

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMAKOLOGIE A FARMACEUTICKÉ BOTANIKY



DIPLOMOVÁ PRÁCA

***Mitragyna speciosa* Korth (Rubiaceae) – biologická aktivita
sekundárných metabolitov kratomu**

Autor: Stanislav Száras

Vedúci katedry: prof. Ing. Lucia Cahlíková, Ph. D.

Vedúci diplomovej práce: doc. PharmDr. Jakub Chlebek, Ph. D.

Hradec Králové, 2024

CHARLES UNIVERSITY
FACULTY OF PHARMACY IN HRADEC KRÁLOVÉ
DEPT. OF PHARMACOGNOSY AND PHARMACEUTICAL BOTANY



DIPLOMA THESIS

***Mitragyna speciosa* Korth (Rubiaceae) – biological activity of
Kratom secondary metabolites**

Author: Stanislav Száras

Head of Department: Prof. Ing. Lucia Cahlíková, Ph. D.

Supervisor: Assoc. Prof. PharmDr. Jakub Chlebek, Ph. D.

Hradec Králové, 2024

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že táto práca je mojím vlastným autorským dielom, ktoré som vypracoval samostatne pod vedením školiteľa. Použitá literatúra a ďalšie zdroje, z ktorých som čerpal sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci riadne citované. Práca nebola využitá na získanie iného alebo rovnakého titulu.

Hradec Králové, 2024

.....

Podpis

POĎAKOVANIE

Touto cestou by som sa chcel poďakovať vedúcemu práce, doc. PharmDr. Jakubovi Chlebkovi, Ph. D. za jeho mimoriadnu trpezlivosť, ochotu, expertízu a venovaný čas.

OBSAH

Zoznam použitých skratiek.....	8
Zoznam použitých obrázkov.....	10
Zoznam použitých tabuliek.....	11
1. Úvod.....	12
2. Cieľ práce.....	13
3. <i>Mitragyna speciosa</i> Korth.....	14
3.1. Taxonomické zaradenie.....	14
3.1.1. Čeľaď Rubiaceae.....	14
3.1.2. Rod <i>Mitragyna</i> Korth.....	14
3.2. Popis druhu.....	15
3.3. Obsahové látky <i>M. speciosa</i>	17
3.3.1. Alkaloidy.....	17
3.3.1.1. Monoterpenové indolové alkaloidy a ich biosyntéza.....	18
3.3.1.1.3. Mitragynin.....	21
3.3.1.1.4. 7-Hydroxymitragynin.....	21
3.3.1.2. Oxindolové alkaloidy.....	21
3.3.1.2.1. Mitragynin pseudoindoxyl.....	23
3.3.1.3. Totálna syntéza alkaloidov.....	24
3.3.2. Ďalšie typy obsahových látok.....	26
3.3.2.1. Fenolové látky.....	26
3.3.2.2. Terpeny.....	27
3.4. Biologická aktivita sekundárnych metabolitov.....	28
3.4.1. Použitie v ľudovej medicíne.....	30
3.4.2. Antiobezický, antidiabetický a hypolipidemický účinok.....	31

3.4.3. Antioxidačný účinok	32
3.4.4. Antiflogistický účinok	33
3.4.5. Analgetický a antipyretický účinok.....	33
3.4.6. Sedatívny účinok	36
3.4.7. Antidepresívny, antipsychotický a anxiolytický účinok	37
3.4.8. Kognitívne účinky	38
3.4.9. Antidiaroidné a gastrointestinálne účinky	39
3.4.10. Antitusický účinok	40
3.4.11. Antiinvazívny účinok	40
3.4.11.1. Antimikrobiálny účinok	40
3.4.11.2. Anthelmintický účinok	41
3.4.11.3. Antineoplastický účinok	42
3.4.12. Afrodiziakálny účinok	43
3.4.13. Substitučná terapia závislostí (opiáty a alkoholizmus).....	43
3.5. Farmakokinetika sekundárnych metabolitov <i>M. speciosa</i>	45
3.5.1. Absorpcia	45
3.5.2. Distribúcia	46
3.5.3. Metabolizmus a eliminácia	46
3.5.3.1. Inhibičná aktivita voči cytochrómu P450	47
3.5.3.2. Inhibičná aktivita voči uridíndifosfátglukuronosyltransferáze	48
3.5.3.3. Ovlivnenie P-glykoproteínu	48
3.6. Toxicita sekundárnych metabolitov <i>M. speciosa</i>	49
3.6.1. Hepatotoxicita.....	49
3.6.2. Kardiotoxicita	49
3.6.3. Hypotyroidizmus	50
3.6.4. Neurotoxicita.....	50

3.6.5. Nefrotoxicita.....	51
3.6.6. Pulmonálna toxicita	51
3.6.7. Interakcie s liečivami	52
3.6.8. Toxicita a mutagenita	53
3.7. Legislatíva a potenciál zneužitia, závislosti	54
4. Zhrnutie a Záver	56
5. Abstrakt.....	59
6. Abstract	60
7. Použitá literatúra	61

Zoznam použitých skratiek

ABCB1	P-glykoproteín 1
ABCG2	ATP-binding cassette super-family G member 2 (Proteín patriaci do rodiny ABC transportérov)
ACC1	Acetyl-CoA karboxyláza 1
ALT	Alaninaminotransferáza
AST	Aspartátaminotransferáza
AUC	Plocha pod krivkou
BMI	Index telesnej hmotnosti
cAMP	Cyklický adenosínmonosofát
Cl	Clearance
C_{max}	Maximálna koncentrácia
COX	Cyklooxygenáza
DCM	Dichlorometán
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
ED₅₀	Stredná efektívna dávka
FDA	Food and Drug Administration (Úrad pre kontrolu potravín a liečív)
FSH	Folikulostimulačný hormón
GABA	γ -aminomaslová kyselina
gBW	Gram telesnej hmotnosti
GIT	Gastrointestinálny trakt
GLUT1	Glukózový transportér 1
HbA1C	Glykovaný hemoglobín
HDL	Vysokodenzitný lipoproteín
HEB	Hematoencefalická bariéra
hERG	Human Ether-à-go-go-Related Gene (gen kódujúci štruktúru proteínu tvoriaceho α -podjednotku napäťovo riadeného iónového kanálu)
HOMA-IR	Hodnotenie homeostatického modelu pre kvantifikovanie inzulínovej rezistencie
IC₅₀	Stredná inhibičná dávka
IP3	Inositoltrifosfát

LC₅₀	Stredná smrteľná koncentrácia
LDL	Nízkodenzitný lipoproteín
LH	Luteinizačný hormón
MDR	Multidrug resistance protein, P-glykoproteín
oGTT	Orálny glukózový tolerančný test
PGE₂	Prostaglandín E2
P-gp	P-glykoproteín 1
REM	Rapid eye movement (fáza spánku)
SI	Index selektivity
SSRI	Selektívny inhibítor spätného vychytávania serotonínu
T_{1/2}	Biologický poločas
TC	Celkový cholesterol
TFC	Celkový podiel flavonoidov
TG	Triglyceridy
T_{max}	Čas do maximálnej koncentrácie
TPC	Celkový podiel fenolických látok
V_d	Distribučný objem

Zoznam použitých obrázkov

Obr. 1 <i>M. speciosa</i> , jej listy a kvetenstvá	16
Obr. 2 Podtypy indolových alkaloidov prítomných v <i>M. speciosa</i>	17
Obr. 3 Biosyntéza mitragyninu	19
Obr. 4 Štruktúry korynanthových a heteroyohimbanových alkaloidov <i>M. speciosa</i>	20
Obr. 5 Mitragynin	21
Obr. 6 7-hydroxymitragynin	21
Obr. 7 Štruktúry vybraných oxindolových alkaloidov <i>M. speciosa</i>	23
Obr. 8 Mitragynin pseudoindoxyl.....	23
Obr. 9 Kroky syntézy Takayamy et al.	25
Obr. 10 Molekula mitragyninu s popisom kruhov a číslovaním.....	34
Obr. 11 Konformácia mitragyninu a speciociliatinu	34
Obr. 12 Mapa legálneho statusu kratomu v rámci Európy z roku 2021.....	54

Zoznam použitých tabuliek

Tab. 1 Taxonómia <i>M. speciosa</i>	14
Tab. 2 Druhy rodu <i>Mitragyna</i>	15
Tab. 3 Korynanthové a heteroyohimbanové alkaloidy izolované z <i>M. speciosa</i>	20
Tab. 4 Oxindolové alkaloidy prítomné v <i>M. speciosa</i>	22
Tab. 5 Koncentrácie fenolových látok a flavonoidov v extraktoch <i>M. speciosa</i>	26
Tab. 6 Biologická aktivita sekundárnych metabolitov <i>M. speciosa</i>	28
Tab. 7 Antimikrobiálna aktivita extraktu <i>M. speciosa</i>	41
Tab. 8 Výsledky testu cytotoxicity s hodnotami IC ₅₀ na vybraných bunkových líniach.....	43
Tab. 9 Farmakokinetické parametre po podaní mitragyninu.....	45
Tab. 10 Metabolity mitragyninu.....	47

1. Úvod

Mitragyna speciosa Korth. (Rubiaceae), taktiež známy ako „kratom“ je stálezelený tropický strom vysoký 4–16 m rastúci v juhovýchodnej Ázii. Rastlina je využívaná v tradičnej medicíne v Thajsku a priľahlých krajinách aspoň od 19. storočia, a tradične sa užíva na liečenie bolesti, hnačky, kašlu, hypertenzie, depresie a ako substitúcia ópia.¹ Okrem medicínálneho využitia sa kratom užíva sociálne a na prekonanie vyčerpania roľníkmi pri práci na poliach. Užívatelia *M. speciosa* udávajú, že rastlina má analgetické a stimulačné vlastnosti v závislosti na dávke a je často zneužívaná.^{2,3} Kvôli jej vzrastu v popularite na Západe za posledných 20 rokov je predmetom záujmu a jej legalita sa značne mení s vlnou nových regulácií. Jej užitie sa taktiež posunulo hlavne k „alternatívne“ opiátov a tlmeniu bolesti, tlmeniu úzkostí a na depresiu.^{4,5}

M. speciosa obsahuje hlavne monoterpenové indolové alkaloidy a ich deriváty. Majoritným alkaloidom je mitragynin a jeho metabolit 7-hydroxymitragynin, ktoré majú potentné opioidné účinky.¹ Záujem je taktiež o mitragynin pseudoindoxyl, ktorý sa nevyskytuje prirodzene v rastline, ale vzniká *in vivo* a má významne väčší účinok ako mitragynin.⁶ *M. speciosa* ale má potenciál v liečbe aj iných ochorení, ako na príklad diabetes, dyslipidémie, zápalové ochorenia a psychologické poruchy.^{7–9} Taktiež našla použitie v liečbe závislostí na opiátoch a alkoholizme a jej obsahové látky sú vo výzume pre ich využitie v liečbe nádorových ochorení.^{10–13}

Napriek potenciálnym benefitom *M. speciosa*, rastlina nie je bez jej chýb. Kratom má potenciál spôsobovať závislosti ako iné opiáty a spôsobuje hepatické, kardiovaskulárne a renálne poškodenie. Najväčším problémom je riziko vyvolania epileptických záchvatov.^{14–18}

Vlastnosti *M. speciosa* nie sú plne objasnené a je potrebné ich ďalej študovať. V tejto diplomovej práci prejdem šírkou informácií dostupných o *M. speciosa* a jej využití.

2. Cieľ práce

Cieľom mojej práce je sumarizovať dostupné informácie o *Mitragyna speciosa* a načrtnúť potenciálne využitie tohto druhu. V práci sa snažím shrnúť dostupné dáta o fytochémií, biologickej aktivite, farmakokinetike a potenciálnej toxicite *M. speciosa*. Zároveň je mojím cieľom informovať o problematike *M. speciosa*, jej legalite a potenciálu poškodenia, ktorá táto rastlina má. Dáta boli vyhľadávané na databázach PubMed, ScienceDirect a Reaxys. Ako kľúčové slová boli použité slová „mitragynine“, „*Mitragyna speciosa*“, „biological activity“ a „kratom“. Táto práca zahrňuje informácie o biologickej aktivite od roku 1996 až po súčasnosť so zameraním na posledné desaťročie.

3. *Mitragyna speciosa* Korth

3.1. Taxonomické zaradenie

Tab. 1 Taxonómia *M. speciosa*¹⁹

Ríša	Plantae
Oddelenie	Magnoliophyta
Trieda	Rosopsida
Rad	Gentianales
Čeľad'	Rubiaceae
Rod	<i>Mitragyna</i>
Druh	<i>Mitragyna speciosa</i> Korth.

3.1.1. Čeľad' Rubiaceae

M. speciosa. patrí do čeľade Rubiaceae, ktorá je štvrtá najväčšia čeľad' s viac ako 14 000 druhmi a zahrňuje stromy, kery, jednoročné alebo trvalé byliny a taktiež liány.²⁰ Jedince sa vyznačujú protíľahlými alebo praslenovitými listami, ktoré sú zvyčajne celistvookrajové. Na stonke sú vždy prítomné palisty, a u niektorých rodov sa vyskytujú vmedzerené palisty. Kvety sú pravidelné a obojpohlavné, a majú spodné semenníky.¹

Najznámejší rod čeľade Rubiaceae je *Coffea* L., ktorá obsahuje jedny z najvýznamnejších plodín sveta, *Coffea arabica* L. a *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner. Ďalšie významné rody sú *Cinchona* L., *Carapichea* Aubl., taktiež *Psychotria* L. a *Pausinystalia* Pierre ex Beille, ktoré majú využitie nielen v tradičnej medicíne kvôli obsahu biologicky aktívnych látok. Čeľad' taktiež tvorí množstvo druhov pestovaných na okrasné účely.¹

3.1.2. Rod *Mitragyna* Korth.

Rod *Mitragyna* Korth. obsahuje 10 druhov stromov rastúcich v tropickom a subtropickom pásme Afriky a Ázie.²¹ Stromy sú opadavé, polopadavé a stálezelené v širokom rozmedzí výšok, a majú zložité kvetenstvá s elipsoidnými zelenobielymi až žltými kvetmi. Kvety sú opeľované vetrom alebo hmyzom.¹

Druhy sa dajú rozlíšiť do dvoch skupín, respektíve do afrických a ázijských druhov. V rámci skupiny majú stromy podobné charakteristiky a je ich ťažké od seba rozlíšiť. Druhy sú uvedené v tabuľke 2.²¹ *Mitragyna* spp. preferujú rôzne podmienky, od tropických lesov blízko vodných tokov alebo v močariskách, až po aridné podmienky v lokalitách s obdobiami dažďov a sucha.²²

Tab. 2 Druhy rodu *Mitragyna*²³

Africké druhy	Ázijské druhy
<i>M. inermis</i> (Willd.) Kuntze	<i>M. speciosa</i> Korth.
<i>M. ciliata</i> Aubrév. & Pellegr.	<i>M. tubulosa</i> (Arn.) K.Schum.
<i>M. rubrostipulata</i> (K.Schum.) Havil.	<i>M. rotundifolia</i> (Roxb.) Kuntze
<i>M. stipulosa</i> (DC.) Kuntze	<i>M. parvifolia</i> (Roxb.) Korth.
	<i>M. hirsuta</i> Havil.
	<i>M. diversifolia</i> (Wall. ex G.Don) Havil.

Druhy nachádzajú časté použitie v tradičnej medicíne naprieč Áziou a Afrikou. Tradične sa používa buď kôra, listy, alebo korene stromov na liečenie širokého záberu ochorení.²⁴

3.2. Popis druhu

Najviac skúmaným druhom je *Mitragyna speciosa* Korth., taktiež známy ako „kratom“, „ketum“, „biak-biak“ alebo „thom“. Je to stálezelený strom 4–16 metrov vysoký, ale v správnych podmienkach môže dosiahnuť až výšky 25 m. Strom je natívny v Thajsku, Malajzii, Filipínach, Myanmaru a Novej Guinei.¹ *M. speciosa* preferuje vlhké až mokré pôdy bohaté na minerálne látky s vysokým podielom humusu. Vhodné pH pôdy je medzi 5,5 až 6,5. Rastlina rastie v blízkosti vodných tokov alebo v močarínach, v polotieni, ale toleruje aj slnečné podmienky.²⁵ Rastlina je tradične používaná pre medicínne aj rekreačné účely v Thajsku.^{1,2} Používanie kratomu môže vyvolávať závislosť podobnú závislosti na opiátoch.^{26,27}

Listy *M. speciosa* sú tmavozelené a lesklé. Ich čepeľ je eliptická až vajčítá, na vrchole špicatá. Listy majú vmedzerené palisty dlhé 2 až 4 cm. Žilnatina je silne vystúpená a perovitá, môže mať zelenú, načervenalú alebo bielu farbu v závislosti na veku stromu a rastovom štádiu listov. Žilnatina je rozdelená do 11 až 17 párov žiliek. Kvety sú usporiadané v guľovitých kvetenstvách ako u ostatných druhov rodu *Mitragyna*, sú obojpohlavné a rastú v trojiciach. Od iných druhov sa dajú rozlíšiť prítomnosťou takzvaných mitriformných blizien (v tvare biskupskej mitry). Kvety sú tubulárne a majú zelenobielu až žltú farbu. Kvetenstvá obsahujú až 120 kvetov. Plody sú usporiadané v guľovitom plodenstve s priemerom 20 až 30 mm. Peľové zrná sú sferoidné až podlhovasté s priemerom 20 až 30 mikrometrov. Exina má sieťovitú štruktúru. Peľ je trizonokolporatný, zrná majú tri póry a tri kolpy. Kolpy sú predĺžené a rovnomerne rozmiestnené po šírke peľového zrna. Kmeň stromu je hladký a rovný, vonkajšia borka je šedá, vnútorná je jemne rúžová. Kmene dospelých jedincov môžu byť až 4 m široké.

Klenba stromu má rozpätie až 4,5 m.²⁸ Strom je možné rozmnožovať pomocou odrezkov, ktoré majú najlepšiu schopnosť prežitia vo vysokej relatívnej humidite nad 80 % a teplote 25–30 °C.²⁹



Obr. 1 *M. speciosa*, jej listy a kvetenstvá³⁰

3.3. Obsahové látky *M. speciosa*

M. speciosa obsahuje široké rozpätie látok. Najvýznamnejšie sú indolové a oxindolové alkaloidy, ktoré budú popísané v individuálnych kapitolách. Aktivita obsahových látok bude popísaná vo vlastnej kapitole.

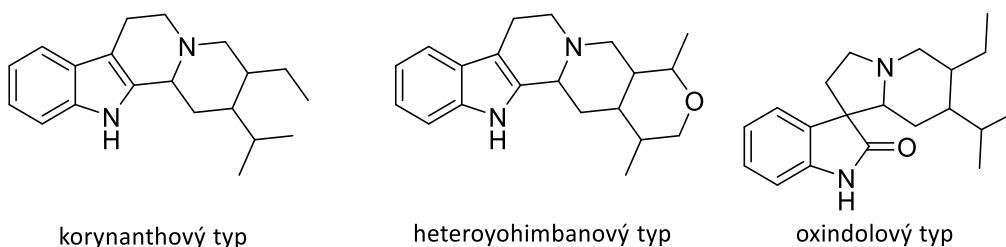
Historicky bol prvý izolovaný alkaloid mitragynin v 60. rokoch 20. storočia.³¹ Pre extrakciu alkaloidov sa najčastejšie používa metanol, etanol, isopropanol alebo *n*-butanol a následná kyslá alebo zásaditá extrakcia pre získanie alkaloidnej frakcie.¹ Ďalšie metódy extrakcie sú ultrazvuková extrakcia, mikrovlnná extrakcia a extrakcia superkritickým oxidom uhličitým. Mikrovlnná extrakcia poskytla najvyššie množstvo frakcie alkaloidov, zatiaľ čo ultrazvuková extrakcia vykázala najväčší výťažok špecificky pre mitragynin.³²

Okrem alkaloidov *M. speciosa* taktiež obsahuje flavonoidy, monoterpeny, triterpeny, triterpenické saponiny, sekoiridoidy, iridoidné glykosidy, a ďalšie fenolové látky.^{33–35}

M. speciosa vykazuje výskyt viacerých chemotypov, špecificky varietu s nízkym, respektíve vysokým obsahom speciofolinu.³⁶ Taktiež veľký podiel v množstve alkaloidov hrá lokalita, kde strom rastie.¹ Na príklad jedince rastúce v USA obsahujú významne menšie množstvo mitragyninu ako druhy rastúce v Thajsku. Jedince rastúce v Malajzii obsahujú približne 12 % mitragyninu z celkového podielu alkaloidov, zatiaľ čo jedince v Thajsku obsahujú približne 66 % mitragyninu z celkového podielu alkaloidov.³⁷

3.3.1. Alkaloidy

Mnoho účinkov *M. speciosa* sa viaže k monoterpenovým indolovým alkaloidom prítomných v rastline. Viac ako 54 látok bolo identifikovaných v *M. speciosa*. Alkaloidy spadajú do podtypov korynanthových, heteroyohimbanových a oxindolových alkaloidov.³⁸ Rozsah monoterpenových indolových alkaloidov je limitovaný na tieto tri podskupiny kvôli neprítomnosti geissoschizinoxidázy a iných P450 monoxygenás.³⁸



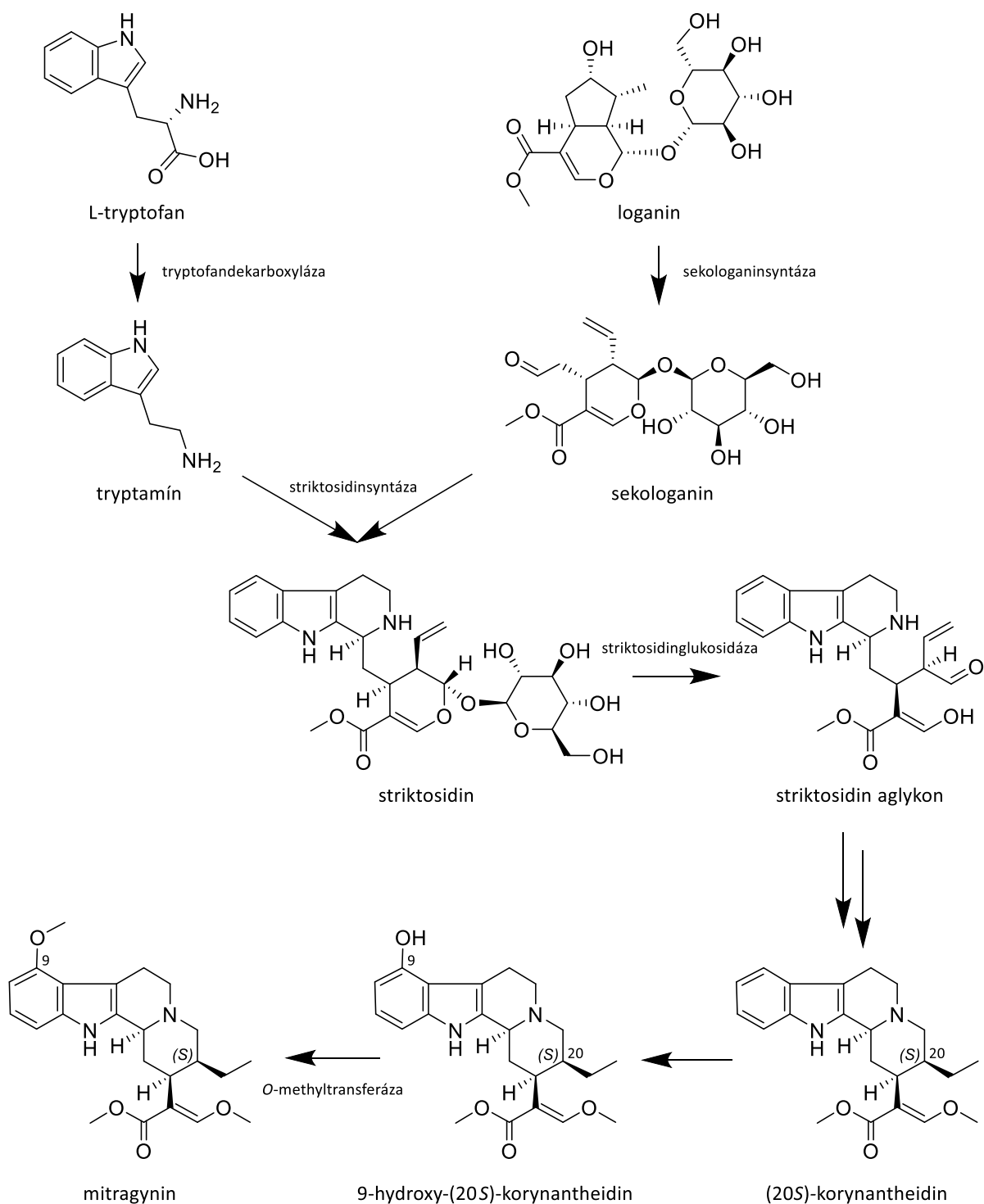
Obr. 2 Podtypy indolových alkaloidov prítomných v *M. speciosa*³⁸

Distribúcia alkaloidov v *M. speciosa* závisí na veku stromu. Alkaloidy sú prítomné v listoch, plodoch a v borke koreňov a stonky. Mladšie jedince obsahujú mimo mitragyninu, paynantheinu, speciogyninu a speciociliatinu taktiež mitraciliatin a isopaynanthein. Speciogynin je hlavný alkaloid mladších rastlín.^{39,40} Mladšie stromy taktiež obsahujú mitragynalin, korynantheidinalin, kyselinu mitragynalinovú a kyselinu korynantheidinalinovú, ktoré sú v starších listoch prítomné len v stopových množstvách.⁴¹ Mitragynin a 7-hydroxymitragynin, jedny z najvýznamnejších alkaloidov, majú najvyššiu expresiu v starších listoch.⁴²

3.3.1.1. Monoterpenové indolové alkaloidy a ich biosyntéza

Indolové alkaloidy majú ako svoj prekursor L-tryptofan. L-tryptofan je dekarboxylovaný tryptofandekarboxylázou na tryptamin a následne sa zlučuje so sekologaninom vznikajúcim metylerythritolfosfátovou dráhou za pomoci striktosidinsyntházy za vzniku korynanthového alkaloidu striktosidinu. Alkaloidy *M. speciosa* sa následne odvíjajú od striktosidinu. Striktosidin sa cez intermediáty premieňa na (20S)-korynantheidin a následne na 9-hydroxy-(20S)-korynantheidin, ktorý je priamy prekursor mitragyninu a premieňa sa naň po metylácii hydroxy skupiny v polohe 9. Jeho ďalšie stereoizoméry sa odvíjajú analogicky od zvyšných diastereomérov korynantheidinu. Biosyntéza je uvedená v obrázku 3.^{1,43}

