

Užívání přípravků ze zlatobýlu obecného (*Solidago virgaurea*) neovlivňuje metabolismus současně podávaných léčiv

Veronika Tománková¹, Adéla Vlčková¹, Pavel Anzenbacher², Petr Bachleda³, Eva Anzenbacherová¹

¹Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc

²Ústav farmakologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc

³II. chirurgická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

Účel studie: *Solidago virgaurea* „zlatobýl“ je léčivá rostlina zajímavá z pohledu biologických účinků, známých již ve starověku (1, 2). Obsahovými látkami rodu *Solidago* jsou flavonoidy, fenolové kyseliny a jejich glykosidy, polysacharidy a další sloučeniny (3). Je známo, že *Solidago virgaurea* vykazuje diuretické, protizánětlivé a nově popsané protinádorové, antimikrobiální, sedativní a hypotenzní účinky (1, 2). Zejména flavonoidy a fenolický diglukosid – leiokarposid patří mezi látky, u kterých byla studována řada pozitivních účinků na organismus; u leiokarposisu je znám mimo jiné jeho vliv na diurezu (3). Cílem této studie bylo zjistit, zda extrakt, odvar a výluh z nati zlatobýlu obecného, *Solidaginis virgaureae herba*, ovlivňují vlastnosti enzymů I. fáze biotransformace, zejména cytochromů P450 v lidské jaterní mikrozomální frakci a v primárních kulturách lidských hepatocytů.

Použité metody: Byly studovány různé koncentrace extraktu, odvaru a výluhu ze *Solidaginis virgaureae herba*, vyjádřené v mg sušiny na ml vody (0,042 mg/ml; 0,083 mg/ml a 0,167 mg/ml). Enzymové aktivity byly stanoveny pomocí metody HPLC; exprese proteinů pomocí metody Western blotu.

Výsledky: Aktivity a exprese proteinů CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4 vykazovaly relativně malé změny po ovlivnění testovanými vzorky v lidských hepatocytech i v lidské jaterní mikrozomální frakci, ve všech studovaných koncentracích.

Závěr: Na základě získaných výsledků enzymových aktivit a množství proteinu lze předpokládat, že testované vzorky signifikantně neovlivňují metabolismus současně podávaných léčiv a jejich užívání pravděpodobně nevede ke klinicky významným lékovým interakcím.

Klíčová slova: *Solidaginis virgaureae herba*, cytochromy P450, primární kultury lidských hepatocytů, lidská jaterní mikrozomální frakce, metabolismus léčiv.

The use of goldenrod general (*Solidago virgaurea*) preparations does not influence the metabolism of concomitantly administered drugs

Purpose: *Solidago virgaurea* „goldenrod“ is a known medicinal plant that has been used since ancient times (1, 2). The genus *Solidago* is interesting in terms of both biological effects and the presence of many interesting secondary metabolites – flavonoids, phenolic acids and glucosides, polysaccharides and others (3). *Solidago virgaurea* is known to exhibit diuretic, antiinflammatory and newly described antitumoral, antimicrobial, sedative and hypotensive effects (1, 2). Primarily flavonoids and phenolic diglucoside – leiocarposide belong to secondary metabolites having primarily a positive effect on diuresis (3). Our objective was to investigate whether *Solidaginis virgaureae herba* extract, decoction and leachate affect the properties of phase I biotransformation enzymes, namely cytochromes P450 in human liver microsomal fraction and also in primary cultures of human hepatocytes.

Methods: Different concentrations of *Solidaginis virgaureae herba* extract, decoction and leachate, expressed as mg of dry weight in mL of water (0.042 mg/mL; 0.083 mg/mL and 0.167 mg/mL) were studied. Enzyme activities and protein expression were determined using HPLC and Western blotting, respectively.

» ORIGINÁLNÍ PRÁCE

UŽÍVÁNÍ PŘÍPRAVKŮ ZE ZLATOBÝLU OBECNÉHO (SOLIDAGO VIRGAUREA) NEOVLIVŇUJE METABOLIZMUS SOUČASNĚ PODÁVANÝCH LÉČIV

Results: Activity and protein expression of CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4 were only little influenced by *Solidaginis virgaureae herba* preparations, either in human hepatocytes as well as in human liver microsomal fraction in all studied concentrations.

