

Die invloed van ekstrakte van *Sutherlandia frutescence* op die vervoer en metabolisme van ander geneesmiddels

Author:

David R Katerere

Affiliations:

Dept Farmaseutiese Wetenskappe, Tshwane Universiteit van Tegnologie, Pretoria

Corresponding author:David Katerere
Kateredr@tut.ac.za**Dates:**

Received: 17/10/2017

Accepted: 24/08/2018

Published: 06/12/2018

How to cite this article:David R Katerere, Die invloed van ekstrakte van *Sutherlandia frutescence* op die vervoer en metabolisme van ander geneesmiddels, *Suid-Afrikaanse Tydskrif vir Natuurwetenskap en Tegnologie* 37(1) (2018)An English copy of this paper is available online at <http://www.satnt.ac.za/index.php/satnt/article/view/663>**Copyright:**© 2018. Authors.
Licensee: *Die Suid-Afrikaanse Akademie vir Wetenskap en Kuns*. This work is licensed under the Creative Commons Attribution License.

Interaksies tussen geneesmiddels en interaksies met kruiemedyne moet in ag geneem word tydens pre-kliniese studies en in kliniese gebruik. In hierdie studie is moontlike interaksies tussen *Sutherlandia frutescence* (*Sutherlandia*) ekstrakte en medisyne op die vlak van oordraers (P-gp) en lewer metabolisme ensieme (CYP 450) ondersoek.

MDCK-MDR1 selle is behandel met 'n wateriekstrak van *Sutherlandia* (1.7 µg/ml tot 6.8 mg/ml) in die teenwoordigheid van amprenavir, 'n protease inhibeerder wat gebruik word om MIV infeksies te behandel. Vir die CYP inhibering is die P450-Glo™ essajeerstel gebruik met waterige en organiese ekstrakte van *Sutherlandia*. Dosisse hoër as 850 µg/ml het die hegte koppelings (HK) beïnvloed soos blyk uit die verlaagde transepiteliale elektriese weerstand (TEEW). By laer konsentrasies is die amprenavir permeabiliteit in 'n dosis-verwante verhouding verhoog. Dit mag veroorsaak wees deurdat dit die ekstrakte P-gp inhibeer het, met gevolglike laer uitpomp van amprenavir. Die IC₅₀ waardes in die CYP inhiberingstudies was > 10 µg/ml vir al die ensiemisovorme. Gevolglik is die CYP inhibering waarskynlik nie klinies betekenisvol nie.

Sleutelwoorde: kruiemedyne-geneesmiddel-interaksies, tradisionele medisyne, anti-retroviraal, permeabiliteit, CYP

Effects of extracts of *Sutherlandia frutescens* on drug transport and drug metabolising enzymes: Drug-drug and drug-herb interactions must be considered in both pre-clinical studies and clinical use. This study set out to investigate the possible interactions caused by extracts of *Sutherlandia frutescens* (*Sutherlandia*) at drug transporter (P-gp) level and at hepatic metabolic enzyme level (CYP 450).

MDCK-MDR1 cells were treated with aqueous *Sutherlandia* extract (6.8 mg/ml to 1.7 µg/ml) in the presence of amprenavir, a protease inhibitor used to treat HIV infection. For CYP inhibition the P450-Glo™ assay kit was used and aqueous and organic extracts of *Sutherlandia* tested. Higher doses of *Sutherlandia* extract from 850 µg/ml upwards adversely affected tight junctions (TJ) as shown by the reduced transepithelial electric resistance (TEER) readings. At lower concentrations, *Sutherlandia* caused increased amprenavir permeability in a dose-dependent manner, suggesting that the extract inhibited P-gp and reduced amprenavir efflux. In the CYP inhibition assays, *Sutherlandia* extracts showed IC₅₀ values above 10 µg/ml for all enzyme isoforms, hence CYP enzyme inhibitory interactions at this level are not expected to be clinically significant.

