**بررسی اثرهارمالین بر میزان آنزیم های آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز و میزان آلبومین در موشهای سالم و دیابتی شده با استرپتوزوتوسین**

**سحر ملزمی(ms.c)۱، ناهید بلبل حقیقی(ms.c)۲\* ، هانیه قدرتی نیا(m.d)۳  امید مریدپور (m.o9d ) ۴**

۱- مربی ، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشكده علوم پزشكی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران

۲-گروه مامایی، دانشكده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشكی شاهرود، شاهرود، ایران

۴ و۳- گروه مهندسی پرتوپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شاهرود، شاهرود، ایران

**چكيده:**

**مقدمه:** در دنیای امروز دیابت یکی از شایع ترین بیماری ها بوده و اثرات مخرب فراوانی بر بدن می گذارد و باعث ایجاد رادیکال آزاد در بدن می شود. یکی از ارگان های مهم بدن که متابولیسم و آنالیز هورمون ها و مواد مختلف در بدن را بر عهده دارد کبد (بزرگترین غده بدن )است از این رو برای مقابله با اثرات مخرب دیابت و تاثیر آن بر برخی آنزیم های کبدی نیاز به آنتی اکسیدان قوی بوده که در این تحقیق سعی در بررسی اثرات هارمالین بر آلبومین و برخی آنزیم های کبدی خواهیم کرد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه 35 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار، با محدوده وزنی 2۰0-180 گرم به 5 گروه 7 تایی در گروه های کنترل (که همزمان با دیابتی شدن موشها بافر سیترات دریافت کردند)، گروه شاهد (دیابتی، با mg/kg55 استرپتوزوتوسین که بصورت درون صفاقی دیابتی شدند)، گروه تجربی1 (دیابتی و دریافت دارو بصورت زیر جلدی با دوز 10 میلی گرم بر کیلوگرم هارمالین ) و گروه تجربی2 (دیابتی و دریافت دارو بصورت زیر جلدی با دوز 15 میلی گرم بر کیلوگرم هارمالین) و گروه تجربی3 (دیابتی و دریافت دارو بصورت زیر جلدی با دوز 20 میلی گرم بر کیلوگرم هارمالین)تقسیم شدند و سپس بعد از گذشت دو ماه دیابتی شدن موشها دارو با دوزهای مختلف بصورت زیر جلدی به مدت 2 هفته تزریق شد.بعد از آن موشها را با کتامین و زایلیزین بیهوش کرده خونگیری مستقیم از قلب انجام داده و بعد از جداسازی سرم برای سنجش آنزیم های کبدی و آلبومین ،نمونه ها را تحویل آزمایشگاه گردید.

**نتایج :** در اين بررسي کاهش معنی داری در میزان آلبومین گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل و همچنین افزایش معنی داری در میزان آنزیم هایSGOT و SGPT در گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده گرديد.

**نتیجه گیری:** اين تحقيق نشان داد كه مصرف هارمالین باعث بر هم زدن تعادل آنزیم های کبدی و افزایش میزان آلبومین خون در موشهای سالم گردید و در گروه دیابتی هرچه دوز دارو افزایش یافت میزان آنزیم های کبدی نیز افزایش یافت.

**کلمات کلیدی:** هارمالین، بافت کبد، موش صحرايي رت، نژاد ويستار

**The effect harmaline on the enzymes SGOT and SGPT and albumin in normal and diabetic rats with streptozotocin**

Sahar molzemi 1nahid Bolbolhaghighi 2 \* hanie ghodrati nia3 omid morid pur4

1- Lecturer **,**School of Medical Sciences, Islamic Azad University, Shahrood Branch, Shahrood, Iran

**2-** Department of Nursing and Midwifery, School of Nursing and Midwifery, Shahroud University of

Medical Sciences, Shahroud, Iran.

3,4- Department of medical radiation engineering, Islamic Azad University Shahrood, Shahroud, Iran

\* Corresponding author. Tel: +989192739255;

*E-mail* address: nbhaghighi349@yahoo.com

Abstract:

**Introduction** **:** In the world today, diabetes is one of the most common diseases and has a devastating effect on the body and causes free radicals in the body. One of the most important organs in the body that metabolizes and analyzes hormones and various substances in the body is the liver (the largest body of the body). Therefore, in order to cope with the damaging effects of diabetes and its effect on some liver enzymes, strong antioxidants In this study, we will try to study the effects of Harmaline on albumin and some liver enzymes.