Conclusion: Based on the results of the enzyme activities and the amount of protein can be expected that the *Solidaginis virgaureae herba* preparations do not significantly affect the metabolism of concomitantly administered drugs and their use probably does not result in drug interactions.

Key words: *Solidaginis virgaureae herba*, cytochromes P450, primary cultures of human hepatocytes, human liver microsomal fraction, drug metabolism.

Úvod

Bylinné přípravky jsou stále více využívány širokou veřejností s cílem nahradit nebo doplnit konvenční medicínu (4). *Solidago* je jeden z největších rodů patřící do čeledi hvězdnicovitých (Asteraceae). Obsahuje 120 druhů, z nichž většina roste divoce v Severní Americe (5, 6). Ze Severní Ameriky se druhy rodu *Solidago* mimořádně úspěšně rozšířily do celého světa (7). Uvádí se, že rostliny rodu *Solidago* vykazují diuretické, antiseptické, choleretické a hojicí účinky (5). Jediný původní druh této rostliny vyskytující se v České republice je zlatobýl obecný (též celík zlatobýl, *Solidago virgaurea*) (8). Tato rostlinná droga je lékopisná podle Českého lékopisu 2009 (9). *Solidago virgaurea* je známá léčivá rostlina, která se používala již ve starověku (1, 2). Nať ze zlatobýlu se využívala při onemocnění močových cest, při nefrolitiáze a chorobách prostaty, zatímco květy a listy byly používány jako přírodní žluté barvivo. Rostlina byla poté zapomenuta, ale znova našla své uplatnění v moderní fyto-terapii (3). Je známo, že *Solidaginis virgaureae herba* vykazuje nejen diuretické a protizánětlivé, ale také nově popsané protinádorové, antimikrobiální, sedativní a hypotenzní účinky (1, 2). Z rostliny *Solidago virgaurea* nebyla izolována pouze jedna aktivní složka; je pravděpodobné, že k jejím účinkům přispívá více sloučenin (10). Sekundární metabolity, zejména flavonoidy a fenolický diglukosid – leiokarposid mají pozitivní vliv na diurézu (3).

Běžně užívaná léčiva a přírodní látky podstupují v lidském organizmu metabolické přeměny za vzniku různých metabolitů. Cizorodé látky přítomné v potravě mohou působit na aktivitu biotransformačních enzymů a tím ovlivňovat metabolizmus podávaných léčiv. Mezi nejdůležitější enzymy metabolizmu léčiv patří především cytochromy P450 (CYP). Nejvýznamnější forma, která je exprimována v lidských játrech a která metabolizuje většinu běžně užívaných

léčiv, u nichž je známa jejich biotransformace, je CYP3A4. Cizorodé látky nejsou metabolizovány pouze CYP3A4, ale také jinými formami (např. CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 a CYP2E1) (11, 12). Široká substrátová specifita CYP je odpovědná za lékové interakce spojené s inhibicí CYP (13). Dalším důvodem lékových interakcí na úrovni metabolizmu může být indukce CYP po aplikaci léčiva nebo látky přijaté potravou (14). Z tohoto důvodu se uvedená práce zabývá tím, zda běžně používaný extrakt, odvar a výluh ze *Solidaginis virgaureae herba* ovlivňují vlastnosti CYP inhibicí v lidské jaterní mikrozomální frakci nebo indukcí v primárních kulturách lidských hepatocytů.

Metody

Příprava testovaných vzorků (extraktu, odvaru a výluhu ze zlatobýlu obecného)

Extrakt ze zlatobýlu obecného, který byl dodán společností Walmark (Praha, Česká republika) byl připraven podle výrobce extrakcí do směsi organických rozpouštědel v extrakčním poměru 10:1. Výsledný extrakt obsahoval minimální množství zbytkového rozpouštědla (max. 0,05 %). Tento extrakt, který podle výrobce přispívá ke správné funkci močového měchýře a dolních cest močových, je jednou ze složek přípravku Urinal Akut. Jedna tableta tohoto přípravku obsahuje 30 mg sušiny.

