J. of The Korean Oil Chemists' Soc.,
Vol. 25, No. 2. June, 2008. 137~143

*In vitro*에서 시스테인에 대한 흰쥐의 경피 흡수

오은하 · 국원근 · 정덕채†

노동부 산업안전국 산업보건환경과
†시립인천대학교 자연과학대학 화학과
(2008년 2월 11일 접수 ; 2008년 6월 3일 채택)

In vitro, Percutaneous absorption for Rat about cysteine

Eun-Ha, Oh · Won-Kwen, Kuk · Duck-Chae, Jung†

Department of Industrial Health & Environment, Industrial Safety & Health Bureau, Ministry of Labor, Gawcheon, 427-718, Korea
†*Department of chemistry, University of Incheon, Incheon, 402-749, Korea*
(Received February 11, 2008 ; Accepted June 3, 2008)

ABSTRACT : Chemicals for cosmetics, including skin, the skin absorbs some of the research in the field of science or pharmacy recently, about the environment and the health of the heightened interest in skin absorption, and many other human attributes and absorption evaluation studies are underway in various areas. In this study, The effects of commercial permanent wave products to skin which are composed with cysteine and bases using rat. Results are as follows; the content of penetration 4 hours later with steady state and no significant changeable after 20 hours later. In cysteine groups lag time and permeability coefficient of young skin is 3.32hr and 0.102 ㎍/㎠ · hr, lag time and permeability coefficient of old skin is 4.04hr and 0.106 ㎍/㎠ · hr. In conclusion of study lag time and permeability coefficient in old skin and wounded skin are faster than healthy skin. We notified that fine rinkle and rash of skin were changeable in the case of treating with permanent wave drugs than normal skin.

Keywords : Percutaneous absorption, L-cystein, lag time, permeability coefficient

1. 서 론

우리 인간이 살아가는 동안 접촉하는 화학물질은 다양하며 다양한 신체기관과 접촉한다. 그 중에서 모발은 남성 및 여성의 특징을 나타내는 중요한 역할도 하며 더위 및 추위로부터 두부를 보호할 뿐만 아니라 인체에 필요하지 않은 수은, 비소 및 아연 등의 중금속을 흡수하여 체외로 배출하는 기능 등을 가지고 있다[1,2]. 모발의 주성분인 케라틴의 폴리펩타이드형의 단백질이 여러 개의 측쇄 결합으로 연결된 그물구조를 이루고 있다[3,4]. 이중 시스테인(cystine)이라는 아미노산을 많이 함유하고 있으며 시스테인의 화학식은 $HOOC-CH(NH_2)-CH_2-S-S-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ 이다. 모발은 많은 단백

†주저자 (e-mail : dcjung@incheon.ac.kr)

질의 결합인 케라틴 구조로 이루어져 있는데 각 단백질은 이웃하고 있는 시스테인간의 이황화 결합으로 연결되어 있다. 건강한 모발의 pH는 5.0 전후의 약산성으로, pH 4.5~6.5 정도는 모발에 손상을 일으키지 않으나, pH가 강산이나 강알칼리성이 되면 모발은 심하게 팽윤 및 연화되어 모발 손상을 초래한다. 모발 웨이브를 형성하는데 중요한 것은 여러 개의 측쇄 결합 중 가장 견고한 이황화 결합이다. 이 결합은 환원제에 의하여 절단되어 시스테인으로 되며 산화제에 의하여 다시 새로운 이황화 결합을 생성한다. 퍼머 약제의 종류에는 pH를 낮게 하고 티오글리콜산(thioglycolic acid)의 양을 많게 하는 종류와 pH를 높이고 티오글리콜산을 적게 하는 종류가 있으며 웨이브의 강약 조절은 티오글리콜산과 알칼리제에 의하여 가능하다[5,6]. 이러한 다양한 퍼머 약제에 의하여 아름다움을 추구할 수 있는 모발이지만, 모발의 바탕이 되는 피부는 고등생물의 몸체를 둘러싸고 있는 다기능 막 구조로 인체에서 가장 큰 조직 중 하나이다.