Biosyntéza indolových alkaloidov *M. speciosa* bola preukázaná *in vivo* v modifikovaných kvasinkách *Sacharomyces cerevisiae* pridaním tryptamin-4-hydroxylázy do zmesi enzýmov. Tento krok zabezpečil nasledujúcu premenu 4-hydroxytryptaminu na 9-hydroxykorynantheidin. Po pridaní *Hamelia patens* 9-O-metyltransferázy vznikol mitragynin s koncentráciou 0,145 mg/ml.⁴³



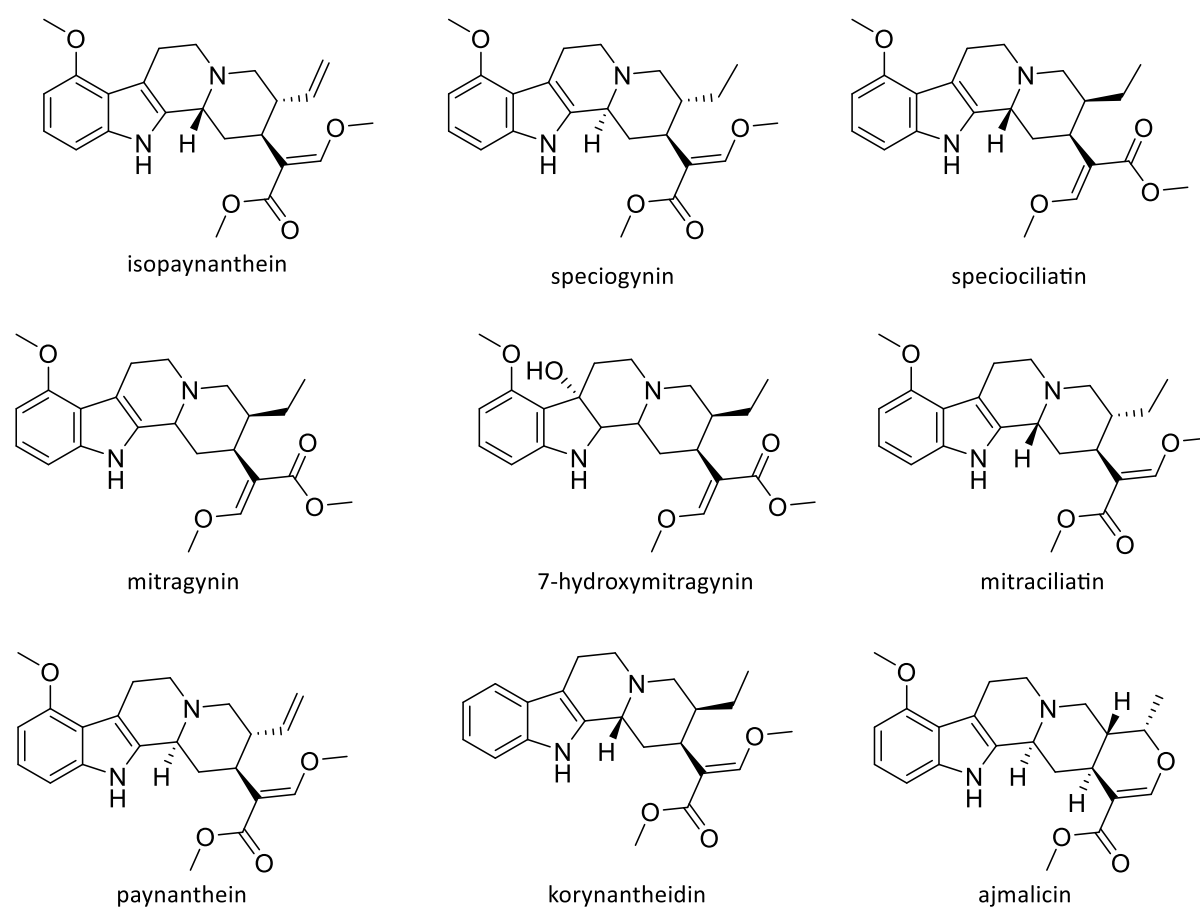
Obr. 3 Biosyntéza mitragyninu ^{1,43}

Indolové alkaloidy *M. speciosa* majú rozdielnu stereochemiu na C3 a C20, rozdiel v saturácii na C18,19 a hydroxylácii na C7 a C9. Najvýznamnejšie sú mitragynin, 7-hydroxymitragynin, speciogynin, korynantheidin a ajmalicin. Korynanthové a heteroyohimbanové alkaloidy môžu byť ďalej oxidované na oxindolové alkaloidy ako

rhynchophyllin a mitraphyllin.³⁸ Zástupcovia indolových korynanthových a heteroyohimbanových alkaloidov prítomných v *M. speciosa* sú zobrazené v tabuľke 3.

Tab. 3 Korynanthové a heteroyohimbanové alkaloidy izolované z *M. speciosa*³¹

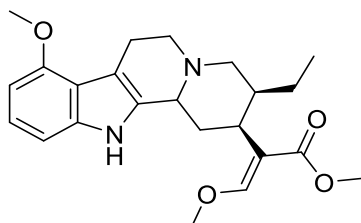
mitragynin	paynanthein
7-hydroxymitragynin	ajmalicin
korynantheidin	speciociliatin
mitralaktonal	speciogynin
mitragynin- <i>N</i> (4)-oxid	mitralaktonin
kys. 9-metoxykorynantheidinalinová	isopaynanthein
mitraciliatin	mitragynalin
7-hydroxymitraciliatin	3,4,5,6, <i>N</i> -tetrahydromitragynin
isopaynanthein- <i>N</i> (4)-oxid	speciociliatin- <i>N</i> (4)-oxid
9-metoxymitralaktonin	kys. mitragynalinová
kys. korynantheidinalinová	<i>epiallo</i> -isopaynanthein
isokorynantheidin	korynantheidin
7-hydroxyspeciociliatin	3-dehydromitragynin
mitrasulgynin	<i>epiallo</i> -isopaynanthein- <i>N</i> (4)-oxid



Obr. 4 Štruktúry korynanthových a heteroyohimbanových alkaloidov *M. speciosa*³¹

3.3.1.1.3. Mitragynin

Mitragynin je korynanthový alkaloid podobný yohimbinu a voacanginu. Prvý krát bol izolovaný v roku 1965 a v tom istom roku bola potvrdená jeho štruktúra pomocou hydrojodidovej soli mitragyninu.^{44,45} Koncentrácia mitragyninu v listu je približne 1–6 % v závislosti na veku a variete rastliny a tvorí približne 66 % celkového podielu alkaloidov v jedincoch z Thajska.³⁷

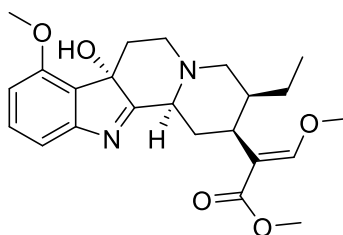


Obr. 5 Mitragynin

Mitragynin je stredne lipofilný s hodnotou logP 1,73. Je to slabá zásada a nie je dobre rozpustný vo vode s rozpustnosťou <math><100 \mu\text{g/ml}</math>.⁴⁶ Alkaloid je dobre rozpustný v kyslých podmienkach, v ktorých sa ale zároveň rozpadá. Pri pH 4 je rozpustnosť mitragyninu $3,5 \pm 0,01$ mg/ml. Hodnota pK_a bola stanovená na 8,11–8,3.⁴⁷ Jeho teplota tavenia je medzi 103–105°C.⁴⁸ Látka je amorfná a ako zbytok prítomných indolových alkaloidov má žlté sfarbenie.⁴⁹ Významnosť mitragyninu spočíva v jeho aktivite na opioidných receptoroch, špecificky na μ -opioidných receptoroch a δ -opioidných receptoroch.⁵⁰

3.3.1.1.4. 7-Hydroxymitragynin

7-hydroxymitragynin je v rastline obsiahnutý vo veľmi malých množstvách, približne 0,05 % suchej hmoty listu. Jeho význam je pre podstatne vyššiu aktivitu na opioidných receptoroch ako mitragynin.⁵¹ Je to žltá, kryštalická látka.⁵²



Obr. 6 7-hydroxymitragynin

3.3.1.2. Oxindolové alkaloidy

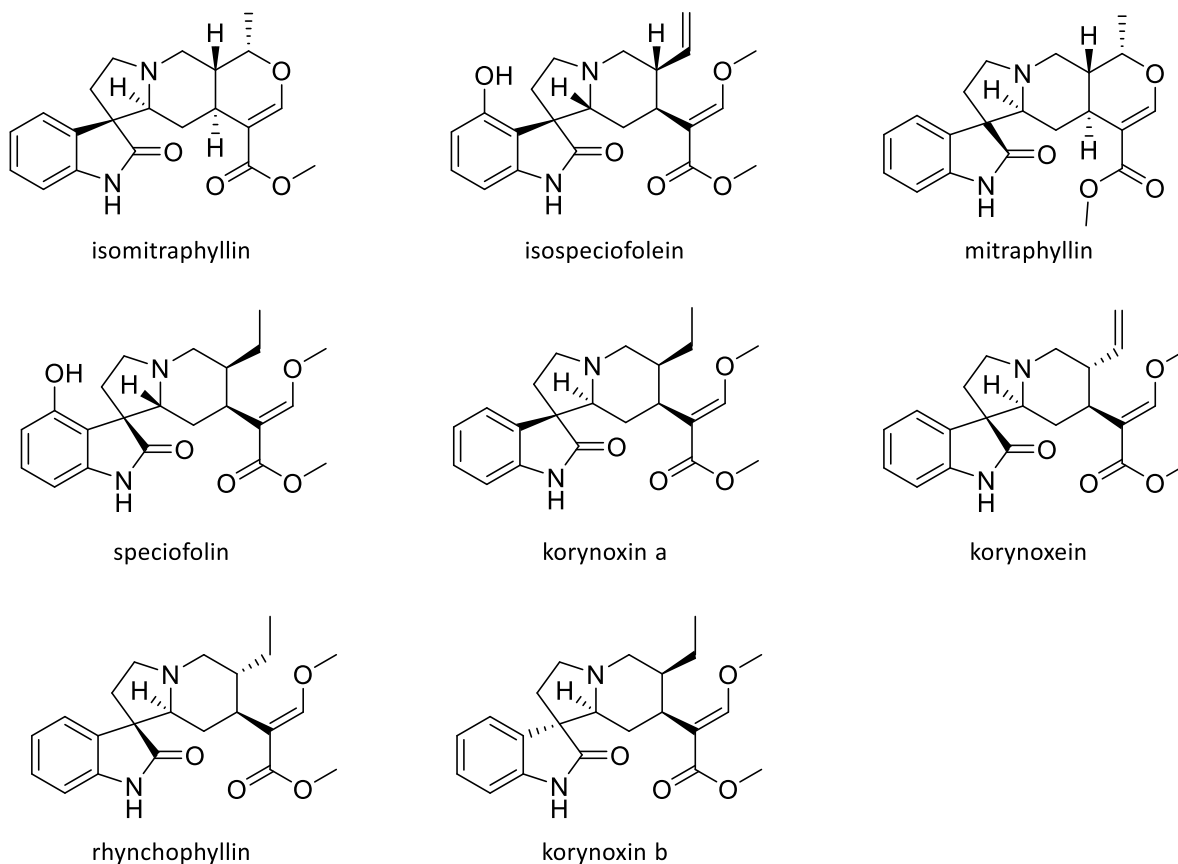
Oxindolové alkaloidy sú deriváty 1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onu. Oxindoly obsahujú benzénový kruh spojený s pyrrolovým kruhom a karbonylom na C2. Deriváty oxindolov našli svoj úžitok v medicíne, na príklad ropinirol na liečbu Parkinsonovej choroby ako agonista na

dopamínových receptoroch, alebo ziprasidon, ktorý je atypické antipsychotikum. Kvôli karbonylovej skupine na C2 oxindoly existujú v keto-enol tautomerických formách. Oxindoly sú v aktívnom výskume pre ich vlastnosti: inhibícia α -glukosidázy, antineoplastickú aktivitu, antidiabetickú aktivitu, neuroprotekciiu, antioxidačnú aktivitu a antibakteriálnu aktivitu.⁵³

Oxindolové alkaloidy prítomné v *M. speciosa* sú uvedené v tabuľke 4.

Tab. 4 Oxindolové alkaloidy prítomné v *M. speciosa*³¹

mitragynin oxindol A	mitragynin oxindol B
mitraphyllin	rhynchocilin
mitrafolin	isorhynchophyllin
korynoxin A	korynoxin B
rotundifolein	speciophyllin
isospeciofolin	isomitrafolin
rhynchophyllin	isorotundifolein
isokorynoxin	isospecionoxein
isomitraphyllin	ciliaphyllin
speciofolin	isorotundifolin
rotundifolin	3- <i>epi</i> -rhynchophyllin
3- <i>epi</i> -korynoxin b	isospeciofolin
korynoxin	specionoxein

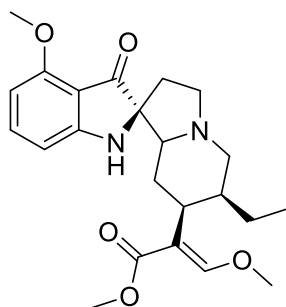


Obr. 7 Štruktúry vybraných oxindolových alkaloidov *M. speciosa* ³¹

Štúdie na biosyntézu oxindolových alkaloidov sú limitované, ale Shellard et al. teorizoval, že biosyntéza v druhoch *Mitragyna* spp. prebieha buď už pri kondenzácii loganinu s tryptaminom s tým, že β -kondenzácia vyúsťuje do vzniku oxindolových alkaloidov, alebo transformáciou prítomných indolových alkaloidov na oxindolové deriváty. ⁵⁴

3.3.1.2.1. Mitragynin pseudoindoxyl

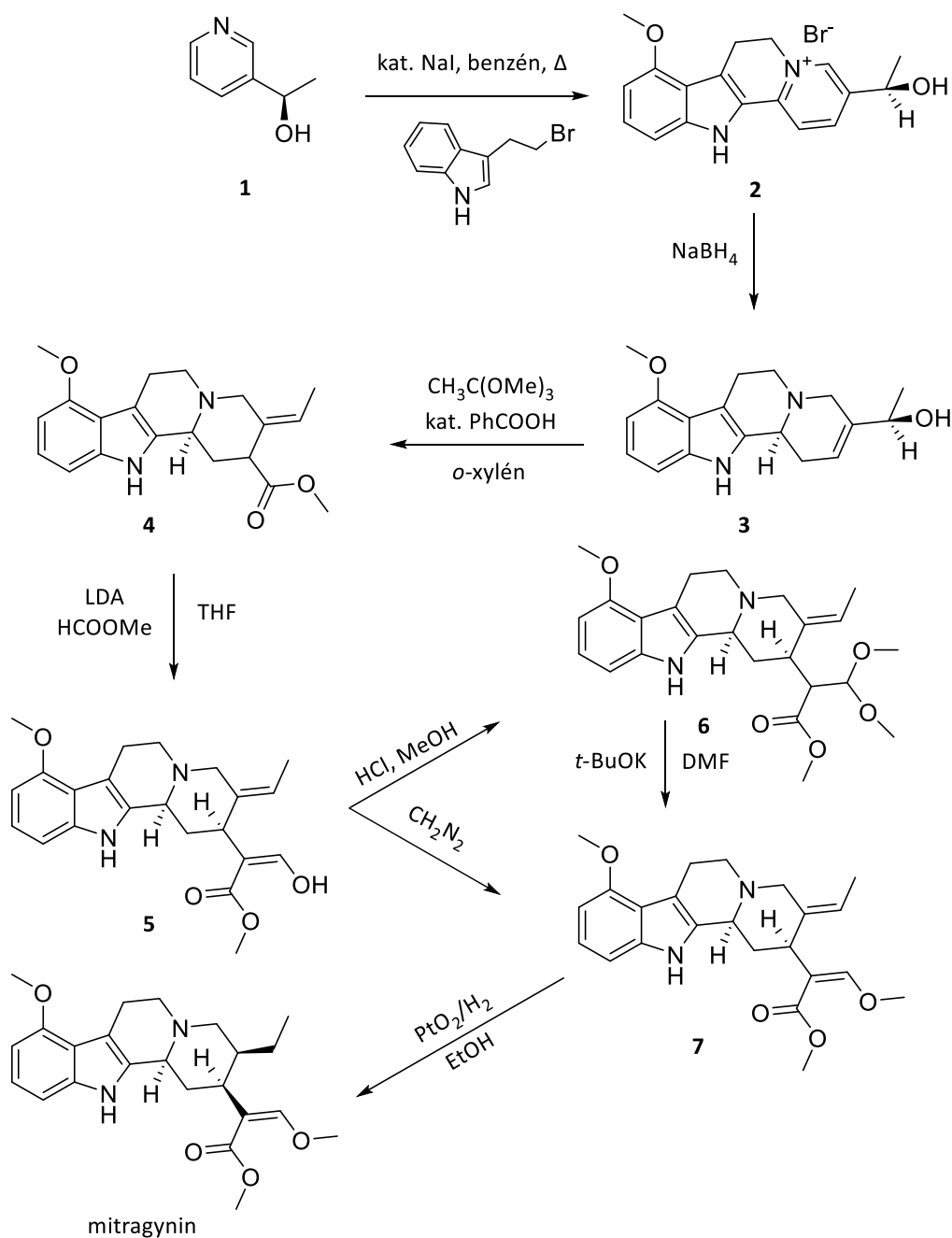
Mitragynin pseudoindoxyl sa prirodzene nenachádza v *M. speciosa*, ale Zarembo et al. hlásia, že jedince nakazené hubami *Helminthosporum* sp. sú schopné konverzie mitragyninu na mitragynin pseudoindoxyl a hydroxymitragynin pseudoindoxyl. ⁵⁵ Mitragynin pseudoindoxyl taktiež vzniká *in vivo* v krvi konverziou 7-hydroxymitragyninu. ⁵⁶



Obr. 8 Mitragynin pseudoindoxyl

3.3.1.3. Totálna syntéza alkaloidov

Mitragynin a ďalšie indolové alkaloidy *M. speciosa* boli úspešne syntetizované pri laboratórnych podmienkach. Prvý krát bol mitragynin úspešne syntetizovaný Takayamou et al. v roku 1995 pomocou stratégie vyvinutej Zieglerom a Winterfeldtom.⁵⁷ Boli navrhnuté 2 syntóny (štruktúrne jednotky, ktoré majú vzťah k možným syntetickým operáciám) – derivát 4-metoxyindolu a chirálny derivát pyridínu. Dôležité bolo usporiadanie *R* na počiatočnom alkohole pre Claisenov prešmyk. Použitý alkohol bol (*R*)-(+)-3-pyridyl-1-etanol (**1**), ktorý bol pripravený hydrolýzou esteru a chirálnou redukciou. Alkohol následne reagoval s pripraveným 4-metoxytryptofylbromidom za vzniku zlúčeniny **2**. Po redukcii vznikala zlúčenina **3** a jej stereoizomér. Zlúčenina **3** následne prešla Claisenovým prešmykom na acetát **4**. Na acetát bola zavedená formylová skupina a vznikla zlúčenina **5**. Kvôli nízkemu výnosu reakcie s diazometánom bola zlúčenina **5** prevedená na dimetylacetal **6**, kde po reakcii s *tert*-butoxidom draselným vznikol vhodný metylenoléter **7**. Po redukcii v atmosfére vodíku za prítomnosti oxidu platičitého ako katalyzátoru vznikol finálny produkt (–)-mitragynin.⁵⁸



Obr. 9 Kroky syntézy Takayamy et al. ⁵⁸.

Jedna skupina použila 4-metoxytryptofan ako počiatočnú molekulu syntézy cez asymetrickú syntézu riadenú chirálnym pomocníkom. Ďalšia skupina úspešne položila základy syntézy korynanthových alkaloidov bez 9-metoxy skupiny pomocou enantioselektívnej Pictet-Spengler cyklizácie s použitím dinaftyľfosforečnej kyseliny ako katalyzátoru. Tá istá skupina demonštrovala syntézu mitragyninu a jeho diasteromeru speciogyninu. Skupina použila 4-metoxytryptamin allylovaný na dusíku ako počiatočnú molekulu enantioselektívnej Pictet-Spengler cyklizácie s chininovým derivátom thiomocoviny ako katalyzátor. Celková syntéza

mala 9 krokov a výsledne priniesla finálne produkty. S úpravami bol syntetizovaný i paynanthein.^{43,59,60}

Taktiež bol syntetizovaný alkaloid mitragynin pseudoindoxyl, ktorý je agonistický na opioidných receptoroch s vyššou afinitou ako mitragynin.. Ako prekursor bol použitý izolovaný mitragynin, ktorý bol následne oxidovaný octanom olovičitým na 7-acetoxymitragynin, ktorý reagoval s metanolátom sodným za vzniku mitragynin pseudoindoxylu. Kim et al. úspešne syntetizovali mitragynin pseudoindoxyl a 11-metoxymitragynin pseudoindoxyl s počiatočnou molekulou Geissman-Waiss laktónu.⁶¹

V hľadaní nových molekúl s opioidnou aktivitou boli syntetizované i ďalšie alkaloidy *M. speciosa*, a to 7-hydroxyspeciogynin a 7-hydroxypaynanthein, ktoré vykazovali aktivitu na δ -opioidnom receptore, ale oproti 7-hydroxymitragyninu vykazovali nižšiu aktivitu na μ -opioidný receptor.⁶²

3.3.2. Ďalšie typy obsahových látok

3.3.2.1. Fenolové látky

M. speciosa taktiež obsahuje fenolové látky vznikajúce šikimátovou cestou a jej kombináciou s acetátovou cestou.⁶³ Napriek malému množstvu dát, štúdie ukázali prítomnosť fenolových látok v *M. speciosa*. Rastlina obsahuje flavonoidy, fenolové kyseliny a ich glykosidy. Z ďalších druhov rodu *Mitragyna* boli taktiež izolované lignany.¹

Limcharoen et al. stanovil celkový podiel fenolových látok (TPC) a celkový podiel flavonoidov (TFC) v metanolovom, etanolovom a vodnom extrakte listov *M. speciosa*. TPC bolo štandardizované na ekvivalent kyseliny gallovej a TFC na ekvivalent kvercetínu. TPC a TFC sú uvedené v tabuľke 5 v závislosti na druhu extraktu.³⁴

Tab. 5 Koncentrácie fenolových látok a flavonoidov v extraktoch *M. speciosa*³⁴

Typ extraktu	TPC (mg/g)	TFC (mg/g)
Etanolový	252,92±1,15	26,07±0,01
Metanolový	159,30±2,01	13,15±0,09
Vodný	130,58±0,68	0,82±0,02

Celkovo boli identifikované tieto fenolové látky mimo flavonoidov: kyselina chinová, kyselina kávová, kyselina chlorogenová, kyselina neochlorogenová, kyselina 4,5-dikaffeoylchinová, fraxin, 3,4-dihydroxybenzaldehyd a kumarin.⁶³

Z flavonoidov *M. speciosa* obsahuje hlavne kvercetin a jeho glykosid rutin, ďalšie glykosidy kvercetinu ako kvercitrin, isokvercitrin, hyperosid a kvercetin-3-*O*-galaktosid-7-*O*-rhamnosid, apigenin a jeho glykosidy apigenin-7-*O*-glukosid, apigenin-7-*O*-rhamnosid, a kaempferol a jeho 3-*O*-glukosid. Izolovaný bol aj epikatechin. ^{1,34,35}

3.3.2.2. Terpeny

Druhy rodu *Mitragyna* obsahujú terpeny. Z monoterpenov obsahuje *M. speciosa* 3-oxo- α -ionyl-*O*- β -D-glukopyranosid a roseosid. Zo sekoiridoidných glykosidov boli identifikované vogelosid a epivogelosid. V koreňoch *M. speciosa* napadnutých *Agrobacterium rhizogenes* bola objavená kyselina ursonová a oleanová.⁶⁴ Z listov boli izolované triterpenové saponiny odvodené od chinovovej kyseliny, a to 3-*O*- β -D-chinovopyranosid a 3-*O*- β -D-glukopyranosid.¹ Taktiež boli izolované fytosteroly, a to sitosterol, stigmasterol a daukosterol. ⁶⁴

3.4. Biologická aktivita sekundárných metabolitov

M. speciosa sa používa ako stimulans, relaxans a liek na bolesť. V posledných rokoch sa ale ukazuje jej význam v širšom rozmedzí užití, ako liečba závislostí na opiátoch, psychostimulačný a antipsychotický efekt, a zlepšenie kognitívnych a fyzických schopností. ³⁸

Najvýznamnejší účinok je prostredníctvom aktivity na supraspinálnych μ -opioidných a δ -opioidných receptoroch a inhibíciou bolestivých podnetov. Narozdiel od tradičných opiátov majú alkaloidy *M. speciosa* špecifický spôsob agonismu funkčnou selektivitou na receptoroch a nižšiu afinitu na špecifické receptory. Okrem toho interagujú s dopaminergnými, adrenergnými a serotonergnými receptormi. V testoch väzbovosti pomocou rádioligandov bol preukázaný inhibičný efekt *in vitro* na 5-HT_{2C}, α_2 -, D₂- a 5-HT₇ receptoroch. Mitragnin taktiež potenciálne bokuje neuronálne Ca²⁺ kanály. ³⁸

Aktivita sekundárných metabolitov je zhrnutá v tabuľke 6. Každá časť bude popísaná v individuálnych kapitolách so zameraním na danú aktivitu. Celková farmakológia *M. speciosa* nie je plne popísaná a je potrebné ju ďalej preskúmať.

