

Peganum harmala L. (Üzerlik) Tohum Ekstresinin Analjezik Aktivitesi ve Akut Toksisitesinin Fareler Üzerinde Belirlenmesi*

Yılmaz KOÇAK¹ Ali ŞAHİN²

¹ Sağlık Bakanlığı, Muradiye Devlet Hastanesi, VAN, Türkiye

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji AD, Van, Türkiye

Geliş tarihi: 27.02.2009

Kabul Tarihi: 10.03.2009

ÖZET

Bu çalışmada *P. harmala* tohum ekstresinin medyan letal dozu (LD₅₀) ve analjezik aktivite yönünden incelenmesi amaçlandı. Tohum ekstresinin LD₅₀ dozu 0,178 ml/kg olarak bulundu. Analjezik aktivite deneylerinde ise, her bir gruba sırasıyla serum fizyolojik, DMSO, *P. harmala* tohum ekstresi, aspirin ve morfin uygulandı. Asetik asit ile ağrı oluşturma deneyinde, *P. harmala* tohumları 30 ve 60 mg/kg dozlarında aspirine göre anlamlı, 90 mg/kg dozunda aspirine göre çok anlamlı bir etki gösterdi. Tail Flick deneyinde, *P. harmala* tohumlarının 30 ve 60 mg/kg dozlarında analjezik etkisi 100 mg/kg aspirine denk bulundu ve 10 mg/kg morfine göre ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Anahtar Kelimeler

Peganum harmala L, Üzerlik, Analjezik Aktivite, Medyan Letal Doz, Fare

Analgesic Activity and Acute Toxicity Determination of *Peganum harmala* L. Seeds Extract in Mice

SUMMARY

The aim of this study was extract of *P. harmala* seed to investigate its median lethal dose (LD₅₀) and possible analgesic effects. The LD₅₀ dose was found to be 0,178 ml/kg. In the analgesic experiments, animals in the each groups were serum physiologic, DMSO, extract of *P. harmala* seeds, aspirin, and morphine. In the experiment of antinociceptive activity with acetic acid, the seed of *P. harmala* had an analgesic effect which were expressive to that of aspirin at 30 and 60 mg/kg and more expressive to that of aspirin at 90 mg/kg doses. In the experiment of Tail Flick 30 and 60 mg/kg doses of *P. harmala* seeds had an analgesic effect which was equal to that of 100 mg/kg aspirin and statistically no difference was found to that of 10 mg/kg morphine.

Key Words

Peganum harmala L, Turkish Rue, Analgesic Activity, Median Lethal Dose, Mice

GİRİŞ

Günümüzde tıbbi bitkiler geleneksel tedavi yöntemlerinin en aktif unsurları olarak bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri gelişmekte olan ülkelerde insanların % 80'nin bu tedavi yöntemlerini kullandığını ve 3,3 milyar insanın da tıbbi bitkilerden sağaltım aracı olarak yararlandığını ortaya koymuştur. Türkiye onbine yakın bitki türü ile dünyanın en zengin florasına sahip ülkelerden biri olmanın yanı sıra köklü bir tıbbi bitkilerle tedavi kültürüne de sahiptir. Bitkisel ilaçlar daha az toksik ve daha ekonomik olması özellikleriyle sentetik ilaçlara alternatif olarak kullanılmaktadırlar (Keleş ve ark. 2001). *P. harmala* L. (Zyophylaceae); çok yıllık tüsüz dik bir bitkidir. Mayıs-temmuz aylarında çiçek açan üzerlik daha sonra tohuma durur. Sonbahara doğru olgunlaşan kapsüllerin içinde 3-5 mm uzunlukta, üçgen piramit şeklinde, kahverengi-siyah renkte, üzeri pürüzlü ve kanatlı tohumlar bulunur. Aktif bileşenleri özellikle tohumlarda ve köklerde bulunan alkaloidlerdir. Total alkaloid oranı (% 4-7) kadardır. Alkaloidleri arasında harmin, harmalin, harmol ve harman önemlidir. Bu halkalar indol halkasıyla, doymamış 6'lı bir heterosiklik yapının kondenzasyonundan meydana gelen β-karbolin halkası taşır (Baytop 1984; Mahmoudian ve ark. 2002; Davis 1967). *P. harmala* tohumlarından elde edilen

