

# Potencijal kratoma u liječenju nociceptivne boli

---

Mijić, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:708395>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Kristina Mijić**

# **Potencijal kratoma u liječenju nociceptivne boli**

## **DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2023.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakognozija 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za Farmakognoziju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Marijane Zovko Končić.

*Prvo zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Marijani Zovko Končić na savjetima, uputama i pomoći koje mi je pružila pri izradi ovog diplomskog rada.*

*Duboko zahvaljujem svojoj obitelji i uskom krugu prijatelja što su stvorili sigurnu okolinu u kojoj sam uspjela ostvariti ono što se često činilo neostvarivim.*

1. UVOD .....	1
1.1. Morfološka obilježja kratoma.....	1
1.2. Fitokemijski sastav kratoma .....	2
1.3. Upotreba kratoma nekad i sad .....	3
1.4. Nuspojave kratoma .....	5
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	6
3. MATERIJALI I METODE .....	7
3.1. Izvori podataka .....	7
3.2. Odabir studija .....	7
4. RAZRADA I REZULTATI .....	8
4.1. Pretkliničke <i>in vivo</i> studije .....	8
4.1.1. Opioidni mehanizam antinocijepcije.....	8
4.1.1.1. Učinak ekstrakata kratoma .....	8
4.1.1.2. Učinak mitraginina .....	11
4.1.1.3. Učinak 7-hidroksimitraginina .....	13
4.1.1.4. Učinak polusintetskih derivata .....	15
4.1.2. Neopioidni mehanizmi antinocijepcije.....	19
4.2. Studije na ljudima.....	20
5. ZAKLJUČCI.....	24
6. LITERATURA.....	25
7. SAŽETAK / SUMMARY .....	29
7.1. Sažetak.....	29
7.2. Summary.....	30

## 1. UVOD

Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth., Rubiaceae) je tropska zimzelena biljka autohtona u jugoistočnoj azijsko-pacifičkoj regiji. Dijeli blisku filogeniju s biljkom kave (Eastlack i sur., 2020). *M. speciosa* je u Tajlandu poznatija pod nazivima kratom, krathom, kakuam, ithang ili thom; u Maleziji pod nazivima biak-biak ili ketum; u Filipinima pod nazivom mambog ([https://www.emcdda.europa.eu/index\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/index_en)). Kako je biljka opće poznata pod nazivom kratom (Eastlack i sur., 2020), kroz cijeli diplomski rad korišten je upravo taj naziv.

### 1.1. Morfološka obilježja kratoma

Nizozemski botaničar Korthals je rodu dao ime *Mitragyna* jer listovi i njuška tučka izgledom podsjećaju na biskupsku mitru. Listovi stabla kratoma su ovalni ili jajasto-lancetasti i tamnozeleno boje, a mogu narasti do 18 cm duljine i 10 cm širine. Žile na listovima su zelenkasto-bijele ili crvene boje (Slika 1). Žuti i kuglasti cvatovi stabla nose do 120 cvjetova. Plod je čahura koja sadrži brojne male plosnate sjemenke (Slika 2) ([https://www.emcdda.europa.eu/index\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/index_en)).



Slika 1 Listovi kratoma

Izvor: <https://health.clevelandclinic.org/what-is-kratom/>

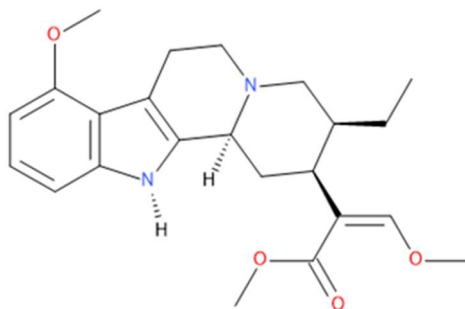


Slika 2 Cvijet i plodovi kratoma

Izvor: <https://kratomspot.com/all-you-need-to-know-about-kratom-plant-seeds>

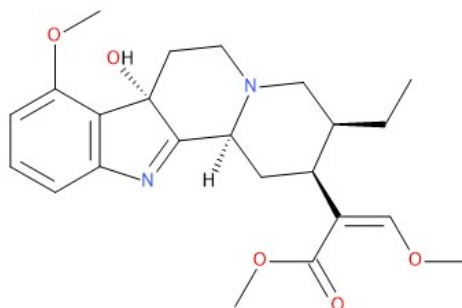
## 1.2. Fitokemijski sastav kratoma

Iz raznih dijelova biljke izolirano je više od 40 strukturno srodnih alkaloida kao i nekoliko flavonoida, triterpenskih saponina, polifenola i raznih glikozida. Od svih komponenti jedino su mitraginin i 7-hidroksimitraginin pokazali psihoaktivno djelovanje. Zanimljivo je da su te komponente karakteristične upravo za ovu vrstu ([https://www.emcdda.europa.eu/index\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/index_en)). Mitraginin (Slika 3) je najzastupljeniji alkaloid u listovima i čini približno do 66% ukupnog sadržaja alkaloida. Njegov visoko aktivan oksidirani metabolit, 7-hidroksimitraginin (Slika 4), je prisutan u daleko manjim količinama. Točnije, manje od 0,02% mase listova kratoma otpada na 7-hidroksimitraginin. Od ostalih indolnih alkaloida koji su prisutni u značajnim koncentracijama se ističu specioginin, painantein i mitrafilin. Za navedene alkaloidne nije utvrđena farmakološka aktivnost (Eastlack i sur., 2020).



Slika 3 Struktura mitraginina

Izrađeno u programu: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/scientific-informatics/biovia-draw/>



Slika 4 Struktura 7-hidroksimitraginina

Izrađeno u programu: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/scientific-informatics/biovia-draw/>

Nakon oralne primjene mitraginin ima bioraspoloživost od 3%. Zbog svoje lipofilnosti mitraginin se u visokoj stopi veže na proteine plazme (>90%). Jednom kad se nađe u organizmu počinje djelovati nakon jednog sata te mu je poluživot približno 4-5 sati. S druge strane, poluživot 7-hidroksimitraginina je otprilike 2-3 sata (Anand i Hosanagar, 2022).

### 1.3. Upotreba kratoma nekad i sad

Konsumacija kratoma bila je uobičajena na istoku stoljećima, ali je nedavno stekla popularnost i na zapadu (Eastlack i sur., 2020). Na istoku se sirovi ili osušeni listovi žvaču, puše te koriste kao infuzi (Slika 5) ili dekoti koji sadrže biološki aktivne fitokemikalije s psihoaktivnim svojstvima. Navedeni pripravci su se tradicionalno koristili među fizičkim radnicima radi poboljšanja radne produktivnosti i u narodnoj medicini za odvikavanje od opioda, za liječenje boli,

proljeva, groznice, malarije, dijabetesa, za suzbijanje kašlja i kao obloga za rane. U novije vrijeme je u Tajlandu sve raširenija rekreativna upotreba kratoma s kofeinskim napitkom i sirupom protiv kašlja koji sadrži kodein u koktelu koji nosi naziv "4×100" (Anand i Hosanagar, 2022; Eastlack i sur., 2020). Koktel je omiljen među mladim muslimanima zbog navodnog oponašanja učinaka alkohola ([https://www.emcdda.europa.eu/index\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/index_en)).



Slika 5 Infuz kratoma

Izvor: <https://katsbotanicals.com/the-origins-of-kratom-usage/>

Komercijalni pripravci kratoma su postali sve dostupniji u regijama daleko izvan njegovog lokalnog podrijetla što dokazuju i epidemiološke studije. Naime, prevalencija uporabe kratoma je u porastu u Sjedinjenim Američkim Državama, Europi i razvijenim istočnim zemljama poput Japana. U navedenim zemljama pripravci s kratomom su češći u obliku praha, kapsula, ekstrakata i žvakaćih guma (Slika 6) (Anand i Hosanagar, 2022; Eastlack i sur., 2020).





Slika 6 Komercijalni pripravci s kratomom

Izvor: <https://www.seattlemet.com/sponsored/2023/01/buy-kratom-online-in-2023-top-5-highest-quality-brands-and-products-reviewed>

Ne postoji odobrena indikacija za primjenu kratoma ili njegovih alkaloida u modernoj medicini. Iz tog razloga je prodloženo da se istraži terapijski potencijal kratoma i njegovih pročišćenih sastojaka za liječenje boli, depresije i simptoma uzdržavanja od droga ([https://www.emcdda.europa.eu/index\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/index_en)).