**Materials and Methods:** n this study, 35 Wistar male Wistar rats weighing 200-180 g were divided into 5 groups of 7 in control groups (receiving diabetic rats with citrate buffer simultaneously), control group (diabetic, 55 mg / kg streptozotocin Diabetic and diabetic intraperitoneally), experimental group 1 (diabetic and subcutaneously receiving 10 mg / kg of Harmaline) and experimental group 2 (diabetic and receiving subcutaneous dose of 15 mg / kg of Harmaline) and experimental group 3 (Diabetic and received subcutaneous drug at a dose of 20 mg / kg of Harmaline) and then, after two months, the mice were diabetic Different doses were injected subcutaneously for 2 weeks

**Results:** In this study, a significant decrease was observed in the amount of albumin in experimental groups compared to control group and a significant increase was observed in the amount of SGOT and SGPT enzymes in experimental groups compared to control group. In experimental diabetic groups, the amount of albumin has also shown no significant changes relative to other diabetic groups.

**Conclusion:** This study has shown that oral intake of Harmaline has changed the balance of liver enzymes and increased blood albumin in healthy rats, while liver enzymes increased in diabetic groups as dosage increased.

**Keywords:** Harmaline ; Albumin; Liver Enzymes

**مقدمه:**

هارمالین (هارمیدین، هارمالول میتل به فرمولC13H14N2O ، به وزن مولکولی 214.263 g/mol و با نام علمیmethoxy-1-methyl-4,9-dihydro-3H-pyrido[3,4-b]indole- ۷ است)، از دانه اسپند P.h) ) و همچنین از دانه دیگری به نام Banisteria caapi spruce که از تیره Malpighia ceae است استخراج و مشابهت این ماده با هارمیدین در سال 1965 توسط Robinson محقق گردید. و نشر آن توسط Spath و Lederer انجام شد(۱). هارمالین اولین بار توسط (Gobe (Goegel ) در سال 1841 از ریشه دانه های اسپند جدا شده و عمده ترین آلکالوئید اسفند است(۲و۳). در سال1930 اولین بار توسط Hasenfratz سنتز شد بلورهای آن بصورت منشورهای بیرنگ و یا زرد کم رنگ بوده و از نظر نوری غیرفعال هستند. بطور جزئی در آب، الکل و اتر حل میشود، در الکل داغ و اسیدهای رقیق کاملاً محلول است.(۴) فرم هیدروکلراید آن بصورت بلورهای سوزنی شکل زرد رنگ بوده و نسبتاً در آب محلول است و در اثر اکسایش به هارمین در اثر احیاء به مشتق تتراهیدرو تبدیل میشود(۵و۶).

نوشیدنی که به طور سنتی در آمریکای جنوبی از گیاه B.Caapi و گیاهان توهم زا دیگر تهیه میشود حاوی آلکالوئیدN,Nدی متیل تریپتامین است(۷و ۸). استفاده از گیاهان حاوی آلکالوئید N,N-دی متیل تریپتامین DMT) ) عامل توهم زا باعث ابتلا به بیماری روانی می شود. با این حال مصرف خوراکی آن تا دوز1000 میلی گرم غیرفعال است. تزریق بیش از 25 میلی گرم آن اثر روانگردانی دارد(۹و ۱۰). آلکالوئیدها باعث متابولیزه کردن مونوآمین اکسیداز به متابولیت های غیرفعال میشوند. ساقه و پوست گیاه B.caapi نیز دارای بتا کربولین هارمین و هارمالین است(۱۱). این بتا کربولین ها رونگردان نیستند، اما آنها آنزیم مونوآمین اکسیداز را مهار می کنند. ترکیباتی از هر دو گیاه B.caapi و اسپند منجر به آثار روانگردانی می شود. گیاه اسپند در یک مرد 25 ساله مبتلا به دیابت بعد از مصرف عصاره گیاهی باعث مرگش شد. در خون او حاوی N,Nدی متیل-تریپتامین و بتاکربولین ها بود. علاوه بر این در خون 5-متوکسی N,N- دی متیل تریپتامین شناسایی شد که در گیاه اسفند وجود ندارد، بنابراین گیاه اسپند نمی تواند مسمومیت کشنده ایجاد کند. N,N- دی متیل-تریپتامین و بتاکربولین ها معمولاً باعث بیماری جدی نمی شوند و زندگی را تهدید نمی کنند، و مصرف دوزهای بالینی و مجاز آنها می تواند اثرات قابل توجهی در رفتار و کبد داشته باشد(۱۱). افراد دیابتی زیادی از هارمالین و عصاره اسپند برای شل کننده عضلانی استفاده می کنند. با توجه به اینکه دیابت باعث بر هم زدن تعادل آنزیم های کبدی و متابولیسم بدن می شود، بر آن شدیم که به بررسی اثر هارمالین بر برخی آنزیم های کبدی و آلبومین خون افراد سالم و دیابتی بپردازیم.