Celík zlatobýl nať (*Solidaginis virgaureae herba*) pro přípravu odvaru a výluhu byl získán od firmy Valdemar Grešík–Natura s.r.o (Děčín, Česká republika). Pro přípravu odvaru bylo naváženo 0,67 g tohoto produktu, který byl zalit 50 ml studené destilované vody. Roztok byl přiveden k varu a následně louhován po dobu 15 min. Poté byl roztok přefiltrován, přenesen do mikrozumavek typu Eppendorf a zamražen na -20 °C. Pro přípravu výluhu bylo naváženo 0,67 g

stejné rostlinky, která byla zalita 50 ml vroucí destilované vody. Roztok byl louhován po dobu 15 min, následně byl zfiltrován, přenesen do mikrozumavek typu Eppendorf a zamražen na -20 °C až do příslušných stanovení.

Standardizace testovaných vzorků na fenolický diglukosid – leiokarposid

Standardizace testovaného přírodního materiálu byla provedena na základě kvantifikace účinné látky leiokarposidu. Stanovení obsahu leiokarposidu ve studovaných vzorcích bylo provedeno metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detektorem na přístroji Prominence (Shimadzu; Tokyo, Japonsko) (3).

Lidská jaterní mikrozomální frakce

Preparát mikrozomální frakce jaterního lidského homogenátu byl připraven podle standardních publikovaných postupů frakční centrifugací (15). Použití jater od dárců bylo schváleno Etickou komisí FN a LF Olomouc v souladu se Zákonem č. 285/2000 Sb.

Primární kultury lidských hepatocytů

Lidské hepatocyty byly izolovány dvoufázovou kolagenovou perfuzí (16) z lidských jater obdržených ze čtyř multiorgánových dárců (LH63, LH64, LH65, LH66); použití jaterních buněk z těchto čtyř dárců bylo schváleno Etickou komisí FN a LF Olomouc v souladu se Zákonem č. 285/2000 Sb. Hepatocyty byly vysety na kultivační desky a inkubovány s extraktem, odvarem a výluhem ze zlatobýlu obecného o koncentracích 0,042 mg/ml; 0,083 mg/ml a 0,167 mg/ml po dobu 24 h.

K ověření metabolické aktivity primárních kultur lidských hepatocytů a k vyloučení toxicity studovaných vzorků zlatobýlu byl použit test cytotoxicity s MTT (3-(4,5-dimetylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromid). Principem testu cytotoxicity je redukce žluté, ve vodě rozpustné

tetrazoliové soli mitochondriálními enzymy na fialový, ve vodě nerozpustný formazanový derivát. Po rozpuštění v organickém rozpouštědle je koncentrace produktu stanovena spektrofotometricky při 540 nm (17).

Stanovení enzymových aktivit vybraných CYP

Enzymové aktivity vybraných enzymů CYP byly měřeny v lidské jaterní mikrosomální frakci i v primárních kulturách lidských hepatocytů podle standardních metod (18): CYP1A2 (O-deetylace fenacetinu), CYP2A6 (7-hydroxylace kumarinu), CYP2C9 (7-hydroxylace warfarinu), CYP2D6 (1'-hydroxylace bufuralolu) a CYP3A4 (6 β -hydroxylace testosteronu). Enzymové aktivity byly stanoveny ve dvou paralelních měřeních v mikrosomální frakci a v duplikátech se čtyřmi vzorky hepatocytů od různých dárců. Všechny enzymové aktivity byly vyhodnoceny s použitím HPLC Prominence system (Shimadzu; Tokyo, Japonsko) s UV nebo fluorescenční detekcí.

