

การประเมินผลของส่วนประกอบของลิโปโซมต่อการนำส่งสารที่ชอบน้ำ
และสารที่เป็นสัปสเตรทของพี-ไกลโคโปรตีน



นางสาวอารยา ลักขณาวรรณกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชกรรม ภาควิชาเภสัชกรรม

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-3311-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EVALUATION OF LIPOSOMAL COMPOSITION ON DELIVERY OF
HYDROPHILIC SUBSTANCES AND P-GLYCOPROTEIN SUBSTRATES**

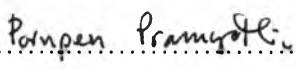
Miss Araya Lukanawonakul

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmaceutics
Department of Pharmacy
Faculty of Pharmaceutical Sciences
Chulalongkorn University
Academic Year 2005
ISBN 974-14-3311-5**


481853

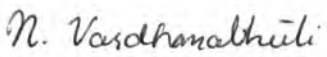
Thesis Title Evaluation of Liposomal Composition on Delivery of Hydrophilic Substances and P-glycoprotein Substrates
By Miss Araya Lukanawonakul
Field of study Pharmaceutics
Thesis Advisor Nontima Vardhanabhuti, Ph.D.
Thesis Co-advisor Associate Professor Thitima Pengsuparp, Ph.D.

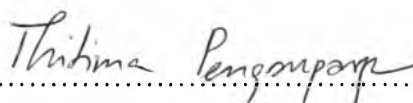
Accepted by the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree


 Dean of the Faculty of
Pharmaceutical Sciences
(Associate Professor Pornpen Pramyothin, Ph.D.)

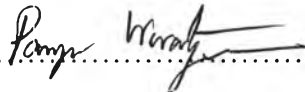
THESIS COMMITTEE

 Chairman
(Associate Professor Suchada Chutimaworapan, Ph.D.)

 Thesis Advisor
(Nontima Vardhanabhuti, Ph.D.)

 Thesis Co-advisor
(Associate Professor Thitima Pengsuparp, Ph.D.)

 Member
(Assistant Professor Wacharee Limpanasithikul, Ph.D.)

 Member
(Pornpen Werawatganone, Ph.D.)

อารยา ลักษณะวรรณกุล: การประเมินผลของส่วนประกอบของลิโปโซมต่อการนำส่งสารที่
ชอบน้ำและสารที่เป็นสับสเตรทของพี-ไกลโคโปรตีน. (EVALUATION OF LIPOSOMAL
COMPOSITION ON DELIVERY OF HYDROPHILIC SUBSTANCES AND
P-GLYCOPROTEIN SUBSTRATES) อ. ที่ปรึกษา: อ. ดร. นนทิมา วรธนะภูติ, อ. ที่ปรึกษา
ร่วม: รศ. ดร. ธิตินา เฟิงสุภาพ, 125 หน้า ISBN 974-14-3311-5