피부를 투과하는 성분은 어떤 경로인지에 관계없이 수동 확산에 의해 일어난다. 따라서 기본적으로 적용한 기제 중 유효성분의 농도와 피부 중에서의 성분 농도의 차이가 흡수의 구동력이 된다. 수용성 성분은 친수성 영역을 통과하기 때문에 그 투과속도는 기제 중의 유효성분 농도에 비례하고, 지용성 성분은 주로 친유성 영역을 통과하기 때문에 그 투과속도는 기제중의 농도와 기제/피부간 성분의 분배계수에 비례한다[7]. 투과현상은 농도 구배와 이동속도의 관계를 나타내는 Fick의 제1식[(1)]으로 표현된다.

$$\frac{J}{A} = -D\frac{\partial C}{\partial X} \qquad (1)$$

A : 투과면적, cm^2,
C : 농도, g/ml,
D : 확산계수, cm^2/hr,
J : 투과속도, cm/hr,
t : 시간, hr,
x : 투과거리 (막의 두께) h, cm

피부투과는 대부분 정상상태에서의 투과속도로 정해진다. 피부가 barrier막이고, 식(1)에서 $(\partial C/\partial X)$가 X에 관계없이 일정하고 피부표면의 투과물의 농도가 0이라고 가정하면, 피부라는 막에서의 투과물의 농도는 실제 측정이 불가능하므로 공여체와 수용체의 농도와 분배계수의 곱으로부터 구한다. 투과물이 분배계수 K에 따라 피부에 분배되고 수용체에서 항상 sink condition이 유지되고 있다고 하면 수용체 층으로의 누적 투과량 Q는 다음의 (2)식으로 나타내진다.

$$Q = AKLC_v\left[\frac{D}{L^2}t - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2}\sum_{n=1}^{\infty}\frac{(-1)^n}{n^2}\exp\left(-\frac{Dn^2\pi^2t}{L^2}\right)\right] \qquad (2)$$

이 식으로부터 비선형 최소자승법을 이용하여 누적 투과량-시간곡선을 해석하여 K와 D를 구할 수 있다. 정상상태의 기울기가 투과속도 J이며 이 직선을 시간축에 외삽했을 때의 교점이 lag-time [LT]에 해당하므로 J와 LT는 그래프로부터 구할 수도 있다. 식(2)에서 t→∞(정상상태)가 되면

$$Q = AKLC_v\left[\frac{D}{L^2}t - \frac{1}{6}\right] \qquad (3)$$

식(3)으로부터 정상상태의 투과속도 J, lag-time LT, 투과계수 K_p는

$$J = AKC_vD/L = A(K_p)C_v \qquad (4)$$

$$LT = \frac{L^2}{6}D \qquad (5)$$

$$K_p = K\frac{D}{L} \qquad (6)$$

따라서 피부 barrier의 두께 L을 안다면 lag-time으로부터 D를 구하고 D와 K_p로부터 K를 구할 수 있다.

화학물질에 대한 피부흡수 연구는 일부의 화장품을 포함한 피부과학이나 약학 분야에서 최근에는 환경과 보건에 관한 관심이 고조되면서 피부흡수, 인체특성 및 흡수량 평가 등의 여러 분야에서 다양한 연구가 진행되고 있다. 특히 화학물질의 체내 흡수량 중에서 피부흡수 경로를 통한 연구도 상당부분을 차지하고 있음이 강조되고 있다. Wieczorek 등[8]은 인간의 화학물질 폭로시험에서 피부로부터의 흡수량과 호흡기로부터의 흡수량을 폐에서의 유기용제 섭

취율과 폐에서의 환기속도 그리고 경피흡수 계수 및 폭로되는 피부 면적 등으로부터 연구한 결과 피부로부터 흡수율은 전체 흡수량의 0.7~5.0%에 해당한다고 했으며 Tsuruta 등[9,10]은 nude mouse를 이용하여 유기용제에 따른 경피 흡수 실험에서 경피 흡수량과 호흡기로부터의 흡수량은 종류에 따라 차이는 있으나, 경피 흡수량이 전체 흡수량의 5~11%를 차지한다고 보고하였다. 여러 학자와 의사들은 일부 퍼머제의 모발 적용과 그에 따른 부작용 즉 두피, 안면 그리고 목과 손등의 피부장애나 산전·산후 및 병후의 사람은 가급적 사용을 피하라고 주의를 주고 있다[1]. 그러나 퍼머약 사용에 따른 경피흡수 특성과 흡수량의 연구에 대한 자세한 보고는 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 시스테인을 주성분으로 하는 모발 웨이브용 제품을 흰쥐를 이용하여 *in vitro*에서 경피 흡수를 측정하였고, 모발 웨이브 제품의 피부에 미치는 영향에 관하여 연구하였다.