#### 1.4. Nuspojave kratoma

Primjena kratoma može izazvati razne nuspojave. Od kratkoročnih nuspojava su prijavljene mučnina, zatvor, problem sa spavanjem, privremena erektilna disfunkcija, svrbež, znojenje i hipertenzija. Nadalje, dugoročni štetni učinci uključuju anoreksiju, suha usta, hiperpigmentaciju, diurezu i gubitak kose. Naposljetku, od ozbiljnih nuspojava koje se rijetko javljaju su prijavljene epileptički napadaj, aritmija, intrahepatična kolestaza izazvana lijekovima, sindrom respiratornog distresa kod odraslih, primarni hipotireoidizam, nefrotoksičnost, psihoza i kognitivno oštećenje (Anand i Hosanagar, 2022). Redovita uporaba kratoma može izazvati ovisnost. Simptomi uzdržavanja kod ljudi su relativno blagi i obično se smanjuju unutar tjedan dana ([https://www.emcdda.europa.eu/index\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/index_en)).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Kratom je biljka s dugom povijesti tradicijskog korištenja kod brojnih stanja pri čemu je često droga izbora za samoliječenje boli. Kako je sve raširenija primjena kratoma na zapadu unatoč prijavljenim nuspojavama te riziku razvoja ovisnosti, postavlja se pitanje opravdanosti njegove primjene. Cilj ovog diplomskog rada je bio prikupiti relevantne studije koje su proučavale analgetsko djelovanje ekstrakata kratoma, njegovih pročišćenih alkaloida i polusintetskih derivata, razjasniti mehanizam djelovanja i procijeniti ima li potencijal da postane novi legalni analgetik. Zbog uočene povezanosti dugotrajne primjene kratoma s razvojem ovisnosti, diplomski rad je baziran samo na liječenju boli nociceptivnog tipa. Naime, nociceptivna bol je za razliku od neuropatske i upalne boli najčešće kraćeg trajanja i samim time uglavnom zahtijeva kratkotrajno liječenje.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### **3.1. Izvori podataka**

Za izvor studija je korištena baza podataka PubMed, a literatura je filtrirana po ključnim pojmovima za pretraživanje: (kratom OR "*Mitragyna speciosa*") AND (pain OR antinociceptive OR analgesia OR analgesic) NOT (review). Studije sa slobodnim pristupom su korištene cijele, dok su za ostale zaključane studije korišteni sažeci s PubMed-a.

#### **3.2. Odabir studija**

Upotreba ključnih pojmova je suzila literaturni izvor na 236 članaka. Literatura je dodatno probrana primjenom kriterija koje su članci morali zadovoljiti da bi bili korišteni u diplomskom radu: (1) pretklinička *in vivo* ili klinička studija, (2) studija koja istražuje djelovanje ekstrakata kratoma, pojedinih alkaloida kratoma ili derivata tih alkaloida na nociceptivni tip boli. Nakon pregleda sažetaka svih članaka, a primjenom navedenih kriterija, odabrana je 21 studija. Radi preglednosti pretkliničke *in vivo* studije (20 studija) su u nastavku tematski odijeljenje s obzirom na mehanizam djelovanja: studije koje su poučavale opioidni (17 studija), odnosno neopiodni (3 studije) mehanizam djelovanja. Dodatno su studije koje su proučavale opioidni mehanizam djelovanja raspoređene u skupine koju su pojedinačno proučavale djelovanje ekstrakata kratoma (5 studija), mitraginina (4 studije), 7-hidroksimitraginina (5 studija) i konačno polusintetskih derivata (3 studije). Kako je samo jedna studija izvedena na ljudima zadovoljila gore navedene kriterije, u diplomski rad su naknadno, usprkos prvom postavljenom kriteriju, uključena 2 prikaza slučaja i 3 presječna istraživanja na ljudima.

## 4. RAZRADA I REZULTATI

### 4.1. Pretkliničke *in vivo* studije

#### 4.1.1. Opioidni mehanizam antinocicepcije

##### 4.1.1.1. Učinak ekstrakata kratoma

Cilj prve studije je bio procijeniti antinocicepciju koju proizvede oralno primijenjeni čaj liofiliziranog kratoma. Studija je provedena na mužjacima miševa divljeg tipa i mužjacima miševa s *knockout* genom za  $\mu$ -,  $\kappa$ - i  $\delta$ -opioidni receptor. Antinociceptivno djelovanje pripravka je mjereno u testu povlačenja repa u toploj vodi na 55 °C. Oralna primjena čaja liofiliziranog kratoma je rezultirala antinocicepcijom ovisnoj o dozi u miševa divljeg tipa. Antinocicepcija je bila odsutna u  $\mu$ -opioidni receptor *knockout* miševa i smanjena u  $\kappa$ -opioidni receptor *knockout* miševa. Zaključno, ova studija daje dokaze da vodeni ekstrakti kratoma djeluju agonistički na  $\mu$ -opioidne receptore te tako ispoljavaju terapijski učinak u liječenju boli. Ponovljena primjena vodene otopine liofiliziranog kratoma nije dovela do razvoja fizičke ovisnosti (Wilson i sur., 2020).

U drugoj studiji su istraženi analgetski učinci ekstrakata kratoma kod njegove peroralne (p.o.), intraperitonealne (i.p.) i intracerebroventrikularne (i.c.v.) primjene. U eksperimentu su korišteni  $\mu$ -opioidni receptor *knockout* miševi i miševi divljeg tipa. Analgetski učinak nađen je samo kod miševa divljeg tipa nakon i.c.v. primjene ekstrakta što sugerira da je mehanizam djelovanja uključivao  $\mu$ -opioidne receptore. Primjena norbinaltorfimina, selektivnog antagonista  $\kappa$ -opioidnih receptora, je poništila analgetski učinak što upućuje da je taj učinak bio posredovan upravo tom vrstom receptora. Provedene su i studije vezanja na receptore i one su dokazale da je kratom imao afinitet vezanja za  $\mu$ -,  $\delta$ - i  $\kappa$ -opioidne receptore (Stolt i sur., 2014).

Svrha treće studije je bila odrediti antinociceptivno djelovanje metanolnog ekstrakta kratoma testom vruće ploče. Miševi su podijeljeni u šest jednakih grupa (n=10) te su im i.p. primijenjeni 0,9%-tni natrijev klorid (kontrola), metanolni ekstrakt kratoma (50, 100, 200 mg/kg), acetilsalicilna kiselina (100 mg/kg) i morfin (5 mg/kg). Nakon 30 minuta su stavljani na vruću metalnu ploču te im je mjereno vrijeme latencije za nociceptivni odgovor, npr. drhtanje, licanje šape te skakanje. Kako bi se istražilo sudjelovanje opioidnog sustava u analgetskom svojstvu ove biljke, dvije skupine miševa su tretirane s neselektivnim antagonistom opioidnih receptora, naloksonom (5 mg/kg, i.p.), 10 minuta prije primjene ekstrakta kratoma (200 mg/kg, i.p.) ili

morfin (5 mg/kg, i.p.) i pokus je ponovljen. Rezultati studije su pokazali da su morfin (5 mg/kg, i.p.) i metanolni ekstrakt (200 mg/kg, i.p.) uzrokovali značajan porast u vremenu kašnjenja odgovora na toplinski podražaj. U nastavku, rezultati su pokazali da je prethodni tretman naloksonom smanjio antinociceptivni učinak ekstrakta kao i morfina u testu vruće ploče. Ovi nalazi jasno impliciraju da je antinociceptivni učinak metanolnog ekstrakta kratoma posredovan aktivacijom opioidnog sustava (Shaik Mossadeq i sur., 2009).

U četvrtoj studiji svrha je bila ispitati antinociceptivni učinak ekstrakta listova kratoma. Analgetsko djelovanje ekstrakata je testirano na mužjacima miševa u testu vruće ploče i testu trzanja repom. Miševi su podijeljeni u 6 skupina i svakoj skupini je primijenjen jedan od uzoraka: etanolni ekstrakt kratoma (200 mg/kg, p.o.), etil-acetatni ekstrakt kratoma (200 mg/kg, p.o.), metanolni ekstrakt kratoma (200 mg/kg, p.o.), vodeni ekstrakt kratoma (200 mg/kg, p.o.), morfin sulfat (5 mg/kg, subkutano (s.c.)) i slijepa proba. Morfin je korišten kao pozitivna kontrola. Nakon tretmana testnim supstancama miševi su stavljeni na vruću ploču, odnosno analgeziometar te je mjereno vrijeme latencije nociceptivnog odgovora. Morfin je izazvao antinociceptivni učinak kod svih miševa u oba testa. U usporedbi s etil-acetatnim i metanolnim ekstraktima listova kratoma, etanolni ekstrakt lista kratoma je pružio jače analgetsko olakšanje kod miševa. Nije utvrđen antinociceptivni učinak za vodeni ekstrakt kratoma u ispitivanoj dozi od 200 mg/kg. Navedene varijacije u djelovanju različitih ekstrakata je objasnila provedena analiza fitokemijskog sastava. Vodeni ekstrakt je imao niske koncentracije mitraginina (0,1098 mg) i fenola što bi moglo objasniti izostanak antinociceptivnog djelovanja kod miševa. Nadalje, sličan sadržaj mitraginina kod metanolnog (0,4314 mg), etanolnog (0,3918 mg) i etil-acetatnog ekstrakta (0,4074 mg) upućuje na važnost koje imaju druge bioaktivne fitokemikalije u antinociceptivnom djelovanju etanolnog ekstrakta lista kratoma (Goh i sur., 2021).

