ärevuse (STAI seisundilise ärevuse alaskaala) tõttu.

Joonis 3. Echinacea Angustifolia (EP107TM) mõju kolmes inimuurings



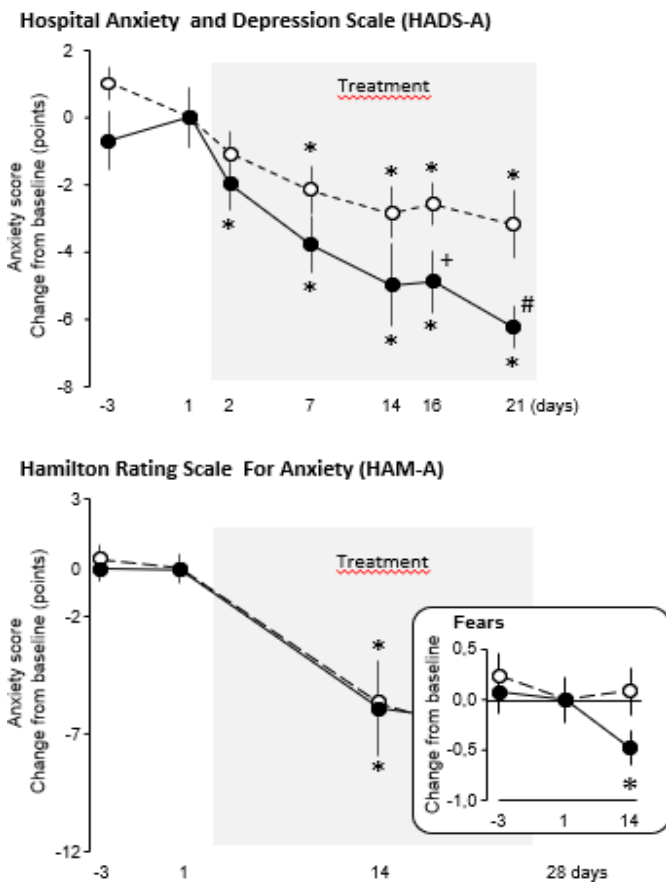
Joonis 3. A. Mõju mitteselekteeritud isikutel (uuring 1). **B.** Kahe annuse võrdlus. Ravi kestis ühe nädala, millele järgnes 2 nädala pikkune puhastusperiood. Pange tähele, et suurem annus vähendas kiiresti ärevushinnanguid ja mõju püsis kogu puhastusperioodi jooksul. Tärnidega on tähistatud märkimisväärne vähenemine võrreldes ravieelse tasemega. **C.** Echinacea Angustifolia (EP107TM) vs. platseebo. Echinacea Angustifolia (EP107TM) vähendas ärevust võrreldes platseeborühmaga. Tärniga on tähistatud olulised erinevused võrreldes platseeboga. Jällegi, anksiolüütiline toime püsis ka puhastusperioodil. Parempoolne paneel: Echinacea Angustifolia (EP107TM) rühmas oli olulise paranemisega osalejate osakaal märkimisväärselt suurem kui platseeborühmas.

Uuringud nr 4 ja 5 erinesid eelmistest, sest neis uuriti väljavõtete täiendavaid omadusi. Mõlemad olid topeltpimeuuringud ja platseebo-kontrollitud. Neljandas uuringus uuriti ärevust osalejatel, kellel oli diagnoositud üldine ärevushäire (GAD) kahe psühhiaatrilise inventuuri, eelkõige Hamiltoni ärevuse hindamisskaala (HAM-A) ja haigla ärevuse ja depressiooni skaala ärevuse alaskaala (HADS-A) abil. Need kaks inventuuri erinevad füüsilisi ärevussümptomeid küsivate elementide osakaalu poolest.

Umbes kaks kolmandikku HAM-A punktidest on seda tüüpi, samas kui HADS-A keskendub ainult ärevuse psühholoogilistele tunnustele. Selles osas on see sarnane STAI-ga, mis uurib samuti ärevuse psühholoogilisi sümptomeid. Echinacea Angustifolia (EP107TM) ekstrakt vähendas HADS-A järgi ärevust (joonis 4). HAM-A puhul paranesid psühholoogilised sümptomid märkimisväärselt, kuid füüsilised sümptomid mitte; kuna viimased moodustasid kaks kolmandikku kõigist sümptomitest, ei olnud Echinacea Angustifolia (EP107TM) üldine mõju selle testi puhul märkimisväärne.