2. 실험방법

2.1 재료 및 군 분리

실험에 이용한 약제로는 모발 웨이브용 퍼머약으로 이용되는 L-시스테인 및 그 염산염을 사용하였으며 *in vitro* 실험에서 대체 혈장용액은 인산염 완충용액으로서 Merck사의 phosphate buffered saline을 이용하여 pH 7.4로 제조하였다. 또한 동물실험은 (주)대한바이오링크에서 4주령 된 체중 100~150g의 특정병원체 부재(Specific Pathogen Free, SPF) 암컷과 수컷 SD(Sprague-Dawley)계 흰쥐를 분양받아 온도 23±3℃, 습도 50±5%, 환기 10~15회/일 및 12시간 주기 명암 교대의 환경 하에서 일주일간의 적응기간이 지난 5주령의 건강한 동물을 사용하여 폴리카보네이트 사육상자당 3마리씩 군 분리를 하여 실험하였으며 사용한 깔짚은 펄프재질을 사용하였다. 동물 사료와 음용수 섭취는 배합사료와 1차 정수된 정수기 물을 음용수로 사용하였다. 또한 실험에 사용한 동물은 평균 체중에 대한 차이를 최소화하여 군 분리를 시행[10]하여 실험하였으며 건강한 피부인 대조군(young skin) 15마리, 12주령 이상의 늙은 피부군(old skin) 15마리와 등 쪽 피부에 인위적인 상처를 유발시킨 상처군(wound skin) 15마리 등으로 구분하여 실험하였으며 이를 Table 1에 나타내었다. 상용 퍼머넌트 웨이브 약제의 피부투과실험에 측정된 흰쥐의 피부는 sigma plat(SPSS Inc., ver. 9.0)을 이용하여 확산 속도식[7]을 이용하여 측정하여 물질별 및 군별 산술평균과 표준편차를 구하고, 시험물질의 시간별 투과량으로 부터 피부투과속도를 그 기울기 값으로부터 산출하였다.

Table 1. Grouping of Rats for Skin Permeation Experiments

Group	Number of Rats
Young Skin	15
Old Skin	15
Wound Skin	15

2.2 분석 방법

흰쥐의 피부를 이용한 시스테인의 *in vitro*에서 경피투과 실험을 Simadzu사의 자외선분광기(UV-1811)을 사용하여 분광 광도법으로 200~400nm에서 최대 흡수 파장에서의 농도를 측정하였다. 또한 시스테인이 흰쥐 피부에 대한 영향을 확인하기 위하여 피부미세 주름 측정기(Optical Measurement Coding Analysation, GF Messtechnik)을 이용하여 흰쥐 피부의 홍반과 미세 주름을 측정하였다.

2.3 시스테인의 최대 흡수 파장 측정 및 검량선 작성

실험에 사용한 시스테인의 농도는 완충용액인 PBS에 용해하여 항온조(37±0.5℃)에서 교반시키고 이 용액을 자외선분광기를 이용하여 각 약물의 최대 흡수 파장(λ_{max})에서 흡광도를 측정하였다. 실험에서의 검량선은 각 약물의 일정량을 정밀히 측정한 후 PBS에 용해시키고, 50, 75, 100, 125, 150, 200 및 250mg/ℓ의 농도로 희석하여 각 시스테인의 최대 흡수 파장에서 흡광도 값을 측정하여 투과된 약물의 농도를 계산하였다. 또한 각 시스테인의 가수분해 반응을 측정하기 위하여, 퍼머약의 농도를 10^{-1}~10^{-5}M까지 변화시켜 항온조에서 교반시켜 자외선분광기를 이용하여 측정하였다.