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของส่วนประกอบของลิโปโซมในการเพิ่มการนำส่งของสารที่ละลาย
น้ำได้ดีและสารที่เป็นสับสเตรทของพี-ไกลโคโปรตีนเข้าสู่เซลล์และผ่านเซลล์ของเนื้อเยื่อผิว โดยทำการตรวจสอบเพื่อ
ยืนยันว่าเซลล์คาโค-2 ซึ่งเรียงตัวเป็นชั้นเดียวที่ใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษามีการเรียงตัวที่สมบูรณ์ และมีการแสดงออก
ของ พี-ไกลโคโปรตีนที่เหมาะสม การศึกษานี้ใช้แคลซินและโรดามิน 123 เป็นตัวแทนของสารที่ละลายน้ำได้ดีและสารที่
เป็นสับสเตรทของพี-ไกลโคโปรตีนตามลำดับ ลิโปโซมซึ่งบรรจุแคลซินและโรดามิน 123 ที่ใช้ในการศึกษาเตรียมขึ้นด้วย
วิธีฟิล์มไฮเดรชันและนำมาลดขนาดด้วยการกอดผ่านเมมเบรนที่มาจากโพลีคาร์บอนเนตซึ่งมีขนาดของช่องเปิดเท่ากับ 100
นาโนเมตร ผู้วิจัยได้ศึกษาการนำส่งสารเข้าสู่เซลล์และการขนส่งสารผ่านเซลล์ของสารที่ใช้เป็นตัวแทนทั้งสองชนิด โดย
เปรียบเทียบในลิโปโซมที่มีประจุแตกต่างกันและสารละลาย นอกจากนี้ได้ใช้ผลของอุณหภูมิและเทคนิคโพลีไอโซเทอร์ม
เพื่อศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกในการนำส่งลิโปโซมเข้าสู่เซลล์ จากผลทดลองพบว่าเซลล์คาโค-2 ที่เพาะเลี้ยงขึ้นมีการเรียงตัวที่
แน่นและมีการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการศึกษา ลิโปโซมทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษา
สามารถเพิ่มการนำส่งแคลซินเข้าสู่เซลล์คาโค-2 ได้ โดยลิโปโซมที่มีประจุบวก (ซึ่งประกอบด้วยฟอสฟาติดีลโคลีน/
สเตอรอลเอมีน/โคเลสเตอรอล) และลิโปโซมที่ไม่มีประจุ (ซึ่งประกอบด้วยฟอสฟาติดีลโคลีน/โคเลสเตอรอล) สามารถ
นำส่งสารเข้าสู่เซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าลิโปโซมที่มีประจุลบ (ซึ่งประกอบด้วยฟอสฟาติดีลโคลีน/ไดเซทิล
ฟอสเฟต/โคเลสเตอรอล) โดยกลไกในการนำลิโปโซมเข้าสู่เซลล์สอดคล้องกับกระบวนการเอนโดไซโทซิส แม้ว่า
ลิโปโซมจะสามารถเพิ่มการนำส่งแคลซินเข้าสู่เซลล์ได้ แต่พบว่ากระบวนการนำสารออกจากเซลล์ไม่มีประสิทธิภาพเพียง
พอที่จะเพิ่มการขนส่งสารซึ่งละลายน้ำได้ดีผ่านเซลล์ คาโค-2 ที่เรียงตัวเป็นชั้นเดียวได้ สำหรับในกรณีของโรดามิน 123
พบว่า ลิโปโซมที่ไม่มีประจุสามารถเพิ่มการนำส่ง โรดามิน 123 ซึ่งเป็นสับสเตรทของพี-ไกลโคโปรตีนและละลายใน
ไขมันได้ดีเข้าสู่เซลล์ได้ และยังเพิ่มการขนส่งสารนี้ผ่านเซลล์คาโค-2 ที่เรียงตัวเป็นชั้นเดียวอีกด้วย ส่วนการนำส่งโรดามิน
123 เข้าสู่เซลล์ของลิโปโซมที่มีประจุบวกและลิโปโซมที่มีประจุลบกลับลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการศึกษา
โดยรวมชี้ให้เห็นว่าลิโปโซมมีประโยชน์ในการช่วยให้สารที่ละลายน้ำได้ดีและสารที่เป็นสับสเตรทของพี-ไกลโคโปรตีน
ผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น และช่วยเพิ่มการขนส่งสารที่เป็นสับสเตรทของ พี-ไกลโคโปรตีนผ่านเซลล์คาโค-2 ที่เรียงตัวเป็น
ชั้นเดียว คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของลิโปโซม เช่น ประจุที่ผิวและสารที่บรรจุอยู่ในลิโปโซม มีผลต่อประสิทธิภาพ
ในการนำสารเข้าสู่เซลล์ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเซลล์ชนิดอื่นและควรรักษาถึงปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับ
สูตรตำรับ เช่น ชนิดของฟอสโฟลิพิดและสารเสริมที่ใช้ในตำรับ เพื่อเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับ อันตรกิริยาระหว่างลิโปโซม
กับเซลล์ในการพัฒนาสูตรตำรับที่เหมาะสมสำหรับเพิ่มการนำส่งของสารเหล่านี้ต่อไป

ภาควิชา.....เภสัชกรรม.....

สาขาวิชา.....เภสัชกรรม.....

ปีการศึกษา..... 2548.....