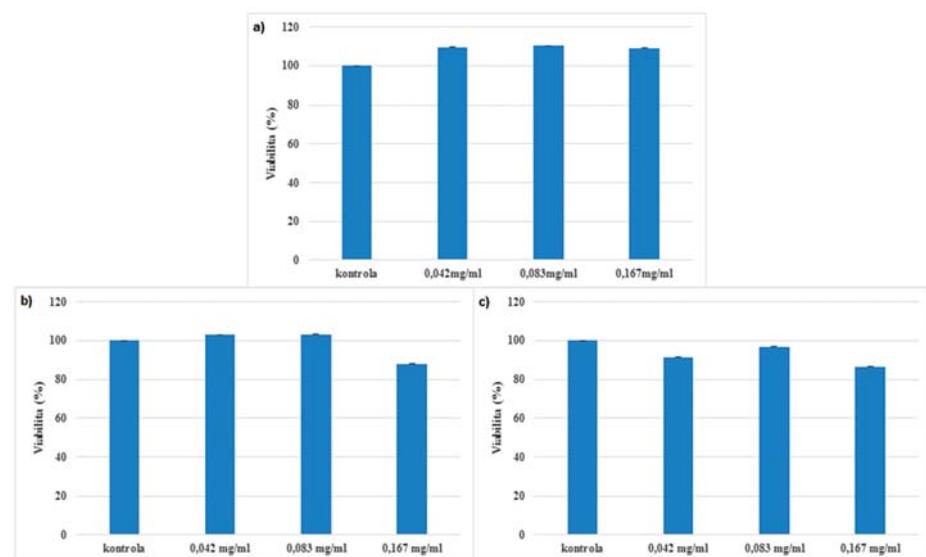
Stanovení exprese proteinů vybraných CYP v hepatocytech pomocí Western blottingu

Proteiny jaterních vzorků byly rozděleny elektroforeticky (SDS-PAGE, 10% rozdělovací gel) a následně přeneseny na nitrocelulózové membrány (0,45 μ m) použitím zařízení Trans-Blot[®] Turbo Transfer System (Bio-Rad, Palo Alto, CA, USA). Imunodetekce CYP byla provedena použitím myších primárních protilátek pro formy CYP1A2, CYP2A6, CYP2D6 a CYP3A4; králičí primární protilátky byly použity pro CYP2C9 (Acris Antibodies, Herford, Německo). Jako sekundární protilátky (s křenovou peroxidázou) byly použity anti-myši (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA) a anti-králičí (Acris Antibodies, Herford, Německo). Signál byl detekován použitím chemiluminiscenčního kitu (Amersham Biosciences, Amersham, UK) podle instrukcí výrobce. Intenzita výsledného signálu vybraných proteinů byla hodnocena za použití C-Digit[™] Blot Scanner (Li-Cor, Lincoln, NE, USA).

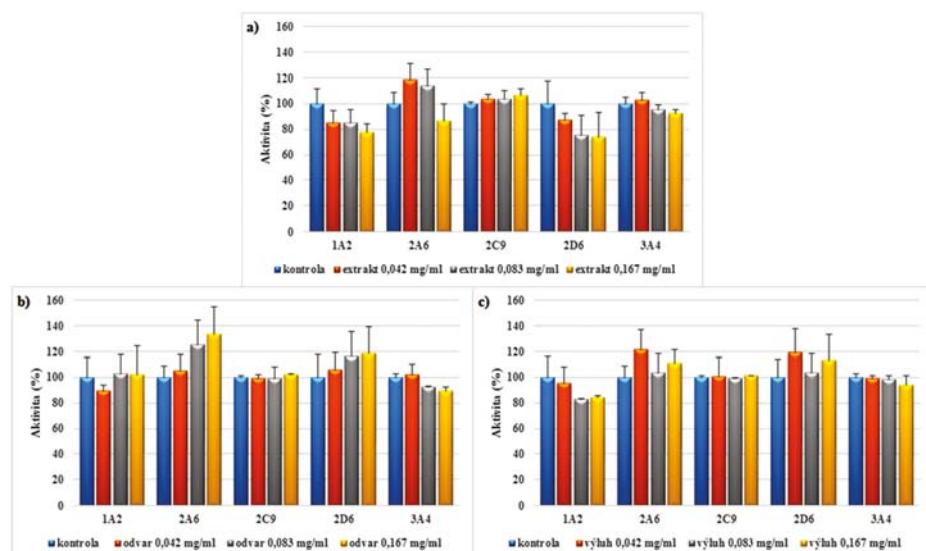
Statistická analýza dat

Výsledky byly podrobny statistické analýze za použití Studentova t-testu na hladině významnosti 0,05. Analýza byla provedena pomocí programů Microsoft Excel a Statistica 12 (Systat Software, San Jose, CA).