Keywords: herb-drug interactions, traditional medicine, antiretroviral, permeability, CYP inhibition

Inleiding

Die interaksies tussen geneesmiddels en ander chemikalieë en kruiemedyne wat die pasiënt mag gebruik, speel 'n belangrike rol in pre-kliniese en kliniese studies van potensieële medisyne. Hierdie interaksies mag daartoe lei dat die dosis te laag is om klinies effektief te wees vir die pasiënt of om so te verhoog dat dit toksiese vlakke bereik in die bloed. Hierdie interaksies vind hoofsaaklik plaas by die lumenale oordragvlak (bv. Permeabiliteit-glikoproteïene (P-gp) of by die inhibering van die geneesmiddel metaboliserende ensieme (GME). Die sitochroom P450 kompleks speel hierin 'n groot rol (Al Omari & Murry 2007).

Die meeste van die studies op interaksies tussen geneesmiddels en kruiemedyne is uitgevoer op kruiemedyne soos St John's Wort en Ginseng wat populêr is in geïndustrialiseerde lande (Murphy, Kern et al. 2005; Lee, Lee et al. 2010). Relatief min werk is gedoen wat interaksies

betref met kruiemedyne wat 'n belangrike rol in Afrika en Asië speel (WHO 2002; Okigbo, Eme et al. 2008). Die doel van die studie is om moontlike interaksies met *Sutherlandia*, 'n belangrike kruiemedyne in Afrika, op die oordraer (P-gp) en geneesmiddel metaboliserende ensieme (CYP 450) vlak te bepaal.

Daar is 'n toename in die gebruik van komplementêre en alternatiewe medisyne die afgelope paar jaar. Daar is veral 'n sterk neiging om kruiemedyne te gebruik saam met anti-retrovirale medisyne (Bica, Tang et al. 2003; Monera, Wolfe et al. 2008). Dit plaas sulke pasiënte onder hoë risiko van geneesmiddelinteraksies wat kan lei tot lae effektiwiteit (en die ontwikkeling van weerstandige retrovirale viruslyne). Dit kan ook lei tot nuwe-effekte wat veroorsaak dat medikasie nie volgens voorskrif gebruik word nie (Elvin-Lewis 2001). Sulke interaksies is al aangedui in pasiënte wat tans anti-koagulante, anti-depressante en anti-epileptiese middels gebruik (Zhou, Zhou et al. 2007; Harish Chandra & Veeresham 2011).

Sutherlandia is 'n populêre kruiemedyne wat uit gemaalde blare van *Sutherlandia frutescens* (L.) r.br. [syn. *Lessertia frutescens* (L.) Goldblatt and J.C. Manning] berei is. Algemeen bekend as kankerbossie (unwele in Zoeloe) is dit endemies aan die karoo biotop van suidelike Afrika en is baie lank gebruik teen spanning, kanker, suikersiekte en disenterie (Prevo, Swart et al. 2008; van Wyk & Albrecht 2008). Die afgelope dekade het dit gewild geword as 'n sogenaamde "adaptogeen" in die behandeling van spanning (Prevo, Swart et al. 2008) en as 'n "immuunstimuleerder" om kageksie (gewigsverlies, spieratrofie, swaakheid, verlies in aptyt) in MIV en VIGS teen te werk (van Wyk & Albrecht 2008). Kliniese proewe om die effektiwiteit teen HIV en VIGS te bepaal is die afgelope paar jaar aan die gang, maar die uitslae is nog nie gepubliseer nie.

Vir hierdie studie is dit belangrik om te besef dat *Sutherlandia* dikwels deel is van HAART (voorskrif vir meervoudige medikasies) of kankerterapie. Hierdie pasiënte is reeds onderhewig aan ongewenste nuwe-effekte as gevolg van polifarmasie (Piscitelli & Gallicano 2001; Neuman, Monteiro et al. 2006). Die wyd-verspreide gebruik van kruiemedyne in suidelike Afrika kompliseer die saak nog verder.