See uuring näitas, et Echinacea Angustifolia (EP107TM) ekstrakt vähendab tõhusalt ärevuse psühholoogilisi, kuid mitte füüsilisi sümptomeid, mis viitab sellele, et see on kasulik algavates faasides, kui ärevuse sümptomid põhjustavad juba isiklike probleeme, kuid ei ole veel avaldunud täiemõõduliste ärevushäiretena.

Joonis 4. Ärevuse mõõtmise mõju Echinacea Angustifolia (EP107TM) anksiolüütilisele toimele GAD-patsientidel



Joonis 4. Ärevuse mõõtmise mõju Echinacea Angustifolia (EP107TM) anksiolüütilisele toimele GAD-patsientidel. Ülemine paneel: Echinacea Angustifolia (EP107TM) vähendas ärevust vastavalt HADS-A-le, mis uurib ainult psühholoogilisi sümptomeid. *, oluline vähenemine võrreldes algtasemega; + ja #, oluline erinevus platseebo-Echinacea Angustifolia (EP107TM) vahel. Alumine paneel: ärevus ei vähenenud vastavalt HAM-A-le, mis uurib peamiselt ärevuse füüsilisi sümptomeid (lihasvalu, kõhulahtisus jne). Siiski mõjutas Echinacea Angustifolia (EP107TM) soodsalt kolme psühholoogilise sümptomi punkti, nt hirmud, depressiivne meeleolu ja ärevust tekitav käitumine intervjuu ajal. Näitena esitame need mõjud, näidates objekti "Hirmud". HADS- A ja HAM-A testide läbiviimise reeglid on erinevad, mis selgitab erinevusi ajahetkedes. Viimane ajahetk jäeti välja, sest 28 päeva pärast kaotas platseebo ärevuse iseenesest, mis muutis platseebo - Echinacea Angustifolia (EP107TM) võrdluse ebaoluliseks.

Viies uuring viidi läbi Austraalia uurimisrühma poolt, kes ostis patenteeritud Echinacea Angustifolia

(EP107TM) ekstrakti USA müüjalt (Lopresti ja Smith, 2021). Nad uurisid ärevust kliiniliselt kasuliku ärevuse tulemuste skaala (CUXOS) abil, mis sarnaselt HAM-A-le uurib peamiselt ärevuse füüsilisi sümptomeid. Sellisena ei ole üllatav, et ekstrakt vähendas ärevust, kuid mitte rohkem kui platseebo. Rühm kirjeldas siiski kahte olulist mõju, millest varem ei olnud teatatud. Ekstrakt vähendas negatiivset afekti ja suurendas positiivset afekti vastavalt positiivse ja negatiivse afekti ajakavale (Watson et al., 1988). Lisaks parandas ekstrakt heaolu vastavalt emotsionaalse heaolu skaalale SF-36 (Ware, 1976). Mõlemad mõjud olid märkimisväärselt suuremad kui platseebo puhul. Kõigis neis uuringutes näitas ekstrakt suurepärasest ohutusprofiili.

Kokkuvõtvad märkused

Siin esitatud patenteeritud *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) ekstrakt on tõestanud, et see suurendab heaolu, soodustab positiivset mõju negatiivse mõju arvelt ja vähendab ärevuse psühholoogilisi sümptomeid. Need omadused muudavad selle suurepäraseks valikuks ühiskondlikust ebakindlusest tingitud ülemäärasest stressikoormusest tuleneva alampiirilise ärevuse ja depressiooni korral.