Kako je većina istraživanja o antinociceptivnom učinku kratoma provedena na kratomu tajlandskog podrijetla, peta studija je koristila biljni materijal malezijskog podrijetla. Studija je provedena na mužjacima štakora u testu vruće ploče i testu trzanja repom. Životinje su nasumično podijeljene u skupine od po pet štakora. Svakoj skupini štakora je primijenjen jedan od uzoraka: alkaloidni ekstrakt (5, 10, 20 mg/kg, p.o.); metanolni ekstrakt (50, 100, 200 mg/kg, p.o.); vodeni ekstrakt (100, 200, 400 mg/kg, p.o.); aspirin (300 mg/kg, p.o.); morfin (5 mg/kg, s.c.); slijepa proba. Morfin i aspirin su korišteni kao kontrole. Miševi su nakon tretiranja testnim supstancama

stavljani na vruću ploču, odnosno analgeziometar te je mjereno vrijeme latencije nociceptivnog odgovora. Rezultati su pokazali da je oralna primjena alkaloida (20 mg/kg), metanolnog (200 mg/kg) i vodenog (400 mg/kg) ekstrakta značajno produžila latenciju nociceptivnog odgovora u usporedbi s kontrolnim skupinama i kod testa vruće ploče i kod testa trzanja repom. Dodatno je provedena studija procjene antagonizma analgetskog djelovanja primjenom naloksona u oba prethodno spomenuta testa na štakorima. Životinjama je primijenjen nalokson (2 mg/kg, i.p.) prije primjene učinkovite analgetske doze svakog ekstrakta (20 mg/kg alkaloidnog ekstrakta, 200 mg/kg metanolnog ekstrakta, 400 mg/kg vodenog ekstrakt) i morfina (5 mg/kg, sc). Nalokson je blokirao antinociceptivno djelovanje sva tri ekstrakta kao i djelovanje morfina u oba testa što ukazuje na uključenost središnjeg opioidnog sustava u analgetskom djelovanju ekstrakata kratoma. Zaključno, ovi rezultati ukazuju da različiti ekstrakti listova malezijskog kratoma djeluju analgetski (Sabetghadam i sur., 2010).

Sve prethodno opisane studije su pružile dokaze da različite vrste ekstrakata listova kratoma uistinu izazivaju analgetske učinke na životinjama. U studijama je pojedinačno ispitan učinak vodenog, metanolnog, etil-acetatnog i etanolnog ekstrakta. Tako je za vodeni ekstrakt prva studija pokazala da je analgetski učinak bio ovisan o dozi. Taj zaključak su potvrdile četvrta i peta studija. Naime, vodeni ekstrakt iz četvrte studije u koncentraciji od 200 mg/kg nije bio učinkovit, dok je vodeni ekstrakt iz pete studije u dvostruko većoj koncentraciji ostvario učinak koji je bio usporediv s morfinom. Podaci o učinkovitosti vodenih ekstrakata su od iznimne važnosti kad se u obzir uzme činjenica da se kratom najčešće koristi u obliku infuza i dekokta. Metanolni ekstrakt kratoma je u koncentraciji od 200 mg/kg djelovao analgetski prema podacima iz treće, četvrte i pete studije. Slično djelovanje kao metanolni ekstrakt je imao etil-acetatni ekstrakt u identičnoj koncentraciji. Konačno, etanolni ekstrakt je u usporedbi s metanolnim i etil-acetatnim ekstraktima pri istoj koncentraciji ostvario najjače analgetske učinke. Ove varijacije u djelovanju različitih vrsta ekstrakata je četvrta studija povezala prvenstveno s različitim koncentracijama mitraginina, a onda i s koncentracijama ostalih fitokemikalija. Čini se da mitraginin igra najveću ulogu u antinociceptivnom djelovanju ekstrakata, dok ostale fitokemikalije taj učinak sinergistički pojačavaju ili smanjuju. Ovi podaci o varijacijama učinka ovisno o vrsti otapala korištenog za ekstrakciju naglašavaju važnost odabira ispravnog otapala za ispravnu pripremu biljnog lijeka. Što se tiče mehanizma djelovanja ekstrakata, četiri studije su pokušale učinak povezati s opioidnim

receptorima i sve četiri studije su dokazale tu povezanost. Naposljetku, peta studija je dokazala da ekstrakt kratoma malezijskog podrijetla u određenim koncentracijama također djeluje analgetski.

#### **4.1.1.2. Učinak mitraginina**

Prva studija koja je u fokusu imala djelovanje mitraginina je uspoređivala analgetske učinke ekstrakta kratoma, frakcije alkaloida izoliranih iz kratoma i mitraginina s analgetskim učincima referentnih opioidnih tvari. U prvom testu vruće ploče mužjacima štakora su i.p. primijenjene testne supstance nakon čega je mjereno vrijeme latencije nociceptivnog odgovora. Testne supstance su bile slijepa proba, morfin (10 mg/kg), oksikodon (3 mg/kg), ekstrakt kratoma (300 mg/kg), frakcija alkaloida kratoma (75 mg/kg) i mitraginin (30 mg/kg). Morfin, oksikodon i mitraginin su proizveli antinociceptivne učinke. U nastavku je bio izveden drugi test vruće ploče s ciljem provjere zadržavanja analgetskog učinka mitraginina nakon p.o. primjene. Mužjacima štakora su primijenjeni slijepa proba, oksikodon (6 mg/kg), ekstrakt kratoma (300 mg/kg) i mitraginin (100 mg/kg) nakon čega su podvrgnuti testiranju. Rezultati su pokazali da mitraginin zadržava antinociceptivno djelovanje slično referentnim opioidnim agonistima i kod p.o. primjene (Carpenter i sur., 2016).

U drugoj studiji je istraživana antinociceptivna aktivnost i.p. i i.c.v. primijenjenog mitraginina u testovima štipanja repa i vruće ploče na miševima te je procijenjen mehanizam djelovanja pomoću naloksona. Mitraginin je u oba režima primjene (5-30 mg/kg, i.p.; 1-10 µg/miš, i.c.v.) izazvao antinociceptivno, o dozi ovisno, djelovanje u oba testa, ali nije izazvao promjene u ponašanju koje izaziva morfin. Nadalje, izvedena su još jednom oba testa uz prethodnu primjenu naloksona (2 mg/kg, s.c.; 10 µg/miš, i.c.v.). Antinociceptivno djelovanje i.p. mitraginina je u potpunosti antagonizirao s.c. i i.c.v. primijenjeni nalokson. Također je djelovanje i.c.v. primijenjenog mitraginina antagonizirao i.c.v. primijenjeni nalokson. Ovi rezultati pokazuju da mitraginin može inducirati antinocicepciju djelovanjem u mozgu i da su supraspinalni opioidni sustavi barem djelomično uključeni u antinociceptivno djelovanje mitraginina u miševa (Matsumoto i sur., 1996a).

Svrha treće studije je bila razjasniti koji su podtipovi opioidnih receptora uključeni u antinociceptivno djelovanje mitraginina. Izvedeni su testovi vruće ploče i štipanja repa na miševima. Nakon predtretmana mitragininom miševima su primijenjeni selektivni antagonisti µ-,

$\kappa$ - i  $\delta$ -opioidnih receptora te je praćeno je li došlo do poništenja antinociceptivnog djelovanja. Primjena selektivnog antagonista  $\mu$ -opioidnih receptora, ciprodimina (1-10  $\mu\text{g}$ , i.c.v.), i selektivnog antagonista  $\mu_1$ -opioidnih receptora, naloksonazina (1-3  $\mu\text{g}$ , i.c.v.), je značajno antagonizirala antinociceptivnu aktivnost mitraginina (10  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) i morfina (3  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) u testovima štipanja repa i vruće ploče. Naltrindol (1-5 ng, i.c.v.), selektivni antagonist  $\delta$ -opioidnih receptora, je također blokirao učinke mitraginina (10  $\mu\text{g}$ , i.c.v.), a nije imao utjecaj na antinocicepciju izazvanu morfinom (3  $\mu\text{g}$ , i.c.v.). Nalbinaltorfimin (1  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) je značajno oslabio mitragininom (10  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) izazvanu antinocicepciju u testu štipanja repa, ali ne i u testu vruće ploče. Ovi rezultati sugeriraju da je antinocicepcija uzrokovana i.c.v. primijenjenim mitragininom dominantno posredovana podtipovima  $\mu$ - i  $\delta$ -opioidnih receptora (Thongpradichote i sur., 1998).

Ćetvrta studija je ispitivala potencijal antinociceptivnog djelovanja mitraginina i mjeru u kojoj su ti učinci posredovani opioidnim receptorima. U tu svrhu je provedena studija na štakorima. Mužjacima i ženkama štakora je davan mitraginin (3,2, 5,6, 10, 17,8, 32, 56 mg/kg, i.p.) ili morfin (3,2, 5,6, 10, 17,8, 32, 56 mg/kg, i.p.) nakon ćega su stavljeni na vruću ploću. Odrećeno je povećanje latencije odgovora na toplinski podražaj. Morfin u dozi od 3,2, 5,6 i 10 mg/kg nije utjecao na latenciju vruće ploće; a doze od 17,8 i 32 mg/kg su povećale toplinsku latenciju. Doze mitraginina od 5,6, 10, 17,8 i 32 mg/kg nisu utjecale na latenciju vruće ploće; taj učinak je ispoljila tek doza od 56 mg/kg. U drugom testu vruće ploće štakorima je primijenjen neselektivni antagonist opioidnih receptora, naltrekson (0,032, 1 mg/kg, i.p.), prije tretmana sa morfinom i mitragininom. Naltrekson je antagonizirao učinke morfina, dok nije imao utjecaj na antinociceptivne učinke mitraginina (56 mg/kg). Neuspjeh naltreksona da antagonizira neke od učinaka mitraginina ukazuje na ukljućenost neopioidnih receptora. U trećem testu vruće ploće štakorima je primijenjen morfin uz predtretman mitragininom (17,8 mg/kg) u svrhu odrećivanja stupnja kompetitivnog vezanja mitraginina kao opioidnog agonista na opioidne receptore u odnosu na morfin. Prethodno primijenjeni mitraginin nije promijenio antinociceptivni učinak morfina (Hiranita i sur., 2019).