In hierdie studie sal die invloed van *Sutherlandia* op die permeabiliteit van amprenavir deur die Madin Darby op 'n hondeniersellyn (MDCK) wat getransfekteer is met P-gp (MDR-1) oordraers en ook op CYP450 inhibering bepaal word.

Permeabiliteit van 'n geneesmiddel en hoe dit beïnvloed word deur ander geneesmiddels, kruiemedyne, voedsel en siektetoestand is belangrik om die opname van medisyne te verstaan. Die opname beïnvloed doeltreffendheid en/of toksisiteit (Volpe 2008). CYP450 inhibering lei tot

verhoogde biobeskikbaarheid van die medikasie wat tot ongewenste nuwe-effekte mag lei. In hierdie bydrae word die moontlike interaksies op die belangrikste geneesmiddel metaboliserende ensieme ook ondersoek.

Materiaal en metodes

MDCK permeabiliteitsbepaling

Materiaal

Dulbecco se verandering van Eagle se Medium (DMEM) met GlutaMAX (GIBCO); Penisillien-Streptomisien (Pen/Strep, Sigma); Tripsien-EDTA (0.25% tripsien GIBCO); Hanks se gebalanseerde soutoplossing (HBSS, Sigma); HEPES Buffer (Sigma); Fetale kalfSerum (FBS, GIBCO); GF120918 [MDR1 inhibeerder is verkry van GSK (RTP, NC)]; 12-putjie Transwell® (Corning Costar Cooperation USA); HPLC buisies (Agilent); 500 ml Filtreerstelsel (Fisher); transepiteliese elektriese weerstand (TEER) leser; CO₂ skudinkubeerder; Diep put (96 DWP) of buisies; LC-MS plate/buisies; Madin Darby hondenierselle getransfekteer met die menslike MDR1 geen (Dr. Piet Borst, NKI-AVL, Amsterdam, Nederland); blaarpoeier van *Sutherlandia frutescens* (aankoop van Parceval, Kaapstad, Suid-Afrika).

Saai van die Transwells plate

Die MDCK-MDR1 selle is drie dae voor uitsaaiing gekweek deur standaardmetodes in T-75 flesse. Die selle is getripsineer en gemeng in 9 ml van die selkultuurmedium, goed gemeng deur die medium op te suig. Daarna is die aantal selle getel deur 'n hemasitometer te gebruik, en met medium verdun tot 330 000 selle per putjie in 0.5 ml medium. Medium (1.5 ml) is daarna bygevoeg tot die basolaterale kamers van die Transwells met 0.5 ml van die verdunde selsuspensie in die apikale kamer. Die gesaaide Transwells is oornag gekweek en daarna is die medium vervang. Na 'n verdere 48 uur was die selle gereed om vir permeabiliteit te ondersoek.

Die permeabiliteitsbepaling

Die selkultuurmedium is verwyder uit die Transwells en vervang met Transport medium™ met organiese *Sutherlandia* ekstrak met konsentrasies wat wissel van 6.8 mg/ml tot 1.7 µg/ml (0.5 ml apikaal, 1.5 ml basolateraal). Een stel van die Transwells® het TM sonder P-gp inhibeerder (-) en die ander een met die standaard inhibeerder GF120918 (+). Elke Transwells is gemerk en vir 30-60 minute geïnkubeer. Gedurende hierdie periode is die *Sutherlandia* met DMSO verdun tussen 6.8 mg/ml en 1.7 µg/ml. Twee stelle verdunnings is gemaak-een sonder inhibeerder met 6 µl amprenavir, 34 µl van die ekstrak en 2 ml TM. Die ander stel met inhibeerder is gemaak met amprenavir (6 µl), GF120918 (2 µl), DMSO (32 µl) en 2 ml TM.