هارمالین از سد خونی مغزی عبور میکند در نتیجه میتواند کولین استراز مغزی را نیز مهار و باعث افزایش استیل کولین در مغز شود که افراد زیادی برای درمان سختی عضلانی از عصاره اسپند بعنوان شل کننده عضلانی استفاده میکنند(۱۱)

لذا با توجه به اینکه دارو در کبد متابولیزه می شود ، بر آن شدیم که در طی پژوهشی به بررسی اثر مصرف هارمالین برخی آنزیم های کبدی و آلبومین خون در موش صحرایی نر نژاد ویستار بپردازیم.

مواد و روش ها:

در این مطالعه از ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ ، نژاد ویستار با محدوده وزنی 20 ± 200 ، خریداری شده از موسسه پاستور آمل استفاده گردید . نمونه ها به منظور انطباق با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش، در محیط آزمایشگاه با دمای 2 ± 22 درجه سلسیوس قرار گرفته و به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند.

سپس موش ها به طور تصادفی به8 گروه ده تایی تقسیم شدند :

1-گروه كنترل : شامل ۷ سر موش كه به منظور حفظ تعادل بافر سیترات را بصورت درون صفاقی دریافت کردند.

2-گروه شاهد : شامل ۷ سر موش که با دوز mg/kg55 استرپتوزوتوسین که بصورت درون صفاقی دیابتی شدند .

3-گروه تجربي اول : شامل۷ سر موش که پس از گذشت دو ماه از دیابتی شدن دریافت دارو بصورت زیر جلدی با دوز 10 میلی گرم بر کیلوگرم هارمالین دریافت کردند.

4-گروه تجربي دوم : شامل۷ سر موش که پس از گذشت دو ماه از دیابتی شدن دریافت دارو بصورت زیر جلدی با دوز 1۵ میلی گرم بر کیلوگرم هارمالین دریافت کردند.

5-گروه تجربی سوم : شامل۷ سر موش که پس از گذشت دو ماه از دیابتی شدن دریافت دارو بصورت زیر جلدی با دوز ۲0 میلی گرم بر کیلوگرم هارمالین دریافت کردند.

در پایان پس از بیهوشی با مخلوط کتامین – زایلاز ین از تمام نمونه ها خون گیری از قلب به عمل آمده و سرم بدست آمده برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی به آزمایشگاه انتقال یافت. خون گرفته شده درون لوله آزمایش ریخته شده و در دمای آزمایشگاه به مدت 10 دقيقه قرار گرفت، تا تشکیل لخته دهد.

نمونه ها به مدت 15دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با دور rpm 4000 قرارگرفتند، تا سرم آنها جدا شود.

سرم ها توسط سمپلر به لوله های اپندروف شماره گذاری شده منتقل گردیده و در فریزر 20 درجه سانتی گراد قرار گرفتند . سپس نمونه ها جهت اندازه گیری میزان آلبومین سرم تحویل آزمایشگاه گردید.

