



FRONT OFFICE VOEDSEL- EN PRODUCTVEILIGHEID

Beoordeling van Shambala en een soortgelijk kruidenpreparaat.

Beoordeling aangevraagd door:	BuRO
Beoordeling opgesteld door:	RIVM en WFSR
Datum aanvraag:	26-10-2021
Datum beoordeling:	16-12-2021 (concept) 23-12-2021 (definitief) 10-01-2022 (herzien) ¹
Projectnummer:	V/093130

Onderwerp

Het tv-programma Radar heeft onlangs aandacht besteed aan het kruidenpreparaat Shambala (<https://radar.avrotros.nl/uitzendingen/gemist/item/vind-je-innerlijke-guru-met-kruidenmiddel-van-giel-beelen-radar-checkt/>). Het product wordt aangeprezen door radio DJ Giel Beelen en is te koop op internet ([Shambala kruidenpreparaat: Caapi en Bobinsana | Superfoods](#)). Naar aanleiding van een eerder signaal en de uitzending van Radar heeft de NVWA aangekondigd onderzoek te doen naar Shambala. Shambala en een soortgelijk kruidenpreparaat met vergelijkbare ingrediënten zijn door de NVWA bemonsterd en geanalyseerd door WFSR.

Vraagstelling

Is er sprake van een risico voor de volksgezondheid bij consumptie van Shambala of bovengenoemd soortgelijk kruidenpreparaat?

Ja, er is een risico voor de volksgezondheid bij het gebruik van Shambala en een soortgelijk kruidenpreparaat met vergelijkbare ingrediënten. Deze kruidenpreparaten bevatten de β -carboline alkaloiden harmine, harmaline en tetrahydroharmine. Bij eenmalig gebruik van deze kruidenpreparaten volgens de aanwijzingen op de verpakking kunnen schadelijke effecten optreden door effecten van deze stoffen op het centrale zenuwstelsel. Dit zou bijvoorbeeld kunnen leiden tot pupilverwijding, speekselvorming of lage bloeddruk. Bij blootstelling aan hogere doseringen β -carboline alkaloiden kunnen misselijkheid en braken en ernstigere effecten zoals hallucinaties, coördinatiestoornissen, verstoord zicht en verlamming optreden. Ook kunnen deze producten in combinatie met geneesmiddelen, kruidenpreparaten of andere producten die remmers van het enzym monoamine-oxidase (MAO), selectieve serotonine heropname remmers (SSRIs) of noradrenaline-dopamine heropname remmers (NDRIs) bevatten mogelijk tot schadelijke interacties leiden.

¹ In deze herziene versie is de zin over de beschrijving van de effectdosering op blz 9 gecorrigeerd.



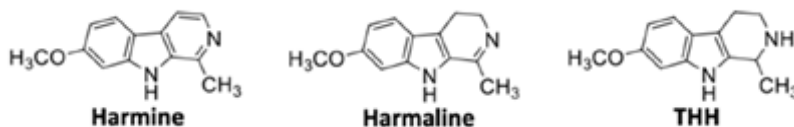
Bij herhaald gebruik kunnen additionele effecten op andere organen niet uitgesloten worden. Daarnaast zijn er aanwijzingen voor mogelijke genotoxiciteit van harmine en harmaline maar zijn er onvoldoende geschikte gegevens om een definitieve conclusie hierover te trekken. Tot slot zijn er te weinig gegevens om een conclusie te trekken over mogelijke reproductie- en ontwikkelingstoxiciteit na blootstelling aan de β -carboline alkaloiden.

Deze kruidenpreparaten kunnen ook nog andere stoffen bevatten die toxisch zijn. Zo is bij de analyses nog een vierde, mogelijke actieve stof aangetroffen. Deze stof wordt nog geïdentificeerd en de mogelijke effecten hiervan zijn niet meegenomen in deze beoordeling.

Inleiding

Shambala is een kruidenpreparaat dat (bestanddelen van) twee planten, Caapi (*Banisteriopsis caapi*) en Bobinsana (*Calliandra angustifolia*), bevat en verkocht wordt 'om je hart te openen en verbinding te vinden met het al' (Superfoodies, 2021). Daarnaast heeft de NVWA een vergelijkbaar kruidenpreparaat met zowel *B. caapi* als *C. angustifolia* bemonsterd.

B. caapi bevat de alkaloiden harmine, harmaline en tetrahydroharmine (THH) (Figuur 1). Deze alkaloiden zijn de werkzame stoffen van *B. caapi* en worden ook wel β -carboline-alkaloiden of harmala-alkaloiden genoemd. Harmine en harmaline zijn remmers van het enzym monoaminooxidase (MAO). THH is een serotonine-heropnameremmer. *B. caapi* is één van de twee bestanddelen van het hallucinogene middel ayahuasca, samen met *Psychotria viridis* (Brito-da-costa et al., 2020). De β -carboline alkaloiden zorgen er door MAO-remming voor dat de werkzame, hallucinogene stof N-N-dimethyltryptamine (DMT) uit *P. viridis* niet afgebroken wordt en daardoor de hersenen kan bereiken. Daarnaast kunnen de β -carboline-alkaloiden ook zelf psychotrope effecten hebben (Brito-da-costa et al., 2020; Druginfo, 2021; Natural Medicines, 2021a). Ook andere planten, waaronder *Peganum harmala*, bevatten β -carboline alkaloiden. Deze stoffen zouden ook aanwezig zijn in dieren, mensen en schimmels (Brito-da-costa et al. 2020).



Over de actieve stoffen van de plant *C. angustifolia* is weinig bekend, maar mogelijk bevat deze plant ook β -carboline alkaloiden (Rumlerová et al., 2021).

Door de NVWA zijn monsters genomen van Shambala en van een soortgelijk kruidenpreparaat en deze monsters zijn door WFSR geanalyseerd op β -carboline alkaloiden en synthetische MAO-remmers. Daarna is nog een brede screening naar farmacologisch actieve stoffen en contaminanten uitgevoerd voor deze producten. In deze beoordeling wordt onderzocht of er sprake is van een risico voor de volksgezondheid bij consumptie van Shambala of bij consumptie van het soortgelijke kruidenpreparaat op basis van de analysegegevens van WFSR.

Analyse van de kruidenpreparaten

De codes, monsterinformatie en dosering volgens de verpakking/bijsluiter zijn te vinden in Tabel 1 en 2. Het is niet duidelijk hoe de genoemde hoeveelheden geïnterpreteerd moeten worden aangezien het niet mogelijk is om deze hoeveelheden (grammen) in een mL op te nemen.

Tabel 1. Codes, monsterinformatie en dosering volgens de verpakking/bijsluiter van Shambala.

Product	Shambala, flesje 4,9 ml (Superfoodies)
Samenstelling	<i>Banisteriopsis caapi</i> (Caapi), <i>Calliandra angustifolia</i> (Bobinsana), water, alcohol (50%). Samenstelling per ml (+/- 20 druppels) 5,7 gram Bobinsana 3,0 gram Caapi Inhoud: 4,9 ml (goed voor 7 druppels per dag, 14 dagen lang) De extracten van de ingrediënten worden vervaardigd in Zwitserland. De flesjes worden in Nederland gevuld en verpakt.
Dosering	Driemaal daags 1-3 druppels onder de tong gedurende 14 dagen of zo lang als de 'teacher plants' zeggen.

Tabel 2. Codes, monsterinformatie en dosering volgens de verpakking/bijsluiter van het soortgelijke kruidenpreparaat

Product	Flesje 20 ml
Samenstelling	<i>B. caapi</i> 50% 4,5 g, Bobinsana 50% 4,5 g, 20 ml Demiwater 15% Alcohol
Dosering	4 tot 20 druppels elke (andere) dag. Gedurende een maand innemen.

Door de NVWA is één monster genomen van Shambala (lot nummer SHAM-005) en één monster van het soortgelijke kruidenpreparaat. Deze monsters zijn door WFSR geanalyseerd. Van elk monster is 1,0 gram geëxtraheerd (30 min, vermenging door middel van mechanisch omschudden) met 10 ml extractievloeistof (acetonitril/water 80/20, 1% azijnzuur). Deze oplossing is 200-20.000 maal verdund (in acetonitril/water 50/50, 0,1% azijnzuur) en geanalyseerd met vloeistofchromatografie – *full scan* hoge resolute massaspectrometrie (details zijn beschreven in Biesterbos et al., 2019). In een eerste analyse zijn de monsters gescreend op aanwezigheid van stoffen die bekend staan als MAO-remmers (zowel natuurlijke als synthetische), op basis van de theoretisch exacte massa's van deze stoffen. Daarbij zijn in beide producten aanwijzingen gevonden dat de β -carboline alkaloiden harmine, harmaline en TTH mogelijk aanwezig zijn. Vervolgens zijn de analytische referentiestandaarden van deze stoffen aangeschaft en is een bevestigende analyse ingezet om tot eenduidige identificatie te komen. Van de aangetroffen stoffen is bekend dat ze voorkomen in *B. caapi*, waarbij harmaline en THH reductieproducten van harmine zijn. Er zijn geen andere (synthetische) MAO-remmers aangetroffen. Daarnaast is nog een brede screening uitgevoerd naar farmacologisch actieve stoffen (waaronder ook hallucinogene stoffen) en contaminanten. Hierin is nog een mogelijke vierde stof aangetroffen. Deze stof wordt nog geïdentificeerd en indien relevant gekwantificeerd, maar deze informatie was nog niet beschikbaar bij het opstellen van deze beoordeling.

Voor bevestiging en identificatie zijn de extracten nogmaals gemeten, samen met de analytische referentiestandaarden van de drie β -carboline alkaloiden. Identificatie vond plaats op basis van overeenkomende retentietijd, exacte massa van de stoffen ($M+H^+$), en tenminste één fragment-ion. Kwantificering gebeurde aan de hand van kalibratiestandaarden bereid in oplosmiddel. Om inzicht te krijgen in de precisie van de methode zijn naast het initiële extract nog twee extracten van elk monster bereid. De gemiddelde waarde in mg/g met de relatieve standaard deviatie (RSD) is als resultaat in de tabel hieronder vermeld. Hierbij is aangenomen dat de stoffen volledig oplossen in de extractievloeistof.

Voor de bepaling van de blootstelling van de gebruikers is geteld hoeveel druppels, gedoseerd met het pipetflesje van het product, er in 500 mg gingen. Op basis daarvan is het gewicht van één druppel bepaald.

De resultaten van WFSR zijn weergegeven in Tabel 3 en 4.

Tabel 3. Analyseresultaten Shambala

Massa druppels zoals verkregen m.b.v. pipetflesje van het product	1 druppel = 0,0294 g
<i>Stoffen aangetroffen en gekwantificeerd:</i>	
Harmine	10,976 mg/g product, 0,323 mg/druppel (RSD = 0,8%)
Harmaline	1,845 mg/g product, 0,0543 mg/druppel (RSD = 0,9%)
Tetrahydroharmine (THH)	6,184 mg/g product, 0,182 mg/druppel (RSD = 1,5%)

Tabel 4. Analyseresultaten soortgelijk kruidenpreparaat

Massa druppels zoals verkregen m.b.v. pipetflesje van het product	1 druppel = 0,0455 g
<i>Stoffen aangetroffen en gekwantificeerd:</i>	
Harmine	2,705 mg/g product, 0,123 mg/druppel (RSD = 7,8%)
Harmaline	0,258 mg/g product, 0,0117 mg/druppel (RSD = 5,6%)
Tetrahydroharmine (THH)	1,929 mg/g product, 0,0877 mg/druppel (RSD = 6,8%)

Blootstelling

Op basis van de geanalyseerde gehalten harmine, harmaline en THH in de producten, de aanbevolen dagdoseringen (in druppels) op de verpakking en het gemeten gewicht per druppel (Tabel 1-4) is de dagelijkse blootstelling aan harmine, harmaline en THH berekend bij gebruik van Shambala of het soortgelijke kruidenpreparaat (Tabel 5).