Na pre-inkubering is die TEER waardes vir elke Transwells gemeet en aangeteken. Die vloeistof van elke skenker

en ontvanger sel is opgesuig en 1.5 ml TM met/sonder GF120918 is bygevoeg by elke basolaterale kompartement. Die doseringoplossings (0.4 ml) (met en sonder GF120918) is by elke apikale kompartement gevoeg.

Die Tramwells is daarna teen 160 rpm geskud in 'n CO₂ inkubeerder by 37°C vir 60 minute. Hierna is die skenkerkamers verwyder en die TEER waardes is weer bepaal en aangeteken vir elke putjie. Deelvolumes van 200 µL van die skenker en ontvanger monsters is afsonderlik geneem en verdun met 200 µL MeOH in diep put plate. Die plate is verkoel vir 30 minute en vyf keer gemeng met 'n pipet. Deelvolumes van die skenker (20 µL) en ontvanger (80 µL) is daarna afsonderlik geplaas in 96 putjie LC-MS plate en verdun na 200 µL met 50/50: TM/MeOH.

Om die herwinning en integriteit van die transmembrane te bepaal, is vars TM in die apikale (0.5 ml) en basale (1.5 ml) kamers geplaas en weer teen 160 rpm, in CO₂ by 37°C vir 60 minute geïnkubeer. Hierna is die TEER waardes weer gemeet.

LC-MS metode

Die amprenavir-konsentrasies is bepaal deur LC-MS met elektronsprei ionisering. Die toetsoplossing (10 µL) is ingespuut in 'n Aquasil C18 DASH HTS 20 × 2.1 mm column (Thermo Scientific), ontwikkel met 'n gradient van waterige (A) (5 mM ammonium asetaat + 0.1% miersuur in water) en (B) (5 mM ammoniumasetaat + 0.1% miersuur in metanol) teen 600 µL/min (90% A/10% B tot 5% A/95% B) vir 1.5 min. Ioonoorplasing (m/z 506.2 > 156.0) is bepaal deur veelvoudige reaksie-monitoring (MRM) in positiewe ioonmode deur API 4000 QTRAP (Applied Biosystems) massa spektrometer. Die ionsprei spanning was 5000v, temperatuur 500 °C, gordyngas 10, vertoefyd 100 ms, ontbondelpotensiaal 81 v, botsingsenergie (CE) 26 v, sel verlaat potensiaal (CXP) 16 v.