2.4 흰쥐 경피 흡수

2.4.1 I*n vitro*에서의 경피 흡수 실험

흰쥐에 대한 경피 흡수 실험은 Franz 확산 셀 형태의 수평막 셀을 사용하여 실험을 하였다. *In vitro*에서의 피부 투과 실험을 위해 막으로서 흰쥐의 피부를 적출하여 사용하였다. 흰쥐의 피부 적출은 고압 증기 멸균 처리한 수술도구를 사용하였으며, 포르말린을 사용하여 질식시킨 후, 수술용 칼로 표피를 1.5×1.5 cm로 피부를 적출하여, 피하지방과 혈관 등을 상하지 않게 조심스럽게 제거하였다. 적출한 흰쥐의 피부를 수평막 셀의 중앙에 고정시킨 후 투과 실험을 실시하였다. 투과 셀의 상층부에는 약제 30 ㎖를 적하 하고, 하층부에는 대체 혈장 용액인 PBS를 넣고, 혈류속도를 110 rpm으로 고정하고 교반기를 사용하여 막 주위의 농도분극이나 boundary resistance를 제거하면서 37±0.5℃로 유지된 항온조에서 실험하였다. 이때, 하층부의 용적도 상층부와 같은 30ml로 고정하였다. 투과가 진행되는 동안 자외선분광기를 사용하여 투과된 농도를 측정하였으며 측정을 위해 시료를 채취한 후에는 즉시 동량의 PBS를 넣어 sink condition을 유지하였다. 이상의 실험은 모발 웨이브용 퍼머약 처리방법 및 처리시간에 준하여 실험하였다.

2.4.2. 시스테인 처리 전 · 후의 흰쥐 피부 변화 측정

앞서 실험한 피부 투과 실험과 동일한 실험조건 하에서 사육하였으며, 각 군의 평균 체중에 있어서 군 간의 차이가 최소화되도록 실험군을 분리하였다[12]. 우선 건강한 흰쥐 등 쪽 부위를 전기면도기를 이용하여 피부에 상처가 나지 않도록 조심스럽게 2.5×2.5 ㎝로 제모한 후, 1회용 면도기를 이용하여 잔털을 제거하여 70%의 에틸알코올로 피부를 소독하여 24시간이 지나고 육안상으로 피부에 이상이 없는 건강한 흰쥐를 이용하여 실험하였으며 실험에 사용한 흰쥐는 10마리에 대한 평균값을 나타내었다. 미세주름 측정방법으로 제모한 흰쥐를 에테르가 들어있는 유리상자에 넣어서 일시적으로 마취를 시키고 미세주름 측정기에 넣고 제모한 피부의 상태를 관찰하였다. 같은 방법으로 모발 웨이브용 시스테인 약제의 처치순서와 시간에 따라 실험을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 상용 퍼머넌트 웨이브용 약제의 최대 흡수파장 및 검량선 결정

경피 흡수 실험을 하기 위해서 먼저 약물의 최대 흡수파장(λ_{max})을 용매인 PBS에서 측정하였다. 측정한 모발 웨이브 약제인 시스테인의 최대 흡수파장은 287nm이었고 이 때 최대 흡수파장에서 시스테인의 농도를 달리하여 흡광도 값을 측정하고, 그 측정값으로부터 검량선을 작성하여 Fig. 1에 나타내었다. 작성한 검량선(y = 1.6750735931e-3 X + 3.5064935065e-5)을 사용하여 *in vitro* 실험에서 약물의 투과량을 계산하였다.

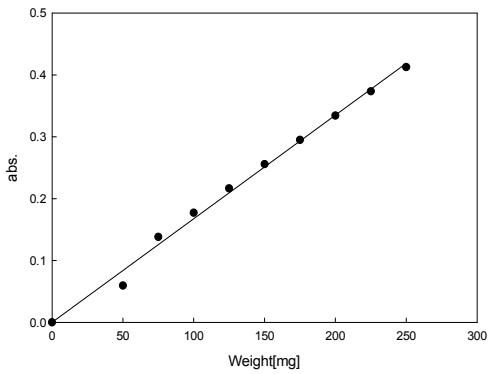

Fig. 1. Schematic diagram of calibration curve to λ_{max} by L-cysteine.

