

พืชกระท่อม (Kratom)

ผู้เขียน รศ.ดร.จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล

1. บทคัดย่อ

พืชกระท่อม (Kratom) หรือ *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil. จัดประเภทอยู่ในยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 แต่ด้วยสรรพคุณทางยาของพืชกระท่อม ทั้งแบบการใช้ภูมิปัญญาแต่ดั้งเดิม ตำราการแพทย์พื้นบ้าน การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ในระดับหลอดทดลอง สัตว์ทดลอง และในมนุษย์ ยืนยันศักยภาพของพืชกระท่อมในการพัฒนาให้เป็นยารักษา ยังประโยชน์ให้ทั้งทางเภสัชกรรมและทางการแพทย์ เพื่อเป็นการรวบรวมองค์ความรู้ของพืชกระท่อม บทความนี้ได้กล่าวถึงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ สารเคมี ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พิษวิทยา ของพืชกระท่อม รวมไปถึงวิธีการตรวจสอบสารจากพืชกระท่อมอีกด้วย

2. คำสำคัญ พืชกระท่อม; ยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5; Kratom; *Mitragyna speciosa*; drug abuse

3. เนื้อหาบทความ

3.1 วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

3.1.1 ทราบถึงลักษณะทางพฤกษศาสตร์และสารเคมีในพืชกระท่อม และกลไกการออกฤทธิ์ของสารในพืชกระท่อม

3.1.3 ทราบถึงวิธีการตรวจสอบสารเคมีในพืชกระท่อม พิษวิทยา และการใช้พืชกระท่อมในทางที่ผิด

3.2 เนื้อหา

1. บทนำ

พืชกระท่อม (Kratom; Krathom; *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil. เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae เป็นพืชที่พบในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทางใต้เรียกท่อม ภาคกลางบางที่เรียกอีถ่าง (เต็ม สมิตินันท์ 2557) คนมาเลย์เรียก เปี้ยะ (Biak) หรือ เคอต่อม (ketum) พืชกระท่อมที่พบมีชนิดก้านแดง ก้านเขียว (อาจเรียกแดงกวา) และยักษ์ใหญ่ (มีรอยหยักบริเวณปลายใบคล้ายเขี้ยว) (รูปที่ 1) พืชกระท่อมเป็นไม้ยืนต้น ความสูงราว 15-30 เมตร ใบเดี่ยว รูปไข่แกมขอบขนาน เรียงตรงกันข้าม หูใบรูปหอกอยู่ระหว่างก้านใบ (interpetiolar stipule) ดอกเป็นชนิดสมบูรณ์เพศ ออกที่ปลายกิ่ง ช่อย่อยรูปทรงกลมคล้ายดอกกระถิน แต่ละช่อมีดอกย่อยราว 70-80 ดอก ผลมีลักษณะแคบรูปกลม ภายในผลย่อยมีเมล็ดอัดแน่น เมล็ดมีลักษณะแบน (flat seed)



รูปที่ 1 พืชกระท่อม (*Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil. ลักษณะลำต้น หูใบ และช่อดอก

หนังสือชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ได้ระบุพืชจีนัส *Mitragyna* ที่พบในประเทศไทย อยู่ 5 สปีชีส์ ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อทั่วไปและชื่อสามัญ (เต็ม สมิตินันท์ 2557) ดังนี้

- *M. diversifolia* (Wall ex G. Don) Havil. กระท่อมซี่หมี กระท่อมตง **กระท่อมนา** ท่อมซี่หมี ตุ่มน้ำ
- *M. hirsuta* Havil. **กระท่อมโคก** ตุ่มเขา ตุ่มพาย
- *M. parvifolia* Korth. **กระท่อมใบเล็ก**
- *M. rotundifolia* (Roxb.) Kuntze **กระท่อมเนิน** แก่นเหลือง ตุ่มกว่าว
- *M. speciosa* (Korth.) Havil. **กระท่อม** ท่อม อีถ่าง



ชนิดก้านใบสีแดง



ชนิดก้านใบสีเขียว (แดงขาว)



ชนิดขอบใบหยัก (ยักษ์ใหญ่, หางกิ้ง)

รูปที่ 2 ลักษณะของใบกระท่อม *Mitragyna speciosa* [Rubiaceae] ในรูปแบบต่าง ๆ

พืชกระท่อมที่ระบุในพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ ประเภทที่ 5 พ.ศ. 2522 ตามมาตรา 3 นั้นหมายถึง เฉพาะ *M. speciosa* เท่านั้น ในตำรายาไทยใบกระท่อม ระบุสรรพคุณใช้ระงับอาการปวดท้อง แก้บิด แก้ท้องเสีย ระงับอาการปวดเมื่อยตามร่างกาย และระงับประสาท หมอพื้นบ้านนำส่วนเปลือกและใบพืชกระท่อม รักษาอาการท้องร่วง ปวดท้อง ลดการปวดบิดถ่ายเป็นเลือด รักษาโรคกระเพาะอาหาร รักษาโรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคผิวหนัง เป็นต้น โดยแนะนำให้เคี้ยวใบกระท่อมที่แกะก้านใบออก เคี้ยว อาจกลืนหรือคายกาก ตุ่มน้ำตาม นอกจากนี้พืชกระท่อมยังเป็นองค์ประกอบสำคัญในตำรายาคัมภีร์แพทย์ไทยแผนโบราณ ขุนโสภิตบรรณลักษณ์ (อำพัน กิตติขจร) ได้แก่ ยาประสะกระท่อม ยาหนุมานจงถนนปิดมหาสมุทร ยาแก้บิดลงเป็นเลือด ยาแก้บิดหัวลูก และยาประสะกาฬแดง ใช้รักษาอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง และแก้บิด จากบทความ “พืชกระท่อมมีฤทธิ์เป็นยาจริงหรือไม่” ในหนังสือพืชกระท่อมในสังคมไทย ได้รายงานการศึกษาถึงภูมิปัญญาและความนิยมใช้พืชกระท่อมของหมอพื้นบ้าน โดยวิธีสัมภาษณ์ พบว่าหมอพื้นบ้าน ความนิยมใช้พืชกระท่อม

รักษาอาการ ลำดับจากมากไปน้อย (นับเป็นร้อยละของหมอฟันบ้าน) ได้แก่ อาการท้องร่วง (67%) เบาหวาน (63.3%) แก้วปวดเมื่อย (32.7%) แก้วไอ (26.5%) ขับพยาธิ (14.3%) (สาวิตรี อัจฉนงค์กรชัย และอาภา ศิริวงค์ ณ อยุธยา 2548) ซึ่งสอดคล้องกับผู้ที่กินใบกระท่อมรักษาอาการเจ็บป่วยด้วยตัวเอง (อาภา ศิริวงค์ ณ อยุธยา และคณะ 2549)

พืชกระท่อมมีฤทธิ์กระตุ้นคล้ายใบโคคา และอาจใช้ทดแทนการใช้ฝิ่น โดยรูปแบบการเสพได้แก่ ชงน้ำดื่ม มวนใบสูบ เคี้ยวใบสด เป็นต้น การกินใบกระท่อมจะทำให้รู้สึกสบาย ทำงานได้นาน ทนต่อความร้อน อุดทน ทำงานมาก และคนเคี้ยวใบกระท่อมจะไม่ชอบฝน แต่เมื่อเสพไปนาน ๆ จะมีอาการเบื่ออาหาร น้ำหนักลด ผิวดำเกรียม ท้องผูก อุจจาระก้อนเล็ก มีสีดำ เมื่อใช้ติดต่อกัน อาจทำให้เกิดการเสพติด และถ้าไม่ได้เสพ อาจมีอาการขาดยา (withdrawal) เช่น มีอาการก้าวร้าว น้ำตาไหล น้ำมูกไหล ปวดกล้ามเนื้อ แต่อย่างไรก็ตามความรุนแรงของอาการขาดยา ที่เกิดจากการใช้ใบกระท่อมจะมีอาการน้อยกว่าอาการถอนยาที่เกิดจากการใช้ฝิ่น การใช้พืชกระท่อมปัจจุบันเกิดขึ้นอย่างแพร่หลาย ในเกือบทุกภูมิภาคของประเทศไทยการเคี้ยวใบกระท่อม นิยมกันมากในหมู่ชนชั้นแรงงาน และเกษตรกร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน ทำงานได้นาน ทนร้อน และไม่เหนื่อย ความต้องการพืชกระท่อมทำให้เกิดการลักลอบ ซื้อมาขาย แต่เมื่อเปรียบเทียบราคาใบกระท่อมกับยากระท่อมอื่น ๆ ก็พบว่ามีความคุ้มค่า และหาได้จากธรรมชาติ

ความคิดที่จะ “ปลด” พืชกระท่อมจากยาเสพติดให้โทษ ประเภท 5 ยังเป็นข้อถกเถียง ดังนั้นการปลูก ครอบครอง และจำหน่ายถือว่ามีความผิด บทกำหนดโทษพืชกระท่อม (พรบ. ยาเสพติดให้โทษ ฉบับที่ 5 พ.ศ. 2545) ระบุไว้สูงสุด คือจำคุกไม่เกิน 2 ปี และปรับไม่เกิน 200,000 บาท ส่วนผู้เสพ จำคุกไม่เกิน 1 เดือน หรือปรับไม่เกิน 2,000 บาท อย่างไรก็ตาม ตามความในมาตรา 5 ยังได้ระบุ “...เว้นแต่จะได้รับใบอนุญาตจากเจ้าพนักงาน เพื่อประโยชน์ในการประกอบโรคศิลปะหรือวิทยาศาสตร์” (สาวิตรี อัจฉนงค์กรชัย และคณะ 2558) บทความนี้จะกล่าวในรายละเอียดต่อไปนี้เป็นกรรณวรมงคลความรู้ ที่ศึกษา-วิจัยในเชิงวิทยาศาสตร์ เพื่อรองรับองค์ความรู้ที่เข้ามาในอดีต ตามภูมิปัญญาของไทย และนำมาประเมินการใช้พืชกระท่อมให้ถูกต้องตามหลักวิชาการ และการใช้ให้ได้ประโยชน์สูงสุด

2. พฤษเคมี (Phytochemistry) และชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis)