Tabel 5. Geschatte dagelijkse blootstelling aan β -carboline alkaloiden bij het voorgeschreven gebruik van Shambala en het soortgelijke kruidenpreparaat.

Product	Dagdosering (druppels)	Blootstelling ¹		
		Harmine	Harmaline	THH
Shambala	3-9	0,97-2,91 mg (14-42 μ g/kg lg)	0,16-0,49 mg (2,3-7,0 μ g/kg lg)	0,55-1,64 mg (7,8-23 μ g/kg lg)
Soortgelijk kruidenpreparaat	4-20	0,49-2,46 mg (7,0-35 μ g/kg lg)	0,05-0,23 mg (0,7-3,3 μ g/kg lg)	0,35-1,75 mg (5,0-25 μ g/kg lg)

¹ De blootstelling per kg lichaamsgewicht (lg) is berekend voor een persoon van 70 kg.

Aanpak literatuurstudie

Er is gezocht naar toxiciteitsgegevens over de aangetroffen β -carboline alkaloiden harmine, harmaline en THH in de databases Pubmed, Scopus en Embase. In Pubmed is met behulp van de MeSH-termen voor harmine, harmaline en THH voor deze drie stoffen afzonderlijk gezocht in combinatie met het de term toxic*. In Embase is een vergelijkbare zoekstrategie uitgevoerd gebruikmakende van de Emtree termen voor harmine, harmaline en THH. In Scopus is gezocht op de combinatie van toxic* met de drie stoffen afzonderlijk. Daarnaast is in bovenstaande databases en een aantal naslagwerken (Natural Medicines, Hagers Enzyklopädie, en de Commissie E monografieën) gezocht naar toxicologische informatie over de planten *C. angustifolia* en *B. caapi*. Ook is gekeken of er risicobeoordelingen over deze stoffen en/of planten beschikbaar waren van zusterinstituten. In de wetenschappelijke literatuur en in bovengenoemde andere bronnen is geen informatie te vinden over de producten Shambala en het soortgelijk kruidenpreparaat.

Toxiciteitsgegevens

Hieronder worden de beschikbare gegevens voor Shambala, het soortgelijk kruidenpreparaat, *C. angustifolia* en voor *B. Caapi* en de β -carboline alkaloiden harmine, harmaline en THH beschreven. De focus ligt hierbij op (orale) dierstudies en (orale) humane gegevens over toxische effecten van deze planten en inhoudstoffen. Gegevens over andere toedieningsroutes en *in vitro* gegevens zijn grotendeels buiten beschouwing gelaten. Informatie over kinetiek en werkingsmechanisme is grotendeels gebaseerd op twee recente overzichtsartikelen (Brita-da-costa et al., 2020; Zhang, Li & Yu, 2020).

Shambala en soortgelijk kruidenpreparaat

Er zijn geen toxiciteitsstudies met Shambala of het soortgelijk kruidenpreparaat gevonden en ook geen humane gegevens. Bij het Nationaal Vergiftiging Informatie Centrum (NVIC) zijn geen meldingen van het gebruik van Shambala binnen gekomen (persoonlijke communicatie, november 2021).

Op de websites waar Shambala of het soortgelijk kruidenpreparaat verkocht worden, worden een aantal contra-indicaties gegeven, en wordt gewaarschuwd voor mogelijke bijwerkingen van deze producten. Shambala kan de rijvaardigheid beïnvloeden en is niet bedoeld voor zwangere vrouwen en kinderen jonger dan 16 jaar. Ook wordt afgeraden om Shambala te gebruiken in combinatie met medicatie zoals hartmedicatie of psychofarmaca. Er wordt geadviseerd om in dat geval eerst een arts te raadplegen. Ook wordt geadviseerd om op te letten bij psychische stoornissen (Superfoodies, 2021). De waarschuwingen voor het soortgelijke kruidenpreparaat komen gedeeltelijk overeen met de waarschuwingen voor Shambala. Daarnaast wordt dit kruidenpreparaat ook afgeraden tijdens lactatie en voor kinderen jonger dan 18 jaar. Bovendien wordt genoemd dat *B. caapi* een monoamine-oxidase (MAO) remmer is en beter niet gecombineerd kan worden met voedingsmiddelen zoals gerookte vis, champagne of blauwe kaas, of drugs zoals ecstasy (XTC). Bij beide producten worden ook bijwerkingen genoemd, zoals hoofdpijn, een prikkend gevoel onder je tong en/of diarree.

Calliandra angustifolia

Over de (actieve stoffen van de) plant *Calliandra angustifolia* is weinig bekend (Rumlerová et al., 2021). De plant wordt niet genoemd in het EFSA compendium of botanicals (EFSA, 2012) of in de hierboven beschreven naslagwerken. Ook in de wetenschappelijke literatuur zijn weinig relevante gegevens over deze plant gevonden. In de productbeschrijving van een kruidenpreparaat op basis van *C. angustifolia* staat beschreven dat deze plant MAO-remmers bevat en dat het zeer gevaarlijk kan zijn wanneer het product gecombineerd wordt met bepaalde etenswaren of psychoactieve stoffen die normaliter niet schadelijk zijn (Indianspirit, 2021). In een recent artikel wordt

aangegeven dat *C. angustifolia* TTH bevat en als MAO-remmer werkt (Rumlerová et al., 2021).

***Banisteriopsis caapi* en de β -carboline alkaloiden harmine, harmaline en THH**

Kinetiek

Humaan

Na orale toediening van 20-50 mg harmine (ongeveer 0,3-0,7 mg/kg lg) ontstonden psychotrope effecten binnen 20-30 minuten. Dit impliceert dat absorptie in het bloed plaatsvindt na orale toediening (Naranjo, 1959, zoals geciteerd door Brito-da-costa et al., 2020).

Ook na orale inname van ayahuasca is opname van β -carboline alkaloiden waargenomen. Ook de metabolieten harmol en harmalol werden gedetecteerd in plasma. De β -carboline alkaloiden worden met name als metabolieten uitgescheiden, slechts lage hoeveelheden van harmine, harmaline en THH worden gevonden in urine (Brito-da-Costa et al., 2020). Ter illustratie, blootstelling van vrijwilligers (n=18) aan ayahuasca, overeenkomend met een dosis van 1 mg/kg lg harmine, 0,07 mg/kg lg harmaline en 0,82 mg/kg lg THH leidde tot maximale plasmaconcentraties (C_{max}) van ongeveer 2,5 ng/mL voor harmaline en 20 ng/mL voor THH. Dit was een lagere dan gebruikelijke dosis ayahuasca die nog wel tot subjectieve effecten leidde. Blootstelling aan een hogere dosis ayahuasca overeenkomend met 1,4 mg/kg lg harmine, 0,09 mg/kg lg harmaline en 1,2 mg/kg lg THH leidde tot C_{max} van ongeveer 4,3 ng/mL voor harmaline en 33 ng/mL voor THH. Harmine was niet detecteerbaar, maar wel diens metaboliet harmol met een C_{max} van ongeveer 11 ng/mL bij de lage dosis ayahuasca en van ongeveer 13 ng/mL bij de hoge dosis. Dit suggereert dat harmine voor het bereiken van de bloedbaan grotendeels omgezet wordt (Riba et al., 2003).

Na intraveneuze toediening van 0,5 mg/kg lg harmine in humane vrijwilligers was de hoeveelheid in het bloed na 2 minuten afgenomen tot 10%. Vier uur later was 1% van de dosis nog aanwezig in het bloed (Hagers Enzyklopädie). Na intraveneuze toediening van 0,5 mg/kg lg harmine-hydrochloride werd 35% van de dosis uitgescheiden binnen 24 uur. Hiervan was het grootste gedeelte harmine-glucuronide of harmine-sulfaat. Harmol vormde 0,03% van de uitgescheiden dosis en 0,06% werd onveranderd uitgescheiden (Hagers Enzyklopädie).

Harmine en harmaline worden gemetaboliseerd door diverse cytochroom P450 isoenzymen, waarbij CYP1A1, CYP1A2 en CYP2D6 een grote rol spelen. Er kunnen daarom interindividuele verschillen optreden door polymorfismen en/of leefstijlfactoren die de activiteit van deze CYP isoenzymen beïnvloeden. Harmine kan omgezet worden in harmol, een 3-hydroxyharmine analoog, een 5-hydroxyharmine analoog, en een dihydroxyharmine analoog. Harmaline kan omgezet worden in harmalol, een hydroxyharmine analoog en harmine (Zhang, Li & Yu, 2020; Brito-da-Costa et al., 2020). Harmol en harmalol kunnen daarna nog geconjugeerd worden met vooral glucuronide, voordat ze uitgescheiden worden via de gal of met de urine (Zhang, Li, and Yu 2020). TTH wordt gedeeltelijk gemetaboliseerd naar tetrahydroharmol (7-hydroxy-tetrahydroharmine) (Brito-da-Costa et al., 2020).

In vitro is met behulp van humane levermicrosomen gevonden dat harmine CYP3A4 en CYP2D6 remt met IC_{50} waarden (concentratie waarbij de helft van de maximale remming optreedt) van 44 en 39 μ M, respectievelijk. Harmaline is een sterkere remmer dan harmine van CYP2D6 (IC_{50} = 26 μ M), maar een zwakkere remmer van CYP3A4 (IC_{50} > 100 μ M) (Zhao et al., 2011; Zhang, Li, & Yu, 2020).

Ratten

Harmine en harmaline worden na orale toediening snel opgenomen in ratten. Na orale toediening van 40 mg/kg lg harmine en harmaline werd de C_{max} van harmine en harmaline na respectievelijk 0,56 en 1,76 uur (T_{max}) bereikt. De biobeschikbaarheid in deze ratten bedraagt ongeveer 1% voor harmine en 17% voor harmaline (Brito-da-costa et al., 2020). Een biobeschikbaarheid van ongeveer 3% werd gevonden na de orale toediening van 20 mg/kg lg harmine aan mannelijke Sprague-Dawley ratten (Zhang, Li, and Yu 2020). Dit betekent dat er bij deze stoffen een groot first pass effect optreedt, dus dat ze grotendeels omgezet worden in de darmen en de lever voordat ze in de bloedcirculatie terechtkomen.