Tab. 6 Biologická aktivita sekundárných metabolitov *M. speciosa*

Použitie	Efekt	Literatúra
Antiobezikum, antidiabetikum, hypolipidemikum	Zníženie BMI a priemernej hmotnosti	65
	Inhibícia α -glukosidázy a pankreatickej lipázy	34,66
	Inhibícia akumulácie tuku cez ACC1	66
	Zníženie glykémie a zlepšenie inzulínovej senzitivity	7
	Zvýšená regulácia GLUT1	67
	Zníženie hladiny TC, TG, LDL a zvýšenie hladiny HDL	7
Antioxidačná aktivita	Zhášanie voľných radikálov pri fyziologickom pH	12,68
Antiflogistická aktivita	Sníženie expresie COX1 a COX2, inhibícia produkcie PGE ₂	8
Analgetická a antipyretická aktivita	Aktivita na supraspinálnych opioidných receptoroch	69,70
	Aktivita na adrenergných receptoroch	71–73
	Inhibícia neuronálnych Ca ²⁺ kanálov	74
	Zníženie hypertermie pomocou aktivity na COX	75
Sedatívna aktivita	Sedatívny účinok u etanolového extraktu	76
	Potlačený korneálny reflex a reflex otočenia	

Tab. 6 Biologická aktivita sekundárnych metabolitov *M. speciosa* (pokračovanie)

Použitie	Efekt	Literatúra
Antidepresívna, antipsychotická a anxiolytická aktivita	Aktivita na α_2 -, D_1 -, D_2 -, $5-HT_{1A}$ - $5-HT_{2C}$ -, $5-HT_7$ - a CB_1 -receptoroch	5,77
	Významný efekt v behaviorálnych testoch naznačujúci antidepresívnu aktivitu podobnú SSRI	9
	Absencia ovlivnenia parametrov REM spánku narozdiel od SSRI	9
	Potenciálna GABAergná aktivita	78
	Akútny anxiolytický efekt	79
Kognitívne účinky	Zníženie času sociálnych interakcií u potkanov	80
	Zhoršenie referenčnej pamäti a vizuálneho učenia	78,81
	Vysoké dávky (500 mg/kg) paradoxne zlepšujú konsolidáciu pamäte	82
Gastrointestinálne účinky	Antidiaroidná aktivita	83
	Inhibičný efekt na sekréciu žalúdočnej kyseliny	84
	Spasmolytická aktivita na GIT	85
Antitusická aktivita	Tlmenie kašľa prostredníctvom aktivity na presynaptických opioidných receptoroch	86
Antimikrobiálna aktivita	Virucidný účinok na SARS-CoV-2	87
	Inhibičná aktivita voči <i>S. typhi</i> a <i>B. subtilis</i>	68
Anthelmintická aktivita	Antiparazitický účinok na larvách <i>Strongyles</i>	88,89
Antineoplastická aktivita	Antiproliferatívna aktivita s vysokou selektivitou na kolorektálny karcinóm	12
	Indukcia apoptózy	12
	<i>In silico</i> účinok na karcinóm prsníka	90
	Zníženie produkcie cytokínov stimulovanej lipopolysacharidmi	13
Afrodiziakálna aktivita	Blokáda $5-HT_{2A}$ a stimulácia α_2 receptorov	91
	Zvýšenie hodnôt testosterónu, LH, FSH a prolaktínu	92
Substitučná terapia závislostí	Zníženie fyzickej závislosti a zmiernenie abstinenčných symptómov	10
	Indukcia hyperalgézie rovnako ako klasické opiáty	10
	Zníženie príjmu alkoholu	11

3.4.1. Použitie v ľudovej medicíne

Mnoho druhov rodu *Mitragyna* sa používa v tradičnej medicíne. Kratom našiel použitie v juhovýchodnej Ázii „od veky vekov“. ² Tradične sú používané listy, ktoré sa žujú, alebo sa z nich pripravuje čaj. V Malajzii sa používa pri hojení rán, na horúčky a ako náhrada za ópium. V Thajsku sa využíva na liečenie bolesti, hnačky, diabetu a hojenie rán. ^{1,2,93} Okrem užitia v tradičnej medicíne sa drevo *M. speciosa* používa pri výrobe dýh a PDP dosiek. ²⁹

Historicky boli užívatelia kratomu robotníci, roľníci a farmári, ktorí konzumovali kratom s účelom zníženia únavy, hladu, zvýšenia odolnosti k slnku a ťažkej práci, a k preklenutiu stresových období. V období nedostatku ópia sa kratom využíval ako substitúcia za ópium. Prvé zmienky o použití kratomu ako substitučná liečba závislosti na ópiu boli v roku 1940. ^{3,94}

V Thajsku v roku 2003 bolo odhadnuté, že približne 221 600 osôb používalo kratom v posledných 30 dňoch. Užívatelia boli hlavne muži stredného veku. V porovnaní s mužmi, ženy užívajú kratom menej často a s väčšou pravdepodobnosťou ho užívajú na liečebné účely. V poslednej dobe sa droga významne rozšírila s odhadmi počtu užívateľov medzi 2,9 až 12 % populácie Thajska. Rekreačné užívanie kratomu je tým pádom pomerne bežné. Voľný predaj kratomu v kaviarňach a čajovňách prispieva k rozšíreniu užívania kratomu. ^{2,95–97}

V južnej časti Thajska nie je používanie kratomu považované ako branie drog a je skôr brané ako súčasť každodenného života. Kratom nemá využitie len medicínalne, ale je súčasťou každodenných sociálnych rituálov a slavností. ⁹⁸

Na Západe sa kratom využíva hlavne pre svoje analgetické vlastnosti ako „bezpečná a prírodná“ náhrada za opiáty. Niektorí ho využívajú pri samoliečbe alkoholizmu alebo syndrómu vysadenia opiátov. ^{4,5}

V online prieskume užívateľov kratomu v USA bola väčšina užívateľov muži európskeho pôvodu v strednom veku s univerzitným vzdelaním a v strednej triede. Kratom bol najčastejšie používaný ako analgetikum, na tlmenie úzkostí a na depresiu. Niektoré skupiny používali kratom na posttraumatické stresové poruchy a bipolárnu poruchu. Väčšina užívateľov odporúčala používať kratom pre tlmenie bolesti alebo problémy s náladou. ⁹⁹ Ďalší prieskum taktiež potvrdil prevalenciu kratomu medzi užívateľmi opiátov so záujmom znížiť použitie ilegálnych drog. ⁴

Jeden článok informoval o popularite kratomu medzi univerzitnými študentmi v USA. Kratom pijú ako čajový a sociálny rituál. Článok poznačuje dostupnosť kratomu v kamenných predajňách, čajovňách a smart shopoch v USA ¹⁰⁰

Online predajcovia kratomu radia kratom do mnoho typov a kategórií, buď podľa údajnej kvality, farby žilnatiny alebo pôvodu, ako na príklad „*premium*“ alebo „*commercial grade*“, Bali kratom, Indo red vein, red/white/green vein Thai kratom, Maeng da, Borneo, Sumatra“, a ďalšie.¹

3.4.2. Antiobezický, antidiabetický a hypolipidemický účinok

Pravidelní užívatelia kratomu majú v priemere nižšie hodnoty BMI a krvných triglyceridov.⁶⁵ Kvôli tomu boli zkúmané potenciálne antiobezické a hypolipidemické účinky *M. speciosa*. Jedna štúdia preukázala účinok extraktu kratomu voči α -glukosidáze. Etanolový extrakt *M. speciosa* inhiboval enzým s hodnotou strednej inhibičnej koncentrácie (IC_{50}) $19,9 \pm 1,34 \mu\text{g/ml}$. Sila inhibície je významne vyššia ako akarbóza. Štúdia ukázala, že mitragynin je nekompetitívny inhibitor α -glukosidázy s hodnotou K_m $0,3 \mu\text{M}$. V kombinácii s akarbózou bola aktivita α -glukosidázy dvakrát nižšia ako pri užití akarbózy samej o sebe.³⁴

Extrakt kratomu taktiež vykazuje aktivitu na pankreatickej lipáze. Etanolový extrakt vykazoval silnú inhibíciu tohoto enzýmu (IC_{50} $41,43 \pm 3,32 \mu\text{g/ml}$). Hodnota IC_{50} bola 30× vyššia ako hodnota orlistatu. Mitragynin vykazuje aktivitu ako kompetitívny inhibítor ale s nižšou inhibíciou ako orlistat.³⁴ Za aktivitu extraktu je zodpovedný okrem mitragyninu hlavne kvercetin ($IC_{50} = 5,80 \mu\text{M}$). Rutin neinhiboval ani α -glukosidázu, ani lipázu.⁶⁶

Ďalší mechanizmus účinku extraktu je cez inhibíciu akumulácie tuku. V jednej štúdii bol prezentovaný mechanizmus prostredníctvom inhibície Acetyl-CoA-karboxylázy 1 (ACC1). Extrakt kratomu znižoval akumuláciu tuku pri koncentrácii $10 \mu\text{g/ml}$ o 17–25 %, v závislosti na odrode v porovnaní s vehikulom. Za tento efekt bol zodpovedný kvercetin, mitragynin nemal efekt na aktivite ACC1.⁶⁶

V štúdii na potkanoch s indukovaným diabetom 2. typu bol porovnávaný extrakt kratomu voči metforminu v dávke 100 a 400 mg/kg extraktu kratomu a 200 mg/kg metforminu. V skupine s indukovaným diabetom pomocou streptozocinu sa snížila hmotnosť potkanov. Po aplikácii kratomu alebo metforminu sa ich váha priblížila k predchádzajúcim hodnotám. Extrakt kratomu snížil príjem vody a jedla v porovnaní s kontrolnou skupinou. Extrakt kratomu taktiež znížil priemernú hodnotu glukózy v krvi, zlepšil výsledky v oGTT testu

a znížil priemerné hodnoty HbA1c v porovnaní s kontrolnou skupinou. Tiež boli pozorované zvýšené sérové hladiny inzulínu a snížené hodnoty HOMA-IR markerov. V rámci štúdie boli taktiež sledované hodnoty totálneho cholesterolu, triglyceridov, LDL-c a HDL. Po indukovaní diabetu sa hodnoty TC, TG, a LDL-c významne zvýšili, ale po aplikácii kratomu sa opätovne snížili. Kratom taktiež zvýšil sérové hladiny HDL. ⁷

V štúdiu z roku 2022 bola pozorovaná znížená hmotnosť a užší obvod pasu u užívateľov kratomu oproti kontrolnej skupine. Obvod pasu v skupine užívateľov bol $83,61 \pm 9,77$ cm oproti $86,11 \pm 10,17$ cm v kontrolnej skupine. V skupine užívateľov spadalo do BMI kategórie nadváhy 22,5 % užívateľov a do kategórie obezity 4,9 % užívateľov s priemerným BMI $23,09 \pm 3,92$. V kontrolnej skupine boli hodnoty významne vyššie s 33,1 % v skupine nadváhy a 14,5 % v skupine obezity s priemerným BMI $25,24 \pm 4,76$. Štúdia taktiež ukázala nižšiu prevalenciu metabolického syndrómu v skupine užívateľov kratomu oproti priemeru v Thajsku a USA. Nižšia frekvencia je priradená k efektu *M. speciosa* na obvod pasu, hladinách triglyceridov a HDL, ktoré sú 3 z 5 hlavných diagnostických kritérií metabolického syndrómu. ⁶⁵

Extrakt *M. speciosa* taktiež potenciálne hrá rolu v zvýšenej regulácii glukózových transportérov GLUT1. Aplikácia extraktu *M. speciosa* zvýšila uptake 2-deoxyglukózy v svalových bunkách. V hyperglykemických podmienkach, kedy by sa očakávala znížená regulácia GLUT1 expresie, vodný extrakt *M. speciosa* spôsobil slabé ale významné zvýšenie expresie GLUT1 proteínov. Zo štúdie sa dá vydedukovať, že extrakt kratomu má efekt podobný inzulínu na reguláciu hladiny glykémie a je schopný znížiť glykémiu. ⁶⁷

3.4.3. Antioxidačný účinok

Za antioxidačnú aktivitu *M. speciosa* sú zodpovedné hlavne fenolové látky, ale určitú rolu hrá aj mitragynin a potenciálne ďalšie alkaloidy prítomné v *M. speciosa*. Parthasarathay et al. vykonali skúšky na antioxidačnú aktivitu extraktu *M. speciosa*. Aktivita bola stanovená pomocou DPPH eseje, v ktorej je antioxidačná aktivita vyznačená zmenou farby roztoku DPPH z fialovej na žltú pri zhášaní voľných radikálov. Najvyššiu aktivitu mal metanolový extrakt ($IC_{50} = 37,08 \pm 3,54$ $\mu\text{g/ml}$). Metanolový extrakt mal aj najvyšší podiel fenolových látok s koncentráciou $105,58 \pm 5,43$ mg/g a podiel fenolových látok pozitívne koreloval s antioxidačnou aktivitou. ⁶⁸ Goh et al. potvrdili v rámci štúdie na antiproliferačnú aktivitu mitragyninu a jeho redukovaných analógov antioxidačnú aktivitu a schopnosť zhášať voľné radikály. Schopnosť vychytávať voľné radikály bola priradená schopnosti mitragyninu

odovzdávať protóny. Významnú rolu hrá β -karbolínová časť štruktúry mitragyninu, ktorej jadrá fungujú ako zhášače voľných radikálov. Výhodou je, že mitragynin je schopný zhášať voľné radikály pri fyziologickom pH. ^{12,101,102}

Antioxidačná aktivita je významná vzhľadom na podiel oxidatívneho stresu nielen na starnutie, ale aj na mnohých chronických ochoreniach vrátane nádorových ochorení, ateroskleróze, diabetu II. typu a chronických zápalových ochorení. ^{103–106}

3.4.4. Antiflogistický účinok

Kvôli tradičnému použitiu *M. speciosa* na tlmenie horúčky alebo zápalu boli skúmané jej protizápalové vlastnosti. Jedna štúdia hlásila schopnosť mitragyninu inhibovať cyklooxygenázy. Mitragynin v koncentráciách 10 a 20 $\mu\text{g/ml}$ znižoval expresiu COX1 a obidve dávky významne znižovali expresiu aj COX2. Mitragynin taktiež inhiboval produkciu PGE₂ s porovnateľným efektom ako aspirin, indometacin a celecoxib. ⁸

Zápal v tele je spôsobený reakciou imunity alebo mechanickým či chemickým poškodením. Enzýmy COX produkujú prostaglandiny z kyseliny arachidonovej, ktoré majú buď pro alebo protizápalový efekt. Konkrétne PGE₂ je jedným z najsilnejších mediátorov zápalu. Špecificky zvýšená expresia COX2 je zodpovedná za zápal v danom mieste v tele. ¹⁰⁷

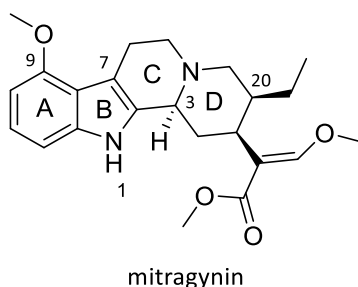
Výsledkom štúdie je potenciálny úžitok mitragyninu ako antiflogistikum. Antiflogistický účinok podporuje antinociceptívny efekt kratomu a otvára potenciál využitia v zápalových ochoreniach.

3.4.5. Analgetický a antipyretický účinok

M. speciosa sa tradične používa na zníženie horúčky a tlmenie bolesti.¹ Za analgetickú aktivitu alkaloidov *M. speciosa* je hlavne zodpovedná aktivita na opioidných receptoroch. Opioidné receptory sú receptory spriahnuté s G-proteínmi v triede A receptorov podobných rodopsinu.¹⁰⁸ Receptory aktivujú druhých poslov pomocou formácie cAMP, IP3 a diacylglycerolu. Receptor je následne fosforylovaný, čo vedie k aktivácii dvoch dráh – dráha G-proteínu a dráha β -arrestínu.¹⁰⁹ Analgetický efekt opioidného receptora je sprostredkovaný G-proteínom, zatiaľ čo vedľajšie účinky spôsobuje aktivácia β -arrestínu.¹¹⁰

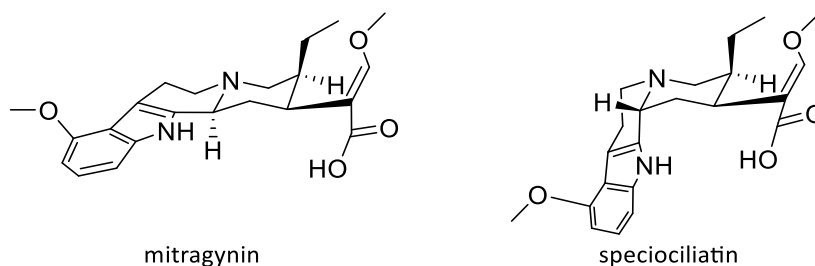
Pre objasnenie väzby mitragyninu na opioidné receptory je potrebné zmieniť, že táto aktivita vychádza zo štruktúry alkaloidu. Mitragynin má 4 kruhy, A, B, C a D. Podľa usporiadania kruhov korynanthové alkaloidy môžu zaujať 4 konfigurácie – *normal*, *pseudo*, *allo* a *epiallo*.

Mitragynin má konfiguráciu *allo*, čo umožňuje interakciu na opioidných receptoroch. Iné konfigurácie vedú k poklesu afinity na daných receptoroch. Najvýhodnejšie je tým pádom usporiadanie 20*R*,3*S*.¹¹¹



Obr. 10 Molekula mitragyninu s popisom kruhov a číslovaním

V porovnaní mitragyninu a jeho C3 stereoizoméru speciociliatinu je možné pozorovať rozdiel v usporiadaní. Speciociliatin má *cis*-chinolizidinovú konfiguráciu medzi kruhmi C/D, čo sa premieta do 14× nižšej aktivity ako mitragynin na opioidných receptoroch.¹¹¹



Obr. 11 Konformácia mitragyninu a speciociliatinu¹¹¹

Dôležitými štruktúrami pre účinok mitragyninu sú atom dusíku v kruhu, benzenový zvyšok v indolovej časti molekuly a metoxy skupina.¹¹² Metoxyskupina v polohe 9 je zodpovedná za agonistický účinok a absencia skupiny vedie k antagonistickému efektu. Pri demetylácii skupiny a zachovaní 9-hydroxy skupiny, alkaloid 9-hydroxykorynantheidin vykazuje parciálne agonistický účinok.¹¹¹ Dôležitá je taktiež etylová skupina na kruhu D, ktorá funguje ako hydrofóbná skupina reagujúca s μ -opioidným receptorom.¹¹³

Mitragynin a 7-hydroxymitragynin narozdiel od morfínu pri aktivácii opioidných receptorov neaktivuje dráhu β -arrestinu-2, ktorý je asociovaný s nežiadúcimi účinkami tradičných opiátov.¹¹⁴ Mitragynin má nižšie riziko nežiadúcich účinkov spojených s tradičnými opiátmi ako útlm dychu.¹¹⁵

Mitragynin a 7-hydroxymitragynin sa viažu na opioidné receptory.⁶⁹ Afinita mitragyninu k opioidným receptorom je nižšia ako u morfínu, ale 7-hydroxymitragynin je 46× silnejší ako mitragynin a 13× silnejší ako morfín.⁷⁰ Jedna štúdia ukázala, že efekt

mitragyninu je v porovnaní s extraktom *M. speciosa* slabší a ďalšie obsahové látky hrajú rolu v jeho antinociceptívnom účinku.⁸⁵ V ďalšej štúdií bola popisovaná afinita mitragyninu k rozdielnym opioidným receptorom. Mitragynin mal afinitu na μ -opioidných receptoroch 7,2 nM, na δ -opioidných receptoroch 60 nM a na κ -opioidných receptoroch viac ako 1000 nM (prakticky sa neviaže). Z dát vyplýva, že mitragynin má takmer 10× vyššiu selektivitu pre μ -opioidný receptor ako δ -opioidný receptor.¹¹¹ Mitragynin funguje ako parciálny agonista na μ -opioidných receptoroch, kompetitívny antagonist na κ -opioidných receptoroch a antagonist na δ -opioidných receptoroch.¹¹⁵ 7-Hydroxymitragynin sa taktiež preferenčne viaže na μ -opioidný receptor, s relatívnymi afinitami 89,8 % na μ -opioidný receptor, 5,6 % na δ -opioidný receptor, a 4,6 % na κ -opioidný receptor, a 7-hydroxymitragynin vykazuje parciálnu agonistickú aktivitu voči μ -opioidným receptorom s hodnotou $EC_{50} = 34,5$ nM a $ED_{50} = 1,91$ mg/kg, čo je vyššie ako morfín ($ED_{50} 5,10$ mg/kg). Dávka približne 15 g listov kratomu má účinok klinicky ekvivalentný 45 mg morfínu.^{115,116}

Medzi štúdiami sú ale veľké rozdiely v aktivite alkaloidov *M. speciosa*. Obeng et al. hlási, že speciociliatin má agonistickú aktivitu, čo je v rozpore s výzkumom Kruegela et al. a Takayamy et al., ktorí hlásia antagonistickú aktivitu, respektíve zanedbateľnú agonistickú aktivitu. Rozdiely vo výsledkoch môžu byť spôsobené rozdielnymi typmi testov.¹¹⁷

Aktivitu na opioidných receptoroch majú aj oxindolové alkaloidy prítomné v *M. speciosa*, ako korynoxin, korynoxin B, mitragynin oxindol B a isospeciocilin. Viažu sa primárne na μ -opioidné receptory s hodnotou K_i menej než 2 μ M. Korynoxin sa viazal najsilnejšie s afinitou $K_i = 16,4$ nM.¹¹⁸

Pri štúdovalí minoritných konstituentov bola hlásená ich aktivita na opioidné receptory. Takayama et al. popisoval aktivitu mitragynin pseudoindoxylou a 7-hydroxymitragyninu na opioidných receptoroch s vyššou potenciou ako morfín. Speciociliatin spôsobil mierny útlm v teste kontrakcií na ileu morčáča, zatiaľ čo korynantheidin inhiboval účinok morfínu v teste svalových zášklbov.^{111,119} Dôkazom opioidnej aktivity extraktu kratomu je reverzibilita účinku pomocou naloxónu, antagonistu opioidných receptorov.¹¹¹

M. speciosa má potenciál nájsť uplatnenie aj v liečbe neuropatickej bolesti. Neuropatická bolesť sa prejavuje v prítomnosti fyzického stimulu ako zvýšená senzitivita na bolesť (hyperalgézia) alebo prítomnosť bolesti pri nebolestivých podnetoch (allodynia).¹²⁰ Extrakt *M. speciosa* tlmí neuropatickú bolesť podľa štúdie na neuropatickej bolesti indukovanej oxaliplatinou.⁷¹ V ďalšej štúdií nebol použitý priamo mitragynin, ale jeho

syntetické deriváty MGM-15 a MGM-16. MGM-16 prejavuje potentný dualistický agonistický efekt na μ - a δ -opioidných receptoroch a má antiallodynický účinok, ktorý bol potvrdený v testoch na myšiach.¹²¹

K antinociceptívnemu efektu prispieva aj aktivita na adrenergických receptoroch. Účinok je hlavne na α -receptoroch a bol preukázaný testom s idazoxanom, ktorý reverzoval antinociceptívny účinok mitragyninu v myšiach.⁷² Antinociceptívny efekt bol taktiež potlačený yohimbinom a prazosinom, antagonistmi na α_2 -, respektíve α_1 -receptoroch.⁷¹ Behom screeningového testovania bola stanovená neselektívna aktivita mitragyninu na α_{1a} -, α_{1B} -, α_{1D} -, α_{2A} -, α_{2B} -, a α_{2C} -receptoroch s K_i medzi 1–10 μ M. Agonistická alebo antagonistická aktivita mitragyninu nebola určená.⁷³ 7-Hydroxymitragynin nevykazoval aktivitu na α -receptoroch.¹¹⁶ Ďalej taktiež k analgetickému účinku prispieva inhibícia neuronálnych Ca^{2+} kanálov, ktorá vedie k inhibícii prenosu bolestivých podnetov. Matsumoto et al. preukázal efekt na bunkách neuroblastómu N1E-115, kde mitragynin blokoval L- a T- typy Ca^{2+} kanálov.⁷⁴

V štúdií z roku 2011 boli zkúmané antipyretické vlastnosti metanolového extraktu *M. speciosa*. V myšiach bola indukovaná telesná teplota 38 °C pomocou kvasiniek *S. cerevisiae*. Metanolový extrakt kratomu v dávkach 50, 100 a 200 mg/kg snížil telesnú teplotu. V skupine s dávkou 50 mg/kg sa efekt prejavil medzi 2,5 až 5 hodinami po aplikácii, s dávkou 100 mg/kg medzi 0,5 až 5 hodinami po aplikácii a v skupine s dávkou 200 mg/kg sa vyskytla hypotermia v čase medzi 1 až 3,5 hodinami po aplikácii. Efektívna dávka extraktu bola stanovená na 100 mg/kg. Predpokladalo sa, že mechanizmus je prostredníctvom inhibície aktivity cyklooxygenázy.⁷⁵ Ďalšie štúdie potvrdili efekt extraktu *M. speciosa* na COX.^{8,107}

3.4.6. Sedatívny účinok

Novindriani et al. popísali sedatívne účinky extraktu *M. speciosa* na myšiach. Účinky boli študované pomocou trakčného testu a testu teplotnej preferencie, kde sa meria dĺžka času, ktorý myši zaberie na pád, respektíve dĺžka času, kým zviera vyskočí z horúcej nádoby. Pre pozitívnu kontrolu bol použitý diazepam a pre negatívnu vehikulum. Bol podaný etanolový extrakt *M. speciosa* v dávkach 12,14 mg/20gBW (20 g telesnej hmotnosti), 24,29 mg/20gBW a 48,57 mg/20gBW. Taktiež bol podaný vodný roztok v dávkach 39 mg/20gBW, 78 mg/20gBW a 156 mg/20gBW. Etanolový extrakt významne predlžoval čas návratu, skracoval čas pádu a predlžoval čas skoku z nádoby. V porovnaní s diazepamom etanolový extrakt významne predlžoval čas skoku v dávkach 24,29 mg/20gBW a 48,57 mg/20gBW. Štúdia taktiež merala

korneálny reflex a reflex otočenia, ktoré taktiež poznamenali významne zníženú aktivitu. Čas sedatívneho účinku bol 10 minút po aplikácii. Etanolový extrakt mal vyšší sedatívny efekt ako diazepam, ale dávka diazepamu nie je popísaná. Vodný roztok ale narozdiel od etanolového nevykazoval významnú sedatívnu aktivitu.⁷⁶ Dôvodom absencie aktivity môže byť nízka rozpustnosť alkaloidov *M. speciosa* vo vode.