พฤษเคมีของพืชกระท่อม ฐานข้อมูล NAPRALERT (Natural Products Alert; <https://www.napralert.org>) มหาวิทยาลัยอิลลินอยด์ แห่งชิคาโก ได้รวบรวมองค์ประกอบทางเคมีของสารที่พบในพืชกระท่อม รวมไปถึงรายงานวิจัยจนถึงปัจจุบัน ดู สรุปในตารางที่ 1 โดยแยกตามส่วนของพืช สารเคมีที่พบในพืชกระท่อม เป็นที่น่าสังเกตว่าพืชกระท่อมสร้างและสะสมสารมีหลากหลายกลุ่ม ได้แก่ alkaloids, flavonoids, triterpenes, phenolic compounds เป็นต้น โดยสารกลุ่ม indole alkaloids เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่จะพบในพืชกระท่อม และมีสารสำคัญหลักคือ mitragynine ปริมาณที่พบในใบกระท่อมของไทยจะมีสูงถึง 66% โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับปริมาณสารสกัด alkaloid ทั้งหมด ขณะที่ใบกระท่อมมาเลย์พบเพียง 12% (Takayama 2004) ขั้นตอนการสกัดสารกลุ่ม alkaloid มักใช้หลักการสกัดกรด-ด่าง (acid-base extraction) ล่าสุดมีรายงานของ Ori และคณะ (2012) ได้พัฒนาวิธีการสกัด mitragynine จากใบกระท่อมอินโดนีเซีย โดยใช้คลื่นเสียง ไมโครเวฟ และ solid-phase extraction พบว่าได้ปริมาณสูงกว่าวิธีดั้งเดิม (Ori et al, 2012) ในใบกระท่อมทั้งของไทยและมาเลย์ ยังพบสาร alkaloid ตัวอื่น ๆ ได้อีก เช่น speciogynine, speciociliatine, paynantheine และ 7-hydroxy-mitragynine เป็นต้น ตัวอย่างโครงสร้าง alkaloid ที่พบในพืชกระท่อม ดังแสดงในรูปที่ 3 ชนิด รูปแบบการสร้างและการสะสมแอลคาลอยด์และสารอื่น ๆ ในพืชกระท่อมมีความแตกต่าง หลากหลาย ขึ้นอยู่กับฤดูกาล และแหล่งเพาะปลูก

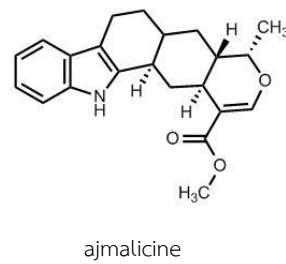
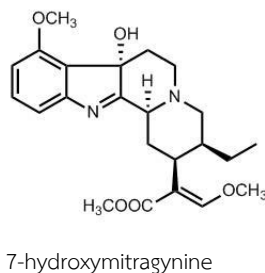
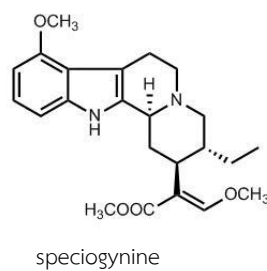
ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสารที่พบในพืชกระท่อม

แหล่ง	กลุ่มสาร	ชื่อสารเคมี	เอกสารอ้างอิง
ใบ	alkaloid	ajmalicine; akuammigine; angustine; corynantheidine; corynantheidaline; corynantheidalinic acid; corynoxine; corynoxine; corynoxine B; hirsutine; hirsuteine; isocorynoxine;	Shellard et al., 1966; Hemingway et al., 1974; Phillipson et al., 1974; Shellard et al., 1978a; Shellard et al., 1978b; Houghton and Said,

		<p>isomitraphylline; isomitrafoline; isospeciofoline; isorhynchophylline; isocorynantheidine; javaphylline; mitraciliatine; mitrafoline; mitragynalinic acid; mitragynine oxindole mitrajavine; mitraphylline; mitrasulgynine; mitragynaline; mitragynine; mitralactonal; paynantheine; speciociliatine; speciofoline; speciogynine; 3- isoajmalicine; 3,4,5,6- tetrahydromitragynine; 7α- hydroxy-7H-mitragynine; 3- dehydro-mitragynine</p>	<p>1986; Houghton et al., 1991; Houghton et al., 1991; Ponglux et al, 1994; Takayama, 2004</p>
	flavonoid	<p>apigenin; apigenin-7-O- rhamnoglucoside; astragalin; cosmosiin; hyperoside; kaempferol; quercetin; quercitrin; quercetin-3- galactoside-7-rhamnoside; rutin; (-)-epicatechin</p>	<p>Houghton and Said, 1986; Hinou and Harvala, 1988</p>
	phenylpropanoid	<p>caffeic acid; chlorogenic acid</p>	<p>Hinou and Harvala, 1988</p>

	lignan	(+)-pinoresinol	Takayama et al., 1998
	triterpenoid	ursolic acid; oleanolic acid	Said et al., 1991; Phongprueksapattana et al., 2007
กิ่ง, เปลือกต้น	alkaloid	ciliaphylline; rhynchociline	Shellard et al., 1978a
เปลือกต้น	alkaloid	ciliaphylline; isomitraphylline; isorhynchophylline; isospecionoxeine; javaphylline; mitraciliatine; mitragynine oxindole A; mitragynine oxindole B; mitraphylline; rhynchociline; rhynchophylline; speciogynine; speciociliatine; specionoxeine	Shellard et al., 1978b
เปลือกราก	alkaloid	ciliaphylline; corynoxeine; isocorynoxeine; isomitraphylline; isorhynchophylline; isospecionoxeine; mitraciliatine; mitraphylline; rhynchociline; rhynchophylline; speciociliatine; speciogynine; specionoxeine;	Houghton and Shellard, 1974; Shellard et al., 1978b;

ผล	alkaloid	7 α -hydroxyspeciociliatine	Trager et al., 1968
หมักด้วย แบคทีเรีย (Microbial transformation of leaves)	alkaloid	Mitragynine pseudoindoxyl; hydroxylmitragynine pseudoindoxyl	Zaremba et al. 1974



รูปที่ 3 ตัวอย่างโครงสร้าง alkaloid ที่พบในพืชกระท่อม

สาร mitragynine จัดเป็นแอลคาลอยด์ ชนิด corynanthe มีสูตรโมเลกุล $C_{23}H_{30}O_4N_2$ (มวลโมเลกุล 398.503 กรัมต่อโมล) อาจเรียกชื่อ mitragynine ตามลักษณะโครงสร้างว่า 9-methoxy-corynantheidine ลักษณะโครงสร้างจัดอยู่ประเภทเดียวกับแอลคาลอยด์ ที่พบในสกุล Yohimbe และสกุล Uncaria สาร mitragynine มีลักษณะเป็นผงสีขาว (white amorphous powder) มีคุณสมบัติละลายในตัวทำละลายชนิด แอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และกรดอะซิติก

สาร mitragynine ถูกแยกให้บริสุทธิ์เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1907 โดย Hooper และต่อมาในปี ค.ศ. 1921 Field ได้รายงานสารใหม่จำนวน 2 ชนิด ให้ชื่อ mitragynine สำหรับสารที่แยกได้จาก *M. speciosa* และ

mitraversine สำหรับสารที่แยกได้จาก *M. parvifolia* การวิเคราะห์ conformation ของ (-)-mitragynine โดยใช้เทคนิค X-ray crystallography รายงานโดย Zacharias และคณะ (1965) และ Liu และคณะ (2010)

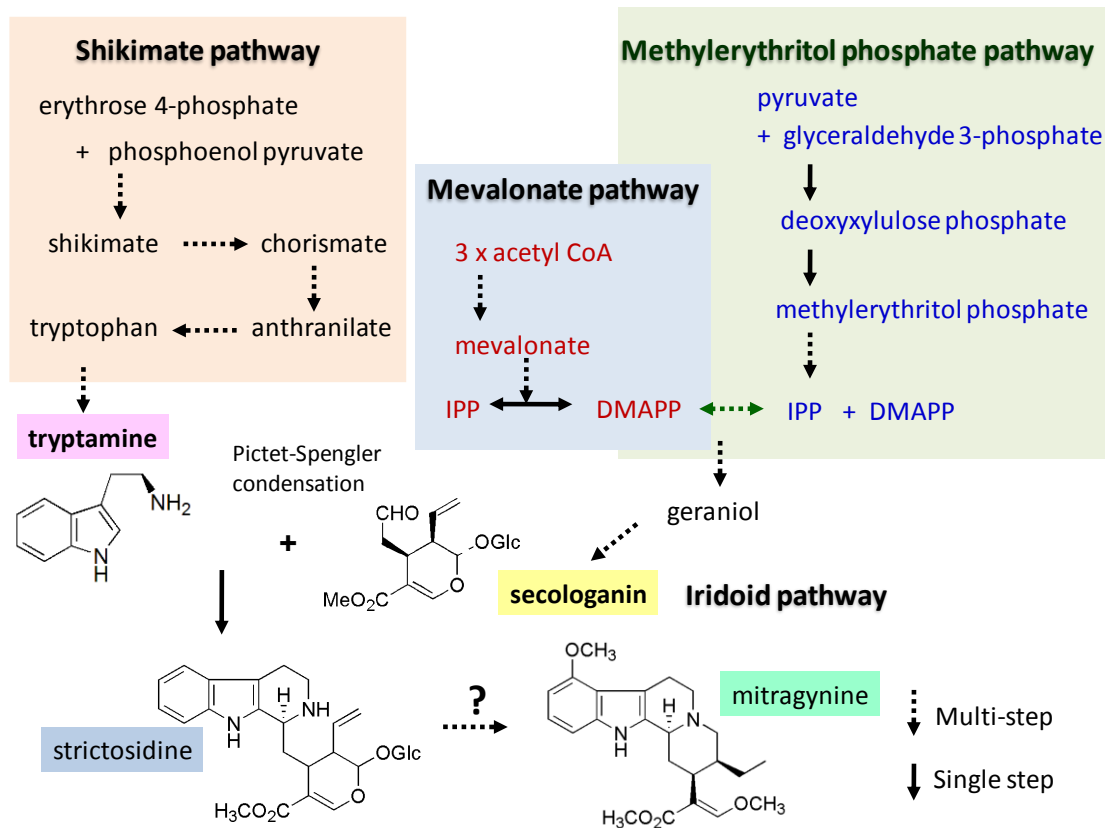
ส่วนการศึกษาความสัมพันธ์ของโครงสร้างกับฤทธิ์ลดการเจ็บปวด (analgesic) มีรายงานตำแหน่งสำคัญต่อการออกฤทธิ์ที่แสดงบนโครงสร้างของ mitragynine (ดู โครงสร้าง mitragynine ในรูปที่ 3 ประกอบ) ได้แก่