Prva studija je pokazala da mitraginin ispoljava analgetski učinak ne samo i.p., već i kod p.o. primjene. Druga studija pokazuje da mitraginin djeluje preko opioidnih receptora u mozgu, dok treća studija specificira da je rijeć o  $\mu$ - i  $\delta$ -opioidnim receptorima. Zadnja studija upućuje na to da farmakologija mitraginina uključuje znatan neopioidni mehanizam. Ovi zaključci ne iskljućuju involviranost opioidnog mehanizma, već ukazuju na postojanje dominantnih i



alternativnih puteva aktivnosti mitraginina. Kako je poznato da vezanje na opioidne receptore za sobom vuče spektar ozbiljnijih nuspojava, zaključak iz potonje studije je obećavajući.

#### 4.1.1.3. Učinak 7-hidroksimitraginina

Svrha prve studije je bila istražiti opioidne učinke 7-hidroksimitraginina kod bolnih podražaja u miševa. Primijenjen s.c. 7-hidroksimitraginin (2,5-10 mg/kg) je inducirao antinociceptivne učinke ovisne o dozi u testovima trzanja repom i vruće ploče kod miševa. Njegov učinak je bio snažniji od učinka morfina u oba testa. Kod p.o. primjene 7-hidroksimitraginin (5-10 mg/kg) je pokazao snažno antinociceptivno djelovanje u testovima trzanja repom i vruće ploče. Nasuprot tome, uočena je slaba antinocicepcija u slučaju p.o. primjene morfina. Testovi vezanja na receptore otkrili su da 7-hidroksimitraginin ima veći afinitet za  $\mu$ -opioidne receptore u odnosu na druge opioidne receptore (Matsumoto i sur., 2004).

U drugoj studiji prvi cilj je bio istražiti koji podtip opioidnih receptora je odgovoran za analgetski učinak 7-hidroksimitraginina. Primjena 7-hidroksimitraginina s.c. putem kod miševa je proizvela snažan antinociceptivni učinak uglavnom putem aktivacije  $\mu$ -opioidnih receptora. Studija je potvrdila da 7-hidroksimitraginin ima farmakološki karakter sličan morfinu, unatoč strukturnoj različitosti ta dva spoja. Druga svrha studije je bila istražiti dolazi li kod kronične primjene 7-hidroksimitraginina u miševa do razvoja tolerancije. Rezultati su pokazali da se tolerancija na antinociceptivni učinak 7-hidroksimitraginin javlja kao što se javlja kod kronične primjene morfina. Štoviše, kod miševa koji su postali tolerantni na 7-hidroksimitraginin javila se i križna tolerancija na morfin i obrnuto (Matsumoto i sur., 2005).

Treća studije je provedena s ciljem istraživanja mehanizma antinociceptivnog djelovanja 7-hidroksimitraginina korištenjem selektivnih antagonista opioidnih receptora te krajnje usporedbe s učincima morfina. Primjena 7-hidroksimitraginina (0,25-2 mg/kg, s.c.) na mužjacima miševa je proizvela antinociceptivne učinke ovisne o dozi u testovima trzanja repom i vruće ploče. U testovima trzanja repom i vruće ploče 7-hidroksimitraginin je proizveo antinociceptivne učinke oko 5,7 i 4,4 puta snažnije u usporedbi sa učincima morfina. Antinociceptivni učinak 7-hidroksimitraginina bio je značajno blokiran selektivnim antagonistom  $\mu 1/\mu 2$ -opioidnih receptora, beta-funaltreksaminom, i selektivnim antagonistom  $\mu 1$ -opioidnih receptora naloksonazinom u oba testa. Prema tome, antinociceptivno djelovanje 7-hidroksimitraginina je posredovano  $\mu$ -opioidnim

receptorima, posebno  $\mu$ 1-podtipom receptora. Dodatno, studija je ustanovila da 7-hidroksimitraginin inhibira gastrointestinalni tranzit na isti način kao i morfin, samo u manjoj mjeri (Matsumoto i sur., 2006).

Jedan od ciljeva četvrte studije je bio pokazati da 7-hidroksimitraginin ima dominantniju ulogu u antinociceptivnom djelovanju mitraginina u odnosu na nemetabolizirani mitraginin. Antinocicepcija je mjerena na mužjacima miševa u testu vruće ploče. Miševima su oralno primijenjeni morfin, mitraginin i 7-hidroksimitraginin pojedinačno te u kombinaciji s ketokonazolom, inhibitorom CYP3A4 enzima. Mitraginin i 7-hidroksimitraginin su potaknuli značajno produljenje vremena latencije u usporedbi sa slijepom probom. Isto tako je 7-hidroksimitraginin kod miševa koji su prethodno tretirani ketokonazolom izazvao značajan stupanj antinocicepcije. Nasuprot tome, mitraginin kod miševa prethodno tretiranih ketokonazolom nije uspio inducirati značajnu antinocicepciju. Iz rezultata provedenih testova se nameće zaključak da je antinociceptivan učinak mitraginina djelomično postojan zbog metaboličke konverzije u 7-hidroksimitraginin preko CYP3A4 enzima. Ova studija je dodatno istražila sigurnosni profil mitraginina i 7-hidroksimitraginina; rezultati sugeriraju da mitraginin predstavlja sigurniju opciju u liječenju boli u odnosu na 7-hidroksimitraginin jer ima niži rizik od izazivanja respiratorne depresije (Hill i sur., 2022).

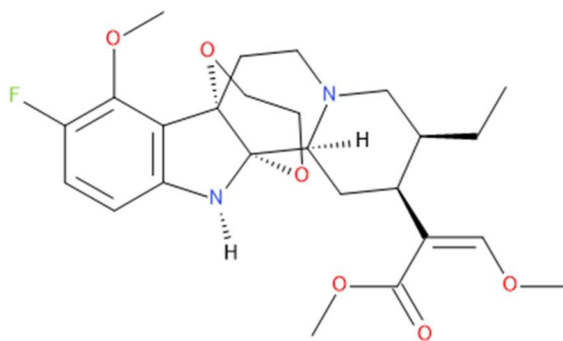
Primarni cilj pete studije je bio procijeniti doprinos 7-hidroksimitraginina antinociceptivnim učincima mitraginina nakon oralne primjene mitraginina. U tu svrhu provedena je farmakodinamička, a odmah potom i farmakokinetička studija. Farmakodinamička studija je izvedena u obliku testa vruće ploče na mužjacima i ženjkama miševa. U prvom testu miševima je p.o. primijenjen mitraginin (92, 163 i 293 mg/kg), odnosno 7-hidroksimitraginin (32, 56 i 100 mg/kg) nakon čega su podvrgnuti testiranju. Rezultati su pokazali je 7-hidroksimitraginin bio 2,8 puta jači u stvaranju antinocicepcije. U drugom testu miševima je i.p. primijenjen naltrekson (1,0 mg/kg) pet minuta prije oralne primjene mitraginina (293 mg/kg) i 7-hidroksimitraginina (100 mg/kg) nakon čega su podvrgnuti testiranju. Naltrekson je u potpunosti antagonizirao antinociceptivne učinke mitraginina (293 mg/kg) i 7-hidroksimitraginina (100 mg/kg). Farmakokinetičke studije su otkrile da 7-hidroksimitraginin ima zanemariv doprinos antinociceptivnim učincima mitraginina. Dodatno, ova studija je izvedena na mužjacima i ženjkama miševa što je omogućilo istraživanje spolnih razlika. Kod primjene naltreksona s mitragininom

izazvani antinociceptivni učinci su varirali među spolovima dok je naltrekson u kombinaciji s 7-hidroksimitragininom izazvao učinke neovisne o spolu. Razlike u odgovoru na mitraginin i 7-hidroksimitraginin kod mužjaka u odnosu na ženke miševa koje se vide u ovoj studiji podupiru tvrdnju da 7-hidroksimitraginin djeluje kao tipični agonist  $\mu$ -opioidnih receptora, dok mitraginin djeluje na  $\mu$ -opioidne receptore atipično (Berthold i sur., 2022).

Prikazano je pet studija koje su proučavale mehanizam djelovanja 7-hidroksimitraginina i njegov doprinos učinku mitraginina. Podaci iz navedenih studija sugeriraju da 7-hidroksimitraginin kao analgetik djeluje po istom mehanizmu koji ima morfin; posredstvom  $\mu$ -opioidnih receptora. Štoviše, učinci 7-hidroksimitraginina su bili jači u usporedbi s učincima morfina. Treća studija je istaknula kako 7-hidroksimitraginin ima slabije nuspojave u usporedbi s morfinom. Zadnje dvije studije su uspoređivale učinke koje imaju mitraginin i 7-hidroksimitraginin nakon primjene mitraginina. Tako je četvrta studija dokazala da mitraginin svoj analgetski učinak duguje metabolizmu u 7-hidroksimitraginin. S druge strane, peta studija je opovrgnula važnost te konverzije. U petoj studiji 7-hidroksimitraginin se pokazao kao jači analgetik od mitraginina. Ovaj podatak za sobom povlači zaključak da postoji razlika u mehanizmima djelovanja ta dva alkaloida: dok mitraginin djeluje kao atipični opioidni agonist, 7-hidroksimitraginin djeluje kao tipični agonist. To znači da mitraginin svoje djelovanje duguje i drugim, neopioidnim mehanizmima djelovanja.