alkaloidlerin geniş bir farmakolojik etki spektrumu vardır. Bu etkiler: Monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleridir. Bu nedenle benzodiazepin reseptörlerine bağlanarak, konvülfif ve konvülfif olmayan etkiler, tremor yapıcı etkiler, anksiyolitik ve davranışsal etkileri, antioksidan ve immunmodülatör etkilerinin yanında, harmala alkaloidlerinin kardiyovasküler etkileri bildirilmiştir (Abdel-Fattah ve ark. 1995). Son yıllarda bitkisel ilaçlarla tedavi (fitoterapi) yöntemlerine ilginin artması, *P. harmala*'nın geleneksel halk tıbbındaki kullanımı yukarıda verilen bilgiler göz önüne alındığında, bitkilerde etken madde izolasyonu, kimyasal analizleri, biyolojik, farmakolojik ve toksik etkilerinin belirlenmesini zorunlu kılmıştır. Bu çalışma geleneksel halk tıbbında analjezik amaçla da kullanılan *P. harmala*'nın böyle bir etkisinin var olup olmadığını deneysel olarak belirlemek için planlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bitki Materyali

P. harmala bitkisinin tohumları Van çevresinden toplandı. Örneklerin otentikasyonu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'nde yapıldı. Herbaryumda bir örneği (No: B-9) saklandı.

Bitki Ekstraksiyonu

Kurutulmuş 150 gr *P. harmala* tohumları, elektrikli değirmende öğütülüp tartıldıktan sonra metanol ile ekstre edildi. Whatman paper no:1 filtre kâğıdından geçirilerek metanol rotary evaporatörde uçuruldu. Kalan alkaloidik metanol ekstresi, 0.25 cc dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözdürüldükten sonra deneysel amaçla kullanıldı.

Kimyasallar

Metanol (Sigma, Germany), Dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck, Germany), Asetik asit (Sigma, Germany), Asetilsalisilik asit (Aspirin 500 mg Tablet, Bayer, Germany), Morfin hidroklorür (Türkiye).

Deney Hayvanları

Çalışmamızda Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Neuroscience Araştırma Birimi Deney Hayvanları Ünitesi'nden Mus Musculus Swiss albino fareler temin edildi. Standart kafeslerde (48x35x22cm), oda sıcaklığında tutulan fareler, şehir şebeke suyu ve standart pellet yem (Van Yem Fabrikası) ile beslendi.

Medyan Letal Doz (LD50) Çalışması

Her birinde altışar fare içeren yedi ayrı çalışma grubu, toplam 42 adet fare kullanılarak oluşturuldu.

Gruplar ve verilen ekstre miktarları aşağıda gösterilmiştir.

Grup 1: 0.2 ml ip yolla serum fizyolojik (Kontrol I),

Grup 2: 0.2 ml ip yolla DMSO (Kontrol II),

Grup 3: 0.100 ml/kg ip *P.harmala* ekstresi (DMSO'de çözdürülerek),

Grup 4: 0.200 ml/kg ip *P.harmala* ekstresi (DMSO'de çözdürülerek),

Grup 5: 0.300 ml/kg ip *P.harmala* ekstresi (DMSO'de çözdürülerek),

Grup 6: 0.400 ml/kg ip *P.harmala* ekstresi (DMSO'de çözdürülerek),

Grup 7: 0.800 ml/kg ip *P.harmala* ekstresi (DMSO'de çözdürülerek),

Çalışma grupları üç gün süreyle (72 saat) gözlemlendi ve her bir grupta ölen fare sayısı sayılıp, logaritma 10 tabanına göre probit analizi yapılarak *P. harmala* tohumlarının metanol ekstresinin LD50 dozu hesaplandı (Hunskar ve ark. 1985; Koster ve ark. 1959). Dozun belirlenmesinden sonra, farelere analjezik aktivite için yeterli dozlar ayarlanılarak deneysel çalışma yapıldı

Asetik Asit ile Ağrı Oluşturma Testi

Her iki cinsten 36 Swiss albino fare alındı. Fareler altı gruba ayrıldı. Çalışma gruplarına, LD₅₀ çalışmasının sonuçlarına göre üç farklı doz ekstresi uygulanarak analjezik etkinlik incelendi.