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##4676609533 MAJOR; PHARMACY

KEYWORD: LIPOSOMES/ DELIVERY/ HYDROPHILIC/ P-GLYCOPROTEIN

ARAYA LUKANAWONAKUL: EVALUATION OF LIPOSOMAL COMPOSITION ON DELIVERY OF HYDROPHILIC SUBSTANCES AND P-GLYCOPROTEIN SUBSTRATES. THESIS ADVISOR: NONTIMA VARDHANABHUTI, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. THITIMA PENGSUPARP, Ph.D. 125 pp. ISBN 974-14-3311-5

The aim of this study was to evaluate the effects of liposome compositions on the delivery of hydrophilic substances and P-glycoprotein (P-gp) substrates into and through epithelial cells. As the study tool, Caco-2 monolayers were validated for the integrity of the monolayer and the expression of functional P-gp. Calcein and rhodamine 123 were used as model molecules for hydrophilic substances and P-gp substrates, respectively. Calcein and rhodamine 123 containing liposomes were prepared by film hydration method followed by extrusion through 100 nm polycarbonate membranes. Uptake and transport of the model molecules were compared among liposomes with different surface charges and solution. The effect of temperature and flow cytometry were used to deduce further the mechanism of cellular uptake of liposomes. The results show that Caco-2 monolayers cultivated in this study were tight and expressed functional P-gp, which were appropriate for the purposes of the study. All liposome types could enhance uptake of calcein into Caco-2 cells. Positively charged (phosphatidylcholine/stearylamine/cholesterol) and neutral (phosphatidylcholine/cholesterol) liposomes were taken up by Caco-2 cells more efficiently than negatively charged (phosphatidylcholine/dicetylphosphate/cholesterol) liposomes. The mechanism of liposome uptake was consistent with endocytosis. Although, liposomes could increase the uptake of calcein into Caco-2 cells, transcytosis did not occur efficiently enough to enhance transport of the hydrophilic molecule across Caco-2 monolayers. For rhodamine 123, neutral liposomes could both increase the cellular uptake and facilitate the transport of the hydrophobic P-gp substrate across Caco-2 monolayers. On the other hand, the cellular uptake of both negatively and positively charged liposomes decreased from that of the control. Overall results indicate that liposomes should be useful in enhancing cellular uptake of both hydrophilic substances and P-gp substrates and in facilitating transport of P-gp substrates across Caco-2 monolayers. Physicochemical properties of liposomes such as surface charge as well as the properties of the substances contained in liposomes affected the efficiency of cellular uptake by Caco-2 cells. However, other cell types as well as other formulation factors, such as type of phospholipid and other additives, should be further explored to gain more insights in liposome-cell interaction in order to develop proper formulations to enhance delivery of such substances.

Department.....Pharmacy.....

Field of study.....Pharmacy.....

Academic year.....2005.....

Student's signature.....*A. Lukanawonakul*.....

Advisor's signature.....*N. Vardhanabhuti*.....

Co-advisor's signature.....*T. Pengsuparp*.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my sincere appreciation and gratitude to my advisor, Dr. Nontima Vardhanabhuti, for her guidance, kindness, encouragement, and understanding throughout this study.

I would also like to thank Associate Professor Thitima Pengsuparp, Ph.D., my co-advisor, for her guidance, support, and kindness.

I would also like to thank the thesis committee for their valuable suggestions and helpful discussion.

I am indebted to the Department of Pharmacology for providing research space and equipment for cell culture. The gift of Caco-2 cells from Assistant Professor Surachai Unchern, Ph.D., the director of “Development of herbal extract for treatment of CNS stimulant addicts” research project, Chulalongkorn University, is also deeply appreciated.

I am deeply thankful to Associate Professor Waraporn Suwakul for her advice in statistics, to Miss. Piyanuch Wonganan for helpful training in cell culture technique, and to Mr. Noppadol Sa-Ard-Iam for his assistance in flow cytometry study.

My appreciation goes to all my friends in the Department of Pharmacy and Pharmacology and other persons whose names have not been mentioned for their friendship and valuable help.

Above all, I would like to express my deepest gratitude to my parents for their unconditional encouragement, care, love, and support given to me throughout the years.

Special thanks are extended to the support and grants from the Department of Pharmacy, the Faculty of Pharmaceutical Sciences, the Graduate School, Chulalongkorn University, and the Cancer Center, Udonthani. Also, I would like to thank all the faculty members in the Department of Pharmacy for their support and encouragement.

