รายงานวิจัย
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2556

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

เรื่อง
อันตรกิริยาของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวานในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ กับหน้าที่การทำงานของพี-ไกลโคโปรตีน

Interaction between P-glycoprotein and anti-diabetic medicinal plants in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

ผศ. ดร. ภญ. สุรีย์ เจียรณ์มงคล ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา
ผศ. ดร. ภญ. นนทิมา วรรธนะภูติ ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2556 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ให้การสนับสนุนในการทำงานวิจัยชิ้นนี้ ขอขอบคุณ รศ. ดร. ภญ. สุรัตนา อำนวยผล ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม ศูนย์นวัตกรรมทางยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

เล่มที่ ส 15 015909 2556
เลขทะเบียน 016480
วัน, เดือน, ปี 24 มี.ค. 58

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลของสารสกัดพืชสมุนไพร 4 ชนิดในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein ในแบบจำลองเซลล์คาโค-2 ตัวอย่างพืชดังกล่าวประกอบด้วยลำป้าง (*Pterospermum littorale* Craib; วงศ์ Sterculiaceae) เขลง (*Dialium cochinchinense* Pierre; วงศ์ Fabaceae) พลองใบรี (*Mamecylon plebejum* Kurz. var. ellipsoideum Craib.; วงศ์ Melastomataceae) และโพทะเล (*Thespesia populnea* (L.) Soland.ex Corr.; วงศ์ Malvaceae) โดยส่วนของพืชทั้ง 4 ชนิดสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ซึ่งเป็นเอนไซม์เป้าหมายของการใช้ยาในโรคเบาหวานได้ การศึกษาการแสดงออกของ P-glycoprotein ดังกล่าวจะวัดจากการเรืองแสงของ FITC-labeled P-gp antibody ที่เข้าจับกับ P-glycoprotein ที่ผิวเซลล์ ผลที่ได้จากการศึกษาพบว่าพลองใบรี และ โพทะเล (ในความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถนำมาทดสอบได้) ไม่มีผลต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein ในขณะที่ลำป้างและเขลงสามารถเพิ่มปริมาณของโปรตีนดังกล่าวได้ประมาณ 2 เท่าเมื่อให้สารสกัดดังกล่าวแก่เซลล์นาน 3 วัน โดยผลที่เกิดขึ้นแปรตามความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่ใช้ในการศึกษา การเพิ่มระยะเวลาการให้สารจาก 3 วันเป็น 7 วัน ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีนแต่อย่างใด ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการนำลำป้างและเขลงมาใช้อาจทำให้เกิดปัญหาอันตรกริยาระหว่างยาจากคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำการแสดงออกของ P- glycoprotein ซึ่งยังคงต้องศึกษาผลกระทบในด้านดังกล่าวต่อไป

คำสำคัญ: พี-ไกลโคโปรตีน อันตรกิริยาระหว่างยา เขลง พลองใบรี ลำป้าง โพทะเล

Abstract

The purpose of this study was to investigate and compare the effects of 4 herbal plants in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn on the expression of P-glycoprotein, using the in vitro model of the Caco-2 cells. The plants were selected into this study by its ability to inhibit α-glucosidase, which is a drug target for diabetic control. These plants included *Pterospermum littorale* Craib (Family Sterculiaceae); *Dialium cochinchinense* Pierre (Family Fabaceae); *Mamecylon plebejum* Kurz. var. ellipsoideum Craib. (Family Melastomataceae) and *Thespesia populnea* (L.) Soland.ex Corr. (Family Malvaceae). The expression of P-glycoprotein was assessed by flow cytometry with the use of a fluorescein isothiocyanate-conjugated anti-human P-gp antibody. The results demonstrated that extracts of *M. plebejum* and *T. populnea* at the highest concentration in this study were unable to affect the expression of P-glycoprotein. On the other hand, 3-day exposure of Caco-2 cells with extracts of *D. cochinchinense* and *P. littorale* increased the P-glycoprotein expression by approximate 2 folds. The induction effect of *P. littorale* was concentration dependent. Although the exposure period of Caco-2 cells to all the extracts was extended from 3 days to 7 days, the extent of P-gp expression did not increase correspondingly. The findings suggested that *D. cochinchinense* and *P. littorale* might be able to cause problems regarding P-glycoprotein-mediated drug interactions through their ability to increase P-gp expression. Further studies in this regard are needed.

Keywords: P-glycoprotein, drug interaction, *Pterospermum littorale, Dialium cochinchinense, Mamecylon plebejum, Thespesia populnea*

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	1
วิธีดำเนินการศึกษา	2
ผลการศึกษา	3
สรุปและวิจารณ์ผล	12
เอกสารอ้างอิง	13
ประวัตินักวิจัยและคณะ	15

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 21 วัน	4
ภาพที่ 2	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 1 วัน	5
ภาพที่ 3	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 3 วัน	5
ภาพที่ 4	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 7 วัน	6
ภาพที่ 5	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 1 และ 7 วัน	6
ภาพที่ 6	ผลของ doxorubicin (DOX) ที่มีต่อการแสดงออกของ P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 เมื่อได้รับสาร 1 และ 7 วัน	7
ภาพที่ 7	ผลของสารต่อการอยู่รอดของเซลล์ Caco2 เมื่อให้สารเป็นเวลานาน 3 วัน	7
ภาพที่ 8	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเป็นเวลา 3 วัน	8
ภาพที่ 9	ผลของพลองใบรี (MP) 400 µg/ml, ลำป้าง (PL) 200 µg/ml, โพทะเล (TP) 150 µg/ml และ เขลง (DC) 150 µg/ml ต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein โดยบ่มสารกับเซลล์ Caco2 เป็นเวลา 3 วัน	9
ภาพที่ 10	ผลของลำป้าง (PL) ที่ความเข้มข้น 20, 100 และ 200 µg/ml ที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein	9
ภาพที่ 11	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเป็นเวลา 7 วัน	10
ภาพที่ 12	ผลของพลองใบรี (MP) 400 µg/ml, ลำป้าง (PL) 200 µg/ml, โพทะเล (TP) 150 µg/ml และ เขลง (DC) 150 µg/ml ที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein	11
ภาพที่ 13	ผลของลำป้าง (PL) ที่ความเข้มข้น 20, 100 และ 200 µg/ml ที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein โดยบ่มสารกับเซลล์ Caco2 เป็นเวลา 7 วัน	11
ภาพที่ 14	Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 ที่ได้รับลำป้าง (PL) ที่ความเข้มข้น 200 µg/ml เป็นเวลา 3 และ 7 วัน	12

อันตรกิริยาของพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวานในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ กับหน้าที่การทำงานของพี-ไกลโคโปรตีน

Interaction between P-glycoprotein and anti-diabetic medicinal plants in the Plant Genetic Conservation Project area under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