Çalışma grupları ve uygulanan dozlar aşağıda verilmiştir.

Grup 1: Serum fizyolojik 0,2 ml (i.p.) yolla (kontrol I),

Grup 2: DMSO 0,2 ml (i.p.) yolla (kontrol II),

Grup 3: Aspirin (referans) 300 mg/kg dozunda serum fizyolojik içinde, çözdürülerek (Tanker ve Tanker. 1996),

Grup 4: *P. harmala* ekstresi 30 mg/kg (i.p.) yolla,

Grup 5: *P. harmala* ekstresi 60 mg/kg (i.p.) yolla,

Grup 6: *P. harmala* ekstresi 90 mg/kg (i.p.) yolla,

Çalışmaya başlamadan önce hayvanlar tartıldı; ağırlıklarına göre verilecek ilaç dozları hesaplandı.

Enjeksiyonlar yapıldıktan sonra ağrı oluşturmak amacıyla asetik asit (%6), farelere 60ml/kg dozda intraperitoneal (i.p.) yolla verildi. 5 dakikalık bekleme süresinden sonra 10 dakika içinde gelişen gerilmeler sayıldı (Matsumoto ve ark. 2004).

Sonuçlar, grup başına oluşan ortalama gerilme sayısı hesap edilerek değerlendirilip, yüzde analjezik aktivite aşağıdaki formüle göre hesaplandı (D'amour ve Smith 1941).

$$\% \text{ Analjezik aktivite} = \left(\frac{n-n'}{n} \right) \times 100$$

n: Kontrol grubundaki ortalama kıvranma sayısı

n': Deney grubundaki ortalama gerilme sayısı

Tail-flick Testi

Her iki cinsten 36 swiss albino fare alındı. Fareler 6 gruba ayrıldı. Çalışma gruplarına LD₅₀ çalışmasının sonuçlarına göre iki farklı doz özütü uygulanarak analjezik etkinlik incelendi.

Çalışma grupları ve uygulanan dozlar aşağıda verilmiştir.

Grup 1: Serum fizyolojik 0,2 ml (i.p.) yolla (kontrol I),

Grup 2: DMSO 0,2 ml (i.p.) yolla (kontrol II),

Grup 3: Aspirin (referans) oral yolla 100 mg/kg dozunda serum fizyolojik içinde çözdürülerek,

Grup 4: Morfin (referans) (i.p.) yolla 10 mg/kg dozunda (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu. 1998),

Grup 5: *P. harmala* ekstresi 30 mg/kg (i.p.) yolla,

Grup 6: *P. harmala* ekstresi 60 mg/kg (i.p.) yolla,

Çalışmaya başlamadan önce hayvanlar tartıldı, ağırlıklarına göre verilecek ilaç dozları hesaplanıp enjekte edildikten sonra hayvanlara zarar verilmeden eldiven kullanılarak hareketsiz hale getirildiler. Ağrı oluşturmak amacıyla radyant ısı farelerin kuyruk ucundan 1-2 cm uzaklıktaki işaretlenmiş siyah noktaya odaklandı. Işın dozu, kontrol hayvanlarında kuyruk sallamanın 2-3 saniyede kaybolacağı şekilde ayarlandı. Doku hasarından sakınmak için 20 saniyenin sonunda cevap alınamazsa ölçüm sonlandırıldı. Bütün deneylerde hayvanlar, ilaç alımından önce bir kez, ilaç alımından 30, 60 ve 90 dakika sonra olmak üzere toplam dört kez test edildi (Budavari ve O'Neil 1996).