Bepaling van CYP inhibering

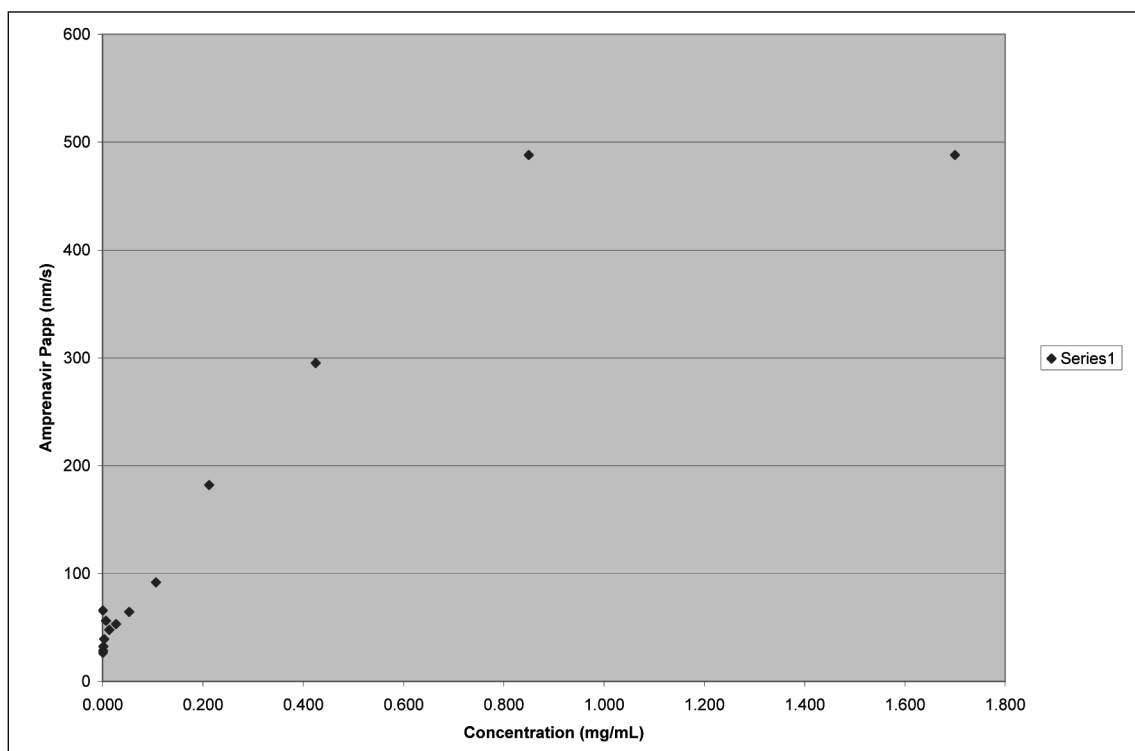
Wit 96 putjie plate (Costar® Cat # 3912) en alle luminisensie reagents aangekoop as 'n P450-Glo™ stel van Promega (Madison, WI, USA). Lusiferien-vrye water, rekombinante menslike CYP ensiem membrane, NADPH regenererende oplossing, lusiferien opspoorreagens, standaard inhibeerders is verkry van Sigma-Aldrich [α -naftoflavone (vir 1A2), sulfafenasool (2C9), troglitasoon (2C19), sertraline (2B6) and ketokonasool (3A4)].

Bepaling van Luminisensie

Die P450-Glo™ stel van Promega (Madison, WI, VSA is gebruik. Kortliks, 'n reaksiemengsel van lusiferien-vrye water, fosfaatbuffer en die individuele CYP ensiem-membrane met hulle spesifieke pro-lusiferien substrate is gemeng en in wit 96 putjie plate (Costar® Cat # 3912) geplaas. Die eksperimente is drie keer herhaal met reeks-verdunnings. Drie kontroles is gebruik nl. een met kontrole membrane, een stel met die oplosmiddels en die derde met die relevante standaard inhibeerders. Water en organiese (1:1 dichlorometaan:metanol) ekstrakte van Sutherlandia poeier in 'n voorraadoplossing is gebruik om reeksverdunnings van 100 tot 1 µg/ml te lewer. Die plaat is vooraf vir 10 min teen 37 °C geïnkubeer en daarna is die NADPH genererende oplossing bygevoeg en die plaat verder teen 37 °C geïnkubeer vir gespesifiseerde tye volgens die Promega protokol. Die reagents om lusiferien te bepaal is daarna bygevoeg en na gespesifiseerde tye by kamertemperatuur is die luminisensie met 'n Wallac® luminometer bepaal deur die gebruik van Envision® sagteware. (Perkin Elmer, Mass, USA). The data is verwerk met MS Excel getransformeer met GraphPad om IC₅₀ waardes te lewer.

TABEL 1: TEER waardes en skynbare permeabiliteit van MDCK-MDR1 selle behandel met verskillende konsentrasies van dichlorometaan Sutherlandia ekstrakte