สุรีย์ เจียรณ์มงคล* และ นนทิมา วรรธนะภูติ**

Suree Jianmongkol* and Nontima Vardhanabhuti**

*ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา **ภาควิชาวิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
*Department of Pharmacology and Physiology, ** Department of Pharmaceutics and Industrial Pharmacy Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University, Phyathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เบาหวานเป็นโรคเรื้อรังทางเมตาบอลิค ทำให้มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งถ้าปล่อยทิ้งไว้จะก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ เช่นไตวาย ตาบอด ปลายประสาทอักเสบ โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น ดังนั้นหลักการรักษาโรคจึงมุ่งเน้นการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดเป็นสำคัญ ซึ่งแนวทางการรักษาที่สำคัญได้แก่ การควบคุมอาหาร การออกกำลังกาย และการใช้ยาลดระดับน้ำตาลในเลือด ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีความตื่นตัวในการใช้สมุนไพรพื้นถิ่นอย่างมากในการรักษาโรคต่างๆ รวมทั้งโรคเบาหวานด้วย เช่นมะระขี้นก เปลือกอบเชยเป็นต้น ในชุดโครงการนี้มีวัตถุประสงค์คัดกรองหาพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพในการต้านเบาหวาน โดยเลือกศึกษาในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ซึ่งมีความหลากหลายของพันธุ์พืชสมุนไพรมาก ทำให้มีโอกาสค้นพบพืชใหม่ๆที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะฤทธิ์ต้านเบาหวาน ซึ่งตัวอย่างพืชสมุนไพรที่อาจมีฤทธิ์ต้านเบาหวานในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องจากพระราชดำริฯนั้น มีอย่างน้อย 4 ชนิดได้แก่ ลำป้าง (*Pterospermum littorale* Craib; วงศ์ *Sterculiaceae*) เขลง (*Dialium cochinchinense* Pierre; วงศ์ *Fabaceae*) พลองใบรี (*Mamecylon plebejum Kurz.* var. ellipsoideum Craib.; วงศ์ *Melastomataceae*) และโพทะเล (*Thespesia populnea* (L.) Soland.ex Corr.; วงศ์ *Malvaceae*) โดยส่วนของพืชทั้ง 4 ชนิดสามารถยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ได้มากกว่าร้อยละ 95

อย่างไรก็ตามนอกจากการคำนึงถึงประสิทธิผลในการลดน้ำตาลและควบคุมโรคแล้ว ในการนำพืชสมุนไพรมาใช้ต้องคำนึงความปลอดภัยและโอกาสที่พืชดังกล่าวจะรบกวนหรือเกิดอันตรกิริยากับยาอื่นที่ผู้ป่วยจำเป็นต้องใช้ ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานนี้มักจะต้องใช้ยาหลายชนิดร่วมกัน ทั้งนี้ผลกระทบของพืชสมุนไพรที่มีต่อกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ได้แก่ การดูดซึม การกระจายตัว การถูกทำลายโดย

เอนไซม์ในร่างกาย การขับยาออกจากร่างกาย เป็นสาเหตุหลักที่สำคัญต่อการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยา (Riley and Grime, 2004) ซึ่งโครงการนี้ได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาปัญหาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างยากับพืชสมุนไพรจากการรบกวนการขนส่งยาผ่านเมมเบรนด้วยตัวพา (transporter) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง P-glycoprotein ซึ่งจะทำให้ยานั้นไม่ได้ผลในการรักษาตามที่คาด หรือ เกิดพิษของยาได้

P-glycoprotein เป็นตัวพาที่สำคัญตัวหนึ่ง มีบทบาทในการนำส่งยาเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย การขจัดยาออกจากเซลล์ การป้องกันการแพร่ผ่านของสารแปลกปลอม (xenobiotics) เข้าสู่อวัยวะเช่นสมอง รวมถึงการดูดซึมยาเข้าสู่ร่างกาย การรบกวนการทำงานของ P-glycoprotein ทำให้เกิดปัญหาอันตรกิริยาระหว่างยาที่พบได้บ่อย เช่นการเกิดพิษของ digoxin จาก verapamil ซึ่งยับยั้งการทำงานของ P-glycoprotein ทำให้มีการสะสมของ digoxin จนเกิดพิษขึ้น นอกจากยาแล้วสารสกัดสมุนไพรและส่วนประกอบที่แยกจากสารสกัดสมุนไพรสามารถรบกวนการทำงานของ P-glycoprotein ก่อให้เกิดปัญหาอันตรกิริยาของยาได้เช่นกัน ดังนั้นการศึกษาความสามารถของสารสมุนไพรในการเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของ p-glycoprotein จะให้ข้อมูลที่จำเป็นต่อการพัฒนาพืชสมุนไพรที่ต้องการให้ออกฤทธิ์อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาอันตรกิริยาของพืชสมุนไพรเป้าหมายในพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องจากพระราชดำริฯ ที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein

วิธีดำเนินการศึกษา

โครงการนี้เลือกศึกษาตัวอย่างพืชสมุนไพรจากพื้นที่ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องจากพระราชดำริที่มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ได้แก่ใบพลองใบรี เปลือกลำป้าง ผลโพทะเล เปลือกเขลง

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

พืชสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดได้มีการจัดเตรียมโดยการหมักแช่แอลกอฮอร์นาน 5 วันและนำส่วนที่สกัดได้มาระเหยที่ความดันต่ำให้แห้ง จากนั้นทำการ partition เพิ่มเติม และเก็บสารสกัดทั้งหมดที่อุณหภูมิ -20 เซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทดสอบ: พลองใบรี (ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร); ลำป้าง (ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร); โพทะเล (ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และเขลง (ความเข้มข้น 150 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) [*ความเข้มข้นสูงสุดที่ละลายได้และเป็นความเข้มข้นสูงสุดในการทดสอบ] ความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์

3.2 การเตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง Caco 2

เซลล์ Caco 2 (American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA) ถูกเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM ที่มี 10% FBS, 1% nonessential amino acid, 1% l-glutamine 1%

และ penicillin-streptomycin ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะมาตรฐาน (คาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 เซลเซียสและมีความชื้นสัมพัทธ์ 95%) และทำการ subculture ทุก 3-4 วัน (ความหนาแน่น 70%)

3.3 ศึกษาการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับการแสดงออกของ P-glycoprotein

ศึกษาในส่วนของผลที่มีต่อการแสดงออกโปรตีนด้วย Flow cytometry ในการศึกษานี้เริ่มจากเพาะเลี้ยงเซลล์ Caco-2 จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากันที่ความหนาแน่น $1.3x10^4$ cells/cm^2 ในสภาวะมาตรฐาน (คาร์บอนไดออกไซด์ 5% อุณหภูมิ 37 °C และมีความชื้นสัมพัทธ์ 95%) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นเติมสารทดสอบและเพาะเลี้ยงต่ออีก 7 วัน ในวันที่ 3 และ 7 หลังการเติมสารทดสอบนำเซลล์เพาะเลี้ยงดังกล่าวมาทดสอบการแสดงออกของ P-glycoprotein ด้วย antibody ที่เชื่อมต่อกับสารเรืองแสงแล้วทำการวัดการเรืองแสงด้วย Flow cytometry ในการศึกษานี้ใช้ doxorubicin ซึ่งเป็นตัวเหนี่ยวนำการแสดงออกของโปรตีน P-gp เป็น positive control มีขั้นตอนการทำการทดลองดังนี้

- เมื่อครบกำหนดการทดสอบ จะทำการล้างเซลล์เพาะเลี้ยงด้วย PBS 2 ครั้ง
- ทำให้เซลล์หลุดออกจากพื้นผิวและแยกเป็นเซลล์เดี่ยวโดยวิธี trypsinization ด้วยสารละลาย trypsin-EDTA (200 µl) อุณหภูมิ 37°C จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย 2% FBS-PBS (800 µl)
- ปั่นแยกเซลล์ที่อุณหภูมิ 4°C ด้วยความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 4 นาที เก็บชั้นที่มีเซลล์อยู่
- เติม PBS เย็น (100 µl) ลงในส่วนของเซลล์ ผสมให้เข้ากัน แล้วเติม P-gp antibody conjugated with fluorescein isothiocyanate (FITC) (20 µl) แล้วบ่มของผสมดังกล่าวนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C
- เมื่อครบกำหนดเวลา เติมสารละลาย 2% FBS-PBS (900 µl) ผสมให้เข้ากันก่อนที่จะนำไปปั่นแยกเซลล์ที่อุณหภูมิ 4°C ด้วยความเร็วรอบ 5,000 rpm เป็นเวลา 4 นาที
- เติมสารละลาย 1% paraformaldehyde -PBS (500 µl) แล้วนำไปวัดการเรืองแสงด้วยเครื่อง flow cytometer (BD FACSCalibur, BD Biosciences, USA) ที่ 488/535 nm