Obr. 1. Test cytotoxicity pro **a)** extrakt **b)** odvar a **c)** výluhu ze zlatobýlu obecného o koncentracích 0,042 mg/ml; 0,083 mg/ml a 0,167 mg/ml. Jako kontrola byla použita destilovaná voda. Data jsou vyjádřená jako procento kontroly a představují průměr \pm s. o. ze dvou experimentů. Hodnoty nejsou signifikantně ovlivněny ($p > 0,05$)



Obr. 2. Vliv **a)** extraktu, **b)** odvaru a **c)** výluhu ze zlatobýlu obecného na aktivity CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4 v lidské jaterní mikrosomální frakci. Mikrosomy byly inkubovány se vzorky v různých koncentracích (0,042 mg/ml; 0,083 mg/ml a 0,167 mg/ml). Aktivity představují průměr \pm s. o. ze dvou nezávislých experimentů prováděných v duplikátech. Jako kontrola byla použita destilovaná voda. Data jsou vyjádřená jako procento kontroly. Hodnoty nejsou signifikantně ovlivněny ($p > 0,05$).



Výsledky

K ověření možného efektu látek přítomných ve zlatobýlu obecném na nejvýznamnější formy CYP byly použity dva přístupy „*in vitro*“. První z nich využil primární kultury lidských hepatocytů pro sledování změny exprese a aktivity studovaných enzymů. Při druhém přístupu byla použita ke zjišťování inhibice enzymů lidská jaterní mikrosomální frakce.

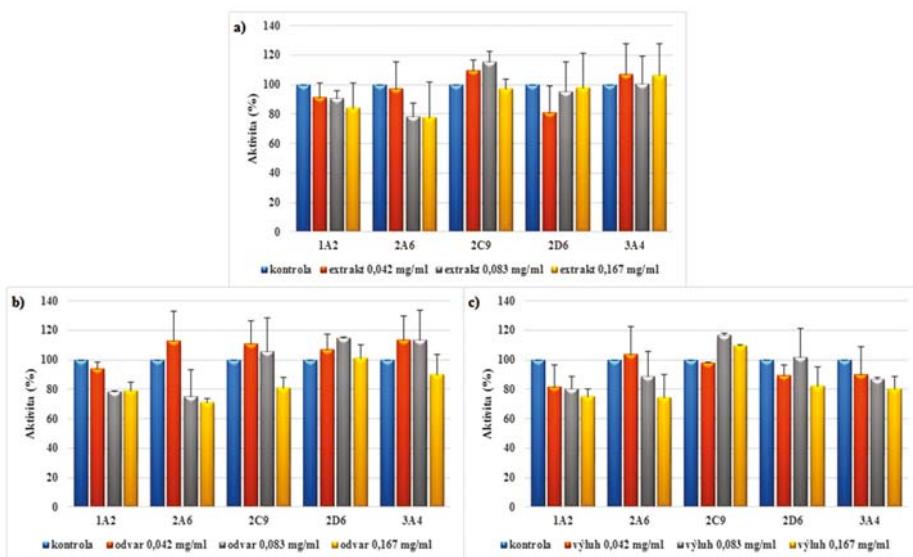
Prvním krokem při práci s primárními kulturnami lidských hepatocytů bylo stanovení cytotoxicity použitých vzorků zlatobýlu MTT testem. Z výsledků testu vyplývá, že přípravky obsahující zlatobýl ve zvolených koncentracích

nejsou toxiccké, a proto mohly být použity pro naše experimenty (obr. 1).

Vliv extraktu, odvaru a výluhu ze zlatobýlu obecného na aktivity CYP v lidské jaterní mikrosomální frakci

V lidské jaterní mikrosomální frakci byly stanoveny aktivity vybraných CYP s využitím jejich specifických substrátů. Efekt testovaných vzorků extraktu, odvaru a výluhu ze zlatobýlu obecného na jednotlivé enzymy byl kvantifikován pomocí HPLC. Výsledky znázorněné na obr. 2 ukazují, že aktivity enzymů CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9,

Obr. 3. Vliv **a)** extraktu, **b)** odvaru a **c)** výluhu ze zlatobýlu obecného na aktivity CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4 na primární kultury lidských hepatocytů. Primární kultury lidských hepatocytů byly inkubovány 24 h se vzorky zlatobýlu v různých koncentracích (0,042 mg/ml; 0,083 mg/ml a 0,167 mg/ml). Ostatní data jsou stejná jako u obr. 2. Hodnoty nejsou signifikantně ovlivněny ($p > 0,05$)



CYP2D6 a CYP3A4 po aplikaci testovaných vzorků nevykazovaly signifikantní změny, a to ve všech studovaných koncentracích.