Name of extract	Conc (mg/ml)	TEER before incubation (mv)	TEER after incubation (mv)	TEER 1 hour after incubation (mv)	Papp (nm /s) *
Suther 001	6.8000	24.7 (2.1)	11.7 (3.3)	6.7 (0.9)	724
Suther 002	3.4000	50.3 (4.9)	26.3 (4.1)	8.0 (0.8)	596
Suther 003	1.7000	58.7 (6.8)	44.0 (8.8)	4.3 (0.5)	428
Suther 004	0.8500	61.3 (0.9)	39.0 (5.4)	3.3 (0.5)	487
Suther 005	0.4250	63.7 (3.3)	61.3 (4.7)	23.3 (2.9)	343
Suther 006	0.2125	53.0 (6.4)	56.0 (7.9)	38.3 (4.6)	242
Suther 007	0.1063	61.0 (1.6)	70.0 (5.0)	46.0 (1.4)	116
Suther 008	0.0531	53.3 (5.2)	63.3 (9.4)	45.7 (4.5)	87
Suther 009	0.0266	58.0 (1.6)	67.3 (5.3)	52.3 (2.5)	38
Suther 010	0.0133	58.7 (1.2)	64.0 (5.0)	55.3 (2.6)	35
Suther 011	0.0066	59.0 (0.8)	67.7 (7.4)	58.7 (1.2)	21
Suther 012	0.0033	57.3 (1.7)	62.7 (7.1)	53.7 (2.1)	20
Suther 013	0.0017	60.0 (0.8)	66.7 (2.5)	53.3 (0.9)	16
GF120918	0.0000	55.0 (2.2)	68.3 (2.4)	51.0 (5.7)	479
N	2.0000	52.3 (3.4)	58.3 (6.9)	47.7 (1.9)	76



FIGUUR 1: Die verband tussen Sutherlandia konsentrasie en die permeabiliteit van amprenavir

Resultate

Die CYP inhibering is met beide waterige en organiese ekstrakte ondersoek terwyl net die organiese ekstrakte gebruik is vir oordragstudies.

Bepaling van permeabiliteit

Die TEER resultate voor, direk na, en een uur na inkubering word aangedui in Tabel 1. TEER meet die integriteit van die vaste koppeling tussen selle en normale waardes wissel tussen 55 en 70 millivolts. Die vaste koppeling is 'n aaneenlopende omtrekseël rondom selle wat dien as 'n fisiese versperring en om selpolariteit in stand hou. (Furuse, Fujita et al. 1998).

Dosisse van die Sutherlandia ekstrakte bokant 850 µg/ml het die vaste koppeling negatief beïnvloed. Dosisse tussen 850 µg/ml tot 53 µg/ml het blykbaar die vaste koppeling onomkeerbaar beskadig, gebaseer op die nabehandeling resultate. Dit mag beteken dat die ekstrakte oor die algemeen toksies is vir die MDCK selle of spesifiek die hegtingspeptiede teken soos okkludins en kloudins. Minocha et al. (Minocha, Mandava et al. 2011) kon aandui dat etanol ekstrakte van Sutherlandia nie sitotoksies was by 'n dosis van 1 400 µg/ml in LS-180 selle nie.

Amprenavir permeabiliteit het op 'n dosis-verwante basis verhoog met waardes tot 53 µg/ml. (Figuur 1). Dit wil voorkom asof die ekstrakte P-gp inhibeer en amprenavir efflux verminder.

Mills et al. (2005) het bevind met die gebruik van 'n ensiemstel dat 100 mg/ml water Sutherlandia ekstrakte P-gp met 31% inhibeer het in vergelyking met die kontrole verapamil. Volgens Brown et al. (2008) het waterdekoksies van Sutherlandia lae inhibering van P-gp in Caco-2 selle met nevirapien as substraat. Uit hierdie studie blyk dit dat die organiese ekstrakte 'n sterker P-gp inhibeerder is. Aangesien Sutherlandia ingeneem word as heel blaartablette het hierdie nuwe bevinding betekenisvolle implikasies.

CYP inhibering

Die IC₅₀ waardes vir die Sutherlandia ekstrakte was 10 µg/ml vir al die ensiemisoforms. Dit dui op 'n laer potensiaal vir medisyne interaksies by al die konsentrasies wat getoets is.