Na een eenmalige orale toediening van 15, 45 en 150 mg/kg lg per dag van een totaal-alkaloïden-extract van zaden van *P. harmala* gedurende 4 weken aan groepen van 10 Wistar ratten werden harmine en harmaline snel geabsorbeerd en werd de C_{max} bereikt na respectievelijk 0,69 – 2,7 uur en 0,73 – 4 uur. De T en C_{max} namen toe met de dosis. Na herhaalde toediening van deze doseringen gedurende 14 of 28 dagen werden hogere C_{max} bereikt. De metaboliet harmol werd binnen 5 minuten in het plasma gemeten bij alle doseringen en blootstellingsduren. De metaboliet harmalol werd alleen aangetroffen na herhaalde blootstelling. Harmine en harmaline bleken zich wijdverspreid over het lichaam te verdelen. De hoogste concentraties werden gevonden in de lever, nieren, milt en longen. De gehalten in de organen namen dosisgerelateerd toe. Er trad geen accumulatie op in de onderzochte organen. In tegenstelling tot harmine werd harmaline ook gevonden in het brein wat passage over de bloed-hersenbarrière suggereert. Ook de metaboliet harmalol werd in het brein gevonden (Wang et al., 2019). Dit onderzoek is samen met een 28 dagen toxiciteitsstudie uitgevoerd. Deze staat verderop beschreven (Wang et al., 2019).

Harmine wordt uitgebreid gemetaboliseerd in ratten. Na intraveneuze toediening van 5 mg/kg werd 99% van de dosis terug gevonden als metabolieten in de gal (73%) en urine (26%). De meest voorkomende metabolieten waren harmol-sulfaat en harmol-glucuronide, maar ook onveranderd harmine en harmol werden terug gevonden (Hagers Enzyklopedie).

Werkingsmechanisme

Een overzicht van de werkingsmechanismen van harmine, harmaline en THH wordt gegeven in het overzichtsartikel van Brito-da-costa et al. (2020). Deze stoffen kunnen gedrags-, psychologische en fysiologische effecten veroorzaken in de mens door het beïnvloeden van de concentraties monoamine neurotransmitters (zoals serotonine, dopamine en noradrenaline) in het centrale zenuwstelsel. Dit kan door het beïnvloeden van het metabolisme van deze neurotransmitters of door directe interactie met specifieke receptoren. Harmine en harmaline zijn reversibele, selectieve remmers van het enzym monoamine oxidase A (MAO-A). Voor harmine zijn IC_{50} waarden in de lage nanomolaire range gerapporteerd (2-17 nM) (Brierley & Davidson, 2012). THH remt de serotonine heropname en heeft weinig of geen effect op MAO-A. De hallucinerende effecten van deze alkaloiden worden mogelijk veroorzaakt door hun directe binding aan serotoninereceptoren (5-HT_{2A} of 5-HT_{2C}). Ook kunnen deze alkaloiden tremoren veroorzaken door hun interactie met serotonine-binding receptoren. Een ander belangrijk werkingsmechanisme dat wordt voorgesteld voor harmine en harmaline is het stimuleren van de efflux van dopamine en mogelijk het remmen van de dopamine transporter en de dopamine heropname (Brito-da-Costa et al., 2020).

Acute toxiciteit

Er zijn vrijwel geen orale acute toxiciteitsstudies met harmine, harmaline, TTH of B. caapi extract beschikbaar. Wang et al. (2019) rapporteren een orale LD₅₀ (mediane letale

dosering, dosering die bij 50% van de dieren tot sterfte leidt) in muizen van 118,9 mg/kg lg voor harmaline en 250,3 mg/kg lg voor harmine.

Daarnaast beschrijven Wang et al. (2019) dat in muizen, katten, konijnen en apen acute actietremoren (tremoren die bij spieractiviteit optreden) zijn waargenomen na injectie met een hoge (niet verder gespecificeerd) dosis harmine en/of harmaline. In runderen zijn toxische effecten (clonische spierspasmen, versnelde pols en ademhaling) gezien na intraveneuze toediening van 9 mg/kg lg harmine en harmaline.

Hieronder worden enkele studies met intraveneuze of intraperitoneale toediening in meer detail beschreven.

Yang et al. (2021) hebben een intraveneuze LD₅₀ waarde van 26,9 mg/kg lg afgeleid voor harmine. De intraveneuze acute toxiciteit van harmine is in een aantal experimenten onderzocht. Groepen van 10 mannelijke Institute of Cancer Research (ICR) muizen (albino muizen, 6 weken oud) werden eenmalig intraveneus blootgesteld aan doseringen tot 250 mg/kg lg harmine hydrochloride (zuiverheid $\geq 98\%$). Effecten die waargenomen werden, waren rusteloosheid, tremoren, convulsie, springen, ataxie, opisthotonus (krampachtige achteroverstrekking van het lichaam) en sterfte. Alleen bij doseringen tot 7,5 mg/kg lg trad geen sterfte op. Omdat alle sterfte binnen 30 minuten optrad en de andere symptomen vrijwel verdwenen waren binnen 60 minuten is de LD₅₀ waarde 60 minuten na de toediening van harmine vastgesteld. Deze bedroeg 26,9 mg/kg lg.

In een tweede experiment is in twee groepen van 10 mannelijke muizen onderzocht wat de effecten op een aantal biochemische parameters waren 60 min na intraveneuze blootstelling aan 20 mg/kg lg harmine of aan water. Er werden geen significante veranderingen in de activiteit van alanine aminotransferase (ALT) en aspartate aminotransferase (AST) gezien en dus geen aanwijzingen voor levertoxiciteit binnen 60 minuten na toediening. Wel waren creatinekinase (CK), creatinekinase-MB (CK-MB), lactaatdehydrogenase (LDH) en creatinine (Cr) statistisch significant verhoogd in de blootgestelde dieren. Verhoging van de enzymen CK, CK-MB en LDH die onder andere voorkomen in hartsperweefsel kan een indicatie zijn dat harmine schade aan het hart kan veroorzaken. Er waren geen duidelijke histopathologische effecten zichtbaar in het hart, de lever, de longen en de nieren bij deze blootstellingsduur en concentratie.

In een derde experiment werd in geanestheseerde muizen na intraveneuze blootstelling aan 0 (n=6), 25 (n=6), 50 (n=10) en 75 (n=6) mg/kg harmine een dosisgerelateerde afname van de cardiale functie waargenomen (hartslag en bloeddruk). Dit effect was sterk zichtbaar na 1 min bij blootstelling aan 25 mg/kg harmine en nam geleidelijk toe tot 50% van de originele hartslagwaarde en tot 100% van de originele bloeddrukwaardes binnen 30 min. Bij een hogere concentratie (50 mg/kg) overleed een deel van de muizen waarbij ook een scherpe afname van de bloeddruk en hartslag en een omkering van de QRS-golven te zien was. Van muizen die deze dosis wel overleefden nam de hartslag en de bloeddruk weer toe naar respectievelijk 40% en 70% van de originele waardes binnen 30 min en keerden de QRS-golven weer om. Bij 75 mg/kg overleden alle muizen. Daarbij werd een scherpe afname van de bloeddruk en hartslag gezien, samen met omkering van de QRS-golven (Yang et al., 2021).

C₅₇BL/6-muizen (9-12 weken oud) werden eenmalig intraveneus blootgesteld aan 5-100 mg/kg lg harmine. Na 14 dagen werden de dieren gedood om de effecten op het hart, de lever en de nieren te bestuderen. Ook muizen die eerder doodgingen werden hierop onderzocht. Na blootstelling aan harmine traden neurotoxische effecten (tremoren, spiertrekkingen, supinatie [draaiing poten] en spasmen) op en deze effecten werden

geclassificeerd als ernstig. De dieren die het overleefden hadden tremoren gedurende 20 min, die daarna geleidelijk afnamen. De dag erna lieten de dieren geen effecten meer zien. Er zijn geen macroscopische veranderingen van het hart, de lever of de nieren waargenomen. De auteurs hebben een LD₅₀ afgeleid en weergegeven in een figuur, maar deze waarde is niet af te leiden uit de figuur (Chen et al., 2004).

Groepen vrouwelijke schapen (Border Leicester x Merino) werden eenmalig intraperitoneaal blootgesteld aan 2 mg/kg lg, 6 mg/kg lg of 18 mg/kg lg harmine of harmaline. Bij 2 mg/kg lg werden geen effecten gezien. Bij de andere doseringen traden bij harmine binnen 10-12 minuten effecten op die 2,5 – 4,5 uur aanhielden. Bij harmaline traden binnen 8-12 minuten effecten op die 2,5 – 7 uur aanhielden. Bij de hogere dosering traden de effecten sneller op en duurden ze langer. Effecten die gezien werden bij harmine en/of harmaline waren bij 6 mg/kg lg onder andere (milde) tremoren, milde verlamming van de achterpoten en het kruisen van de ledematen tijdens beweging. Bij de hoogste dosering werden verminderd bewustzijn, tremoren, hypomobiliteit, verlamming van de ledematen en het kruisen van de ledematen tijdens beweging gezien (Bourke et al., 1990).

Subchronische toxiciteit

Holtzman vrouwtjesratten (5 per groep) kregen via een orale maagsonde twee keer per week een ethanolextract (0,7 mL oplossing) van *B. caapi* toegediend gedurende een maand. De dieren werden geobserveerd op motoractiviteit, psychoactieve effecten, reflexen, sedatie, duizeligheid, passiviteit, tremoren in het gezicht, waakzaamheid, diurese en reactie op aanraking. De dieren werden 24 uur na de laatste toediening gedood en de hersenen, de lever en de aorta werden microscopisch onderzocht. In de dieren werd een verlaagde motoractiviteit, milde sedatie, passiviteit en reactie op aanraking gezien. Microscopisch onderzoek liet geen veranderingen in de hersenen zien, maar wel structurele veranderingen, hemorrhagie en milde congestie in de lever en veranderingen in de aorta (verdikking van de wand met toename van lipofagen (macrofagen die veel kleine vetvacuolen bevatten) (Castro et al., 2017).

Groepen van 15 mannelijke en 15 vrouwelijke Wistar ratten kregen gedurende 28 dagen dagelijks 0, 15, 45 of 150 mg/kg lg van een totaal alkaloidenextract van *P. harmala* zaden toegediend via een maagsonde (Wang et al., 2019). Het extract bevatte 30,57% harmaline en 27,63% harmine. De dieren werden dagelijks geobserveerd voor tekenen van toxiciteit en sterfte. Lichaamsgewicht en voerinnname werden wekelijks gemeten. Na 28 dagen werden 10 mannetjes en 10 vrouwtjes uit iedere groep gedood. De andere dieren werden na een herstelperiode van vier weken gedood. Van tevoren werden bloedmonsters genomen voor hematologische en biochemische analyses en werd urine verzameld voor analyses. De dieren werden macroscopisch onderzocht en het gewicht van 11 organen werd bepaald. Een aantal organen (lever, hart, milt, nier, hersenen, thymus, bijnier, baarmoeder, testis en bijbal) werd microscopisch onderzocht. Bij de hoogste dosering traden in beide seksen ongeveer 15 minuten na dosering tremoren op die ongeveer vier uur aanhielden. Vanaf dag 4 traden geen tremoren meer op. In de eerste week, maar niet in de rest van de studie, was de voerinnname ook statistisch significant verminderd in ratten uit de hoogste doseringsgroep. Er zijn geen effecten gerelateerd aan de blootstelling op hematologische of urineparameters. In vrouwtjes in de hoogste doseringsgroep werden diverse statistisch significante verschillen gezien in biochemische parameters die wijzen op effecten op bloedglucose en vetmetabolisme en mogelijke leverschade. In vrouwtjes en mannetjes was het relatieve levergewicht verhoogd in de hoogste doseringsgroep, en in mannetjes ook het relatieve testisgewicht (absolute orgaangewichten zijn niet gerapporteerd). Na de herstelperiode waren deze effecten verdwenen.

