

SYNEFRIN SOM KOSTTILLSKOTT

ÖVERSIKT AV FARMAKOLOGISKA OCH TOXIKOLOGISKA EFFEKTER AV SYNEFRIN (JÄMVÄL SYNEFRIN/KOFFEIN) SAMT RISK- OCH NYTTÖVÄRDERING AV SYNEFRIN I KOSTTILLSKOTT

Ulf Hammerling

RN-avdelningen, Livsmedelsverket

2012-04-17

Innehållsförteckning

Bakgrund	3
Kortfattad översikt av farmakologiska bakgrundsfakta med relevans för riskvärdering av synefrin.....	5
Dokumentation av två övriga i sammanhanget relevanta substanser.....	9
Receptor-inriktade studier av synefrin	10
Preklinisk toxicitet av synefrin.....	12
Kliniska studier av synefrin-innehållande formuleringar.....	13
Kliniska rapporter rörande patologiska episoder med förmodad anknytning till synefrin-innehållande preparat	15
Sammanfattning och diskussion.....	16
Konklusion	19
Litteratur.....	20
Tabell 1.....	24

BAKGRUND

SYMPATOMIMETIKA I SPORTAKTIVITETER OCH FÖR VIKTMINSKNING

Substanser med sympatomimetisk effekt har lång tradition inom bl a amatörsport samt som viktminsknings-preparat. Inom professionell idrott är sådan konsumtion kanske ännu mer välkänd, men å andra sidan strikt reglerad och övervakad via *World Anti-Doping Agency* (WADA) ¹. Ett flertal tidigare oreglerade preparat, däribland amfetamin och dito struktur-analoger, har sedan decennier fasats ut från den oreglerade marknaden (*over-the-counter*; OTC), emedan andra har dröjt sig kvar under längre tid. Ett exempel på sistnämnda kategori är preparat innehållande extrakt från *Ephedra*-växter alternativt renframställt efedrin, ofta i kombination med andra substanser såsom t ex koffein. Alarmerande rapporter rörande kardiovaskulära episoder som kunde sättas i samband med konsumtion av efedrin-preparat, inte sällan med kvarstående skada eller t.o.m. dödsfall som följd, föranledde dock myndigheter i bl a Sverige och USA att slutligen belägga efedrin-innehållande formuleringar med saluförbud, år 2005 respektive år 2004, inom den fritt tillgängliga marknaden ^{2,3}. Förutom ovan nämnda observationer finns dessutom god vetenskaplig grund till denna restriktion, nämligen efedrinets väldokumenterade inverkan på adrenerga receptorer i hjärtvävnad och i blodkärl.

Sedan den tiden har preparat innehållande extrakt från pomerans (*Citrus aurantium*) alternativt renframställd huvudkomponent i sådana extrakt - synefrin - etablerat sig på OTC-marknaden och har, särskilt i kombination med ganska högt innehåll av koffein, en med tidigare efedrin-preparat överlag ekvivalent användning. En rad studier på skilda experimentella nivåer dokumenterar synefrinets adrenerga farmakologi, men substansen förefaller besitta svagare inverkan relativt dito efedrin. Effekter av adrenomimetika är emellertid komplexa och det är därför svårt att exakt kvantifiera skillnader; dessutom är delar av den vetenskapliga litteraturen divergerande m.a.p. synefrinets effekter. Här må även framhållas att fastän både efedrin och synefrin är adrenergt verkande biogena aminer med flera gemensamma effekter, är deras respektive molekylära inverkan på synaps-nivå fundamentalt skild sålunda att den förstnämnda verkar via modulering av lokal noradrenalin-tillgång, emedan den sistnämnda i främsta hand utövar effekt via direkt interaktion med adrenoceptorer ⁴⁻⁶.

I viss analogi med historien kring efedrin har rapporterats kardiologiskt såväl som vaskulärt patologiska episoder med varierande grad av koppling till konsumtion av synefrin-innehållande preparat ^{7,8}. En komplicerande omständighet består i att sådana formuleringar ofta föreligger som blandningar med en rad andra ämnen, ffa tillsammans med ganska höga doser koffein samt att kombination synefrin/koffein förefaller öka kardiovaskulära risker ^{8,9}. Synefrin förekommer inte specifikt upptaget i 2012 års sammanställning av inom tävlings-idrotter förbjudna substanser. Det är dock fallet för octopamin - ett ämne med liknande effekter ¹⁰.

BASFAKTA RÖRANDE SYNEFRIN

ALLMÄNNA KARAKTERISTIKA, FÖREKOMST OCH FUNKTIONELLT NÄRSTÅENDE ÄMNEN

Höga halter av synefrin förekommer i skal hos citrusfrukten pomerans (*Citrus aurantium* L.) samt mer generell i de omogna frukterna, men återfinns även i en rad övriga citrusfrukter, däribland klementin, mandarin och grapefrukt. Den huvudsakliga råvaran till synefrin utgörs av skal från pomerans som odlas kommersiellt i södra Spanien och på Sicilien. Etanol/vattenutdrag av sådan råvara resulterar i en produkt med synefrin som dominerande komponent, men föreliggande i blandning med en rad övriga substanser. Extrakten kan förekomma såsom

koncentrat av synefrin i skilda koncentrationer, i intervallet 4 % - 95 %, men 6 % är en vanlig styrka ¹¹.

STRUKTURKEMISKA EGENSKAPER OCH NÄRSTÅENDE ÄMNEN

Synefrin (eng. Synephrine; CAS RN: 94-07-5) är en substans med det systematiska namnet 4-[1-Hydroxy-2-(methylamino)ethyl]phenol, vilken alltså företer uttalad strukturkemisk likhet med det mer välkända ämnet efedrin och de fysiologiska hormonerna adrenalin och noradrenalin. Uppenbar struktur likhet finns även med octopamin (Tabell 1).

Synefrin kan föreligga i som alternativa isomera former inom två kategorier, nämligen enantiomererna L (-) - och D (+) -synefrin (optisk isomeri) samt positions-isomera former: *para* (*p*), *meta* (*m*) samt *orto* (*o*). Det sistnämnda relaterar till den aromatiska gruppens hydroxylerings-position (Tabell 1). Skal av *C. aurantium* innehåller i allt väsentligt L-enantiomeren; möjligen kan obetydliga kvantiteter D-form också föreligga ^{12, 13}. Även somliga övriga synefrin-innehållande citrusfrukter har rapporterats innehålla endast L-enantiomeren ¹⁴. I den något äldre litteraturen förekommer diskussioner huruvida pomeransextrakt skulle innehålla endera eller båda av *p*- och *m*-isomererna; det stod dock tidigt klart att *o*-isomeren ej förekommer. Enligt en ganska sentida och väl validerad masspektrometisk analysmetod framstår det dessutom övertygande att endast *p*-isomeren förekommer naturligt i pomerans-extrakt ¹⁵. En tidigare studie har emellertid rapporterat förekomst av *m*-synefrin, tillsammans med *p*-isomeren, i ett kosttillskott-preparat. Mot bakgrund av att detta var en ovanlig observation drar författarna slutsatsen att formuleringen har tillförts syntetiskt *m*-synefrin ¹⁶.

Den i biologiska källor dominerande positions-isomera varianten benämns *p*-synefrin, men *m*-synefrin - ofta refererad till såsom *phenylephrine* - har också identifierats i växtmaterial (ej i pomerans), dock icke *o*-synefrin. I den fortsatta framställningen finns en betoning på *p*-synefrin, vilken i regel refereras till såsom synefrin, men *m*-synefrin är också viktig i sammanhanget. Dessa isomerer är inte farmakologiskt ekvivalenta, vilket är väsentligt att framhålla i ett riskvärderingsperspektiv ¹⁷. För övrigt jämför ganska många rapporterade studier någondera bland de positions-isomera synefrin-varianterna med den strukturkemiskt snarlika substansen octopamin, vilken delar somliga farmakologiska egenskaper med synefrin ¹⁸. Sålunda refereras nedan stundom också till octopamin.

SUMMERING AV FARMAKOLOGISK TILLHÖRIGHET

Synefrin tillhör den generella substans-kategorin biogena aminer och mer specifikt den kemiska gruppen fenyletanolaminer/fenylpropanolaminer, under vilken även sorterar en rad syntetiska och fysiologiska substanser, däribland amfetamin, efedrin, octopamin, adrenalin, noradrenalin och dopamin. Bland den sistnämnda gruppen företer synefrin störst strukturlikhet med adrenalin (Tabell 1). Substansen har i många stycken med adrenalin och noradrenalin - samt efedrin - sammanfallande verkan, enligt fynd från en rad (cellulära) *in vitro* och *ex vivo*-biologiska samt biokemiska provningar. Detta innebär ffa stimulerande inverkan på sympatiska nervsystemet, i främsta hand via α_1 -adrenerga (α_1 -AR) och dito β (β -AR) receptorer, men även interaktion med serotonin-receptorer (5-HT-R) har dokumenterats. Dock förekommer skilda uppgifter i litteraturen rörande styrkan av enskilda synefrin-medierade effekter på organism-nivå. En kvalificerad problematisering av synefrin som kosttillskott torde bäst ske mot bakgrund av de fysiologiska receptorer som substansen rapporterats kunna interagera med samt dito kända receptor-medierade effekter. Härvid intar α_1 - och β -adrenerga receptorer framskjutna positioner, men serotoninerga (5-HT) receptorer kan möjligen också vara potentiellt relevanta i sammanhanget. Här må dock framhållas att små olikheter i struktur, såsom de mellan synefrin, adrenalin och efedrin, kan innebära betydande kvantitativa skillnader i receptorbindning och dito stimulering. Det är t ex uppenbart att synefrins kemiska

struktur innebär mer polära egenskaper, jämfört med efedrin, vilket bl a medför svagare penetration genom blod-hjärn-barriären, en karakteristik som också kunnat verifieras farmakologiskt. Detaljer rörande synefrins farmakologi utvecklas vidare nedan.

REGULATORISK BAKGRUND

Synefrin har rönt tilltagande livsmedelsregulatoriskt intresse under senare tid, eftersom som det förekommer fritt tillgängligt i diverse bantningspreparat och sportprodukter, uppenbarligen som ersättning för efedrin vilket i Sverige sedan år 2005, och i USA sedan år 2004, inte får saluföras i form av kosttillskott³. Substansen är emellertid icke registrerad såsom läkemedel (farmaceutisk specialitet) i Sverige, EU eller Nordamerika enligt resultat från sökningar på Läkemedelsverkets, *European Medicines Agency*:s, *Food and Drug Agency*:s och *Health Canada*:s respektive Internet-sidor samt den läkemedels-inriktade databasen *DrugBank*¹⁹⁻²². Dock bedöms enskilda doser överstigande 160 mg såsom läkemedel i Sverige och är därmed icke tillåtna att saluföras i form av kosttillskott. Vidare framkom att synefrin ganska nyligen utsatts för en i USA genomförd klinisk provningsstudie²³ på friska frivilliga försökspersoner, syftande till att dokumentera preparat-relaterad viktninskning. Synefrin förekommer dessutom i register hos EU:s centrala kemikaliemyndighet *European Chemicals Agency* (ECHA), såsom pre-registrerad substans, sedan 2010-11-30²⁴. Inga ytterligare detaljer rörande synefrin är emellertid åtkomliga via denna myndighet. I sammanhanget må framhållas att den ovan nämnda varianten *m*-synefrin förekommer som läkemedel, under preparatnamnen *M-Oxephrine* och *Phenylephrine*.