- การกำจัดหมู่เมทิลออกหรือทำเป็นหมู่อะเซทิล จะทำให้ความสามารถในการจับกับ opioid receptor ลดลง หมู่ methoxy ที่ตำแหน่งที่ 9 จัดเป็นหมู่ที่สำคัญต่อการจับกับ opioid receptor
- การเปลี่ยนหมู่เมทิล ไปเป็นสายอัลคิล (alkyl side chain) ทำให้ความสามารถในการจับกับ opioid receptor หดไป
- การเปลี่ยนแปลง stereochemistry ที่คาร์บอนตำแหน่ง 20 และหมู่ methoxy ตำแหน่งที่ 17 ทำให้คุณสมบัติการจับกับ opioid receptor หดไป
- การทำ ester hydrolysis ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 23 ทำให้การจับกับ opioid receptor ลดลง ในทางตรงข้ามหากเติมหมู่ α -hydroxyl ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 (มีชื่อสารว่า 7-hydroxy-mitragynine) จะทำให้การจับกับ opioid receptor เพิ่มขึ้น (Takayama 2004; Liu et al. 2010)

ความพยายามในการสังเคราะห์สาร mitragynine ด้วยวิธีทางเคมี (organic synthesis) นั้น มีรายงานโดย Takayama et al. (1995) และ Ma et al. (2009) สามารถสังเคราะห์ (-)-mitragynine สำเร็จ แต่ปริมาณที่สังเคราะห์ได้มีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับการสกัดจากธรรมชาติ ในปี 2012 ทีมวิจัยจากมหาวิทยาลัยชิบะ ประเทศญี่ปุ่น ได้จดสิทธิบัตร (US8247428 B2) เรื่อง การสังเคราะห์อนุพันธ์ indole alkaloid ที่อาศัยโครงสร้าง mitragynine และ 7-hydroxymitragynine เป็นสารต้นแบบ (Lead compound) ทำให้ได้อนุพันธ์หลากหลายของ indole alkaloid ที่มีคุณสมบัติในการจับกับ opioid receptor ซึ่งจะสามารถนำไปพัฒนาต่อไปเป็นยาในกลุ่ม opioid analgesic ต่อไป (Horie et al. 2012)

ชีวสังเคราะห์สาร mitragynine มีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการชีวสังเคราะห์มากกว่า 20 ขั้นตอน เช่นเดียวกับชีวสังเคราะห์ของสารกลุ่ม terpenoid indole alkaloid อื่น ๆ และเอนไซม์ดังกล่าวกระจายตัวในที่ต่าง ๆ ในระดับเซลล์ การศึกษาชีวสังเคราะห์สาร mitragynine เริ่มแรกโดย Rueffer et al. (1978) ที่ป้อนสารตั้งต้นกลาง strictosidine สารกึ่งกลาง (intermediate) สำคัญ ในชีวสังเคราะห์ของ terpenoid indole

alkaloid ผลการทดลองพบว่าสาร strictosidine ได้ถูกนำไปใช้ และมีฉลากติดบนสาร mitragynine การศึกษาดังกล่าวจึงสรุปในเบื้องต้นว่าสาร mitragynine สร้างผ่านสารกึ่งกลาง strictosidine เช่นเดียวกัน ด้วยสมมติฐานนี้ สาร mitragynine จะถูกสร้างขึ้นจากองค์ประกอบ 2 ส่วนคือ ส่วน indole ที่ได้จาก tryptamine ในวิถีซิกิเมท และส่วนของ iridoid ที่ได้จาก secologanin ในวิถีเทอร์ปีนอยด์ โดยทั้งสองส่วนจะเกิดการรวมตัวอาศัยเอนไซม์ strictosidine synthase (Jumali et al. 2011) ปัจจุบันเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในชีวสังเคราะห์สาร mitragynine ได้มีการโคลนยีนและศึกษาคุณสมบัติของยีน จากพืชกระท่อมที่พบในฐานข้อมูล NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ได้แก่ strictosidine synthase (*str*) (Jumali et al. 2011), 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (*dxs*), 2C-methyl-D-erythritol synthase (*meps*), anthranilate synthase (*as*) และ tryptophan decarboxylase (*tdc*) (Charoonratana 2012)



รูปที่ 4 ชีวสังเคราะห์สาร mitragynine ในพืชกระท่อม

3. ผลทางสรีรศาสตร์ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (physiological effect and pharmacology)

งานวิจัยจากนักวิจัยหลายกลุ่ม ได้รายงานการศึกษาผลของสาร mitragynine และ/หรือสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จากใบกระท่อม ทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) สัตว์ทดลอง (in vivo) และในมนุษย์ มีทั้งชนิดอิงปริมาณ และไม่อิงปริมาณของ mitragynine ตารางที่ 2 แสดงปริมาณของสารเคมีที่พบในสารสกัดแอลคาลอยด์ โดย mitragynine เป็นสารสำคัญหลัก ตามด้วย paynantheine และ speciogynine ตามลำดับ ผลของ mitragynine ต่อสรีรวิทยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอาจแบ่งเป็นกลุ่มตามลำดับดังนี้

- ผลต่อระบบประสาท

การศึกษาแรกเกี่ยวกับผลต่อระบบประสาทของสาร mitragynine พบในรายงานของ Grewal (1932a) โดยทำการทดลองในสัตว์ทดลองพบว่า mitragynine มีผลกระตุ้นระบบประสาท เช่นเดียวกับโคเคน ต่อมาได้มีการทดลองกับอาสาสมัครชาย 5 คน ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกัน และพบว่า mitragynine acetate ขนาด 50 มิลลิกรัมทำให้คลื่นไส้ และอาเจียน (Grewal 1932b, Jansen and Prast 1988) ในการศึกษาเดียวกันได้รายงานว่ารูปแบบการให้สาร mitragynine กับสัตว์ทดลอง โดยการกิน (p.o.) มีฤทธิ์ดีกว่าการฉีดใต้ผิวหนัง พร้อมทั้งเสนอสมมติฐานว่าสารออกฤทธิ์น่าจะเป็นเมตาบอไลต์ของสาร mitragynine และผลการศึกษาในสัตว์ทดลองที่สรุปว่าสาร mitragynine มีคุณสมบัติลดการปวด (analgesic) แก้ไอ (antitussive) และลดไข้ (antipyretic) ทำให้บริษัท Smith, Kline and French Laboratories ได้ทดลองในขั้นพรีคลินิกในมนุษย์ แต่ผลการทดลองพบอาการไม่พึงประสงค์ (side effects) หลายอย่าง (Jansen and Prast 1988) จึงไม่มีการศึกษาต่อ เป็นที่น่าสังเกตว่าการทดลองในขั้นพรีคลินิกของบริษัทดังกล่าว ให้ผลการวิจัยที่แตกต่างจากรายงานการใช้ใบกระท่อมกลุ่ม ชายวัยกลางคน 30 คน ที่ทำงานหนัก และกินใบกระท่อมสดเป็นเวลานานกว่า 5 ปี โดยรูปแบบใช้คือ เคี้ยว และกินผงใบกระท่อมร่วมกับทีเกลือ (เพื่อลดอาการท้องผูก) การเคี้ยวใบปริมาณน้อย (2-3 ใบต่อครั้ง) ความถี่ 3-10 ครั้งต่อวัน มีรายงานว่าทำให้กระตุ้นการทำงานและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงาน โดยผลกระตุ้นจะเกิดขึ้นภายใน 5-10 นาที อาการไม่พึงประสงค์ที่พบ ได้แก่ ปากแห้ง ท้องผูก ผิวลำบาก เบื่ออาหาร และน้ำหนักลด (Suwanlert 1975) การศึกษาทั้ง 2 ชิ้นนี้ อาจสรุปได้ว่าคนไทยที่ใช้ใบกระท่อมเป็นประจำจะมีความสามารถทน (tolerate) ต่อสารเคมีในกระท่อมได้ดีกว่า และการศึกษาที่น่าจะใช้สารสกัดเข้มข้นมากกว่าการใช้สาร mitragynine บริสุทธิ์ เพื่อลดอาการไม่พึงประสงค์ดังกล่าว

สาร mitragynine มีผลต่อระบบประสาทอัตโนมัติ (autonomic nervous system) และระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) โดยเฉพาะส่วน medulla สาร mitragynine มีฤทธิ์แก้ปวด (antinociceptive effect) โดยผ่านตัวรับออปิอยด์ (opioid receptor) ในสมอง การทดลองในการแยกเนื้อเยื่อ ileum ของหนู guinea pig โดยเปรียบเทียบผลการทดลองกับ morphine สรุปว่า mitragynine ให้ผลเช่นเดียวกับ morphine แต่น้อยกว่าประมาณ 4 เท่า แต่สาร 7-hydroxymitragynine กลับมีความแรงมากกว่า morphine ถึง 10 เท่า (Kitajima et al. 2006) ต่อมา มีรายงานการศึกษาชนิดของตัวรับออปิอยด์ (opioid subtype) โดยการฉีด mitragynine ขนาด 5 mg/kg เข้าใต้ผิวหนังของหนู พบว่ามีฤทธิ์แก้ปวด เมื่อทดสอบแบบ mouse tail-flick test (Thongpraditchote et al. 1998) และการศึกษาชนิดของตัวรับโดยการฉีดสารยับยั้งการจับกับตัวรับออปิอยด์ ได้แก่ naloxone (ยับยั้งทุกชนิดของ opioid receptor) cyprodime (ยับยั้งตัวรับเฉพาะชนิด μ) naltrindole (ยับยั้งตัวรับเฉพาะชนิด δ) และ nor-binaltorphimine (ยับยั้งตัวรับเฉพาะชนิด κ) โดยสารเหล่านี้ให้ร่วมกับสาร mitragynine และ 7-hydroxymitragynine จากนั้นทดสอบฤทธิ์แก้ปวดด้วยวิธี mouse-tail flick และ hot-plate (55°C) ได้ผลการทดลองสรุปได้ว่าการยับยั้งเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์เฉพาะกลุ่มที่ให้ naloxone และ cyprodime แต่ให้ผลน้อยต่อกลุ่มที่ให้ naltrindole และ nor-binaltorphimine กล่าวคือ mitragynine และ 7-hydroxymitragynine จัดเป็น μ -agonist (Matsumoto et al. 1996, Thongpraditchote et al. 1998)