اندازه گیری آلبومین بوسیله کیت آلبومین شرکت پارس آزمون به روش فتومتریک انجام شد. ملزمی و همکارانش در مقاله ای تحت عنوان بررسی اثر خوراکی ریتالین بر میزان آلبومین خون و برخی آنزیم های کبدی بیان داشتند که مصرف خوراکی ریتالین باعث بر هم زدن تعادل آنزیم های کبدی و افزایش میزان آلبومین خون گردید و در تحقیق آنها تقسیم بندی گروه ها با تقسیم بندی گروه های تحقیق حاضر یکسان بوده است( ۱۲ )

آنالیز آماری:

برای بررسی تغییرات آنزیم های کبدی و میزان آلبومین در گروه های مختلف براساس آزمون One way anova و آزمون تکمیلی Tukey تحت نرم افزار آماری spss با یکدیگر مقایسه شدند. نتایج آزمایش ها به صورتMean±SD گزارش شد. مرز استنتاج آماری نتایج( 05/0≥ P)و( 001/0≥ P) و( 01/0≥ P) در نظر گرفته شد. نهایتا هیستوگرام های مربوطه با استفاده از نرم افزار Excel2010 رسم گردید.

نتایج:

جدول 1 کلیه اعداد مربوط به تغییرات آلبومین و آنزیم های کبدی را نیز نشان می دهد.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **پارامترها** | **آسپارتات آمينو ترانسفراز سرم U/L SGOT** | **آلانين آمينو تراسفراز سرم U/L SGPT** | **آلبومين سرم g/dl** |
| **كنترل** | **2/4 ± 02/70** | **43/4 ± 4/55** | **06/0± 54/0** |
| **شاهد** | **\*\*2/3 ± 04/82** | **\*\*۰۳ /3 ± 4/79** | **\*۰۱/0± 7/0** |
| **تجربي۱** | **\*8/4±۳/۸۵** | **\*۲/2 ± 5/۸۳** | **\*04/0± ۷6/0** |
| **تجربي۲** | **\*\*۹/۳ ۴۳±/۸۸** | **\*\*6/۱ ± 6/۸۵** | **\*\*05/0± ۷8/0** |
| **تجربی۳** | **\*\*۴ ± ۶7/۸۹** | **\*\*۰۱/۴ ± 1/۸۷** | **\*\*۰۱/0 ± ۸۲/0** |

نمودار 1، مقایسهمیانگین ± انحراف معیار تغييرات آلبومين بین گروه های مورد ارزیابی را نتایج نشان می دهد ، افزایش معنی داری در مقدار آلبومين سرم شاهد نسبت به كنترل مشاهده گردید و افزایش معنی داری در مقدار آلبومين سرم ، در گروه های تجربی نسبت به كنترل و شاهد دیده شد . (علامت \*\* و \*\*\* نشان دهندۀ معنی دار بودن بین گروه های مورد بررسی در سطح 05/0≥ P و 001/0≥ P می باشد).

نمودار2، مقایسهمیانگین ± انحراف معیار تغييراتSGPT بین گروه های مورد ارزیابی را نتایج نشان می دهد ، افزايش معنی داری در مقدار SGPT سرم شاهد نسبت به كنترل مشاهده گردید و افزایش معنی داری در در مقدار SGPT سرم ، در گروه های تجربی نسبت به كنترل و شاهد دیده شد . (علامت \*\* و \*\*\* نشان دهندۀ معنی دار بودن بین گروه های مورد بررسی در سطح 05/0≥ P و 001/0≥ P می باشد).

نمودار3،مقایسهمیانگین ± انحراف معیار تغييراتSGOT بین گروه های مورد ارزیابی نتایج نشان می دهد ، افزايش معنی داری در مقدار SGOT سرم گروه شاهد نسبت به كنترل مشاهده گردید و همچنین افزایش معنی داری در مقدار SGOT ، گروه های تجربی نسبت به كنترل دیده شد . (علامت \*\* و \*\*\* نشان دهندۀ معنی دار بودن بین گروه های مورد بررسی در سطح 05/0≥ P و 001/0≥ P می باشد).

بحث:

هارمالین از مشتقات بتا کربولین بوده و در برخی از دوزها منجر به اختلال در حرکات مهارتی گردیده، لرزش عضلانی ایجاد می­کند، اکثر این اختلالات نتیجه اثر هارمالین بر مسیر زیتونی مخچه­ای است، این مولکول­ها با اثر بر نورون­های مخچه که همزمان و منظم عمل می­کنند، درعملکرد مخچه اختلال بوجود می­آورند.شواهد نشان داد که هارمالین می­تواند کولین­استراز را مهار کند و افراد بسیاری برای کاهش سختی عضلات از هارمالین استفاده میکنند(۱۳)، در نتیجه انتظار می­رود که بطور تئوریک مهار کولین­استراز باعث افزایش انقباض شود، اما گزارش­های محدودی وجود دارد که نشان می­دهد که در برخی از دوزهای هارمالین قادر است اثر شل­کنندگی داشته باشد( با توجه به اینکه هارمالین داروی گیاهی است و عوارض کمی در کاربرد کلینیکی دارد و بیماری­های متفاوت وجود دارد که برای درمان نیاز به شل­شدن عضله دارند در این پژوهش ما به بررسی این آثار هار مالین بر آنزیم های کبدی و آلبومین سرم پرداختیم:

هارمالین از سد خونی مغزی عبور می­کند در نتیجه می­تواند کولین­استراز مغزی را نیز مهار و باعث افزایش استیل­کولین در مغز شود(۱۱). تحقیقات پیشین نشان دادند هر ماده­ای که بتواند استیل­کولین را در مغز افزایش دهد قادر است قدرت حافظه فرد را بهبود ­بخشیده و بدلیل افزایش حافظه گاها افراد دیابتی و سالم نیز به همین منظور از هارمالین استفاده می نمایند.

هارمالین از طريق اختلال در توليد *pyridoxal phosphate enzyme* و همچنين با توليد بيش از حد اكسيژن هاي واكنشي و سويه هاي مختلف راديكال هاي آزاد از جمله 8-هیدروکسی داکسی گوانوزین(*8-OH-DG*) و 8-هیدروکسی آدنین، و7-متیل -8 هیدروکسی گوانین، باعث آسيب به *DNA* ، پروتئین ها و لیپید ها مي شود. در مجموع آسیب های پروتئینی ایجاد شده توسط *ROS* در محیط های طبیعی و داخلی بدن مهم است، چرا که بر عملکرد رسپتورها، آنزیم ها و پروتئین های انتقالی اثر می گذارد و در تخریب های ثانویه دیگر بیومولکول ها از طریق غیرفعال کردن آنزیم های دفاعی آنتی اکسیدانی و آنزیم های بازسازی کننده هم شرکت دارند(۱۱و10).

آلبومین نقش انتقال مواد بیوشیمیایی را در سیستم گردش خون به عهده دارد و همچنين به عنوان یک پروتئین کوچک، یون های فلزی موجود در محیط زیست سلول ها را که، باعث پیشرفت و گسترش واکنش های پراکسیداسیون سلولی می شوند، جذب نموده و دور می سازد(۱۳و۱۲).

از اين رو مصرف هارمالین بصورت دراز مدت به علت اختلال در تولید و ترشح آلبومین باعث عدم تعادل ميزان آلبومين سرم و افزایش معنی داری آن در گروه شاهد نسبت به کنترل گردید و همچنین سبب افزایش آلبومین سرم در گروههای تجربی نسبت به شاهد نیز گشت چرا که در بیماری دیابت کلیه ها نیز دچار اختلال شده و پروتئین بیشتری دفع کرده و بدن را مجبور به جبران کمبود پروتئین کرده و میزان آلبومین نیز افزایش می یابد(۱۵و۱۴).

در اين پروژه نيز به بررسي ميزان برخي آنزيم هاي كبدي چون آسپارتات آمينو ترانسفراز و آلانين آمينو تراسفراز نيز پرداخته شد. به علت وجود بتا کربولین و بر هم زدن مكانيسم عمل آمينوترانسفراز ها ، هرچه دوز دارو بيشتر مي شد میزان آنزیم های کبدی نیز افزایش می یافت.استرس اكسيداتيو از طريق افزايش بيان ژن فاكتور رشد در سلول هاي اندوتليال، مزانشيمال در بافت كبد سبب افزايش ميزان آنزيم هاي كبدي مي گردد(۱۶) و همچنين سبب افزايش بيان ژن فاكتور هاي رشدي مختلف از جمله TGF-β و CTGF و PDGF در سلول هاي اندوتليال ، سلول هاي مزانشيمي ، فيبروبلاست ها و ماكروفاژ ها مي شوند(۱۷ و ۱۸)

در گروه های تجربی دیابتی نیز میزان آنزیم های کبدی نسبت به شاهد افزایش معنی داری یافت که بعلت وجود دیابت تیپ 1 که با تخریب سلولهای بتای پانکراس با استرپتوزوتوسین می باشد، ایجاد شده است