ผลการศึกษา

การศึกษานี้แบ่งเป็น 3 ส่วนประกอบด้วย

(1) การทดสอบแบบจำลองเซลล์เพาะเลี้ยงเพื่อยืนยันการแสดงออกของ P-glycoprotein ในสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ใช้ตลอดการศึกษา และแสดงให้เห็นว่าสามารถวัดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนได้

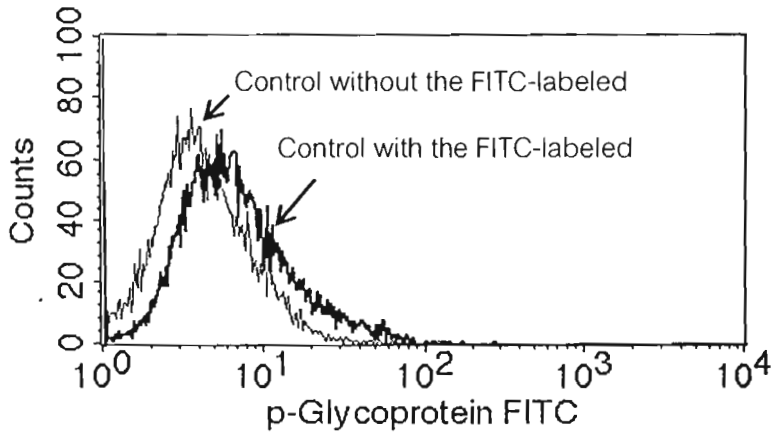
(2) การคัดกรองความเข้มข้นของสารสมุนไพรที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง

(3) การทดสอบผลของสารสกัดสมุนไพรที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein

การศึกษาที่ 1. การศึกษาการแสดงออกของ P-glycoprotein ในแบบจำลอง Caco-2 cells

1.1 การแสดงออกของโปรตีนในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 cells อายุ 21 วัน

การทดลองแสดงให้เห็นความแตกต่างในการเรืองแสงของเซลล์ที่ใช้ FITC-labeled P-gp antibody เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ไม่ได้บ่มกับ antibody

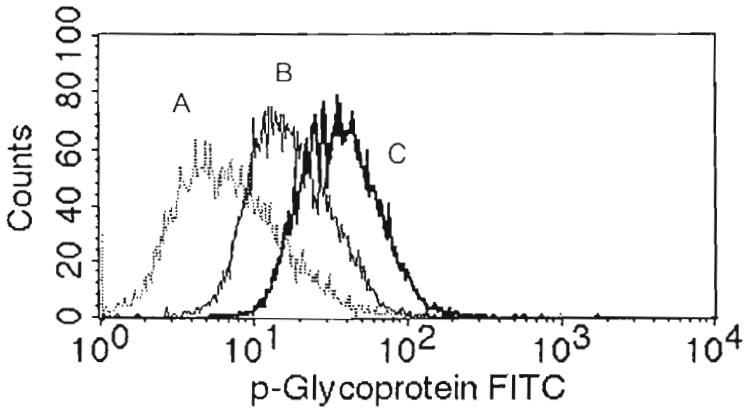


ภาพที่ 1. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 21 วัน โดยวัดการเรืองแสง (fluorescence intensity) เปรียบเทียบระหว่างเซลล์ที่บ่มด้วย FITC-labeled P-gp antibody กับเซลล์ที่ไม่ได้บ่มด้วย FITC-labeled antibody

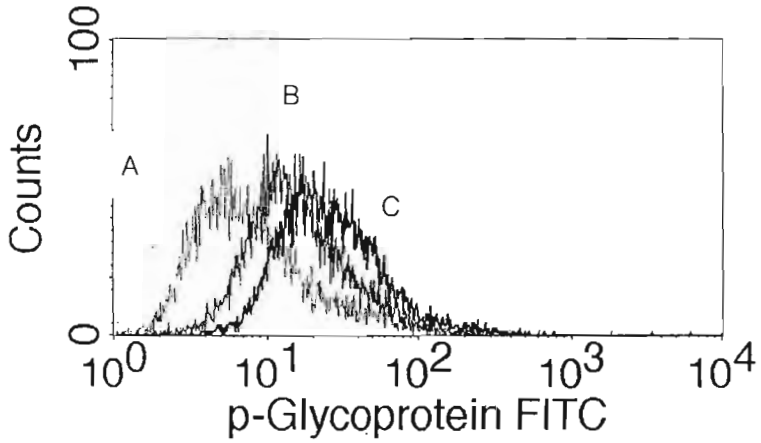
1.2 การแสดงออกของโปรตีนในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 cells ที่ได้รับ doxorubicin

ในการศึกษานี้ได้ใช้ doxorubicin (positive inducer) ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโปรตีน P-gp เพิ่มขึ้น เพื่อยืนยันความสามารถในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกของโปรตีนด้วย flow cytometry ได้ ซึ่งหลังจากให้ doxorubicin แก่เซลล์เพาะเลี้ยงอายุ 14 วัน เป็นเวลา 1, 3 และ 7 วัน พบว่า เซลล์เพาะเลี้ยงมีการแสดงออกของ โปรตีน P-gp เพิ่มขึ้น โดยปริมาณที่เพิ่มขึ้นจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ doxorubicin ที่ให้แก่เซลล์เพาะเลี้ยงและระยะเวลาที่ให้ (ดังภาพที่ 2-5) ความเข้มข้นและเวลาในการได้รับ doxorubicin ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณโปรตีน P-gp ที่แสดงออกที่ผิวเซลล์เพิ่มขึ้น (ดังภาพที่ 6)

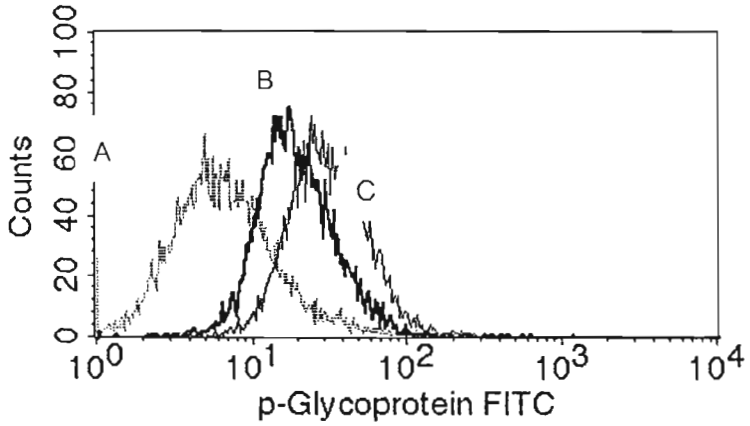
อนึ่งความเข้มข้นของ doxorubicin ที่ใช้นั้นจะต้องไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ไม่ทำให้เซลล์หลุดร่อนหรือเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphology) จากการทดสอบความเป็นพิษเบื้องต้นโดย MTT assay และการสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์ พบว่าความเข้มข้นของ doxorubicin ที่ 1 -10 μM ไม่เป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง เมื่อให้เป็นเวลา 1 วัน แต่เมื่อระยะเวลาการสารแก่เซลล์เป็น 7 วัน doxorubicin ที่ความเข้มข้น 10 μM ทำให้เซลล์ตาย ดังนั้นในการศึกษาที่เวลา 7 วัน จึงให้ doxorubicin ที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ 3 μM เท่านั้น