รายงานวิจัยล่าสุด Kruegel et al. (2016) ได้รายงานการศึกษาสาร mitragynine โดยการทำให้ molecular docking ต่อการจับกับตัวรับออปิอยด์ที่ได้แยกได้จากมนุษย์ ผลการทดลองให้ผลสรุปว่า mitragynine และ 7-hydroxymitragynine เป็น partial μ opioid agonist และเป็น competitive antagonist ต่อ δ และ κ opioid receptor (Kruegel et al. 2016) ดังนั้นสารออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท mitragynine และ 7-hydroxymitragynine มีคุณสมบัติแก้ปวด ผ่านการจับกับ μ opioid receptor

ฤทธิ์แก้ปวดของสาร mitragynine ยังเป็นผลเนื่องจากการลดระดับของสัญญาณการเจ็บปวดไปยังสมองผ่านระบบ noradrenergic system และ serotonergic system (Matsumoto et al. 1996) นอกจากนี้การเพิ่มระดับการตั้งของสารสื่อประสาท ได้แก่ serotonin, noradrenaline และ dopamine จึงทำให้สาร mitragynine มีคุณสมบัติต้านการซึมเศร้า (antidepressant effect) (Farah Idayu et al. 2011) นอกจากนี้ สาร mitragynine ยังมีผลต่อความจำอีกด้วย (cognitive function) โดยหากได้รับในขนาด 5-15 mg/kg ผ่าน

การฉีดเข้าช่องท้องของหนู เป็นเวลานาน 28 วัน มีผลลดความสามารถในการจดจำอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะไม่มีผลหากได้รับแบบครั้งเดียวไม่ว่าจะอยู่ในรูปแบบสารเดี่ยว mitragynine หรือในรูปแบบสารสกัด (Apyani et al. 2010) แต่มีการศึกษาการให้สารสกัดเมทานอล ขนาด 100-1000 mg/kg ให้กับหนูทางปาก พบว่ากระตุ้นความจำระยะสั้น ส่วนกลไกของการลดความจำเมื่อได้รับสาร mitragynine เป็นเวลานาน คาดว่าผ่านสมองส่วน hippocampus (Senik et al. 2012)

ผลของการจับกับตัวรับออปิออยด์ ทำให้สาร mitragynine มีผลลดการหลั่งกรด (gastric secretion) และทำให้ลดการอยากอาหาร (Tsuchiya et al. 2002) นอกจากนี้ยังมีผลยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็ก ทำให้ท้องผูก ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ใบกระท่อมยับยั้งอาการท้องเสียอีกด้วย (Watanabe et al. 1997)

- **ผลต่อระบบทางเดินอาหาร**

สาร mitragynine มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารในหนูขาว โดยผ่านตัวรับออปิออยด์ ดังที่กล่าวข้างต้น (Tsuchiya et al. 2002) สารสกัดเมทานอลจากใบกระท่อม มีผลลดความอยากอาหารและน้ำ ทำให้น้ำหนักของหนูขาวลดลง (Kumarnsit et al. 2006) นอกจากนี้ยังมีผลทำให้ลดจำนวนครั้งของการถ่าย และปริมาณอุจจาระลดลง (Chittrakarn et al. 2008) การศึกษาผลของสารสกัดเมทานอล ในระดับเซลล์ชนิด rat L8 myotubes พบว่าสารสกัดทำให้การนำกลูโคสกลับเข้าสู่เซลล์เพิ่มมากขึ้น โดยไปเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น glucose transporter ซึ่งอาจใช้สารสกัดจากใบกระท่อมในการควบคุมระดับน้ำตาล (anti-diabetic effect) โดยไม่เกี่ยวข้องกับการทำงานของอินซูลิน (Purintrapiban et al. 2008)

- **ฤทธิ์ต้านอักเสบ (anti-inflammatory effect)**

ในปี 2009 Shaik Mossadeq และคณะ ได้รายงานการศึกษาคุณสมบัติต้านการอักเสบของสารสกัดเมทานอลของกระท่อม โดยฉีดเข้าช่องท้องของหนูขาว ที่เหนียวทำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าหนูด้วย carrageenan (carrageenan-induced paw edema) โดยยับยั้งการอักเสบภายใน 3 ชั่วโมงแรก หลังจากหนูได้รับสารสกัด โดยคาดว่า มีผลยับยั้งการหลั่งสารสื่ออักเสบ ในกระบวนการอักเสบผ่านวิถี arachidonic acid เพิ่มการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และกระตุ้นกระบวนการสลายไขมัน ต่อมา มีรายงานผลของสาร mitragynine ที่มีต่อเซลล์ RAW264.7 macrophage พบว่าสาร mitragynine มีผลยับยั้งการแสดงออกของยีน cyclooxygenase-2 (COX-2) และ prostaglandin E₂ (PGE₂) แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของ COX-1 (Utar et al. 2011)

- **ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย**

สารสกัดใบกระท่อมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ สารสกัดในชั้นน้ำของกระท่อม มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ glutathione transferase (GST) ในหนูขาว โดยเอนไซม์นี้ทำหน้าที่ในการกำจัดพิษออกจากร่างกาย ในการทดลองนี้พบว่าสารสกัดชั้นน้ำมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังมีรายงานฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียชนิด *Salmonella typhi* และ *Bacillus subtilis* อีกด้วย (Parthasarathy et al. 2009)

ตารางที่ 2 ปริมาณเป็นร้อยละของ alkaloid ที่พบในสารสกัดจากใบกระท่อม และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (ที่มา: ดัดแปลงจาก Hassan et al. 2013)

alkaloid	ร้อยละ	การศึกษาฤทธิ์	เอกสารอ้างอิง
mitragynine	66%	Analgesic, antitussive, antidiarrheal, adrenergic, antimalarial	Hooper 1907; Field 1921; Lee et al. 1967; Ponglux et al. 1994
paynantheine	9%	Smooth muscle relaxant	Ponglux et al. 1994
speciogynine	7%	Smooth muscle relaxant	Lee et al. 1967; Shellard 1974; Shellard et al. 1978b; Ponglux et al. 1994
7-hydroxy-mitragynine	2%	Analgesic, antitussive, antidiarrheal	Ponglux et al. 1994
Speciociliatine	1%	Weak opioid agonist	Lee et al. 1967; Ponglux et al. 1994
mitraphylline	<1%	Vasodilator, antihypertensive, muscle relaxant, diuretic,	Seaton et al. 1958; Shellard 1974; Shellard

		antiamnesic, immunostimulant, anti-leukemic	et al. 1978b; Ponglux et al. 1994
isomitraphylline	<1%	Immunostimulant, anti-leukemic	Seaton et al. 1960; Shellard and Phillipson 1966; Ponglux et al. 1994
speciophylline	<1%	Anti-leukemic	Shellard and Philipson 1966; Beckett et al. 1966
rhynchophylline	<1%	Vasodilator, antihypertensive, calcium channel blocker, antiaggregant, anti-inflammatory, antipyretic, anti-arrhythmic, antihelmintic	Seaton 1960; Shellard 1974; Shellard et al. 1978b
isorhynchophylline	<1%	Immunostimulant	Seaton et al.1958; Seaton et al. 1960; Shellard 1974; Shellard et al. 1978b
ajmalicine	<1%	Verecroculant, antiaggregant, anti-adrenergic, sedative, anticobvulsant, smooth musclerelaxant	Beckett et al. 1966
corynantheidine	<1%	Opioid agonist	Takayama et al. 2002
corynoxine A	<1%	Calcium channel blocker, anti-locomotive	Shellard et al. 1978a
corynoxine B	<1%	Anti-locomotive	Shellard et al. 1978a
speciofoline	<1%	Analgesic, antitussive	Hemmingway et al. 1975
ciliaphylline	<1%	Analgesic, antitussive	Trager et al. 1968

- ผลต่อระบบอื่น ๆ

การป้อนสารสกัดมาตรฐานจากกระท่อมให้กับหนูขาว ในขนาด 100, 500 และ 1000 mg/kg มีผลเพิ่มระดับความดันโลหิตสูง ภายใน 1 ชั่วโมง ภายหลังให้สารสกัด (Harizal et al. 2010) นอกจากนี้สารสกัดเมทานอลจากใบกระท่อมมีผลต่อการทำงานของปมประสาท neuromuscular junction ยับยั้งช่องแคลเซียม (Ca^{2+} channel) ทำให้มีคุณสมบัติคลายกล้ามเนื้อ สารสกัด และสาร mitragynine ขนาด 2 mg/ml มีผลยับยั้งการส่งผ่านสัญญาณผ่านเซลล์ประสาท (Chittrakarn et al. 2010)

4. เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) และเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamics)

สาร mitragynine ถูกเปลี่ยนแปลงในร่างกายผ่านกลไก phase I และ phase II โดยเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสตรงหมู่ methyl ester ที่ตำแหน่ง 16 เกิด O-demethylation ตรงหมู่ methoxy ตำแหน่งที่ 9 และ 17 เกิดปฏิกิริยา oxidation และ reduction เปลี่ยนหมู่ aldehyde เป็น carboxylic acid และ alcohol ตามลำดับ จากนั้นเชื่อมต่อกับหมู่ glucuronide และ sulfate แล้วขับออกทางปัสสาวะ

ผู้ที่กินใบกระท่อม ฤทธิ์ของ mitragynine จะออกภายใน 30 นาที ค่า half-life ของสาร mitragynine ประมาณ 3.5 ชั่วโมง ในขณะที่ 7-hydroxymitragynine มีค่า half-life ที่ 2.5 ชั่วโมง การกำจัดสารออกจากร่างกายส่วนใหญ่ผ่านทางปัสสาวะ การทดลองทางคลินิกในอาสาสมัครชายสุขภาพดี จำนวน 10 คน ทำนายรูปแบบเภสัชจลนศาสตร์ ผ่านการกิน mitragynine เป็นแบบ two-compartment model สารจากใบกระท่อมจะออกฤทธิ์สูงสุดใน 2-4 ชั่วโมงแรก และจะหมดฤทธิ์ไปภายใน 5-7 ชั่วโมง การศึกษาค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร mitragynine ในมนุษย์จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กับค่าที่ศึกษาได้ในหนูทดลอง การกินกระท่อมในปริมาณมาก (heavy user) พบอาการไม่พึงประสงค์ ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน เมื่อยล้า ท้องผูก นอนไม่หลับ ปากแห้ง ปัสสาวะบ่อย และผิวหนังคัน (Warner et al. 2016)