En i sammanhanget utstående omständighet består i en år 2010 utfärdad riktlinje av den kanadensiska hälsomyndigheten (*Health Canada*) rörande hälsokost-produkter: För synefrin och den farmakologiskt närstående substansen octopamin rekommenderas ett maximalt dagligt intag av 30 mg. Vidare specificeras i samma riktlinje att koffein inte må ingå - tillsammans med synefrin eller octopamin - i sådana produkter samt uppmaning att konsultera medicinsk expertis innan konsumtion överstigande en tidsutdräkt om 8 veckor²⁵.

KORTFATTAD ÖVERSIKT AV FARMAKOLOGISKA BAKGRUNDSFAKTA MED RELEVANS FÖR RISKVÄRDERING AV SYNEFRIN

ALLMÄNT

Det perifera autonoma nervsystemet indelas vanligen i kategorierna sympatiska och parasympatiska. De s.k. pre-ganglionära neuronerna utgår från centrala nervsystemet (CNS) och bildar - i ganglierna - synapser med post-ganglionära neuron. De sistnämnda slutar i förbindelse med effektorceller i en vävnad, t ex tarm, lever, hjärtmuskel eller körtel. De pre-ganglionära nervfibrerna hos det autonoma nervsystemet förmedlar signalen via acetylkolin och är således genomgående kolinerga, emedan nästföljande steg innebär en uppdelning: Sympatiska post-ganglionära adrenerga neuron förmedlar signalen i effektorceller via noradrenalin och dito parasympatiska via acetylkolin; de benämns sålunda adrenerga (egentligen - mer korrekt - noradrenerga), respektive kolinerga fibrer. Det sistnämnda är för övrigt analogt med signalöverföringen från motoriska neuron i tvärstrimig skelettmuskulatur²⁶. Autonoma nervreceptorer i ganglier och tvärstrimig skelettmuskulatur är dock av något skilda slag och brukar benämnas nikotin- respektive muskarinlika. Adrenergt innerverad perifer vävnad uttrycker alltså adrenoreceptorer - omfattande tre skilda grundtyper - och regleras (fysiologiskt) av adrenalin och noradrenalin. Det serotonerga systemet, däremot, aktiveras under inverkan av serotonin, i vetenskaplig litteratur benämnt 5-hydroxytryptamin

(5-HT), vilket - i analogi med adrenalin - fungerar både som hormon och signalsubstans²⁶. Även i detta fall finns ett flertal skilda receptortyper, uppdelade i sju övergripande kategorier²⁷.

Det adrenerga autonoma nervsystemet har central betydelse för hjärtats funktion, bl a genom att reglera rytm och pumpvolym i anpassning till aktuell belastning, i samspel med kolinerg dämpning, ffa via *nervus vagus*. Sympatisk innervering av blodkärl (α_1 - och α_2 -adrenoreceptorer; se nedan) innebär ytterligare ett viktigt system i fysiologisk blodtrycksreglering. Av särskild betydelse i sammanhanget är sympatisk och parasympatisk stimulering av hjärtat, bl a eftersom denna inverkan påverkar dess retledningssystem och obalanser i detsamma kan framkalla arrytmier²⁸⁻³⁰. Vid fysisk aktivitet - t ex idrott och sport - ökar fysiologiskt betingad adrenerg stimulering av hjärtmuskel (β_1 - och β_2 -adrenoreceptorer; se nedan) via noradrenalin. Förutom ökning av puls och kontraktionskraft medför detta dessutom reduktion av refraktärperioden hos hjärtats retlednings-system. Den via hjärtats förhöjda aktivitet åstadkomna blodtrycks-stegringen kompenseras fysiologiskt - via baroreceptorer - innebärande kolinerg dämpning av pulsen, men ökad frisättning av acetylkolin innebär också ytterligare förkortning refraktärperioden³⁰. Under fysisk påfrestning kan ytterligare reduktion av refraktärperioden inträffa i den händelse ischemi skulle uppstå i hjärtmuskel, som resultat av adrenerg stimulering av koronarartärer i kombination med sjukdomstillstånd som påverkar hjärtmuskeln syreförsörjning^{29,30}. Dessa tre starkt sammanknutna mekanismer är samtliga viktiga att beakta vid bedömning av risker förbundna med exogent tillförda adrenomimetika, eftersom förstärkt adrenerg stimulering alltså kan öka risker för bl a arrytmier, särskilt i samband med fysisk aktivitet.

En rad funktioner hos hjärtat kan även påverkas av serotonerg stimulering, vilket för övrigt också inverkar på andra delar av det vaskulära systemet³¹. 5-HT har dessutom viktiga funktioner - som signalsubstans - i centrala nervsystemet, bl a för stämningsläget. Synefrin har experimentellt visats kunna interagera med serotonerga receptorer i perifer vävnad, inklusive blodkärl (vasokonstriktion)^{32,33}. Det är emellertid osäkert huruvida serotonerga receptorer - i hjärtmuskel och blodkärl - kan ha praktisk betydelse för effekter av oralt doserad *p*-synefrin. Vetenskaplig dokumentation rörande synefrins funktionella interaktion med 5-HT-receptorer är baserade på i *ex-vivo*-experimentella system och är i övrigt sparsamt förekommande.

ADRENERG STIMULERING OCH ADRENERGA RECEPTORER

ADRENALIN OCH NORADRENALIN

Adrenalin (AN) bildas i s.k. kromaffina celler i binjuremärk samt i somliga nervceller och är både ett hormon och en signalsubstans, till skillnad från noradrenalin (NA) som endast har sistnämnda funktion. Den fysiologiska synteskedjan utgår från aminosyran tyrosin, som konverteras till dopamin och därefter vidare till noradrenalin och slutligen adrenalin. AN utgör en icke-specifik agonist (stimulerande substans) för diverse adrenerga receptorer (ARs), däribland dito α_1 , α_2 , β_1 och β_2 samt möjligen även dito β_3 . Eftersom dessa receptorer förekommer i ett stort antal vävnader har adrenalin en lång rad fysiologiska effekter. Inverkan på metabolism kan sammanfattas såsom reducerat utflöda av insulin (från pankreas), stimulerad glykogenolys i lever och muskelvävnad samt stimulerad glykolys i muskel. Vidare stimuleras utsöndring av glukagon (blodsocker-förhöjande) från pankreas. Från hypofysen utsöndras hormonet ACTH och i fettvävnad observeras lipolys. Övriga typiska (icke-metabola) effekter av adrenalin är förhöjd hjärtpuls, vasokonstriktion (sammandragning av blodkärl), bronkodilation (utvidgning av andningspassagerna) samt muskelkontraktion. Enkelt uttryckt innebär de sammantagna effekterna av förhöjda adrenalin-nivåer en effektiv förberedelse till strid eller

flykt (*Fight or flight*). I generell mening kontrasterar detta till kolinerg aktivering, vilket försätter organismen i vilande tillstånd (*Rest and digest*)³⁴.

Adrenalin är också ett läkemedel, med bl a indikationsområdena hjärtstopp och vissa former av hjärtarytmi samt anafylaktisk chock. Även astma-attacker kan behandlas med adrenalin, därest inga specifika β_2 -agonister finns till hands (i bronker förekommer högt uttryck av β_2 -ARs). Vidare adderas ofta adrenalin till lokalanestetika för injektion, pga av dess vasokonstriktor-funktion, innebärande reducerad spridning av det analgetiska preparatet. I detta sammanhang må också framhållas en rad biverkningar som knutits till administrering av adrenalin i form av läkemedel: Palpitation (hjärtklappning), takykardi (ökad hjärt puls), arytmi (rubbad hjärtrytm), tremor (skakningar), hypertension (förhöjt blodtryck), ångest samt huvudvärk. Här kan även framhållas att konsumtion av preparat med effekter vilka generellt överensstämmer med dito adrenalin kan framkalla beroende hos användare, men åtföljande psykologiska och sociala problem, däribland sömnsvårigheter, svårigheter att avsluta (arbets-) uppgifter och att upprätthålla personliga kontakter samt uttråkning.

I amerikansk facklitteratur används termen *epinephrine*, vilket också utgör INN (*International Nonproprietary Name*) för adrenalin, emedan *adrenaline* är standard i Europeiska farmakopén och i *The British Pharmacopoeia*. Noradrenalin (am. *nor-epinephrine*) är den huvudsakliga signalsubstansen i postganglionära ändrar hos sympatiska nervfibrer samt fungerar som transmittorsubstans i hjärna, särskilt i nerver utgående från *locus ceruleus*. Liksom adrenalin är också noradrenalin ett läkemedel, med en sammanlagd inverkan som bestäms av dess sympaticus-stimulerande egenskaper, ffa α -adrenerga receptorer. Utstående effekter av α_1 -AR-stimulering är kontraktion av glatt muskulatur och somliga blodkärl, men vissa blodkärl dilateras; effekt-profilen av α_2 -AR-aktivering är mer sammansatt, men involverar bl a relaxering av myokardium. Viktiga effekter av β_1 - och β_2 -AR-aktivering är inotrop (högre kontraktionskraft) och chronotrop (förhöjd puls) inverkan på myokardium. Vidare är stimulering av β_2 -AR knuten till bronkodilation och koronarartärs-dilation^{28, 34}.

ADRENERG AKTIVITET PÅ RECEPTOR-NIVÅ

RECEPTORTYPER OCH DERAS RESPEKTIVE AKTIVITETER

Adrenerga receptorer (även benämnda adrenoreceptorer) förekommer i flertalet perifera vävnader hos människa tillhör kategorin *7-transmembrane receptors* (7TMRs), vilka företer en cylinderliknande molekyllär struktur uppbyggd av transmembrana segment som passerar cellmembranet sju gånger. Detta är dessutom en stor grupp bland cellmembran-integrerade receptorer och man räknar med att ca 40 % av samtliga registrerade läkemedel interagerar med någondera bland dem³⁵. De sorterar även under gruppen G-protein-associerade receptorer (GPCR) och kan sålunda - via ligand-medierad stimulering - aktivera signaltransduktion via adynylcyklas som genererar cykliskt AMP (cAMP). Senare tids forskning har dock visat att signaltransmission också kan ske via andra proteiner i receptorns närmiljö, nämligen β -arrestin och *G-protein-coupled receptor kinase* (GRK)^{35, 36}. Detta har viss betydelse för värderingen av ligand-aktivitet, enär flertal farmakologiskt inriktade studier av adrenoreceptorers aktivitet uttrycker den såsom förändring av cAMP-nivåer.