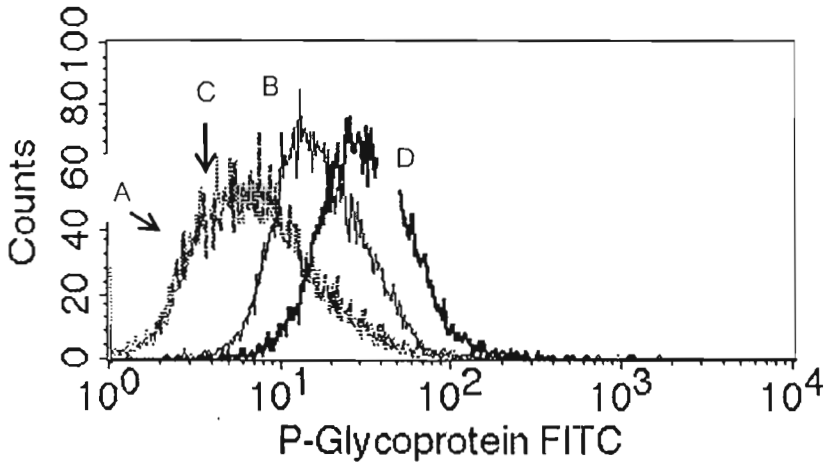
ภาพที่ 2. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 1 วัน ความเข้มข้นของ doxorubicin ที่ใช้ได้แก่ A) 0 μM (กลุ่มควบคุม), B) 3 μM, และ C) 10 μM



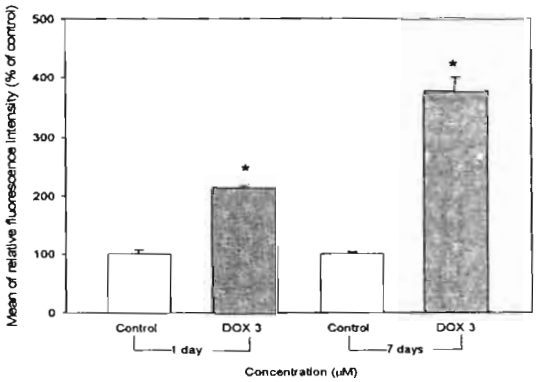
ภาพที่ 3. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 3 วัน ความเข้มข้นของ doxorubicin ที่ใช้ได้แก่ A) 0 μM (กลุ่มควบคุม), B) 3 μM, และ C) 10 μM



ภาพที่ 4. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 7 วัน ความเข้มข้นของ doxorubicin ที่ใช้ได้แก่ A) 0 μM (กลุ่มควบคุม), B) 1 μM, และ C) 3 μM



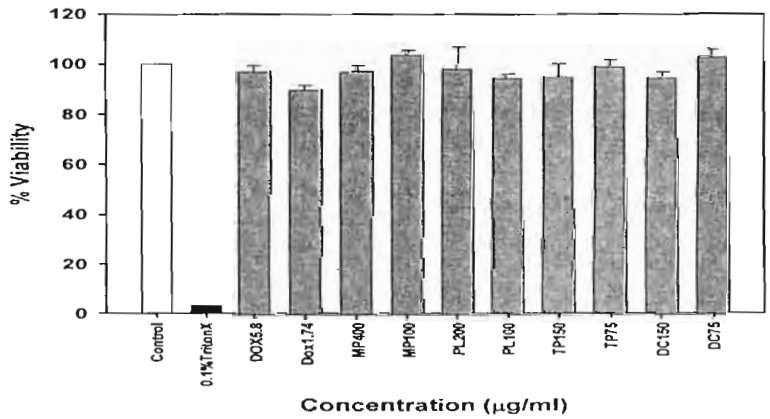
ภาพที่ 5. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับ doxorubicin เป็นเวลา 1 และ 7 วัน ดังนี้ A) 0 μM 1 วัน (กลุ่มควบคุม), B) 3 μM 1 วัน และ C) 0 μM 1 วัน (กลุ่มควบคุม), D) 3 μM 7 วัน



ภาพที่ 6. ผลของ doxorubicin (DOX) ที่มีต่อการแสดงออกของ P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 เมื่อได้รับสาร 1 และ 7 วัน ข้อมูลแสดงเป็นร้อยละของปริมาณโปรตีนที่ได้จากกลุ่มควบคุมที่อายุเท่ากัน (กลุ่มที่ไม่ได้รับสาร) โดยข้อมูลนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3-6). * $P < 0.05$ *vs* กลุ่มควบคุม

การศึกษาที่ 2. การคัดกรองความเข้มข้นของสารสมุนไพรที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง

สารสมุนไพรที่จะนำมาศึกษาผลต่อการทำงานของ P- glycoprotein ในเซลล์ Caco-2 นั้นจะต้องไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นจึงต้องทำการคัดกรองเบื้องต้นโดยใช้ MTT assay ซึ่งผลการศึกษาพบว่า สารทดสอบทุกตัวในความเข้มข้นสูงสุดที่ละลายได้ ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ เมื่อให้เป็นเวลา 3 วัน (ภาพที่ 7) ในการศึกษานี้ใช้ 0.1% TritonX 100 เป็น positive control



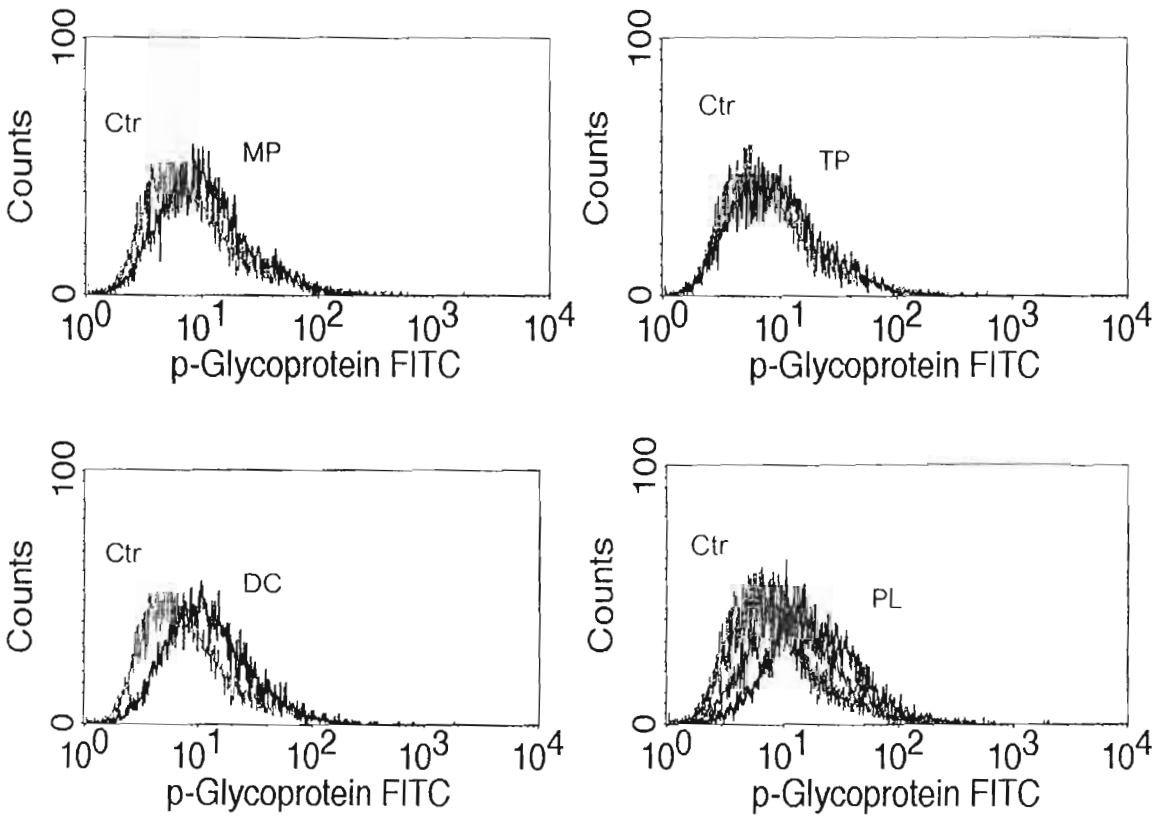
ภาพที่ 7. ผลของสารต่อการอยู่รอดของเซลล์ Caco2 เมื่อให้สารเป็นเวลานาน 3 วัน ที่ความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาการแสดงออกของ P-gp