On näidatud, et madal positiivne afekti tase ennustab depressiooni tekkimist ja depressiivsete sümptomite raskust (Gilbert jt, 2013; Watson ja Naragon-Gainey, 2010). Lisaks seostati madalat positiivset afekti ja kõrget negatiivset afekti kui omadust suure depressiivse häire ja mitmesuguste ärevushäirete negatiivse kulgemisega (Morris et al., 2009; Watson ja Naragon-Gainey, 2010). Samamoodi on alampiiriline ja kerge ärevus, mis iseloomustas enamikku eespool esitatud uuringutes uuritud osalejatest, tõsised riskitegurid nii ärevus- kui ka meeleoluhäirete kujunemiseks (Bosman et al., 2019; Karsten et al., 2011)

Endokannabinoidsüsteemi saab suunata mitmel viisil. Võib kasutada CB1-kannabinoidretseptori ligandeid, kuid võib ka suurendada endokannabinoidide signaliseerimist nende lagunemise inhibeerimisega (Piomelli et al., 2006). Kolmas võimalus on kasutada ravimtaimi, mis sisaldavad aineid, mis mõjutavad endokannabinoidsüsteemi soodsalt. Tuleb ette, et see viis on toimiv, nagu näitavad siin esitatud leiud, ja see on tõsine lubadus võidelda ühiskondliku ebakindluse negatiivse mõjuga emotsionaalsele heaolule.

Viited

Bauer R, Remiger P. TLC and HPLC Analysis of Alkamides in *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) Drugs1,2. *Planta Med.* 1989; 55: 367-71. doi: 10.1055/s-2006-962030.

Bosman RC, Ten Have M, de Graaf R, Muntingh AD, van Balkom AJ, Batelaan NM. Prevalence and course of subthreshold anxiety disorder in the general population: A three-year follow-up study. *J Affect Disord.* 2019; 247:105-113. doi: 10.1016/j.jad.2019.01.018.

Devane WA, Dysarz FA 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol.* 1988; 34: 605-13. PMID: 2848184.

Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 1992; 258: 1946-9. doi: 10.1126/science.1470919.

Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 1992; 258: 1946-9. doi: 10.1126/science.1470919.

Freund TF, Katona I, Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev.* 2003; 83: 1017-66. doi: 10.1152/physrev.00004.2003.

Gilbert KE, Nolen-Hoeksema S, Gruber J. Positive emotion dysregulation across mood disorders: how amplifying versus dampening predicts emotional reactivity and illness course. *Behav Res Ther.* 2013; 51:736-41. doi: 10.1016/j.brat.2013.08.004.

Haller J, Bakos N, Szirmay M, Ledent C, Freund TF. The effects of genetic and pharmacological blockade of the CB1 cannabinoid receptor on anxiety. *Eur J Neurosci.* 2002; 16:1395-8. doi: 10.1046/j.1460-9568.2002.02192.x.

Haller J, Barna I, Barsvari B, Gyimesi Pelczér K, Yasar S, Panlilio LV, Goldberg S. Interactions between environmental aversiveness and the anxiolytic effects of enhanced cannabinoid signaling by FAAH inhibition in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2009; 204: 607-16. doi: 10.1007/s00213-009-1494-7.

Haller J, Freund TF, et al. The effects of Echinacea Angustifolia (EP107TM) (EP107TM) on anxiety: a comparison of anxiety measures in a double blind, placebo controlled study. *Phytother Res.* 2023 in press.

Haller J, Freund TF, Pelczér KG, Füredi J, Krecsak L, Zámboi J. The anxiolytic potential and psychotropic side effects of an Echinacea Angustifolia (EP107TM) preparation in laboratory animals and healthy volunteers. *Phytother Res.* 2013; 27: 54-61. doi: 10.1002/ptr.4677.

Haller J, Goldberg SR, Pelczér KG, Aliczki M, Panlilio LV. The effects of anandamide signaling enhanced by the FAAH inhibitor URB597 on coping styles in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2013; 230: 353-62. doi: 10.1007/s00213-013-3161-2.

Haller J, Hohmann J, Freund TF. The effect of Echinacea Angustifolia (EP107TM) preparations in three laboratory tests of anxiety: comparison with chlordiazepoxide. *Phytother Res.* 2010; 24:1605-13. doi: 10.1002/ptr.3181.

Haller J, Krecsak L, Zámboi J. Double-blind placebo controlled trial of the anxiolytic effects of a standardized Echinacea Angustifolia (EP107TM) extract. *Phytother Res.* 2020; 34:660-668. doi: 10.1002/ptr.6558.