3.2 모발 웨이브용 시스테인 경피 흡수

모발 웨이브용 약제에 대하여 시스테인 약제의 함량과 조건 즉 퍼머제와 퍼머제에 중화제를 혼합한 경우와 피부조건에 따른 변화 등에 대한 실험을 진행하였다. 우선 약제의 함량을 현재 일반 처치방법(Ⅰ)과 그의 2배의 조건(Ⅱ)로 구분하여 투과 실험을 하였다. 즉 시스테인의 함량 변화에 따라서 Fig. 2 에서는 함량에 따른 투과 결과 중에서 lag time을 제외한 투과 결과 분포를 나타낸 것이다. 시스테인을 사용하여 *in vitro* 실험에서 진행한 전체적인 투과 양상을 보면, 4시간 전후에서 정상상태에 이르렀으며, 20시간의 투과량은 함량의 변화에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 시스테인의 함량을 상용 처치방법인 함량(Ⅰ)의 5.0wt%로 하고 투과 실험을 진행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Fig. 3에서는 순수 시스테인의 경우 건강한 피부의 lag time과 투과속도는 3.32hr과 0.102$\mu g/cm^2 \cdot hr$, 상처 난 피부의 lag time과 투과속도 3.84hr과 0.138$\mu g/㎠ \cdot hr$로 계산되었다.

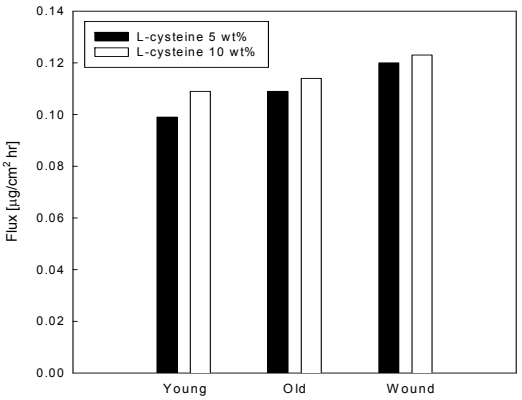

Fig. 2. The comparison of skin permeation distribution by change of contents of L-cysteine [The values expressed as a mean±SD (n=10)].

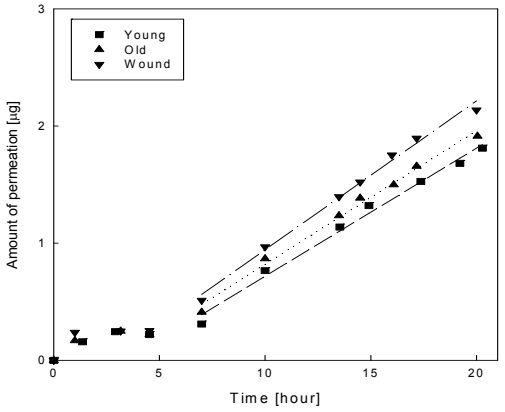

Fig. 3. Permeation amount of L-cysteine versus time for skin condition[The values expressed as a mean±SD (n=10)].

또한 Fig. 4에서와 같이 시스테인에 중화제를 첨가한 경우도 건강한 피부의 lag time과 투과속도는 4.02 hr과 0.095 $\mu g/㎠ \cdot hr$, 늙은 피부의 lag time과 투과속도는 3.33hr과 0.128$\mu g/㎠ \cdot hr$ 그리고 상처가 있는 피부의 lag time과 투과속도는 4.69hr과 0.151$\mu g/㎠ \cdot hr$로 계산되었으며 이들의 결과를 Table 2에 나타내었다.

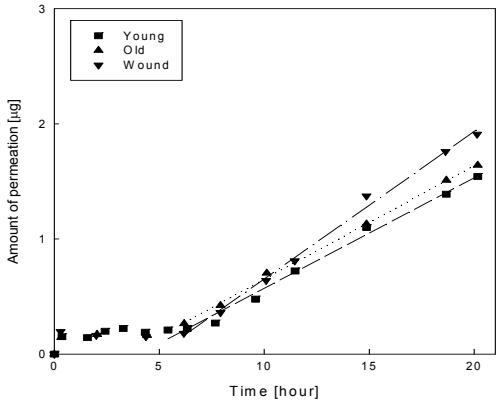

Fig. 4. Permeation amount of L-cysteine+neutralizer permeation versus time for skin condition[The values expressed as a mean±SD (n=10)].