สารสกัดเมทานอลจากใบกระท่อม มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมผ่านเอนไซม์ cytochrome P450 โดยยับยั้ง CYP2C9, CYP2D6 และ CYP3A4 (Hanapi et al. 2010) สาร mitragynine ความเข้มข้น 250 ไมโครโมลาร์ มีผลเหนี่ยวนำ (inducer) การทำงานของเอนไซม์ N-demethylase แต่ยับยั้ง (inhibitor) การทำงานของเอนไซม์ glutathione S-transferase ผลการศึกษานี้สรุปว่าสาร mitragynine มีโอกาสทำให้เกิดอันตรกิริยากับยาอื่น (drug interaction) เช่น glibenclamide ที่เป็น N-demethylase inducer เป็นต้น ดังนั้นการใช้

ยาแผนปัจจุบันร่วมกับการใช้พืชกระท่อมในการควบคุมระดับน้ำตาล ต้องอยู่ภายใต้การดูแลของแพทย์ (Anwar et al. 2012) นอกจากนี้มีรายงานผลของสาร mitragynine ต่อ HepG2 cell line พบว่า mitragynine ที่ขนาด 25 μM มีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ CYP1A2 สูงถึง 70% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Lim et al. 2013) จากผลการศึกษาดังกล่าว ทำให้สรุปได้ว่าการใช้พืชกระท่อม ในผู้ป่วยจำเป็นต้องควบคุมและให้อยู่ภายใต้การดูแลของแพทย์

5. พิษวิทยา (Toxicology)

การศึกษาเกี่ยวกับพิษวิทยาของพืชกระท่อม มีรายงานน้อย จนอาจคิดได้ว่าการใช้พืชกระท่อมจะมีความปลอดภัยในระดับหนึ่ง มีรายงานการทดลองในสุนัข ในขนาดยา 920 mg/kg ไม่พบอาการสั่นและชัก ส่วนการทดลองในหนู ทั้งแบบเฉียบพลัน (acute) และกึ่งเรื้อรัง (subchronic) ผลสรุปว่าการใช้สารสกัดเมทานอลกระท่อมทำให้เป็นพิษต่อตับ โดยทุกขนาดยา 100, 500 และ 1000 mg/kg พบการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ตับ ได้แก่ alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), albumin, triglycerides, cholesterol อย่างมีนัยสำคัญ และที่ขนาดสารสกัด 1000 mg/kg ทำให้ระดับ creatinine เพิ่มขึ้น จึงสรุปได้ว่าสารสกัดกระท่อมเป็นพิษต่อตับ และไต (Harizal et al. 2010)

ส่วนการศึกษาพิษของพืชกระท่อมและสาร mitragynine โดยพบว่าผู้ที่ใช้ใบกระท่อมปริมาณมาก และเป็นเวลานาน พบอาการถอนยา เมื่อหยุดการใช้กระท่อม มีรายงานเกี่ยวกับการใช้ใบกระท่อมร่วมกับยาอื่น ๆ อาจเป็นสาเหตุให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์รุนแรงขึ้นหรือส่งผลทำให้เสียชีวิต ยาเหล่านั้นเช่น carisoprodol, monafinil, propylhexedrine, *Datura stramonium*, fentanyl, diphenhydramine, caffeine, morphine และ/หรือ O-desmethyltramadol (krypton) (Werner et al. 2016)

ขอยกตัวอย่างกรณีศึกษารายงานใช้กระท่อมร่วมกับยาแผนปัจจุบัน **กรณีศึกษาที่ 1** ในชายวัย 43 ปี ที่ได้รับ hydromorphone ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อวัน เพื่อรักษาอาการ opioid withdrawal ในช่วงเวลาหนึ่ง พบว่าไม่สามารถหายา hydromorphone ดังกล่าวได้ จึงสั่งซื้อพืชกระท่อมผ่านทางอินเทอร์เน็ต ชงดื่มในรูปแบบชา วันละ 4 ครั้ง ภายหลังจากมีการใช้ร่วมกับยา modafinil ขนาด 100 มิลลิกรัม ทำให้ชายผู้นี้มีอาการชัก (tonic-clonic seizure) ภายหลังจากได้รับยา modafinil เพียง 20 นาที (Boyer et al 2008) **กรณีศึกษาที่ 2** รายงานโดย วิเชียร ตังธนานุวัฒน์ และสมทรง ลาววัลย์ประเสริฐ ในปี 2010 เกี่ยวกับการตายของชายวัย 21

ปี ที่เสพน้ำต้มใบกระท่อม 4 x100 เมื่อตรวจปัสสาวะและเลือด ด้วยวิธี LC-El-TOF-MS (Liquid chromatography-electrospray ionization-time of flight mass spectrometry) ตรวจพบสาร mitragynine, caffeine, diphenhydramine, alprazolam, nortriptyline, methadone, tramadol, methamphetamine และสารเมตาบอไลต์อื่น ๆ ผู้วิจัยได้ตั้งข้อสมมติฐานการตายของชายดังกล่าวเกิดจากความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลาง และภาวะการหายใจล้มเหลว ซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุการเสพยาหลายชนิด รวมถึง น้ำต้มใบกระท่อม 4 x 100 ซึ่งมักจะใช้น้ำต้มใบกระท่อม ร่วมกับเครื่องดื่มจำพวกโคคา โคล่า ยาแก้ไอ และยากล่อมประสาท หรือ ขดยากันยุง (Tungstananuwat and Lawanprasert 2010) และ**กรณีศึกษาที่ 3** การรายงานการตายของชายวัย 17 ปี ที่มีอาการบวมหน้าและน้ำท่วมปอด โดยชายดังกล่าวมีประวัติการเสพยาอื่น และใช้พีชกระท่อมรักษาอาการปวดหลัง ภายหลังจากการตรวจเลือดด้วยวิธี LC-MS พบสาร dextromethorphan (0.28 mg/L), diphenhydramine (0.33 mg/L), temazepam (0.21 mg/L), 7-amino-clonazepam (0.21 mg/L) และ mitragynine (0.60 mg/L) จึงสรุปว่าสาเหตุการตายที่เป็นไปได้ของชายดังกล่าวเป็นผลเนื่องจากพิษของพีชกระท่อม (Neerman et al. 2013)

แม้ว่าการรายงานการเกิดพิษที่สาเหตุจากพีชกระท่อมยังมีน้อยและขาดการบันทึกที่ถูกต้อง แต่ก็สามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่า ยังไม่มีรายงานการตายของผู้ที่กินพีชกระท่อมเพียงอย่างเดียว ส่วนใหญ่เกิดจากการใช้ยาออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทร่วมกันหลาย ๆ ตัว จนทำให้การทำงานของสมอง หัวใจ ล้มเหลว ดังนั้นการบันทึกข้อมูลจึงเป็นประเด็นสำคัญ เพื่อนำไปสู่การป้องกัน ป้องปราม และเป็นแนวทางในการจัดการกับพีชกระท่อมให้ถูกหลักวิชาการต่อไป

6. การตรวจพีชกระท่อม และวิธีการวิเคราะห์สาร mitragynine (Kratom authentication and mitragynine analysis)

การตรวจพีชกระท่อม ที่มีรายงานสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การตรวจลักษณะภายนอก (macroscopic examination) ดูรูปร่างของใบ หูใบ แต่ถ้าอยู่ในรูปผงยาสามารถตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) โดยจะพบองค์ประกอบที่เป็นส่วนของใบเช่น palisade parenchyma, spongy parenchyma, epidermis, paracytic stomata, non-glandular trichome, prism crystal เป็นต้น (Kowalczyk et al. 2013) นอกจากนี้สามารถสกัดสารจากผงยาดังกล่าว เพื่อนำมาตรวจสอบหาสาร mitragynine ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี ได้แก่ วิธีรังคเลขฉิวบาง หรือ thin layer chromatography, high-

performance liquid chromatography (HPLC เป็นต้น) นอกจากนี้อาจใช้เทคนิคทางโมเลกุล ใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (PCR-RFLP) มาแยกแยะกระท่อมออกจากพืชสกุล *Mitragyna* spp. อื่นๆ (Sukrong et al. 2007)

ในปัจจุบันมีรายงานการพัฒนาวิธีวิเคราะห์พืชกระท่อมทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ วิธีโครมาโตกราฟีเป็นเทคนิคที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย โดยการใช้สาร mitragynine เป็น marker การวิเคราะห์ทำได้ในตัวอย่างหลายชนิด เช่น ตัวอย่างพืชกระท่อม ผลิตภัณฑ์ที่มีพืชกระท่อมเป็นส่วนประกอบ รวมถึงการวิเคราะห์หาสาร mitragynine และสารเมตาบอไลต์ในเลือดและปัสสาวะ เทคนิคที่มีการรายงานได้แก่ high performance liquid chromatography (HPLC) ร่วมกับเครื่องตรวจวัดชนิดต่างๆ เช่น UV, diode array detector (DAD) และ MS (Janchawee et al., 2007; de Moraes et al., 2009; Kikura-Hanajiri et al., 2009; Lu et al., 2009; Pathasarathy et al., 2010; Chittrakarn et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีการใช้ gas chromatography (GC) ร่วมกับเครื่องตรวจวัดมวลโมเลกุล (MS detector) (Chan et al., 2005) การใช้ supercritical fluid chromatography ร่วมกับ DAD (Wang et al., 2014) และเทคนิค direct analysis in real time ร่วมกับ MS spectrometry (DART-MS) สำหรับตรวจสอบพืชกระท่อมในเชิงคุณภาพ วิธีการเหล่านี้เป็นวิธีที่มีความไวสูง สามารถวิเคราะห์ได้ในระดับไมโครกรัม (μg) จนถึงนาโนกรัม (ng) นอกจากนี้วิธีโครมาโตกราฟีแล้ว มีรายงานการวิเคราะห์สาร mitragynine ในพืชกระท่อมด้วยเทคนิค enzyme linked-immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ในระดับไมโครกรัม (μg) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 รายงานวิธีการวิเคราะห์พืชกระท่อม

เทคนิค	แอลคาลอยด์	ชนิดตัวอย่าง	ความไวการวิเคราะห์	อ้างอิง
HPLC-UV	mitragynine	rat serum	LOD: 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LOQ: 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Janchawee et al., 2007
	mitragynine	rat plasma	LOD: 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LOQ: 0.050 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Parthasarathy et al., 2010
HPLC- DAD	mitragynine	kratom cocktail	LOD: 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LOQ: 3.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Chittrakarn et al., 2012

	mitragynine	kratom plant	LOD 0.25 µg/mL LOQ: 0.50 µg/mL	Parthasarathy et al., 2013
LC-MS	mitragynine, 7-hydroxy- mitragynine	kratom plant kratom commercial products	Linearity: 1.0-10.0 µg/mL Linearity: 0.01-1 µg/mL	Kikura-Hanajiri et al., 2009
LC-MS- MS	mitragynine	human urine	LOD: 0.02 ng/mL LOQ: 0.1 ng/mL	Lu et al., 2009
	mitragynine	rat plasma	LOQ: 0.2 ng/mL	de Moraes et al., 2009
	mitragynine	human urine	LOD: 2 ng/mL LOQ: 50 ng/mL	Arndt et al., 2011
GC-MS	mitragynine	kratom plant	-	Chan et al., 2005
	mitragynine, paynantheine, speciogynine, speciociliatine	rat plasma and urine	LOD: 100 ng/mL	Philipp et al., 2011
ELISA	mitragynine	Kratom plant	LOD: 32.5 µg/mL LOQ: 32.9 µg/mL	Limsuwanchote et al., 2014