I ett tidigt skede uppdelades adrenoreceptorer i två kategorier - α och β - men senare studier har hittills identifierat och karakteriserat tre huvudtyper av adrenoreceptorer, vardera med tre sub-typer, nämligen α_1 (α_{1A} , α_{1B} och α_{1D}), α_2 (α_{2A} , α_{2B} och α_{2C}) och β (β_1 , β_2 och β_3). De båda α -receptortyperna delar många egenskaper, men har också delvis skilda funktioner. Stimulering av α_1 -AR medför sammandragning av koronar-kärl och perifera vener (vasokonstriktion); glatt muskulatur kring magtarm-kanalen får minskad motilitet. En måttlig positive inotrop effekt på myokardium (ökad hjärtmuskel-kontraktion) noteras också, ehuru väsentligt

svagare än via stimulering av β -receptorer. Utstående effekter av α_2 -receptor-aktivering är vasodilation av somliga artärer, dock med undantag för koronarartärer vilka sammandras. Venokonstriktion samt dämpad gastrointestinal glatt muskelaktivitet är andra väsentliga α_2 -receptormedierade effekter. Inverkan av β -receptor-stimulering är tämligen likartad för två bland dem, men mer specifik för den tredje: Aktivering av β_1 -AR innebär bl a förhöjd hjärtfrekvens, inotrop (i förmak och kammare) effekt samt ökad retledning hos AV-noden. I fettvävnad noteras viss lipolys. β_2 -receptorn förmedlar bl a ökat blodflöde från hjärtat, via i huvudsak ovan nämnda β_1 -AR-aktiverade mekanismer, men överlag med något svagare verkan. Artärer till skelettmuskulatur dilateras emellertid. Bronko-dilation samt reducerad frisättning av histamin från mast-celler är andra utstående β_2 -AR-medierade effekter. I myokardiet förekommer både β_1 -AR och β_2 -AR i förmak såväl som kammare, men med något högre andel β_1 -AR i kammare. β_3 -stimulering, avslutningsvis, medför lipolys i fettvävnad samt termogenes i skelettmuskulatur^{28, 37}.

I sammanhanget må för övrigt framhållas att långvarig aktivering (alternativt förhöjd total stimulering) av β_1 -AR är hos människa förenat med högre dödlighet; ökad expression av denna receptortyp hos transgena möss leder ganska snabbt till hjärtsvikt. I motsats därtill får analoga förändringar i stimulering av β_2 -AR inga liknande konsekvenser³⁴.

MOLEKYLÄRA INTERAKTIONER

Adrenerga receptorer har varit föremål för ganska omfattande molekylärfarmakologiska studier, vilka klarlagt viktiga relationer mellan ligand-struktur och aktivitet. Därvid har i synnerhet β_2 -AR utgjort det primära modellsystemet, men fynden kan i många stycken generaliseras till övriga ARs³⁵. Aminosyran Asp-113, belägen i adrenoreceptors tredje domän (TM3), anses delta i bindningen av adrenalin-liknande substansers protonerade amin³⁸. Ligandens bensenring-struktur har hos dopamin-receptorer, vilka företer övergripande strukturlikhet med AR, visats interagera med en räkka av aromatiska aminosyror i TM6³⁹. Den sammantagna bilden från en rad övriga molekylärt orienterade experiment identifierar tre aminosyror i AR TM5 såsom essentiella för ligandens bindning till receptorn: Både Ser-203 och Ser-204 i TM5 samverkar i bindningen till ligandens *meta*-hydroxylgrupp, emedan Ser-207 - i samma receptordomän - binder till hydroxyl-gruppen i *para*-position⁴⁰⁻⁴². Detta innebär att hydroxylgrupp i *meta*-position associerar starkare till AR än dito *para*-position, vilket för övrigt också styrks av traditionellt utformade receptorbindnings-studier.

SYNAPTISK OMSÄTTNING AV NORADRENALIN (OCH ADRENALIN)

Extracellulärt upptag av NA i cytosol kan ske endera pre-synaptiskt eller via andra - icke neuronala - celler. Det förstnämnda sker via proteinet *Norepinephrine transporter* (NET). Därutöver finns en transport-mekanism för NA in i synaptiska vesiklar, via *Vesicular monoamine transporter -2* (VMAT-2). En räkka substanser, däribland amfetamin och efedrin, verkar i betydande utsträckning genom att hämma dessa system och därigenom framkalla högre koncentration av NA i den synaptiska klyftan. Vidare kan även förstärkt frisättning av NA åstadkommas av somliga adrenerga substanser, inklusive ovanstående, via fosforylering av NET, vilket reverserar dess funktion. Avslutningsvis, NA undergår degradation via det i mitokondrie-membranet integrerade enzymet monaminoxidas (MAO), vilket också kan hämmas av somliga biogena aminer, ledande till förhöjd NA-koncentration i den lokala synaps-miljön¹.

FARMAKOGENETISKA ASPEKTER PÅ ADRENORECEPTORER

Molekylärgenetisk forskning har klarlagt att genetisk polymorfi förekommer hos samtliga grupper av adrenerga receptorer. Detta inkluderar även de för myokardiets funktion och

reglering väsentliga β_1 -ARs. Till exempel är 27 % bland kaukasiska amerikaner samt 42 % amerikaner av afrikansk etnicitet bärare av den s.k. 389Arg-allelen hos β_1 -AR och en betydande del av samma befolkning uttrycker en s.k. 49Ser-allel⁴³. Omfattande studier i transfekterade cellulära system samt med transgena möss visar en förhöjd agonist-respons (3-4 ggr) hos β_1 -AR 389Arg-allelen. Vidare har framkommit att en polymorfi hos β_2 -AR (Thr164) har egenskaper som också reagerar kraftigare på agonist-stimulering^{43,44}.

SEROTONERG STIMULERING OCH SEROTONERGA RECEPTORER

Serotonin (5-HT) utövar en rad skilda fysiologiska effekter i centralt såväl som perifert nervsystem. I dagsläget är 14 skilda 5-HT-receptorer kända och karakteriserade, vardera kodade av enskilda gener, enligt följande nomenklatur: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1e}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT_{5a/5b}, 5-HT₆, 5-HT₇. Baserat på struktur och funktion har de emellertid grupperats i 7 övergripande kategorier. Flertalet 5-HTRs sorterar, liksom adrenoceptorerna, under kategorin GPCR, men 5-HT_{3R} tillhör proteinfamiljen ”ligand-gate ion channel” (LGIC)²⁷.

Hos blötdjur (mollusker) utgör 5-HT den fysiologiskt normala excitoriska signalsubstansen i hjärta, men har i högre djur ersatts av katekolaminer. Emellertid finns alltså 5-HTRs i human hjärtvävnad och dessa förmodas ffa ha betydelse för embryonal organ-utveckling. Skilda delar av det kardiovaskulära organsystemet uttrycker alltså 5-HT-receptorer (5-HTRs); effekter på blodkärl och myokardium bestäms av receptor-kategori. I hjärtvävnad förekommer ett begränsat antal 5-HTRs och de viktigaste kan sammanfattas enligt följande: Förmak och kammare (samtliga) uttrycker 5-HT_{4R}; i koronar-artär och lungartär förekommer 5-HT_{1BR} och 5-HT_{2AR} och i hjärtklaffar uttrycks 5-HT_{2BR}³¹. Koronarartärer har visats kunna både relaxera och kontrahera som resultat av 5-HT-stimulering, men den förstnämnda reaktionen förefaller förlorad hos patienter med stabil koronarartärs-sjuklighet. Den 5-HT_{2AR}-specifika blockeraren ketanserin har för övrigt funnit klinisk användning mot ovan nämnda patologi, men har i molekylärfarmakologiska studier visats blockera endast delar av 5HT-effekterna, i enlighet med föreställningen om ytterligare 5-HTR-typ i dessa kärl. Såsom nämns ovan uttrycks 5-HT_{4R} i förmak och ventriklar och de kan dessutom aktiveras av adrenerga substanser. Särskilt i förmaks-vävnad har adrenerg stimulering kunnat experimentellt knytas till arrytmier, via såväl 5-HT_{4R} som β_1 - och β_2 -AR^{31,45}.

DOKUMENTATION AV TVÅ ÖVRIGA I SAMMANHANGET RELEVANTA SUBSTANSER

EFEDRIN

Föreliggande dokument är förvisso fokuserat mot hälsoeffekter av synefrin, men här bör även efedrin tilldelas visst utrymme eftersom denna komponent tidigare - innan utfasning från förskrivnings-befriade substanser i t ex Sverige och USA - utgjorde central ingrediens i preparat med väsentligen identisk marknadsprofil. Mycket talar för att efedrin utövar överlag kraftigare sympatomimetisk inverkan än synefrin, men jämförelse mellan de två substanserna är långt ifrån okomplicerad, eftersom deras respektive effekter på synaps-nivå företer viktiga skillnader. Efedrin verkar ffa via modulering av noradrenalin-tillgången i den synaptiska miljön, emedan synefrin förefaller utöva effekt primärt genom direkt receptorinteraktion^{4,6}.

Den traditionella uppfattningen rörande efedrins adrenerga effekter kan sammanfattas sålunda att efedrin har ansetts utöva stimulerande inverkan via indirekta mekanismer såväl som direkt receptorstimulering. Senare rapporter stödjer emellertid starkt föreställningen att

det sistnämnda i allt väsentligt är utan signifikant farmakologisk betydelse. Receptorbindningsstudier utövar obefintlig till mycket svag inbindning till α_{2A} -, α_{2B} - och α_{2C} -AR. Funktionell analys (mobilisering av intracellulärt Ca^{2+}) har rapporterats vara obefintlig på α_{1A} - och α_{2A} -AR⁴. Fortsatta studier av liknande art konfirmerar dessa fynd: efedrin-isomera varianter befanns inte stimulera α_1 - eller α_2 -AR⁵.

KOFFEIN

Det skulle leda alltför långt att här dokumentera koffeins sammantagna farmakologi, men helt kort kan ändå några utstående effekter nämnas. Den bäst kända och förmodligen bäst dokumenterade inverkan av koffein hos människa är specifik och hämmande interaktion med adenosinreceptorer i hjärna. Detta gäller särskilt subtyperna A_1 och A_{2A} ⁴⁶. Förmodligen via indirekta mekanismer utövar koffein emellertid också inverkan på myokardium. Ganska liten men dock mätbar förlängning av (kardiologiskt) QRS-komplex har rapporterats efter dosering i människa⁴⁷. En senare studie, utförd i musmodell som exponerats för koffein i rimliga doser, dokumenterar förhöjda värden rörande systoliskt och diastoliskt blodtryck samt ökad puls⁴⁸. Höga doser kan framkalla hjärtarytmi.

RECEPTOR-INRIKTADE STUDIER AV SYNEFRIN

Såsom nämns ovan företer synefrin strukturell likhet med en rad övriga exogena och endogena substanser med dokumenterad bindning till diverse adrenerga receptorer. Insikter i synefrins bindning till och typ av interaktion (funktionella bioassay-experiment) med de i sammanhanget aktuella receptorerna utgör sålunda en god grund till tolkning av resultat från djurmodeller (*in vivo* och *ex vivo*) jämväl kliniska fynd. Därutöver finns andra betydande mekanismer att beakta, nämligen interaktion med monoaminoxidas, samt postganglionära presynaptiska noradrenalin-transportörer (NET och VMAT-2), men först avhandlas de direkt receptor-interaktiva effekterna.