결과에서와 같이 상처가 있는 피부 또는 늙은 피부가 건강한 피부보다 기울기 값으로부터 구한 lag time과 투과속도가. 특히 상처가 있는 피부를 사용했을 때 가장 빠른 투과속도를 나타내었다. 이는 피부조건에 영향을 주는 생물학적 인자 중 생물 종별, 연령, 부위차, 온도 및 병태 등이 피부 조건에 커다란 영향을 미치게 하며 특히 화상, 찰상 및 UV 조사 등의 병태에 의하여 피부투과성이 상승한다는 보고와도 일치하는 것으로 나타났다[13,14,15]. 본 실험에서도 유사한 결과를 나타내어 상처가 있는 피부의 경우 수분을 최대 70% 까지 함유한 피부의 표피인 Malpighi층에서의 수분 증발량의 급격한 증가에 의한 수분 손실로 인하여 피부 접촉이 물질에 대한 피부의 주 기능인 장벽 능력을 상실하여 투과속도가 증가하였다고 생각된다.

3.3 흰쥐에 대한 미세주름 및 홍반 측정 결과

상용 퍼머넌트 웨이브용 약제에 대한 실제 피부의 변화를 관찰하기 위하여 남아 있는 10마리의 건강한 흰쥐 피부에 실제 일반적인 퍼머 시간과 방법대로 처리하고 미세 주름 측정기를 이용하여 피부에서의 미세 주름과 홍반 등의 변화를 관찰 및 측정하고 측정시 계산된

Table 2. Permeation Parameters of Common Permanent Wave According to Rat Skin Condition

Formulation		Permeation parameter		
		$J_s(\mu g/㎠ \cdot hr)^a$	$T_L(hr)^b$	$D(㎠/hr\times10^4)^c$
L-cystein	Young skin	0.102	3.32	5.94
	Old skin	0.106	4.04	4.97
	Wound skin	0.138	3.84	5.84
L-cystein + Neutralizer	Young skin	0.095	4.02	7.27
	Old skin	0.128	3.33	5.84
	Wound skin	0.151	4.69	6.13

* The values expressed as a mean±SD (n=3~12)

흰쥐 피부의 roughness parameter들 중 파고 사이의 거리(R_{max})를 Fig. 5에 나타내었다.

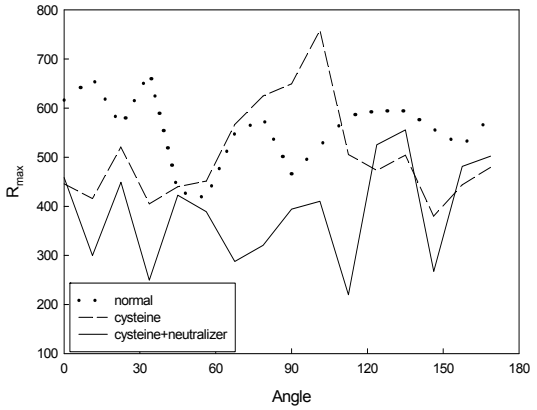

Fig. 5. The comparison of R_{max} into roughness parameter according to skin condition by common permanent wave treatment.

이들 결과에 나타내었듯이 퍼머넌트 웨이브 약제로 처리한 경우들이 정상 피부와 비교해 보았을 때 피부의 거칠기 변화(roughness parameter) 각도에서 변화가 나타나있는데 특히, 60~90°부근의 roughness parameter들이 정상의 피부보다 큰 변화를 나타내었으며, 일정 pH의 조건 하에서 진행하도록 도와주는 과산화수소수를 주성분으로 하는 중화제인 제 2제(산화제)보다 시스테인을 주성분으로 하는 제 1제(환원제)를 사용할 때 피부에 커다란 영향을 나타내었다. 일반적으로 모발 웨이브용 약제는 용법과 주성분으로 구분하는데 현재 사용되는 약제는 제 1제와 제 2제로 되어 있다. 이중 제 1제는 모발 웨이브 형성을 위한 것으로 이황화결합을 절단하기 위한 것으로 환원제를 주성분으로 한다. 건강한 피부와 모발은 pH가 약산성인데 반하여 제 1제를 사용함으로서 일시적으로 pH가 약염기성으로 변화함으로 인해 이것 또한 흰쥐 피부에 자극을 주었다고 생각되며, 또한 육안적으로도 모발 웨이브용 약제를 처치하면 일부 홍반과 발진을 관찰 할 수 있었다. 이러한 경피흡수실험과 미세주름 실험결과들로부터 모발 웨이브 사용에 따른 경피특성과 흡수량을 확인할 수 있었다.