Onder de condities van deze studie kon een no-observed-adverse-effect-level (NOAEL) van 45 mg/kg lg totaal alkaloidenextract van *P. harmala* zaden worden vastgesteld

(Wang et al., 2019). Dit komt overeen met 13,8 mg/kg lg harmaline en 12,4 mg/kg lg harmine.

Harmine hydrochloride (0, 2,5, 5, 9 of 10 mg/kg lg per dag) werd gedurende drie maanden toegediend via een maagsonde aan groepen van 3 mannetjes en 3 vrouwtjes CD-1 ratten. Na drie maanden werd bloed afgenomen en werden de dieren gedood en de hersenen, het hart, de milt en de bijnieren werden gewogen en histopathologisch onderzocht. Er werden geen verandering in lichaamsgewicht, algemene conditie of gedrag van de dieren waargenomen. Bij de hoogste dosering was de plasmaconcentratie van het leverenzym AST statistisch significant verhoogd (+280%). Bij doseringen van 9 en 10 mg/kg lg werden histopathologische effecten gezien in het hart, de milt en de bijnieren. De NOAEL uit deze studie was 5 mg/kg lg per dag harmine hydrochloride (Zhanaidarova et al., 2019). Dit komt overeen met 4,2 mg/kg lg per dag harmine.

Genotoxiciteit

Er zijn verschillende genotoxiciteitsstudies uitgevoerd met harmine en harmaline en een beperkt aantal voor harmol en harmalol. Hieronder worden de resultaten uit de studies kort benoemd. Deze studies zijn niet conform de testrichtlijnen van de Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling (OECD) uitgevoerd.

In vitro

Harmine

Harmine gaf positieve resultaten in een chromosoomaberratietest (de test is alleen uitgevoerd zonder metabole activatie) en in een Comet-assay (met en zonder metabole activatie) in V79-longcellen van Chinese hamsters (Boeira et al., 2001). Ook versterkte harmine de door ultraviolet (UV) en mitomycine C geïnduceerde chromosoomaberraties in Chinese hamster CHO K-1 cellen in aanwezigheid van metabole activatie (Sasaki et al., 1992) en de door UV-C geïnduceerde mutageniteit zonder metabole activatie in *E. coli* B/r WP2 maar had harmine geen effect op mutageniteit zonder UV-C (Shimoi, Kawabata & Tomita, 1992). Ook werden door harmine geïnduceerde puntmutaties en frameshift mutaties en recombinogene effecten (crossing-over en genconversie) waargenomen in *Saccharomyces cerevisiae* tijdens de exponentiële groeifase maar niet tijdens de stationaire groeifase (Boeira et al., 2002). Bestraling met UVA leidde tot door harmine geïnduceerde vorming van DNA fotoproducten en micronuclei in V79 cellen en bacteriofaag DNA (PM2-plasmide) (Vignoni et al., 2014). Harmine gaf in een Ames test met *Salmonella typhimurium* stam TA97, TA98, TA100 en TA102 een zwak positieve respons (met metabole activatie) in stam TA97, TA98 en TA102 (Picada et al., 1997). In een andere Ames test gaf harmine negatieve resultaten in *S. typhimurium* stam TA98 en TA100, zowel met als zonder metabole activatie (Kummrow et al., 2019).

Harmine liet een negatieve respons zien in een SOS chromosoomtest met *Escherichia coli* PQ37 (Picada et al., 1997), en op mutageniteit in *E. coli* B/r WP2 zonder UV straling (Shimoi, Kawabata & Tomita, 1992).

Harmaline

In een Ames test met *S. typhimurium* stammen TA97, TA98, TA100 en TA102 liet harmaline een zwakke positieve respons zien in stam TA102 met metabole activatie (Picada et al., 1997), en in een andere Ames test met stam TA98 en TA100 was harmaline positief in stam TA98 zonder metabole activatie (Kummrow et al., 2019). Harmaline had geen effect op mutageniteit in *E. coli* B/r WP2 zonder UV straling (Shimoi, Kawabata & Tomita, 1992) maar versterkte de door UVC geïnduceerde mutageniteit zonder metabole activatie in *E. coli* B/r WP2 (Shimoi, Kawabata & Tomita, 1992).

Harmaline liet geen effecten zien in een SOS chromosoomtest met *E. coli* (Picada et al., 1997) en op door UV en mitomycine C geïnduceerde chromosoomaberraties in CHO K-1 cellen in aanwezigheid van metabole activatie (Sasaki et al., 1992).

Harmol

In een Ames test met *S. typhimurium* stammen TA97, TA98, TA100 en TA102 liet harmol een positieve respons zien in *S. typhimurium* stam TA97 zonder metabole activatie. Harmol liet een negatieve respons zien in een SOS chromosoomtest met *E. coli* PQ37 (Picada et al., 1997).

Harmalol

Harmalol liet een negatieve respons zien in zowel een SOS chromosoomtest met *E. coli* PQ37 als in een Ames test met *S. typhimurium* stammen TA97, TA98, TA100 en TA102 (Picada et al., 1997).

B. caapi extract

Een extract van *B. caapi* (vermalen, gekookt, en geconcentreerd) was positief in een Ames test in *Salmonella typhimurium* stam TA98, zowel met (vanaf 250 µL/plaat) als zonder (vanaf 750 µL/plaat) metabole activatie. In het extract zat 1175 µg/mL harmine, 225 µg/mL harmaline en 1580 µg/mL THH (Kummrow et al., 2019).

Als verklaring voor de mutagene werking van bovengenoemde β-carbolines wordt de mogelijkheid tot intercalatie met DNA genoemd (Taira et al., 1996).

In vivo

Er is één *in vivo* studie met harmine geïdentificeerd (Picada et al., 1997). In de micronucleustest werden Swiss Webster muizen (5 mannetjes en 5 vrouwtjes per groep) blootgesteld aan een eenmalige intraperitoneale dosis van 46 mg/kg lg harmine (zuiverheid >98%) en na 24 of 48 uur gedood voor analyse van het beenmerg. De dosering was volgens de auteurs gelijk aan de intraperitoneale maximaal tolereerbare dosering op basis een verkennende studie (data niet beschikbaar). De frequentie polychromatische erythrocyten (PCE) werd onderzocht in 1000 erythrocyten. Ook werd de frequentie van PCE met micronuclei (MNPCE) in 2000 PCE per dier vastgesteld. Er werd geen beenmergtoxiciteit waargenomen op beide tijdstippen (geen verlaging in de frequentie van PCEs). Ook werd geen verhoogde frequentie van MNPCE waargenomen (Picada et al., 1997).

Wistar ratten (5 per sekse per groep) kregen eenmalig oraal een aftreksel van ayahuasca toegediend in drie sterktes, namelijk 1x, 5x en 15x de gebruikelijke humane dosis. De gebruikelijke humane dosis was 0,302 mg/kg lg N-N-dimethyltryptamine (DMT), 3,35 mg/kg lg harmine, 0,261 mg/kg lg harmaline. De ratten werden 30 uur na toediening gedood en bloedmonsters werden afgenomen. Genotoxiciteit werd onderzocht door middel van flowcytometrie, een comet assay en een micronucleustest.

Er werden geen mortaliteit, klinisch waarneembare effecten, macroscopische veranderingen of veranderingen in relatieve orgaangewichten (lever, nier, milt, hersenen) waargenomen. Ook waren er geen significante verschillen tussen de behandelde dieren en controledieren voor wat betreft hematologische parameters. Biochemische parameters lieten alleen bij sterkte 15x verschillen zien. Er werd een statistisch significante toename in ureum en creatinine waargenomen en een afname in de serumconcentratie van triglyceriden.

In de comet assay (single cell electrophoresis assay) werden 100 leukocyten nuclei per dier geanalyseerd en met behulp van software automatisch geclassificeerd op DNA

schade (klasse 0 (geen schade) – 4 (veel schade)). Er waren geen significante verschillen tussen behandelde dieren en controledieren voor wat betreft de DNA schade index. Hierbij moet opgemerkt worden dat onder meer de blootstelling niet voldoet aan de eisen van de betreffende OECD richtlijn (OECD, 2016a). Deze schrijft voor dat dieren minimaal twee dagen moeten worden blootgesteld en dat de bloedmonsters 2 – 6 uur na de laatste toediening genomen moeten worden.

In de micronucleustest werden 2000 PCE per dier onderzocht op de aanwezigheid van onvolgroeide MNPCE. Daarnaast werden ook normochromatische erythrocyten (NCE) geteld en werd de cytotoxiciteit onderzocht door middel van de ratio PCE/(PCE+NCE). In de behandelde groepen was de frequentie van MNPCEs over het algemeen laag. Echter bij sterkte 15x was zowel bij vrouwtjes als bij mannetjes de MNPCE frequentie statistisch significant ($P < 0,05$) verhoogd ten opzichte van de negatieve controlegroep. Er werd geen cytotoxiciteit waargenomen. Volgens de auteurs is deze assay uitgevoerd volgens OECD richtlijn 474 (1997). Ook hierbij moet opgemerkt worden dat de uitvoering niet voldoet aan de eisen van de OECD richtlijn (OECD, 2016b). Bij eenmalige toediening moeten er tenminste twee beenmergmonsters tussen 24 en 48 uur na toediening worden genomen, tenzij onderbouwd kan worden waarom hiervan afgeweken wordt. Ook moet de aanwezigheid van onvolgroeide MNPCE worden gescoord in tenminste 4000 erythrocyten per dier.

Uit de flowcytometrie bleek dat het percentage DNA fragmentatie in het beenmerg statistisch significant verhoogd was in vrouwtjesratten ten opzichte van controleratten bij sterkte 1x, maar niet bij hogere doseringen. Deze bevinding is niet dosisgerelateerd en daarom waarschijnlijk niet gerelateerd aan de blootstelling.

De auteurs concluderen dat ayahuasca in sterkte 1x en 5x niet genotoxisch is, en dat er een NOAEL vastgesteld kan worden van sterkte 5x (1,5 mg/kg lg DMT) (Melo Jr et al., 2016). Voor genotoxiciteit kan echter geen NOAEL vastgesteld worden, en de auteurs van de huidige beoordeling concluderen dat de micronucleus test een positief resultaat laat zien voor ayahuasca.

Chronische toxiciteit en carcinogeniteit

Er zijn geen studies met *B. caapi*, harmine, harmaline of THH gevonden.

Reproductie- en ontwikkelingstoxiciteit

Hieronder worden de beschikbare studies met harmine en harmaline beschreven en daarnaast ook een aantal studies met ayahuasca. Er zijn geen studies gevonden met alleen *B. caapi*.