หมายเหตุ (1) Dox = doxorubicin; MP = พลองใบรี; PL=ลำป้าง; TP=โพทะเล; DC=เขลง

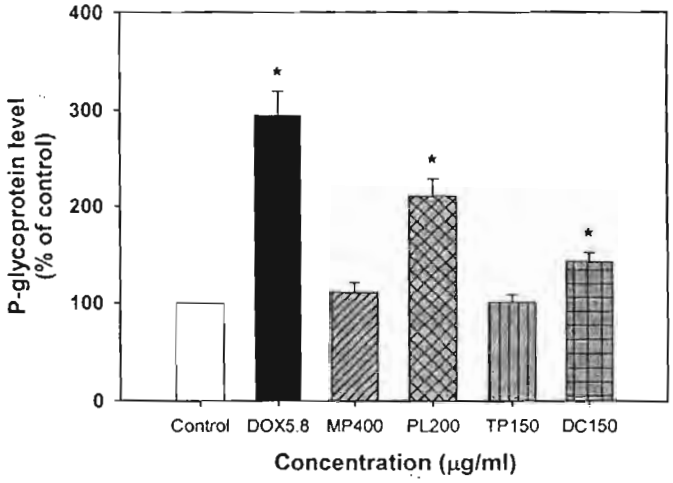
(2) ตัวเลข ระบุความเข้มข้น หน่วยเป็นไมโครกรัม/มิลลิลิตร เช่น DOX 5.8 หมายถึง doxorubicin ความเข้มข้น 5.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

การศึกษาที่ 3. การทดสอบสารสกัดที่มีการแสดงออกของ P-glycoprotein ในแบบจำลอง Caco-2 cells

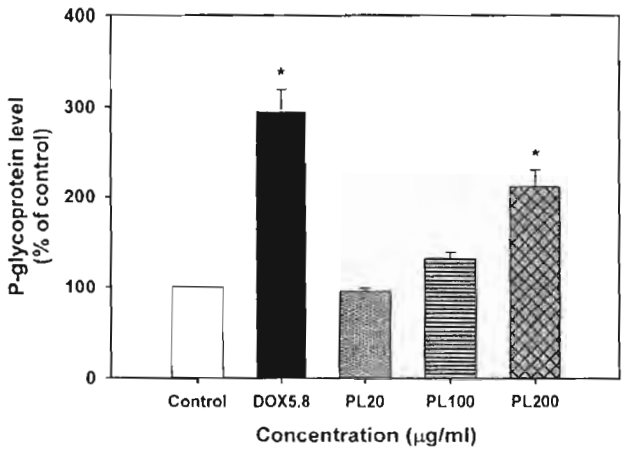
เมื่อทำการบ่มสารสกัดสมุนไพรต่างๆที่ความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถนำมาทดสอบได้กับเซลล์ Caco2 เป็นเวลา 3 วัน พบว่าพลองใบรีและโพทะเลไม่มีผลต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein (ภาพที่ 8, 9) ในขณะที่ลำป้าง (200 µg/ml) และเขลง (150 µg/ml) สามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของ P-glycoprotein ได้ 2.10 และ 1.42 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (ภาพที่ 8, 9) ทั้งนี้ยังพบว่าผลของลำป้างในการเพิ่มปริมาณโปรตีน P-gp ที่ผิวเซลล์แปรผันตามความเข้มข้นอีกด้วย (ภาพที่ 8, 10)



ภาพที่ 8. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเป็นเวลา 3 วัน ดังนี้ Ctr 0 µg/ml (กลุ่มควบคุม); MP (พลองใบรี) 400 µg/ml; TP (โพทะเล) 150 µg/ml; DC (เขลง) 150 µg/ml; PL (ลำป้าง) 20, 100 และ 200 µg/ml



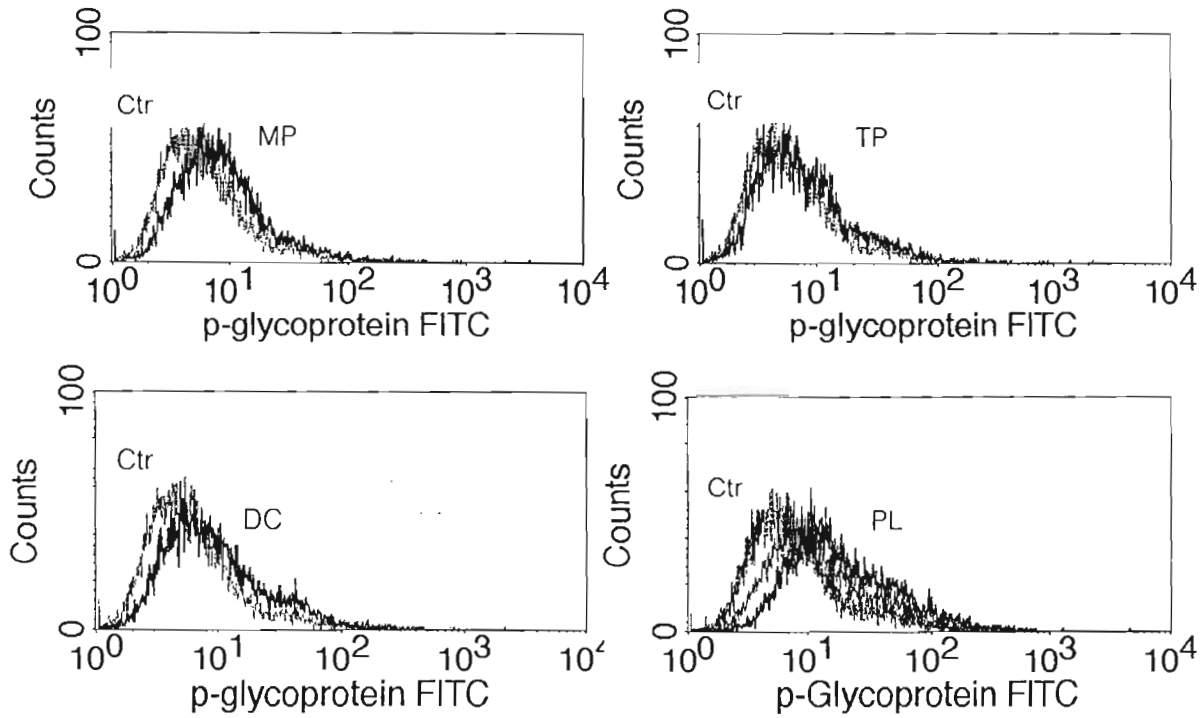
ภาพที่ 9 ผลของพลองใบรี (MP) 400 µg/ml, ลำป้าง (PL) 200 µg/ml, โพทะเล (TP) 150 µg/ml และเขลง (DC) 150 µg/ml ต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein โดยบ่มสารกับเซลล์ Caco2 เป็นเวลา 3 วัน *$p < 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control)



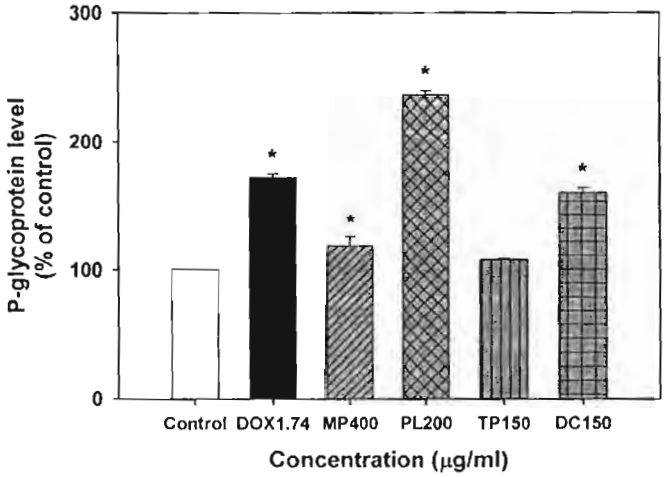
ภาพที่ 10 ผลของลำป้าง (PL) ที่ความเข้มข้น 20, 100 และ 200 µg/ml ที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein โดยบ่มสารกับเซลล์ Caco2 เป็นเวลา 3 วัน *$p < 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control)