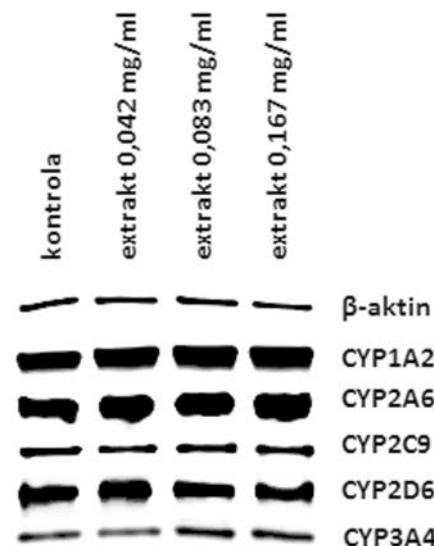
Vliv extraktu, odvaru a výluhu ze zlatobýlu obecného na aktivity a exprese CYP v primárních kulturách lidských hepatocytů

Komplexnějším „in vitro“ systémem jsou primární kultury lidských hepatocytů. Pro ověření změny exprese byly buňky inkubovány s různými koncentracemi vzorků zlatobýlu (0,042 mg/ml; 0,083 mg/ml a 0,167 mg/ml) po dobu 24h. Po této době byly do média přidány specifické substráty pro stanovení aktivit jednotlivých enzymů. Ovlivnění aktivit CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4 je graficky znázorněno na obr. 3. Získané výsledky ukazují, že po aplikaci vzorků zlatobýlu ve všech vybraných koncentracích nedochází v lidských hepatocytech k signifikantním změnám aktivit enzymů CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4. Data získaná měřením enzymových aktivit v primární kultuře lidských hepatocytů byla v souladu s výsledky obdrženými při sledování změn exprese proteinů metodou Western blottingu. Ani zde nebyly pozorovány signifikantní změny v hladinách studovaných CYP (obr. 4).

Diskuze

V poslední době neustále roste poptávka po bylinných přípravcích a doplňcích stravy, zejména v souvislosti s rozšířováním alternativ-

Obr. 4. Reprezentativní Western bloty lidských jaterních enzymů CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4 po expozici primárních kultur lidských hepatocytů (LH64) extraktem ze zlatobýlu obecného. β -aktin byl použit jako kontrola aplikace vzorků



ních a doplnkových přípravků na celém světě. S rostoucím výskytem těchto přípravků roste také současné užívání léčiv (19, 20). Bylinné čaje se používají jako potravinové doplňky, tonikum, ochrana proti onemocnění, ale také s cílem přispět k léčbě nemocí (21). Zlatobýl obecný, pampeliška lékařská a další rostliny jsou tradičně používány pro svoje diuretické účinky. Pampeliška lékařská (*Taraxacum officinale*; resp. *Taraxacum sect. Ruderalia*) stejně jako zlatobýl obecný (*Solidaginis virgaureae herba*) byla široce užívána jako diuretikum v tradiční medicíně, ale také v moderní fytotherapii. Bylo zjištěno, že etanolický extrakt z pampelišky lékařské zvyšuje frekvenci močení (22). Studie s potkaními jaterními mikrozomy zjistila, že pampeliškový čaj ovlivňuje aktivitu některých biotransformačních enzymů I. fáze, zejména snižuje aktivitu CYP1A2 a CYP2E1 (21). Je skutečností, že petržel zahradní (*Petroselinum crispum*), používaný v lidové medicíně, se užívá jako přípravek pro různá onemocnění; má rovněž vlastnosti silného diureтика (23). Experiment „in vivo“ na myších, kterým byla podávána šťáva z petržele, ukázal statisticky významný pokles v obsahu CYP v jaterních mikrozomech v porovnání s kontrolou (24). Zelený čaj je velmi oblíbený nápoj a extrakty ze zeleného čaje jsou populárními složkami potravních doplňků (25). Ukázalo se, že je však třeba sledovat konzumaci zeleného čaje a některých léčiv vzhledem k jeho diuretickému účinku (26). Ve studii (25) bylo právě zjištěno, že nízké dávky extraktu ze zeleného čaje ovlivnily u myší