3.4.7. Antidepresívny, antipsychotický a anxiolytický účinok

V štúdií na myšiach mitragynin významne znížil dĺžku času pred prvým pohybom v teste núteného plávania v koncentráciách 10 mg/kg a 30 mg/kg v porovnaní s fluoxetinom a amitriptylinom. Účinok mitragyninu bol taktiež významný v teste zavesenia za chvost. V teste na lokomotorickú aktivitu nemal mitragynin efekt na počet prechodov. V testoch mitragyninu na efekt sérovej hladiny kortikosterónu bol účinok mitragyninu podobný tradičným antidepresívam. Štúdia preukázala antidepresívny účinok mitragyninu, ktorý má v behaviorálnych testoch porovnateľný efekt ako antidepresíva. Test lokomotorickej aktivity potvrdil, že účinok nie je kvôli stimulačnej aktivite mitragyninu. Zaujímavosťou je, že mitragynin na rozdiel od liečív v skupine selektívnych inhibítorov spätného vychytávania serotonínu (SSRI) nepotlačuje REM fázu spánku. Mitragynin nemá účinok na dĺžku, celkový čas REM fázy, počet fáz REM a ani latenciu REM.⁹ Fluoxetin naopak potlačuje všetky parametry REM.¹²² Mitragynin tým pádom má potenciál využitia u pacientov s insomniou spôsobenou antidepresívami, ale ďalšie štúdie sú potrebné pre určenie jeho bezpečnostného profilu.

Boyer et al. potvrdili pomocou *in vitro* väzbovom teste rádioligandov inhibičný účinok mitragyninu na viazanie radioaktívneho ligandu na α_2 -, D_2 -, 5-HT_{2C}- a 5-HT₇ receptory.⁵ Matsumoto et al. hlásili supresívny efekt mitragyninu na centrálny neurotransmisívny serotoninový systém. Mitragynin potlačil účinok 5-metoxy-*N,N*-dimetyltryptaminu, agonistu na 5-HT_{2A} receptoroch, v teste zášklbov hlavy u myší. Bola stanovená hodnota K_i na 5-HT_{2A} 7,3 μ M pre mitragynin a 2,9 μ M pre speciogynin.¹²³ Ďalšia štúdia zskúmala afinitu iných metabolitov kratomu na 5-HT_{2A}, hlavne 7-hydroxymitragyninu, korynoxinu B a isorhynchophyllinu, ale našla len slabý efekt s hodnotou K_i nad 10 μ M.⁷³ Aktivita bola tiež zistená na 5-HT_{1A} receptoroch, a to hlavne u speciogyninu a paynantheinu.¹²⁴

V štúdiách na väzbový potenciál mitragyninu na D_2 -receptory mitragynin stredne inhiboval viazanie rádioligandu na D_2 -receptor s inhibíciou 54,22 %. Účinky v behaviorálnych

testoch ale neboli plne antagonizované sulpiridom, indikujúc len parciálny účinok cez dopaminergné receptory.¹²⁵ Iná štúdia ale sugestovala antipsychotický účinok mitragyninu primárne cez antagonizmus na D₂-receptoroch.¹²⁶ Hazim et al. pozorovali agonistickú aktivitu na D₁- a D₂- receptoroch. Rozdiely v štúdiách môžu byť vysvetlené buď úzkym profilom mitragyninu oproti extraktu kratomu, prítomnosťou širokého spektra látok s agonistickými i antagonistickými aktivitami, alebo na dávke závislom presynaptickým vs. postsynaptickým efektom alkaloidov kratomu na D-receptoroch.¹¹⁷

Antidepresívny účinok je preukázaný hlavne pomocou behaviorálnych testov. Je odhadované že kratom má účinok na serotonergné a dopaminergné neuróny. Serotonergný a dopaminergný účinok je súčasťou antinociceptívneho efektu kratomu, ale taktiež otvára dvere použitiu kratomu ako antidepresívum alebo antipsychotikum s lepším profilom nežiadúcich účinkov. Mitragynin je potenciálne schopný modulovať uvoľnenie endogenného noradrenalínu, dopamínu a serotonínu v zostupných dráhach.^{72,127}

Mitragynin má taktiež potenciál v liečbe úzkostí a úzkostných chorôb indukovaných stresom. V štúdiu na Sprague-Dawley potkanoch bol podaný mitragynin alebo diazepam. V behaviorálnych testoch mal kratom podobný účinok ako diazepam, a jeho efekt bol antagonizovaný naloxonom, flumazenilom alebo sulpiridom. Štúdia zvyrazňuje vzťah medzi opioidnými receptormi a GABAergnými a dopaminergnými systémami v mozgu, a taktiež potenciálnu aktivitu mitragyninu na GABA receptoroch. Kvôli nedostatku štúdií ale nie je možné upresniť aktivitu mitragyninu na GABA.⁷⁹ Yusoff et al. taktiež potvrdili akútny anxiolytický efekt mitragyninu pri dávkach 1 mg/kg a 30 mg/kg. Anxiolytický efekt sa ale paradoxne nevyskytol pri strednej dávke 10 mg/kg.⁷⁸

Ďalším potenciálnym mechanizmom je aktivita na CB₁ receptoroch. Mitragynin zvyšuje reguláciu hladiny CB₁ receptorov v mesolimbickej časti mozgu a vo ventrálnej tegmentálnej oblasti. Výsledok je ale skôr významný vo vzťahu k nežiadúcim účinkom mitragyninu a jeho potenciálu závislosti, ale taktiež potenciál tmiť neuropatickú bolesť.^{77,128}

3.4.8. Kognitívne účinky

Efekt alkaloidov *M. speciosa* na pamäť a kognitívne a behaviorálne schopnosti bol preukázaný vo viacerých štúdiách. V štúdiu na adolescentných Sprague Dawley potkanoch boli sledované behaviorálne zmeny po podaní mitragyninu a lyofilizovaného roztoku kratomu. Mitragynin významne znížil čas sociálnych interakcií v dávkach 3 mg/kg, 10 mg/kg a 30 mg/kg, indikujúc

stiahnutie a izoláciu zo sociálnych situácií. Mitragynin taktiež podstatne znížil počet kontaktov s objektmi, či už známymi alebo novými. Potenciálnym mechanizmom je účinok na stres a úzkosti cez serotonergné a dopaminergné receptory. Test na priestorové učenie a referenčnú pamäť indikuje neprítomnosť efektu na priestorové učenie, ale referenčná pamäť bola postihnutá. Významný účinok na referenčnú pamäť mal jedine lyofilizovaný roztok kratomu. Pri reverznom teste mitragynin v dávke 30 mg/kg a lyofilizovaný roztok kratomu významne znížili čas strávený v cieľovom kvadrante.⁸⁰ Celkovo sa dá zo štúdie sumarizovať, že extrakt *M. speciosa* má negatívne kognitívne efekty, môže ovlivniť referenčnú pamäť a spôsobuje sociálnu izoláciu cez neznámy mechanizmus. Ismail et al. taktiež popísali deficit v učení miest s odmenou v testoch na myšiach.⁸¹ Yusoff et al. a Ismail et al. taktiež zistili, že užívanie kratomu vedie ku kognitívnemu zhoršeniu a horšej konsolidácii pamäte.^{78,81}

V štúdiu zahrňujúcej 70 užívateľov kratomu bolo zisťované, či alkaloidy *M. speciosa* ovlivňujú kognitívne funkcie. Štúdia nepozorovala významnú zmenu v kognitívnych funkciách, motorike, a pozornosti, ale užívatelia kratomu vykazovali poruchy pamäte. Užívatelia kratomu mali deficit vo vizuálnom učení. Významný rozdiel v efekte nebol pozorovaný medzi užívateľmi nízkeho alebo vysokého množstva kratomu (menej ako 3 vs. viac ako 3 poháre denne). Efekt bol priradený k chronickému užívaniu extraktu kratomu.¹²⁹ Zaujímavosťou je, že vysoké dávky (500 mg/kg) paradoxne môžu zlepšovať konsolidáciu pamäte a môžu mať pozitívny efekt na pamäť a učenie.⁸²

Testy boli vykonané aj na lokomotorickú aktivitu. Yusoff et al. zistili, že mitragynin v nízkych dávkach 1 mg/kg má stimulačnú aktivitu a zvyšuje celkovú prejdenú vzdialenosť a počet vstaní na zadné nohy u potkanov. Pri dávkach 10 mg/kg a 30 mg/kg bol efekt opačný a v porovnaní s vehikulom boli hodnoty nižšie.⁷⁸

3.4.9. Antidiaroidické a gastrointestinálne účinky

Kvôli účinku alkaloidov *M. speciosa* na opioidné receptory sa dá predpokladať antidiaroidická aktivita. Kratom sa tradične využíva v terapii hnačky a pri dlhodobom užívaní môže spôsobovať zácpu. V jednom prieskume hlásilo 36,5 % z 3024 užívateľov prítomnosť zácpy.¹³⁰

Efekt metanolového extraktu kratomu zúčali Chittrakarn et al. na potkaniom gastrointestinálnom trakte. V teste bola indukovaná hnačka použitím ricínoveho oleja. Po aplikácii extraktu kratomu v dávkach 100–400 mg/kg bola pozorovaná znížená frekvencia defekácie a fekálnej hmotnosti. Extrakt *M. speciosa* taktiež predĺžil čas intestinálneho transitu

a inhiboval gastrointestinálnu motilitu. V dávke 400 mg/kg bol účinok porovnateľný loperamidom v dávke 6 mg/kg. Narozdiel od loperamidu extrakt kratomu neznižoval objem intestinálnej tekutiny. Efekt extraktu nebol plne antagonizovaný podaním naloxonu v dávke 5 mg/kg, čo indikuje ďalšie mechanizmy okrem aktivity na opioidných receptoroch. Štúdia taktiež sledovala hladinu cholecystokyninu po aplikácii extraktu a nepozorovala žiadne zmeny.⁸³

Pretože alkaloidy *M. speciosa* vykazujú afinitu k opioidným receptorom, bol zkúmaný ich účinok na sekréciu žalúdočnej kyseliny. Tsuchiya et al. injekčne podali 30 µg mitragyninu anestezovaným potkanom po podaní 2-deoxy-D-glukózy, ktorá stimuluje vylučovanie žalúdočnej kyseliny. Po injekcii do štvrtej mozgovej komory bol účinok 2-deoxy-D-glukózy inhibovaný, čo potvrdilo efekt mitragyninu na sekréciu žalúdočnej kyseliny. Pri injekcii do laterálnej mozgovej komory mitragynin nezvyšoval bazálnu sekréciu, čo preukazuje neprítomnosť agonizmu na κ-opioidných receptoroch, keďže stimulácia κ-opioidných receptorov zvyšuje bazálnu sekréciu žalúdočnej kyseliny.⁸⁴

Mitragynin a mitragynin pseudoindoxyl majú spasmolytickú aktivitu v gastrointestinálnom trakte. Spasmolytická aktivita je sprostredkovaná účinkom na opioidné receptory. Watanabe et al. potvrdili účinok alkaloidov na ileu morčiat. Efektívna koncentrácia mitragynin pseudoindoxylu bola 100× nižšia ako dávka mitragyninu, respektíve 20× nižšia ako dávka morfínu, a je tým pádom potentným spasmolytikom.⁸⁵

3.4.10. Antitusický účinok

Kvôli aktivite alkaloidov *M. speciosa* sa dá predpokladať antitusický účinok. Opioidy potlačujú kašeľ prostredníctvom viazania sa na presynaptické opioidné receptory v predĺženej mieche. *M. speciosa* sa tradične využíva na tlmenie kašľa.⁶⁹

Macko et al prvý krát zkúmal antitusickú aktivitu mitragyninu v dávkach 0,9–9,2 mg/kg v roku 1972. Ako pozitívnu kontrolu použili kodeín. V štúdií mal mitragynin porovnateľný účinok na kašeľ ako kodeín.⁸⁶ Novšie štúdie nie sú dostupné.

3.4.11. Antiinvazívny účinok

3.4.11.1. Antimikrobiálny účinok

Listy *M. speciosa* sa tradične používajú k hojeniu rán. Kratom tým pádom môže potenciálne mať antimikrobiálne vlastnosti.¹

Jedna štúdia sa zamerala na biologickú aktivitu nealkaloidných sekundárnych metabolitov *M. speciosa* voči SARS-CoV-2. Metanolový extrakt kratomu vykazoval virucidný účinok voči SARS-CoV-2 s hodnotou EC₅₀ = 19,48 µg/ml s indexom selektivity (SI) 20,53. Extrakt ale nevykazoval antivirovú aktivitu v infikovaných bunkách. Po dokázaní aktivity boli získané frakcie extraktu. Frakcia bohatá na alkaloidy nevykazovala virucidný efekt, respektíve vykazovala len veľmi slabý účinok s hodnotou EC₅₀ = 63,88 µg/ml. Medzi ďalšími frakciami bola frakcia s kyselinou chlorogénovou, ktorá vykazovala virucidnú aktivitu s hodnotou EC₅₀ = 116,08 µM a frakcia s trieslovinami, ktorá mala aktivitu s hodnotou EC₅₀ = 35,88 µg/ml. Po purifikácii frakcií boli za virucidné látky označené kondenzované triesloviny typu B odvodené od (-)-epikatechinu. Frakcia s priemernou molekulárnou hmotnosťou 238 946 g/mol mala najvyššiu virucidnú aktivitu s hodnotou EC₅₀ = 8,38 ± 3,66 µg/ml (35,07 nM).⁸⁷

V preliminárnom screeningu na antimikrobiálnu aktivitu v štúdií Parthasarathy et al. preukázali antimikrobiálnu aktivitu metanolového extraktu a extraktu alkaloidov z listov *M. speciosa*. V testoch na *S. typhi*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* a *P. aeruginosa* bola pozorovaná inhibičná aktivita metanolového a alkaloidného extraktu voči *S. typhi* a *B. subtilis*.⁶⁸ MIC a zóna inhibície sú uvedené v tabuľke 7.

Tab. 7 Antimikrobiálna aktivita extraktu *M. speciosa*⁶⁸

Mikroorganizmus	Zóna inhibície (mm)				MIC (mg/ml)		
	MeOH extrakt	Vodný extrakt	Extrakt alkaloidov	Chloramfenikol	MeOH extrakt	Vodný extrakt	Extrakt alkaloidov
<i>S. typhi</i>	29±2,3	-	30±2,1	23	6,25	-	3,12
<i>B. subtilis</i>	30±2,1	-	33±2,5	24	6,25	-	3,12
<i>E. coli</i>	-	-	-	22	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	23	-	-	-

3.4.11.2. Anthelmintický účinok

M. speciosa sa pravdepodobne tradične používala v malajských dedinách na odčervovanie.⁸⁸ Aziz et al. zkúmal anthelmintickú aktivitu mitragyninu na larvách *Strongyles*, parazita často postihujúceho prežúvavce. Mitragynin vykazoval anthelmintickú aktivitu na larvách v štádiu L3 v koncentráciách medzi 0,2 až 0,4 mg/ml. Dávka 0,2 mg/ml bola najmenej účinná a anthelmintická aktivita bola závislá na dávke.⁸⁹

Ďalšie štúdie na antiparazitickú aktivitu nie sú dostupné. Preto je potrebné ďalej preskúmať a potvrdiť anthelmintické účinky *M. speciosa* a jej alkaloidov.

3.4.11.3. Antineoplastický účinok

Extrakt *M. speciosa* vykazuje cytotoxické a antiproliferatívne účinky, čo viedlo k štúdiám zisťujúcich jeho antineoplastický potenciál. Zailan et al. zúčastnili efekt metanolového extraktu *M. speciosa* na línii buniek kolorektálneho karcinómu SW480. V teste na cytotoxicitu bola stanovená hodnota IC_{50} extraktu na 1,486 mg/ml v teste na cytotoxicitu. Extrakt *M. speciosa* taktiež znižoval produkciu cytokínov stimulovanú lipopolysacharidmi.¹³

Goh et al. taktiež hlásili antiproliferatívnu aktivitu a antioxidačnú aktivitu alkaloidov *M. speciosa*. Mitragynin a jeho silánom redukované deriváty mali významnú a selektívnu antiproliferatívnu aktivitu vo vyšších koncentráciách. V testoch na bunkovej línii leukémie K562 mal mitragynin hodnotu $IC_{50} = 22,19 \pm 1,06 \mu M$ v porovnaní s kyselinou betulínovou ($IC_{50} = 24,40 \pm 1,26 \mu M$). Mitragynin ale mal nižšiu selektivitu (SI = 1,42) v porovnaní s kyselinou betulínovou (SI = 3,82). V testoch na línii kolorektálneho karcinómu mal Mitragynin a jeho derivát (SI = 3,14, respektíve SI = 2,93) vyššiu selektivitu voči bunkám línii kolorektálneho karcinómu ako 5-fluorouracil (SI = 0,52). Mitragynin a jeho derivát indukovali apoptózu, čo je výhodnejšie ako nekrotická smrť buniek. Štúdia ukázala potenciál mitragyninu ako základ pre vývoj nových chemoterapeutík.¹²

Priatna et al. preukázali cez simulácie molekulárneho dockingu potenciál využitia minoritných alkaloidov *M. speciosa* v liečbe karcinómu prsníka. V simulovanom dockingu ukazovali väzobné interakcie molekúl speciophyllinu, mitraphyllinu, korynoxinu A, korynoxinu B a mitrafolinu na estrogénnych receptoroch α (3ERT) a na proteíne MDM2, ktorý reguluje aktivitu proteínu p53. Gén kódujúci proteín p53 je jeden z najčastejšie mutovaných génov skrz všetky typy karcinómov a patrí medzi dôležité tumor supresorové geny.¹³¹ U 3ERT boli najlepší kandidáti speciophyllin, korynoxin A a B. U MDM2 boli najlepší kandidáti mitraphyllin, mitrafolin a korynoxin B. *In silico* predikcie taktiež ukázali dobré farmakokinetické vlastnosti daných látok. Štúdia ale bola iba na simulovanom modeli, čo treba brať v úvahu.⁹⁰

Rahman et al. taktiež študovali antioxidačné a cytotoxické vlastnosti extraktu TM1047 z *M. speciosa*. V štúdiu použili hexánový a dichlormetánový (DCM) extrakt. Boli použité bunkové línie karcinómu prsníka (MCF7 a MDA-MD-231), kolorektálneho karcinómu (SW948 a HT29) a adenokarcinómu pľúc (A549). Hexánový extrakt *M. speciosa* nevykazoval vhodnú

cytotoxickú aktivitu, ale DCM extrakt preukázal významnú cytotoxicitu na zkúmaných bunkových líniách. Výsledky testu na cytotoxicitu sú uvedené v tabuľke 8. Zo štúdie vyplýva, že obsahové látky *M. speciosa* majú významnú cytotoxickú aktivitu a je potrebné ich ďalej zkúmať pre ich potenciálny úžitok v liečbe nádorových ochorení.¹³²

Tab. 8 Výsledky testu cytotoxicity s hodnotami IC₅₀ na vybraných bunkových líniach ¹³²

Vzorka	IC ₅₀ (µg/ml)				
	A549	MCF7	MDA-MB-231	SW948	HT29
TM1047 v hexáne	>100	>100	>100	92,62 ± 4,53	>100
TM1047 v DCM	27,76 ± 5,25	14,18 ± 0,97	31,52 ± 1,34	20,11 ± 1,37	11,76 ± 0,19
Paklitaxel	2,23 ± 0,11	0	0	0,26 ± 0,02	0,16 ± 0,01
Tamoxifen	0	2,28 ± 0,1	3,15 ± 0,04	0	0

V testoch na ľudských bunkových líniách z hepatocelulárneho karcinómu (HepG2), embryonálnych ľadvinných buniek (HEK293), lymfoblastómu (MCL-5, cHol) a neuroblastómu (SH-SY5Y) metanolovo-chloroformový extrakt *M. speciosa* indukoval bunečnú smrť pri dávkach 1000 µg/ml a mitragynin sám o sebe vykazoval podobný efekt. Letalita sa vyskytovala už pri dávkach 100 µg/ml.¹³³

3.4.12. Afrodiziakálny účinok

Využitie *M. speciosa* ako afrodiziakum nebolo zatiaľ študované. Afrodiziakálny účinok ale môže byť sprostredkovaný prostredníctvom blokády serotonergných 5-HT_{2A} receptorov a postsynaptickou stimuláciou α₂ receptorov.⁹¹ Predpokladá sa, že kratom môže zvyšovať hodnoty testosterónu, luteinizačného hormónu, folikulostimulačného hormónu a prolaktínu podľa štúdie na pacientoch s hypogonadotropickým hypogonadizmom.⁹² V kohortovej štúdii chronických užívateľov kratomu v Malajzii boli hlásené afrodiziakálne účinky, ale ďalšie dáta nie sú dostupné.¹³⁴

3.4.13. Substitučná terapia závislostí (opiáty a alkoholizmus)

M. speciosa bola využívaná ako substitút ópia už od konca 19. storočia.¹³⁵ Chronické užívanie opiátov spôsobuje fyzickú a potenciálne psychickú závislosť spolu so symptómami

hyperalgésie. Alkaloidy *M. speciosa* ukazujú zníženie fyzickej závislosti na opiátoch a pomáhajú zmiernovať abstinenčné symptómy. V štúdiu Wilsona et al. bol zkúmaný potenciál mitragyninu a mitragynin pseudoindoxylu v liečbe závislosti na opiátoch a potenciál tvoriť závislosti. Myšiam boli podávané dvakrát denne po dobe 4, respektíve 8 dní dávky vehikula, morfínu, extraktu alkaloidov *M. speciosa*, mitragyninu alebo mitragynin pseudoindoxylu. Na určenie prítomnosti hyperalgézie bol použitý test stiahnutia chvosta. V skupine morfínu, extraktu alkaloidov a samotnom mitragyninu bola zaznamenaná významne kratšia latencia stiahnutia chvosta ako v skupine vehikulu a mitragynin pseudoindoxylu. Po 4, respektíve 8 dňoch bola podaná dávka naloxonu na indukovanie symptómov vysadenia a testovania tvorby závislosti. Štúdia prišla k záveru, že alkaloidy *M. speciosa* a mitragynin pseudoindoxyl majú potenciál zlepšovať abstinenčné symptómy a majú bezpečnejší profil symptómov vysadenia. Extrakt kratomu a mitragynin sú rovnako efektívne v postupne znižovaných dávkach ako vysoké dávky morfínu pri zmiernení abstinenčných príznakov vyvolaných naloxónom, ale spôsobujú hyperalgésiu v rovnakom merítku ako morfín. ¹⁰

Vznik hyperalgézie pri užívaní opiátov nie je úplne objasnený. Viacero teórií vzniklo pre popísanie hyperalgézie pri užívaní opiátov, ako na príklad indukovaná neuroplasticita a zvýšenie vylučovania substancie P a glutamátu z aferentných vlákien spinálnych neurónov alebo senzitivizácia nociceptívneho systému pri predĺženom vystavení agonistom μ -opioidných receptorov či potenciálne agonistom κ -opioidných receptorov. ^{10,136,137}

Gutridge et al zkúmali efekt a využitie alkaloidov *M. speciosa* v liečbe alkoholizmu. U myší extrakt *M. speciosa* v dávke 30 mg/kg znižuje príjem alkoholu v modeli epizodického abúzu alkoholu i pri habituálnom nadmernom pití alkoholu. ¹¹

3.5. Farmakokinetika sekundárných metabolitov *M. speciosa*

V tabuľke 9 sú zhrnuté dostupné dáta o farmakokinetických parametroch mitragyninu extrahovaného z *M. speciosa*.