จากนั้นได้เพิ่มระยะเวลาในการบ่มสารสกัดสมุนไพรกับเซลล์จากเดิม 3 วันเป็น 7 วัน ผลการศึกษาพบว่าโพทะเล (ที่ความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถนำมาทดสอบได้) ยังคงไม่มีผลต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein (ภาพที่ 11, 12) ในขณะที่พลองใบรี (400 µg/ml) ลำป้าง (200 µg/ml) และเขลง (150

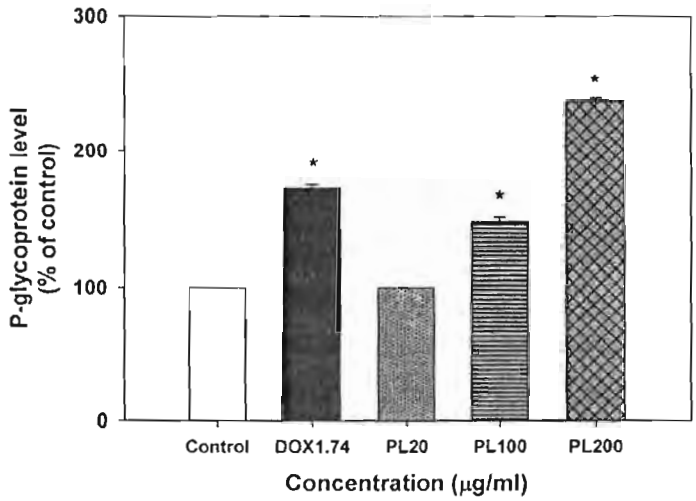
µg/ml) สามารถเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของ P-glycoprotein ได้ 1.18, 2.36 และ 1.60 เท่า ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 11, 12) ทั้งนี้ความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดลองและไม่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าลำป้างสามารถเหนี่ยวนำการแสดงออกของ P-glycoprotein ในลักษณะที่แปรผันตามความเข้มข้นเช่นเดียวกับผลที่พบเมื่อทำการบ่มเป็นระยะเวลา 3 วัน (ภาพที่ 11, 13) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่แสดงออกจากการได้รับลำป้าง (200 µg/ml) นาน 3 และ 7 วัน พบว่าไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 14)



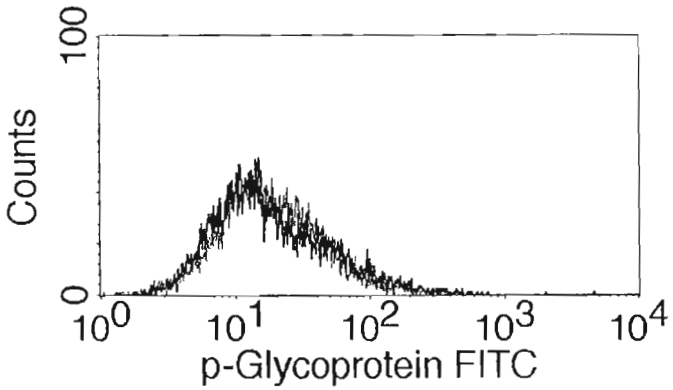
ภาพที่ 11. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 อายุ 14 วัน ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรเป็นเวลา 7 วัน ดังนี้ Ctr 0 µg/ml (กลุ่มควบคุม); MP (พลองใบรี) 400 µg/ml; TP (โพทะเล) 150 µg/ml; DC (เขลง) 150 µg/ml; PL (ลำป้าง) 20, 100 และ 200 µg/ml



ภาพที่ 12 ผลของพลองใบรี (MP) 400 μg/ml, ลำป้าง (PL) 200 μg/ml, โพทะเล (TP) 150 μg/ml และเขลง (DC) 150 μg/ml ที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein ที่ผิวเซลล์ Caco2 หลังจากได้รับสารเป็นเวลา 7 วัน *p < 0.05 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control) ในการศึกษานี้ใช้ doxorubicin (DOX) 1.74 μg/ml เป็น positive control



ภาพที่ 13 ผลของลำป้าง (PL) ที่ความเข้มข้น 20, 100 และ 200 μg/ml ที่มีต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein โดยบ่มสารกับเซลล์ Caco2 เป็นเวลา 7 วัน *$p < 0.05$* เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (control)



ภาพที่ 14. Flow cytometric analysis ของการแสดงออกโปรตีน P-gp ในเซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 ที่ได้รับลำป้าง (PL) ที่ความเข้มข้น 200 µg/ml เป็นเวลา 3 และ 7 วัน

สรุปและวิจารณ์ผล

ปัญหาอันตรกิริยาระหว่างยาเกิดขึ้นได้จากการใช้ยาหรือพืชสมุนไพรหลายชนิดร่วมกัน โดยที่ยาหรือสมุนไพรตัวใดตัวหนึ่งมีผลทำให้การออกฤทธิ์หรือความเป็นพิษของยาอีกตัวเปลี่ยนแปลงไป การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาส่วนหนึ่งเกิดจากการรบกวนการทำงานของตัวขนส่งยาเช่น P-glycoprotein ซึ่งในการศึกษานี้ได้มุ่งเน้นการศึกษาผลของสารสกัดพืช 4 ชนิดได้แก่ พลองใบรี ลำป้าง เขลง และ โพทะเล ต่อการแสดงออกของ P-glycoprotein ทั้งนี้พืชทั้ง 4 ชนิดถูกคัดเลือกมาเพื่อศึกษาเนื่องจากได้มีข้อมูลเบื้องเกี่ยวกับคุณสมบัติของพืชเหล่านี้ในการยับยั้ง α-glucosidase ทำให้อาจมีประโยชน์ในการพัฒนาต่อเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานต่อไป

การศึกษาได้เลือกใช้แบบจำลองเซลล์เพาะเลี้ยง Caco2 อายุ 21 วัน ซึ่งเป็นแบบจำลองมาตรฐานที่ได้รับความนิยมในการทดสอบการแพร่ผ่านยาและการขนส่งยาโดย P-glycoprotein (Artursson et al., 2001; Wahlang et al., 2009). เนื่องจากเซลล์ชนิดดังกล่าวเป็น epithelial human colon adenocarcinoma cell line ซึ่งเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมจะเปลี่ยนแปลงเป็น enterocyte และมีการแสดงออกของตัวขนส่งยาชนิดต่างๆ รวมถึง P-glycoprotein อีกด้วย ซึ่งปริมาณของ P-glycoprotein ที่แสดงออกนั้นอาจเปลี่ยนแปลงขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น อายุของเซลล์ passage number สภาวะการเลี้ยง รวมถึงการได้รับสารบางชนิดเช่น doxorubicin หรือ grapefruit juice เป็นต้น ซึ่งในการศึกษานี้ได้ใช้ doxorubicin เป็นตัวเปรียบเทียบในการเพิ่มปริมาณการแสดงออกของ P-glycoprotein โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี doxorubicin ที่ความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์ นานเป็นเวลา 1, 3 และ 7วัน ทั้งนี้ผลที่แสดงเป็นไปตามที่คาดการณ์ไว้ นั่นคือ doxorubicin เหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโปรตีนมากขึ้น และระดับโปรตีนที่เพิ่มขึ้นจากการได้รับ doxorubicin แปรผันตามความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่ได้รับสาร (Silva et al., 2011; Wongwanakul et al., 2013)