Boettger و همکارانش بیان داشتند که هارمالین آنزیم کولین­استراز عضله را مهار می­کند، بنابراین نمی­تواند استیل­کولین را هیدرولیز کند، بنابراین باعث افزایش تجمع استیل­کولین و افزایش نیروی انقباض عضله و میزان انقباض افزایش و میزان شل­شدگی عضله کاهش می­یابد. اما اگر مقدار هارمالین افزایش یابد، افزایش تجمع استیل­کولین ، باعث تحریک بیشتر عضله، ایجاد خستگی وشل­شدگی آن می­شود(۱۹).

Pervin و همکاران در پژوهشهای خود بیان داشتند که هارمالین باعث کاهش جریان­ کانال­های کلسیمی حساس به ولتاژ می­شود شاید بتوان علت شل­شدگی عضلات بوسیله هارمالین را به اثر آن بر کانال­های کلسیمی پایانه عصبی در محل اتصال عصبی عضلانی و کاهش نفوذ یون کلسیم و ممانعت از اتصال وزیکول­های استیل­کولین به پایانه عصبی و خروج استیل­کولین به فضای سیناپسی نسبت داد و در نهایت مانع انقباض و در نتیجه شل­شدگی عضلات مخطط می­شود(۲۰).

به طور كلي بر اساس سوابق پژوهش هاي انجام شده؛ اين مطالعه، اولين گزارشي است كه نشان دهنده اثر هارمالین بر بررسی آنزیم های کبدی و آلبومین سرم در موش های سالم و دیابتی شده با استرپتوزوتوسین است، كه طي۱۵ روز (دراز مدت)، توانسته است عوارض زیادی را بر آنزیم های کبد بدنبال داشته باشد و علت انتخاب دوره دراز مدت این است که ، در طی تزریق زیر جلدی دارو اثرات خود را در بدن بگذارد.

بنابراين با توجه به يافته هاي پژوهش حاضر ، دوز های مختلف هارمالین اعم از ۱۰ و ۱۵ و ۲۰ میلی گرم بر کیلو گرم برای افراد با سختی عضلانی توصیه نمیگردد چراکه آسیبهای جدی به کبد بر هم زدن تعادل آنزیم های کبدی خواهد شد. هدف از اين مطالعه بررسی اثر طولانی مدت و مکرر هارمالین بر آنزیم های کبدی و آلبومین سرم در موشهای رت نر نژاد ویستار بوده است.

REFERENCES:

1. Aarons, DH. Rossi, GV. Orzechowiski, RF.(1997). Cardiovascular action of there harmala alkaloids: harmine, harmaline and harmalol.J:pharma.sciens;66(9):1244-1248

2. Berrougui, H. Martín-Cordero, C. Khalil, A. Hmamouchi, M. Ettaib, A. Marhuenda, E. Herrera, M.D. (2006). Vasorelaxant effects of harmineand harmaline extracted from Peganumharmala L. seeds in isolated rat aorta.Pharmacol. Res. 2006, 54(2): 150-157.

3. Deecher, Dc. Teitler, M. Soderund, DM. Bornmann, WG. Kuehne, ME. Glicks,D. (1992). Mechanisms of action of Ibogaine and harmaline congerers based on radiolygand bining studies. J: Brainres; 571(2):242-247.

4. Elhanan, P. Etana, P. shimon, S. (1995). Amisride and harmaline arepotent inhibitors of Nhab a Na+/H+ antiporter from Eschrichia Coli. J:Science Direct: 18-22.

5- Hicham, Berrougui. Carmen, Martín-Cordero. Abdelouahed, Khalil. Mohammed,  Hmamouchi. Abdelkader,  Ettaib**.** Elisa, Marhuenda. María, Dolores Herrera.(2006). Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from *Peganum harmala* L. seed's in isolated rat aorta. Pharmacological Research 54 (2006) 150–157.

6. Milner, T.E. Cadoret, G. Lessard, L. Amith, AM. (1995). EMG analysis of harmaline- induced tremor in normal and three strains of mutant mice with purkinje cell degeneration and the role of the inferior olive.J: Neurophysiol; 73(6):2566-2571.