aktivity jaterních biotransformačních enzymů pouze mírně. Nicméně, nadměrná konzumace extraktu ze zeleného čaje naopak signifikantně zvýšila jejich enzymové aktivity (25). Studie, která se zabývala vlivem různých rostlinných léčivých přípravků nebo doplňků stravy na potenciální indukci exprese mRNA *Cyp1a2* a *Cyp3a4* zjistila sice slabou, ale signifikantní indukci genu *Cyp3a4* extraktem ze zlatobýlu obecného u LS180 buněk (buňky lidského karcinomu tlustého střeva) (27). Nicméně, v tomto případě může docházet k alterovanému mechanismu regulace exprese biotransformačních enzymů zodpovědného za indukci exprese genu *Cyp3a4* u LS180 buněk oproti nenádorovým primárním kulturám lidských hepatocytů použitych v naší studii.

Infekce močových cest je nejběžnějším bakteriálním onemocněním, které se vyskytuje u člověka (28). Bylinné přípravky, které mají diuretické vlastnosti, by však mohly ovlivňovat aktivitu biotransformačních enzymů a tím i farmakokinetiku a účinnost léčiv. Z tohoto důvodu byla provedena tato studie sledující, zda zlatobýl obecný, který je kromě jiného jednou ze složek přípravku Urinal Akut, také ovlivňuje vlastnosti enzymů metabolizujících léčiva. V literatuře se uvádí, že zlatobýl by neměl užívat pacienti, kteří trpí alergií na tuto přírodní látku a pacienti se selháním ledvin, i když je jinak považován za bezpečný. Dále je popsáno, že užívání zlatobýlu, i krátkodobě, by se měly vyhnout těhotné a kojící matky (10).

Naše studie se zabývala ovlivněním aktivit CYP1A2, CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4 přípravky zlatobýlu obecného. Výsledky získané s mikrozomální frakcí jaterního homogenátu mohou odpovědět na otázku, zda jsou aktivity jaterních CYP ovlivněny přípravky zlatobýlu; studie s lidskými hepatocyty by mohla naznačit možnou indukci či inhibici tvorby CYP v lidských játrech. Z výsledků vyplývá, že zlatobýl obecný

signifikantně neovlivňuje enzymové aktivity v mikrozomální frakci ani v primárních kulturách lidských hepatocytů. Rovněž exprese proteinů odpovídající studovaným formám CYP v hepatocytech potvrzuje, že ke změnám hladin těchto proteinů za daných experimentálních podmínek nedochází. Lze tedy usuzovat na to, že užívání extraktu, odvaru či výluhu ze zlatobýlu obecného pravděpodobně signifikantně neovlivňuje

metabolizmus současně podávaných léčiv za účasti studovaných CYP, což je pro doplňky stravy výhodou.

Poděkování:

Tato práce vznikla za podpory
Grantové agentury České republiky
(grant č. P303/12/G163) a vnitřního studentského
grantu Univerzity Palackého (LF_2016_012).