ผลการศึกษาสารสกัดพืช 4 ชนิด พบว่าสารสกัดพลองใบรี และโพทะเล ที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ ไม่มีผลเหนี่ยวนำการแสดงออกของ P- glycoprotein แต่อย่างใด แม้ว่าจะให้สารดังกล่าวแก่เซลล์นาน 7 วันก็ตาม ในขณะที่ลำป้างและเขลงสามารถเพิ่มปริมาณการแสดงออกของ P-glycoprotein ได้ประมาณ 2 เท่า เมื่อเซลล์ได้รับสารดังกล่าวนาน 3 วัน ทั้งนี้ผลของสารสกัดจากลำป้างต่อปริมาณโปรตีนที่แสดงออกมากกว่าสารที่ได้จากเขลง จึงทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยลดความเข้มข้นของสารสกัดจากลำป้างที่ให้แก่เซลล์ลง พบว่าปริมาณของ P- glycoprotein ที่แสดงออกที่ผิวเซลล์ก็ลดลงด้วยเช่นกัน อย่างไรก็ตามการเพิ่มระยะเวลาของเซลล์ที่ได้รับสารสกัดจากลำป้างและเขลงจาก 3 วัน เป็น 7 วัน ไม่มีผลทำให้ระดับโปรตีนเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด

แม้ว่าสารสกัดพืชมีสารสำคัญหลายชนิดและไม่อาจคำนวณหรือทราบถึงความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ได้อย่างแน่นอน อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ได้ชี้ให้เห็นว่าการนำสารสกัดจากลำป้างหรือเขลงมาใช้อาจทำให้เกิดปัญหาอันตรกริยาระหว่างยาจากคุณสมบัติในการเพิ่มการแสดงออกของ P- glycoprotein ทำให้การดูดซึมยาที่เป็น P-gp substrate ลดลงได้ แต่ทั้งนี้ยังคงต้องศึกษาผลกระทบในด้านดังกล่าวต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. (1987). Expression of a multidrug - resistance gene in human tumors and tissues. Proc Natl Acad Sci USA 84: 265-269.
- Foster BC, Foster MS, Vandenhoek S, Krantis A, Budzinski JW, Arnason JT, Gallicano KD, Choudri S. (2001). An in vitro evaluation of human cytochrome P450 3A4 and P-glycoprotein inhibition by garlic. J Pharm Pharmceutic Sci 4(2):176-184.
- Fromm MF. Importance of P-glycoprotein for drug disposition in humans. (2003). Eur J Clin Invest 33: 6-9.
- Fromm MF. Importance of P-glycoprotein at blood - tissue barriers. (2004). Trends Pharmacol Sci 25: 423-429.
- Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. (2002). Multidrug resistance in cancer: Role of ATP - dependent transporters. Nat Rev Cancer 2: 48-58 .
- Konishi T, Satsu H, Hatsugai Y, Aizawa K, Inakuma T, Nagata S. (2004). A bitter melon extract inhibits the P-glycoprotein activity in intestinal Caco - 2 cells: Monoglyceride as an active compound. Biofactors 22: 71-74 .

- Leite DFP, Kassuya CAL, Mazzuco TL, Silvestre A, De MLV, Rehder VLG, Rumjanek VM, Calixto JB. (2006). The cytotoxic effect and the Multidrug Resistance Reversing Action of Lignans from Phyllanthus amarus. Planta Med 72: 1353-1358.
- Leslie EM, Deeley RG, Cole SP. (2005). Multidrug resistance proteins: Role of P - glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. Toxicol Appl Pharmacol 204: 216-237.
- Riley RJ, Grime, K. (2004). Metabolic screening in vitro: metabolic stability, CYP inhibition and induction. Drug Discov Today 1(4):365-372.
- Rodrigues AD. (1994). Use of in vitro human metabolism studies in drug development. Biochem Pharmacol. 48(12):2147-2156.
- Silva R, Carmo R, Dinis-Oliveira, Cordeiro-da-Silva A, Lima SC, Carvalho F, Bastos MDL, Remiao F. (2011). In vitro study of P-glycoprotein induction as an antidotal pathway to prevent cytotoxicity in Caco-2 cells. Arch. Toxicol. 85 315-326
- Thuerauf N, Fromm MF. (2006). The role of the transporter P - glycoprotein for disposition and effects of centrally acting drugs and for the pathogenesis of CNS diseases. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 256: 281-286.
- Varma, MV, Ashokraj Y, Dey CS, Panchagnula R (2003). P-glycoprotein inhibitors and their screening: a perspective from bioavailability enhancement. Pharmacol Res 48:347-359.
- Wongwanakul R, Vardhanabhuti N, Siripong P, Jianmongkol S. (2013). Effects of Rhinacanthin-C on Function and Expression of Drug Efflux Transporters in Caco-2 Cells. Fitoterapia 89: 80-85.

ประวัติคณะวิจัย

1. นางสาว สุรีย์ เจียรณ์มงคล

ชื่อ (ภาษาไทย) .....นางสาว สุรีย์ เจียรณ์มงคล.....ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

ชื่อ (ภาษาอังกฤษ) Miss Suree Jianmongkol

ภาควิชา ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา คณะ/สถาบัน .....คณะเภสัชศาสตร์.....

โทรศัพท์ ....02 2188318..... โทรสาร ...02 2188324..... E-mail sureejmk@yahoo.com.....

ที่อยู่ปัจจุบัน .....ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพ 10330 โทรศัพท์ .0851153921.

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ พ.ศ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ภบ.	เภสัชศาสตร์	2529
The University of Michigan, Ann Arbor	M.S.	Toxicology	2536
The University of Michigan, Ann Arbor	Ph.D.	Toxicology	2541

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่พิมพ์)

- N Sukhaphirom, N Vardhanabhuti, H Chirdchupunseree, P Pramyothin, S Jianmongkol (2012). Phyllanthin and Hypophyllanthin Inhibit Function of P- gp But not MRP2 in Caco-2 Cells. J of Pharmacy and Pharmacology (manuscript Accepted).
- R Wongwanakul, N Vardhanabhuti, S Jianmongkol (2012). Effects of Rhinacanthin-N on Efflux Drug Transporters in the Caco-2 cells. Thai J. of Pharmacology (manuscript accepted).
- A Suk-aim, N Piyapolrungroj, S Jianmongkol (2012). Inhibitory Effects of Nomilin on the Cytochrome P450 3A4 Activity. Thai J. of Pharmacology (manuscript accepted).
- S Chuenkitiyanon, N Vardhanabhuti, S Jianmongkol (2012). A potential benefit of quercetin in preserving tight junction intregrity. Journal of Epithelial Biology and Pharmacology 5, (Suppl 1-M4): 28-31 (Review).
- M Inchoo, H Chirdchupunseree, P Pramyothin, and S Jianmongkol (2011). Endothelium-independent Effects of Phyllanthin and Hypophyllanthin on Vascular Tension. Fitoterapia 82: 1231-1236.
- S Chuenkitiyanon, T Pengsuparp, and S Jianmongkol (2010). Protective Effect Of Quercetin on Hydrogen Peroxide-Induced Tight Junction Disruption. Int J Toxicol (First published on May 5, 2010, doi:10.1177/1091581810366487)