ADRENERG STIMULERING

ALFA₁- OCH ALFA₂-RECEPTORER

En ganska tidig men å andra sidan ambitiös (radioligand-baserad) receptorbindningsstudie, omfattande *p*- och *m*-synefrin jämväl en rad övriga katekolaminer och biogena aminer, visar betydande skillnad mellan agonist-effekter av positions-isomera synefriner. På från rätta frilagd aorta noteras ca 16 % aktivitet av *m*-synefrin, relativt NA, emedan ca 0,1 % noterades för *p*-synefrin¹⁷. Fynd från motsvarande analyser på *anococcugeus* (blodkäril i nedre bukregion) noteras emellertid 63 % och 4 % för *meta*- respektive *para*-isomeren av synefrin. Detta innebär alltså ca 40 gånger högre aktivitet för den sistnämnda isomeren i denna vävnadstyp, relativt dito frilagd aorta. De experimentella systemen förutsattes företrädesvis mäta aktivitet via α_1 -AR. Stimulering av α_2 -AR utfördes på frilagd lårven från kanin. I detta fall noterades ännu lägre effekter av båda synefrin-isomererna. Konklusionen från detta fynd är alltså att synefrin har mycket svag - förmodligen obefintlig - α_2 -AR-stimulerande verkan¹⁷. En betydligt senare rapport beskriver mer detaljerade data rörande synefrins receptor-bindning och dito stimulering: Såväl *para*- som *meta*-synefrin framkallade α_{1A} -AR-medierad effekt i ett reporterbaserat cellsystem. Vid 100 μM koncentration av *p*-synefrin uppmättes dess maximala respons i cellsystemet, motsvarande 55 % av *m*-synefrins maximala stimulering. Detta indikerar att *p*-synefrin är en partiell agonist för α_{1A} -AR⁴⁹. En tydlig skillnad

rörande sub-maximal stimulering noterades också, sålunda att en koncentration om 1 μ M ligand framkallade endast 10 % av maximal verkan (här definierat som högsta värde för *m*-synefrin) för *p*-synefrin, emedan ca 50 % observerades för *m*-synefrin⁴⁹. Dessa fynd, rörande *p*-synefrin, överensstämmer dessutom med resultat från molekylärt orienterade interaktionsstudier som visar att *meta*-hydroxylgruppen hos biogena aminer interagerar starkare med (flertalet) adrenerga receptorer, relativt dito *para*-position^{41, 42, 50}. Ett experimentellt annorlunda utformat cellulärt reporter-system (reversering av forskolin-inducerad förhöjning av intracellulär cAMP-koncentration) nyttjades till att mäta inverkan av bl a *p*-synefrin via subtyperna α_{2A} - och α_{2C} -AR. Därvid framkom att *p*-synefrin väsentligen saknar effekt via dessa receptortyper⁴⁹.

Den sammantagna bilden visar alltså obetydlig till ringa inverkan av någondera av de positions-isomera formerna av synefrin på α_2 -ARs, men också att *m*-synefrin har avgjort starkare stimulerande effekt på α_1 -ARs, relativt dito *p*-synefrin. Uppgifter i litteraturen varierar starkt men värden mellan 8.5 och 16 (*m*- versus *p*-synefrin), baserade på receptorbindningsstudier, har rapporterats; dvs i storleksordningen en magnitud^{17, 49, 50}.

BETA-RECEPTORER

Resultat rörande synefrins aktivitet via β -ARs är av särskild betydelse i sammanhanget, enär β_1 -AR och (i ringare grad) β_2 -AR har uttalad inverkan på myokariets aktivitet samt pga att lipolys i fettvävnad anses vara starkt knuten till β_3 -AR.

Utgående från β_2 -AR (ej muterad) uppmättes partiell agonism för båda positions-isomerer av synefrin, i analogi med observationer hos α_{1A} -AR. *Meta*-variantens maximala stimulering (registrerad såsom cAMP-frisättning) uppmättes till ca 40 % av dito adrenalin, emedan dito *para*-synefrin befanns vara 24 % - 32 %, enligt två experimentellt likartade rapporter^{41, 42}. Kompetitions-baserade bindningsstudier, baserade på interaktion med β_2 -AR, visar 4-5 gångers kraftigare bindning av *m*-, jämfört med *p*-synefrin. Den sistnämnda isomeren binder dock ca 120 gånger svagare än adrenalin^{41, 42}. Styrkan hos stimulering, uttryckt som log EC₅₀-värden, är emellertid mer representativ för aktiviteten. En äldre studie rapporterar fynd som grundas på aktivitet hos synefrin i hjärt-förmak och luftstrupe, båda vävnader isolerade från marsvin. Därvid rapporterades att aktiviteten via β_1 -AR och β_2 -AR hos *m*-synefrin och *p*-synefrin var 100, respektive 40.000 gånger lägre än dito noradrenalin⁵¹. Modernare studier, baserade på expression av transfekterad β_2 -AR i en human cellinje, rapporterar dock väsensskilda aktivitetsnivåer: Utgående från sådana experiment observerades att adrenalin stimulerar cAMP-frisättning 22 - 100 gånger kraftigare än *m*-synefrin och 105 - 330 gånger starkare än *p*-synefrin (lägre värden i den senare rapporten), dvs *meta*-varianten befanns vara 3.3 - 4.7 ggr kraftigare än dito *para*^{41, 42}. Ungefär 4 gånger kraftigare effekt rapporteras alltså för *meta*-varianten, relativt dito *para*, via β_2 -AR.

Inverkan av synefrin på fettvävnad, med särskild tonvikt på β_3 -AR, har rapporterats. En intressant studie av bl a octopamin och synefrin i fettceller (*white adipose tissue*, WAT) hos fem däggdjursarter inklusive människa, utmynnade bl a i fynd som visade mycket svag - närmast obefintlig - lipolytisk inverkan av synefrin i human WAT. I mer responsiva arter, däribland råttor, hamster och hund, företedde octopamin egenskap av full β_3 -AR agonist, emedan synefrin visade partiell agonist-karaktär. Författarna framställde dessutom hypotesen att den via synefrin ytterst svaga lipolytiska effekten kan härröra från stulering av β_1 - och/eller β_2 -AR, hellre än β_3 -AR, pga att aktiviteten hämmades fullständigt av antagonister mot de två förstnämnda adnoreceptor-typerna⁵². Lågt uttryck av β_3 -AR i human fettvävnad föreslogs, i ovan nämnda artikel, sannolikt vara ytterligare en orsak till obefintlig/svag lipolytisk inverkan av synefrin och octopamin i human WAT^{52, 53}. Dessa fynd har uppenbarligen implikationer på huruvida fynd av *in vivo*-experiment i bl a musmodeller, med inriktning mot viktreduktion, kan generaliseras till människa.

EFFEKT VIA NORADRENERGA TRANSPORTÖRER

Det är väl dokumenterat att substansen efedrins sympatomimetiska effekt primärt härrör från indirekta mekanismer, dvs stimuleringen är kopplad till interaktion med pre-synaptiska transportproteiner, innebärande ökad frisättning av noradrenalin. Det har vidare framkommit att synefrin (*para*-isomeren) också förefaller utöva delar av den stimulerande inverkan via sådana mekanismer, dvs modulering av noradrenerg neurotransmission. Inledande observationer härrör från neuropsykologiska studier i en musmodell, där minskad aktivitet i två test-system (*tail suspension test* samt *forced swimming test*) observerades⁵⁴. Uppföljande molekylära experiment har tydliggjort att *p*-synefrin förmår hämma upptag av noradrenalin i presynaptiska neuron, dock vid tämligen hög koncentration ($EC_{50} = 4.5 \mu\text{M} - 8.2 \mu\text{M}$). Därutöver har rapporterats att *p*-synefrin också förmår stimulera frisättning av noradrenalin, likaledes med ganska låg effektivitet ($EC_{50} = 8.2 \mu\text{M} - 20.1 \mu\text{M}$)⁵⁵. Det är emellertid oklart huruvida den tidigare rapporterade antidepressiva effekten av synefrin kan tillskrivas någondera bland de noradrenerga transmissions-modulerande mekanismerna; direkt agonistisk inverkan kan vara en alternativ förklaringsmodell.

SEROTONERG STIMULERING

Såsom nämns ovan förekommer 5-HT-receptorer i bl a human hjärtvävnad och aorta. Stimulering av dem har beskrivits kunna skapa störningar av bl a hjärtrytm. Dokumenterade studier av inverkan av synefrin (*p*-isomeren) på isolerad aorta från råttor tydliggör interaktion av med serotonerga receptorer i denna vävnad. Kvantifierad såsom konstriktion noterades effekt av synefrin på 5-HT_{1D} och 5-HT_{2A} vid ca 0.3 μM . Funktionell interaktion av synefrin med dessa receptorer kunde demonstreras via dos-respons-analys, i konkurrens med specifika antagonister. I separat utförda experiment nyttjades BRL15572 - en selektiv 5-HT_{1D}-antagonist samt ketanserin - en selektiv 5-HT_{2A}-antagonist. Härvid framkom att synefrins effekt på 5-HT_{1D} förefaller vara betydligt starkare än dito 5-HT_{2A}. Denna generella interaktionsprofil sammanfaller för övrigt ganska väl med dito *m*-synefrin, den sistnämnda dock vid ca 100 gånger lägre (agonist-) koncentration³².

PREKLINISK TOXICITET AV SYNEFRIN

AKUT TOXICITET

Subkutan injektion av höga doser (700 mg/kg och 1500 mg/kg) synefrin i mus gav kraftiga symptom. Utstående effekter var bl a konvulsioner, dyspné och cyanos. En måttligare dosering (1 mg/kg) framkallade ökning av kroppstemperatur¹⁸.

SUBKRONISK TOXICITET

En 28-dygns subkronisk studie av *p*-synefrin i mus rapporterades ganska nyligen. Därvid observerades måttliga effekter på övergripande fysiologiska parametrar. Utstående fynd är minskad viktökning bland doserade djur i samtliga doser, inklusive den lägsta, av renframställd substans (30 mg/kg). Vid denna dosering observerades även förändringar av ett fåtal kliniskt kemiska parametrar: i blodserum noterades minskad koncentration av totalt protein samt reducerad aktivitet hos enzymet katalas. Vidare uppmättes förhöjning av reducerat glutation⁵⁶. Det sistnämnda fyndet kan indikera förhöjd oxidativ stress, men tolkningen är

inte okomplicerad eftersom författarna menar resultat i andra rapporter innebär att *p*-synefrin möjligen kan hämma NADPH-oxidas, som är ett utstående ROS-producerande (*Reactive Oxygen Species*) enzym⁵⁶.

I en något äldre studie i Sprague Dawley-råttor framkom anmärkningsvärda fynd. Djuren doserades oralt under 15 dygn med två extrakt av *C. aurantium* i låga till måttliga nivåer, motsvarande 0.1 mg/kg till 1.2 mg/kg synefrin. Härvid noterades dos-beroende reduktion i foderintag och tillväxt. Vidare observerades mortalitet bland samtliga doserade grupper, till skillnad från kontrollgruppen, en skillnad som - ehuru tydlig - dock inte kunde verifieras med statistisk signifikans. Inga förändringar i blodtryck observerades, men däremot dos-beroende ökning av ventrikulär arrytmi. Denna effekt manifesterades efter 10 dagars dosering och kvarstod dessutom 5 dagar efter utsättning av pomerans-extrakt⁵⁷.