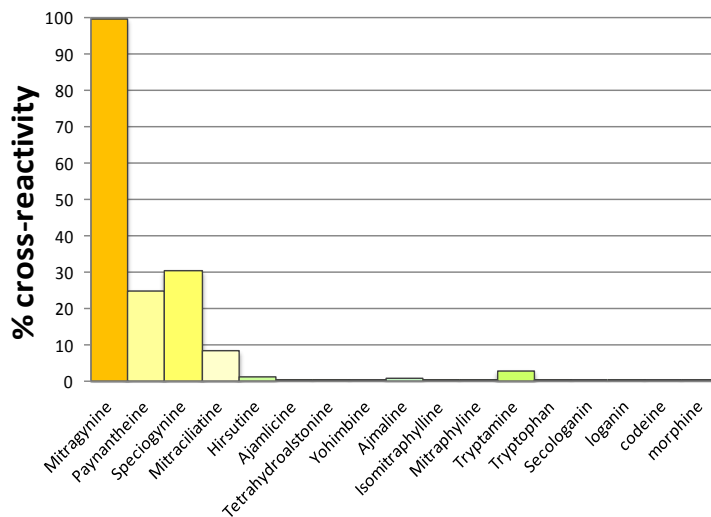
LOD: limit of detection, LOQ: limit of quantification

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้พัฒนาชุดทดสอบน้ำต้มใบกระท่อม โดยในชุดดังกล่าวจะประกอบด้วย 7 ขั้นตอน ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ กรองผ่านชุดกรอง จากนั้นนำของเหลวที่

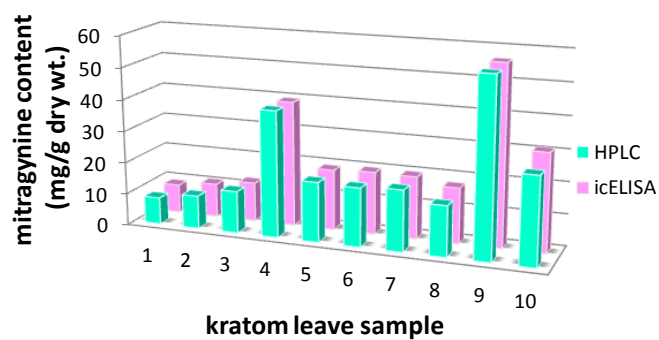
ผ่านชุดกรองมาระเหยในจานหลุม และเติมน้ำยาทดสอบสีเหลือง ผลบวกต่อ mitragynine จะให้ตะกอนสีน้ำเงิน โดยชุดทดสอบนี้จะเป็นการทดสอบแบบปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งจะมีข้อจำกัด โดยอาจไม่จำเพาะ เกิดผลบวกข้ามกลุ่มกับแอลคาลอยด์ชนิดอื่น ๆ

อย่างไรก็ตามวิธีโครมาโตกราฟียังคงเป็นวิธีการที่นิยม และมีความแม่นยำ แต่ข้อจำกัดของเทคนิคดังกล่าว จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีความซับซ้อน การวิเคราะห์มีค่าใช้จ่ายสูง นอกจากนี้ ลักษณะตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์ ตัวอย่างจำเป็นต้องผ่านการกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกให้มากที่สุด เพื่อลดการรบกวนสัญญาณที่จะเกิดขึ้นในระหว่างการแยกบนคอลัมน์ จึงเป็นที่น่าสนใจ ที่จะพัฒนาเทคนิคอื่น ๆ ที่สามารถตรวจวิเคราะห์สาร mitragynine อย่างจำเพาะเจาะจง การตรวจวัดระดับสาร mitragynine ยังสามารถใช้เทคนิคอิมมูโนวิทยา หรือ หลักการวิเคราะห์แบบ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) มาใช้ได้ และเมื่อเทียบกับวิธีวิเคราะห์แบบ HPLC พบว่าเทคนิค ELISA สามารถนำมาวิเคราะห์ปริมาณสาร ได้เช่นเดียวกับ HPLC เป็นวิธีการที่มีความแม่นยำสูง เนื่องจากความสามารถในการจับกับสารได้อย่างจำเพาะเจาะจงและสามารถทำการวิเคราะห์ได้จำนวนมาก มีความสะดวกและรวดเร็ว

งานวิจัยของสุพัตรา และคณะ (2014) ประสบผลสำเร็จในการเตรียมสารภูมิต้านทานชนิด monoclonal antibody ต่อสาร mitragynine เมื่อใช้เทคนิคที่กล่าวข้างต้น และเมื่อตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง (cross reactivity) ของสารภูมิต้านทานนี้ต่อสารอื่น ๆ ที่พบในกระท่อม และสารอื่น ที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกัน พบว่าสารภูมิต้านทานที่ได้พัฒนาขึ้นมานี้ มีความจำเพาะเจาะจงกับแอลคาลอยด์ที่พบในกระท่อม ได้แก่ mitragynine, paynantheine, speciogynine, mitraciliatine, hirsutine ตามลำดับ ในขณะที่สารอื่น ๆ กว่า 12 ชนิด ไม่ให้ผลการทดสอบ แสดงให้เห็นว่า “สารภูมิต้านทาน” ที่ผลิตขึ้นมีความจำเพาะกับพืชกระท่อม (รูปที่ 5) และเมื่อนำมาใช้ตรวจหาปริมาณแอลคาลอยด์ในกระท่อม พบว่าการตรวจ mitragynine ในตัวอย่างกระท่อมด้วยวิธี ELISA สามารถใช้วิเคราะห์แอลคาลอยด์จากกระท่อม โดยมีความถูกต้อง แม่นยำ เช่นเดียวกับเทคนิค HPLC งานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นว่าสารภูมิต้านทาน (antibody) ต่อ mitragynine ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจตัวอย่างเบื้องต้น เนื่องจากเป็นวิธีการที่สามารถตรวจได้อย่างรวดเร็ว และสามารถทำในคราวเดียวหลายๆ ตัวอย่าง การใช้เทคนิค ELISA จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้ในการตรวจวัตถุพยาน ที่มีกระท่อมเป็นส่วนประกอบได้ในอนาคต



รูปที่ 5 แผนภูมิแสดงความสามารถของสารภูมิต้านทานต่อมิตรากัยนีนในการจดจำสารอื่นๆ



รูปที่ 6 ปริมาณสาร mitragynine ในระท่อมจาก 10 แหล่ง เปรียบเทียบระหว่างวิธี ELISA และวิธี HPLC

3.3 บทสรุป

พืชกระท่อม หรือ *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil. เป็นพืชที่มีสารออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท โดยเฉพาะระบบประสาทส่วนกลาง โดยพบ mitragynine เป็นสารหลัก และพบมากในใบกระท่อม สาร mitragynine สามารถจับได้กับตัวรับออปิออยด์ จึงมีคุณสมบัติใช้เป็นยาแก้ปวดในกลุ่ม opioid analgesic นอกจากนี้ยังใช้ลดอาการท้องเสีย ต้านการซึมเศร้า ลดการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร และเพิ่มการดูดกลับของน้ำตาลกลูโคส เป็นต้น และเนื่องจากพืชกระท่อมในประเทศไทยถูกจัดอยู่ในยาเสพติดให้โทษประเภท 5 ทำให้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับพืชกระท่อมน้อยมาก ทั้งในแง่ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา พิษวิทยา และการพัฒนาให้เป็นยารักษาโรค แม้ทางภาคใต้ของไทยจะมีผู้ใช้ใบกระท่อมเป็นจำนวนมาก ผนวกเข้ากับบริบทของสังคมและวัฒนธรรมก็ตาม ก็ยังมีการใช้ใบกระท่อมในทางที่ผิด และมีการใช้ร่วมกับยาแผนปัจจุบันอื่น ๆ จนทำให้เกิดปัญหาสังคม และอาชญากรรม ดังนั้นการจัดการพืชกระท่อมจึงจำเป็นต้องอาศัยองค์ความรู้ในด้านต่าง ๆ มาผนวกเพื่อให้มีการใช้พืชกระท่อมให้ได้ประโยชน์สูงสุด จึงเป็นโจทย์ที่ทำนายสำหรับกระทรวงยุติธรรม และกระทรวงสาธารณสุข ที่จะกำหนดแนวทางให้พืชกระท่อม ที่เป็นพืชถิ่นของประเทศไทย ได้มี “ที่ยืน” อย่างถูกกฎหมาย ไม่ถูกนำมาเป็นเครื่องมือไปใช้ในทางที่ผิดต่อไป

3.4 เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

สาวิตรี อัจฉางค์กรชัย ดาริกา ไสงาม สมสมร ชิตตระการ อาภา ศิริวงศ์ ณ อยุธยา และ จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. 2558. บทสรุปของพืชกระท่อม. สาวิตรี อัจฉางค์กรชัย บรรณาธิการ. หน่วยระบาดวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. พิมพ์ครั้งที่ 1, กรุงเทพฯ: จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์ จำกัด.

สาวิตรี อัจฉางค์กรชัย และ อาภา ศิริวงศ์ ณ อยุธยา, บรรณาธิการ. 2548. พืชกระท่อมในสังคมไทย. สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด กระทรวงยุติธรรม, กรุงเทพฯ: บางกอกบลู๊อก.

อาภา ศิริวงศ์ ณ อยุธยา ช่อลดา พันธุ์เสนา รัตนา จารุเบญจ นิโบล สัตยานุรักษ์ ศยามล เจริญรัตน์ และ
อัมพร ไกรเพชร. 2549. กระท่อม พืชเสพติดหรือสมุนไพร. หน่วยวิจัยสารเสพติดและผลกระทบทาง
สังคม สถาบันวิจัยสังคม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. 2554. พืชออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท. ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะ
เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา: นีโอพ้อยท์.