Tab. 9 Farmakokinetické parametre po podaní mitragyninu ¹³⁸

Dávka							
mitragyninu (mg/kg)	C _{max} (μM)	T _{max} (hod)	V _d (l/kg)	T _{1/2} (hod)	Cl (l/h/kg)	Druh	Literatúra
20, p.o.	0,42±61,79	1,26±1,1	37,90±5,41	3,85±0,51	6,35±0,43		139
40 p.o.	0,63±61,79	1,83±0,2	89,5±30,30	9,43±1,74	1,60±0,58		140
50, p.o.	0,7±0,21	4,5±3,6	64±23	6,6±1,3	7,0±3,0	Potkan	141
1.5 i.v.	5,77±3,01	1,20±1,1	0,79±0,42	2,9±2,1	0,29±0,27		141
5. i.v.	9,79±1,76	1 min	8,2±2,2	2,6±0,4	1,2±0,2		142
10 i.v.	3,81±0,38	0,5	9,84±0,62	13,14±1,42	2,26±0,21		143
23 p.o.	0,26						144
6.25 p.o.	0,046	0,83±0,35	38,04±24,32	23,24±16,07	98,1±51,34	Človek	

Parametre sa podstatne líšia v dostupnej literatúre. Pri intravenóznom podaní Parthasarathy et al. hlásil T_{max} až 70 minút, čo mohlo byť spôsobené neskorým odberom vzorkov alebo použitím žily v chvoste na odber, čo mohlo ďalej skresliť dáta.^{141,145} Kong et al. hlásia podstatne dlhší t_{1/2} v porovnaní s ostatnými i.v. štúdiami.¹⁴³ V štúdiách s orálnym podaním na potkanoch bola variácia nižšia. V štúdiu na ľuďoch bol mitragynin podaný 10 subjektom s históriou užívania kratomu. Boli rozdelení do 5 skupín a bol im podávaný čaj z kratomu v dávkach v rozmedzí 6,25–11,5 mg. Posledný deň im bola podaná jedna dávka v rozmedzí 6,25–23 mg podľa skupiny a následne boli odobrané vzorky moči a krvi po dobu 24 hodín. Je možné pozorovať významný rozdiel v T_{1/2}, Cl a V_d.¹⁴⁴

Väčšina štúdií sa zameriavala na mitragynin alebo extrakt *M. speciosa*. Farmakokinetika mitragyninu je lineárna a spadá do dvojkompartimentového modelu. Mitragynin podlieha hepatickému metabolizmu a v nezmenenej forme sa vylučuje iba 0,14 % dávky.¹⁴⁴

3.5.1. Absorpcia

Štúdie na absorpciu u ľudí sú limitované, ale viacero štúdií bolo vykonaných na zvieracích modeloch a *in vitro*. V *in vitro* testoch mitragynin prechádza semipermeabilnou membránou veľmi dobre pri pH 7,4 ale zle pri pH 4,0.¹⁴⁶ Mitragynin sa difunduje v absorpčnom smere

v bunkách Caco-2 rýchlosťou $24,2 \pm 2,6 \times 10^{-6}$ cm/s, zatiaľ čo 7-hydroxymitragynin bol menej priepustný s rýchlosťou absorpcie $16,1 \pm 1,2 \times 10^{-6}$ cm/s pri koncentrácii 5 μ M. Ich rýchlosť v opačnom smere bola porovnateľná, čo naznačuje transport pasívnou difúziou.¹⁴⁷ Mitragynin a 7-hydroxymitragynin sa rozkladá v simulovanej žalúdočnej tekutine. Po 120 minútach sa rozložilo 26 % mitragyninu a 27 % 7-hydroxymitragyninu. V simulovanej črevnej tekutine bola miera rozkladu podstatne nižšia, s hodnotou 3,56 % pre mitragynin a 6 % pre 7-hydroxymitragynin. Dôsledkom rozpadu je znížená biodostupnosť alkaloidov *M. speciosa*.^{147,148} Parthasarathy et al. hlásia biodostupnosť mitragyninu 3 %, ale Ya et al. vypočítal z dostupných dát biodostupnosť 21 %. Kvôli nízkej rozpustnosti vo vode a podstatnej lipofilicite je možné klasifikovať mitragynin ako látku skupiny II podľa systému biofarmaceutickej klasifikácie.^{141,145}

3.5.2. Distribúcia

Hodnota V_d v štúdiu na ľuďoch indikuje distribúciu do extracelulárnej tekutiny.¹⁴⁵ Mitragynin sa silno viaže na plazmatické proteíny v krvi s percentuálnym podielom približne 85–95%.¹⁴⁷ Alkaloidy *M. speciosa* sú schopné prechádzať hematoencefalickou bariérou (HEB) a distribuujú sa v mozgu. Mitragynin je priepustnejší cez HEB na rozdiel od 7-hydroxymitragyninu, ktorý bol vypudzovaný. Mitragynin aj 7-hydroxymitragynin vykazovali inhibičnú aktivitu voči P-gp v hematoencefalickej bariére.¹⁴⁹ Hodnota $AUC_{\text{mozog}}/AUC_{\text{plasma}}$ v štúdiu Kong et al. bola 0,66, čo preukazuje podstatnú distribúciu v mozgu a prechod HEB.¹⁴³

3.5.3. Metabolizmus a eliminácia

Mitragynin prechádza primárne hepatickým metabolizmom a procesmi fázy I i fázy II. Najprv je hydrolyzovaný metylester na vedľajšom reťazci v pozícii 16 a následne prebieha O-demetylácia na metoxy skupinách v pozíciách 9 a 17. Následuje premena na aldehydy a oxidácia, respektíve redukcia na karboxylové kyseliny a alkoholy. Posledným krokom je konjugácia kyseliny glukurónovej alebo sulfátovej skupiny.¹⁵⁰

Medzi metabolity mitragyninu prvej a druhej fázy nájdené v ľudskej moči patria zlúčeniny uvedené v tabuľke 10. Paynanthein a speciogynin, diastereomery mitragyninu, majú analogický metabolizmus.¹¹⁷

Tab. 10 Metabolity mitragyninu

Metabolity fázy I	Metabolity fázy II
9- <i>O</i> -demetyl-mitragynin	9- <i>O</i> -demetyl-mitragynin glukuronid
16-karboxymitragynin	16-karboxymitragynin glukuronid
17- <i>O</i> -demetyl-16,17-dihydromitragynin	17- <i>O</i> -demetyl-16,17-dihydromitragynin glukuronid
17-karboxy-16,17-dihydromitragynin	9- <i>O</i> -demetyl-mitragynin sulfát
	9- <i>O</i> -16-karboxymitragynin sulfát
	9,17- <i>O</i> -bisdemetyl-16,17-dihydromitragynin sulfát

Predpokladá sa, že mitragynin sa metabolizuje *in vivo* na 7-hydroxymitragynin. V mikrozómoch pečene potkanov bola pozorovaná formácia 7-hydroxymitragyninu vo významnom množstve. Mitragynin je schopný byť oxidovaný [bis(trifluoracetoxyl)jod]benzénom a inými oxidačnými činidlami na 7-hydroxymitragynin, čo naznačuje potenciálny oxidatívny proces cez CYP450, špecificky cez CYP3A isoformy, ako spôsob tvorby 7-hydroxymitragyninu v tele. 7-Hydroxymitragynin je taktiež rezistentný voči oxidatívne metabolizmu fázy I a premieňa sa veľmi pomaly.^{50,111} Sú pozorované významné rozdiely v metabolizme v ľudskej plazme a hepatocytoch oproti zvieracím (myši, potkany, psy, opice). V *in vitro* testoch v ľudskej plazme sa 7-hydroxymitragynin rokladá na mitragynin pseudoindoxyl, ktorý je aktívnym metabolitom, a ďalší, neznámy metabolit. Kamble et al. popísali výskyt semipinakolového prešmyku 7-hydroxymitragyninu na mitragynin pseudoindoxyl, ktorý je aspoň čiastočne katalyzovaný enzýmami prítomnými v plazme⁵⁶

Mitragynin a jeho metabolity sa vylučujú v moči. Pri analýze ľudskej moči boli nájdené tieto metabolity: 9-*O*-demetylmitragynin glukuronid, 16-karboxymitragynin glukuronid, 17-*O*-demetyl-16,17-dihydromitragynin glukuronid, 9-*O*-demetylmitragynin sulfát, 9-*O*-demetyl-16-karboxymitragynin sulfát, a 9,17-*O*-bisdemetyl-16,17-dihydromitragynin sulfát.¹⁵¹ Prítomný bol i 7-hydroxymitragynin v malom množstve.¹⁵² Renálna exkrécia nezmeneného mitragyninu je približne 0,14 %.¹⁴⁴

3.5.3.1. Inhibičná aktivita voči cytochrómu P450

Kratom a jeho extrakt je schopný inhibovať systém CYP450. V jednej štúdií vykazoval metanolový extrakt kratomu inhibičnú aktivitu voči CYP2D6 ($IC_{50} = 3,6 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$).¹⁵³ Inhibičná aktivita bola taktiež potvrdená v ďalšej štúdií voči CYP2D6 ($IC_{50} = 0,636 \mu\text{g/ml}$), voči CYP3A4

($IC_{50} = 0,78 \mu\text{g/ml}$), a voči CYP1A2 ($IC_{50} = 39 \mu\text{g/ml}$). Alkaloidy *M. speciosa* taktiež vykazujú inhibičnú aktivitu voči CYP2C19, ale v štúdií nebola stanovovaná hodnota IC_{50} voči danej isoforme. Inhibícia voči CYP2D6 bola kompetitívna, zbytok bol nekompetitívny (allosterický). Štúdia neurčila, ktorá látka je presne schopná inhibovať dané enzýmy.¹⁵⁴

Liečivá metabolizované cez CYP2D6 a CYP3A4 majú najväčšie riziko interakcií s extraktom kratomu. Cez CYP2D6 sa metabolizuje podstatné množstvo antidepresív, antipsychotík a opiátov. Substrátmi CYP3A4 sú na príklad benzodiazepíny, blokátory kalciových kanálov, statiny alebo makrolidové antibiotiká.^{155,156}

3.5.3.2. Inhibičná aktivita voči uridindifosfátglukuronosyltransferáze

V štúdií na mikrozómoch pečene potkanov a ľudí 7-hydroxymitragynin inhiboval glukuronidáciu 4-metylbelliferonu na izoformách uridindifosfátglukuronosyltransferázy UGT1A1 a UGT2B7. Hodnota IC_{50} nebola stanovená u pečene potkanov kvôli nedostatočnému efektu inhibície. V mikrozómoch potkanov v koncentráciách 0,01 až 100 μM 7-hydroxymitragynin a mitragynin snížil rýchlosť glukuronidácie o 6–46 %, respektíve 14–40 %. V rekombinantných izoformách ľudského UGT1A1 a UGT2B7 boli hodnoty IC_{50} pre 7-hydroxymitragynin $7,16 \pm 1,16 \mu\text{M}$, respektíve $26,44 \pm 1,31 \mu\text{M}$ pre mitragynin. Aktivita 7-hydroxymitragyninu tým pádom spadá do kategórie slabých až stredne silných inhibítorov.^{157,158}

3.5.3.3. Ovlivnenie P-glykoproteínu

Samotný mitragynin nie je substrátom P-gp, ale podľa štúdie *in silico* má potenciál inhibovať P-gp inhibíciou aktivity ATPázy tohoto glykoproteínu väzbou na väzbové miesto nukleotidu. V teste obojsmerného transportu s použitím buniek kolorektálneho karcinómu Caco-2 bol preukázaný inhibičný efekt *in vitro* s 30% znížením efluxného koeficientu. Hodnota IC_{50} nebola stanovená, ale mala by byť hypoteticky vyššia ako 10 μM . V imunocytochemických testoch mitragynin významne inhiboval expresiu P-gp na povrchu buniek, čo znamená, že potenciálne ovlivňuje transport P-gp z endoplasmického retikula do apikálnej membrány v bunkách Caco-2.¹⁵⁹ Meyer et al. taktiež potvrdili inhibičnú aktivitu mitragyninu na P-gp. Mitragynin tiež inhibuje expresiu P-gp mRNA a proteínov.¹⁶⁰

3.6. Toxicita sekundárných metabolitov *M. speciosa*

V kapitole sú popísané potenciálne toxické efekty kratomu na orgány a nebezpečné interakcie s inými liečivami.

3.6.1. Hepatotoxicita

Štúdie preukázali potenciálny hepatotoxický efekt extraktu *M. speciosa*. V štúdiu na potkanoch, ktorým boli podávané vysoké dávky extraktu kratomu (1000 mg/kg) bolo zistené poškodenie hepatocytov. Pri koncentrácii extraktu kratomu 1–10 mg/kg neboli zistené žiadne prejavy hepatotoxicity.¹⁵

V štúdiu na nemátodach *C. elegans* bol preukázaný toxický efekt pri podaní etanolového alebo metanolového extraktu *M. speciosa*. Pri podaní vodného roztoku *M. speciosa* bol taktiež pozorovaný toxický efekt, ale v menšej miere.¹⁶¹

Viacero kazuistík taktiež hlásilo hepatotoxicitu u užívateľov *M. speciosa*. Allison et al. popísal klinickopatologické nálezy v prípade poškodenia pečene. U pacienta sa vyskytla cholestáza. Pred príchodom do nemocnice pacient užíval 30 g kratomu 14 dní bez prestávky, a jeho posledná dávka bola 7 dní pred objavením symptómov. Laboratórne testy ukázali zvýšenú hladinu bilirubínu a alkalickéj fosfatázy, zvýšené hladiny ALT a AST a zvýšenú erytrocytárnu sedimentáciu. Na obrazoch z magnetickej rezonancie boli nájdené perivenulárne nekrózy a infiltráty. Po 8 týždňoch a liečbe ursodiolum, cholestyraminom hydroxyzinom a rifampicinom sa symptómy zlepšili a markery poškodenia pečene vrátili k norme.¹⁶²

3.6.2. Kardiotoxicita

Užívanie extraktu *M. speciosa* spôsobuje priame účinky na kardiovaskulárny systém. Akútne symptómy intoxikácie sú tachykardia, hypertenzia, bolesti hrudníka a poruchy prevodového systému vyúsťujúce v arytmiu.¹⁶³ Extrakt *M. speciosa* má potenciál predlžovať QTc interval a zvyšuje riziko arytmií torsades de pointes. V štúdiách *in vitro* bol mechanizmus preukázaný cez inhibíciu draselných kanálov I_{Kr} v ľudských kardiomyocytoch prezentujúcich hERG. Štúdia sugestuje mechanizmus cez preferenčné viazanie na inaktívovaný stav kanálu.

Alkaloidy *M. speciosa* vykazovali inhibičnú aktivitu voči draselným kanálom pre mitragynin ($IC_{50} = 0,91 \mu M$), paynanthein ($IC_{50} = 2,47 \mu M$), speciogynin ($IC_{50} = 1,02 \mu M$) a speciociliatin ($IC_{50} = 1,48 \mu M$). Hodnota IC_{50} bola porovnateľná ku koncentráciám alkaloidov

nameraných v krvi v kazuistikách, kde intoxikácia kratomom bola uvedená ako jedna z príčin úmrtia.¹⁶

Ďalšia štúdia zkúmala mechanizmus inhibície expresie hERG 1a/1b. Mitragynin inhibuje napätie hERG 1a/1b ($IC_{50} = 332,70$ nM). Pri nižšej koncentrácii mitragyninu bola inhibovaná expresia plne glykosylovaného hERG 1a/1b a komplexu hERG1a-Hsp90 po vystavení účinku mitragyninu po dobu 24h. Mitragynin tým pádom potenciálne spôsobuje chybné skladanie proteínu a následnú degradáciu proteínu.¹⁶⁴

Pri elektrokardiografických vyšetreniach skupiny užívateľov *M. speciosa* boli zistené abnormality. 8 % užívateľov malo sínusovú tachykardiu, 7 % deviáciu na ľavej ose, 5 % predĺžený QTc interval, 4 % AV blok prvého stupňa a 4 % hypertrofiu ľavej siene. V porovnaní s kontrolnou skupinou, jediný významný rozdiel bola sínusová tachykardia a dĺžka QTc intervalu na vyššej hranici normy.¹⁶⁵ Ďalšie kazuistiky zkúmali spojenie medzi užívaním kratomu a ventrikulárnou arytmiou, ale dôkazy neboli dostatočne kvalitné na dôveryhodné vyhodnotenie.¹⁶⁶

V jednej štúdii sa tlak krvi podstatne zvýšil 8 hodín po aplikácii mitragyninu a taktiež bol pozorovaný zvýšený tep. Zvýšenie bolo neskôr ako T_{max} mitragyninu.¹⁴⁴

Potenciál kardiotoxicity sa prudko zvyšuje pri spoločnom podávaní kratomu a iných liečív. Najvýznamnejšie vystupňovanie kardiotoxicity je pri použití liečív s metabolismom cez CYP2D6.¹⁵³

3.6.3. Hypotyroidismus

Niektoré indolové alkaloidy majú schopnosť ovlivniť fungovanie štítnej žľazy. Na príklad reserpin môže ovlivniť funkciu štítnej žľazy a vo vysokých dávkach spôsobuje hypotyroidismus.¹⁶⁷ Jedna kazuistika spojila prítomnosť hypotyroidismu s užívaním extraktu kratomu. Hypotyroidismus sa zlepšil po ukončení užívania kratomu a dávky levothyroxinu sa mohli znížiť. Štúdia ale nemá žiadne ďalšie klinické dáta na preukázanie súvislosti medzi užívaním kratomu a hypotyroidismom.¹⁶⁸

3.6.4. Neurotoxická

Kratom môže spôsobovať eufóriu, psychózu, mániu, nepokoj a epileptické záchvaty.¹⁷ V sérii kazuistík z Malajzie boli popísané hospitalizácie pre epileptické záchvaty spôsobené užívaním kratomu. Viac ako 50 % pacientov užívalo kratom chronicky. 7 pacientov prekonalo

generalizovaný tonicko-klonický záchvat a štyria mali fokálne alebo bilaterálne tonicko-klonické záchvaty. Záchvaty sa vyskytli opakovane počas doby užívania kratomu, v priemere jeden až trikrát ročne. Všetci pacienti mali neurologické vyšetrenia v norme. Kazuistika taktiež preukázala potenciál závislosti a opakované použitie kratomu i napriek epileptickým záchvatom.¹⁶⁹ Kratom spôsobuje symptómy vysadenia podobné opiátom ako nespavosť, bolesti a spasmy svalov.¹⁷⁰ V štúdiu *Thailand Ramathibodi Poison Center* sa vyskytli záchvaty u 17,5 % z 52 prípadov užitia kratomu.¹⁷¹

V kazuistike z roku 2008 bola popísaná interakcia modafinilu a extraktu kratomu, ktorá vyústila v tonicko-klonickom záchvate. Modafinil sám o sebe nemá prokonvulzívnu aktivitu, dôvodom preto potenciálne bol kratom sám o sebe alebo interakcia s modafinilom, ktorý má potenciál indukovať CYP enzýmy a zvýšiť clearance alkaloidov kratomu.^{5,172}

3.6.5. Nefrotoxicita

V štúdiu na potkanoch nebol preukázaný akútny nefrotoxický efekt v štandardných dávkach extraktu kratomu a histologické vyšetrenie neukázalo poškodenie tkaniva. Extrakt kratomu ale zvýšil hladinu kreatininu a močoviny v krvi v dávkach 1000 mg/kg.¹⁸

Avšak existuje kazuistika, ktorá spája užívanie kratomu s akútnym zlyhaním obličiek. Pacient s anamnézou abúzu alkoholu a opiátov bol hospitalizovaný po tom, ako bol nájdený v bezvedomom stave. U pacienta boli objavené myoklonické záškľby, mierne zvýšený krvný tlak a tachypnea. Hladina močoviny v krvi bola mierne zvýšená a kreatinin bol viac ako dvojnásobok normálnej hodnoty. Analýza moči preukázala proteinúriu a prítomnosť krvi v moči. Pacient zamietol užívanie iných drog, ale uviedol, že posledný týždeň prepadol relapsu a začal znovu užívať kratom. Po analýze moči výsledky ukázali vysoké hladiny metabolitov kratomu. Kazuistika ukázala potenciál predávkovania kratomu ako príčinu nefrotoxicity, rabdomyolýzy a kardiomyopatie. Mechanizmus ale nie je momentálne známy a ďalšie štúdie sú potrebné pre určenie mechanizmu nefrotoxicity.¹⁷³

3.6.6. Pulmonálna toxicita

V jednej kazuistike z USA z roku 2023 bol kratom asociovaný s akútnym respiračným syndrómom tiesne. Pacient prišiel s tachykardiou a tachypneou a nízkou saturáciou krvi 87 %, a počas hospitalizácie bola nutná intubácia a mechanická ventilácia. V skiagrafii hrudníku boli pozorované bilaterálne infiltráty. Krvný obraz ukázal leukopéniu a testy na infekcie vyšli

negatívne. Pacient oznámil užívanie kratomu ako spôsob potlačenia baženia po opiátoch. Všetky ostatné príčiny boli vylúčené, takže diagnóza bola stanovená na ARDS spôsobený kratomom. Mechanizmus vzniku ARDS ale nie je známy.¹⁷⁴

3.6.7. Interakcie s liečivami

Kvôli potenciálu interakcií na CYP450 a inhibíci glukuronidácie je riziko újmy na zdraví kratomu vysoké hlavne v kombinácii s ďalšími liečivami.¹⁵⁴

Na príklad v jednej kazuistike došlo k smrti muža po užití kratomu s kvetiapiénom. Koncentrácia kvetiapiínu v krvi bola 12 mg/l, čo je toxická hladina. Krv taktiež obsahovala mitragynin v koncentráciách medzi 230 až 1006 µg/l. Symptómy pred smrťou boli hypertermia a konvulzie. Nebolo známe, či pacient užil vyššiu dávku kvetiapiínu, aká bola predpísaná, ale počet tabliet sedel s predpisom a bežným dávkovaním.¹⁷⁵ Je teda pravdepodobné, že vysoká koncentrácia kvetiapiínu je dôsledok interakcie mitragyninu s CYP450.¹⁵⁵

„Krypton“, kombinácia extraktu kratomu a *O*-desmetyltramadolu, je zodpovedná za viacero úmrtí. Jeden článok z roku 2009 hovorí o 9 úmrtiach spôsobených „Kryptonom“. V zmesi nebol prítomný tramadol, ale v krvi zosnulých bol nameraný mitragynin aj *O*-desmetyltramadol. V dvoch prípadoch bola zistená i prítomnosť antidepresív, a to fluoxetinu a venlafaxinu. Nie je preukázané, či smrť bola zapríčinená kombináciou kratomu a *O*-desmetyltramadolu alebo len *O*-desmetyltramadolom.¹⁷⁶

Ďalšiou nebezpečnou kombináciou je „4×100“, zmes kratomu, koly, a kodeínového alebo difenhydraminového sirupu na kašeľ, a štvrtej komponenty, ktorá sa môže líšiť, a je buď anxiolytikum, antidepresívum, opiát alebo iná omamná látka. „4×100“ má svoju popularitu v Thajsku a je veľkým problémom. Zmes sa používa hlavne pre euforické účinky a často sa používa spolu s fajčením cigariet. Jedna kazuistika popisuje smrť 21 ročného muža po vypytí „4×100“ koktejlu. V krvnej analýze a analýze moči boli prítomné stopy mitragyninu, kofeínu, difenhydramínu, alprazolamu, nortriptylinu, metadonu, tramadolu a metamfetamínu, a boli stanovené koncentrácie alprazolamu (0,2 µg/ml), tramadolu (0,27 µg/ml), nortriptylinu (1,78 µg/ml), metadonu (0,3 µg/ml), metamfetamínu (0,4 µg/ml) a kofeínu (0,39 µg/ml). Koncentrácie mitragyninu, difenhydramínu a nikotínu nebolo možné stanoviť. Špecifická látka spôsobujúca smrť nebola stanovená, ale najväčšími kandidátmi bol metadon, tramadol a nortriptylin. Príčina smrti tým pádom bola stanovená na intoxikáciu viacerými látkami spolu s respiračnou depresiou.¹⁷⁷ Tým, že mitragynin inhibuje CYP450

metabolizmus na CYP3A4 a CYP2D6 je možné, že koncentrácie daných látok boli nečakane zvýšené spolužitím s alkaloidmi kratomu.

3.6.8. Toxicita a mutagenita

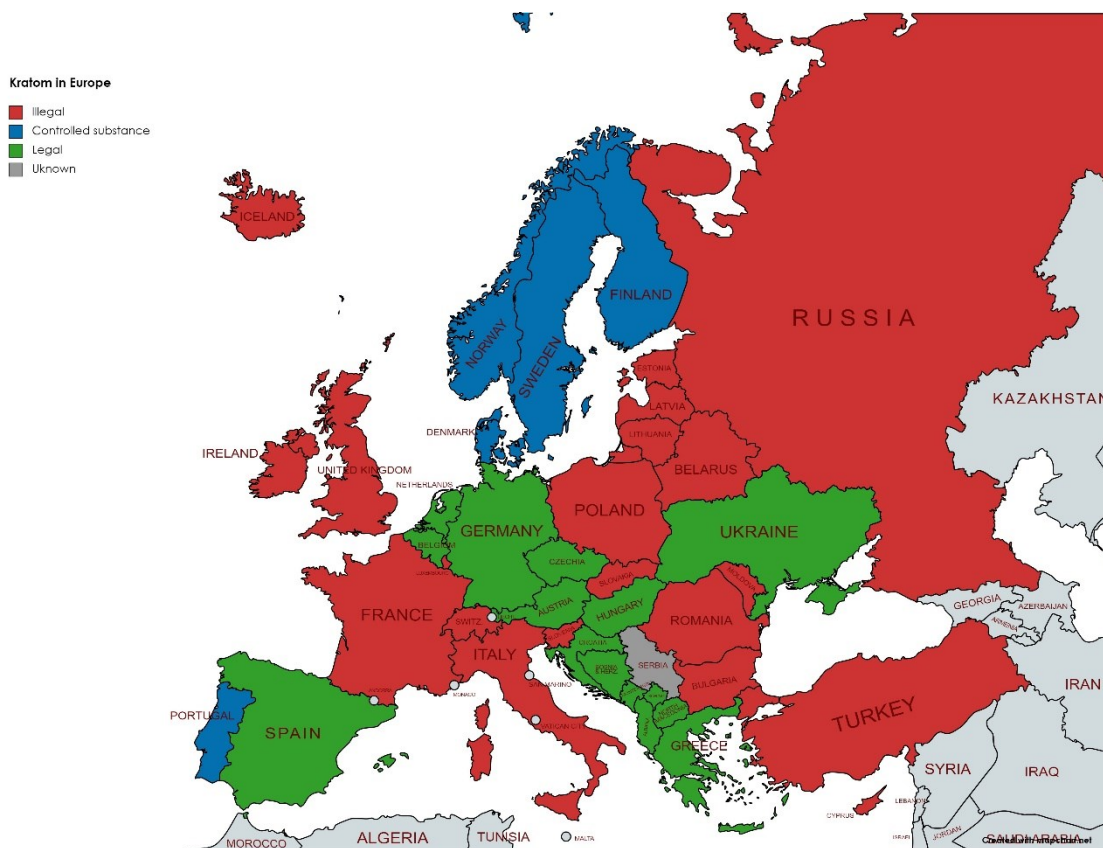
Cytotoxicita kratomu bola stanovená na soľankách a v Amesovom teste. V teste na soľankách bola zisťovaná letalita troch extraktov *M. speciosa*. Hodnota LC₅₀ vodného roztoku bola 98 µl/l, extrakt alkaloidovej frakcie mal hodnotu LC₅₀ 62 µl/ml a roztok mitragyninu 44 µl/ml. ¹⁷⁸ Amesov test nepotvrdil mutagenicitu extraktu kratomu ani mitragyninu. Extrakt *M. speciosa* naopak exhiboval antimutagenickú aktivitu a inhiboval mutácie *Salmonella typhimurium* v prítomnosti extraktu S9 a mutagénu. ¹⁷⁹

3.7. Legislatíva a potenciál zneužitia, závislosti

Ako bolo načrtnuté v kapitole 3.2., užívanie kratomu môže vyvolávať závislosti a mať negatívny dopad na zdravie, a preto neprekvapí, že jeho používanie rieši v legislatíve mnoho krajín.^{26,27} Legalita *M.speciosa* sa vo svete značne líši. Rastlina a jej alkaloidy v súčasnosti nie sú na liste omamných a psychotropných látok Organizácie Spojených Národov.