IN VIVO KARDIOVASKULÄR STUDIE

Infusion av renframställt synefrin (1 mg/kg per 12 h, innebärande 2 mg/kg per dygn) i en s.k. portal hypertensions-modell (råtta), innebärande delvis shuntad cirkulation, framkallade reducerat portalt blodtryck. Detta kan sannolikt förklaras genom synefrin-medierad vasokonstriktion i artären⁵⁸.

IMMUNTOXIKOLOGI

Efter oral administrering i BALB/c-mus av extrakt, framställt av *C. aurantium*, noterades sänkt viabilitet hos spenocyter och thymocyter¹⁸. Dosangivelse har dock inte kunnat identifieras.

GENOTOXICITET

Frånvaro av (genotoxisk) aktivitet hos synefrin noterades i L5178Y lymfom-assay, i koncentrations-intervallet 20 µg/ml - 3600 µg/ml⁵⁹.

KLINISKA STUDIER AV SYNEFRIN-INNEHÅLLANDE FORMULERINGAR

KARDIOVASKULÄRA EFFEKTER

Prövningar med enbart synefrin eller pomeransextrakt

En öppen, tvåvägs crossover-studie, omfattande 12 friska frivilliga personer av båda könen. Försöksdeltagare doserades med vatten (kontrollgrupp) eller färskpressad pomeransjuice, vilket motsvarade 13-14 mg *p*-synefrin per dos. Dosering upprepades efter 8 timmar. Systoliskt blodtryck (SBP), diastoliskt blodtryck (DBP), puls (HR) och artärtryck (MAP) uppmättes i 60-minutersintervall efter andra doseringen. Enligt rapporten noterades ingen signifikant förändring hos någondera bland uppmätta parametrar⁶⁰. Emellertid kan utläsas - av tabell i samma artikel - en avgjord klar trend till ökning av samtliga parametrar utom MAP vid 1 och 2 timmar efter sista dosering, ffa DBP och HR. Enligt farmakokinetiska data i en senare rapport inträffar maximal koncentration av synefrin i blodserum mellan 1 och 2 timmar efter oral dosering, sjunkande till ca 10 % av max-värde efter 8 timmar⁹. Den måttliga doseringen i ovan nämnda kliniska studie, dvs obetydligt överstigande en effektiv exponering av 14 mg enligt studieprotokollet, bör också vägas in i bedömningen av presenterade fynd⁶⁰.

Grupper av friska frivilliga försökspersoner (15 st) doserades med placebo (vatten) eller ett 6 % extrakt av pomerans, motsvarande 54 mg *p*-synefrin, varefter HR, SBP och DBP uppmättes

under efterföljande fem timmar. Under försökstiden noterades signifikant ökning av samtliga parametrar. Toppvärden för SBP, DBP och HR var 7.3, 2.6, respektive 4.2⁶¹.

Prövning av kombinations-preparat i jämförelse med enbart synefrin-innehållande formuleringar eller extrakt av pomerans

I en randomiserad, dubbel-blind crossover studie, omfattande 10 friska frivilliga försökspersoner av båda könen (5 män, 5 kvinnor) prövades DBP och HR efter dosering med endera placebo, ett kombinationspreparat (Xenadrine EFX; 2.75 mg synefrin/120 mg koffein per kapsel) och en synefrin-innehållande formulering (Advantra Z; 15.6 mg synefrin per kapsel). HR och DBP registrerades i timma innan dosering samt 30, 60 och 90 minuter samt 1, 2, 3, 4, 6, 8 och 12 timmar efter exponering. Doseringarna innebar 5.5 mg synefrin/240 mg koffein, respektive 47 mg synefrin. Fyndet kan sammanfattas sålunda att kombinationspreparationen inducerade signifikanta öknings av HR såväl som DBP, emedan mono-formuleringen endast framkallade signifikant ökning av HR, med ett medelvärde om 11.4.⁹ Värt att notera är mycket ringa exponering för synefrin hos försökspersoner som doserats med kombinationspreparatet samt en tydlig inverkan på HR av synefrin-formuleringen.

Prövningar av kombinationspreparat

En studie som kanske inte excellerar i design, men ändå är unik i sitt slag, jämför effekter hos 10 friska fysiskt aktiva frivilliga män och kvinnor, vilka doserades med 1.5 koppar ordinärt kaffe *versus* en specialiserad kaffe-formulering, benämnd JavaFitTM. Den sistnämnda preparationen innehåller ordinärt koffein med tillsats av bl a pomeransextrakt, i koncentrationer som motsvarar 22 mg *p*-synefrin/450 mg koffein per dos. Försökspersonerna genomgick dosering och fysisk aktivitet vid två separata tillfällen. Intressant nog noterades, 2 timmar efter dosering, signifikant ($p < 0.05$) skillnad i DBP (115 vs 118 mm Hg) mellan grupper som konsumerade ordinärt kaffe och JavaFitTM⁶². Rapporten har särskilt intresse genom att indikera synergi mellan koffein och synefrin, via koffein som kontroll, ehuru exponeringen för synefrin var ganska låg samt var koffeindos hos gruppen som exponerades för enbart ordinärt kaffe ej strikt dokumenterad.

En studie omfattade 10 friska frivilliga aktivt idrotts-utövande män och kvinnor, vilka doserades vid vardera tre separata tillfällen med 2 kapslar innebärande placebo, alternativt en dosering om 21 mg synefrin/304 mg koffein (Ripped Fuel Extreme Cut®). SBP och DBP registrerades under vila och efter fysisk aktivitet. Skillnader mellan placebo- och preparat-doserade grupper observerades hos vilande såväl som efter aktivitet; strikt signifikans ($p = 0.007$) noterades för DBP, emedan tydlig (men icke signifikant; $p = 0.077$) SBP-förhöjning också uppträdde⁶³.

En tredje studie (dubbel-blind, placebo-kontrollerad crossover design) omfattade 23 försökspersoner av båda könen. Enligt rapporten doseras testgruppen med tre kapslar (vardera innehållande 13 mg synefrin/176 mg koffein) under dag 1, varpå ytterligare en dos administrerades på följande dags morgon. Efter ytterligare en timma registrerades en rad fysiologiska parametrar, däribland HR, SBP, DBP och MAR. Inga skillnader - manifesterade som trend eller statistisk signifikans - hos dessa parametrar noterades mellan test- och placebo-grupp⁶⁴. Fyndet i denna studie kan anses vara utstående, i relation till tidigare rapporterade resultat. I någon analogi med en tidigare rapport upprepades doseringen över tid, ehuru måttlig i utsträckning (24 timmar)^{9,64}. I detta fall torde studiedesignen innebära en i allt väsentligt metaboliserad och sannolikt även eliminerad dos innan sista administreringen, varför

mätningen i huvudsak kan anses registrera effekt hos innehållet i en enstaka kapsel, för övrigt med låg synefrin-styrka.

STUDIER AV ENERGIKONSUMTION, VIKTREDUKTION OCH METABOLISM

Den kanske bäst genomförda och dokumenterade studien, rörande viktminskningens effekt av synefrin-innehållande preparationer, var randomiserad, placebo-kontrollerad och omfattande 23 friska försökspersoner av båda könen, enligt följande protokoll: Försökspersoner segmenterades i tre kategorier. Två bland dem doserades oralt med en örtblandning innehållande bl a 58.5 mg synefrin/528 mg koffein per kapsel (dygnsdos), alternativt maltodextrin-placebo. Den tredje gruppen erhöll ingen placebo. Samtliga försökspersoner deltog också i ett fysiskt träningsprogram, omfattande tre träningspass per vecka. Resultat utvärderades innan försöket startade samt efter tre och sex veckor. Fynden kan sammanfattas sålunda att testgruppen minskade i genomsnitt 1.4 kg (-1.5 %), placebogruppen 0.9 kg och dito kontroll 0.4 kg ⁶⁵.

En ovan, i ett kardiovaskulärt perspektiv, sammanfattad studie jämförde även syreförbrukning under fysisk aktivitet, mellan test- (JavaFit™) och kontrollgrupp (ordinärt kaffe). Härvid noterades signifikant ($p < 0.05$) högre värden hos testgruppen ⁶².

Ytterligare en, tillika ovan beskriven, studie har dokumenterat glukos- och insulin-koncentration i blodplasma efter kosttillskott (Ripped Fuel Extreme Cut®) och placebo. Signifikant - dock ej dramatiskt - högre glukos-koncentration registrerades hos testgruppen, relativt dito placebo, men inga skillnader med avseende på insulin-nivå observerades ⁶³.

KLINISKA RAPPORTER RÖRANDE PATOLOGISKA EPISODER MED FÖRMODAD ANKNYTNING TILL SYNEFRIN-INEHÅLLANDE PREPARAT

KARDIOLOGISK ARRYTMI

Två rapporter har identifierats, vilka båda beskriver rubbningar i hjärtrym efter konsumtion av blandpreparat, i vilka synefrin ingick som komponent. En patient uppvisade kortvarigt svimningsanfall i förening med avvikande EKG-mönster (QT-prolongering), emedan en annan patient företedde ventrikulärt flimmer ^{66,67}.

KARDIOLOGISKA OCH NEUROLOGISKA INFARKTER SAMT HYPERTENSION

En 55-årig kvinna, vilken under ca ett års tid konsumerat ett synefrin-innehållande blandpreparat, diagnosticerades med akut hjärtinfarkt. Enligt en etablerad medicinsk graderad bedömningsgrund (*Naranjo Probability Scale*) bedömdes fallet ha möjlig koppling till konsumtion av kosttillskott ⁶⁸.

Ytterligare ett fall av akut hjärtinfarkt beskriver en 24-årig sportaktiv och rök/alkoholfri man utan hereditär kardiologisk belastning. Omfattande koronar-angiografisk examination visade frånvaro av aterosklerotiska förändringar. Patienten använde regelbundet ett synefrin-innehållande blandpreparat i samband med fysisk träning ⁶⁹.

En patient (man, 38 år) som diagnosticerades med ischemisk hjärninfarkt, uppgavs konsumera 1-2 kapslar dagligen, innehållande synefrin/koffein-blandning. Tomografisk och kärnmagnetisk resonans-baserad examination av blodkärl i hjärna visade multipla sub-akuta små-infark-

ter. Analys av blodfett-komposition och en rad övriga kliniskt kemiska parametrar i blod avslöjade inga hematologiska riskfaktorer. Författarna konkluderar att vasospasm kan ha varit en bakomliggande kausalitet till episoden, en hypotes som anknyter starkt till adrenerg stimulering⁷⁰.

Ytterligare ett fall av hjärninfarkt, rörande en patient som konsumerat synefrin/koffein-preparat (Xenadrine EFX) under några månader, har identifierats i litteraturen. Patienten (36-årig kvinna) var för övrigt rökfri och föredde normal blodlipid-status, inkom till klinik med tydliga - men måttliga - symptom på cerebral infarkt. Via magnetisk resonans-angiografi diagnosticerades patienten med cerebral vasospasm, ett tillstånd som generellt associeras med adrenerg stimulering. Efter upphörd konsumtion av kosttillskottet reverserade symptom såväl som vasospasm⁷¹.

En patient (34 år, kvinna) diagnostiserades med akut hypertoni, vilken framgångsrikt behandlades på klinik under några dagar. Patienten, vilken var måttlig rökare och med viss familjär hypertonisk belastning, hade konsumerat Xenadrine EFX (synefrin/koffein) under ca två veckor innan sjukhus-besöket. Enligt rapporten bedömdes kopplingen till kosttillskottet som sannolik, enligt *Naranjo Probability Scale*⁷².