Algemene bespreking

Die praktiese aspek van die studie dui daarop dat persone wat Sutherlandia saam met ander medikasie neem dalk toksisiteit mag ervaar indien die ander geneesmiddels ook P-gp substrate is. Dit sluit HIV protease inhibeerders, digoksien, siklosporien, makrolied antibiotika, anti-neoplastiese middels en verapamil in (Lee & Gottesman 1998; Huisman, Smit et al. 2002; Bauer, Hartz et al. 2005; Mills, Foster et al. 2005). Dit mag veral belangrik wees in medikasie met 'n nou terapeutiese indeks. Die invloed van organiese ekstrakte op P-gp aktiwiteit is belangrik omdat Sutherlandia nie net as 'n tee ingeneem word nie, maar ook as 'n tablet of tinktuur. Die tinktuur mag komponente bevat wat sal skei in waterige en organiese oplosmiddels.

Die invloed van *Sutherlandia* op digte koppelings is belangrik omdat dit passiewe parasellulêre diffusie moontlik maak. Stewige koppelings beheer parasellulêre oordrag van hidrofiliese xenobiotika (Gonzalez-Mariscal, Nava et al. 2005). Die resultaat van beide P-gp inhibering en opening van hegte bindings mag lei tot medikasie vergiftiging. Prakties mag dit beteken dat dosisse aangepas moet word in groepe waar *Sutherlandia* algemeen gebruik word. Anders moet die gebruik van hierdie kruiemedisyns beperk en gemoniteer word in die huidige situasie waar dit wyd beskikbaar is en aanbeveel word dat dit deur HIV en VIGS pasiënte gebruik moet word. Albei aanbevelings sal moeilik wees om toe te pas en in elk geval sou verdere studies vir bevestiging benodig word.

Beide water en organiese ekstrakte van *Sutherlandia* het CYP ensieme nie inhibeer nie. 'n Vorige studie kon aandui dat *Sutherlandia* wat saam met nevirapien geneem is vir 5 dae lank, tot 'n 50% verlaging in belangrike farmokinetiese parameters (oppervlak onder die kromme, C_{maks} en t_{maks}) in rotte gelei het (Minocha, Mandava et al. 2011). Verder is 'n betekenisvolle verhoging in lewer en spyskanaal bRNS uitdrukking deur CYP3A2 bevind wat impliseer dat *Sutherlandia* die CYP3a2 ensiem induseer. In baie hoë konsentrasies (> 600 µg/ml) het *Sutherlandia* CYP3A2 ensieme egter geïnhibeer. Hierdie resultate is belangrik omdat dit op lewendende diere en selkulture uitgevoer is. Hier is egter 'n etanol fraksie, wat later in water opgelos is, gebruik wat die verskille met ons resultate mag verklaar. *Sutherlandia* word oor die algemeen as 'n volledige blaarekstrak geneem. Dit sou waarskynlik die moeite loon om eksperimente met verskillende ekstrakte uit te voer.

Dankbetuigings

Hierdie werk is uitgevoer as deel van 'n NNS/Emory Universiteit/Scyneyx Advanced Drug Discovery Programme aan die outeur. Dr Liotte (Emory Universiteit) en Dr Yves Reibel (Synexis Inc) word bedank vir hulle gasvryheid.

Verwysings

- Al Omari A and Murry D. (2007). Pharmacogenetics of the Cytochrome P450 Enzyme System: review of current knowledge and clinical significance. *Journal of Pharmacy Practice* 20 207-218.
- Bauer B, Hartz AM, Fricker G and Miller DS. (2005). Modulation of p-glycoprotein transport function at the blood-brain barrier. *Experimental Biology and Medicine* 230(2): 118-127.