เต็ม สมิตินันท์. 2557. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม. กรมป่าไม้. หน้า 383.

สำนักยุทธศาสตร์ สำนักงานคณะกรรมการปราบปรามยาเสพติด กระทรวงยุติธรรม. 2555. สถานการณ์พืช
กระท่อม ปี 2555.

ภาษาอังกฤษ

Anwar R., Hussin A. H., Isamail S., Mansor S.M. 2012. *In vitro* effect of mitragynine of drug
metabolizing enzymes, N-demethylase and glutathione S-transferase in streptozotocin-
induced diabetic rats. *Pharmacol. Online Archives* 1: 68-75.

Apryani, E., Hidayat, M.T., Moklas, M.A.A., Fakurazi, S., Idayu, N.F. 2010. Effects of mitragynine
from *Mitragyna speciosa* Korth. leaves on working memory. *J. Ethnopharmacol.* 129:357-
360.

Assanangkornchai, S., Aramratana, A., Sam-Angsri, N., Pattanasattayawong, U. 2007. The use of
Mitragyna speciosa (krathom), an addictive plant, in Thailand. *Substance Use and Misuse*
42:2145-2157.

Arens, H., Stöckigt, J., Weiler, E.W. and Zenk, M.H. 1978. Radioimmunoassays for the
determination the indole alkaloids ajmalicine and serpentine in plants. *Planta Med.* 34,
37-46.

Arndt, T., Claussen, U., Güssregen, B., Schöfel, S., Strürzer, B., Werle, A., Wolf, G et al., 2011.
Kratom alkaloids and *O*-desmethyltramadol in urine of a krypton herbal mixture
consumer. *Forensic Sci. Int.* 2008:47-52.

- Beckett, A.H. Shellard, E.J., Phillipson, J.D. and Lee, C.M. 1966a. The *Mitragyna* species of Asia Part VI. Oxindole alkaloids from the leaves of *Mitragyna speciosa* Korth. *Planta Med.* 14, 266-276.
- Beckett, A.H. Shellard, E.J., Phillipson, J.D. and Lee, C.M. 1966b. The *Mitragyna* species of Asia Part VII. Indole alkaloids from the leaves of *Mitragyna speciosa* Korth. *Planta Med.* 14, 277-288.
- Boyer, E.W., Babu, K.M., Adkins, J.E., McCurdy, C.R. 2008. Self-treatment of opioid withdrawal using kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.). *Addiction.* 103:1048-1050.
- Butler, M. 2004. Hybridoma-sources of antibodies. In: *Animal cell culture and technology*, 2nd edition, BIOS Scientific Publisher, London, pp. 135-153.
- Chan, K.B., Pakiam, C. and Rahim, R.A. 2005. Psychoactive plant abuse: the identification of mitragynine in ketum and in ketum preparations. *Bull. Narcotics* 57, 249-256.
- Charoonatana, T. 2012. Mitragynine biosynthesis in *Mitragyna speciosa*: cDNA cloning, protein expression and genetic transformation of tryptophan decarboxylase. Prince of Songkla University, Thailand.
- Chittrakarn, S., Sawangjaroen, K., Prasettho, S., Janchawee, B. and Keawpradub, N. 2008. Inhibitory effects of kratom leaf extract (*Mitragyna speciosa* Korth.) on the rat gastrointestinal tract. *J. Ethnopharmacol.* 116(1), 173-178.
- Chittrakarn, S., Keawpradub, N., Sawangjaroen, K., Kansanalak, S., Janchawee, B. 2010. The neuromuscular blockade produced by pure alkaloid, mitragynine and methanol extract of kratom leaves (*Mitragyna speciosa* Korth.). *J. Ethnopharmacol.* 129:344-349.
- Chittrakarn, S., Penjamras, P., Keawpradub, N. 2012. Quantitative analysis of mitragynine, codeine, caffeine, chlorpheniramine and phenylephrine in a kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.). *Forensic Sci. Int.* 217:81-86.

- Cibotti, M., C., Freier, C., Andrieux, J., Plat, M., Cosson, L., Bohuon, C. 1990. Monoclonal antibodies to bis-indole alkaloids of *Catharanthus roseus* and their use in enzyme-linked immune-sorbent-assays. *Phytochemistry* 29(7), 2109-2114.
- de Mores, N.V., Moretti, R.A.C., Fur III, E.B., McCurdy, C.R. and Lanchote, V.L., 2009. Determination of mitragynine in rat plasma by LC- MS/ MS: application to pharmacokinetics. *J. Chromatograph. B*, 877:2593-2597.
- Farah Idayu, N., Taufik Hidayat, M., Moklas, M.A.M., Sharida, F., Nurul Raudzah, A.R., Shamina, A.R., Apriyani, E. 2011. Antidepressant-like effect of mitragynine isolated from *Mitragyna speciosa* Korth in mice model of depressant. *Phytomedicine* 18(5):402-407.
- Field, E.J. 1921. Mitragynine and mitraversine, two new alkaloids from species of *Mitragyna*. *Transaction of the Chemical Society* 119, 887-891.
- Goding, J.W. 1986. Production of monoclonal antibodies. In: *Monoclonal antibodies: principles and practice*, 2nd edition, Academic Press, London, pp. 59-96.
- Grewal, K.S. 1932a. Observations on the pharmacology of mitragynine. *American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 46(3):251-271.
- Grewal, K.S. 1932b. The effect of mitragynine on man. *British J. Med. Psychol.* 12:41-58.
- Hanapi, N.A., Azizi, J., Ismail, S., Mansor, S.M. 2010. Evaluation of selected Malaysian medicinal plants on phase I drug metabolizing enzymes, CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4 activities in vitro. *Int. J. Pharmacol.* 6:494-499.
- Harizal, S.N., Mansor, S.M., Hasnan, J., Tharakan, J.K.J., Abdillah, J. 2010. Acute toxicity study of the standardized methanolic extract of *Mitragyna speciosa* Korth. in rodent. *J. Ethnopharmacol.* 131(2):404-409.
- 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. 2013. From kratom to mitragynine and its behavioral effects related to use, abuse, and addiction. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 37(2):138-151.

- Hemingway, S. R. , Houghton, P. J. , Phillipson, J. D. and Shellard, E. J. 1974. 9-hydroxyrhynchophylline-type oxindole alkaloids. *Phytochemistry*. 14, 557-563.
- Hemmingway, S., Houghton, P.J., Philipson, J.D., Shellard, E.J. 1975. 9-Hydroxyrhynchophylline-type oxindole alkaloids. *Phytochemistry* 14(2):557-563.
- Hinou, J. and Harvala, C. 1988. Polyphenolic compounds from the leaves of *Mitragyna speciosa*. *Fitoterapia* 59, 156.
- Hooper D. 1907. The anti-opium leaf. *Pharmaceutical Journal* 78, 453.
- Horie, S., Kitajima, M., Matsumoto, K., Takayama, H. 2012. Indole alkaloid derivatives having opioid receptor agonistic effect, and therapeutic compositions and methods relating to same. US patent: US 8247428 B2.
- Houghton, P.J. and Said, I.M., 1986. 3-Dehydromitragynine: an alkaloid from *Mitragyna speciosa*. *Phytochemistry*, 25:2910-2912.
- Houghton, P.J. and Shellard, E.J. 1974. The alkaloidal pattern in *Mitragyna rotundifolia* from Burma. *Planta med.* 26, 104-112.
- Houghton, P. J. , Latiff, A. and Said, I. M. , 1991. Alkaloids from *Mitragyna speciosa*. *Phytochemistry*, 30:347-350.
- Janchawee, B. , Keawpradub, N. , Chittrakarn, S. , Prasettho, S. , Wararatananurak, P. and Sawangjareon, K. , 2007. A high-performance liquid chromatographic method for determination of mitragynine in serum and its application to a pharmacokinetic study in rats. *Biomed. Chromatograph*. 21:176-183.
- Jansen, K., Prast, C.J. 1988. Ethnopharmacology of kratom and the *Mitragyna* alkaloids. *J. Ethnopharmacol.* 23(1):115-119.
- Jumali, S.S., Said, I.M., Baharum, S.N., Ismail, I., Rahman, Z.A. and Zainal, Z. 2011b. Molecular cloning and characterization of strictosidine synthase, a key gene in biosynthesis of mitragynine from *Mitragyna speciosa*. *Afr. J. Biotechnol.* 10(68), 15238-15244.

- Kido, K., Edakuni, K., Morinaga, O., Tanaka, H., Shoyama, Y. 2008. An enzyme-linked immunosorbent assay for aconitine-type alkaloids using an anti-aconitine monoclonal antibody. *Anal. Chim. Acta* 616(1):109-114.
- Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Maruyama, T., Kitajima, M., Takayama, H., Goda, Y. 2009. Simultaneous analysis of mitragynine, 7-hydroxymitragynine, and other alkaloids in the psychotropic plant 'kratom' (*Mitragyna speciosa*) by LC-ESI-MS. *Forensic Toxicol.* 27(2):67-74.
- Kim, J.S., Tanaka, H., Shoyama, Y. 2004. Immunoquantitative analysis for berberine and its related compounds using monoclonal antibodies in herbal medicines. *Analyst* 129(1):87-91.
- Kitajima, M., Misawa, K., Kogure, N., Said, I.M., Horie, S., Hatori, Y., Murayama, T., Takayama, H. 2006. A new indole alkaloid, 7-hydroxyspeciociliatine, from the fruits of Malaysian *Mitragyna speciosa* and its agonistic activity. *J. Nat. Res.* 60:28-35.
- Kowalczyk, A.P., Lozak, A., Zjawiony, J.K. 2013. Comprehensive methodology for identification of kratom in police laboratories. *Forensic Sci. Int.* 233:238-243.
- Kruegel, A.C., Gassaway, M.M., Kapoor, A., Varadi, A., Majumdar, S., Filizola, M., Javitch, J.A., Sames, D. 2016. Synthetic and receptor signaling explorations of the *Mitragyna* alkaloids: mitragynine as an atypical molecular framework of opioid receptor modulators. *J. Am. Chem. Soc.* 138(21):6754-6764.
- Kumarnsit, E., Keawpradub, N. and Nuankaew, W. 2006. Acute and long-term effects of alkaloid extract of *Mitragyna speciosa* on food and water intake and body weight in rats. *Fitoterapia.* 77, 339-345.
- Lee, C.M., Trager, W.F., Beckett, A.H. 1967. Corynantheidine-type alkaloids-II: absolute configuration of mitragynine, speciociliatine, mitraciliatine and speciogynine. *Tetrahedron* 23(1):375-385.