AKUT PSYKOS

En 52-årig operationssköterska presenterades för akutmottagning med uttalat hallucinatoriska symptom ("laser-writing from aliens on the hospital floor, the door and her arm"). Patienten var förvisso knuten till en depressiv sjukdomshistoria, men hade också under en tid konsumerat ett synefrin/koffein-baserat kosttillskott i viktminsknings-syfte. Fysiologisk undersökning visade takykardi, hypertoni och ostadig gång. Den kliniska bedömningen utmynnade i att man inte kunde utesluta samband mellan det akuta psykos-tillståndet och konsumtion av kosttillskott⁷³.

SAMMANFATTNING OCH DISKUSSION

Efter indragning av efedrin-preparat från den oreglerade marknaden i flera länder har formuleringar innehållande pomerans-extrakt (*C. aurantium*) eller synefrin, oftast i kombination med ganska höga halter koffein och inte sällan också en rad övriga substanser, funnit placering på marknaden som sport- och viktminsknings-preparat. Efedrin och synefrin tillhör båda kategorin sympatomimetika, eller mer specifikt adrenomimetika, vilket innebär stimulerande inverkan på adrenerga receptorer. Sådana receptorer förekommer i ett stort antal vävnader och organ hos människa, men de mest intressanta i sammanhanget är hjärta och blodkärl, inklusive de för hjärtats syresättning viktiga koronar-artärerna.

Ehuru efedrin och synefrin delar många farmakologiska egenskaper är substansernas respektive mekanismer på receptor-nivå väsensskild, sålunda att den förstnämnda verkar via modulering av noradrenalin-tillgången i synapsen, emedan den sistnämndas effekt ffa härrör från direkt interaktion med receptor-molekyler i det post-synaptiska neuronet. Det är svårt, med ledning av tillgänglig dokumentation, att exakt kvantifiera skillnader i aktivitets-styrka mellan synefrin och efedrin, men det är ändå uppenbart att synefrin generellt har betydligt svagare effekter. Vidare är synefrin-molekylen något mer hydrofil, jämfört med efedrin, bl a innebärande sämre passage genom blodhjärn-barriären och därmed ringare centralnervös stimulering. Farmakokinetisk analys av synefrin i människa rapporterar maximal koncentration i blod vid 1-2 timmar efter oral dosering.

Det är viktigt att skilja mellan två förekommande positions-isomera former av synefrin. Den i pomerans-extrakt föreliggande isomeren har benämningen *p*-synefrin, men via andra källor - däribland kemisk syntes - kan *m*-synefrin erhållas. Enligt sammanvägda data från *in vitro*-baserade receptorbindnings- och aktivitetsbestämnings-studier är farmakologisk styrka hos den sistnämnda isomeren ungefär tio gånger högre via α_1 - (α_{1A} -AR) och fyra gånger högre via beta-adrenerga receptorer (β_2 -AR) än dito *p*-synefrin. Dessa fynd styrks för övrigt av strukturbiologiska analyser, som visar något sämre sterisk ligand-inpassning i adrenoreceptorer hos *p*-, relativt *m*-isomeren. Det är vidare rapporterat att *p*-synefrin är en s.k. partiell agonist, dvs maximal receptor-aktivering kan ej uppnås, emedan motstridiga uppgifter förekommer om huruvida *m*-isomeren är partiell eller full agonist. Enligt uppgifter i litteraturen är förekomst av *m*-synefrin i kosttillskott ovanlig, men har likväl identifierats. Mot bakgrund av avsevärd skillnad i styrka mellan dessa isomerer av synefrin, är dokumenterad förekomst av den starkare formen i kosttillskott en iakttagelse som icke må ignoreras i ett riskvärderingsperspektiv.

En rad experimentella studier, däribland dito med inriktning mot receptorbindning och strukturmolekylär receptorfarmakologi, tydliggör att synefrin binder till och funktionellt aktiverar ffa α_1 - och β -adrenerga receptorer. De i sammanhanget mest betydelsefulla funktionerna är vasokonstriktion, dvs sammandragande inverkan på blodkärl, av α_1 -receptorer samt inotrop (pumpkraft-ökande) och chronotrop (pulsökande) inverkan av ffa β_1 - men även β_2 -adrenerga receptorer i hjärtmuskel. I *ex-vivo* experiment på aorta från råttor, vilken i främsta hand uttrycker α_1 -adrenerga receptorer, noteras tydligt dosberoende effekt av *p*-synefrin men med ca två magnituder lägre styrka, relativt dito adrenalin. Obetydlig effekt noterades emellertid via α_2 -adrenoreceptorer (i frilagd ven från kanin). I cellulära *in vitro*-system, som bringats att uttrycka β_2 -adrenoreceptorer, rapporteras också dosberoende funktionell aktivering i ungefär samma styrke-område, relativt dito nor-adrenalin (0.01 ggr eller något lägre). Utöver tydliggörande av styrkerelation mellan *p*- och *m*-isomerer av synefrin samt vilka subtyper av adrenoreceptorer som är mottagliga för stimulering av substanserna, är det emellertid svårt att dra kvantitativa slutsatser från dessa rapporter rörande farmakologiskt verksamma doser av synefrin *in vivo*. Här kan t ex nämnas att uppgifter i litteraturen rörande *in vitro*- eller *ex vivo*-kvantitativ receptor-farmakologisk adrenerg stimulering av synefrin är undantagslöst baserade på mätning av s.k. cykliskt AMP (cAMP), vilket är en etablerad standard för denna kategori av receptorer och är knuten till aktivering av s.k. G_S -protein. Under senare tid har emellertid framkommit att adrenerg signaltransmission kan ske också via andra receptor-associerade proteiner, vilka normalt inte utgör del av assay-system för ligand-medierad aktivitet. Detta innebär att, ehuru cAMP sannolikt utgör en ganska god indikator för synefrins funktionella aktivitet, kvarstår ändå viss osäkerhet rörande fullständighet hos sådana bestämningar. Andra studier har dokumenterat inbindning av synefrin till serotonerga receptorer, vilka också förekommer i hjärtmuskel och koronar-artärer, men det är osäkert om detta har praktisk betydelse *in vivo*.

Akut administrering av mycket höga doser *p*-synefrin i mus resulterade - föga överraskande - i kraftig gifteffekt, ledande till konvulsioner och andnings-hämning. Värden av sådana studier för bedömning av risker förbundna med konsumtion hos människa är emellertid ringa. I mus/råttor har två studier, subkronisk respektive subakut, identifierats i litteraturen. Den förstnämnda (i mus) rapporterar dosberoende negativ viktpåverkan samt förändringar hos några blodspecifika parametrar, men i övrigt inga utstående fynd. Kardiovaskulära parametrar registrerades emellertid ej. Den subakuta studien utfördes i råttor och visar - intressant nog - att måttlig dosering av *p*-synefrin, som lägast motsvarande ungefär halva tillåtna dygnsdosen för människa, kan framkalla farmakologisk såväl som toxikologisk effekt, det sistnämnda manifesterat såsom hjärtarrytmi. Såsom nämns kortfattat ovan, under rubriken "Allmänt", finns grund i fysiologiska basfakta för försiktighet rörande konsumtion av adrenomimetika, inte

minst med avseende på risker för arrytmi i samband med sportaktivitet. Det kan förvisso vara så att råttor är ett generellt känsligare species för adrenerg påverkan, relativt människa, men ovan nämnda fynd är ändå viktigt att beakta.

Ganska fåtaliga kliniska studier av enbart synefrin (*p*-isomer) har identifierats i litteraturen. En sådan studie rapporterade en ganska tydlig trend - dock utan signifikans - till förhöjning av puls, samt systoliskt och diastoliskt blodtryck vid låg dosering (ca 14 mg). Ytterligare en klinisk studie, involverande väsentligt högre dosering (54 mg), utföll med signifikant förhöjning av samtliga ovanstående parametrar.

På marknaden förekommande synefrin-baserade kosttillskott innehåller i flertalet fall också koffein. Även en rad övriga komponenter kan ingå, men är sannolikt av ringare betydelse och diskuteras inte vidare här. I en klinisk studie noterades tillkomst av enstaka kardiovaskulär förändring med synefrin/koffein-kombination, relativt synefrin-innehållande singelkomponent-preparat. Ytterligare en studie jämförde koffein med synefrin/koffein och registrerade förstärkt kardiovaskulär inverkan hos kombinations-doserade försökspersoner. En väl designad och nyligen rapporterad klinisk studie av synefrin/koffein noterade ingen förändring av sådana parametrar, men synefrin-dosen var dock låg (13 mg). Ehuru data från skilda kliniska studier alltså sällan sammanfaller på detaljplanet, framstår det ändå överlag övertygande att kombinationen synefrin/koffein, i doser som förekommer i kosttillskott på marknaden, framkallar förstärkta kardiologiska effekter hos människa jämfört med enbart synefrin, i någon analogi med erfarenheter från tidigare förekommande koffein-adderade efedrin-formuleringar. Såsom nämns ovan är dokumentationen - inom såväl som utanför kliniska studier - rörande synefrin-effekter (inklusive dito synefrin/koffein) alltså heterogen. I den vetenskapliga litteraturen förekommer en rad artiklar, delvis av översiktskaraktär, författade av en forskargrupp med uppenbar koppling till synefrin som kosttillskott. Ehuru de har vetenskapligt läsvärde upplevs de ändå utgå från förutfattad uppfattning och det är överhuvudtaget svårt att befria sig från misstanken att detta har grund i den kommersiella anknytningen.

I litteraturen förekommer ett flertal rapporter rörande kliniskt patologiska episoder, med förmodad association till konsumtion av ffa synefrin/koffein-preparat. Den kliniska bedömningen av huruvida koppling till sådana preparat föreligger varierar, men här kan framhållas att några sådana fall har diagnosticerats såsom intrakraniell vasospasm, ett tillstånd med stark koppling till adrenerg stimulering. Redan år 2004 registrerade kanadensiska hälsomyndigheten 8 fall av biverkningar med misstänkt anknytning till konsumtion av synefrin- eller synefrin/koffein-innehållande kosttillskott (samt ytterligare 8 fall där efedrin utgjorde en tredje komponent) och fler fall har identifierats sedan den tiden. Sedermera har *Health Canada* publicerat riktlinjer för sådana preparat, innebärande en maximal dygnsdos om 30 mg synefrin eller octopamin, uteslutning av koffein i sådana formuleringar samt krav på medicinsk konsultation innan planerad konsumtion, överstigande åtta veckor, av ovan nämnda typ av kosttillskott.