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler "ortalama ± standart hata ortalaması" (mean+s.e.m.) şeklinde ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar varyans analizi (ANOVA) ile test edilerek istatistiksel yönden anlamlı fark bulunanlar (p<0.05) post-hoc Tukey ve Dunnet testleri ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık için (p<0.05) dikkate alındı (Shi ve ark. 2001).

BULGULAR**Medyan Letal Doz (LD₅₀) Çalışması Sonuçları**

Medyan öldürücü doz (LD₅₀) çalışması sonuçları Tablo 1' de verildi. Buna göre *P. harmala*'nın medyan öldürücü dozu (LD₅₀ dozu) 0.178 ml/kg (0.117-0.243 ml/kg) olarak belirlendi.

Tablo 1. *Peganum harmala*'nın medyan letal doz sonuçları

Letal Doz	Doz (ml/kg)	Alt sınır (ml/kg)	Üst sınır (ml/kg)
LD ₁	0.06882	0.01151	0.10872
LD ₁₀	0.10569	0.03480	0.14673
LD ₅₀	0.17890	0.11764	0.24366
LD ₉₀	0.30281	0.22632	0.71093
LD ₉₉	0.46506	0.31123	2.10996

Asetik Asit ile Ağrı Oluşturma Test Yöntemi Sonuçları

Analjezik aktivite deneyinde *P. harmala*'nın üç ayrı dozu ile birlikte kontrol ve referans gruplarından oluşturulan çalışmanın sonuçları Tablo 2'de, kontrol ve deney gruplarının kıvranma sayıları Şekil 1'de gösterildi.

Kıvranma sayısı serum fizyolojik verilen grupta (Kontrol I) 17.66 ± 2.52 iken DMSO verilen grupta (kontrol II) 20.00 ± 1.91 olarak bulundu. Bu iki grup arasında istatistiksel açıdan bir farklılık görülmediği için deney grupları ile karşılaştırma DMSO II. grup arasında da yapıldı ($P > 0,05$).

30 mg/kg dozunda *P. harmala* tohum ekstresi verilen grupta kıvranma sayısı 3.50 ± 0.76 ve analjezik aktivite (% 82.50 inhibisyon), 60 mg/kg dozunda *P. harmala* tohum ekstresi verilen grupta kıvranma sayısı 4.33 ± 1.22 ve analjezik aktivite (%78.35 inhibisyon) ve 90 mg/kg dozda *P. harmala* ekstresi verilen grupta ise kıvranma sayısı 2.83 ± 1.13 ve analjezik aktivite (% 85.85 inhibisyon) olarak bulundu. 300 mg/kg dozda aspirin referans grup olarak çalışılan farelerde kıvranma sayısı 9.83 ± 0.60 a düşerken analjezik aktivite (% 44.33) yükseldiği bulundu. Bu dört grup ile SF ve DMSO kontrol grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulundu. Bu farklılık kıvranma sayısını azaltma şeklinde gözlemlendi.

Tablo 2. *P. harmala* ekstresinin asetik asit ile kıvranma testi sonuçları

Gruplar (n=6)	Doz	Kıvranma sayısı (Ort ± SHO)	İnhibisyon (%)
Kontrol I (SF)	0.2 mL	17.66 ± 2.52	-
Kontrol II (DMSO)	0.2 mL	20.00 ± 1.91	-
Aspirin	300 mg/kg	9.83 ± 0.60	44.33
<i>P. harmala</i>	30 mg/kg	3.50 ± 0.76	82.50
<i>P. harmala</i>	60 mg/kg	4.33 ± 1.22	78.35
<i>P. harmala</i>	90 mg/kg	2.83 ± 1.13	85.85
<i>F değeri</i>		33.42	
<i>P değeri</i>		0.001	

Veriler "Ortalama ± Standart Hata Ortalaması" şeklinde ifade edilmiştir.