#### **4.1.1.4. Učinak polusintetskih derivata**

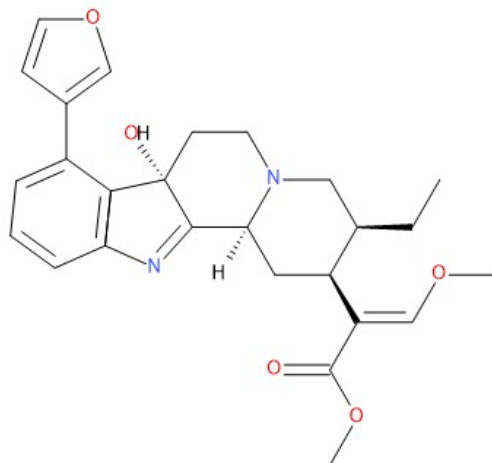
U pokušaju razvoja novog analgetika u sklopu ove studije je sintetiziran etilen glikolom premošteni C10-fluorirani derivat mitraginina (Slika 7). Istražen je antinociceptivan učinak premoštenog fluoriranog derivata kod mužjaka miševa u testovima trzanja repom, vruće ploče i grčenja. Testovi su pokazali da je oralno primijenjeni derivat mitraginina izazvao 7-22 puta jači antinociceptivan učinak od učinka morfina. Navedeni učinak je bio posredovan  $\mu$ - i  $\kappa$ -opioidnim receptorima. Primjena derivata (s.c.) 2 puta dnevno tijekom 5 dana dovela je do razvoja antinocicepcijske tolerancije. Dodatno je studija ispitala inhibicijski učinak derivata na gastrointestinalni tranzit i učinak nagrađivanja. Rezultati su pokazali da je derivat mitraginina u odnosu na morfin imao slabije nuspojave u vidu razvoja konstipacije i razvoja ovisnosti (Matsumoto i sur., 2008).



Slika 7 Struktura etilen glikolom premoštenog C10-fluoromitraginina

Izrađeno u programu: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/scientific-informatics/biovia-draw/>

U drugoj studiji je istraživani odnos strukture i aktivnosti mitraginina i 7-hidroksimitraginina u svrhu razvoja novih analgetika. U *in vitro* testovima je izdvojen 9-(3'-furanil)-7-hidroksimitraginin (Slika 8) kao potencijalni kandidat. Miševima je primijenjen derivat 7-hidroksimitraginina (10 mg/kg, p.o.; 1, 3 i 10 mg/kg, s.c.) te su miševi zatim podvrgnuti testu povlačenja repa. Primjena s.c. putem je izazvala antinocicepciju ovisnu o dozi dok je p.o. primjena derivata izazvala antinociceptivnu učinkovitost gotovo jednaku učinkovitosti s.c. primjene pri istoj dozi. Taj podatak upućuje da derivat ima dobru oralnu bioraspoloživost. Nadalje, selektivnost derivata za  $\mu$ -,  $\kappa$ - i  $\delta$ -opioide receptore je ispitana na *knockout* miševima. Antinociceptivni učinci su bili značajno slabiji u  $\mu$ -opioide receptor *knockout* miševa u usporedbi s  $\kappa$ -opioide receptor *knockout* miševa i  $\delta$ -opioide receptor *knockout* miševa. Navedeni rezultati sugeriraju da su antinociceptivni učinci pretežno posredovani  $\mu$ -opioide receptorom. Ti učinci su imali potenciju sličnu morfínu, ali ih nisu pratili respiratorna depresija, hiperlokomocija, konstipacija ili uvjetovanje mjesta u miševa. Testovi sugeriraju da derivat ispoljava analgeziju posredovanu  $\mu$ -opioide receptorima s profilom nuspojava daleko boljim od već postojećih analgetika (Chakraborty i sur., 2021).

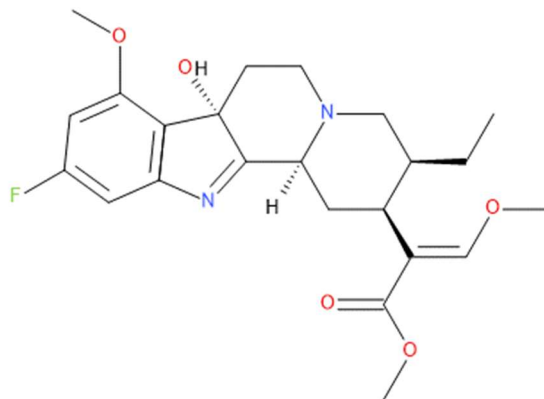


Slika 8 Struktura 9-(3'-furanil)-7-hidroksimitraginina

Izrađeno u programu: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/scientific-informatics/biovia-draw/>

U ovoj studiji je ispitano kako uvođenje modifikacija u strukturu mitraginina i 7-hidroksimitraginina utječe na signalizaciju opioidnim receptorima. U *in vitro* studijama je izdvojen 11-fluoro-7-hidroksimitraginin (Slika 9) kao opioidni agonist koji u odnosu na 7-hidroksimitraginin ima nižu učinkovitost. U nastavku je proveden test analgezije na miševima. Miševima je primijenjen 11-fluoro-7-hidroksimitraginin (5 mg/kg, s.c.) nakon čega su podvrgnuti testu analgezije trzajem repa. Analgetski učinak dosegao je vrhunac 15 minuta nakon injekcije, što ukazuje na brzu bioraspoloživost *in vivo*, nakon čega je uslijedilo slabljenje učinka do zaostalog analgetskog učinka koji je trajao najmanje 120 minuta. Kontrolni spojevi, 7-hidroksimitraginin i morfin, izazvali su veći analgetski učinak u istom soju miševa. Kako bi se potvrdilo da je niskoučinkovita analgezija vođena preko  $\mu$ -opioidnih receptora, a ne drugim mehanizmima, proveden je test trzanja repom na miševima divljeg tipa i  $\mu$ -opioidni receptor *knockout* miševima. Rezultati su pokazali da je učinak 11-fluoro-7-hidroksimitraginina bio statistički značajan u miševa divljeg tipa, ali ne i u  $\mu$ -opioidni receptor *knockout* miševa. Ovi rezultati pokazuju da je analgetski učinak 11-fluoro-7-hidroksimitraginina u velikoj mjeri vođen  $\mu$ -opioidnim receptorima, a

smanjena analgetska učinkovitost posljedica je niskoučinkovite aktivacije  $\mu$ -opioidnih receptora izazvane ovim spojem (Bhowmik i sur., 2021).



Slika 9 Struktura 11-fluoro-7-hidroksimitraginina

Izrađeno u programu: <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/scientific-informatics/biovia-draw/>

Tri prethodno opisane studije su imale u cilju proizvesti polusintetske derivate koji bi imali sigurniji profil nuspojava, a da pri tome i dalje djeluju analgetski. Naime, poznato je da agonizam  $\mu$ -opioidnih receptora osim jakog analgetskog djelovanja za sobom povlači i teže nuspojave. Taj pristrani, jaki agonizam koji su pokazali mitraginin i 7-hidroksitraginin u studijama se pokušao ublažiti uvođenjem manjih modifikacija u njihove strukture. Tako etilen glikolom premošteni C10-fluoromitraginin djeluje kao dvostruki agonist  $\mu$ - i  $\kappa$ -opioidnih receptora pri čemu proizvodi snažnije antinociceptivne učinke s manjim rizikom razvoja ovisnosti u usporedbi s morfinom. U drugoj i trećoj studiji je ispitivana hipoteza o niskoučinkovitim opioidnim agonistima kao kandidatima za razvoj sigurnijih analgetika. 9-(3'-furanil)-7-hidroksimitraginin je pokazao antinocicepciju sličnu morfinu, dok nije pokazao štetne učinke koje pokazuje morfin. Ovaj obrazac podsjeća na obrazac buprenorfina koji se općenito smatra sigurnijim analgetikom. Prednost derivata u odnosu na buprenorfin je da je derivat u testiranim uvjetima na miševima djelovao nakon oralne primjene, dok je oralna aktivnost buprenorfina ograničena zbog njegovog metabolizma. 11-fluoro-7-hidroksimitraginin je izazvao slabiji analgetski učinak u odnosu na 7-hidroksimitraginin zbog niskoučinkovitog agonizma  $\mu$ -opioidnih receptora. Sva tri derivata zahtijevaju provođenje daljnjih ispitivanja djelotvornosti i sigurnosti. Čini se da manipuliranje strukturom mitraginina i 7-hidroksimitraginina otvara mogućnost stvaranja sigurnijih analgetika.