Kamel et al. (1971) hebben drachtige witte ratten gedurende 5 dagen dagelijks subcutaan blootgesteld aan 155 mg/kg lg van een 2:1 mengsel van harmine en harmine hydrochloride. De eerste dag van de dracht was gedefinieerd als de dag waarop de vaginale plug werd waargenomen. Eén groep drachtige ratten ($n=24$) kreeg dit mengsel toegediend gedurende dag 7 tot 12 van de dracht. De andere groep ($n=24$) kreeg dit mengsel toegediend gedurende dag 14 tot 19 van de dracht. In totaal kregen 12 drachtige controledieren geen behandeling. Achtenveertig uur na de laatste toediening werden de dieren gedood en onderzocht. Van de ratten die van dag 7 tot 12 behandeld waren, bleken er 6 ratten niet zwanger te zijn geraakt. Bij 7 ratten had foetale resorptie plaatsgevonden, bij nog eens 7 ratten werden bloedingen in de placenta en overblijfselen van foetussen gevonden, en 4 ratten hadden nog levende foetussen. Van de ratten die van dag 14 tot 19 behandeld waren, waren er 6 niet drachtig geraakt. Bij 3 ratten had foetale resorptie plaatsgevonden, bij 8 ratten werden bloedingen in de placenta en overblijfselen van foetussen gevonden, en 7 ratten hadden nog levende foetussen. Bij de

in totaal 12 controledieren waren er 8 drachtig en 4 niet. Volgens de auteurs hebben de alkaloiden waarschijnlijk effect op de doorbloeding van de baarmoeder en placenta veroorzaakt, als gevolg van vasoconstrictie door hyperserotoninemie door herhaalde toediening van deze alkaloiden (Kamel et al., 1971).

Drachtige witte muizen werden dagelijks subcutaan geïnjecteerd met 0,4 mg harmaline hydrochloride gedurende dag 1-6, dag 4-7 of dag 6-11 van de dracht (n=13-14 per groep). De eerste dag van de dracht was gedefinieerd als de dag waarop de vaginale plug werd waargenomen. Autopsie vond plaats op dag 14. Bij de laagste dosering hadden 8 à 9 muizen per behandelingsgroep een normale dracht, bij 2 muizen waren er overblijfselen van de placenta en foetussen zichtbaar en 14 muizen lieten geen teken van dracht zien. Daarnaast was er een groep muizen (n=8) die 0,8 mg harmaline hydrochloride per dag kreeg tijdens dag 11 tot 16. Bij autopsie op dag 18 hadden 5 muizen een normale dracht en 3 muizen geen teken van dracht. Bij beide doseringen waren er geen significante verschillen ten opzichte van de controlegroep (er zijn geen details over de controlegroep beschreven) (Poulson & Robson, 1963).

Drachtige Sprague-Dawley ratten (22 dagen dracht; 2-5 ratten per groep) werden subcutaan blootgesteld aan 10 mg/kg lg harmaline 2 of 4 uur voordat de foetussen werden gehaald. Hersenen van de foetus werden onderzocht op concentraties serotonine en de serotoninemetaboliet 5-hydroxyindolazijnzuur (5-HIAA). Serotonineniveaus stegen tot 143% van dat in de controledieren 2 uur na injectie en bleven op ongeveer dat niveau (~145%) 4 uur na injectie ($P < 0,005$). Hersenconcentraties van 5-HIAA namen af tot 65% van de concentraties in de controledieren 2 uur na injectie ($P < 0,1$), en bleven op dat niveau 4 uur na injectie ($P < 0,05$). Harmaline had ook een effect op dopamine (145-158% van controle; $P < 0,01$ – $P < 0,001$), de dopaminemetaboliet 3,4-dihydroxyfenylazijnzuur (DOPAC; ~83%; $P < 0,1$) en de noradrenalinemetaboliet 3-methoxy-4-hydroxy-fenylglycol (MHPG; 136-169% van controle; $P < 0,10$ – $P < 0,005$) in de foetale hersenen. De auteurs geven aan dat de resultaten passen bij MAO remming (Okonmah et al., 1988).

Orale toediening van een aftreksel van ayahuasca (met *B. caapi*) in verschillende sterktes (0, 1x, 2x, 4x en 8x de gebruikelijke humane dosis voor een persoon van 70 kg) om de andere dag gedurende 70 dagen in Wistar ratten (n=12 per groep) liet een statistisch significante toename zien in testosteronniveau en een statistisch significante afname in het aantal spermacellen en de "spermal transit time" (maat voor duur van de rijping van de spermacellen in de epididymis; een lagere "spermal transit time" kan effect hebben op de vruchtbaarheid) bij de 4x dosering. Daarnaast was er sprake van een statistisch significante lagere inname van voedsel, lager lichaamsgewicht en lagere totale gewichtstoename aan het eind van de studie in de groepen 4x en 8x. De toename in testosteron wordt door de auteurs toegeschreven aan DMT. Op basis van analyse van het ayahuasca aftreksel bevatte de dosering 1x de gebruikelijke humane dosis 3,3 mg/kg lg harmine, 0,26 mg/kg lg harmaline en 0,31 mg/kg lg DMT. TTH was niet gemeten in deze studie. De auteurs leidden een NOAEL af van 2x de gebruikelijke humane dosering (Santos et al., 2017).

Groepen Wistar ratten kregen gedurende dag 6-20 van de dracht een ayahuasca-extract toegediend in doseringen van 0, 1x, 5x en 10x de gebruikelijke humane dosering via een maagsonde (Oliveira et al., 2010). Het extract bevatte 0,42 mg/mL DMT, 1,37 mg/mL harmine, 0,62 mg/mL harmaline en 0,35 mg/mL THH. Op dag 20 werden de ratten gedood en werden de moeders en de foetussen onderzocht. In de hoogste dosering werd maternale toxiciteit gezien (een statistisch significant lagere voerinname en lagere toename in lichaamsgewicht, en verhoogd relatief levergewicht). Er was een dosisafhankelijke verlaging van het lichaamsgewicht van de foetussen, en de verlaging was statistisch significant in de hoogste doseringsgroep (3,45 g versus 3,83 g in de

controle groep). Zowel in de controlegroep als in de blootgestelde groepen werden afwijkingen in de organen en in het skelet van de pups waargenomen. Er was een dosisgerelateerde toename in de incidentie van verwijd lateraal ventrikel en verwijd derde ventrikel in de hersenen. Dit wordt door de auteurs als malformatie beschouwd omdat zowel de ernst als de incidentie hiervan dosisgerelateerd toenamen. Ook was er een dosisgerelateerde toename in de incidentie van verwijd nierbekken. Dit wordt door de auteurs niet als malformatie maar als variatie beschouwd omdat dit ook in controledieren voorkomt en waarschijnlijk geen schadelijk effect heeft op de gezondheid van de dieren. Skeletonderzoek toonde een significant verhoogd aandeel van foetussen met onvolledige ossificatie van tongbeen, onvolledige ossificatie van neusbot, asymmetrisch gevormde sternebrae (botten die het borstbeen gaan vormen) en een extra rib in de nek aan. Deze studie geeft aan dat ayahuasca-extract kan leiden tot maternale toxiciteit en embryotoxiciteit en teratogeniteit in ratten (Oliveira et al., 2010).

Groepen Wistar ratten kregen gedurende dag 6-20 van de dracht een ayahuasca-extract toegediend in doseringen tot 8x de gemiddelde humane equivalente dosering (aangepast naar lichaamsgewicht) via een maagsonde (Da Motta et al., 2018). Het extract bevatte 0,141 mg/mL DMT, 1,56 mg/mL harmine, 0,122 mg/mL harmaline. Het extract is niet geanalyseerd op THH. De 1x dosering komt overeen met 343 mg droge stof uit ayahuasca/kg lg/dag, 0,30 mg/kg lg/dag DMT, 3,34 mg/kg lg/dag harmine en 0,26 mg/kg lg/dag harmaline. Op dag 21 van de dracht zijn de dieren gedood en de moeders en de pups onderzocht. In de dieren blootgesteld aan de 4x en 8x doseringen trad sterfte van de moederdieren op (respectievelijk 44 en 52%) en de overige moederdieren in deze groepen vertoonden nierschade. Bij de 4x dosering werden in 2/14 dieren die nog leefden op dag 21 dode foetussen aangetroffen. Bij de 8x dosering betrof dit 3/12 dieren (deze dieren hadden hun hele nest verloren). Ter vergelijking, in de controlegroep (n=25) was er één dier met enkele dode foetussen. Ook waren effecten in de hersenen (afname aantal levende neuronen in hippocampus) zichtbaar in ratten blootgesteld aan 2x, 4x en 8x doseringen. Ook bij de niet-letale doseringen werden reprotoxische effecten gezien. Bij de 2x dosering was er een statistisch significante toename van vroege resorpties en een statistisch significante kleinere nestgrootte. Bij niet-letale doseringen werden in de pups afwijkingen in de zachte weefsels en in het skelet waargenomen. De auteurs hebben een NOAEL voor maternale toxiciteit van 1x de gemiddelde humane equivalente dosering afgeleid. Dit omdat er bij de 2x dosering een verlaging van het aantal levende neuronen in de hippocampus in de moederdieren werd waargenomen. Bij de 1x dosering trad alleen een kleine toename van skelet- en zachte weefselvariaties op, daarom werd deze dosering door de auteurs ook als NOAEL voor ontwikkelingstoxiciteit beschouwd (Da Motta et al., 2018). De auteurs van de huidige FO beoordeling beschouwen deze dosering als LOAEL omdat de toename van skelet- en weefselvariaties statistisch significant en van vergelijkbare orde grootte was als bij de hogere doseringen.

Neurotoxiciteit

Een eenmalige intraveneuze blootstelling aan ≥ 5 mg/kg lg harmine in muizen en intraperitoneale blootstelling aan ≥ 2 mg/kg lg in schapen leidde tot neurotoxische effecten, zoals tremoren en verlamming (Chen et al., 2004; Yang et al., 2021; Bourke et al., 1990).

Een eenmalige intraperitoneale blootstelling aan ≥ 1 mg/kg lg harmaline in muizen en ratten leidde tot neurotoxische effecten zoals een verminderd leervermogen, toegenomen geheugenverlies en tremoren (onder andere in Welsh, 1988; Lutes et al., 1988; O'hearn & Oliver, 1993; Stanford & Fowler, 1998; Morcuende et al., 2001; Wang & Fowler, 2001; Miwa et al., 2006; Handforth, 2012; Moura et al., 2016; Nasehi et al., 2016, Nasehi et al., 2017). De inferieure olivaire kern is betrokken bij het optreden van deze effecten (onder andere in Welsh, 1988; Lutes et al., 1988; O'hearn & Oliver, 1993; Stanford & Fowler, 1998).

In de studie van Stocco et al. (2020) werden FVB/N wild-type muizen en genetisch gemodificeerde muizen met humaan CYP2D6 eenmalig intraperitoneaal blootgesteld aan 5,0, 7,5 en 10 mg/kg lg harmine. Elke doseringsgroep bevatte 6 tot 8 wild-type muizen en 6 tot 8 genetisch gemodificeerde muizen. De lichaamstemperatuur werd gemeten op zeven momenten binnen 90 minuten na blootstelling. Daarnaast werd ook onderzocht of er tremoren optraden op zeven momenten binnen 80 minuten na blootstelling. De verlaging van de lichaamstemperatuur werd significant groter met oplopende doses harmine voor beide typen muizen ($p < 0,0001$). Ook werd er een toename gezien in tremoren met oplopende doses voor de wild-type muizen ($p < 0,001$) en de muizen met humaan CYP2D6 ($p < 0,05$). Intracerebroventriculaire toediening van de CYP2D6 remmer propranolol 4 uur voor blootstelling aan harmine leidde tot een toename van harmine-geïnduceerde hypothermie en tremoren in genetisch gemodificeerde muizen en een toename van hypothermie in wild-type muizen. Toediening van propranolol 24 uur voor blootstelling leidde alleen tot een toename van hypothermie in genetisch gemodificeerde muizen. De auteurs geven aan dat dit suggereert dat de werkzaamheid van humaan CYP2D6 van invloed is op de neurotoxiciteit. En dat interindividuele verschillen in CYP2D6 expressie bij kunnen dragen aan de variabiliteit in gevoeligheid voor neurotoxiciteit door harmine.