4. 결 론

시스테인 및 그 염류를 주성분으로 하는 모발 웨이브용 제품을 흰쥐를 이용, 경피 흡수 정도를 측정하였고, 시스테인이 피부에 미치는 영향에 관하여 연구하였다.

1) 시스테인을 사용하여 *in vitro*에서 진행한 실험에서의 전체적인 투과 양상을 보면 4시간 전후에서 정상상태에 이르렀으며, 20시간 동안 투과량 관찰에서 함량의 변화에는 큰 차이를 나타내지 않았다.
2) 시스테인에 대하여 피부조건에 따른 변화 등에 대한 실험을 진행한 결과 상처가 있

는 피부 또는 늙은 피부가 건강한 피부보다 lag time과 투과속도가 빠르게 나타냈으며 특히 상처가 있는 피부는 가장 빠른 투과 속도를 나타내었다. 이는 상처가 있는 피부의 경우 피부의 주 기능인 장벽능력을 상실하여 이물질인 시스테인의 투과를 원활히 해주기 때문으로 생각된다.

3) 실제 일반적인 모발 웨이브 시간과 방법대로 처리하여 피부에서의 미세 주름과 홍반 등의 변화를 관찰·측정한 경우 정상 피부일 때보다 시스테인으로 처리한 경우들이 roughness parameter에 상당히 큰 변화를 나타내었으며, 또한 육안적으로도 시스테인 약제를 처리하면 일부 홍반과 발진을 관찰할 수 있었다.

참고문헌

1. N. Baumslag, D. L. Yeager and H. G. Petering, Trace metal contents of material and neonate hair, *Arch Environ. Health*, **29**, 186 (1994).
2. H. A. Schroeder and E. H. Tipton, Trace metal in Human hair, *J. Invest. Derm.*, **26(3)**, 53 (1999).
3. K. O. Kwon, "New cosmetics", p. 357, Dong Wha Tech., Seoul(1997).
4. A. Rock and R. Dauber, "Disease of the hair and Scalp", 2nd Ed. p. 259, Blackwell Sci. Pub., New York(1991).
5. P. M. Elias and D. S. Friend, The permeability barrier in mammalian epidermis, *J, Cell. Biol*, **65**, 180 (1995).
6. H. Tsuruta, A procedure for determining volatile solvents in nude mouse whole body, *Ind. Health*, 4**2**, 219 (2004).
7. H. Tsuruta, Absorption of solvent mixture, *Ind. Health*, **34**, 369 (1996).
8. C. Ursin, Permeability of commercial solvents through living human skin, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J*, **56**, 651 (2005).
9. J. Crank, The mathematics of diffusion, p 42, Clarendon Press, Oxford Univ., London(1995).
10. Y. S. Lee, "Breeding management and technology, Experiment Zoology", p 238, seoul university publishing department, Seoul(1993).
11. S. K. Hwang, Transdermal Permeation of Riboflavin in Ointment Bases using Gums and Enhancers, *Kor. J. of Environmental Health Society*, **26(2)**, 91 (2000).
12. Drug testing criteria, such as toxic, KFDA announcement 49-3, the Ministry of Health and Welfare (1994).
13. R. J. Shceuplein, "Percutaneous absorption, Theorical aspects. in percutaneous absorption of steroids", p. 2, Academic Press, Philadelphia(1990).
14. D. P. Hannon, Histological, Physical and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin, *Photochem. and Photobio.*, **46(3)**, 367 (2005).
15. J. Akin, M. A. Kligman, The contributions of UVA and UVB to connective tissue damage in hairless mouse, *J. Invest. Deematol.*, **84**, 272 (2003).