#### 4.1.2. Neopioidni mehanizmi antinocicepcije

U prvoj studiji je istražena uloga centralnog monoaminergičkog sustava u antinociceptivnom djelovanju mitraginina. Na početku su bili izvedeni testovi štipanja repa i vruće ploče na miševima pri čemu je mitraginin (1,0-10  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) pokazao antinociceptivnu aktivnost u oba testa. U testu štipanja repa aktivnost mitraginina (10  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) je bila antagonizirana primjenom rezerpina, inhibitora ponovne pohrane dopamina, serotonina i norepinefrina, zatim kombinacije 6-hidroksidopamin (dopaminergički i noradrenergički neurotoksin)/nomifenzin (inhibitor ponovne pohrane dopamina) i p-klorofenilalanina (inhibitor sinteze serotonina) dok je antinociceptivna aktivnost morfina (3  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) u ovom testu bila atenuirana kombinacijom 6-hidroksidopamin/nomifenzin, ali ne i s p-klorofenilalaninom. Štoviše, aktivnost mitraginina je bila antagonizirana intratekalnom primjenom antagonista  $\alpha_2$  receptora idazoksana (10  $\mu\text{g}$ ) i antagonista serotoninskih i histaminskih receptora ciproheptadina (1  $\mu\text{g}$ ). U testu vruće ploče antinociceptivna aktivnost mitraginina (10  $\mu\text{g}$ , i.c.v.) je poništena uz rezerpin i kombinaciju 6-hidroksidopamin/nomifenzin, ali ne i uz p-klorofenilalanin. Antinociceptivnu aktivnost je antagonizirao i idazoksan (10  $\mu\text{g}$ ). Rezultati ove studije ukazuju da su silazni noradrenergički i silazni serotonergički sustavi uključeni u antinociceptivnu aktivnost supraspinalno primijenjenog mitraginina na mehanički štetan podražaj, dok silazni noradrenergički sustav dominantno doprinosi učinku supraspinalno primijenjenog mitraginina na toplinski štetnu stimulaciju. Mehanizmi koji stoje u osnovi supresivnog djelovanja mitraginina na nociceptivne odgovore se razlikuju od mehanizama morfina na miševima (Matsumoto i sur., 1996b).

U drugoj studiji je ispitana uključenost opioidnih i kanabinoidnih tipova receptora u analgeziji mitraginina. Miševima je primijenjen mitraginin (3, 10, 15, 30 i 35 mg/kg, i.p.) nakon čega su podvrgnuti testiranju na vrućoj ploči. Mitraginin (35 mg/kg, i.p.) je pokazao značajno povećanje vremena latencije. Navedena doza mitraginina je korištena u slijedećoj izvedenoj studiji u kojoj su miševima prije primjene mitraginina po skupinama davani AM251 (selektivni antagonist kanabinoidnog receptora tipa 1), nalokson, naltrindol, naloksonazin i norbinaltorfimin. Rezultati su pokazali da AM251 nije antagonizirao antinociceptivni učinak mitraginina; nalokson i naltrindol su učinkovito blokirali učinak; norbinaltorfimin je djelomično blokirao antinociceptivni učinak mitraginina; naloksonazin je inhibirao učinak mitraginina, ali nije bio statistički značajan. Ovi rezultati pokazuju da kanabinoidni receptori tipa 1 nemaju izravnu ulogu u antinociceptivnom djelovanju mitraginina (Shamima i sur., 2012).

Treća studija je bila izvedena pod pretpostavkom da mitraginin cilja  $\mu$ -opioidne receptore i  $\alpha 2$  receptore te je procijenjeno koliko  $\mu$ -opioidni receptori, odnosno  $\alpha 2$  receptori doprinose antinociceptivnom učinku mitraginina. U testu vruće ploče na miševima su prototipski agonisti  $\mu$ -opioidnih receptora i 7-hidroksimitraginin pokazali antinocicepciju, dok mitraginin nije. U drugom provedenom testu antinociceptivne učinke agonista  $\mu$ -opioidnih receptora i 7-hidroksimitraginina je blokirao naltrekson, dok johimbin, antagonist  $\alpha 2$  receptora, nije. Mitraginin i 7-hidroksimitraginin su povećali snagu antinociceptivnih učinaka agonista  $\alpha 2$  receptora, ali ne i agonista  $\mu$ -opioidnih receptora. Ovi rezultati sugeriraju da mitraginin i 7-hidroksimitraginin mogu proizvesti antinociceptivni synergizam s agonistima  $\alpha 2$  receptora i agonistima  $\mu$ -opioidnih receptora (Obeng i sur., 2022).

Rezultati prve studije sugeriraju da su silazni noradrenergički i serotonergički sustavi uključeni u antinociceptivnu aktivnost mitraginina. Druga studija osporava ulogu kanabinoidnih receptora u analgetskom učinku mitraginina. Treća studija upućuje da alkaloidi kratoma u kombinaciji s agonistima  $\alpha 2$  receptora djeluju sinergijski u izazivanju analgezije. Potrebno je provesti veći broj studija koje bi ispitivale neopioidne mehanizme djelovanja alkaloida, pogotovo mitraginina.

## 4.2. Studije na ljudima

Kako bi se istražili korisni učinci konzumiranja pripravaka lista kratoma na toleranciju boli u ljudi, provedena je randomizirana, placebo kontrolirana, dvostruko slijepa, pilot studija. Uključeno je dvadeset i šest punoljetnih muškaraca srednje (SD) dobi 24,3 (3,4) godine koji su kroz dulji period svakodnevno primijenjivali kratom. Tijekom jednodnevnog boravka u bolnici, sudionici su konzumirali tri dekoktna napitka: u 7 sati, 10 sati i 13 sati. Dvadeset sudionika primilo je jedan kratom i dva placebo napitka: sedam je primilo aktivni dekokt kratoma u prvoj sekvenci doziranja (~ u 7 sati), sedam je primilo aktivni dekokt kratoma u drugoj sekvenci doziranja (~ u 10 sati), šest je primilo dekokt aktivnog kratoma u trećoj sekvenci doziranja (~ u 13 sati). Preostalih šest sudionika dobilo je tri placebo pića. Dekokt kratoma pripremljen je u strogo kontroliranim laboratorijskim uvjetima korištenjem provjerenih botaničkih materijala. Tolerancija boli mjerena je objektivno u testu hladnog pritiska kao vrijeme (sekunde) između pojave boli i povlačenja ruke iz ledene kupke. Za svakog sudionika, test je obavljen neposredno prije uzimanja svakog pića i u intervalima od 1 sata nakon toga. Sudionicima je prije i nakon testiranja proveden test urina na



psihoaktivne droge. Svi toksikološki pregledi urina su bili negativni. Tolerancija boli značajno se povećala 1 sat nakon uzimanja kratoma sa prosječnih (SD) 11,2 (6,7) sekundi neposredno prije na 24,9 (39,4) sekundi 1 sat nakon uzimanja kratoma. Tolerancija na bol ostala je nepromijenjena nakon konzumiranja placebo pića: 15,0 (19,0) sekundi neposredno prije i 12,0 (8,1) sekundi 1 sat nakon konzumiranja placebo. Tijekom 10-20 sati od prekida uzimanja kratoma nisu prijavljeni niti primijećeni nikakvi neugodni osjećaji ili znakovi odvikavanja (Vicknasingam i sur., 2020).

Prvi prikaz slučaja opisuje dvadeset devetogodišnjeg muškarca koji je samoinicijativno koristio kratom s ciljem kupiranja boli. Muškarcu je dijagnosticirana infekcija COVID-19 nakon što je iskusio bol u tijelu i bolove u mišićima uz ostale simptome COVID-19 infekcije. Određena mu je mjera samoizolacije i liječenje simpoma infekcije azitromicinom (250 mg) i uzimanje 1 g paracetamola svakih 6 h za liječenje boli i groznice. Unatoč adherenciji, bol je perzistirala u obliku generalizirane mijalgije i muskuloskeletne boli. Bol je na numeričkoj skali boli ocijenio sedmicom. Nakon četvrtog dana bezuspješnog liječenja paracetamolom, pacijent je na svoju ruku uzeo 2,5 grama praha mljevenog lista kratoma suspendiranog u vodi. Nakon 30 minuta je uslijedilo značajno smanjenje boli. Nakon 6 sati kad je učinak kratoma prestao, uzeo je još jednu dozu. Sljedeća 3 dana kratom je koristio 3 puta dnevno (ukupno 9 doza po 2,75 grama praha mljevenog lista kratoma). Pacijent je procijenio učinkovitost kratoma u liječenju simptoma infekcije u rasponu od 0 do 100%; kod bolova u tijelu je iskusio poboljšanje od 80%, dok kod mišićne boli poboljšanje od 90%. Dekokt kratoma je pozitivno utjecao i na ostale simptome infekcije: malaksalost, umor, nesanicu, raspoloženje. Od nuspojava prijavljen je samo loš okus pri gutanju dekokta. Pacijent je također mogao odmah prekinuti korištenje kratoma bez pojave fizičkih ili psihičkih simptoma ustezanja. Pacijent je predao uzorak kratoma koji je primijenjivao na kemijsku analizu i nije nađeno onečišćenje droge drugim opioidima ili benzodiazepinima (Metastasio i sur., 2020).