Humane gegevens

Er zijn enkele beperkte, oudere publicaties beschikbaar waarin effecten van harmine, harmaline en THH na orale toediening in de mens onderzocht en/of gerapporteerd zijn.

Na de inname van 20-50 mg harmine (ongeveer 0,3 – 0,7 mg/kg lg) door de mens traden de psychotrope effecten na 20-30 minuten op, met een piek rond 30 minuten tot een uur. De effecten hielden 6-8 uur aan. Harmine veroorzaakte pupilverwijding, speekselvorming, tranen, verhoogde temperatuur, hyperglycemie, lage bloeddruk en andere niet gespecificeerde effecten. Daarnaast wordt beschreven dat harmine in de mens agressief gedrag en psychedelische en emotionele effecten kan veroorzaken (Naranjo, 1959, zoals geciteerd in Brito-da-costa et al., 2020 en Simao et al, 2019). Hoewel niet expliciet beschreven, betreft dit waarschijnlijk eenmalige inname.

Voor harmaline rapporteerde Naranjo (1967) dat een orale dosis > 4 mg/kg lg harmaline of een intraveneuze dosering > 1 mg/kg lg psychedelische effecten en hallucinaties veroorzaakte. De auteur geeft hierbij aan dat de effecten van harmaline twee keer zo sterk zijn als die van harmine en mogelijk, op basis van heel beperkte waarnemingen, drie keer zo sterk als THH. Een enkele vrijwilliger die oraal 300 mg (overeenkomend met 4,3 mg/kg lg voor een persoon van 70 kg) THH innam, gaf aan dat deze concentratie hetzelfde subjectieve effect induceerde als oraal 100 mg harmaline. De effecten van harmaline begonnen ongeveer een uur na orale inname en ongeveer momentaan bij intraveneuze toediening. Subjectieve effecten die gerapporteerd werden, waren misselijkheid en overgeven, duizeligheid, paresthesie (verstoring in gevoelswaarneming), druk in het hoofd, ongemak in borst en verschillende soorten visioenen. Deze subjectieve effecten zijn gebaseerd op de reacties van 30 vrijwilligers die harmaline hydrochloride oraal of intraveneus toegediend kregen onder standaardcondities. Meer studiedetails zijn niet beschreven. (Naranjo 1967).

Hofmann (1963) rapporteerde dat orale doseringen van 300-400 mg harmine psychische symptomen gaven met autonome effecten zoals misselijkheid en ataxie (coördinatiestoornis van de spieren door effecten in de hersenen). Op een andere plek in het document wordt gesproken over een orale actieve dosering van 100-400 mg voor harmine/harmaline.

Pennes en Hoch (1957) gaven aan dat er geen hallucinogene effecten optraden bij psychische patiënten bij orale doseringen harmine lager dan 960 mg. Andere symptomen werden echter al wel gevonden bij doseringen van 300-400 mg (Pennes en Hoch, 1957).

De Smet (1985) heeft zichzelf twee keer blootgesteld aan 0,5 mg/kg lg harmine, zowel oraal (in water opgelost) als nasaal. Via beide routes werden geen psychoactieve of lichamelijke effecten opgemerkt. Het was ook niet mogelijk om harmine te detecteren in plasma 15-240 min na blootstelling via beide routes.

Er zijn diverse vergiftigingsgevallen met β -carboline alkaloiden beschreven in de literatuur. Hieronder worden een aantal casussen beknopt beschreven. Dit is geen volledig overzicht.

In het overzichtsartikel (Brito-da-costa et al., 2020) wordt beschreven dat de eerste symptomen na inname van een te hoge dosis harmaline misselijkheid en overgeven zijn, gevolgd door veranderingen in de mentale toestand en andere neurologische effecten. Effecten die optreden bij hogere doseringen (niet gespecificeerd) zijn tremor, convulsies, verlamming van de ademhaling, verlaging van de lichaamstemperatuur, onderdrukking van het centrale zenuwstelsel, verstoord zicht, delirium, coördinatiestoornis, verlamming en soms hallucinaties (Brito-da-costa et al. 2020). Ook is er bewijs voor psychische en gedragsveranderende werking van harmine (Brierley and Davidson 2012).

In een zeer beknopt artikel zijn effecten na orale inname van verschillende doseringen van *B. caapi*, variërend van 25 tot 60 druppels per keer, door 6 individuen beschreven (Cardenas, 1923). Gerapporteerde effecten waren onder andere (visuele) hallucinaties, slaperigheid, angst, hoofdpijn, benauwdheid, darmkrampen en oorsuizen. Niet alle individuen gaven bij vergelijkbare doseringen aan deze bijwerkingen te ervaren.

Vergiftigingsgevallen met β -carboline alkaloiden zijn gerelateerd aan de orale inname van *P. harmala*. Effecten die optraden bij deze vergiftigingsgevallen waren onder andere braken, wazig zicht, bewustzijnsverlies, slaperigheid, visuele hallucinaties, tremoren, ataxie, bradycardie, agitatie, verstoring van de coördinatie, oorsuizen en lever- en nierfalen. In alle gevallen was ziekenhuisopname noodzakelijk (Brush, Bird & Boyer, 2004; Frison et al., 2008; Moshiri et al., 2013; Berdai et al., 2014; Mohammadi et al., 2016; Von Fabek, de Haro & Simon, 2020). De ingenomen dosering was niet altijd bekend. In een aantal gevallen ging het om een zelfgemaakt aftreksel van *P. harmala* zaden opgelost in water. In andere gevallen door inname van de zaden zelf in doseringen van 50 gram (Moshiri et al., 2013; Mohammadi et al., 2016).

Interacties

Voor informatie over mogelijke interacties zijn Natural Medicines en het Farmacotherapeutisch Kompas geraadpleegd.

Uit *in vitro* onderzoek en dierproeven is bekend dat harmine en harmaline sterke remmers van het enzym MAO-A zijn (en zwakke remmers van MAO-B). Interacties zouden dus plaats kunnen vinden met stoffen die door MAO worden omgezet. Een bekende voorbeeld hiervan is tyramine (Natural Medicines, 2021b). Tyramine is een sympathicomimeticum (stimulerende werking sympathisch zenuwstelsel) en komt in eiwitrijk voedsel voor. De hoeveelheid tyramine kan toenemen wanneer producten langer rijpen (bv. gerijpte kaas). Wanneer MAO-A geremd wordt, kan dit zorgen voor verhoogde concentraties tyramine in het bloed die vervolgens zorgen voor de afgifte van (nor)adrenaline. (Nor)adrenaline induceert de stijging van de bloeddruk en een mogelijke hypertensieve crisis. Symptomen hiervan zijn acute, kloppende hoofdpijn (aan het

achterhoofd), tachycardie, blozen, stijve nek, misselijkheid, braken en fotofobie. Dit kan ook leiden tot een (fatale) intracraniale bloeding (Farmacotherapeutisch Kompas, 2021a). De remming van MAO-A resulteert in verhoogde concentraties van monoaminerge neurotransmitters, zoals serotonine, noradrenaline en dopamine, in de hersenen. Een interactie zou daarom ook kunnen plaatsvinden met stoffen die, via een ander werkingsmechanisme, ook de concentratie monoamines verhogen. Voorbeelden hiervan zijn interacties met medicijnen zoals selectieve serotonine heropname remmers (SSRIs, zoals paroxetine en sertraline) en noradrenaline-dopamine heropname remmers (NDRIs, zoals methylfenidaat). Maar ook met voedingssupplementen en kruidenpreparaten die serotonineniveaus verhogen, zoals *Argyreia nervosa*, L-tryptofaan en sint-janskruid. Effecten die dan kunnen optreden zijn het potentieel serotoninesyndroom en een hypertensieve crisis (Farmacotherapeutisch Kompas, 2021a, b; Natural Medicines, 2021b).

Ook stoffen die door dezelfde CYP450-enzymen gemetaboliseerd worden, kunnen zorgen voor interactie indien er competitie van omzetting ontstaat. Hierdoor kunnen verhoogde plasmaconcentraties ontstaan van de β -carboline alkaloiden enerzijds en van de stof waarmee de competitie optreedt anderzijds. *In vitro* onderzoek suggereert daarnaast dat harmine en harmaline een remmende werking op de enzymen CYP2D6 en CYP3A4 hebben. Theoretisch kan dit resulteren in een afname van de omzetting van andere stoffen door CYP2D6 en CYP3A4 met als consequentie een toename van de plasmaspiegel van deze stoffen (Natural Medicines, 2021b).

Dierproeven suggereren dat harmine, na intraveneuze toediening, het effect van acetylcholine versterkt of de acetylcholineneaus verhoogt. Theoretisch zou combinatiegebruik met anticholinerge middelen de effectiviteit van een van beide stoffen kunnen verminderen. Gecombineerd gebruik van cholinerge middelen daarentegen zou kunnen leiden tot een additief effect en een verhoogde kans op cholinerge bijwerkingen (Natural Medicines, 2021b).

In proefdieren is een toename van de intensiteit en duur van harmaline-geïnduceerde tremoren waargenomen wanneer ook cafeïne werd toegediend (Natural Medicines, 2021b).

Levertoxiciteit is waargenomen na inname van hoge doseringen β -carboline alkaloiden. Theoretisch zou combinatiegebruik met andere hepatotoxische middelen (zowel medicijnen als supplementen) de kans op leverschade kunnen vergroten (Natural Medicines, 2021b).

Beoordeling

Shambala en het soortgelijke kruidenpreparaat bevatten de β -carboline alkaloiden harmine, harmaline en THH. Daarnaast is er een nog vierde, mogelijk actieve, stof gedetecteerd in deze producten, maar deze stof is niet geïdentificeerd. De mogelijke effecten van deze vierde stof zijn niet meegenomen in deze beoordeling.

De β -carboline alkaloiden worden na inname via de mond goed opgenomen, snel omgezet in het lichaam in o.a. in harmol en harmalol, en goed verdeeld over de verschillende weefsels en organen. De stoffen accumuleren niet in het lichaam. Harmaline en harmalol kunnen de bloedhersenbarrière passeren, en harmaline kan op basis van uitkomsten van reproductietoxiciteitsstudies ook de placenta passeren. Voor harmine is dit niet onderzocht.

De β -carboline alkaloiden kunnen de concentraties neurotransmitters (zoals serotonine, dopamine en noradrenaline) in het centrale zenuwstelsel beïnvloeden. Op deze manier

kunnen ze gedrags-, psychologische en fysiologische effecten veroorzaken. Dit kan door het beïnvloeden van de omzetting van deze neurotransmitters of door directe interactie met specifieke receptoren. Harmine en harmaline zijn reversibele, selectieve remmers van het enzym MAO-A. THH remt de serotonine heropname en heeft weinig of geen effect op MAO-A.

De remming van MAO-A en de serotonine heropname resulteert in verhoogde concentraties van monoaminerge neurotransmitters, zoals serotonine, noradrenaline en dopamine, in de hersenen. Shambala en het soortgelijke kruidenpreparaat kunnen daarom in combinatie met andere stoffen die de concentraties monoamines verhogen mogelijk tot schadelijke interacties leiden. Dit betreft geneesmiddelen, kruidenpreparaten of andere producten die MAO-remmers, SSRIs of NDRI's bevatten.