Förespråkare i den vetenskapliga litteraturen av synefrin alternativt synefrin/koffein som viktminskande kosttillskott framhåller gärna den redan uppenbara överviktsproblematiken - vilken dessutom är tilltagande - i stora delar av världen samt att ovan nämnda preparationer kan bidra till att förbättra tillståndet. Det förstnämnda kan knappast motsägas, men det sistnämnda måste värderas samt vägas mot risker. I bl a mus och råttor har rapporterats påtaglig viktminskning, lipolytisk effekt samt s.k. termogen inverkan av synefrin. Synefrin-medierad lipolys har även dokumenterats *in vitro* i respektive art-specifika adipocyt-kulturer, emedan motsvarande humana cellkulturer har visat ytterst måttlig sådan respons. Väl designade kliniska studier rörande synefrin/koffein-medierad viktminskning hos människa är för övrigt glest förekommande. Den kanske mest tillförlitliga undersökningen redovisar ungefär 1.5 % genomsnittlig viktreduktion (placebo 0.9 %), efter 6 veckor. En kortare (2 veckor) och

sämre dokumenterad studie med synefrin, i kombination med extrakt av *P. cupana* och *G. biloba*, rapporterar viss viktsreduktion. Den sammantagna bilden beskriver alltså viktminskning hos människa som är närmare ringa än måttlig, via konsumtion av synefrin/koffein. I den vetenskapliga litteraturen framhålls ibland att synefrin skulle vara en tämligen specifik stimulerare av (lipolytiska) β_3 -adrenoreceptorer och därmed ett idealiskt viktminskings-agens genom i stort sett obefintlig aktivitet på övriga adrenoreceptorer. Den adrenergt stimulerande styrkan hos synefrin på receptornivå kan förefalla måttlig, men den sammanvägda bilden av såväl fundamentalt orienterade som kliniska studier ger inget stöd till föreställningen att (vaskulära) α_1 - eller (myokardiella) β_1 och β_2 -adrenoreceptorer skulle vara undandragna inverkan av synefrin.

Det finns ett väl dokumenterat samband mellan övervikt hos människa, särskilt uttalad sådan, och förhöjt fysiologiskt sympatikuspåslag. Detta innebär en hos många hotande eller redan påbörjad organskada, sannolikt som resultat av viktuppgång. Ytterligare tillförsel av adrenergt verkande substanser till dem framstår därmed såsom förstärkning av ett redan ogynnsamt tillstånd. För övrigt är en betydande andel av befolkningen drabbad av hjärtsvikt och/eller hypertoni; många bland de diagnosticerade fallen behandlas framgångsrikt - ofta kroniskt - med β -adrenoreceptor-blockerande farmakoterapi. Det är uppenbart att denna ganska breda patientkategori är olämplig för synefrin-konsumtion. Avslutningsvis kan framhållas att synefrin och synefrin/koffein också kan diskuteras i ett farmakogenetiskt perspektiv. Polymorfi hos humana adrenoreceptorer är väl dokumenterat och somliga ganska vanligt förekommande varianter har - *in vitro* och *in vivo* - visat förhöjd ligand-känslighet. Potentiella risker förbundna med konsumtion av synefrin och uttryck av sådana alleler må ej överdrivas, men det kan i dagsläget ändå inte uteslutas att en fraktion av befolkningen - via ovan nämnda kausalitet - har något förhöjd mottaglighet för adrenomimetika.

KONKLUSION

Fundamentalt orienterad vetenskaplig dokumentation fastslår att synefrin (*p*- och *m*-isomerer) kan binda till samt aktivera adrenerga receptorer, ffa av typer α_1 och β . Dessa observationer finner för övrigt stöd i försöksdjursmodeller samt i fynd från kliniska studier. Den sistnämnda kategorin av undersökningar visar dessutom adrenergt stimulerande inverkan av *p*-synefrin och *p*-synefrin/koffein, manifesterat såsom kardiovaskulär stimulering, hos människa redan vid måttlig oral exponering. Litteraturen är heterogen med avseende på kardiovaskulär dosrespons i människa, men effekter av monokomponent-preparat (*p*-synefrin) noteras fr o m ungefär 20 mg och vid 50 mg är inverkan tydlig på puls samt systoliskt och diastoliskt blodtryck. Kombinationen synefrin/koffein ger överlag kraftigare kardiovaskulär påverkan.

Synefrin- (och synefrin/koffein) innehållande kosttillskott marknadsförs bl a som viktminskings- och prestationsförhöjande preparat. Resultat från studier i somliga djurarter, däribland råttor, visar ganska tydlig och dosberoende viktreduktion, men effekten hos människa framstår som ringa. Inverkan av motsvarande formuleringar på sportutövning är varierande, enligt litteraturen, men viss prestationsförhöjande inverkan kan inte uteslutas. Nyttan av synefrin och synefrin/koffein, i främsta hand värderad med avseende på viktminskning, må sålunda vägas mot riskerna. De sistnämnda är - enligt bedömningen i föreliggande rapport - i allt väsentligt av kardiovaskulär natur, enligt sammanfattning under närmast föregående rubrik, ovan. Mot bakgrund av generell kunskap rörande adrenergt stimulering och adrenomimetika samt i värderingen konsulterad litteratur rörande synefrin- och synefrin/koffein-medierade effekter i skilda experimentella system, jämväl kliniska studier och biverkningsrapporter, bedöms risk överväga nytta hos det aktuella regelverket, innebärande maximal

dygnsdos synefrin om 160 mg, men i övrigt utan reglering och utan restriktioner rörande kombination med t ex koffein. Hälsoriskernas allvarliga natur, inklusive bestående invaliditet och t.o.m. dödlig utgång, har stor inverkan på bedömningen. Konsumtion i samband med ffa högpresterande fysisk aktivitet ökar riskerna. Den övre gränsen för dygnsexponering upplevs såsom alltför hög, ungefär 20 % - 25 % av densamma skulle kunna innebära acceptabel säkerhet. Förstärkta kardiovaskulära effekter av synefrin och koffein, formulerade i kombination, är också ett memento. Kanadensiska hälsomyndigheten har uppmärksammat detta och införde år 2010 en riktline för synefrin, octopamin och koffein-blandningar av dessa substanser. Den sammanvägda risk/nyttovärderingen i föreliggande rapport ansluter väl till innehållet i den kanadensiska riktlinjen²⁵.

Synefrin i extrakt av pomeransskal (*Citrus aurantium*) föreligger som positionsisomeren *p*-synefrin, men en alternativ isomer - *m*-synefrin - kan förvärfvas via andra källor. Sistnämnda isomer har ungefär tio (α_{1A} -AR) och fyra gånger (β_2 -AR) kraftigare effekt, relativt dito *para*, och är dessutom placerad på läkemedelsmarknaden; sporadisk förekomst i kosttillskott har rapporterats. Det bedöms sålunda angeläget att tillverkare och/eller distributörer åläggs krav på isomer-specifik (*p*-synefrin) märkning.

LITTERATUR

1. Docherty, J.R. Pharmacology of stimulants prohibited by the World Anti-Doping Agency (WADA). *Br J Pharmacol* **154**, 606-622 (2008).
2. Shekelle, P., Hardy, M.L., Morton, S.C. *et al.* Ephedra and ephedrine for weight loss and athletic performance enhancement: clinical efficacy and side effects. *Evid Rep Technol Assess (Summ)*, 1-4 (2003).
3. FDA, Vol. 69 6787-6854 (Federal Register, 2004).
4. Rothman, R.B., Vu, N., Partilla, J.S. *et al.* In vitro characterization of ephedrine-related stereoisomers at biogenic amine transporters and the receptorome reveals selective actions as norepinephrine transporter substrates. *J Pharmacol Exp Ther* **307**, 138-145 (2003).
5. Ma, G., Bavadekar, S.A., Davis, Y.M. *et al.* Pharmacological effects of ephedrine alkaloids on human alpha(1)- and alpha(2)-adrenergic receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* **322**, 214-221 (2007).
6. Ellis, J.D., German, C.L., Birdsall, E. *et al.* Ephedrine decreases vesicular monoamine transporter-2 function. *Synapse* **65**, 449-451 (2011).
7. Jordan, S., Murty, M. & Pilon, K. Products containing bitter orange or synephrine: suspected cardiovascular adverse reactions. *Can Adv React Newsl* **14**, 3-4 (2004).
8. Jack, S., Desjarlais-Renaud, T. & Pilon, K. Bitter orange or synephrine: update on cardiovascular adverse reactions. *Can Adv React Newsl* **17**, 2-3 (2007).
9. Haller, C.A., Benowitz, N.L. & Jacob, P., 3rd Hemodynamic effects of ephedra-free weight-loss supplements in humans. *Am J Med* **118**, 998-1003 (2005).
10. World Anti-Doping Agency (WADA) <http://www.wada-ama.org/en/>. Accessed on 2012-04-16.
11. Sander, L.C., Putzbach, K., Nelson, B.C. *et al.* Certification of standard reference materials containing bitter orange. *Anal Bioanal Chem* **391**, 2023-2034 (2008).
12. Pellati, F., Benvenuti, S., Melegari, M. & Firenzuoli, F. Determination of adrenergic agonists from extracts and herbal products of *Citrus aurantium* L. var. *amara* by LC. *J Pharm Biomed Anal* **29**, 1113-1119 (2002).

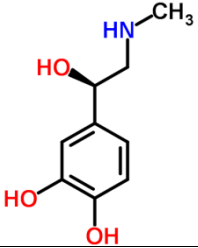
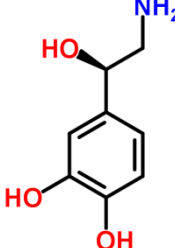
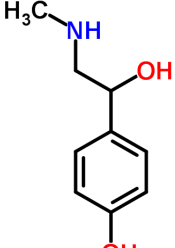
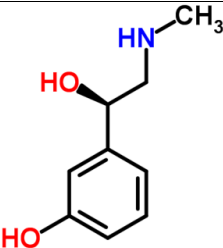
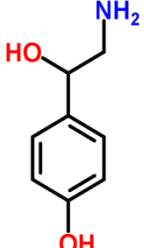
13. Pellati, F., Benvenuti, S. & Melegari, M. Enantioselective LC analysis of synephrine in natural products on a protein-based chiral stationary phase. *J Pharm Biomed Anal* **37**, 839-849 (2005).
14. Kusu, F., Matsumoto, K., Arai, K. & Takamura, K. Determination of synephrine enantiomers in food and conjugated synephrine in urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Biochem* **235**, 191-194 (1996).
15. Santana, J., Sharpless, K.E. & Nelson, B.C. Determination of *para*-synephrine and *meta*-synephrine positional isomers in bitter orange-containing dietary supplements by LC/UV and LC/MS/MS. *Food Chem* **109**, 675-682 (2008).
16. Allison, D.B., Cutter, G., Poehlman, E.T. *et al.* Exactly which synephrine alkaloids does *Citrus aurantium* (bitter orange) contain? *Int J Obes (Lond)* **29**, 443-446 (2005).
17. Brown, C.M., McGrath, J.C., Midgley, J.M. *et al.* Activities of octopamine and synephrine stereoisomers on alpha-adrenoceptors. *Br J Pharmacol* **93**, 417-429 (1988).
18. US National Toxicology Program (NTP), US National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) and US National Institutes of Health (NIH): Bitter orange (*Citrus aurantium* var. *amara*) extracts and constituents (±)-p-synephrine [CAS No. 94-07-5] and (±)-p-octopamine [CAS No. 104-14-3]; Review of toxicological literature. pp.1-73 (2004).
19. Medical Products Agency (MPA) Uppsala. <http://www.lakemedelsverket.se/>. Accessed on 2012-03-25.
20. European Medicines Agency (EMA) London. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=/pages/home/Home_Page.jsp. Accessed on 2012-03-25.
21. DrugBank: Open data & drug target database. (David Wishart, University of Alberta). <http://www.drugbank.ca/>. Accessed on 2012-03-25.
22. Wishart, D.S., Knox, C., Guo, A.C. *et al.* DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res* **36**, D901-906 (2008).
23. ClinicalTrials.gov; US National Institutes of Health (NIH) <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01423019>. Accessed on 2012-03-25.
24. European Chemicals Agency (ECHA) Helsingfors. <http://echa.europa.eu/>. Accessed on 2012-03-25.
25. Health Canada. <http://www.phac-aspc.gc.ca/index-eng.php>. Accessed on 2012-04-12.
26. Rosell, S. & Danielsson, B. Farmakologiska principer. Lärobok i farmakologi för högskolan. Sveriges tandläkarförbunds förlagsförening, Stockholm (1975).
27. Andrade, R., Barnes, N.M., Baxter, G. *et al.* IUPHAR database: 5-Hydroxytryptamine receptors. <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/FamilyMenuForward?familyId=1>. Accessed on 2012-04-10.
28. Brodde, O.E., Bruck, H., Leineweber, K. & Seyfarth, T. Presence, distribution and physiological function of adrenergic and muscarinic receptor subtypes in the human heart. *Basic Res Cardiol* **96**, 528-538 (2001).
29. Heusch, G. The paradox of alpha-adrenergic coronary vasoconstriction revisited. *J Mol Cell Cardiol* **51**, 16-23 (2011).
30. Inchiosa, M.A. Experience (mostly negative) with the use of sympathomimetic agents for weight loss. *J Obes* **2011** (2011).
31. Kaumann, A.J. & Levy, F.O. 5-hydroxytryptamine receptors in the human cardiovascular system. *Pharmacol Ther* **111**, 674-706 (2006).
32. Hibino, T., Yuzurihara, M., Kase, Y. & Takeda, A. synephrine, a component of *Evodiae Fructus*, constricts isolated rat aorta via adrenergic and serotonergic receptors. *J Pharmacol Sci* **111**, 73-81 (2009).