V USA sa Úrad pre kontrolu potravín a liečív (FDA) pokúsil klasifikovať alkaloidy *M. speciosa* ako kontrolované látky podľa tabuľky I, ale neúspešne. FDA ale publikovala varovanie o kratome a produktoch, ktoré ho obsahujú.¹⁸⁰ Rastlina a jej obsahové zlúčeniny sú nelegálne v Alabame, Floride, Indiane, Arkansasu, Wisconsinu a Tennesee.¹⁸¹ V Austrálii je kratom nelegálny od roku 2004, v Malajzii od 2003 a v Myanmaru od 1993. V roku 2009 bola rastlina taktiež pridaná do zoznamu regulovaných drog v Novom Zélande.⁹⁴

V Európe sa v priebehu posledných 15 rokov postupne kratom reguloval a zakazoval. Vo viac ako polovičke členských štátov je kratom uvedený na zozname zakázaných látok.¹⁸²



Obr. 12 Mapa legálneho statusu kratomu v rámci Európy z roku 2021¹⁸³

V súčasnosti je *M. speciosa* stále legálna v Českej republike, ale nie je schválená ako výživový doplnok. Predáva sa pre zberateľské účely. Je zakázaný predaj osobám mladším ako 18 rokov a verejná reklama.¹⁸⁴ Zákaz vyriešil problém predaju kratomu v automatoch, ktoré boli často dostupné v blízkosti škôl.¹⁸⁵

V Thajsku a priľahlých krajinách je legalita *M. speciosa* komplikovanejšia. V roku 1943 bola rastlina zakázaná, ale zákon nebol veľmi presadzovaný. V roku 1979 bol kratom preklasifikovaný ako kontrolovaná látka v tabuľke V. V roku 2021 bol z listu vymazaný, a následne v roku 2022 prišla nová regulácia, ktorá dovoľovala voľný predaj kratomu, štúdium obsahových látok a rozmnožovanie rastlín.¹⁸⁶

Dôvodom regulácie *M. speciosa* a jej derivátov je potenciál zneužitia a závislosti na alkaloidoch prítomných v rastline. Kratom síce nevykazuje vedľajšie účinky ako klasické opiáty, ale štúdie potvrdili vývoj tolerancie na 7-hydroxymitragynin a mitragynin. Bola preukázaná zkrížená tolerancia morfinu a alkaloidov *M. speciosa*. Syndróm vysadenia je podobný opiátom, ale slabší, charakterizovaný rhinorrheou, insomniou, letargiou a bolesťami svalov. Tvorba závislostí bola dokázaná v štúdiách na potkanoch s vlastnosťami podobnými morfinu a kokaínu.¹⁸⁷ Bolo popísaných viacero kazuistík závislosti na kratome s negatívnymi dopadmi na zdravie.^{14,26,27}

Hemby et al. hlásia, že za adiktčný potenciál je zodpovedný hlavne 7-hydroxymitragynin, zatiaľ čo mitragynin je schopný znižovať dávky morfinu a má skôr potenciál v terapii závislosti na opiáty.¹⁸⁸

Celkovo, alkaloidy kratomu majú potenciál vytvárať závislosti fyzické i psychické. Niektoré štúdie ukazujú potenciál kratomu znížiť kvalitu života podľa skóre kvality života Svetovej zdravotníckej organizácie. Zníženie kvality života bolo pozorované hlavne v skupine dlhodobých užívateľov a s vyššími dávkami kratomu. Potenciál alkaloidov *M. speciosa* vyvolávať závislosti potvrdzuje aj výskyt neonatálneho syndrómu abstinencie u detí matiek, ktoré používali kratom.¹⁸⁹ Davidson et al. a Eldridge et al. popisujú dve kazuistiky s prezenciou klasických symptómov po narodení so sníženým prísunom výživy, trasom, hypertoniou, kýchaním a nadmerným plačom. V jednom prípade ale prítomnosť symptómov bola exacerbovaná chronickým fajčením matky.¹⁹⁰

4. Zhrnutie a Záver

Štúdie naznačujú široké využitie *M. speciosa* a čiastočne potvrdzujú tvrdenia z použitia v ľudovej medicíne. Alkaloidy kratomu majú významný potenciál v liečbe bolesti kvôli ich opioidným účinkom.⁶⁹ Kvôli funkčnej selektivitě na receptoroch s aktiváciou dráhy G-proteínu bez aktivácie dráhy β -arrestinu 2 majú potenciál byť základom novej skupiny analgetík s bezpečnejším profilom nežiadúcich účinkov oproti klasickým opiátom, keďže nespôsobujú útlm dychu v rovnakej miere ako klasické opiáty.^{114,115} Ich účinok na adrenergne receptory a blokáda kalciových kanálov podporuje analgetický účinok a vytvára synergiu pre komplexnú blokádu bolestivých podnetov.^{72,74} Mitragynin je sám o sebe pomerne slabý agonista s aktivitou menšou ako morfín, ale 7-hydroxymitragynin a mitragynin pseudoindoxyl, ktoré vznikajú *in vivo*, sa podieľajú na analgetickom účinku a majú významne vyšší účinok ako morfín.^{70,85,111} Cez opioidné účinky je sprostredkovaný aj antitusický a antidiaroidný efekt mitragyninu a pridružených alkaloidov.^{83,86} Je potrebné preskúmať opioidnú aktivitu ďalších minoritných alkaloidov *M. speciosa* kvôli ich štruktúre podobnej mitragyninu. Výhodou je pozitívny efekt pri užití ako substitúcia opiátov v terapii závislostí. Alkaloidy *M. speciosa* majú potenciál sami o sebe vytvárať závislosti, ale abstinenčné symptómy po podaní extraktu a mitragyninu pseudoindoxylu boli lepšie tolerovateľné ako u opiátov.¹⁰

Štúdie naznačujú využitie kratomu i u iných ochoreniach. Významným je antidiabetická aktivita, kde je za aktivitu zodpovedný nielen mitragynin ale hlavne fenolové látky prítomné v *M. speciosa*, špecificky flavonoidy, a to kvercetin.^{7,34,66} Účinok kvercetinu a ďalších flavonoidov limituje nízka biodostupnosť flavonoidov ako celku.¹⁹¹ S antidiabetickou aktivitou sa spája aj antioxidačná aktivita mitragyninu a fenolových látok obsiahnutých v *M. speciosa*.^{12,68} Antioxidačná aktivita je aspoň čiastočne zodpovedná za hypolipidemický účinok kratomu a hrá rolu v prevencii nádorových ochorení, keďže oxidačný stres môže spôsobovať mutácie v kľúčových génoch regulujúcich bunkové delenie.^{103,105,106}

Kvôli efektu na adrenergných, dopaminergných a serotonergných neurónoch má mitragynin významný potenciál v liečbe psychických a psychiatrických ochorení.^{5,9,123} Má výhodnejšie nežiadúce účinky ako liečivá v skupine SSRI a zlepšuje štruktúru spánku. Častým nežiadúcim účinkom pri užívaní liečiv skupiny SSRI je nespavosť. Mitragynin ale nespôsobuje nespavosť a má pozitívny vliv na štruktúru spánku bez negatívneho efektu na REM fázu.¹²² Extrakt *M. speciosa* má taktiež potenciál ako doplnková liečba pri úzkostiach

nielen kvôli efektu na monoaminových dráhach ale aj kvôli priamemu anxiolytickému efektu.^{9,78}

Sekundárne metabolity *M. speciosa* vykazujú aj antiparazitickú a antimikrobiálnu aktivitu. Antiparazitická aktivita ale nebola zatiaľ potvrdená v žiadnych *in vivo* štúdiách a je dostupná len jedna štúdia na larválnom štádiu nematód *Strongyles*.⁸⁹ Účinok je preto potrebné ďalej preskúmať v *in vivo* štúdiách pre potvrdenie daného efektu. Na strane antimikrobiálnej aktivity má kratom potenciál ako virucidné agens v štúdiu zameranej na SARS-CoV-2 a štúdie na patogénne kmene baktérií potvrdzujú inhibičný efekt na rast baktérií. Za aktivitu sú zodpovedné hlavne fenolové látky prítomné v *M. speciosa*.^{68,87}

Dostupné dáta o farmakokinetike mitragyninu ukazujú na jeho nízku biodostupnosť v rozmedzí 3 až 21%.^{141,145} Mitragynin je málo rozpustný vo vode ale má dobrú rozpustnosť v kyselom prostredí, v ktorom sa zároveň rýchlo rozkladá, ale je dostatočne lipofilný pre absorpciu.¹⁴⁷ Alkaloid sa absorbuje pasívnou difúziou v črevnej stene a má vysoký vypočítaný distribučný objem, naznačujúci distribúciu do extracelulárnej tekutiny.¹⁴⁵ Ako slabá zásada má tendenciu sa akumulovať v kyselom cytosole kvôli fenoménu ion trappingu. Až 85–95 % mitragyninu sa viaže na proteíny v krvi, kvôli čomu sa dá odhadnúť, že koncentrácia v tkanivách je len okolo 5–15 % koncentrácie v krvi.^{145,147} Bol navrhnutý dvojkompartmentový model farmakokinetiky. Mitragynin má dlhý $T_{1/2}$ u ľudí s hodnotou okolo jedného dňa. Bola vykonaná ale len jedna štúdia na ľuďoch a $T_{1/2}$ a clearance je ťažké stanoviť kvôli rozdielom v metabolizácii cez CYP3A4 a distribúcii, ale clearance bolo odhadnuté na $98,1 \pm 51,34$ l/h/kg.¹⁴⁴ Výsledky štúdie na ľuďoch sa podstatne líšia od zvieracích modelov, kde $T_{1/2}$ bolo podstatne nižšie v rozmedzí 2,6–13,14 hod.^{139–143} Kvôli rozporu dát je potrebné ďalej preskúmať farmakokinetiku u zvierat aj u ľudí.

Alkaloidy *M. speciosa* sú významné inhibítory CYP450 isoforiem, špecificky CYP2D6, CYP3A4 a CYP2C9.^{153,154} Taktiež inhibujú uridindifosfátglukuronosyltransferázy a P-gp.^{157,159,160} Alkaloidy preto majú vysoký potenciál interakcií s liečivami a môžu spôsobovať újmu na zdraví. CYP2D6 a CYP3A4 hrajú významnú rolu v metabolizme antidepresív, antipsychotík, opiátov, benzodiazepínov, statínov a ďalších často používaných skupín liečiv.^{155,156} Interakcie s mitragyninom viedli k viacerým fatálnym prípadom a je potrebné zostať ostražití a zvýšiť povedomie o potenciálnom nebezpečenstve kratomu. Mimo interakcie extrakt kratomu sám o sebe spôsobuje hepatotoxicitu, ale len pri vysokých dávkach.¹⁵ Má potenciál spôsobovať arytmiu torsade de pointes cez účinok na hERG draselné kanály I_{kr} a hypertenziu.^{161,164} Kratom

taktiež môže spôsobovať epileptické záchvaty a ďalšie neurologické symptómy, hlavne pri kombinácii s inými liečivami, pri vysokých dávkach alebo pri náhlom vysadení.¹⁷⁰ Vyskytli sa aj zvýšené hladiny kreatinínu a močoviny v krvi pri vysokých dávkach, ale v štandardných dávkach extraktu kratomu nebola potvrdená akútna nefrotoxicita.¹⁸

Celkovo, mitragynin a ďalšie alkaloidy *M. speciosa* majú potenciál byť základom pre novú skupinu liečiv na bolesť, diabetes, a psychologické poruchy. Viacero štúdií už pracovalo so syntetickými derivátmi mitragyninu, ktoré vykazovali výhodnú aktivitu na opioidných receptoroch. Je potrebné ale vykonať viac *in vivo* štúdií, plne kvantifikovať účinok na individuálne receptory a plne objasniť farmakokinetiku alkaloidov *M. speciosa*. Je taktiež potrebné kratom regulovať a obmedziť prístup mladistvým, na ktoré môže mať tvrdší negatívny dopad. Dostupnosť kratomu online bez bezpečnostných štúdií a laboratórnej analýzy je nebezpečná z dôvodu potenciálnej kontaminácie alebo zámény za iné liečivé látky, neobjasnenému dávkovaniu a potenciálu vyvolávať život ohrožujúce komplikácie.

5. Abstrakt

Száras, S.: *Mitragyna speciosa* Korth (Rubiaceae) – biologická aktivita sekundárnych metabolitov kratomu. Diplomová práca, Univerzita Karlova v Prahe, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmakognózie a farmaceutickej botaniky, Hradec Králové, 2024

Mitragyna speciosa Korth., taktiež známa ako kratom, je stálezelený tropický strom pochádzajúci z juhovýchodnej Ázie. Listy rastliny sú používané v thajskej tradičnej medicíne na liečbu chorôb vrátane bolesti, horúčky a hnačky, a na zmiernenie únavy a zlepšenie výkonu. V posledných rokoch sa kratom stal populárnym na Západe ako alternatíva k tradičným opiátom a na liečbu závislosti na opiátoch. Fytochemické štúdie odhalili viac ako 54 biologicky aktívnych alkaloidov. Najviac študované alkaloidy, mitragynin a 7-hydroxymitragynin, vykazujú významnú aktivitu na opioidných receptoroch s funkčnou selektivitou G-proteínovej dráhy, čo vedie k analgézií s nižším rizikom nežiaducich účinkov, spolu s ďalšími účinkami na monoamínové dráhy a Ca²⁺ kanály. Významné výsledky ukazuje kratom aj pri liečbe diabetu II. typu a duševných chorôb. Napriek svojim benefitom, kratom vytvára psychické aj fyzické závislosti s abstinenčnými príznakmi podobnými klasickým opiátom. Použitie kratomu bolo spojené s epileptickými záchvatmi, hepatotoxicitou a kardiotoxicitou. Zároveň alkaloidy kratomu môžu interagovať so súbežne podávanými liekmi prostredníctvom interakcie s cytochrómom P450, P-glykoproteínom a uridíndifosfátglukuronozyltransferázou. Cieľom tejto práce je poskytnúť komplexný prehľad dostupných údajov o fytochémií a biologickej aktivite extraktu kratomu a jeho obsahových látok (najmä alkaloidov) spolu s jeho výhodami a potenciálnou toxicitou.

Kľúčové slová: *Mitragyna speciosa*, kratom, mitragynin, biologická aktivita, fytochémiá, alkaloidy

6. Abstract

Szárás, S.: *Mitragyna speciosa* Korth (Rubiaceae) – biological activity of Kratom secondary metabolites. Diploma thesis, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmacognosy and Pharmaceutical Botany, Hradec Králové, 2024

Mitragyna speciosa Korth, also known as kratom, is an evergreen tropical tree native to Southeast Asia. The leaves of the plant are used in traditional medicine by the native peoples in Thailand to treat disorders including pain, fever, diarrhea, to relieve fatigue and to improve physical performance. In recent years, kratom has become popular in countries of the West as an alternative to traditional opiates and for the treatment of opiate addiction. Phytochemical studies have revealed more than 54 biologically active alkaloids. The most studied alkaloids, mitragynine and 7-hydroxymitragynine, possess a promising opioid activity with a biased agonism at the receptors, leading to analgesia with a lower risk of adverse effects, along with additional pharmacological effects on monoamine systems and Ca²⁺ channels. Kratom also shows promising results in the treatment of diabetes and mental disorders. Nonetheless, kratom appears to form both physical and psychological dependence with withdrawal symptoms similar to classic opioids. Kratom use has been linked to seizures, hepatotoxicity and cardiotoxicity. Kratom may interact with coadministered medications via interaction at cytochrome P450, P-glycoprotein and uridine diphosphate glucuronosyltransferase. The aim of this thesis is to provide a comprehensive review of the available phytochemical data and the biological activity of kratom extract and its alkaloids, along with its benefits and potential toxicity.

Keywords: *Mitragyna speciosa*, kratom, mitragynine, biological activity, phytochemistry, alkaloids

7. Použitá literatura

- (1) Ujvary, I. Kratom and Other Mitragynines: The Chemistry and Pharmacology of Opioids from a Non-Opium Source. *Journal of Addiction Research & Therapy* **2015**, *06* (01). <https://doi.org/10.4172/2155-6105.1000214>.
- (2) Assanangkornchai, S.; Muekthong, A.; Sam-angsri, N.; Pattanasattayawong, U. The Use of Mitragynine Speciosa (“Krathom”), an Addictive Plant, in Thailand. *Substance Use & Misuse* **2007**, *42* (14), 2145–2157. <https://doi.org/10.1080/10826080701205869>.
- (3) Suwanlert, S. A Study of Kratom Eaters in Thailand. *Bulletin on Narcotics* **1975**, *27* (3), 21–27.
- (4) Havemann-Reinecke, U. P01-50-Kratom and Alcohol Dependence: Clinical Symptoms, Withdrawal Treatment and Pharmacological Mechanisms- A Case Report. *European Psychiatry* **2011**, *26* (S2), 50–50. [https://doi.org/10.1016/S0924-9338\(11\)71761-8](https://doi.org/10.1016/S0924-9338(11)71761-8).
- (5) Boyer, E. W.; Babu, K. M.; Adkins, J. E.; McCurdy, C. R.; Halpern, J. H. Self-Treatment of Opioid Withdrawal Using Kratom (Mitragynia Speciosa Korth). *Addiction* **2008**, *103* (6), 1048–1050. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2008.02209.x>.
- (6) Váradi, A.; Marrone, G. F.; Palmer, T. C.; Narayan, A.; Szabó, M. R.; Le Rouzic, V.; Grinnell, S. G.; Subrath, J. J.; Warner, E.; Kalra, S.; Hunkele, A.; Pagirsky, J.; Eans, S. O.; Medina, J. M.; Xu, J.; Pan, Y.-X.; Borics, A.; Pasternak, G. W.; McLaughlin, J. P.; Majumdar, S. Mitragynine/Corynantheidine Pseudoindoxyls As Opioid Analgesics with Mu Agonism and Delta Antagonism, Which Do Not Recruit β -Arrestin-2. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (18), 8381–8397. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00748>.
- (7) Zhang, P.; Wei, W.; Zhang, X.; Wen, C.; Ovatlarnporn, C.; Olatunji, O. J. Antidiabetic and Antioxidant Activities of Mitragyna Speciosa (Kratom) Leaf Extract in Type 2 Diabetic Rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2023**, *162*, 114689. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114689>.
- (8) Utar, Z.; Majid, M. I. A.; Adenan, M. I.; Jamil, M. F. A.; Lan, T. M. Mitragynine Inhibits the COX-2 mRNA Expression and Prostaglandin E2 Production Induced by Lipopolysaccharide in RAW264.7 Macrophage Cells. *Journal of Ethnopharmacology* **2011**, *136* (1), 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.011>.
- (9) Farah Idayu, N.; Taufik Hidayat, M.; Moklas, M. A. M.; Sharida, F.; Nurul Raudzah, A. R.; Shamima, A. R.; Apyani, E. Antidepressant-like Effect of Mitragynine Isolated from *Mitragyna Speciosa* Korth in Mice Model of Depression. *Phytomedicine* **2011**, *18* (5), 402–407. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.08.011>.
- (10) Wilson, L. L.; Chakraborty, S.; Eans, S. O.; Cirino, T. J.; Stacy, H. M.; Simons, C. A.; Uprety, R.; Majumdar, S.; McLaughlin, J. P. Kratom Alkaloids, Natural and Semi-Synthetic, Show Less Physical Dependence and Ameliorate Opioid Withdrawal. *Cellular and Molecular Neurobiology* **2021**, *41* (5), 1131–1143. <https://doi.org/10.1007/s10571-020-01034-7>.
- (11) Gutridge, A. M.; Robins, M. T.; Cassell, R. J.; Uprety, R.; Mores, K. L.; Ko, M. J.; Pasternak, G. W.; Majumdar, S.; van Rijn, R. M. G Protein-biased Kratom-alkaloids and Synthetic Carfentanil-amide Opioids as Potential Treatments for Alcohol Use Disorder. *British Journal of Pharmacology* **2020**, *177* (7), 1497–1513. <https://doi.org/10.1111/bph.14913>.
- (12) Goh, T. B.; Yian, K. R.; Mordi, M. N.; Mansor, S. M. Antioxidant Value and Antiproliferative Efficacy of Mitragynine and a Silane Reduced Analogue. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* **2014**, *15* (14), 5659–5665. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.14.5659>.

- (13) Fatin, N.; Zailan, Z.; Zaidan, U.; Mahayidin, H.; Hassan, M. *Mitragyna speciosa* methanol extract (MSME) exhibits potential anti-oxidative property and inhibitory activity on tumour growth stimulating cytokines in SW480 colorectal cancer cell lines. *2nd International Conference on Oral Microbiology & Oral Immunology (ICOMOI 2019), Putrajaya, Malaysia 2019*
- (14) Khazaeli, A.; Jerry, J. M.; Vazirian, M. Treatment of Kratom Withdrawal and Addiction With Buprenorphine. *Journal of Addiction Medicine* **2018**, *12* (6), 493–495. <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000435>.
- (15) Pantano, F.; Tittarelli, R.; Mannocchi, G.; Zaami, S.; Ricci, S.; Giorgetti, R.; Terranova, D.; Busardò, F. P.; Marinelli, E. Hepatotoxicity Induced by “the 3Ks”: Kava, Kratom and Khat. *International Journal of Molecular Sciences* **2016**, *17* (4), 580. <https://doi.org/10.3390/ijms17040580>.
- (16) Lu, J.; Wei, H.; Wu, J.; Jamil, M. F. A.; Tan, M. L.; Adenan, M. I.; Wong, P.; Shim, W. Evaluation of the Cardiotoxicity of Mitragynine and Its Analogues Using Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes. *PLoS One* **2014**, *9* (12), e115648. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115648>.
- (17) Afzal, H.; Esang, M.; Rahman, S. A Case of Kratom-Induced Seizures. *Cureus* **2020**, *12* (1), e6588. <https://doi.org/10.7759/cureus.6588>.
- (18) Harizal, S. N.; Mansor, S. M.; Hasnan, J.; Tharakan, J. K. J.; Abdullah, J. Acute Toxicity Study of the Standardized Methanolic Extract of *Mitragyna Speciosa* Korth in Rodent. *Journal of Ethnopharmacology* **2010**, *131* (2), 404–409. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.013>.
- (19) [ondrej.zicha\(at\)gmail.com](mailto:ondrej.zicha@gmail.com), O. Z. *BioLib: Biological library*. <https://www.biolib.cz/cz/taxon/id2056066/> (accessed 2024-08-20).
- (20) *Rubiaceae Juss. | Plants of the World Online | Kew Science*. Plants of the World Online. <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30032120-2> (accessed 2024-06-23).
- (21) *Mitragyna Korth. | Plants of the World Online | Kew Science*. Plants of the World Online. <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:327864-2> (accessed 2024-06-23).
- (22) Abdullahi, G.; Sule, H.; A, C.; Isah, musa danazumi. Diversity and Relative Distribution of Honeybees Foraging Plants in Some Selected Reserves in Mubi Region, Sudan Savannah Ecological Zone of Nigeria. *Advances in Applied Science Research* **2011**, *2*.
- (23) *WFO Plant List | World Flora Online*. <https://wfoplantlist.org/taxon/wfo-4000024425-2024-06?page=1> (accessed 2024-08-20).
- (24) Brown, P. N. A Botanical, Phytochemical and Ethnomedicinal Review of the Genus *Mitragyna* Korth_ Implications for Products Sold as Kratom. *Journal of Ethnopharmacology* **2017**.
- (25) Leksungnoen, N.; Andriyas, T.; Ngernsaengsaruy, C.; Uthairatsamee, S.; Racharak, P.; Sonjaroon, W.; Kjelgren, R.; Pearson, B. J.; McCurdy, C. R.; Sharma, A. Variations in Mitragynine Content in the Naturally Growing Kratom (*Mitragyna Speciosa*) Population of Thailand. *Frontiers in Plant Science* **2022**, *13*, 1028547. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1028547>.
- (26) Settle, A. G.; Yang, C. A Case of Severe Kratom Addiction Contributing to a Suicide Attempt. *Cureus* **14** (9), e29698. <https://doi.org/10.7759/cureus.29698>.

- (27) Müller, E.; Hillemacher, T.; Müller, C. P. Kratom Instrumentalization for Severe Pain Self-Treatment Resulting in Addiction - A Case Report of Acute and Chronic Subjective Effects. *Heliyon* **2020**, *6* (7), e04507. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04507>.
- (28) *Kratom (Mitragyna speciosa) drug profile* | www.emcdda.europa.eu. https://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/kratom_en#control (accessed 2024-06-28).
- (29) Ajik, M.; Kimjus, K. Vegetative Propagation of Sepat (*Mitragyna Speciosa*). *Sepilok Bulletin* **2010**, *12*, 1–11.
- (30): ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์. https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=251 (accessed 2024-08-20).
- (31) Flores-Bocanegra, L.; Raja, H. A.; Graf, T. N.; Augustinović, M.; Wallace, E. D.; Hematian, S.; Kellogg, J. J.; Todd, D. A.; Cech, N. B.; Oberlies, N. H. The Chemistry of Kratom [*Mitragyna Speciosa*]: Updated Characterization Data and Methods to Elucidate Indole and Oxindole Alkaloids. *Journal of Natural Products* **2020**, *83* (7), 2165–2177. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00257>.
- (32) Orio, L.; Alexandru, L.; Cravotto, G.; Mantegna, S.; Barge, A. UAE, MAE, SFE-CO₂ and Classical Methods for the Extraction of *Mitragyna Speciosa* Leaves. *Ultrasonics Sonochemistry* **2012**, *19* (3), 591–595. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.10.001>.
- (33) Chen, L.; Fei, S.; Olatunji, O. J. LC/ESI/TOF-MS Characterization, Anxiolytic and Antidepressant-like Effects of *Mitragyna Speciosa* Korth Extract in Diabetic Rats. *Molecules* **2022**, *27* (7), 2208. <https://doi.org/10.3390/molecules27072208>.
- (34) Limcharoen, T.; Pouyfung, P.; Ngamdokmai, N.; Prasopthum, A.; Ahmad, A. R.; Wisdawati, W.; Prugsakij, W.; Warinhomhoun, S. Inhibition of α -Glucosidase and Pancreatic Lipase Properties of *Mitragyna Speciosa* (Korth.) Havil. (*Kratom*) Leaves. *Nutrients* **2022**, *14* (19), 3909. <https://doi.org/10.3390/nu14193909>.
- (35) Hinou, J.; Harvala, C. Flavonol derivatives from the Leaves of *Mitragyna Speciosa*. *Pharmazie* **1988**, *43* (5), 372.
- (36) Manwill, P. K.; Flores-Bocanegra, L.; Khin, M.; Raja, H. A.; Cech, N. B.; Oberlies, N. H.; Todd, D. A. Kratom (*Mitragyna Speciosa*) Validation: Quantitative Analysis of Indole and Oxindole Alkaloids Reveals Chemotypes of Plants and Products #. *Planta Medica* **2022**, *88* (09–10), 838–857. <https://doi.org/10.1055/a-1795-5876>.
- (37) Takayama, H. Chemistry and Pharmacology of Analgesic Indole Alkaloids from the Rubiaceae Plant, *Mitragyna Speciosa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **2004**, *52* (8), 916–928. <https://doi.org/10.1248/cpb.52.916>.
- (38) Garza-Garcia, J. J. O.; Qu, Y. Chemical, Pharmacological Properties and Biosynthesis of Opioid Mitragynine in *Mitragyna Speciosa* (*Kratom*). *Current Opinion in Plant Biology* **2024**, *81*, 102600. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2024.102600>.
- (39) Shellard, E. J.; Houghton, P. J.; Resha, M. The *Mitragyna* Species of Asia. *Planta Medica* **1978**, *34* (5), 26–36. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1097410>.
- (40) Philipp, A. A.; Wissenbach, D. K.; Weber, A. A.; Zapp, J.; Maurer, H. H. Metabolism Studies of the *Kratom* Alkaloids Mitraciliatine and Isopaynantheine, Diastereomers of the Main Alkaloids Mitragynine and Paynantheine, in Rat and Human Urine Using Liquid Chromatography–Linear Ion Trap–Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B* **2011**, *879* (15), 1049–1055. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.03.005>.
- (41) Houghton, P. J.; Latiff, A.; Said, I. M. Alkaloids from *Mitragyna Speciosa*. *Phytochemistry* **1991**, *30* (1), 347–350. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)84152-I](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)84152-I).