Er zijn diverse dierstudies beschikbaar met deze β -carboline alkaloiden, maar slechts een beperkt aantal orale studies. Deze dierstudies zijn niet volgens OECD testrichtlijnen uitgevoerd.

Er zijn orale LD₅₀ waarden gerapporteerd in muizen van 118,9 mg/kg lg voor harmaline en 250,3 mg/kg lg voor harmine.

Bij kortdurende, herhaalde blootstelling traden diverse effecten op. In een 28-dagen studie met een totaal alkaloidenextract van *P. harmala* zaden kon een NOAEL van 45 mg/kg lg worden vastgesteld, overeenkomend met 13,8 mg/kg lg harmaline en 12,4 mg/kg lg harmine. Bij hogere doseringen traden tremoren op, effecten op enkele biochemische parameters en verhoging van het relatieve lever- en testesgewicht. Deze effecten waren reversibel na een herstelperiode van 4 weken. In een beperkte 3-maanden studie met harmine hydrochloride werd een NOAEL van 4,2 mg/kg lg per dag gevonden voor harmine. Bij hogere doseringen werden histopathologische veranderingen in het hart, de milt en de bijnieren en een sterke stijging van plasmaconcentraties van het leverenzym AST waargenomen.

Harmine, harmaline en een *B. caapi* extract gaven positieve resultaten in een aantal Ames testen (bacterial reverse mutation assays). Ook zijn er positieve resultaten met harmine verkregen in chromosoomaberratietesten en een comet assay (single cell electrophoresis assay) in zoogdiercellen. In (andere) genotoxiciteitstesten in gist en bacteriën werden wisselende resultaten geobserveerd. Ook voor harmolol, maar niet voor harmalol, waren er *in vitro* aanwijzingen voor genotoxiciteit. Een mogelijke verklaring voor de mutagene werking is intercalatie met DNA, wat *in vitro* is aangetoond. In een *in vivo* micronucleustest met harmine werden geen aanwijzingen voor genotoxiciteit gevonden. Een ayahuasca-extract gaf positieve resultaten in een *in vivo* micronucleustest en negatieve resultaten in een comet assay en een flow cytometrie assay. Omdat een ayahuasca-extract getest is, zijn de effecten niet eenduidig aan een enkele stof toe te schrijven. Samenvattend geven de beschikbare studies aanwijzingen dat β -carboline alkaloiden mogelijk genotoxisch zijn. In afwezigheid van goed uitgevoerde (in vivo) studies en eenduidige resultaten kan geen definitieve conclusie getrokken worden over de genotoxiciteit van harmine en harmaline.

Uit reproductietoxiciteitsstudies met harmine en harmaline waarin drachtige ratten subcutaan blootgesteld werden aan 155 mg/kg lg van een 2:1 mengsel van harmine en harmaline werden schadelijke effecten op de voortplanting gezien, terwijl dit in drachtige ratten die subcutaan blootgesteld werden aan 0,4 mg harmaline hydrochloride niet het geval was. Hierbij moet opgemerkt worden dat deze blootstellingsroute niet relevant is voor het gebruik van Shambala en het soortgelijk kruidenpreparaat. In drie orale reproductietoxiciteitsstudies met ayahuasca-extract werden effecten op de ouders en/of op de pups gezien. Omdat deze studies met ayahuasca-extract uitgevoerd zijn, is niet

bekend of deze effecten toe te wijzen zijn aan β -carboline alkaloiden en relevant zijn voor gebruik van de producten Shambala en het soortgelijk kruidenpreparaat. Ook over mogelijke effecten van β -carboline alkaloiden op de voortplanting en de nakomelingen kan geen definitieve conclusie getrokken worden.

Er zijn een aantal oude (<1985) publicaties die onderzoek naar effecten van harmine, harmaline en/of THH in de mens beschrijven. Hierin wordt beschreven dat effecten van harmine en/of harmaline optreden bij eenmalige orale doseringen vanaf ongeveer 0,3 mg/kg lg. Effecten die bij deze dosering harmine genoemd worden zijn pupilverwijding, speekselvorming, tranen, verhoogde temperatuur, hyperglycemie en lage bloeddruk. Hierbij wordt aangegeven dat de effecten van harmaline twee keer zo sterk zijn als die van harmine en mogelijk, op basis van heel beperkte waarnemingen, drie keer zo sterk als THH. Ook wordt gerapporteerd dat er bij orale doseringen vanaf 4 mg/kg lg harmaline psychedelische effecten en hallucinaties optreden. Hierbij moet opgemerkt worden dat de studieopzet en studiebeschrijvingen erg beperkt zijn. Daarnaast zijn er diverse vergiftigingsgevallen beschreven in de literatuur. De eerste symptomen na inname van een te hoge dosis harmaline zijn misselijkheid en overgeven gevolgd door veranderingen in de mentale toestand en andere neurologische effecten. Daarna kunnen er ook ernstigere symptomen zoals hallucinaties, coördinatiestoornissen, verstoord zicht en verlamming optreden. Ook is er bewijs voor een psychische en gedragsveranderende werking van harmine.

Voor de risicobeoordeling bij acute blootstelling gebruiken we de humane gegevens en gaan we uit van een effectdosering van 0,3 mg/kg lg voor de som van harmine en harmaline. Op basis van de gemeten gehalten is de blootstelling aan harmine en harmaline bij een eenmalige dagdosering Shambala in totaal 0,049 mg/kg lg en bij een eenmalige dagdosering van een vergelijkbaar kruidenpreparaat in totaal 0,038 mg/kg lg. De blootstellingsmarge ten opzichte van de effectdosering van 0,3 mg/kg lg in de mens bedraagt een factor 6-8. De blootstellingsmarge zou minstens 30 moeten zijn om rekening te houden met onzekerheden voor gebruik van een LOAEL in plaats van een NOAEL (factor 3) en met interindividuele verschillen (factor 10). Daarnaast kan THH ook nog bijdragen aan de effecten bij gebruik van Shambala en een vergelijkbaar kruidenpreparaat. Daarom kunnen bij eenmalig gebruik van Shambala en een vergelijkbaar kruidenpreparaat mogelijk schadelijke effecten optreden door effecten van de β -carboline alkaloiden op het centrale zenuwstelsel.

Er zijn geen humane gegevens beschikbaar over effecten bij herhaalde blootstelling aan β -carboline alkaloiden. Ter indicatie is daarom de blootstelling aan harmine en harmaline uit Shambala (0,049 mg/kg lg/dag) en een vergelijkbaar kruidenpreparaat (0,038 mg/kg lg) (Tabel 5) vergeleken met de laagste NOAEL uit orale, kortdurende dierstudies met harmine en/of harmaline (4,2 mg/kg lg per dag voor harmine). De blootstellingsmarge bedraagt een factor 86-110. Dit ligt rond de factor 100 die nodig is om rekening te houden met interspecies (factor 10) en interindividuele (factor 10) verschillen. Naast de effecten op het centrale zenuwstelsel die ook bij eenmalig gebruik kunnen optreden, kunnen additionele effecten op andere organen bij herhaald gebruik daarom niet geheel uitgesloten worden.

Er moet worden opgemerkt dat er geen studies met Shambala of het vergelijkbare kruidenpreparaat uitgevoerd zijn, en dat er zeer weinig bekend is over *C. angustifolia*. Mogelijk bevatten de extracten in deze producten daarom nog andere stoffen die toxisch kunnen zijn. Zo is er bij de analyse nog een vierde, mogelijke actieve stof aangetroffen. Deze stof is op dit moment nog niet geïdentificeerd en daarom zijn de mogelijke effecten hiervan nog niet meegenomen in deze beoordeling.

Conclusie

Ja, er is een risico voor de volksgezondheid bij het gebruik van Shambala en een soortgelijk kruidenpreparaat met vergelijkbare ingrediënten. Deze kruidenpreparaten bevatten de β -carboline alkaloiden harmine, harmaline en tetrahydroharmine. Bij eenmalig gebruik van deze kruidenpreparaten volgens de aanwijzingen op de verpakking kunnen schadelijke effecten optreden door effecten van deze stoffen op het centrale zenuwstelsel. Dit zou bijvoorbeeld kunnen leiden tot pupilverwijding, speekselvorming of lage bloeddruk. Bij blootstelling aan hogere doseringen β -carboline alkaloiden kunnen misselijkheid en braken en ernstigere effecten zoals hallucinaties, coördinatiestoornissen, verstoord zicht en verlamming optreden. Ook kunnen deze producten in combinatie met geneesmiddelen, kruidenpreparaten of andere producten die MAO-remmers, SSRIs of NDRI's bevatten mogelijk tot schadelijke interacties leiden. Bij herhaald gebruik kunnen additionele effecten op andere organen niet uitgesloten worden. Daarnaast zijn er aanwijzingen voor mogelijke genotoxiciteit van harmine en harmaline maar zijn er onvoldoende geschikte gegevens om een definitieve conclusie hierover te trekken. Tot slot zijn er te weinig gegevens om een conclusie te trekken over mogelijke reproductie- en ontwikkelingstoxiciteit na blootstelling aan de β -carboline alkaloiden.

Deze kruidenpreparaten kunnen ook nog andere stoffen bevatten die toxisch zijn. Zo is bij de analyses nog een vierde, mogelijke actieve stof aangetroffen. Deze stof wordt nog geïdentificeerd en de mogelijke effecten hiervan zijn niet meegenomen in deze beoordeling.

Referenties

- Berdai MA, Labib S, Harandou M (2014) Case report. Peganum harmala L. intoxication in a pregnant woman. *Case reports in Emergency Medicine*, Article ID 783236, 3 pages.
- Biesterbos JWH, Sijm THM, Van Dam R, Mol HGJ (2019) A health risk for consumers: the presence of adulterated food supplements in the Netherlands. *Food Add. & Contam. A*; 36, 1273-1288.
- Boeira JM, da Silva J, Erdtmann B, Henriques JAP (2001). Genotoxic effects of the alkaloids harman and harmine assessed by Comet assay and chromosome aberration test in mammalian cells in vitro. *Pharmacol. Toxicol.*, 89, 287-294.
- Boeira JM, Viana AF, Picada JN, Henriques JAP (2002) Genotoxic and recombinogenic activities of the two β -carboline alkaloids harman and harmine in *Saccharomyces cerevisiae*.
- Bourke CA, Carrigan MJ, Dixon RJ (1990) Upper motor neurone effects in sheep of some beta-carboline alkaloids identified in zygothylaceous plants. *Australian Veterinary Journal*, 67, 248-251.
- Brierley DI, Davidson C (2012). Developments in harmine pharmacology - Implications for ayahuasca use and drug-dependence treatment. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 39,263-72.
- Brito-da-costa AM, Dias-da-silva D, Gomes NGM, Dinis-oliveira RJ, Madureira-Carvalho Á (2020). Toxicokinetics and toxicodynamics of ayahuasca alkaloids N,N-dimethyltryptamine (DMT), harmine, harmaline and tetrahydroharmine: Clinical and forensic impact. *Pharmaceuticals*, 13: 1-39.
- Brush DE, Bird SB, Boyer EW (2004) Monoamine oxidase inhibitor poisoning resulting from internet misinformation on illicit substances. *Journal of Toxicology, Clinical Toxicology*, 42, 191-195.
- Cardenas GF (1923) Estudio sobre el principio activo del Yagé. Facultad de Medicina, RepublicUniversidad Nacional, a de Colombia.
- Castro A, Ramos N, Rojas-Armas J, Gonzales S, Acha O, Raez J, Ramos D, Hilario-Vargas J (2017). Psychoactive and organic effects of Banisteriopsis caapi and Diplopteris