Drugi prikaz slučaja obrađuje dvadeset šestogodišnjeg pacijenta koji je u dvadeset trećoj godini u automobilskoj nesreći imao frakturu kalkaneusa koja je rezultirala stanjem teške kroničke boli. Za liječenje ozljede pete u početku je koristio propisani tilidin. U želji da tilidin zamijeni alternativnim analgetikom prirodnog podrijetla, pacijent je legalno preko interneta naručio prah kratoma. Inicijalno je prah u dnevnoj dozi od 4 grama postizao analgeski učinak usporediv s učinkom tilidina. Kroz tri mjeseca kontinuirane primjene, uslijed razvoja tolerancije na analgetski učinak, dnevna doza praha je povećana na 30 grama. Zbog razvoja ovisnosti, pacijent je nastavio s

primjenom praha kratoma još tri godine. Pacijent je od nuspojava prijavio jaku pospanost, emocionalno otupljenje, gubitak interesa za glazbu, akutnu konstipaciju, jaču želju za nikotinom. U ovom slučaju se ne može isključiti krivotvorenje komercijalno dostupnog kratoma. Naime, u istom razdoblju kad je bilježen ovaj slučaj višeciljni probiri sline drugih konzumenata pripravaka kratoma nabavljenih s internetskih stranica su pokazali prisutnost hidromorfona u tragovima (Müller i sur., 2020).

Anonimno presječno istraživanje izvedeno u obliku *online* ankete provedeno u listopadu 2016. je uključilo ukupno 8049 ispitanika koji primjenjuju kratom. Rezultat ankete je pokazao da su u najvećem postoku (68%) ispitanici koristili kratom u svrhu samoliječenja boli. Ispitanici su primjenu kratoma percipirali učinkovitom u ubalažavanju boli, ali su je povezali s pojavom konstipacije i mučnine (Grundmann 2017).

Druga anonimna anketa provedena između siječnja i prosinca 2017. je uključila 2798 ispitanika koji primijenjuju kratom. Najviše ispitanika je potvrdilo da koriste kratom u svrhu olakšanja boli (91,3%). Većina je izjavila da bi preporučili korištenje kratoma u svrhu liječenja boli (98,7%). Srednja ocjena učinkovitosti kratoma u liječenju boli na skali od 0 (nikako) do 100 (ekstremno) je bila 83,3 (Garcia-Romeu i sur., 2020).

Treća anonimna anketa provedena između srpnja 2019. i srpnja 2020. je uključila 7381 ispitanika koji su primijenjivali kratom, od čega je izdvojeno 5152 valjano ispunjenih anketa. Glavni razlog korištenja kratoma je bio samoliječenje boli (73%). Korisnici kratoma su izvijestili da je učinak kratoma u liječenju boli bio ovisan o dozi. Štetni učinci prvenstveno su bili gastrointestinalni, a javljali su se pri visokim i čestim dozama (Grundmann i sur., 2022).

Podaci iz prethodno opisanih studija upućuju na učinkovitost pripravaka kratoma kod kupiranja boli u ljudi. U randomiziranoj, placebo kontroliranoj, dvostruko slijepoj studiji korisni učinci se mogu propisati isključivo učincima kratoma zbog provedene stroge kontrole biljnih materijala. Manjkavost studije je što je uključila mali broj ispitanika i što nisu uključene žene. Prikaz slučaja pacijenta s COVID-19 infekcijom ukazuje na potencijal pripravaka kratoma u kratkotrajnom liječenju akutne boli. Drugi prikaz slučaja ne nudi relevantne podatke jer nije isključena mogućnost onečišćenja praha pa se analgetski učinak i razvoj ovisnosti ne mogu jasno pripisati kratomu. Sve tri provedene *online* ankete ukazuju na raširenost primjene pripravaka kratoma u samoliječenju boli i na visoku stopu učinkovitosti. Manjkavost presječnih studija je što

je upitna reprezentativnost uzoraka ljudi jer *online* ankete preko društvenih mreža ispunjavaju uglavnom mlađi ljudi boljeg imovinskog statusa. Drugi problem predstavlja nepoznavanje kvalitete i čistoće biljnog materijala kojeg su ispitanici koristili. Potrebna su opsežnija kontrolirana ispitavanja učinkovitosti na većem broju ispitanika.

## 5. ZAKLJUČCI

Sve studije koje su bile uključene u diplomski rad su potvrdile kako ekstrakti, izolirani alkaloidi i njihovi polusintetski derivati kratoma posjeduju analgetska svojstva. Od proučavanih ekstrakata, terapijski najznačajnijim se pokazao etanolni ekstrakt. Jak analgetski učinak etanolnog ekstrakta je bio povezan s većim sadržajem mitraginina. Čini se da mitraginin igra najveću ulogu u antinociceptivnom djelovanju ekstrakata, dok ostale fitokemikalije taj učinak sinergistički pojačavaju ili smanjuju. Vodeni ekstrakti u određenim koncentracijama su djelovali analgetski što opravdava tradicionalnu primjenu dekokta i infuza kratoma u kupiranju boli. Zanimljivo je da je izolirani 7-hidroksimitraginin u odnosu na izolirani mitraginin prepoznat kao jači analgetik. Što se tiče mehanizma djelovanja, mitraginin i 7-hidroksimitraginin djeluju kao opioidni agonisti primarno  $\mu$ -tipa receptora. Razlika u djelovanju ta dva alkaloida je u tome što 7-hidroksimitraginin kao tipični opioid dominantno djeluje preko opioidnih receptora, dok mitraginin kao atipični opioid djelomično djeluje preko drugih neopiodnih mehanizama. Posebno zanimljivim su se pokazali polusintetski derivati jer se je uspjelo uvođenjem manjih promjena u strukturu mitraginina, tj. 7-hidroksimitraginina oslabiti opioidni karakter spoja, a zadržati analgezija. Klinička studija daje dokaze da kratom djeluje analgetski, a studije prevalencije su dodatno istaknule visoku stopu učinkovitosti u kupiranju boli na velikom uzorku ljudi. Zaključno, rezultati svih istraživanja sugeriraju kako ekstrakti kratoma, mitraginin, 7-hidroksimitraginin i polusintetski derivati imaju potencijal u razvoju novih analgetika za liječenje boli nociceptivnog tipa.

## 6. LITERATURA

Anand A, Hosanagar A. The Addictive Potential and Challenges with Use of the "Herbal Supplement" Kratom: A Case Report and Literature Review. *Pain Med*, 2022, 23, 4-9.

Berthold EC, Kamble SH, Raju KS, et al. The Lack of Contribution of 7-Hydroxymitragynine to the Antinociceptive Effects of Mitragynine in Mice: A Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study. *Drug Metab Dispos*, 2022, 50, 158-167.

Bhowmik S, Galeta J, Havel V, et al. Site selective C-H functionalization of Mitragyna alkaloids reveals a molecular switch for tuning opioid receptor signaling efficacy. *Nat Commun*, 2021, 12, 3858.

Carpenter JM, Criddle CA, Craig HK, et al. Comparative effects of Mitragyna speciosa extract, mitragynine, and opioid agonists on thermal nociception in rats. *Fitoterapia*, 2016, 109, 87-90.

Chakraborty S, DiBerto JF, Faouzi A, et al. A Novel Mitragynine Analog with Low-Efficacy Mu Opioid Receptor Agonism Displays Antinociception with Attenuated Adverse Effects. *J Med Chem*, 2021, 64, 13873-13892.

Eastlack SC, Cornett EM, Kaye AD. Kratom-Pharmacology, Clinical Implications, and Outlook: A Comprehensive Review. *Pain Ther*, 2020, 9, 55-69.

Garcia-Romeu A, Cox DJ, Smith KE, Dunn KE, Griffiths RR. Kratom (*Mitragyna speciosa*): User demographics, use patterns, and implications for the opioid epidemic. *Drug Alcohol Depend*, 2020, 208, 107849.

Goh YS, Karunakaran T, Murugaiyah V, Santhanam R, Abu Bakar MH, Ramanathan S. Accelerated Solvent Extractions (ASE) of *Mitragyna speciosa* Korth. (Kratom) Leaves: Evaluation of Its Cytotoxicity and Antinociceptive Activity. *Molecules*, 2021, 26, 3704.

Grundmann O. Patterns of Kratom use and health impact in the US-Results from an online

survey. *Drug Alcohol Depend*, 2017, 176, 63-70.

Grundmann O, Veltri CA, Morcos D, et al. Exploring the self-reported motivations of kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) use: a cross-sectional investigation. *Am J Drug Alcohol Abuse*, 2022, 48, 433-444.

Hill R, Kruegel AC, Javitch JA, Lane JR, Canals M. The respiratory depressant effects of mitragynine are limited by its conversion to 7-OH mitragynine. *Br J Pharmacol*, 2022, 179, 3875-3885.

Hiranita T, Leon F, Felix JS, et al. The effects of mitragynine and morphine on schedule-controlled responding and antinociception in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 2019, 236, 2725-2734.

Matsumoto K, Mizowaki M, Suchitra T, et al. Antinociceptive action of mitragynine in mice: evidence for the involvement of supraspinal opioid receptors. *Life Sci*, 1996a, 59, 1149-1155.

Matsumoto K, Mizowaki M, Suchitra T, et al. Central antinociceptive effects of mitragynine in mice: contribution of descending noradrenergic and serotonergic systems. *Eur J Pharmacol*, 1996b, 317, 75-81.

Matsumoto K, Horie S, Ishikawa H, et al. Antinociceptive effect of 7-hydroxymitragynine in mice: Discovery of an orally active opioid analgesic from the Thai medicinal herb *Mitragyna speciosa*. *Life Sci*, 2004, 74, 2143-2155.