- (42) Veeramohan, R.; Zamani, A. I.; Azizan, K. A.; Goh, H.-H.; Aizat, W. M.; Razak, M. F. A.; Yusof, N. S. M.; Mansor, S. M.; Baharum, S. N.; Ng, C. L. Comparative Metabolomics Analysis Reveals Alkaloid Repertoires in Young and Mature *Mitragyna Speciosa* (Korth.) Havil. Leaves. *PLoS One* **2023**, *18* (3), e0283147. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283147>.
- (43) Schotte, C.; Jiang, Y.; Grzech, D.; Dang, T.-T. T.; Laforest, L. C.; León, F.; Mottinelli, M.; Nadakuduti, S. S.; McCurdy, C. R.; O'Connor, S. E. Directed Biosynthesis of Mitragynine Stereoisomers. *Journal of the American Chemical Society* **2023**, *145* (9), 4957–4963. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c13644>.
- (44) Beckett, A.; Shellard, E.; Tackie, A. THE MITRAGYNA SPECIES OF ASIA – Part IV. The Alkaloids of the Leaves of *Mitragyna Speciosa* Korth.. Isolation of Mitragynine and Speciofoline ¹. *Planta Medica* **1965**, *13* (02), 241–246. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1100118>.
- (45) Zacharias, D. E.; Rosenstein, R. D.; Jeffrey, G. A. The Structure of Mitragynine Hydroiodide. *Acta Crystallographica* **1965**, *18* (6), 1039–1043. <https://doi.org/10.1107/S0365110X65002499>.
- (46) Avery, B. A.; Boddu, S. P.; Sharma, A.; Furr, E. B.; Leon, F.; Cutler, S. J.; McCurdy, C. R. Comparative Pharmacokinetics of Mitragynine after Oral Administration of *Mitragyna Speciosa* (Kratom) Leaf Extracts in Rats. *Planta Medica* **2019**, *85* (04), 340–346. <https://doi.org/10.1055/a-0770-3683>.
- (47) Ramanathan, S.; Parthasarathy, S.; Murugaiyah, V.; Magosso, E.; Tan, S. C.; Mansor, S. M. Understanding the Physicochemical Properties of Mitragynine, a Principal Alkaloid of *Mitragyna Speciosa*, for Preclinical Evaluation. *Molecules* **2015**, *20* (3), 4915–4927. <https://doi.org/10.3390/molecules20034915>.
- (48) Beng, G. T.; Hamdan, M. R.; Siddiqui, M. J.; Mordi, M. N.; Mansor, S. M. A simple and cost effective isolation and purification protocol of mitragynine from *Mitragyna speciosa* Korth. (Ketum) leaves. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences* **2011**, *15* (1).
- (49) Sakamoto, J.; Kitajima, M.; Ishikawa, H. Asymmetric Total Syntheses of Mitragynine, Speciogynine, and 7-Hydroxymitragynine. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **2022**, *70* (9), 662–668. <https://doi.org/10.1248/cpb.c22-00441>.
- (50) Kruegel, A. C.; Uprety, R.; Grinnell, S. G.; Langreck, C.; Pekarskaya, E. A.; Le Rouzic, V.; Ansonoff, M.; Gassaway, M. M.; Pintar, J. E.; Pasternak, G. W.; Javitch, J. A.; Majumdar, S.; Sames, D. 7-Hydroxymitragynine Is an Active Metabolite of Mitragynine and a Key Mediator of Its Analgesic Effects. *ACS Central Science* **2019**, *5* (6), 992–1001. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.9b00141>.
- (51) Ponglux, D.; Wongseripipatana, S.; Takayama, H.; Kikuchi, M.; Kurihara, M.; Kitajima, M.; Aimi, N.; Sakai, S. A New Indole Alkaloid, 7 Alpha-Hydroxy-7H-Mitragynine, from *Mitragyna Speciosa* in Thailand. *Planta Medica* **1994**, *60* (6), 580–581. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959578>.
- (52) Smith, L. C.; Lin, L.; Hwang, C. S.; Zhou, B.; Kubitz, D. M.; Wang, H.; Janda, K. D. Lateral Flow Assessment and Unanticipated Toxicity of Kratom. *Chemical Research in Toxicology* **2019**, *32* (1), 113–121. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00218>.
- (53) Khetmalis, Y. M.; Shivani, M.; Murugesan, S.; Chandra Sekhar, K. V. G. Oxindole and Its Derivatives: A Review on Recent Progress in Biological Activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2021**, *141*, 111842. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111842>.
- (54) Shellard, E. J.; Phillipson, J. D.; Gupta, D. The *Mitragyna* species of Asia. *Planta Medica* **1969**, *17* (02), 146–163. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1099840>.

- (55) Zarembo, J. E.; Douglas, B.; Valenta, J.; Weisbach, J. A. Metabolites of Mitragynine. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1974**, *63* (9), 1407–1415. <https://doi.org/10.1002/jps.2600630916>.
- (56) Kamble, S. H.; León, F.; King, T. I.; Berthold, E. C.; Lopera-Londoño, C.; Siva Rama Raju, K.; Hampson, A. J.; Sharma, A.; Avery, B. A.; McMahon, L. R.; McCurdy, C. R. Metabolism of a Kratom Alkaloid Metabolite in Human Plasma Increases Its Opioid Potency and Efficacy. *ACS Pharmacology & Translational Science* **2020**, *3* (6), 1063–1068. <https://doi.org/10.1021/acscptsci.0c00075>.
- (57) Ziegler, F. E.; Sweeny, J. G. A Synthesis of Dihydrocorynantheol and 3-Epi-Dihydrocorynantheol. *Tetrahedron Letters* **1969**, *10* (14), 1097–1100. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)97749-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)97749-4).
- (58) Takayama, H.; Maeda, M.; Ohbayashi, S.; Kitajima, M.; Sakai, S.; Aimi, N. The First Total Synthesis of (-)-Mitragynine, an Analgesic Indole Alkaloid in *Mitragyna Speciosa*. *Tetrahedron Letters* **1995**, *36* (51), 9337–9340. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(95\)02022-H](https://doi.org/10.1016/0040-4039(95)02022-H).
- (59) Ma, J.; Yin, W.; Zhou, H.; Liao, X.; Cook, J. M. General Approach to the Total Synthesis of 9-Methoxy Substituted Indole Alkaloids: Synthesis of Mitragynine, as Well as 9-Methoxygeissoschizol and 9-Methoxy-Nb-Methylgeissoschizol. *The Journal of organic chemistry* **2009**, *74* (1), 264. <https://doi.org/10.1021/jo801839t>.
- (60) Wanner, M. J.; Claveau, E.; van Maarseveen, J. H.; Hiemstra, H. Enantioselective Syntheses of Corynanthe Alkaloids by Chiral Brønsted Acid and Palladium Catalysis. *Chemistry – A European Journal* **2011**, *17* (49), 13680–13683. <https://doi.org/10.1002/chem.201103150>.
- (61) Kim, J.; Schneekloth, J. S.; Sorensen, E. J. A Chemical Synthesis of 11-Methoxy Mitragynine Pseudoindoxyl Featuring the Interrupted Ugi Reaction. *Chemical Science* **2012**, *3* (9), 2849–2852. <https://doi.org/10.1039/C2SC20669B>.
- (62) Guttridge, A. M.; Chakraborty, S.; Varga, B. R.; Rhoda, E. S.; French, A. R.; Blaine, A. T.; Royer, Q. H.; Cui, H.; Yuan, J.; Cassell, R. J.; Szabó, M.; Majumdar, S.; van Rijn, R. M. Evaluation of Kratom Opioid Derivatives as Potential Treatment Option for Alcohol Use Disorder. *Frontiers in Pharmacology* **2021**, *12*, 764885. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.764885>.
- (63) Zakaria, F.; Tan, J.-K.; Mohd Faudzi, S. M.; Abdul Rahman, M. B.; Ashari, S. E. Ultrasound-Assisted Extraction Conditions Optimisation Using Response Surface Methodology from *Mitragyna Speciosa* (Korth.) Havil Leaves. *Ultrasonics Sonochemistry* **2021**, *81*, 105851. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105851>.
- (64) Phongprueksapattana, S.; Putalun, W.; Keawpradub, N.; Wungsintaweekul, J. *Mitragyna Speciosa*: Hairy Root Culture for Triterpenoid Production and High Yield of Mitragynine by Regenerated Plants. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences* **2008**, *63* (9–10), 691–698. <https://doi.org/10.1515/znc-2008-9-1014>.
- (65) La-up, A.; Wongrith, P.; Chaichan, W.; Aramrattana, A.; Saengow, U. Association between Kratom (*Mitragyna Speciosa*) Use and Metabolic Syndrome. *Heliyon* **2022**, *8* (5), e09468. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09468>.
- (66) Janthongkaw, A.; Klaophimai, S.; Khampaya, T.; Yimthiang, S.; Yang, Y.; Ma, R.; Bumyut, A.; Pouyfung, P. Effect of Green and Red Thai Kratom (*Mitragyna Speciosa*) on Pancreatic Digestive Enzymes (Alpha-Glucosidase and Lipase) and Acetyl-Carboxylase 1 Activity: A Possible Therapeutic Target for Obesity Prevention. *PLoS One* **2023**, *18* (9), e0291738. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291738>.

- (67) Purintrapiban, J.; Keawpradub, N.; Kansenalak, S.; Chittrakarn, S.; Janchawee, B.; Sawangjaroen, K. Study on Glucose Transport in Muscle Cells by Extracts from *Mitragyna Speciosa* (Korth) and Mitragynine. *Natural Product Research* **2011**, *25* (15), 1379–1387. <https://doi.org/10.1080/14786410802267627>.
- (68) Parthasarathy, S.; Bin Azizi, J.; Ramanathan, S.; Ismail, S.; Sasidharan, S.; Said, M. I. M.; Mansor, S. M. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Aqueous, Methanolic and Alkaloid Extracts from *Mitragyna Speciosa* (Rubiaceae Family) Leaves. *Molecules* **2009**, *14* (10), 3964–3974. <https://doi.org/10.3390/molecules14103964>.
- (69) Prozialeck, W. C.; Jivan, J. K.; Andurkar, S. V. Pharmacology of Kratom: An Emerging Botanical Agent with Stimulant, Analgesic and Opioid-like Effects. *The Journal of American Osteopathic Association* **2012**, *112* (12), 792–799.
- (70) Matsumoto, K.; Horie, S.; Ishikawa, H.; Takayama, H.; Aimi, N.; Ponglux, D.; Watanabe, K. Antinociceptive Effect of 7-Hydroxymitragynine in Mice: Discovery of an Orally Active Opioid Analgesic from the Thai Medicinal Herb *Mitragyna Speciosa*. *Life Sciences* **2004**, *74* (17), 2143–2155. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.054>.
- (71) Foss, J. D.; Nayak, S. U.; Tallarida, C. S.; Farkas, D. J.; Ward, S. J.; Rawls, S. M. Mitragynine, Bioactive Alkaloid of Kratom, Reduces Chemotherapy-Induced Neuropathic Pain in Rats through α -Adrenoceptor Mechanism. *Drug and Alcohol Dependence* **2020**, *209*, 107946. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2020.107946>.
- (72) Matsumoto, K.; Mizowaki, M.; Suchitra, T.; Murakami, Y.; Takayama, H.; Sakai, S.; Aimi, N.; Watanabe, H. Central Antinociceptive Effects of Mitragynine in Mice: Contribution of Descending Noradrenergic and Serotonergic Systems. *European Journal of Pharmacology* **1996**, *317* (1), 75–81. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(96\)00714-5](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(96)00714-5).
- (73) Ellis, C. R.; Racz, R.; Kruhlak, N. L.; Kim, M. T.; Zakharov, A. V.; Southall, N.; Hawkins, E. G.; Burkhart, K.; Strauss, D. G.; Stavitskaya, L. Evaluating Kratom Alkaloids Using PHASE. *PLoS ONE* **2020**, *15* (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229646>.
- (74) Matsumoto, K.; Yamamoto, L. T.; Watanabe, K.; Yano, S.; Shan, J.; Pang, P. K. T.; Ponglux, D.; Takayama, H.; Horie, S. Inhibitory Effect of Mitragynine, an Analgesic Alkaloid from Thai Herbal Medicine, on Neurogenic Contraction of the Vas Deferens. *Life Sciences* **2005**, *78* (2), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.04.042>.
- (75) Salleh, A.; Kadir, A. A.; Mossadeq, W. M. S. Antipyretic Effect of Crude Methanolic Extract of *Mitragyna Speciosa* in Mice. **2011**
- (76) Novindriani, D.; Novindriana, D.; Wijianto, B.; Andrie, M. Studies on the Sedative Effect of *Mitragyna Speciosa* Korth. as an Endemic Plant in West Borneo, Indonesia. *Letters in Applied NanoBioScience* **2021**, *11* (2), 3344–3349. <https://doi.org/10.33263/LIANBS112.33443349>.
- (77) Iman, I. N.; Ahmad, N. A. Z.; Mohd Yusof, N. A.; Talib, U. N.; Norazit, A.; Kumar, J.; Mehat, M. Z.; Hassan, Z.; Müller, C. P.; Muzaimi, M. Mitragynine (Kratom)-Induced Cognitive Impairments in Mice Resemble Δ 9-THC and Morphine Effects: Reversal by Cannabinoid CB1 Receptor Antagonism. *Frontiers in Pharmacology* **2021**, *12*, 708055. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.708055>.
- (78) Yusoff, N. H. M.; Suhaimi, F. W.; Vadivelu, R. K.; Hassan, Z.; Rümmler, A.; Rotter, A.; Amato, D.; Dringenberg, H. C.; Mansor, S. M.; Navaratnam, V.; Müller, C. P. Abuse Potential and Adverse Cognitive Effects of Mitragynine (Kratom). *Addiction Biology* **2016**, *21* (1), 98–110. <https://doi.org/10.1111/adb.12185>.
- (79) Hazim, A. I.; Ramanathan, S.; Parthasarathy, S.; Muzaimi, M.; Mansor, S. M. Anxiolytic-like Effects of Mitragynine in the Open-Field and Elevated plus-Maze Tests in Rats. *The*

- Journal of Physiological Sciences* **2014**, *64* (3), 161–169. <https://doi.org/10.1007/s12576-014-0304-0>.
- (80) Zul Aznal, A. N.; Mohamad Nor Hazalin, N. A.; Hassan, Z.; Mat, N. H.; Chear, N. J.-Y.; Teh, L. K.; Salleh, M. Z.; Suhaimi, F. W. Adolescent Kratom Exposure Affects Cognitive Behaviours and Brain Metabolite Profiles in Sprague-Dawley Rats. *Frontiers in Pharmacology* **2022**, *13*, 1057423. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1057423>.
- (81) Ismail, N. I. W.; Jayabalan, N.; Mansor, S. M.; Müller, C. P.; Muzaimi, M. Chronic Mitragynine (Kratom) Enhances Punishment Resistance in Natural Reward Seeking and Impairs Place Learning in Mice. *Addiction Biology* **2017**, *22* (4), 967–976. <https://doi.org/10.1111/adb.12385>.
- (82) Ilmie, M. U.; Mansor, S. M.; Abdullah, J. M. Behavioural and Electrophysiological Evidence of Impaired Learning and Memory in Male Sprague Dawley Rats Following Subchronic Exposure to Standardised Methanolic Extract of *Mitragyna Speciosa* Korth. *The Malaysian Journal of Medical Sciences: MJMS* **2015**, *22* (Spec Issue), 45–51.
- (83) Chittrakarn, S.; Sawangjaroen, K.; Prasetho, S.; Janchawee, B.; Keawpradub, N. Inhibitory Effects of Kratom Leaf Extract (*Mitragyna Speciosa* Korth.) on the Rat Gastrointestinal Tract. *Journal of Ethnopharmacology* **2008**, *116* (1), 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.032>.
- (84) Tsuchiya, S.; Miyashita, S.; Yamamoto, M.; Horie, S.; Sakai, S.-I.; Aimi, N.; Takayama, H.; Watanabe, K. Effect of Mitragynine, Derived from Thai Folk Medicine, on Gastric Acid Secretion through Opioid Receptor in Anesthetized Rats. *European Journal of Pharmacology* **2002**, *443* (1), 185–188. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(02\)01588-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(02)01588-1).
- (85) Watanabe, K.; Yano, S.; Horie, S.; Yamamoto, L. T. Inhibitory Effect of Mitragynine, an Alkaloid with Analgesic Effect from Thai Medicinal Plant *Mitragyna Speciosa*, on Electrically Stimulated Contraction of Isolated Guinea-Pig Ileum through the Opioid Receptor. *Life Sciences* **1997**, *60* (12), 933–942. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(97\)00023-4](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(97)00023-4).
- (86) Macko, E.; Weisbach, J. A.; Douglas, B. Some Observations on the Pharmacology of Mitragynine. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* **1972**, *198* (1), 145–161.
- (87) Sureram, S.; Chutiwitoonchai, N.; Pooprasert, T.; Sangsopha, W.; Limjiasahapong, S.; Jariyasopit, N.; Sirivatanauksorn, Y.; Khoomrung, S.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kittakooop, P. Discovery of Procyanidin Condensed Tannins of (–)-Epicatchin from Kratom, *Mitragyna Speciosa*, as Virucidal Agents against SARS-CoV-21. *International Journal of Biological Macromolecules* **2024**, *273*, 133059. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133059>.
- (88) Domnic, G.; Narayanan, S.; Mohana-Kumaran, N.; Singh, D. Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth.) an Overlooked Medicinal Plant in Malaysia. *Journal of Substance Use* **2022**, *27* (1), 1–6. <https://doi.org/10.1080/14659891.2021.1885515>.
- (89) Abdul Aziz, F. H.; Abdul Kadir, A.; Abdullah Sani, R. Mitragynine as an Anthelmintic for Caprine Strongyles; Faculty of Veterinary Medicine, Universiti Putra Malaysia, **2012**.
- (90) Priatna, P.; Pratama, R.; Widyowati, R.; Widyowati, R. Molecular Docking Estrogen Receptor Alpha Antagonist and P53- MDM2 Inhibitor, ADMET Prediction of Alkaloid Compound from *Mitragyna Speciosa* for Breast Cancer Therapy. *Pharmacognosy Journal* **2022**, *14* (6s), 912–916. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.188>.
- (91) Yamamoto, L. T.; Horie, S.; Takayama, H.; Aimi, N.; Sakai, S.; Yano, S.; Shan, J.; Pang, P. K.; Ponglux, D.; Watanabe, K. Opioid Receptor Agonistic Characteristics of Mitragynine Pseudoindoxyl in Comparison with Mitragynine Derived from Thai Medicinal Plant

- Mitragyna Speciosa. *General Pharmacology* **1999**, *33* (1), 73–81. [https://doi.org/10.1016/s0306-3623\(98\)00265-1](https://doi.org/10.1016/s0306-3623(98)00265-1).
- (92) Brunetti, P.; Lo Faro, A. F.; Tini, A.; Busardò, F. P.; Carlier, J. Pharmacology of Herbal Sexual Enhancers: A Review of Psychiatric and Neurological Adverse Effects. *Pharmaceuticals (Basel)* **2020**, *13* (10), 309. <https://doi.org/10.3390/ph13100309>.
- (93) A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula. *Nature* **1936**, *137* (3459), 255–255. <https://doi.org/10.1038/137255c0>.
- (94) Warner, M. L.; Kaufman, N. C.; Grundmann, O. The Pharmacology and Toxicology of Kratom: From Traditional Herb to Drug of Abuse. *International Journal of Legal Medicine* **2016**, *130* (1), 127–138. <https://doi.org/10.1007/s00414-015-1279-y>.
- (95) Assanangkornchai, S.; Aramrattana, A.; Perngparn, U.; Kanato, M.; Kanika, N.; Ayudha, A. Current situation of substance-related problems in Thailand. *Journal of the Psychiatric Association of Thailand* **2008**, *53*, 245–365.
- (96) Likhitsathian, S.; Jiraporncharoen, W.; Aramrattana, A.; Angkurawaranon, C.; Srisurapanont, M.; Thaikla, K.; Assanangkornchai, S.; Kanato, M.; Perngparn, U.; Jarubenza, R. Polydrug Use among Kratom Users: Findings from the 2011 Thailand National Household Survey. *Journal of Substance Use* **2018**, *23* (4), 384–389. <https://doi.org/10.1080/14659891.2018.1436599>.
- (97) Wantana, R.; Niwat, K.; Sawangjaroen, K. Effects of the Extracts from *Mitragyna Speciosa* Korth. Leaves on Analgesic and Behavioral Activities in Experimental Animals. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* **2007**, *29*.
- (98) *Kratom in Thailand: Decriminalisation and Community Control? | Transnational Institute*. <https://www.tni.org/en/publication/kratom-in-thailand-decriminalisation-and-community-control> (accessed 2024-08-23).
- (99) Garcia-Romeu, A.; Cox, D. J.; Smith, K. E.; Dunn, K. E.; Griffiths, R. R. Kratom (*Mitragyna Speciosa*): User Demographics, Use Patterns, and Implications for the Opioid Epidemic. *Drug and Alcohol Dependence* **2020**, *208*, 107849. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2020.107849>.
- (100) Osterhaus, H. *Osterhaus: Natural herb flavors students' day*. The University Daily Kansan. https://www.kansan.com/news/osterhaus-natural-herb-flavors-students-day/article_56634b3e-b3dc-591f-9577-e39acbd913.html (accessed 2024-07-05).
- (101) Herraiz, T.; Galisteo, J. Endogenous and Dietary Indoles: A Class of Antioxidants and Radical Scavengers in the ABTS Assay. *Free Radical Research* **2004**, *38* (3), 323–331. <https://doi.org/10.1080/10611860310001648167>.
- (102) Herraiz, T.; Galisteo, J.; Chamorro, C. L-Tryptophan Reacts with Naturally Occurring and Food-Occurring Phenolic Aldehydes to Give Phenolic Tetrahydro-Beta-Carboline Alkaloids: Activity as Antioxidants and Free Radical Scavengers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51* (8), 2168–2173. <https://doi.org/10.1021/jf0210066>.
- (103) Darenskaya, M. A.; Kolesnikova, L. I.; Kolesnikov, S. I. Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* **2021**, *171* (2), 179–189. <https://doi.org/10.1007/s10517-021-05191-7>.
- (104) Jakubczyk, K.; Dec, K.; Kałduńska, J.; Kawczuga, D.; Kochman, J.; Janda, K. Reactive Oxygen Species - Sources, Functions, Oxidative Damage. *Polski Merkuriusz Lekarski* **2020**, *48* (284), 124–127.

- (105) Kattoor, A. J.; Pothineni, N. V. K.; Palagiri, D.; Mehta, J. L. Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports* **2017**, *19* (11), 42. <https://doi.org/10.1007/s11883-017-0678-6>.
- (106) Klaunig, J. E. Oxidative Stress and Cancer. *Current Pharmaceutical Design* **2018**, *24* (40), 4771–4778. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190215121712>.
- (107) Hu, X.-D.; Yang, Y.; Zhong, X.-G.; Zhang, X.-H.; Zhang, Y.-N.; Zheng, Z.-P.; Zhou, Y.; Tang, W.; Yang, Y.-F.; Hu, L.-H.; Zuo, J.-P. Anti-Inflammatory Effects of Z23 on LPS-Induced Inflammatory Responses in RAW264.7 Macrophages. *Journal of Ethnopharmacology* **2008**, *120* (3), 447–451. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.026>.
- (108) Rosenbaum, D. M.; Rasmussen, S. G. F.; Kobilka, B. K. The Structure and Function of G-Protein-Coupled Receptors. *Nature* **2009**, *459* (7245), 356. <https://doi.org/10.1038/nature08144>.
- (109) Smith, J. S.; Lefkowitz, R. J.; Rajagopal, S. Biased Signalling: From Simple Switches to Allosteric Microprocessors. *Nature Reviews. Drug Discovery* **2018**, *17* (4), 243–260. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.229>.
- (110) Violin, J. D.; Crombie, A. L.; Soergel, D. G.; Lark, M. W. Biased Ligands at G-Protein-Coupled Receptors: Promise and Progress. *Trends in Pharmacological Sciences* **2014**, *35* (7), 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.04.007>.
- (111) Takayama, H.; Ishikawa, H.; Kurihara, M.; Kitajima, M.; Aimi, N.; Ponglux, D.; Koyama, F.; Matsumoto, K.; Moriyama, T.; Yamamoto, L. T.; Watanabe, K.; Murayama, T.; Horie, S. Studies on the Synthesis and Opioid Agonistic Activities of Mitragynine-Related Indole Alkaloids: Discovery of Opioid Agonists Structurally Different from Other Opioid Ligands. *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, *45* (9), 1949–1956. <https://doi.org/10.1021/jm010576e>.
- (112) Beckett, A. H.; Casy, A. F. Synthetic Analgesics: Stereochemical Considerations. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1954**, *6* (12), 986–1001. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1954.tb11033.x>.
- (113) Karunakaran, T.; Ngew, K. Z.; Zailan, A. A. D.; Jong, V. Y. M.; Bakar, M. H. A. The Chemical and Pharmacological Properties of Mitragynine and Its Diastereomers: An Insight Review. *Frontiers in Pharmacology* **2022**, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.805986>.
- (114) Neve, J. D.; Barlow, T. M. A.; Tourwé, D.; Bihel, F.; Simonin, F.; Ballet, S. Comprehensive Overview of Biased Pharmacology at the Opioid Receptors: Biased Ligands and Bias Factors. *RSC Medicinal Chemistry* **2021**, *12* (6), 828–870. <https://doi.org/10.1039/D1MD00041A>.
- (115) Kruegel, A. C.; Gassaway, M. M.; Kapoor, A.; Váradi, A.; Majumdar, S.; Filizola, M.; Javitch, J. A.; Sames, D. Synthetic and Receptor Signaling Explorations of the Mitragyna Alkaloids: Mitragynine as an Atypical Molecular Framework for Opioid Receptor Modulators. *Journal of the American Chemistry Society* **2016**, *138* (21), 6754–6764. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b00360>.
- (116) Obeng, S.; Kamble, S. H.; Reeves, M. E.; Restrepo, L. F.; Patel, A.; Behnke, M.; Chear, N. J.-Y.; Ramanathan, S.; Sharma, A.; León, F.; Hiranita, T.; Avery, B. A.; McMahan, L. R.; McCurdy, C. R. Investigation of the Adrenergic and Opioid Binding Affinities, Metabolic Stability, Plasma Protein Binding Properties, and Functional Effects of Selected Indole-Based Kratom Alkaloids. *Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *63* (1), 433–439. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01465>.