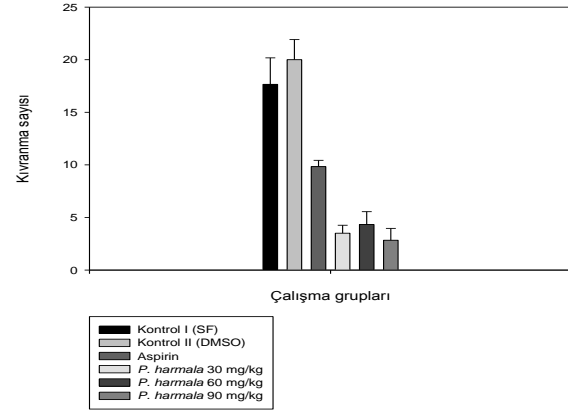
a: $p < 0.01$ (Kontrol I (SF) grubuna göre karşılaştırma)

b: $p < 0.001$ (Kontrol II (DMSO) grubuna göre karşılaştırma)

c: $p < 0.05$ (Aspirin referans grubuna göre karşılaştırma)

d: $p < 0.01$ (Aspirin referans grubuna göre karşılaştırma)

P. harmala tohum ekstresinin tüm dozları DMSO kontrol'e göre anlamlı derecede daha çok, 30 mg/kg ve 60 mg/kg dozları aspirin'e göre anlamlı, 90 mg/kg dozu istatistiksel olarak aspirin'e göre çok anlamlı analjezik etkinlik göstermiştir.

**Şekil 1.** Kontrol ve deney gruplarının kıvranma sayıları
Figure 1. Writhing counts of control and treated groups**Tail-Flick Test Sonuçları**

P. harmala'nın iki ayrı dozu ile kontrol ve referans gruplarından oluşturulan analjezik etki çalışmasının sonuçları Tablo 3'te uygulanan dozlardan sonraki kuyruk kaldırma süresi (% standardize edilmiş) ise Şekil 2'de gösterildi.

Birinci referans grup olarak çalışılan morfin kontrol gruplarına göre anlamlı derecede analjezik etkinlik gösterdiği ve deneysel amaçla oluşturulan radiant ısıya karşı 30 dk. ve 90 dk. zaman aralıklarında kuyruk kaldırma süresini uzattığını ancak 150 dk ise analjezik etkisinin geçtiğini, ikinci referans grup olarak çalışılan aspirinin ise morfine göre anlamlı derecede daha zayıf, buna karşılık 150 dk anlamlı derecede analjezik etkinlik gösterdiği, kuyruk kaldırma süresini uzattığı gözlemlendi.

Tablo 3. Tail-flick test sonuçları (Ortalama ± Standart Hata Ortalaması).

Gruplar (n=6)	Standardize edilmiş veriler (%)		
	30. dk	90. dk	150. dk
SF (kontrol I)	2.03 ± 0.145	$3.26 \pm 0.4.26$	$1.21 \pm 0.4.98$
DMSO (kontrol II)	0.36 ± 10.11	8.45 ± 07.88	3.52 ± 10.53
Aspirin (100 mg/kg)	22.02 ± 06.16	22.12 ± 07.63	32.11 ± 07.80
Morphine (10 mg/kg)	46.31 ± 10.99	69.38 ± 12.28	0.00 ± 7.09
<i>P. harmala</i> (30 mg/kg)	12.58 ± 06.44	23.05 ± 14.90	39.89 ± 07.17
<i>P. harmala</i> (60 mg/kg)	22.14 ± 17.12	33.67 ± 15.93	39.47 ± 14.14
<i>F-değerleri</i>	3.545	5.649	5.210
<i>P-değerleri</i>	0.010	0.001	0.001