Haller J, Mátyás F, Soproni K, Varga B, Barsy B, Németh B, Mikics E, Freund TF, Hájos N. Correlated species differences in the effects of cannabinoid ligands on anxiety and on GABAergic and glutamatergic synaptic transmission. *Eur J Neurosci.* 2007; 25: 2445-56. doi: 10.1111/j.1460-9568.2007.05476.x.

Karsten J, Hartman CA, Smit JH, Zitman FG, Beekman AT, Cuijpers P, van der Does AJ, Ormel J, Nolen WA, Penninx BW. Psychiatric history and subthreshold symptoms as predictors of the occurrence of depressive or anxiety disorder within 2 years. *Br J Psychiatry.* 2011; 198: 206-12. doi: 10.1192/bjp.bp.110.080572.

Lopresti AL, Smith SJ. An investigation into the anxiety-relieving and mood-enhancing effects of Echinacea Angustifolia (EP107TM) angustifolia (EP107TM): A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *J Affect Disord.* 2021; 293:229-237. doi: 10.1016/j.jad.2021.06.054.

Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O. Involvement of CB1 cannabinoid receptors in emotional behaviour. *Psychopharmac. (Berl).* 2002; 159:379-87. doi: 10.1007/s00213-001-0946-5.

Mechoulam R, Gaoni Y. A total synthesis of dl-delta-1-tetrahydrocannabinol, the active constituent of hashish. *J Am Chem Soc.* 1965; 87: 3273-5. doi: 10.1021/ja01092a065.

Morris BH, Bylsma LM, Rottenberg J. Does emotion predict the course of major depressive disorder? A review of prospective studies. *Br J Clin Psychol.* 2009; 48: 255-73. doi: 10.1348/014466508X396549.

Naderi N, Haghparast A, Saber-Tehrani A, Rezaii N, Alizadeh AM, Khani A, Motamedi F. Interaction

between cannabinoid compounds and diazepam on anxiety-like behaviour of mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2008; 89: 64-75. doi: 10.1016/j.pbb.2007.11.001.

Naidu PS, Varvel SA, Ahn K, Cravatt BF, Martin BR, Lichtman AH. Evaluation of fatty acid amide hydrolase inhibition in murine models of emotionality. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007; 192: 61-70. doi: 10.1007/s00213-006-0689-4. E

Piomelli D, Tarzia G, Duranti A, Tontini A, Mor M, Compton TR, Dasse O, Monaghan EP, Parrott JA, Putman D. Pharmacological profile of the selective FAAH inhibitor KDS-4103 (URB597). *CNS Drug Rev*. 2006; 12: 21-38. doi: 10.1111/j.1527-3458.2006.00021.x.

Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE. *STAI Manual for the State-Trait Anxiety Inventory*. Consulting Psychologists Press, Palo Alto 1970.

Volz HP, Stirnweiß J, Kasper S, Möller HJ, Seifritz E. Subthreshold depression - concept, operationalisation and epidemiological data. A scoping review. *Int J Psychiatry Clin Pract*. 2022: 1-15. doi: 10.1080/13651501.2022.2087530.

Ware JE Jr. SF-36 health survey update. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2000; 25: 3130-9. doi: 10.1097/00007632-200012150-00008.

Watson D, Clark LA, Tellegen A. Development and validation of brief measures of positive and negative affect: the PANAS scales. *J Pers Soc Psychol*. 1988; 54:1063-70. doi: 10.1037//0022-3514.54.6.1063.

Watson D, Naragon-Gainey K. On the specificity of positive emotional dysfunction in psychopathology: evidence from the mood and anxiety disorders and schizophrenia/schizotypy. *Clin Psychol Rev*. 2010; 30: 839-48. doi: 10.1016/j.cpr.2009.11.002.

Wilson RI, Nicoll RA. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature*. 2001 Mar 29;410(6828):588-92. doi: 10.1038/35069076.

Woelkart K, Xu W, Pei Y, Makriyannis A, Picone RP, Bauer R. The endocannabinoid system as a target for alkaloids from *Echinacea Angustifolia* (EP107TM) *angustifolia* roots. *Planta Med*. 2005; 71: 701-5. doi: 10.1055/s-2005-871290.