7. Pervin, K. Iseri, Ayse Karson. Kemal, M. Gullu, Ozlem Akman. Sibel, Kokturk. Melda, Yardýmoglu. Sarp, Erturk. Nurbay, Ates. (2011). The effect of memantine in harmaline-induced tremor and neurodegeneration. Neuropharmacology 61 (2011) 715e723.

8. Pierre, Chapillon. Pascal, Hilber. (2005). Effects of harmaline on anxiety-related behavior in mice. [Physiology & Behavior](http://www.sciencedirect.com/science/journal/00319384).[Volume 86, Issues 1-2](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=PublicationURL&_hubEid=1-s2.0-S0031938405X04851&_cid=271085&_pubType=JL&view=c&_auth=y&_acct=C000062681&_version=1&_urlVersion=0&_userid=4274183&md5=b92e706263e0b16c0848be3c96787d14), 15 September 2005, Pages 164-167.

9. Pinner,E. Padan,E. Schuidiner,S. (1995) .Amilorideand harmaline are potent inhibitors of Nhab, a NA+/H= antiporter from Escherichia coli. J: FEBS-Lett; 365(1): 18-22.

10. Scott, E.  Krahl  Fredricka, C.  Martin, Adrian Handforth. (2004). Vagus nerve stimulation inhibits harmaline-induced tremor. Brain Research 1011 (2004) 135– 138

11.Jochen, Beyer. Olaf, H. Drummer, Hans. H. Maurer. (2009). Analysis of toxic alkaloids in body samples. Forensic Science International 185 (2009) 1–9

12- Molzemi S, Bolbolhaghighi N,Karimi Mohamadi M, Molzemi SH, Review gavage Ritalin on blood albumin and some liver enzymes, Govaresh, 1394;20(4):237-342.

13. Adhami, H.R. Farsam, H. Krenn, L. (2011). Screening of Medicinal Plants from Iranian Traditional Medicine for Acetylcholinesterase Inhibition. Phytotherapy Research, 25: n/a. doi: 10.1002/ptr.3409

14. Pierre, Chapillon. Pascal, Hilber. (2005). Effects of harmaline on anxiety-related behavior in mice. [Physiology & Behavior](http://www.sciencedirect.com/science/journal/00319384).[Volume 86, Issues 1-2](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=PublicationURL&_hubEid=1-s2.0-S0031938405X04851&_cid=271085&_pubType=JL&view=c&_auth=y&_acct=C000062681&_version=1&_urlVersion=0&_userid=4274183&md5=b92e706263e0b16c0848be3c96787d14), 15 September 2005, Pages 164-167.

15. Berrougui, H. Herrera\_Gonalea, M.D. Marhuenda,E. Ettai,A. Hmamouchi, M. (2002). Relaxant activity of methanolic extract from seeds of Peganum harmala on isolated rat aorta.Therapie.2002,57:236-41.

16. Berrougui, H. Martín-Cordero, C. Khalil, A. Hmamouchi, M. Ettaib, A. Marhuenda, E. Herrera, M.D. (2006). Vasorelaxant effects of harmineand harmaline extracted from Peganumharmala L. seeds in isolated rat aorta.Pharmacol. Res. 2006, 54(2): 150-157.

17. Miserendino, MJD. Sananes, CB. Mella, KR. Davis, M. (1990). Blocking of acquisition but non expression of conditioned fearpotentited startle by NMDA antagonists in the amygdale.J: Nature;V(345): 716-8.

18. Scott, E.  Krahl  Fredricka, C.  Martin, Adrian Handforth. (2004). Vagus nerve stimulation inhibits harmaline-induced tremor. Brain Research 1011 (2004) 135– 138.

19. Boettger, S. A. and McClintock, J. B. (2011). Acetyl cholinesterase activity and muscle contraction in the sea urchin Lytechinus variegatus (Lamarck) following chronic phosphate exposure. Environmental Toxicology, 26: n/a. doi:  10. 1002/ tox.20629.

20. Pervin, K. Iseri, Ayse Karson. Kemal, M. Gullu, Ozlem Akman. Sibel, Kokturk. Melda, Yardýmoglu. Sarp, Erturk. Nurbay, Ates. (2011). The effect of memantine in harmaline-induced tremor and neurodegeneration. Neuropharmacology 61 (2011) 715e723.

.