LITERATURA

1. Kalemba D. Constituents of the essential oil of Solidago virgaurea L. Flavour Fragr J 1998; 13(6): 373–376.
2. Dobjanschi L, Antonescu A, Zdrinca M, et al. HPLC-MS analysis of flavonoids obtained from Solidago sp. (Asteraceae). Analele Universitatii din Oradea, Fascicula: Protectia Mediului 2012; 19: 75–79.
3. Thiem B, Wesolowska M, Skrzypczak L, Budzianowski J. Phenolic compounds in two Solidago L. species from in vitro culture. Acta Pol Pharm 2001; 58(4): 277–281.
4. Apáti P, Szentmihályi K, Krístó ST, et al. Herbal remedies of Solidago—correlation of phytochemical characteristics and antioxidative properties. J Pharm Biomed Anal 2003; 32(4–5): 1045–1053.
5. Jiang T, Huang BK, Qin LP. A survey of chemical and pharmacological studies on Solidago. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao 2006; 4(4): 430–435.
6. Demir H, Acik L, Bali EB, Koc LY, Kaynak G. Antioxidant and antimicrobial activities of Solidago virgaurea extracts. Afr J Biotechnol 2009; 8(2): 274–279.
7. Szymura M, Szymura TH. Soil preferences and morphological diversity of goldenrods (Solidago L.) from south-western Poland. Acta Soc Bot Pol 2013; 82(2): 107–115.
8. Pyšek P, Danihelka J, Sádlo J, et al. Catalogue of alien plants of the Czech Republic (2nd edition): checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns. Preslia 2012; 84: 155–255.
9. Český Lékopis 2009, Solidaginis virgaureae herba (Nář zlatobýlu obecného) 6.0:1893 (díl 3, str. 3153–3154). Grada, Praha 2009.
10. Yarnell E. Botanical medicines for the urinary tract. World J Urol 2002; 20(5): 285–293.
11. Ghose R. Clinical consequences of altered drug disposition in obesity. J Clin Trials 2012; 1: e107.
12. Anzenbacher P, Anzenbacherová E. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. Cell Mol Life Sci 2001; 58(5–6): 737–747.
13. Pelkonen O, Turpeinen M, Hakkola J, Honkakoski P, Hukkanen J, Raunio H. Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. Arch Toxicol 2008; 82(10): 667–715.
14. Lin JH, Lu AY. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. Clin Pharmacokinet 1998; 35(5): 361–390.
15. Phillips IR, Shephard EA, Ortiz de Montellano PR, eds. Cytochrome P450 protocols. 3rd ed. New York, NY: Springer Science + Business Media, 2013: 987.
16. Pichard L, Gillet G, Fabre I, et al. Identification of the rabbit and human cytochromes P-450IIIA as the major enzymes involved in the N-demethylation of diltiazem. Drug Metab Dispos 1990; 18(5): 711–719.
17. Sieuwerts AM, Klijn JG, Peters HA, Foekens JA. The MTT tetrazolium salt assay scrutinized: how to use this assay reliably to measure metabolic activity of cell cultures in vitro for the assessment of growth characteristics, IC50-values and cell survival. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995; 33(11): 813–823.
18. Chang TK, Waxman DJ. Catalytic assays for human cytochrome P450: an introduction. Methods Mol Biol 2006; 320: 73–83.
19. Ohnishi N, Yokoyama T. Interactions between medicines and functional foods or dietary supplements. Keio J Med 2004; 53(3): 137–150.
20. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Front Pharmacol 2013; 4: 177.
21. Maliakal PP, Wanwimolruk S. Effect of herbal teas on hepatic drug metabolizing enzymes in rats. J Pharm Pharmacol 2001; 53(10): 1323–1329.
22. Clare BA, Conroy RS, Spelman K. The diuretic effect in human subjects of an extract of Taraxacum officinale folium over a single day. J Altern Complement Med 2009; 15(8): 929–934.
23. Kreydiyyeh SI, Usta J. Diuretic effect and mechanism of action of parsley. J Ethnopharmacol 2002; 79(3): 353–357.
24. Jakovljevic V, Raskovic A, Popovic M, Sabo J. The effect of celery and parsley juices on pharmacodynamic activity of drugs involving cytochrome P450 in their metabolism. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 2002; 27(3): 153–156.
25. Matoušková P, Bártíková H, Boušová I, et al. Effect of defined green tea extract in various dosage schemes on drug-metabolizing enzymes in mice in vivo. J Funct Foods 2014; 10: 327–335.
26. Chacko SM, Thambu PT, Kuttan R, Nishiaki I. Beneficial effects of green tea: a literature review. Chin Med 2010; 5(13): 1–9.
27. Brandin H, Viitanen E, Myrberg O, Arvidsson AK. Effects of herbal medicinal products and food supplements on induction of CYP1A2, CYP3A4 and MDR1 in human colon carcinoma cell line LS180. Phytother Res 2007; 21(3): 239–244.
28. Nicolle LE. Epidemiology of urinary tract infections. Clin Microbiol Newsletter 2002; 24(18): 135–140.