CONTENTS

ABSTRACT [THAI].....	iv
ABSTRACT [ENGLISH].....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	ix
LIST OF FIGURES.....	xii
LIST OF ABBREVIATIONS.....	xv
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II LITERATURE REVIEW.....	7
Cell membrane.....	7
Passage of drug across cell membranes.....	8
P-glycoprotein.....	13
Liposomes.....	16
Interaction between liposomes and cells.....	17
Factor influencing the uptake of liposomes into cell.....	19
Cell culture models.....	21
Caco-2.....	24
Uptake studies.....	26
Transport studies.....	27
III MATERIALS AND METHODS.....	29
Materials.....	29
Equipment.....	30
Methods.....	32
Selection of medium for cell growth.....	32
Maintenance of Caco-2 cells.....	33
Characterization of Caco-2 monolayers.....	33
Effect of liposomes on accumulation of calcein in Caco-2 cells...	38

Effect of liposomes on transport of calcein across Caco-2 monolayers.....	42
Effect of liposomes on efflux of rhodamine 123.....	43
Effect of liposomes on transport of rhodamine 123 across Caco-2 monolayers.....	46
Statistical analysis.....	46
IV RESULTS AND DISCUSSION.....	47
Selection of medium for cell growth.....	47
Characterization of Caco-2 monolayers.....	49
Effect of liposomes on accumulation of calcein in Caco-2 cells....	58
Effect of liposomes on transport of calcein across Caco-2 monolayers.....	65
Effect of liposomes on efflux of rhodamine 123.....	67
Effect of liposomes on transport of rhodamine 123 across Caco-2 monolayers.....	72
V CONCLUSIONS.....	74
REFERENCES.....	76
APPENDICES.....	86
VITA.....	125

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
1. P-glycoprotein substrates.....	14
2. Examples of studies on drug delivery systems using Caco-2 cells as a model.....	25
3. Compositions of the three media tested.....	33
4. Population doubling times (PDT) and costs of DMEM with 10% FBS and Advanced DMEM with 2% and 4% FBS medium compositions.....	49
5. Apparent fluxes and permeability coefficients of theophylline across Caco-2 monolayers in the absorptive and secretory directions.....	52
6. Apparent fluxes and permeability coefficients of propranolol transport across Caco-2 monolayers in the absorptive and secretory directions.....	54
7. Apparent fluxes and permeability coefficients of rhodamine 123 transport across Caco-2 monolayers in the absorptive and secretory directions.....	56
8. Apparent permeability coefficients of rhodamine 123 and the efflux activity of P-glycoprotein in absorptive and secretory directions across Caco-2 monolayers in the absence and in the presence of verapamil.....	57
9. Cell-associated calcein as a function of time after seeding and calcein concentration.....	59
10. Ratios of calcein uptake of calcein-loaded neutral liposomes to calcein solution.....	59
11. Total cell-associated calcein from calcein solution and calcein-loaded liposomes measured after cells were digested with 1% Triton X 100.....	64
12. Apparent fluxes and permeability coefficients of calcein in the absorptive direction from calcein solution and calcein-loaded neutral liposomes across Caco-2 monolayers.....	67
13. Accumulation of calcein from calcein solution and calcein-loaded neutral liposomes in Caco-2 cells during transport study.....	67

TABLE	PAGE
14. Cell-associated rhodamine 123 from rhodamine 123 solution, rhodamine123-loaded liposomes, and blank liposomes with rhodamine 123 solution in the presence and in the absence of 100 μ M verapamil.....	69
15. Cell-associated rhodamine 123 from rhodamine 123 solution, rhodamine 123-loaded neutral (PC/CH), positively charged (PC/SA/CH) and negatively charged (PC/DCP/CH) liposomes.....	72
16. Apparent fluxes and permeability coefficients in the absorptive direction of rhodamine 123 from rhodamine 123 solution and rhodamine123-loaded neutral liposomes across Caco-2 monolayers.....	73
17. Statistical analysis of theophylline permeability across Caco-2 monolayers...	104
18. Statistical analysis of propranolol permeability across Caco-2 monolayers....	105
19. Statistical analysis of rhodamine 123 permeability with/without verapamil across Caco-2 monolayers.....	106
20. Statistical analysis of interaction of time after seeding and calcein concentration on accumulation of calcein solution in Caco-2 cells.....	108
21. Statistical analysis of interaction of time after seeding and calcein concentration on accumulation of calcein-loaded liposomes in Caco-2 cells...	110
22. Statistical analysis of concentration dependence of calcein uptake by Caco-2 cells.....	112
23. Statistical analysis of effect of temperature on calcein uptake.....	114
24. Statistical analysis of effect of liposomal composition on calcein uptake by Caco-2 cells.....	116
25. Statistical analysis effect of liposomes on transport of calcein across Caco-2 monolayers.....	118
26. Statistical analysis of effect of liposomes on accumulation of calcein in Caco-2 cells (after transport study).....	119
27. Statistical analysis of effect of liposomes and phospholipids with/without verapamil on accumulation of rhodamine 123 in Caco-2 cells.....	120