- cabrerana (Cuatrec.) B. Gates in rats. *Research Journal of Medicinal Plants*, 11, 86-92.
- Chen Q, Chao R, Chen H, Hou X, Yan H, Zhou S, Peng W, Xu A (2004) Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. *Int. J. Cancer*, 114, 675-682.
- Commission E Monografieën. The Complete German Commission E Monographs. Therapeutic guide to herbal medicines. Geraadpleegd November 2021.
- Da Motta LG, De Moraes JA, Tavares ACAM, Vianna LMS, Mortari MR, Amorim RFB, Carvalho RR, Paumgarten FJR, Pic-Taylor A, Caldas ED. (2018). Maternal and developmental toxicity of the hallucinogenic plant-based beverage ayahuasca in rats. *Reprod Toxicol.*, 77:143-153.
- De Smet, PA (1985). A multidisciplinary overview of intoxicating snuff rituals in the western hemisphere, *J Ethnopharmacol*, 13, 3-49.
- Druginfo (2021). <https://www.druginfo.nl/overige-middelen/werkzame-stoffen-in-ayahuasca>. Geraadpleegd op 02-12-2021.
- EFSA (2012). Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements', *EFSA Journal*, 10: 2663.
- Farmacotherapeutisch Kompas (2021a). MAO-remmers, niet selectief. Geraadpleegd December 2021.
- Farmacotherapeutisch Kompas (2021b). Methylfenidaat. Geraadpleegd December 2021.
- Frison G, Favretto D, Zancanaro F, Fazzin G, Ferrara SD (2008). A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic Science International*, 179: e37-e43.
- Goldstein M, Anagnoste B, Battista AF, Ogawa M (1976). Monkeys with nigrostriatal lesions: effects of monoaminergic drugs. *Pharmac. Ther.* 11, 97-103.
- Guan Y, Louis ED, Zheng W (2001) Toxicokinetics of tremorogenic natural products, harmine and harmine, in male Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Environ Health A.*, 64: 645-660.
- Hagers Enzyklopädie (2021). Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen, edited by Blaschek, W., Ebel, S., Hagers Enzyklopedie. Geraadpleegd in November 2021.
- Handforth A (2012). Harmaline tremor: underlying mechanisms in a potential animal model of essential tremor. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)*. doi: 10.7916/D8TD9W2P.
- Hofmann, A. 1963. 'Psychotomimetic substances', *Indian Journal of Pharmacy*, 25: 245-56.
- Kamel S, Ibrahim T, Hamza S (1971) Effect of harmine and harmaline hydrochloride on pregnancy in white rats. *Zib. Vet. Med. A*, 18, 230-233.
- Kummrow F, Maselli BS, Lanaro R, Costa JL, Umbuzeiro G, Linardi A (2019) Mutagenicity of ayahuasca and their constituents to the *Salmonella/microsome* assay. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 60, 269-276.
- Lutes J, Lorden JF, Beales M, Oltmans GA (1988). Tolerance to the tremorogenic effects of harmaline: evidence for altered olivo-cerebellar function. *Neuropharmacology* 1988;27:849-855.
- Mahmoudian M, Jalipour H, Salehian Dardashti P (2002). 'Toxicity of *Peganum harmala*: review and a case report', *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 1: 1-0.
- Miwa H, Kubo T, Suzuki A, Kihira T, Kondo T (2006) A species-specific difference in the effects of harmaline on the rodent olivocerebellar system. *Brain Research* 1068, 94-101.
- Mohammadi RS, Bidaki R, Mirdrikvand F, Nader S, Yazdi M, Yazdian P (2016) *Peganum harmala* (Aspand) intoxication; a case report. *Emergency*, 1 (1).

- Morcuende S, Trigo JA, Delgado-Garcia JM, Gruart A (2001) Harmaline induces different motor effects on facial vs. skeletal-motor systems in alert cats. *Neurotoxicity Research*, 3, 527-535.
- Moshiri M, Etemad L, Javidi S, Alizadeh A (2013). *Peganum harmala* intoxication, a case report. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3, 288.
- Moura DJ, Rorig C, Vieira DL, Henriques JAP, Roesler R, Saffi J, Boeira JM (2006) Effects of β -carboline alkaloids on the object recognition task in mice. *Life Sciences* 79, 2099-2104.
- Naranjo, P (1959). Estudio comparativo de la harmina, la dietilamida del ácido lisérgico (LSD 25) y la mescalina. *Rev. Confederación Médica Panam.* 1959, 6, 1–8 (*as cited by Simao et al., 2019 and by Brito-da-costa et al., 2020*).
- Naranjo P (1967). Psychotropic properties of the harmala alkaloids, pp 385-391. In: *Ethnopharmacologic search for psychoactive drugs. Proceedings of a Symposium held in San Francisco, California January 28-30, 1967.*
- Nasehi M, Meskarian M, Khakpai F, Zarrindast MR (2016). Harmaline-induced amnesia: possible role of the amygdala dopaminergic system. *Neuroscience*, 312, 1–9.
- Nasehi M, Saadati N, Khakpai F, Zarrindast M-R (2017) Possible involvement of the CA1 GABAergic system on harmaline induced memory consolidation deficit. *Brain Research Bulletin* 130, 101-106.
- Natural Medicines (2021a). Professional Monograph Ayahuasca. Geraadpleegd in November 2021.
- Natural Medicines (2021b). Professional Monograph Syrian Rue. Geraadpleegd in December 2021.
- OECD (2016a) OECD Guideline for the testing of chemicals 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay. Adopted: 29 July 2016.
- OECD (2006b) OECD Guideline for the testing of chemicals 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test. Adopted: 29 July 2016.
- O'Hearn E, Molliver ME (1993). Degeneration of Purkinje cells in parasagittal zones of the cerebellar vermis after treatment with ibogaine or harmaline. *Neuroscience*, 55, 303–310.
- Okonmah AD, Brown JW, Blyden GT, Soliman KFA (1988) Prenatal effects of acute harmaline exposure on fetal brain biogenic amine metabolism. *Pharmacology* 37, 203-208.
- Oliveira CDR, Moreira CQ, Marques de Sá LR, De Souza Spinosa, Yonamine (2010). Maternal and developmental toxicity of ayahuasca in Wistar rats. *Birth Defects Research (Part B)* 89, 207-212.
- Pennes HH, Hoch PH (1957) Psychotomimetics, clinical and theoretical considerations: harmine, win-2299 and nalline. *Considerations of psychotomimetics*, 887-892.
- Picada JN, Silva KVCL, Erdtmann B, Henriques AT, Henriques JAP (1997). Genotoxic effects of structurally related β -carboline alkaloids. *Mutation Research*, 379, 135–149.
- Poulson E, Robson J (1963). The effect of amine oxidase inhibitors on pregnancy. *J. endocrine.*, 27, 147-152.
- Riba J, Valle M, Urbano G, Yritia M, Morte A, Barbanj MJ (2003). Human pharmacology of ayahuasca: Subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306, 73-83.
- Rumlerová T, Friso F, Torres Romero J, Kavenská V, Politi M (2021). Participant experiences on a medicinal plant diet at Takiwasi Center: an in-depth small-scale survey. *Anthropology of Consciousness*, epub.
- Sasaki YF, Yamada H, Shimoi K, Kinoshita N, Tomita I, Matsumura H, Ohta T, Shirashu Y (1992) Enhancing effects of heterocyclic amines and β -carboline alkaloids on the induction of chromosome aberrations in cultured mammalian cells. *Mutation Research*, 269, 79-95.

- Santos AFA, Vieira ALS, Pic-Taylor A, Caldas ED (2017) Reproductive effects of the psychoactive beverage ayahuasca in male Wistar rats after chronic exposure. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 27, 353-360.
- Shimoi K, Kawabata H, Tomita I (1992) Enhancing effect of heterocyclic amines and β -carbolines on UV or chemically induced mutagenesis in *E. coli*. *Mutation Res./Fundamental Mol. Mech. Mutagenesis*, 268, 287–295.
- Smartplanet, 2021. <https://www.smartshop-seedshop.com/en/product/caapi>. Geraadpleegd op 10-11-2021.
- Stanford JA, Fowler SC (1998). At low doses, harmaline increases forelimb tremor in the rat. *Neurosci Lett*, 241, 41–44.
- Stocco M, Tolledo C, Wadji FB, Gonzalez FJ, Miksys S, Tyndale RF (2020), Human CYP2D6 in the brain is protective against harmine-induced neurotoxicity: Evidence from humanized CYP2D6 transgenic mice. *Molecular Neurobiology*, 57, 4608-4621.
- Superfoodies (2021). <https://superfoodies.nl/products/shambala>. Geraadpleegd op 08-11-2021.
- Vignoni M, Erra-Balsells R, Epe B, Cabrerizo FM (2014) Intra- and extra-cellular DNA damage by harmine and 9-methyl-harmine. *Journal of Phytochemistry and Photobiology B: Biology*, 132, 66-71.
- Von Fabeck K, De Haro L, Simon N (2020). Poisoning caused by selfmedication with harmful seeds. 40th International Congress of the European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists (EAPCCT), May2021, Tallinn, Estonia.pp.540.
- Wang G, Fowler SC (2001). Concurrent quantification of tremor and depression of locomotor activity induced in rats by harmaline and physostigmine. *Psychopharmacology (Berl)*, 158: 273–280.
- Wang Y, Wang H, Zhang L, Zhang Y, Sheng Y, Deng G, Li S, Cao N, Guana H, Cheng X, Wang C (2019). Subchronic toxicity and concomitant toxicokinetics of long-term oral administration of total alkaloid extracts from seeds of *Peganum harmala* Linn: A 28-day study in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 238 (2019) 111866.
- Welsh JP (1998) Systemic harmaline blocks associative and motor learning by the actions of the inferior olive. *European Journal of Neuroscience*, 10, 3307-3320.
- Yang L, Liang H, Li J, Li X, Tang X, Gao S, Zou H, Zhang J, Wang M, Xiao L (2021) Central inhibition prevents the in vivo acute toxicity of harmine in mice. *J. Toxicol. Sci.*, 46, 289-301.
- Zhanaidarova GU, Yessimova RZ, Nurseitova KT, Seidakhmetova RB, Arystan LI, Adekenov SM, Nauryzov NN, Berikbaeva BK (2019). Experimental research of Harmine hydrochloride effect on internal organs. *Bangladesh Journal of Medical Science* Vol. 18 No. 03 July'19
- Zhang L, Li D, Yu S (2020) Pharmacological effects of harmine and its derivatives: a review. *Archives of Pharmacal Research*, 43, 1259-75.
- Zhao T, He Yq, Wang J, Ding K-m, Wang C-h, Wang Z-t (2011). Inhibition of human cytochrome P450 enzymes 3A4 and 2D6 by β -carboline alkaloids, harmine derivatives. *Phytotherapy Research*, 25, 1671-77.