- Bica I, Tang AM, Skinner S, Spiegelman D, Knox T, Gorbach S, et al. (2003). Use of complementary and alternative therapies by patients with human immunodeficiency virus disease in the era of highly active antiretroviral therapy. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 9(1): 65-76.
- Brown L, Heyneke O, Brown D, van Wyk JP and Hamman JH. (2008). Impact of traditional medicinal plant extracts on antiretroviral drug absorption. *Journal of Ethnopharmacology* 119(3): 588-592.
- Elvin-Lewis M. (2001). Should we be concerned about herbal remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 75(2-3): 141-164.
- Furuse M, Fujita K, Hiragi T, Fujimoto K and Tsukita S. (1998). Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *The Journal of Cell Biology* 141(7): 1539-1550.
- Gonzalez-Mariscal L, Nava P and Hernandez S. (2005). Critical role of tight junctions in drug delivery across epithelial and endothelial cell layers. *The Journal of Membrane Biology* 207(2): 55-68.
- Harish Chandra R and Veeresham C. (2011). Herb-drug interaction of noni juice and Ginkgo biloba with phenytoin. *Pharmacognosy Journal* 2(18): 33-41.
- Huisman M, Smit J, Crommentuyn K, Zelcer N, Wiltshire H, Beijnen J, et al. (2002). Multidrug resistance protein 2 (MRP2) transports HIV protease inhibitors, and transport can be enhanced by other drugs. *AIDS* 16: 2295-2301.
- Lee CG and Gottesman MM. (1998). HIV-1 protease inhibitors and the MDR1 multidrug transporter. *The Journal of Clinical Investigation* 101(2): 287-288.
- Lee YH, Lee BK, Choi YJ, Yoon IK, Chang BC and Gwak HS. (2010). Interaction between warfarin and Korean red ginseng in patients with cardiac valve replacement. *International Journal of Cardiology* 145(2): 275-276.
- Mills E, Foster BC, van Heeswijk R, Phillips E, Wilson K, Leonard B, et al. (2005). Impact of African herbal medicines on antiretroviral metabolism. *AIDS* 19(1): 95-97.
- Minocha M, Mandava NK, Kwatra D, Pal D, Folk WR, Earla R, et al. (2011). Effect of short term and chronic administration of *Sutherlandia frutescens* on pharmacokinetics of nevirapine in rats. *International Journal of Pharmaceutics* 413(1-2): 44-50.
- Monera TG, Wolfe AR, Maponga CC, Benet LZ and Guglielmo J. (2008). Moringa oleifera leaf extracts inhibit 6beta-hydroxylation of testosterone by CYP3A4. *Journal of Infection in Developing Countries* 2(5): 379-383.
- Murphy PA, Kern SE, Stanczyk FZ and Westhoff CL. (2005). Interaction of St. John's Wort with oral contraceptives: effects on the pharmacokinetics of norethindrone and ethinyl estradiol, ovarian activity and breakthrough bleeding. *Contraception* 71(6): 402-408.
- Neuman MG, Monteiro M and Rehm J (2006). Drug interactions between psychoactive substances and antiretroviral therapy in individuals infected with human immunodeficiency and hepatitis viruses. *Substance Use and Misuse* 41(10-12): 1395-1463.
- Okigbo R, Eme U and Ogbogu S. (2008). Biodiversity and conservation of medicinal and aromatic plants in Africa. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews* 3 (127-134).
- Piscitelli SC and Gallicano KD. (2001). Interactions among drugs for HIV and opportunistic infections. *The New England Journal of Medicine* 344(13): 984-996.
- Prevoo D, Swart P and Swart AC. (2008). The influence of *Sutherlandia frutescens* on adrenal steroidogenic cytochrome P450 enzymes. *Journal of Ethnopharmacology* 118(1): 118-126.
- Van Wyk BE and Albrecht C. (2008). A review of the taxonomy, ethnobotany, chemistry and pharmacology of *Sutherlandia frutescens* (Fabaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 119(3): 620-629.
- Volpe DA. (2008). Variability in Caco-2 and MDCK cell-based intestinal permeability assays. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 97(2): 712-725. WHO (2002). Evaluation of certain mycotoxins 906.
- Zhou S-F, Zhou Z-W, Li C-G, Chen X, Yu X, Xue CC et al. (2007). Identification of drugs that interact with herbs in drug development. *Drug Discovery Today* 2(15-16): 664-673.