TABLE	PAGE
28. Statistical analysis of effect of liposomal composition on rhodamine 123 uptake by Caco-2 cells.....	122
29. Statistical analysis of effect of liposomes on transport of rhodamine 123 across Caco-2 monolayers.....	124

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
1. Structure of cell membrane.....	7
2. Passage of drugs across cell membranes.....	10
3. Diagrams of intracellular transport of vesicles in enterocytes.....	12
4. Schematic model of P-glycoprotein. The transmembrane segments, adenosine triphosphate-binding sequences, and location of carbohydrate chains (ξ) are indicated. NBD: nucleotide-binding domain; MSD: membrane-spanning domain.....	14
5. Hydrophobic vacuum-cleaner model of P-glycoprotein functioning.....	15
6. Flippase model of P-glycoprotein functioning.....	15
7. Contact-mediated transfer mechanisms (a) Intermembrane transfer (b) Contact release.....	17
8. Liposome binding to cells with and without uptake (a) Adsorption (b) Fusion.....	18
9. Semilog plot of cell concentration versus time from subculture, showing the lag phase, the exponential phase, and a plateau, and indicating times at which subculture and feeding should be performed.....	24
10. Growth curves of Caco-2 cells cultivated in three media.....	48
11. TEER values of Caco-2 monolayers as a function of time.....	51
12. Absorptive (A-to-B, \blacklozenge) and secretory (B-to-A, \blacksquare) transepithelial transport profiles of theophylline across Caco-2 monolayers.....	52
13. Absorptive (A-to-B, \blacklozenge) and secretory (B-to-A, \blacksquare) transepithelial transport profiles of propranolol across Caco-2 monolayers.....	54
14. Absorptive (A-to-B, \blacklozenge) and secretory (B-to-A, \blacksquare) transepithelial transport profiles of rhodamine 123 across Caco-2 monolayers.....	55
15. Absorptive and secretory permeability coefficients of rhodamine 123 across Caco-2 monolayers in the absence and in the presence of verapamil..	57

FIGURE	PAGE
16. Secretory transepithelial transport profile of rhodamine 123 in the presence of 100 μ M verapamil.....	58
17. The intracellular accumulation of calcein from calcein solution and from calcein-loaded liposomes.....	60
18. The intracellular accumulation of calcein in Caco-2 cells incubated with calcein solution and calcein-loaded liposomes (equivalent to 80 μ M) at 37 °C and 4 °C.....	61
19. Cell-associated fluorescence intensities measured by flow cytometric method. (A) calcein solution and (B) calcein-loaded liposomes. FSC = forward angle light scatter, SSC = side-angle light scatter, and FL1 = fluorescent channel 1 for green fluorochrome, fluorescein isothiocyanate ...	63
20. Cell-associated calcein from calcein solution, calcein-loaded neutral (PC/CH), cationic (PC/SA/CH), and anionic (PC/DCP/CH) liposomes.....	65
21. Absorptive transepithelial transport profiles of calcein from calcein solution and calcein-loaded neutral liposomes across Caco-2 monolayers.....	66
22. Cell-associated rhodamine 123 from different formulations: (1) rhodamine 123 solution, (2) rhodamine 123-loaded liposomes, (3) blank liposomes + rhodamine 123 solution and (4) blank liposomes + rhodamine 123 solution, pretreated with blank liposomes.....	68
23. Results of flow cytometry of Caco-2 cells incubated with (A) rhodamine 123 solution and (B) rhodamine 123-loaded neutral liposome. FSC = forward angle light scatter, SSC = side-angle light scatter and FL1 = fluorescent channel green fluorochrome, fluorescein isothiocyanate.....	70
24. Physical appearances of (1) rhodamine 123-loaded neutral liposomes, (2) rhodamine 123-loaded positively charged liposomes, and (3) rhodamine 123-loaded negatively charged liposomes.....	71