- Lim, E.L., Seah, T.C., Koe, X.F., Abdul Wahab, H., Adenan, M.I., Jamil, M.F.A., Abdul Majid, M.I., Tan, M.L. 2013. In vitro evaluation of cytochrome P450 induction and the inhibition potential of mitragynine, a stimulant alkaloid. *Toxicol. In Vitro* 27:812-824.
- Limsuwanchote, S., Wungsintaweeikul, J., Keawpradub, N., Putalun W, Morimoto, S, Tanaka, H., 2014. Development of indirect competitive ELISA for quantification of mitragynine in kratom (*Mitragyna speciosa* (Roxb.)Korth. *Forensic Sci. Int.* 244:70-77.
- Liu, H., McCurdy, C.R. and Doerksen, R.J. 2010. Computational study on the conformations of mitragynine and mitragynaline. *Theochem.* 15, 57-63.
- Lu, S., Tran, B.N., Nelsen, J. and Aldous, K.M., 2009. Quantitative analysis of mitragynine in human urine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatograph. B*, 877: 2499-2505.
- Ma, J., Yin, W., Zhao, H., Liao, X., Cook, J.M. 2009. General approach to the total synthesis of 9-methoxy-substituted indole alkaloids: synthesis of mitragynine as well as 9-methoxygeissoschizol and 9-methoxy-N (□)-methylgeissoschizol. *J. Org. Chem.* 74:264-273.
- Matsumoto, K., Mizowski, M., Suchitra, T., Takayama, H., Sakai, S. I., Aimi, N. 1996. Antinociceptive action of mitragynine in mice: evidence for the involvement of supraspinal opioid receptors. *Life Sci.* 59(14):1149-1455.
- NAPRALERT database; University of Illinois at Chicago; <https://www.napralert.org>; Accessed 2008-August-1.
- Neerman, M.F., Frost, R.E., Deking, J. 2013. A drug fatality involving kratom. *J. Forensic Sci.* 58(S1): S278-S279.
- Orio, L., Alexandru, L., Cravotto, G., Mantegna, S. and Barge, A. 2012. UAE, MAE, SFE-CO₂ and classical methods for extraction of *Mitragyna speciosa* leaves. *Ultrasonics Sonochemistry.* 19, 591-595.

- Parthasarathy, S., Bin Azizi, J., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S., Said, M.I. 2009. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae Family) leaves. *Molecules. Mol. Divers. Preserv. Int.* 14(10):3964-3974.
- Parthasarathy, S., Ramanathan, S., Ismail, S., Adenan, M.I., Mansor S.M. and Murugaiyah, V. 2010. Determination of mitragynine in plasma with solid-phase extraction and rapid HPLC-UV analysis, and its application to a pharmacokinetic study in rat. *Anal. Bioanal. Chem.* 397(5), 2023-2030.
- Parthasarathy, S., Ramanathan, S., Murugaiyah, V., Hamdan, M.R., Said, M.I.M., Lai, Ch. S., Mansor, S.M. 2013. A simple HPLC-DAD method for the detection of psychotropic mitragynine in *Mitragyna speciosa* (ketum) and its products for the application in forensic investigation. *Forensic Sci. Int.* 266:183-187.
- Philipp, A.A., Meyer, M.R., Wissenbach, D.K., Weber, A.A., Zoerntlein, S.W., Zweipfennig, P.G.M., Maurer, H.H. 2011. Monitoring of kratom or krypton intake in urine using GC-MS in clinical and forensic toxicology. *Anal. Bioanal. Chem.* 400:127-135.
- Phillipson, J.D., Tantivatana, P., Tarpo, E. and Shellard, E.J. 1973. Hirsuteine and Mitrajavine from *Mitragyna hirsuta*. *Phytochemistry* 12, 1507-2048.
- Phongprueksapattana, S. 2007. Induction of *Agrobacterium rhizogenes* Transformed Hairy Root cultures from *Mitragyna speciosa* (Roxb.) Korth. Ms.C Thesis, Prince of Songkla University, Thailand.
- Ponglux, D., Wongseripipatana, S., Takayama, H., Kukuchi, M., Kukihara, M., Kitayama, M., Aimi, N. and Sakai, S., 1994. A new indole alkaloid, 7 alpha-hydroxy-7H-mitragynine, from *Mitragyna speciosa* in Thailand. *Planta Med.* 60:580-581.
- Purintrapiban, J., Keawpradub, N., Kansanalak, S. Chittrakarn, S., Janchawee, B., Sawanjaroen, K. 2008. Study on glucose transport in muscle cells by extracts from *Mitragyna speciosa* (Korth.) and mitragynine. *Nat.Prod.Res.* 1:1-9.

- Rueffer, M. , Naotaka, N. , Zenk, M. H. 1978. Strictosidine, the common precursor for monoterpenoid indole alkaloids with 3 α and 2 β configuration. *Tetrahedron Lett.* . 18, 1593-1596.
- Said, I.M., Chun, N.C. and Houghton, P.J. 1991. Ursolic acid from *Mitragyna speciosa*. *Planta Med.* 57, 398.
- Seaton, J.C., Tondeur, R., Marion, L. 1958. The structure of mitraphylline. *Can. J. Chem.* 36(7):1031-1038.
- Seaton, J.C., Nair, M.D., Edwards, O.E., Marion, L. 1960. The structure and stereoisomerism of three mitragyna alkaloids. *Can. J. Chem.* 38(7):1035-1042.
- Senik, M.H., Mansor, S.M., John Thrakan, K.J., Abdullah, J.M. 2012. Effect of acute administration of *Mitragyna speciosa* Korth. standardized methanol extract in animal model of learning and memory. *J. Med. Res.* 6(6):1007-1014.
- Shellard, E.J. 1974. The alkaloids of *Mitragyna* with special reference to those of *Mitragyna speciosa*. *Bull. Narc.* 26(2):41-55.
- Shellard, E.J., Philipson, J.D. 1966. The optical rotation of mitraphylline. *Tetrahedron Lett.* 11:1113-1115.
- Shellard, E.J., Houghton, P.J. and Resha, M. 1978a. The *Mitragyna* species of Asia Part XXXI. The alkaloids of *Mitragyna speciosa* Korth. from Thailand. *Planta Med.* 34, 26-36.
- Shellard, E.J., Houghton, P.J. and Resha, M. 1978b. The *Mitragyna* species of Asia Part XXXII. The distribution of alkaloids in young plants of *Mitragyna speciosa* Korth. Grow from seed obtained from Thailand. *Planta Med.* 34, 253-263.
- Sukrong, S., Zhu, S., Runngrungsi, N., Phadungcharoen, T., Palanuvej, C., Komatsu, K. 2007. Molecular analysis of the genus *Mitragyna* existing in Thailand based on rDNA ITS sequences and its application to identify a narcotic species: *Mitragyna speciosa*. *Biol.Pharm.Bull.* 30(7):1284-1288.

- Suwanlert, S. 1975. A study of kratom eaters in Thailand. *Bull.Narc.* 27(3):21-27.
- Takayama, H., Maeda, M., Ohbayashi, S., Kitajima, M., Sakai, S.I., Aimi, N. 1995. The first total synthesis of (-)-mitragynine, an analgesic indole alkaloid in *Mitragyna speciosa*. *Tetrahedron Lett.* 36(51):9337-9340.
- Takayama, H., Kurihara, M., Kitajima, M., Said, I.M., and Aimi, N. 1998. Alkaloids from the leaves of Malaysian *Mitragyna speciosa*. *Tetrahedron* 54(29), 8433-8440.
- Takayama, H. 2004. Chemistry and Pharmacology of analgesic indole alkaloids from the Rubiaceae plant, *Mitragyna speciosa*. *Chem. Pharm. Bull.* 52, 916-928.
- Takayama, H. , Mariko, K. , Syunji, H. and Kenjiro, M. 2009. Opioid analgesic agent. PCT/JP2008/071689. WO/2009/069764.
- Takayama, H., Ishikawa, H., Kurihara, M., Kitajima, M., Aimi, N., Ponglux, D. 2002. Studies on the synthesis and opioid agonistic activities of mitragynine-related indole alkaloids: discovery of opioid agonists structurally different from other opioid ligands. *J. Med. Chem.* 45(9):1949-1956.
- Thongpraditchote, S. , Matsumoto, K. Tohda, M. Takayama, H. , Aimi, N. , Sakai, S. 1998. Identification of opioid receptor subtypes in antinociceptive actions of supraspinally-administered mitragynine in mice. *Life Sci.* 62(16):1371-1378.
- Trager, W.F., Lee, C.M., Phillipson, J.D., Haddock, R.E., Dwuma-Badu, D. and Beckett A.H. 1968. Configurational analysis of rhynchophylline-type oxindole alkaloids. *Tetrahedron.* 24, 523-543.
- Tsuchiya, S. , Miyashita, S. , Yamamoto, M. , Horie, S. , Sakai, S.I. , Aimi, N. 2002. Effect of mitragynine, derived from Thai folk medicine, on gastric acid secretion through opioid receptor in anesthetized rats. *Eur. J.Pharmacol.* 443:185-188.
- Tungtanuwat, W., Lawanprasert, S. 2010. Fatal 4 x100; home-made kratom juice cocktail. *J. Health Res.* 24(1): 43-47.

- Utar, Z., Majid, M.I., Adenan, M.I., Jamil, M.F., Lan, T.M. 2011. Mitragynine inhibits the COX-2 mRNA expression and prostaglandin E₂ production induced by lipopolysaccharide in RAW264.7 macrophage cells. *J. Ethnopharmacol.* 136:75–82.
- Wang, M., Carrell, E.J., Ali, Z. 2014. Comparison of three chromatographic techniques for the detection of mitragynine and other indole and oxindole alkaloids in *Mitragyna speciosa* (kratom) plants. *J. Sep. Sci.* 37:1411-1418.
- Warner, M.L., Kaufman, N.C, Grundmann, O. 2016. The pharmacology and toxicology of kratom: from traditional herb to drug of abuse. *Int.J. Legal Med.* 130(1):127-138.
- Watanabe, K., Yano, S., Horie, S. and Yamamoto, L.T. 1997. 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 Sci.* 60, 933-942.
- Zacharias, D.E., Rosenstein, R.D., Jeffrey, E.A. 1965. The structure of mitragynine hydroiodide. *Acta Crystallographica* 18(6):1039-1043.
- Zaremba, J.E., Douglas, B., Valenta, J., Weisback, J.A. 1974. Metabolites of mitragynine. *J. Pharmaceutic. Sci.* 63:1409-1415.