Matsumoto K, Horie S, Takayama H, et al. Antinociception, tolerance and withdrawal symptoms induced by 7-hydroxymitragynine, an alkaloid from the Thai medicinal herb *Mitragyna speciosa*. *Life Sci*, 2005, 78, 2-7.

Matsumoto K, Hatori Y, Murayama T, et al. Involvement of mu-opioid receptors in antinociception and inhibition of gastrointestinal transit induced by 7-hydroxymitragynine, isolated from Thai herbal medicine *Mitragyna speciosa*. *Eur J Pharmacol*, 2006, 549, 63-70.

Matsumoto K, Takayama H, Narita M, et al. MGM-9 [(E)-methyl 2-(3-ethyl-7a,12a-(epoxyethoxy)-9-fluoro-1,2,3,4,6,7,12,12b-octahydro-8-methoxyindolo[2,3-a]quinolizin-2-yl)-3-methoxyacrylate], a derivative of the indole alkaloid mitragynine: a novel dual-acting mu- and kappa-opioid agonist with potent antinociceptive and weak rewarding effects in mice. *Neuropharmacology*, 2008, 55, 154-165.

Metastasio A, Prevece E, Singh D, et al. Can Kratom (*Mitragyna speciosa*) Alleviate COVID-19 Pain? A Case Study. *Front Psychiatry*, 2020, 11, 594816.

Müller E, Hillemecher T, Müller CP. Kratom instrumentalization for severe pain self-treatment resulting in addiction - A case report of acute and chronic subjective effects. *Heliyon*, 2020, 6, e04507.

Obeng S, Leon F, Patel A, et al. Interactive Effects of  $\mu$ -Opioid and Adrenergic- $\alpha$ 2 Receptor Agonists in Rats: Pharmacological Investigation of the Primary Kratom Alkaloid Mitragynine and Its Metabolite 7-Hydroxymitragynine. *J Pharmacol Exp Ther*, 2022, 383, 182-198.

Sabetghadam A, Ramanathan S, Mansor SM. The evaluation of antinociceptive activity of alkaloid, methanolic, and aqueous extracts of Malaysian *Mitragyna speciosa* Korth leaves in rats. *Pharmacognosy Res*, 2010, 2, 181-185.

Shaik Mossadeq WM, Sulaiman MR, Tengku Mohamad TA, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Mitragyna speciosa* Korth methanolic extract. *Med Princ Pract*, 2009, 18, 378-384.

Shamima AR, Fakurazi S, Hidayat MT, Hairuszah I, Moklas MAM, Arulselvan P. Antinociceptive action of isolated mitragynine from *Mitragyna Speciosa* through activation of opioid receptor system. *Int J Mol Sci*, 2012, 13, 11427-11442.

Stolt AC, Schröder H, Neurath H, et al. Behavior and neurochemical characterization of kratom

(*Mitragyna speciosa*) extract. *Psychopharmacology (Berl)*, 2014, 231, 13-25.

Kratom drug profile, [https://www.emcdda.europa.eu/index\\_en](https://www.emcdda.europa.eu/index_en), pristupljeno 25.5.2023.

Thongpradichote S, Matsumoto K, Tohda M, et al. Identification of opioid receptor subtypes in antinociceptive actions of supraspinally-administered mitragynine in mice. *Life Sci*, 1998, 62, 1371-1378.

Vicknasingam B, Chooi WT, Rahim AA, et al. Kratom and Pain Tolerance: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Study. *Yale J Biol Med*, 2020, 93, 229-238.

Wilson LL, Harris HM, Eans SO, et al. Lyophilized Kratom Tea as a Therapeutic Option for Opioid Dependence. *Drug Alcohol Depend*, 2020, 216, 108310.



## 7. SAŽETAK / SUMMARY

### 7.1. Sažetak

Kratom je biljka s dugom povijesti tradicijskog korištenja kod brojnih stanja pri čemu je često droga izbora za samoliječenje boli. Cilj ovog diplomskog rada je bio prikupiti relevantne pretkliničke *in vivo* i kliničke studije koje su proučavale analgetsko djelovanje ekstrakata kratoma, njegovih alkaloida (mitragina, 7-hidroksimitraginina) i polusintetskih derivata, razjasniti mehanizam djelovanja i procijeniti ima li potencijal da postane novi legalni analgetik. Zbog uočene povezanosti dugotrajne primjene kratoma s razvojem ovisnosti, diplomski rad je baziran samo na liječenju boli nociceptivnog tipa. Sve studije koje su uključene u diplomski rad su potvrdile kako ekstrakti, izolirani alkaloidi i njihovi polusintetski derivati kratoma posjeduju analgetska svojstva. Ovim sustavnim pregledom je ustanovljeno da su analgetski učinci posredovani uglavnom opioidnim sustavom i da to može postati sigurnosti problem kod primjene. Unatoč tome, ovaj rad nudi dokaze da postoji potencijal da jedan od alkaloida kratoma ili pak spoj polusintetiziran iz tih alkaloida postane analgetik koji bi bio učinkovitiji i sigurniji u odnosu na morfin.

## 7.2. Summary

Kratom is a plant with a long history of traditional use for numerous conditions, often being the drug of choice for self-treatment of pain. The aim of this thesis was to collect relevant preclinical in vivo and clinical studies that investigated the analgesic effect of kratom extracts, its alkaloids (mitragynine, 7-hydroxymitragynine) and semi-synthetic derivatives, clarify the mechanism of action and assess whether it has the potential to become a new legal analgesic. Due to the observed association of long-term use of kratom with the development of addiction, the thesis is based only on the treatment of pain of the nociceptive type. All studies that are included in the thesis confirmed that extracts, isolated alkaloids and their semi-synthetic derivatives of kratom possess analgesic properties. In this systematic review, it was found that the analgesic effects are mediated mainly by the opioid system and that this may become a safety issue in administration. Nevertheless, this thesis offers evidence that there is a potential for one of the kratom alkaloids or a compound semi-synthesized from these alkaloids to become an analgesic that would be more effective and safer than morphine.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmakognoziju  
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### POTENCIJAL KRATOMA U LIJEČENJU NOCICEPTIVNE BOLI

Kristina Mijić

#### SAŽETAK

Kratom je biljka s dugom povijesti tradicijskog korištenja kod brojnih stanja pri čemu je često droga izbora za samoliječenje boli. Cilj ovog diplomskog rada je bio prikupiti relevantne pretkliničke *in vivo* i kliničke studije koje su proučavale analgetsko djelovanje ekstrakata kratoma, njegovih alkaloida (mitragina, 7-hidroksimitraginina) i polusintetskih derivata, razjasniti mehanizam djelovanja i procijeniti ima li potencijal da postane novi legalni analgetik. Zbog uočene povezanosti dugotrajne primjene kratoma s razvojem ovisnosti, diplomski rad je baziran samo na liječenju boli nociceptivnog tipa. Sve studije koje su uključene u diplomski rad su potvrdile kako ekstrakti, izolirani alkaloidi i njihovi polusintetski derivati kratoma posjeduju analgetska svojstva. Ovim sustavnim pregledom je ustanovljeno da su analgetski učinci posredovani uglavnom opioidnim sustavom i da to može postati sigurnosti problem kod primjene. Unatoč tome, ovaj rad nudi dokaze da postoji potencijal da jedan od alkaloida kratoma ili pak spoj polusintetiziran iz tih alkaloida postane analgetik koji bi bio učinkovitiji i sigurniji u odnosu na morfin.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 30 stranica, 9 grafičkih prikaza i 29 literaturna navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Kratom, *M. speciosa*, analgezija, antinocicepcija, nociceptivna bol

Mentor:

**Prof. dr. sc. Marijana Zovko Končić**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Prof. dr. sc. Marijana Zovko Končić**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Doc. dr. sc. Maja Bival Štefan**, docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog

*fakulteta.*

**Prof. dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: kolovoz 2023.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of pharmacognosy  
Marulićev trg 20/II, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diploma thesis

### THE POTENTIAL OF KRATOM IN THE TREATMENT OF NOCICEPTIVE PAIN

**Kristina Mijić**

#### SUMMARY

Kratom is a plant with a long history of traditional use for numerous conditions, often being the drug of choice for self-treatment of pain. The aim of this thesis was to collect relevant preclinical in vivo and clinical studies that investigated the analgesic effect of kratom extracts, its alkaloids (mitragynine, 7-hydroxymitragynine) and semi-synthetic derivatives, clarify the mechanism of action and assess whether it has the potential to become a new legal analgesic. Due to the observed association of long-term use of kratom with the development of addiction, the thesis is based only on the treatment of pain of the nociceptive type. All studies that are included in the thesis confirmed that extracts, isolated alkaloids and their semi-synthetic derivatives of kratom possess analgesic properties. In this systematic review, it was found that the analgesic effects are mediated mainly by the opioid system and that this may become a safety issue in administration. Nevertheless, this thesis offers evidence that there is a potential for one of the kratom alkaloids or a compound semi-synthesized from these alkaloids to become an analgesic that would be more effective and safer than morphine.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 30 pages, 9 figures and 29 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Kratom, *M. speciosa*, analgesia, antinociception, nociceptive pain

Mentor: **Marijana Zovko Končić, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Marijana Zovko Končić, Ph.D.** Associate Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy

*and Biochemistry*

**Maja Bival Štefan, Ph.D.** *Assistant Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

**Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Full Professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

The thesis was accepted: August 2023