a: $P < 0.05$ (SF) kontrol grubu ile karşılaştırma,

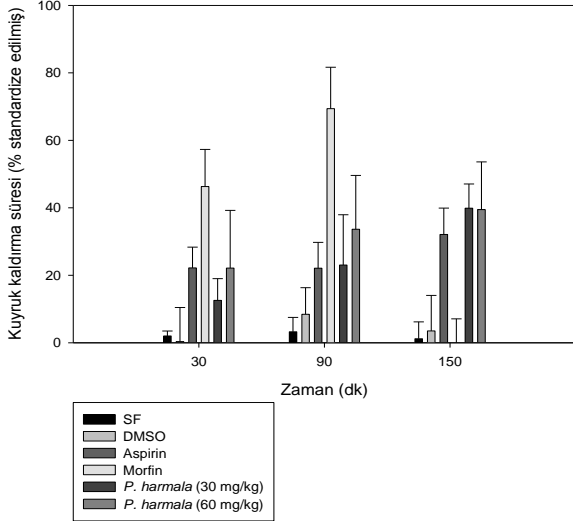
b: $P < 0.05$ (DMSO) kontrol grubu ile karşılaştırma,

c: $P < 0.05$ Aspirin referans grubu ile karşılaştırma,

d: $P < 0.05$ Morfin referans grubu ile karşılaştırma,

P. harmala tohum ekstresinin verilen dozlarının 30 dk sonraki ölçüm sonuçlarına baktığımızda istatistiksel açıdan analjezik etkisinin başladığını 90 dakikada bu etkisinin görülmediğini, 150 dk tekrar analjezik etkinliği başladığı gözlemlendi. Morfin ile *P. harmala* tohum ekstrelerinin analjezik etki gösterdikleri ortak dönem 30. dakikadır. Bu dönemde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca *P. harmala* ile morfin'in bu dönemdeki ortalama

değerleri birbirinden oldukça uzaktır. Bu iki grup arasında istatistiksel bir fark gözlenmedi. İkinci referans grup olarak kullanılan aspirin ile *P. harmala* bütün test dönemlerinde birbirine yakın derecede analjezik etki göstermiştir. Bu dönemlerde aspirin ile ekstrenin birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Ayrıca her iki grubun ortalamaları da birbirine yakındır. 150. dk'da her ikisinin göstermiş oldukları analjezik etki birbirine denk olduğu gözlemlendi.



Şekil 2. Kuyruk kaldırma süresi (% standardize edilmiş)

Figure 2. Tail raising time (Standardized %)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Analjezik aktivitenin araştırılması için yapılan çalışmalardan biri olan asetik asit ile ağrı oluşturma testinde *P. harmala*'nın tohum ekstresi üç ayrı dozu, aspirin gibi analjezik etkisi bilinen referans grup ve çalışma gruplarının çözücülerinden oluşan serum fizyolojik ve DMSO kontrol grupları oluşturuldu ve çalışma fareler üzerinde gerçekleştirildi.

Elde edilen sonuçlar, fareler üzerinde *P. harmala* tohum ekstresinin tüm dozları kontrol ve referans gruplarına göre anlamlı derecede analjezik etkisi olduğu, bu etkinin doza bağımlı olarak 30 mg/kg ve 60 mg/kg dozları aspirin'e göre anlamlı, 90 mg/kg dozu istatistiksel olarak aspirin'e göre çok anlamlı analjezik etkinlik göstermiştir (Tablo 2, Şekil 1).

Tail flick testi ile elde edilen sonuçlar, fareler üzerinde *P. harmala* ekstresinin iki ayrı dozu, aspirin ve morfin gibi referans gruplar ile serum fizyolojik ve DMSO kontrol grupları oluşturuldu. Bu yöntemle elde edilen sonuçlarda, farklı zaman aralıklarında yapılan ölçümlerde verilen dozlarda aspirin referans grubuna göre analjezik etkisi istatistiksel açıdan denk, morfin referans grubuna göre analjezik etkisi ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3, Şekil 2). Bu farklılık ağrının kaynağı ve iletim yollarındaki (visseral ağrı gibi) farklılıktan olabilir.