- (117) Hanapi, N. A.; Chear, N. J.-Y.; Azizi, J.; Yusof, S. R. Kratom Alkaloids: Interactions With Enzymes, Receptors, and Cellular Barriers. *Frontiers in Pharmacology* **2021**, *12*, 751656. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.751656>.
- (118) Chear, N. J.-Y.; León, F.; Sharma, A.; Kanumuri, S. R. R.; Zwolinski, G.; Abboud, K. A.; Singh, D.; Restrepo, L. F.; Patel, A.; Hiranita, T.; Ramanathan, S.; Hampson, A. J.; McMahon, L. R.; McCurdy, C. R. Exploring the Chemistry of Alkaloids from Malaysian *Mitragyna Speciosa* (Kratom) and the Role of Oxindoles on Human Opioid Receptors. *Journal of Natural Products* **2021**, *84* (4), 1034–1043. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c01055>.
- (119) Carpenter, J. M.; Criddle, C. A.; Craig, H. K.; Ali, Z.; Zhang, Z.; Khan, I. A.; Sufka, K. J. Comparative Effects of *Mitragyna Speciosa* Extract, Mitragynine, and Opioid Agonists on Thermal Nociception in Rats. *Fitoterapia* **2016**, *109*, 87–90. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.12.001>.
- (120) Gilron, I.; Watson, C. P. N.; Cahill, C. M.; Moulin, D. E. Neuropathic Pain: A Practical Guide for the Clinician. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal* **2006**, *175* (3), 265–275. <https://doi.org/10.1503/cmaj.060146>.
- (121) Matsumoto, K.; Narita, M.; Muramatsu, N.; Nakayama, T.; Misawa, K.; Kitajima, M.; Tashima, K.; Devi, L. A.; Suzuki, T.; Takayama, H.; Horie, S. Orally Active Opioid μ/δ Dual Agonist MGM-16, a Derivative of the Indole Alkaloid Mitragynine, Exhibits Potent Antiallodynic Effect on Neuropathic Pain in Mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2014**, *348* (3), 383–392. <https://doi.org/10.1124/jpet.113.208108>.
- (122) Cheaha, D.; Keawpradub, N.; Sawangjaroen, K.; Phukpattaranont, P.; Kumarnsit, E. Effects of an Alkaloid-Rich Extract from *Mitragyna Speciosa* Leaves and Fluoxetine on Sleep Profiles, EEG Spectral Frequency and Ethanol Withdrawal Symptoms in Rats. *Phytomedicine* **2015**, *22* (11), 1000–1008. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.07.008>.
- (123) Matsumoto, K.; Mizowaki, M.; Takayama, H.; Sakai, S.; Aimi, N.; Watanabe, H. Suppressive Effect of Mitragynine on the 5-Methoxy-N,N-Dimethyltryptamine-Induced Head-Twitch Response in Mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **1997**, *57* (1–2), 319–323. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(96\)00314-0](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(96)00314-0).
- (124) Obeng, S.; León, F.; Patel, A.; Restrepo, L.; Gamez-Jimenez, L.; Zuarth Gonzalez, J.; Pallares, V.; Mottinelli, M.; Lopera-Londoño, C.; McCurdy, C.; McMahon, L.; Hiranita, T. Serotonin 5-HT_{1A} Receptor Activity of Kratom Alkaloids Mitragynine, Paynantheine, and Speciogynine. *The FASEB Journal* **2021**, *35* (S1). <https://doi.org/10.1096/fasebj.2021.35.S1.04764>.
- (125) Holanda, V. A. D.; Oliveira, M. C.; Souza, L. S.; Lobão-Soares, B.; André, E.; Da Silva Junior, E. D.; Guerrini, R.; Calo, G.; Ruzza, C.; Gavioli, E. C. Dopamine D1 and D2 Receptors Mediate Neuropeptide S-Induced Antinociception in the Mouse Formalin Test. *European Journal of Pharmacology* **2019**, *859*, 172557. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172557>.
- (126) Vijeepallam, K.; Pandey, V.; Kunasegaran, T.; Murugan, D. D.; Naidu, M. *Mitragyna Speciosa* Leaf Extract Exhibits Antipsychotic-Like Effect with the Potential to Alleviate Positive and Negative Symptoms of Psychosis in Mice. *Frontiers in Pharmacology* **2016**, *7*, 464. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00464>.

- (127) Johnson, L. E.; Balyan, L.; Magdalany, A.; Saeed, F.; Salinas, R.; Wallace, S.; Veltri, C. A.; Swogger, M. T.; Walsh, Z.; Grundmann, O. The Potential for Kratom as an Antidepressant and Antipsychotic. *The Yale Journal of Biology and Medicine* **2020**, *93* (2), 283–289.
- (128) Farkas, D. J.; Inan, S.; Heydari, L. N.; Johnson, C. T.; Zhao, P.; Bradshaw, H. B.; Ward, S. J.; Rawls, S. M. Cannabinoid Mechanisms Contribute to the Therapeutic Efficacy of the Kratom Alkaloid Mitragynine against Neuropathic, but Not Inflammatory Pain. *Life Sciences* **2023**, *328*, 121878. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121878>.
- (129) Singh, D.; Vicknasingam, B.; Hassan, Z.; Mansor, S. M.; Ho, E. T. W. Ph. D.; Narayanan, S.; Müller, C. P.; Yücel, M.; Ho, E. T. W.; Singh, D. Ph. D.; Vicknasingam, B. Ph. D.; Hassan, Z. Ph. D.; Mansor, S. M. Ph. D.; Narayanan, S. Ph. D.; Müller, C. P. Ph. D.; Yücel, M. Ph. D. Long-Term Cognitive Effects of Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth.) Use. *Journal of Psychoactive Drugs* **2019**, *51* (1), 19–27. <https://doi.org/10.1080/02791072.2018.1555345>.
- (130) Coe, M. A.; Pillitteri, J. L.; Sembower, M. A.; Gerlach, K. K.; Henningfield, J. E. Kratom as a Substitute for Opioids: Results from an Online Survey. *Drug and Alcohol Dependence* **2019**, *202*, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2019.05.005>.
- (131) Sabapathy, K.; Lane, D. P. Understanding P53 Functions through P53 Antibodies. *Journal of Molecular Cell Biology* **2019**, *11* (4), 317–329. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz010>.
- (132) Nurakmal, M.; Rahman, A.; Nafiah, M.; Mohd, W.; Hakimi, N.; Salleh, W.; Tan, S.-P.; Mohd Hashim, N.; Zamakshshari, N. Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Activities of the Hexane and Dichloromethane Extracts of Malaysian *Mitragyna Speciosa* Korth. Leaves. *Malaysian Journal of Chemistry* **2022**, *24*, 191–198.
- (133) Saidin, N. A.; Cytotoxicity of extract of Malaysian *Mitragyna speciosa* Korth and its dominant alkaloids mitragynine. *Dissertation thesis*. Imperial college London, London, **2008**.
- (134) Singh, D.; Grundmann, O.; Murugaiyah, V.; Rahim, A. B. M.; Chawarski, M.; Balasingam, V. Improved Sexual Functioning of Long-Term Daily Users of *Mitragyna Speciosa* (Korth.). *Journal of Herbal Medicine* **2020**, *19*, 100293. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100293>.
- (135) Ridley, H. N. Malay Plant Names. *Journal of the Straits Branch of the Royal Asiatic Society* **1897**, No. 30, 31–283.
- (136) Jhamandas, K.; Marsala, M.; Ibuki, T.; Yaksh, T. Spinal Amino Acid Release and Precipitated Withdrawal in Rats Chronically Infused with Spinal Morphine. *The Journal of Neuroscience* **1996**, *16* (8), 2758–2766. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-08-02758.1996>.
- (137) King, T.; Ossipov, M. H.; Vanderah, T. W.; Porreca, F.; Lai, J. Is Paradoxical Pain Induced by Sustained Opioid Exposure an Underlying Mechanism of Opioid Antinociceptive Tolerance? *Neurosignals* **2005**, *14* (4), 194–205. <https://doi.org/10.1159/000087658>.
- (138) Ramachandram, D. S.; Damodaran, T.; Zainal, H.; Murugaiyah, V.; Ramanathan, S. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Mitragynine, the Principle Alkaloid of *Mitragyna Speciosa*: Present Knowledge and Future Directions in Perspective of Pain. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* **2020**, *31* (1). <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0138>.
- (139) de Moraes, N. V.; Moretti, R. A. C.; Furr, E. B.; McCurdy, C. R.; Lanchote, V. L. Determination of Mitragynine in Rat Plasma by LC-MS/MS: Application to Pharmacokinetics. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the*

- Biomedical and Life Sciences* **2009**, 877 (24), 2593–2597. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.06.023>.
- (140) Lu, S.; Tran, B. N.; Nelsen, J. L.; Aldous, K. M. Quantitative Analysis of Mitragynine in Human Urine by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B* **2009**, 877 (24), 2499–2505. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.06.024>.
- (141) Parthasarathy, S.; Ramanathan, S.; Ismail, S.; Adenan, M. I.; Mansor, S. M.; Murugaiyah, V. Determination of Mitragynine in Plasma with Solid-Phase Extraction and Rapid HPLC–UV Analysis, and Its Application to a Pharmacokinetic Study in Rat. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2010**, 397 (5), 2023–2030. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3707-7>.
- (142) Vuppala, P. K.; Boddu, S. P.; Furr, E. B.; McCurdy, C. R.; Avery, B. A. Simple, Sensitive, High-Throughput Method for the Quantification of Mitragynine in Rat Plasma Using UPLC-MS and Its Application to an Intravenous Pharmacokinetic Study. *Chromatographia* **2011**, 74 (9), 703–710. <https://doi.org/10.1007/s10337-011-2128-x>.
- (143) Kong, W. M.; Mohamed, Z.; Alshawsh, M. A.; Chik, Z. Evaluation of Pharmacokinetics and Blood-Brain Barrier Permeability of Mitragynine Using *in Vivo* Microdialysis Technique. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2017**, 143, 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.020>.
- (144) Trakulsrichai, S.; Sathirakul, K.; Auparakkitanon, S.; Krongvorakul, J.; Sueajai, J.; Noumjad, N.; Sukasem, C.; Wananukul, W. Pharmacokinetics of Mitragynine in Man. *Drug Design, Development and Therapy* **2015**, 9, 2421–2429. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S79658>.
- (145) Ya, K.; Tangamornsuksan, W.; Scholfield, C. N.; Methaneethorn, J.; Lohitnavy, M. Pharmacokinetics of Mitragynine, a Major Analgesic Alkaloid in Kratom (*Mitragyna Speciosa*): A Systematic Review. *Asian Journal of Psychiatry* **2019**, 43, 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.ajp.2019.05.016>.
- (146) Kong, W. M.; Chik, Z.; Mohamed, Z.; Alshawsh, M. A. Physicochemical Characterization of *Mitragyna Speciosa* Alkaloid Extract and Mitragynine Using *In Vitro* High Throughput Assays. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* **2017**, 20 (9), 796–803. <https://doi.org/10.2174/1386207320666171026121820>.
- (147) Manda, V. K.; Avula, B.; Ali, Z.; Khan, I. A.; Walker, L. A.; Khan, S. I. Evaluation of *In Vitro* Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (ADME) Properties of Mitragynine, 7-Hydroxymitragynine, and Mitraphylline. *Planta Medica* **2014**, 80 (7), 568–576. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1368444>.
- (148) FDA/CDER/"Purdie, F. P. Waiver of *In Vivo* Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System Guidance for Industry. **2017**.
- (149) Yusof, S. R.; Mohd Uzid, M.; Teh, E.-H.; Hanapi, N. A.; Mohideen, M.; Mohamad Arshad, A. S.; Mordi, M. N.; Loryan, I.; Hammarlund-Udenaes, M. Rate and Extent of Mitragynine and 7-Hydroxymitragynine Blood-Brain Barrier Transport and Their Intra-Brain Distribution: The Missing Link in Pharmacodynamic Studies. *Addiction Biology* **2019**, 24 (5), 935–945. <https://doi.org/10.1111/adb.12661>.
- (150) Hassan, Z.; Muzaimi, M.; Navaratnam, V.; Yusoff, N. H. M.; Suhaimi, F. W.; Vadivelu, R.; Vicknasingam, B. K.; Amato, D.; Von Hörsten, S.; Ismail, N. I. W.; Jayabalan, N.; Hazim, A. I.; Mansor, S. M.; Müller, C. P. From Kratom to Mitragynine and Its Derivatives: Physiological and Behavioural Effects Related to Use, Abuse, and Addiction. *Neuroscience*

- & *Biobehavioral Reviews* **2013**, *37* (2), 138–151. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.11.012>.
- (151) Philipp, A. A.; Wissenbach, D. K.; Zoerntlein, S. W.; Klein, O. N.; Kanogsunthornrat, J.; Maurer, H. H. Studies on the Metabolism of Mitragynine, the Main Alkaloid of the Herbal Drug Kratom, in Rat and Human Urine Using Liquid Chromatography-Linear Ion Trap Mass Spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* **2009**, *44* (8), 1249–1261. <https://doi.org/10.1002/jms.1607>.
- (152) Le, D.; Goggin, M. M.; Janis, G. C. Analysis of Mitragynine and Metabolites in Human Urine for Detecting the Use of the Psychoactive Plant Kratom. *Journal of Analytical Toxicology* **2012**, *36* (9), 616–625. <https://doi.org/10.1093/jat/bks073>.
- (153) Hanapi, N. A.; Azizi, J.; Ismail, S.; Mansor, S. M. Evaluation of Selected Malaysian Medicinal Plants on Phase I Drug Metabolizing Enzymes, CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4 Activities in Vitro. *International Journal of Pharmacology* **2010**, *6* (4), 490–495. <https://doi.org/10.3923/ijp.2010.494.499>.
- (154) Kong, W. M.; Chik, Z.; Ramachandra, M.; Subramaniam, U.; Aziddin, R. E. R.; Mohamed, Z. Evaluation of the Effects of Mitragyna Speciosa Alkaloid Extract on Cytochrome P450 Enzymes Using a High Throughput Assay. *Molecules* **2011**, *16* (9), 7344. <https://doi.org/10.3390/molecules16097344>.
- (155) CYP2D6 - an overview | ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.is.cuni.cz/topics/medicine-and-dentistry/cyp2d6> (accessed 2024-07-04).
- (156) P450 *Table*. <https://web.archive.org/web/20071010053126/http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm> (accessed 2024-07-04).
- (157) Haron, M.; Ismail, S. Effects of Mitragynine and 7-Hydroxymitragynine (the Alkaloids of Mitragyna Speciosa Korth) on 4-Methylumbelliferone Glucuronidation in Rat and Human Liver Microsomes and Recombinant Human Uridine 5'-Diphospho-Glucuronosyltransferase Isoforms. *Pharmacognosy Research* **2015**, *7* (4), 341–349. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.159580>.
- (158) Krippendorff, B.-F.; Lienau, P.; Reichel, A.; Huisinga, W. Optimizing Classification of Drug-Drug Interaction Potential for CYP450 Isoenzyme Inhibition Assays in Early Drug Discovery. *Journal of Biomolecular Screening* **2007**, *12* (1), 92–99. <https://doi.org/10.1177/1087057106295897>.
- (159) Rusli, N.; Amanah, A.; Kaur, G.; Adenan, M. I.; Sulaiman, S. F.; Wahab, H. A.; Tan, M. L. The Inhibitory Effects of Mitragynine on P-Glycoprotein in Vitro. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **2019**, *392* (4), 481–496. <https://doi.org/10.1007/s00210-018-01605-y>.
- (160) Meyer, M. R.; Wagmann, L.; Schneider-Daum, N.; Loretz, B.; de Souza Carvalho, C.; Lehr, C.-M.; Maurer, H. H. P-Glycoprotein Interactions of Novel Psychoactive Substances – Stimulation of ATP Consumption and Transport across Caco-2 Monolayers. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *94* (3), 220–226. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.01.008>.
- (161) Hughes, S.; van de Klashorst, D.; Veltri, C. A.; Grundmann, O. Acute, Sublethal, and Developmental Toxicity of Kratom (Mitragyna Speciosa Korth.) Leaf Preparations on Caenorhabditis Elegans as an Invertebrate Model for Human Exposure. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **2022**, *19* (10), 6294. <https://doi.org/10.3390/ijerph19106294>.

- (162) Allison, D. R.; Mubarak, M.; Sharma, N.; Rao, D. S. Kratom (*Mitragyna Speciosa*)-Induced Hepatitis. *ACG Case Reports Journal* **2022**, *9* (4), e00715. <https://doi.org/10.14309/crj.0000000000000715>.
- (163) Post, S.; Spiller, H. A.; Chounthirath, T.; Smith, G. A. Kratom Exposures Reported to United States Poison Control Centers: 2011-2017. *Clinical Toxicology (Philadelphia, Pa.)* **2019**, *57* (10), 847–854. <https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1569236>.
- (164) Tay, Y. L.; Amanah, A.; Adenan, M. I.; Wahab, H. A.; Tan, M. L. Mitragynine, an Euphoric Compound Inhibits hERG1a/1b Channel Current and Upregulates the Complexation of hERG1a-Hsp90 in HEK293-hERG1a/1b Cells. *Scientific Reports* **2019**, *9*, 19757. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56106-6>.
- (165) Leong Abdullah, M. F. I.; Tan, K. L.; Narayanan, S.; Yuvashnee, N.; Chear, N. J. Y.; Singh, D.; Grundmann, O.; Henningfield, J. E. Is Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth.) Use Associated with ECG Abnormalities? Electrocardiogram Comparisons between Regular Kratom Users and Controls. *Clinical Toxicology (Philadelphia, Pa.)* **2021**, *59* (5), 400–408. <https://doi.org/10.1080/15563650.2020.1812627>.
- (166) Leong Bin Abdullah, M. F. I.; Singh, D. The Adverse Cardiovascular Effects and Cardiotoxicity of Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth.): A Comprehensive Review. *Frontiers in Pharmacology* **2021**, *12*, 726003. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.726003>.
- (167) George, R.; Lomax, P. The Effects of Morphine, Chlorpromazine and Reserpine on Pituitary-Thyroid Activity in Rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1965**, *150* (1), 129–134.
- (168) Sheleg, S. V.; Collins, G. B. A Coincidence of Addiction to “Kratom” and Severe Primary Hypothyroidism. *Journal of Addiction Medicine* **2011**, *5* (4), 300–301. <https://doi.org/10.1097/ADM.0b013e318221fbfa>.
- (169) Halim, S. A.; Low, J. H.; Chee, Y. C.; Alias, M. R. Seizures among Young Adults Consuming Kratom Beverages in Malaysia: A Case Series. *Epilepsy & Behavior* **2021**, *121*, 108057. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108057>.
- (170) Singh, D.; Müller, C. P.; Vicknasingam, B. K. Kratom (*Mitragyna Speciosa*) Dependence, Withdrawal Symptoms and Craving in Regular Users. *Drug and Alcohol Dependence* **2014**, *139*, 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.03.017>.
- (171) Trakulsrichai, S.; Tongpo, A.; Sriapha, C.; Wongvisawakorn, S.; Rittilert, P.; Kaojarern, S.; Wananukul, W. Kratom Abuse in Ramathibodi Poison Center, Thailand: A Five-Year Experience. *Journal of Psychoactive Drugs* **2013**, *45* (5), 404–408. <https://doi.org/10.1080/02791072.2013.844532>.
- (172) *Cytochrome P450 3A inhibitors and inducers - UpToDate*. <https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=CARD%2F76992> (accessed 2024-07-04).
- (173) Patel, P.; Aknouk, M.; Keating, S.; Richard, I.; Kata, P.; Ali, R. Y.; Cheriya, P. Cheating Death: A Rare Case Presentation of Kratom Toxicity. *Cureus* **13** (7), e16582. <https://doi.org/10.7759/cureus.16582>.
- (174) Chinnappan, J.; Navari, Y.; Casini, D.; Palanisamy, N.; Parikh, N.; Seedahmed, E. Kratom-Induced Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *European Journal of Case Reports in Internal Medicine* **2023**, *10* (4), 003835. https://doi.org/10.12890/2023_003835.
- (175) Hughes, R. L. Fatal Combination of Mitragynine and Quetiapine – a Case Report with Discussion of a Potential Herb-Drug Interaction. *Forensic Science, Medicine and Pathology* **2019**, *15* (1), 110–113. <https://doi.org/10.1007/s12024-018-0049-9>.

- (176) Bäckstrom, B. G.; Classon, G.; Löwenhielm, P.; Thelander, G. [Krypton--new, deadly Internet drug. Since October 2009 have nine young persons died in Sweden]. *Lakartidningen* **2010**, *107* (50), 3196–3197.
- (177) Tungtananuwat, W.; Lawanprasert, S. Fatal 4x100; Home-Made Kratom Juice Cocktail. *Journal of Health Research* **2010**, *24* (1), 43–47.
- (178) Mohd Moklas, M. A.; Ridzuan, N.; Hidayat, M.; Fakurazi, S.; Idayu, N.; Amom, Z.; Abdulrahman, S. A Preliminary Toxicity Study of Mitragynine, An Alkaloid from *Mitragyna Speciosa* Korth and Its Effects on Locomotor Activity in Rats. *Advances in Medical and Dental Sciences* **2008**, *2*, 56–60.
- (179) Ghazali, R.; R, A.; Ramli, N.; Rajab, N.; Ahmad Kamal, M. S.; Yahya, N. A. Mutagenic and Antimutagenic Activities of *Mitragyna Speciosa* Korth Extract Using Ames Test. *Journal of Medicinal Plants Research* **2011**, *5*.
- (180) Office of the Commissioner, FDA and Kratom. *FDA* **2024**.
- (181) Prozialeck, W. C. Update on the Pharmacology and Legal Status of Kratom. *Journal of Osteopathic Medicine* **2016**, *116* (12), 802–809. <https://doi.org/10.7556/jaoa.2016.156>.
- (182) admEKA. *Kratom legality*. European Kratom Alliance. <https://eka.eu/about-kratom/kratom-legality/> (accessed 2024-06-23).
- (183) Kratomit.cz. *Kratom legalita v zemích Evropy*. kratomit.cz. <https://www.kratomit.cz/blog/legalita-kratomu-v-ruznych-zemi-evropy/> (accessed 2023-10-08).
- (184) Sýkorová, I. Sněmovna schválila pravidla pro nakládání s látkami typu kratom - Legislativa. *Advokátní deník*. May 6, 2024. <https://advokatnidenik.cz/2024/05/06/snemovna-schvalila-pravidla-pro-nakladani-s-latkami-typu-kratom/> (accessed 2024-08-20).
- (185) ČT24, Č. *Nová pravidla pro nakládání s kratomem či HHC prošla sněmovnou*. <https://ct24.ceskatelevize.cz/clanek/domaci/nova-pravidla-pro-nakladani-s-kratomem-ci-hhc-prosla-snemovnou-348860> (accessed 2024-06-29).
- (186) *Thailand's New Legal Framework for Kratom*. Tilleke & Gibbins. <https://www.tilleke.com/insights/thailands-new-legal-framework-for-kratom/> (accessed 2024-06-29).
- (187) Galbis-Reig, D. A Case Report of Kratom Addiction and Withdrawal. *Wisconsin Medical Journal* **2016**, *115* (1), 49–52; quiz 53.
- (188) Hemby, S. E.; McIntosh, S.; Leon, F.; Cutler, S. J.; McCurdy, C. R. Abuse Liability and Therapeutic Potential of the *Mitragyna Speciosa* (Kratom) Alkaloids Mitragynine and 7-Hydroxymitragynine. *Addiction Biology* **2019**, *24* (5), 874–885. <https://doi.org/10.1111/adb.12639>.
- (189) Eldridge, W. B.; Foster, C.; Wyble, L. Neonatal Abstinence Syndrome Due to Maternal Kratom Use. *Pediatrics* **2018**, *142* (6), e20181839. <https://doi.org/10.1542/peds.2018-1839>.
- (190) Davidson, L.; Rawat, M.; Stojanovski, S.; Chandrasekharan, P. Natural Drugs, Not so Natural Effects: Neonatal Abstinence Syndrome Secondary to 'Kratom.' *Neonatal Perinatal Medicine* **2019**, *12* (1), 109–112. <https://doi.org/10.3233/NPM-1863>.
- (191) Thilakarathna, S. H.; Rupasinghe, H. P. V. Flavonoid Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement. *Nutrients* **2013**, *5* (9), 3367–3387. <https://doi.org/10.3390/nu5093367>.