FIGURE	PAGE
25. Cell-associated rhodamine 123 from rhodamine 123 solution, rhodamine 123-loaded neutral (PC/CH), positively charged (PC/SA/CH) and negatively charged (PC/DCP/CH) liposomes.....	71
26. Transepithelial transport profiles of rhodamine 123 from solution and rhodamine 123-loaded neutral liposomes across Caco-2 monolayers.....	73
27. A representation of calibration curve of phenol red in basolateral buffer.....	99
28. A representation of calibration curve of theophylline in apical buffer.....	99
29. A representation of calibration curve of theophylline in basolateral buffer...	100
30. A representation of calibration curve of propranolol in apical buffer.....	100
31. A representation of calibration curve of propranolol in basolateral buffer.....	101
32. A representation of calibration curve of rhodamine 123 in apical buffer.....	101
33. A representation of calibration curve of rhodamine 123 in basolateral.....	102
34. A representation of calibration curve of calcein in 1% TritonX-100.....	102
35. A representation of calibration curve of calcein in basolateral buffer.....	103
36. A representation of calibration curve of rhodamine 123 in 1% Triton-X.....	103

LIST OF ABBREVIATIONS

A549	=	human Caucasian lung carcinoma
AKR/J SL2	=	AKR/J mice T-lymphoma
ANOVA	=	analysis of variance
BHK21	=	hamster fibroblast
Caco-2	=	human colon adenocarcinoma
CH	=	cholesterol
CL18	=	C3H mouse myeloma
COS-7	=	African green monkey kidney fibroblast
CV1	=	African green monkey kidney cell line
CYP	=	cytochrome P450
DCP	=	dicetylphosphate
DODPC	=	di-2,4-octadecadiene phosphatidylcholine
DOTAP	=	1,2-dioleoyl-3-trimethylammoniumpropane
DMEM	=	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	=	dimethyl sulphoxide
DPPC	=	dipalmitoyl phosphatidylcholine
DPPE	=	dipalmitoyl phosphatidylethanolamine
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
FBS	=	fetal bovine serum
FL1	=	light scatter angle
FSC	=	forward angle light scatter
Hep-2	=	human Caucasian larynx carcinoma
HeLa	=	human ovarian carcinoma cell line
HEPES	=	N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid])
IEC-18	=	rat epithelial cell line

J774	=	murine macrophage cell line
L292	=	mouse murine fibroblast cell line
LUV	=	large unilamellar vesicles
MDBK	=	Madin-Darby bovine kidney cell line
MDCK	=	Madin-Darby canine kidney cell line
MDR1	=	multidrug resistance protein, P-glycoprotein
MES	=	2-[N-morpholino]ethanesulfonic acid
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
MLV	=	multilamellar vesicles
mM	=	millimolar
mmol	=	millimole
MRC-5	=	human diploid fibroblast cell line
MRP1-7	=	multidrug resistance-associated protein
MSD	=	membrane-spanning domain
MW	=	molecular weight
NBD	=	nucleotide-binding domain
NEAA	=	non essential amino acid
nm	=	nanometer
nmol	=	nanomole
PA	=	phosphatidic acid
P_{app}	=	apparent permeability coefficient
$P_{app, AB}$	=	apparent permeability coefficient, apical to basolateral
$P_{app, BA}$	=	apparent permeability coefficient, basolateral to apical
P-gp	=	P-glycoprotein
PBS	=	phosphate buffered saline
PC	=	phosphatidylcholine
PEG	=	polyethylene glycol
PDT	=	population doubling time

PG	=	phosphatidylglycerol
PS	=	phosphatidylserine
SA	=	stearylamine
SEM	=	standard error of means
SSC	=	side-angle light scatter
SUV	=	small unilamellar vesicles
TEER	=	transepithelial electrical resistance
μg	=	microgram
μm	=	micrometer
μM	=	micromolar
μmol	=	micromole
Vero	=	African green monkey kidney cell line
WI-38	=	human lung fibroblast cell line