P. harmala tohum ekstresinden elde edilen alkaloidlerin β -karbolin bileşikler içermesi bu analjezik etkinliği β -karbolinin genellikle opioid deltası ve mu reseptörlerine eğilimi (Airaksinen 1984) olduğundan dolayı göstermiş olabileceği veya aspirin gibi analjeziklerin pek çoğunda bulunan ortak özellik dokularda araşidonik asitten

prostoglandinlerin ve prostanooidlerin sentezini katalize eden siklooksijenaz enzimini inhibe etmeleridir (Surdarsky 1990). *P. harmala*'nın analjezik etkisi bu mekanizmalara bağlı olabilir. Ancak tohum ekstresinin içinde bulunan bileşiklerden hangisinin bu etkiyi yaptığını söyleyebilmek için bu moleküllerin ayrı ayrı izole edilerek çalışılması gerekmektedir.

Bu çalışmalar ile *P. harmala*'nın bilinen hipotermik, hallusinojenik, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitümöral, vazoreleksan etkilerinin yanı sıra analjezik etkisinin de olduğu gösterildi (Kartal ve ark. 2003). Bu bulgular *P. harmala*'nın önemli bir tıbbi bitki olduğunu teyit eder. Yukarıda sayılan özellikleri ve halk hekimliğinde kullanımları daha ayrıntılı biçimde incelenerek gelir kaynağı oluşturabilecek bitkisel hammadde olarak değerlendirilebilir. *P. harmala* tohum ekstresinin iki ayrı analjezik etki test yöntemiyle belirlenen analjezik etkinliği, bu tohumla ilgili yapılacak ilaç araştırmaları için ümit vericidir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Fattah MAF, Matsumoto K, Gammaz HAK and Watanabe H (1995).** Hypotermic effect of harmala alkaloid in rats: Involvement of serotonergic mechanism. *Pharmacol Biochem Behavior*, 52 (2), 421-426.
- Airaksinen MM, Saano V, Steidel E, Juvonen H, Huhtikangas A, Gynther J (1984).** Binding of beta-carbolines and tetrahydroisoquinolines by opiate receptors of the delta-type. *Acta Pharmacol Toxicol*, 55, 380-385.
- Baytop T (1984).** Türkiye'de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün), İÜ yayınları. İstanbul, 402.
- Budavari S, O'Neil MJ (1996).** The merk index. CRC Press, New Jersey, 12th, 4644-4645.
- D'amour FE and Smith DL (1941).** A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmac Exp Ther*, 72, 74-79.
- Davis PH (1967).** 'flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol II, *Edinburgh University Pres*.
- Hunskar S, Fasmer OB, Hole K (1985).** Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Methods*, 14 (1), 69-76.
- Kartal M, Altun ML and Kurucu S (2003).** HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala L.* *J Pharmaceut Biomedical Analysis*, 31, 263-69.
- Keleş O, Ak S, Bakırel T, Alpınar K (2001).** Türkiye'de yetişen bazı bitkilerin antibakteriyel etkisinin incelenmesi. *Türk J Vet Anim Sci*, 25, 559-565.
- Koster RM, Anderson M and De Beer AJ (1959).** Acetic Acid for Analgesic. *Screening, Fed Proc*, 18, 412.
- Mahmoudian M, Jalilpour H, Salehian P (2002).** Toxicity of Peganum harmala: Review and a Case Report. *IJPT*, 1, 1-4.
- Matsumoto K, Horie S, Ishikawa H, Takayama H, Aimi N, Ponglux D, Watanabe K (2004).** Antinociceptive effect of 7-hydroxymitragynine in mice: Discovery of an orally active opioid analgesic from the Thai medicinal herb *Mitragyna speciosa*. *Life Sciences*, 74, 2143-2155.
- Shi CC, Liao JF, Chen CF (2001).** Spasmodic effect of three harmala alkaloids on guinea-pig isolated trachea. *Pharmacol Toxicol*, 89, 259-264.
- Sümbüloğlu K ve Sümbüloğlu V (1998).** Biyoistatistik. Sekizinci baskı, Şahin Matbaası, Ankara.
- Surdarsky L (1990).** Pathophysiology of the Nervous System. Little, Brown and Company, 88-89.
- Tanker M, Tanker N (1990).** Farmakognozi Cilt 2, Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları Ankara, 65, 148-149.