I 26794731

- N Chaothanaphat, P Dhumma-upakorn, and S Jianmongkol (2010). In Vitro Modulating Effects of Glutathione on Vascular Tension and Involvement of Extracellular Calcium. Drug Discoveries & Therapeutics 4(1): 19-25
- A. Laorpaksa, S Jianmongkol, and W Pothiwong (2008). Antimicrobial Activity of Endophytic Bacteria Isolated from Thai Medicinal Plant. Thai J Pharm Sci 32, 21-32
- W Pothiwong, A Laorpaksa, N Pilarat, S Sirisawadi, J Intarapanya, and S Jianmongkol (2007). Autoxidation of Brain Homogenates from Various Animals as Measured by Thiobarbituric Acid Assay. J Pharmacological and Toxicological Methods. J Pharm Tox Methods 56(3):336-8.
- G J Jenkins, S Jianmongkol, M Nakatsuka, E R Lowe, M Lau, and Y Osawa (2006). Tetrahydrobiopterin Protects Against Guanabenz-Mediated Inhibition of Neuronal NO Synthase in Vitro and in Vivo. Drug Metab Dispos. 34(9): 1448-56
- A J Lee, K R Noon, S Jianmongkol, M Lau, G J Jenkins, and Y Osawa (2005) Metabolism of aminoguanidine, diaminoguanidine, and NG-amino-L-arginine by neuronal NO-synthase and covalent alteration of the heme prosthetic group. Chem. Res. Toxicol. 18, 1927-1933.
- S Charoensomprasong, P Dhumma-upakorn, C Patarapanich, and S Jianmongkol (2004). Effects of new synthetic acyl aniline and acyl aminopyridine derivatives on calcium entry in rat vas deferens. Thai J Pharmacol. 26 (2), 95-103.
- A Khayungarnnawee, P Dhumma-upakorn, C Patarapanich, and S Jianmongkol (2004). Effects of new synthetic acyl aniline and acyl aminopyridine derivatives on contractility of rat aorta. Thai J Pharm Sci. 28 (1-2), 73-82.
- S Jianmongkol, and A Khayungarnnawee (2003). Gene therapy: new options for hypertensive treatment. (Review) Thai J Pharmacol. 25 (3), 219-231.
- P Puechprom, P Dhumma-upakorn, C Patarapanich, and S Jianmongkol (2003). Functional screening for the effects of new acyl aniline and acyl aminopyridine derivatives on calcium entry in rat aortic smooth muscle. Thai J. Pharm. Sci. 26(3-4), 85-95.
- JL Vuletich, ER Lowe, S Jianmongkol, Y Kamada, UM Kent, AT Bender, DR Demady, PF Hollenberg, Y Osawa. (2002). Alteration of the heme prosthetic group of neuronal nitric-oxide synthase during inactivation by N(G)-amino-L-arginine in vitro and in vivo. Mol. Pharmacol. 62(1), 110-8.
- DR Demady, S Jianmongkol, JL Vuletich, AT Bender, and Y Osawa (2001). Agmatine enhances the NADPH oxidase activity of neuronal nitric oxide synthase and leads to oxidative inactivation of the enzyme. Mol. Pharmacol. 59, 1-6
- S Jianmongkol, JL Vuletich, AT Bender, DR Demady, and Y Osawa (2000). Aminoguanidine- mediated inactivation and alteration of neuronal nitric oxide synthase. J. Biological Chemistry 275, 13370-13376.

- S Noguchi, S Jianmongkol, Y Kamada, , DR Demady, and Y Osawa (2000). Guanabenz-mediated inactivation and enhanced proteolytic degradation of neuronal nitric oxide synthase. J. Biological Chemistry 275, 2376-2380.
- S Jianmongkol, BR Marable, CE Berkman, CM Thompson, and RJ Richardson (1999). Kinetic evidence for different mechanisms of acetylcholinesterase inhibition by 1S and 1R isomalathion. Toxicology and Applied Pharmacology 155, 43-53.
- S Jianmongkol, CE Berkman, CM Thompson, and RJ Richardson (1996). Relative potencies of the four stereoisomers of isomalathion for inhibition of hen brain acetylcholinesterase and neurotoxic esterase. Toxicology and Applied Pharmacology 139, 342-348.

2. นางสาว นนทิมา วรรธนะภูติ

ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาว นนทิมา วรรธนะภูติ ตำแหน่งทางวิชาการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์
ชื่อ (ภาษาอังกฤษ) Ms. Nontima Vardhanabhuti
ภาควิชา วิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม คณะ/สถาบัน คณะเภสัชศาสตร์
โทรศัพท์ 02-218-8397 โทรสาร .... 02-218-8401..... E-mail nontima.v@chula.ac.th
ที่อยู่ปัจจุบัน ภาควิชา วิทยาการเภสัชกรรมและเภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ ถนนพญาไท กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 02-2188397

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ พ.ศ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ภ.บ. (เกียรตินิยม อันดับหนึ่ง)	เภสัชศาสตร์	2524
มหาวิทยาลัยมหิดล	วท.ม.	เภสัชศาสตร์	2526
University of Michigan (Ann Arbor)	M.S.	Pharmaceutics	2536
University of Michigan (Ann Arbor)	Ph.D.	Pharmaceutics	2538

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ (ระบุแหล่งพิมพ์และปีที่พิมพ์)

- Paupermpoonsiri, V. Lipipun, and N. Vardhanabhuti. Synergistic effect of phospholipids-based liposomes and propylthiouracil on U-937 cell growth. Journal of Liposome Research Vol. 15 (No. 3&4): 1-13, 2005.
- นนทิมา วรรธนะภูติ อุษณา พัวเพิ่มพูลศิริ รัตนา รัตนตรัยภพ และ วิมลมาศ ลิปิพันธ์. "การใช้ลิโพโซมเพื่อนำส่งยาเข้าสู่เซลล์ล์: กรณีศึกษาผลของโพรพิลไธโอยูเรซิลที่บรรจุอยู่ในลิโพโซมต่อการเจริญของเซลล์ล์เพาะเลี้ยง ชนิด BALB/c 3T3 fibroblast และ U-937 histiocyte". เอกสารประกอบการนำเสนอบทความวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทยสู่เศรษฐกิจยุคโมเลกุล ในการประชุมประจำปี สวทช. 2548 วันที่ 28-30 มีนาคม 2548 ณ ศูนย์ประชุมอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (Oral presentation)
- Chetaratanont, P., Suwakul, W., and Vardhanabhuti, N. "EFFECTS OF FORMULATION FACTORS ON VESICLE FORMATION AND DRUG ENTRAPMENT OF MINOXIDIL NIOSOMES". Pharmaceutical Sciences World Congress: The Global Translation of Science into Drug Development in Advancing Therapy. Kyoto, Japan, May 30–June 3, 2004. (Poster presentation)
- Pengsuparp, T., Hutamekalin, P., Eam-ngamsom, W., Suttisri, R., Vardhanabhuti, N., Ongpipattanakul, B., Unchern, S., and Meksuriyen, D. CNS activity of Thai herbal

extracts using radioligand receptor binding assays. (P2E-III-003) Pharmaceutical Sciences World Congress: The Global Translation of Science into Drug Development in Advancing Therapy. Kyoto, Japan, May 30 – June 3, 2004. (Poster presentation)

- Rattanptraiphop, R., Lipipun, V., and Vardhanabhuti, N. 2001 Effects of formulation factors on propylthiouracil encapsulation in phospholipids-based liposomal systems. Thai J. Pharm. Sci. Vol. 25 (supplement), p. 13. (Abstract/Poster presentation)
- นนทิมา วรรธนะภูติ รายงานผลการวิจัย เรื่อง การศึกษาความเป็นไปได้และการประเมินการใช้ลิควิดคริสตัลในการนำส่งตัวยาทางผิวหนัง คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มิถุนายน 2542 (หัวหน้าโครงการวิจัย)
- Ongpipattanakul, B., and Vardhanabhuti, N. 1998. The preparation of amphotericin B-lipid admixtures for intravenous administration. Thailand-Tropical Diseases Research Programme (T2), National Science and Technology Development Agency (Research report). (ผู้ร่วมวิจัย)
- Vardhanabhuti, N., Ramachandran, C., Schacht, J., and Weiner, N. 1997. Preparation of liposomes with asymmetric distribution of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate across the bilayer. J. Liposome Res. 7:301-314. (ผู้วิจัยหลัก)
- Niyompattamah, O., Vardhanabhuti, N., and Nimmannit, U. 1997. Effect of ion interaction on entrapment of lactic acid in liposomes. 11th International Symposium on Microencapsulation, August 27-29, Bangkok, Thailand. (ผู้ร่วมวิจัย)
- Nimmannit, U., Vardhanabhuti, N., and Niyompattamah, O. 1997. Liposomal encapsulation of lactic acid: Factors affecting lactic acid entrapment. Proceedings of the 16th Pharmaceutical Technology Conference, April 15-17, Athens, Greece. (ผู้ร่วมวิจัย)