33. Hibino, T., Yuzurihara, M., Kanno, H. *et al.* Goshuyuto, a traditional Japanese medicine, and aqueous extracts of *Evodiae Fructus* constrict isolated rat aorta via adrenergic and/or serotonergic receptors. *Biol Pharm Bull* **32**, 237-241 (2009).
34. Davis, E., Loiacono, R. & Summers, R.J. The rush to adrenaline: drugs in sport acting on the beta-adrenergic system. *Br J Pharmacol* **154**, 584-597 (2008).
35. Kobilka, B.K. Structural insights into adrenergic receptor function and pharmacology. *Trends Pharmacol Sci* **32**, 213-218 (2011).
36. Reiter, E. & Lefkowitz, R.J. GRKs and beta-arrestins: roles in receptor silencing, trafficking and signaling. *Trends Endocrinol Metab* **17**, 159-165 (2006).
37. Perez, D., Hébert, T., Cotecchia, S. *et al.* IUPHAR database: Adrenoreceptors. <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/FamilyMenuForward?familyId=4>. Accessed on 2012-04-10.
38. Strader, C.D., Gaffney, T., Sugg, E.E. *et al.* Allele-specific activation of genetically engineered receptors. *J Biol Chem* **266**, 5-8 (1991).
39. Javitch, J.A., Ballesteros, J.A., Weinstein, H. & Chen, J. A cluster of aromatic residues in the sixth membrane-spanning segment of the dopamine D2 receptor is accessible in the binding-site crevice. *Biochemistry* **37**, 998-1006 (1998).
40. Strader, C.D., Candelore, M.R., Hill, W.S. *et al.* Identification of two serine residues involved in agonist activation of the beta-adrenergic receptor. *J Biol Chem* **264**, 13572-13578 (1989).
41. Liapakis, G., Ballesteros, J.A., Papachristou, S. *et al.* The forgotten serine. A critical role for Ser-2035.42 in ligand binding to and activation of the beta 2-adrenergic receptor. *J Biol Chem* **275**, 37779-37788 (2000).
42. Liapakis, G., Chan, W.C., Papadokostaki, M. & Javitch, J.A. Synergistic contributions of the functional groups of epinephrine to its affinity and efficacy at the beta2 adrenergic receptor. *Mol Pharmacol* **65**, 1181-1190 (2004).
43. Johnson, J.A. & Liggett, S.B. Cardiovascular pharmacogenomics of adrenergic receptor signaling: clinical implications and future directions. *Clin Pharmacol Ther* **89**, 366-378 (2011).
44. Brodde, O.E. Beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms and cardiovascular diseases. *Fundam Clin Pharmacol* **22**, 107-125 (2008).
45. Kaumann, A.J. Do human atrial 5-HT4 receptors mediate arrhythmias? *Trends Pharmacol Sci* **15**, 451-455 (1994).
46. Costenla, A.R., Cunha, R.A. & de Mendonca, A. Caffeine, adenosine receptors, and synaptic plasticity. *J Alzheimers Dis* **20 Suppl 1**, S25-34 (2010).
47. Donnerstein, R.L., Zhu, D., Samson, R. *et al.* Acute effects of caffeine ingestion on signal-averaged electrocardiograms. *Am Heart J* **136**, 643-646 (1998).
48. Ilback, N.G., Siller, M. & Stalhandske, T. Evaluation of cardiovascular effects of caffeine using telemetric monitoring in the conscious rat. *Food Chem Toxicol* **45**, 834-842 (2007).
49. Ma, G., Bavadekar, S.A., Schaneberg, B.T. *et al.* Effects of synephrine and beta-phenethylamine on human alpha-adrenoceptor subtypes. *Planta Med* **76**, 981-986 (2010).
50. Hwa, J. & Perez, D.M. The unique nature of the serine interactions for alpha 1-adrenergic receptor agonist binding and activation. *J Biol Chem* **271**, 6322-6327 (1996).
51. Jordan, R., Midgley, J.M., Thonoor, C.M. & Williams, C.M. Beta-adrenergic activities of octopamine and synephrine stereoisomers on guinea-pig atria and trachea. *J Pharm Pharmacol* **39**, 752-754 (1987).
52. Carpené, C., Galitzky, J., Fontana, E. *et al.* Selective activation of beta3-adrenoceptors by octopamine: comparative studies in mammalian fat cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **359**, 310-321 (1999).

53. Tavernier, G., Barbe, P., Galitzky, J. *et al.* Expression of beta3-adrenoceptors with low lipolytic action in human subcutaneous white adipocytes. *J Lipid Res* **37**, 87-97 (1996).
54. Song, D.K., Suh, H.W., Jung, J.S. *et al.* Antidepressant-like effects of *p*-synephrine in mouse models of immobility tests. *Neurosci Lett* **214**, 107-110 (1996).
55. Kim, K.W., Kim, H.D., Jung, J.S. *et al.* Characterization of antidepressant-like effects of *p*-synephrine stereoisomers. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **364**, 21-26 (2001).
56. Arbo, M.D., Schmitt, G.C., Limberger, M.F. *et al.* Subchronic toxicity of *Citrus aurantium* L. (Rutaceae) extract and *p*-synephrine in mice. *Regul Toxicol Pharmacol* **54**, 114-117 (2009).
57. Calapai, G., Firenzuoli, F., Saitta, A. *et al.* Antiobesity and cardiovascular toxic effects of *Citrus aurantium* extracts in the rat: a preliminary report. *Fitoterapia* **70**, 586-592 (1999).
58. Huang, Y.T., Lin, H.C., Chang, Y.Y. *et al.* Hemodynamic effects of synephrine treatment in portal hypertensive rats. *Jpn J Pharmacol* **85**, 183-188 (2001).
59. McGregor, D.B., Riach, C.G., Brown, A. *et al.* Reactivity of catecholamines and related substances in the mouse lymphoma L5178Y cell assay for mutagens. *Environ Mol Mutagen* **11**, 523-544 (1988).
60. Penzak, S.R., Jann, M.W., Cold, J.A. *et al.* Seville (sour) orange juice: synephrine content and cardiovascular effects in normotensive adults. *J Clin Pharmacol* **41**, 1059-1063 (2001).
61. Bui, L.T., Nguyen, D.T. & Ambrose, P.J. Blood pressure and heart rate effects following a single dose of bitter orange. *Ann Pharmacother* **40**, 53-57 (2006).
62. Hoffman, J.R., Kang, J., Ratamess, N.A. *et al.* Thermogenic effect from nutritionally enriched coffee consumption. *J Int Soc Sports Nutr* **3**, 35-41 (2006).
63. Haller, C.A., Duan, M., Jacob, P., 3rd & Benowitz, N. Human pharmacology of a performance-enhancing dietary supplement under resting and exercise conditions. *Br J Clin Pharmacol* **65**, 833-840 (2008).
64. Seifert, J.G., Nelson, A., Devonish, J. *et al.* Effect of acute administration of an herbal preparation on blood pressure and heart rate in humans. *Int J Med Sci* **8**, 192-197 (2011).
65. Colker, C.M., S., K.D., Torina, G.C. *et al.* Effects of *Citrus aurantium* extract, caffeine, and St. John's Wort on body fat loss, lipid levels, and mood states in overweight healthy adults. *Curr Ther Res* **60**, 145-153 (1999).
66. Nasir, J.M., Durning, S.J., Ferguson, M. *et al.* Exercise-induced syncope associated with QT prolongation and ephedra-free Xenadrine. *Mayo Clin Proc* **79**, 1059-1062 (2004).
67. Stephensen, T.A. & Sarlay, R., Jr. Ventricular fibrillation associated with use of synephrine containing dietary supplement. *Mil Med* **174**, 1313-1319 (2009).
68. Nykamp, D.L., Fackih, M.N. & Compton, A.L. Possible association of acute lateral-wall myocardial infarction and bitter orange supplement. *Ann Pharmacother* **38**, 812-816 (2004).
69. Thomas, J.E., Munir, J.A., McIntyre, P.Z. & Ferguson, M.A. STEMI in a 24-year-old man after use of a synephrine-containing dietary supplement: a case report and review of the literature. *Tex Heart Inst J* **36**, 586-590 (2009).
70. Bouchard, N.C., Howland, M.A., Geller, H.A. *et al.* Ischemic stroke associated with use of an ephedra-free dietary supplement containing synephrine. *Mayo Clin Proc* **80**, 541-545 (2005).
71. Holmes, R.O., Jr. & Tavee, J. Vasospasm and stroke attributable to ephedra-free xenadrine: case report. *Mil Med* **173**, 708-710 (2008).
72. Moaddeb, J., Tofade, T.S. & Bevins, M.B. Hypertensive Urgency Associated With Xenadrine EFX Use. *J Pharm Pract* (2011).
73. Retamero, C., Rivera, T. & Murphy, K. "Ephedra-free" diet pill-induced psychosis. *Psychosomatics* **52**, 579-582 (2011).

TABELL 1

Trivialnamn CAS RN Strukturformel

Adrenalin	51-43-4	
Nor-adrenalin	138-65-8	
<i>p</i>-synefrin	94-07-5	
<i>m</i>-synefrin	59-42-7	
Octopamin	104-14-3	
Efedrin	299-42-3	